

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ХИМИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи



Биткина Татьяна Александровна

**РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ КОМБИНИРОВАННОГО
ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ МИКРОСФЕР С
ДОКСОРУБИЦИНА ГИДРОХЛОРИДОМ И КОМЕНОВОЙ КИСЛОТЫ**

3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств

Научный руководитель
Басевич Анна Викторовна,
кандидат фармацевтических наук, доцент

Санкт-Петербург – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1 Полимерные микросферы как перспективное средство для эмболизации.....	13
1.2 Цитостатические препараты, используемые в химиоэмболизации микросферами.....	19
1.3 Производные гамма-пирона как эффективное средство для купирования болевых синдромов.....	22
1.4 Современные технологические аспекты производства инъекционных лекарственных форм.....	27
1.5 Особенности разработки лекарственных средств с учетом концепции Quality-by-Design.....	35
1.6 Особенности разработки инъекционного лекарственного препарата в рамках действующего фармацевтического предприятия.....	39
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1.....	41
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	42
2.1 Объекты исследования.....	42
2.2 Растворители и реактивы.....	44
2.3 Оборудование и средства измерения.....	45
2.4 Методы исследования полимерных микросфер.....	46
2.5 Методы исследования субстанции коеновой кислоты.....	49
2.6 Методы расчета количественного соотношения компонентов для растворов коеновой кислоты.....	53
2.7 Методы исследования растворов коеновой кислоты.....	55
2.8 Методы статистической обработки полученных данных.....	57
ГЛАВА 3. СТАНДАРТИЗАЦИЯ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИМЕРНЫХ МИКРОСФЕР.....	58

3.1 Разработка технологической схемы производства полимерных микросфер.....	62
3.2 Анализ контрольных критических точек производства полимерных микросфер.....	64
3.3 Разработка проекта спецификации качества на полимерные микросферы.....	70
3.4 Исследование кинетики сорбции доксорубицина гидрохлорида полимерными микросферами.....	72
3.5 Разработка методики проведения десорбции доксорубицина гидрохлорида из полимерных микросфер.....	74
3.6 Исследование динамики высвобождения доксорубицина гидрохлорида из полимерных микросфер.....	78
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3.....	80
ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ СУБСТАНЦИИ КОМЕНОВОЙ КИСЛОТЫ.....	82
4.1 Изучение физико-химических свойств субстанции коменовой кислоты.....	82
4.2 Изучение технологических свойств субстанции коменовой кислоты	84
4.3 Проверка подлинности субстанции коменовой кислоты.....	85
4.4 Определение массовой доли коменовой кислоты в субстанции.....	86
4.5 Разработка проекта спецификации качества на субстанцию коменовой кислоты.....	86
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4.....	89
ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ РАСТВОРОВ КОМЕНОВОЙ КИСЛОТЫ.....	90
5.1 Разработка составов раствора коменовой кислоты.....	90
5.2 Изучение стабильности растворов коменовой кислоты, нейтрализованной гидрокарбонатом натрия.....	93
5.3 Изучение стабильности растворов коменовой кислоты, нейтрализованной гидроксидом натрия.....	95

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5.....	97
ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ОПЫТНО-ПРОМЫШЛЕННЫХ ПАРТИЙ РАСТВОРОВ КОМЕНОВОЙ КИСЛОТЫ.....	99
6.1 Разработка технологической схемы производства растворов коменовой кислоты.....	99
6.2 Разработка технологических инструкций на производство опытно-промышленных партий растворов коменовой кислоты.....	102
6.3 Проведение анализа рисков при трансфере технологии с лабораторного на опытно-промышленный участок.....	103
6.4 Изучение стабильности опытно-промышленных партий растворов коменовой кислоты, нейтрализованной натрия гидрокарбонатом.....	112
6.5 Изучение стабильности опытно-промышленных партий растворов коменовой кислоты, нейтрализованной натрия гидроксидом.....	119
6.6 Разработка проекта спецификации качества на инъекционный раствор коменовой кислоты.....	123
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6.....	125
ГЛАВА 7. РАЗРАБОТКА КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ МИКРОСФЕР С ДОКСОРУБИЦИНА ГИДРОХЛОРИДОМ И ИНЪЕКЦИОННОГО РАСТВОРА КОМЕНОВОЙ КИСЛОТЫ.....	127
7.1 Изучение возможности создания микросфер, насыщенных коменовой кислотой.....	127
7.2 Разработка технологии получения полимерных микросфер, насыщенных доксорубицина гидрохлоридом.....	128
7.3 Разработка комбинированного лекарственного средства на основе полимерных микросфер с доксирубицина гидрохлоридом и инъекционного раствора коменовой кислоты.....	133
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 7.....	136

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	137
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	140
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	141
Приложение А.....	157
Приложение Б.....	159
Приложение В.....	163
Приложение Г.....	165

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Во всем мире наблюдается рост онкологических заболеваний. По оценке ученых к 2040 году количество ежегодных случаев заболевания раком возрастет на 47 процентов. При стабильности данной динамики смертность от онкологических заболеваний в скором времени может занять первое место, опередив сердечно-сосудистые заболевания.

За последние годы достигнуты значительные успехи в диагностике, лечении, повышении качества жизни больных в данной медицинской области. Но все же многие вопросы, связанные с терапией онкологических заболеваний, остаются недостаточно изученными.

Одним из наиболее перспективных направлений терапии злокачественных новообразований является химиоэмболизация микросферами, заключающаяся в локальном закупоривании артерий сферическими частицами, насыщенными цитостатическим препаратом, в частности, доксорубицина гидрохлоридом. Однако микросферы для проведения эмболотерапии в основном поставляются на отечественный рынок из других стран и имеют малое количество аналогов, вследствие чего для них характерна высокая стоимость.

Поскольку онкологические заболевания зачастую сопровождаются выраженными болевыми синдромами, одной из наиболее острых проблем в их лечении является обезболивание. Терапия злокачественных новообразований, как правило, включает применение анальгетиков «большой группы» (опиаты, опиоиды). Однако прием данных препаратов сопровождается серьезными побочными действиями и может вызывать лекарственную зависимость, что делает актуальным поиск новых ненаркотических анальгетических субстанций. Производные гамма-пирона изучались учеными с применением разных подходов, позволяя выявлять все новые и новые свойства данной группы соединений. Однако особый интерес вызывает высокая анальгетическая активность 5-гидрокси-4-оксо-4Н-пиран-2-карбоновой

кислоты (коеновой кислоты), метод лечения с использованием которой приводит к долговременному снятию болевого синдрома, в том числе у онкологических пациентов.

Вышеизложенное позволяет рассматривать комбинацию для эмболизации на основе полимерных микросфер, содержащих цитостатический препарат, и эффективного анальгетика – коеновой кислоты, как перспективное направление исследования в области онкотерапии и технологии получения лекарств.

Степень разработанности темы исследования. Большая часть научной литературы посвящена изучению механизмов терапевтического действия субстанции коеновой кислоты и полимерных микросфер, а также поиску и доказательству фармакологической активности в опытах *in vitro* и *in vivo*: Дербенев А.В. (1999); Крылов Б.В., Лопатина Е.В. (2008); Лопатина Е.В. (2010); Dick O.E. et al. (2015); Rogachevskii I.V. et al. (2021); Дунаев А.А., Блинов О.В. (2018); Долгушин Б.И. (2002); Гительзон Д.Г. и др. (2017); Бояринцев В.В. (2016); Абдулаев М.А. (2016); Kos S. et al. (2011); Doucet J. et al. (2018); Kunliang L. et al. (2020), Liu D.M. et al. (2012), Nouri Y.M. et al. (2019), Weng L. et al. (2011), Zhu C. et al. (2018).

Анализ публикаций за последние 20 лет показал ограниченность исследований, посвященных технологическим аспектам создания лекарственных форм на основе коеновой кислоты и полимерных микросфер.

В онкотерапии в настоящее время широко используется цитостатический антибиотик доксорубицина гидрохлорид, который обладает достаточно высокой эффективностью, но не снижает характерный для онкозаболеваний болевой синдром.

Представляется важным и актуальным разработка комбинированного лекарственного препарата, сочетающего цитостатическое действие (доксорубицина гидрохлорид), эмболизацию кровеносных сосудов, питающих опухоль (полимерные микросферы) и эффективный анальгетик (коеновая

кислота). Технология получения такого комбинированного препарата предлагается впервые.

Цели и задачи исследования. Целью работы является разработка состава и технологии комбинированного лекарственного средства для парентерального введения, включающего лиофилизированные полимерные микросферы, насыщенные доксорубицином гидрохлоридом, и инъекционный раствор коеновой кислоты.

Для достижения поставленной цели необходимо решение следующих задач:

1. Отработать и стандартизировать способ получения полимерных микросфер. Определить и обосновать контрольные критические точки их производства. Установить показатели качества полимерных микросфер.

2. Изучить кинетику сорбции и динамику высвобождения доксорубицина гидрохлорида полимерными микросферами.

3. Определить физико-химические и технологические характеристики субстанции коеновой кислоты, установить ее показатели качества.

4. Разработать технологию получения растворов коеновой кислоты и изучить их стабильность. Установить показатели качества для инъекционных растворов коеновой кислоты. Изучить возможность сорбции коеновой кислоты полимерными микросферами.

5. Разработать комбинированное лекарственное средство на основе лиофилизата полимерных микросфер с доксорубицином гидрохлоридом и инъекционного раствора коеновой кислоты.

Научная новизна исследования.

Впервые представлена технология получения полимерных микросфер, определены и обоснованы контрольные критические точки их производства.

Впервые предложена методика проведения десорбции доксорубицина гидрохлорида из полимерных микросфер.

Впервые разработаны состав и технология получения раствора коеновой кислоты, нейтрализованной гидроксидом натрия. Проведен

сравнительный анализ стабильности растворов коеновой кислоты, нейтрализованной гидрокарбонатом натрия, и растворов коеновой кислоты, нейтрализованной гидроксидом натрия.

Впервые разработано комбинированное лекарственное средство на основе лиофилизированных микросфер с доксорубицина гидрохлоридом и инъекционного раствора коеновой кислоты.

Теоретическая и практическая значимость.

Теоретически обоснована и экспериментально разработана технология получения микросфер с доксорубицина гидрохлоридом. Показана зависимость динамики высвобождения доксорубицина гидрохлорида от размера микросфер с использованием разработанной методики. Изучен профиль высвобождения доксорубицина гидрохлорида из полимерных микросфер в течение 30 дней.

Установлены параметры технологического процесса получения полимерных микросфер с учетом анализа рисков. Проведена стандартизация технологии, позволяющей получать на каждой стадии производства полупродукт с заданными значениями показателей качества.

Впервые теоретически обоснован состав растворов коеновой кислоты, предложены показатели качества инъекционного раствора. Проведен трансфер технологии получения растворов коеновой кислоты для инъекций в ампулах на опытно-производственный участок на основании анализа рисков.

Результаты исследования внедрены в учебный процесс и научно-исследовательскую деятельность кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России (акт о внедрении от 15.02.2022), деятельность фармацевтических компаний ООО «Фарма Ген» (акт апробации от 15.10.2021) и ООО «НПК «СФЕРА» (акт апробации от 17.08.2021).

Методология и методы исследования. Достоверность результатов диссертационной работы подтверждается использованием современных методов исследования, аппаратного и приборного оснащения.

Методология работы складывается из выполнения комплекса теоретических, физико-химических, технологических, биофармацевтических методов исследований, обеспечивающих получение лекарственной формы надлежащего качества.

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли методами математической статистики.

Положения, выносимые на защиту. На защиту выносятся следующие положения и результаты, определяющие новизну и практическую значимость исследования:

1. Технология способа получения полимерных микросфер: технологическая схема производства, контрольные критические точки производства, проект спецификации качества на полимерные микросферы.

2. Профили кинетики сорбции и динамики высвобождения доксорубина гидрохлорида полимерными микросферами.

3. Физико-химические и технологические характеристики субстанции коеновой кислоты, проект спецификации качества на субстанцию коеновой кислоты.

4. Технология растворов коеновой кислоты и результаты исследования их стабильности, проект спецификации качества на инъекционные растворы коеновой кислоты.

5. Состав и технология комбинированного лекарственного средства на основе лиофилизата микросфер с доксорубина гидрохлоридом и инъекционного раствора коеновой кислоты. Технологическая схема и проект спецификации качества на комбинированное лекарственное средство.

Степень достоверности и апробация результатов работы. Достоверность и обоснованность результатов исследования подтверждена воспроизводимостью данных, использованием современных методов анализа, методов статистической обработки результатов, применением поверенного и аттестованного аналитического оборудования и средств измерений.

Основные результаты работы диссертации соискателем были представлены на IX, X, XI, XII Всероссийских научных конференциях студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего», (Санкт-Петербург, 2019, 2020, 2021, 2022); VI Всероссийской научно-практической конференции «Инновации в здоровье нации» (Санкт-Петербург, 2018 г.); Международной научно-практической конференции «Внедрение результатов инновационных разработок: проблемы и перспективы» (Екатеринбург, 2019 г.); 1-ом и 2-м Международном симпозиуме «Инновации в науках о жизни» (Белгород, 2019 г., 2022 г.); III Международной научно-практической конференции «Абу Али Ибн Сино и инновации в современной фармацевтике» (Ташкент, 2020 г.); XVI научно-практической конференции молодых ученых и студентов ГОУ ТГМУ им. Абуали ибни Сино «Новые проблемы медицинской науки и перспективы их решений» (Душанбе, 2021 г.); Международной выставке и форуме по фармацевтике и биотехнологиям IPhEB Russia 2022 (Санкт-Петербург, 2022 г.).

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 12 работ, из них 2 – в журналах, входящих в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК Минобрнауки России», 2 – в журналах, индексируемых SCOPUS и Web of Science.

Связь задач исследования с планом фармацевтических наук. Исследование выполнено в соответствии с планом исследовательских работ ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России в рамках темы: «Разработка технологий производства, методов анализа, стандартизации и фармакологической оценки лекарственных растений, новых или модифицированных фармацевтических субстанций и препаратов» (государственная регистрация № 01201252028).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертационной работы соответствуют паспорту

специальности 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств, а именно:

пункту 2 – Проектирование и разработка технологий получения фармацевтических субстанций и лекарственных форм, утилизация производственных отходов с учетом экологической направленности. Стандартизация и валидация процессов и методик, продуктов и материалов. Оптимизация организационных и технологических процессов при разработке и получении лекарственных средств;

пункту 4 – Организация фармацевтической разработки. Трансфер (перенос) фармацевтических технологий и аналитических методик из научных лабораторий в промышленное производство.

Личный вклад автора в проведенное исследование и получение научных результатов. Автор принимал непосредственное участие в выборе темы и постановке цели исследования. Автор лично планировал ход экспериментальной работы, выполнил весь спектр исследований и произвел обобщение полученных результатов. Автором самостоятельно проведена обработка и интерпретация полученных экспериментальных данных. На базе ООО «Фарма Ген» выполнены работы по получению опытно-промышленной партии растворов коеновой кислоты и полимерных микросфер. Доля участия автора составляет не менее 90%. Диссертация представляет собой научный труд, включающий исследования автора за период с 2018 по 2022 год.

Структура и объем диссертационной работы. Диссертационная работа изложена на 170 страницах компьютерного набора, иллюстрирована 40 рисунками и 24 таблицами, состоит из введения, обзора литературы, 6 глав экспериментальных исследований, заключения, списка сокращений, списка литературы, включающего 113 источников (из них 32 на иностранных языках) и приложений.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Полимерные микросферы как перспективное средство для эмболизации

Эндоваскулярная хирургия (рентгенохирургия) с каждым годом находит все более широкое применение в современной клинической практике. Данный метод лечения, позволяющий выполнять вмешательства на артериях, венах и внутренних органах без выполнения разрезов, используется в таких областях медицины, как: кардиология, неврология, хирургия, гинекология, урология и др. В период с 2007 года по 2018 год в Российской Федерации сохранялся уверенный рост количества эндоваскулярных операций и используемых в данном направлении технологий, методов и методик [4, 11, 59].

В последние десятилетия прогрессирует роль рентгенэндоваскулярных методов в онкологии. Стало возможным выполнять эмболизацию не только для остановки кровотечения из опухоли, но и с целью адресной доставки химиопрепаратов [18, 33, 62].

Известно большое количество композиций, исследуемых в качестве материалов для рентгенохирургии. В последнее время особое внимание сосредоточено на разработке полимерных эмболизатов, которые можно разделить на две основные группы: биоразлагаемые композиции на основе желатина, альбумина, крахмала, декстранов, целлюлозы, полисахаридов и др. и небiorазлагаемые. Последние в настоящее время довольно широко применяются в качестве материалов в области рентгенохирургии. К небiorазлагаемым полимерам относятся полимеры на основе этилена и винилацетата, кремнийорганических каучуков и полиметилметакрилата. Наиболее распространенными являются сополимеры этилена и винилацетата, поликапролактон, сополимеры полимолочной кислоты и поликапролактона за счет своей устойчивости и возможности принимать разнообразную форму [48, 52, 101].

Успех транскатетерной химиоэмболизации во многом зависит от используемого эмболизата. Наиболее приемлемы эмболизаты, которые способны:

- эффективно блокировать кровоснабжение при внутриартериальной инъекции;
- контролируемо высвобождают противоопухолевый препарат для локализованной химиотерапии;
- разлагаться после терапии для предотвращения образования тромбов;
- угнетать процесс ангиогенеза [86].

Современная эмболизация предполагает использование разных видов эмболизирующих частиц.

Эмболизат на основе поливинилового спирта. Поливиниловый спирт – это биосовместимый полимер, который используется в медицинской практике с середины прошлого века. При инъекционном введении поливинилового спирта его частицы прилипают к стенкам кровеносных сосудов, замедляя поток, и в последствии приводят к окклюзии. Недостатками эмболизатов на основе поливинилового спирта являются технологические сложности в получении частиц однородного размера, более того, частицы поливинилового спирта обладают высоким коэффициентом трения и склонны к агрегированию, что может приводить к изменению размера частиц эмболизата или затруднению их прохождения через микрокатетер [105, 109].

Желатиновая губка. Желатиновая губка рассматривается как временный эмболизирующий материал, в том числе в комбинации с другими методами эмболизации, например, масляной химиоэмболизацией. К недостаткам использования данного материала можно отнести ответные воспалительные реакции организма, неравномерность смеси размеров частиц и способность желатиновой губки удерживать пузырьки воздуха, что теоретически может приводить к образованию абсцессов [105].

В рамках терапии онкологических заболеваний эндоваскулярная хирургия представляет наибольший интерес в направлении

химиоэмболизации. Несмотря на то, что процедуры химиоэмболизации начали проводиться еще в конце XX века японскими, французскими и отечественными учеными, данный метод химиотерапии в настоящий момент считается современным и перспективным направлением в лечении злокачественных новообразований [18, 63].

Химиоэмболизация представляет собой метод селективной химиотерапии, который включает эмболизацию артерии, питающей опухоль, и, совместно с этим, угнетение новообразования при помощи воздействия на него цитостатического лекарственного препарата [18, 41, 81].

К основным видам химиоэмболизации относят масляную химиоэмболизацию и химиоэмболизацию микросферами. В последние годы в рентгенохирургии активно внедряется радиоэмболизация [30].

1.1.1 Радиоэмболизация

Радиоэмболизация – относительно новый метод внутрисосудистых вмешательств, который сочетает эмболизацию сосуда и облучение опухоли, как правило, молекулами иттрия ^{90}Y , заключенным в стеклянные или резиновые сферические микрочастицы. Преимущество данного метода состоит в облучении, которое является универсальным, тогда как в случае внутриартериальной химиотерапии результаты зависят от чувствительности опухоли к конкретному химиопрепарату [2, 30, 67, 103].

Бета-частицы, излучаемые иттрием ^{90}Y , проникают в ткани на глубину 2,5-11 мм, что позволяет создать высокую дозу облучения избирательно в определенном очаге при небольшой лучевой нагрузке на окружающую ткань.

Радиоэмболизация уже показала существенные результаты в лечении метастазов нейроэндокринных опухолей и рекомендуется к использованию рядом крупных международных организаций, однако, широкого применения в отечественной практике не нашла в связи с техническими сложностями, невозможностью обеспечить радиационную безопасность в большинстве клиник и высокой стоимостью радионуклида [2, 22, 67, 84].

В России в настоящее время радиоэмболизация не является широко распространенным методом лечения онкологических заболеваний, поскольку импортные материалы для проведения данных операций отличаются высокой стоимостью, а также сложной логистикой доставки и применения [30].

1.1.2 Масляная химиоэмболизация

Масляная химиоэмболизация предполагает введение в артерию масляных рентгеноконтрастных препаратов, которые представляют собой сложные эфиры жирных кислот. В настоящее время одним из самых распространенных является Липиодол – йодизированная маслянистая жидкость от желтого до янтарного цвета, получаемая из масла зерен мака [64]. Липиодол применяют в качестве контрастного вещества для рентгенологических исследований и в качестве носителя цитостатических лекарственных препаратов при проведении артериальной химиоэмболизации [10, 18]. Липиодол контактирует с опухолью и тканями вокруг опухоли от нескольких недель до нескольких месяцев, при этом из здоровой ткани выводится в течение семи дней. Задержка липофильного контрастного вещества в патологических опухолевых сосудах связывают прежде всего с отсутствием у них мышечной стенки [13, 83].

Масляные эмболизаты не вызывают необратимую или длительную окклюзию сосудов, но позволяют поддерживать высокие концентрации химиопрепарата в опухоли в течение нескольких часов [10, 18]. К недостаткам масляной эмболизации следует отнести сопоставимость концентрации химиопрепарата в системном кровотоке с внутриартериальным введением, что может приводить к сильным болям у пациентов и вызывать серьезные побочные эффекты [24, 100].

Одним из существенных недостатков масляной химиоэмболизации является непродолжительная стабильность (4-6 часов) химиосуспензии, содержащей масляный эмболизат и химиопрепарат. По истечении данного времени в опухоли остается только липиодол. С целью увеличить время

взаимодействия химиопрепарата с клетками опухоли, в качестве эмболизата была предложена химиоэмболизация с применением микросфер [67].

1.1.3 Химиоэмболизация микросферами

Химиоэмболизация микросферами является одним из современных и перспективных методов в рентгенохирургии. В отличие от масляной химиоэмболизации данный метод имеет такие преимущества, как:

- низкая травматичность процедуры для пациента;
- возможность терапии неоперабельных опухолей;
- пониженное воздействие цитостатического препарата на организм пациента;
- обеспечение более длительного и системного воздействия лекарственного средства на опухоль [22, 98].

Диаметр микросфер подбирается в соответствии с диаметром микрососудистого русла опухоли. Далее на микросферах сорбируют цитостатический препарат посредством таких механизмов, как ионный обмен или абсорбция, и локально вводят насыщенные лекарственным средством микросферы при помощи катетера, подведенного непосредственно к артерии, питающей опухоль. Микросферы вызывают локальную окклюзию сосудов, после чего начинается высвобождение химиопрепарата [14, 18, 60].

Микросферы способны длительно высвобождать лекарственное средство (на протяжении от 1 недели до 2 месяцев), что позволяет обеспечивать пролонгированное воздействие на клетки опухоли [24, 58].

На российском фармацевтическом рынке микросферы, предназначенные для рентгенохирургии, относятся к категории «Сердечно-сосудистые медицинские изделия». В настоящее время существует два вида микросфер: насыщаемые непосредственно перед введением в кровеносное русло и пренасыщенные – насыщаемые препаратом при производстве (таблицы 1.1, 1.2) [12, 20].

Таблица 1.1 – Пренасыщенные микросферы [8, 71]

Наименование медицинского изделия	Производитель, страна
Микросферы для эмболизации с принадлежностями (Микросферы «HeraSphere»)	«Биосфер Медикаль», Франция
Изделия для эмболизации кровеносных сосудов микросферы DC Bead	«Биокомпатиблес ЮК Лимитед», Великобритания

Таблица 1.2 – Микросферы насыщаемые без лекарственного средства [8, 71]

Наименование медицинского изделия	Организация-производитель
Изделия для эмболизации кровеносных сосудов микросферы Bead Block	«Биокомпатиблес ЮК Лимитед», Великобритания
Микросферы для эмболизации с принадлежностями	«Биосфер Медикаль», Франция
Материалы эмболизационные для сосудистой эмболизации: частицы поливинилалкоголя	«Кук Инкорпорэйтед», США
Частицы эмболизационные BEARING nsPVA	«Мерит Медикал Системс, Инк.», США
Микросферы насыщаемые полимерные широкого спектра применения для внутрисосудистых вмешательств в рентгенохирургии «Сфера-Спектр»	ООО «Сфера-Спектр», Россия
Эмболы окклюзирующие из гидрогеля цилиндрические и сферические стерильные "ЭМБОКС"	ООО «Пластис-М», Россия
Спиральи и микроэмболы для внутрисосудистой эмболизации: Contour SE Michrospheres	«Бостон Сайентифик Корпорейшн», США
Микросферы для эмболизации HydroPearl	«МайкроВеншн Юроп», Франция
Микросферы для эмболизации LifePearl	«МайкроВеншн Юроп», Франция
Микросферы окрашенные Embozene для эмболизации	«Бостон Сайентифик Корпорейшн», США
Микросферы для эмболизации EmboGold, Embosphere, HeraSphere	«Биосфер Медикаль С.А.», Франция

Большая часть микросфер, представленная на отечественном рынке, поставляется иностранными компаниями и только одно из изделий для эмболизации производится в России. Можно предположить, что данная

ситуация связана со сложным и многоэтапным процессом получения продукта [10].

Отечественные микросферы для эмболизации получают путем сополимеризации винилацетата с метилакрилатом в присутствии диакрилатдиола. Готовое изделие медицинского назначения представляет собой лиофилизированные микросферы разных размерных диапазонов от 5 до 165 мкм в ненасыщенном состоянии [54, 71].

В последнее время растет интерес к разработке биоразлагаемых микросфер, предназначенных для эмболизации на временной основе. В идеале такие материалы для эмболизации должны удаляться из организма после оказания терапевтического эффекта, не оказывая негативного влияния на организм [87, 99, 111].

В настоящее время биоразлагаемые микросферы получают с использованием таких материалов как: полидиоксазон [106, 107], декстран [113], каррагинан [96], поли-3-оксибутират [74], крахмал [31, 55] и др.

1.2 Цитостатические препараты, используемые в химиоэмболизации микросферами

Химиотерапия представляет собой лечение злокачественных новообразований при помощи цитостатических препаратов, которые угнетают опухоль, снижая пролиферацию ее клеток (цитостатическое действие) и необратимо повреждая их (цитотоксическое действие) [1].

По происхождению цитостатические препараты можно разделить на несколько групп:

- алкилирующие средства (производные нитрозомочевины, препараты платины): цитостатическое действие достигается путем нарушения целостности молекул ДНК или блокирования процессов транскрипции и митоза;

- антиметаболиты (структурные аналоги фолиевой кислоты, пиримидина, пурина): вмешиваются в синтез РНК и ДНК, что приводит к нарушению процесса деления клеток и их гибели;

- противоопухолевые антибиотики (антрациклины): оказывают многоплановое воздействие на структуру и синтез ДНК – способствуют частичному расщеплению двойной спирали, инициируют образование одно- и двухцепочечных разрывов;

- препараты растительного происхождения (алкалоиды, подофиллотоксины): вызывают остановку митотического цикла пораженных клеток [2,3,10,14].

Цитотоксическое действие препаратов распространяется не только на опухолевые клетки, но и на здоровые ткани. Использование носителей для локальной доставки цитостатиков позволяет снизить воздействие препаратов на здоровые органы и устранить необходимость многократного введения, обеспечив постепенное высвобождение лекарственного вещества на протяжении длительного времени [4].

Модифицированную доставку цитостатического препарата возможно совмещать с введением эмболизатов, например, сферических частиц. Фармакологическую терапию злокачественных новообразований с использованием полимерных микросфер в качестве носителя лекарственного препарата называют химиоэмболизацией микросферами. Данный метод сочетает в себе химиотерапию и эмболизацию – целевое закупоривание артерий, питающих опухоль, для прекращения ее питания через кровеносное русло.

Выбор цитостатических препаратов при химиоэмболизации микросферами основывается на анализе характеристик злокачественного новообразования (локализации, морфологической формы, молекулярном профиле и др.), состояния пациента (возраст, сопутствующие заболевания, предшествующее лечение и др.), а также на совместимости эмболизата с лекарственным средством [8].

Микросферы, зарегистрированные на территории России, в основном предназначены для доставки алкилирующих цитостатических препаратов и

антибиотиков антрациклинового ряда, в частности доксорубицина гидрохлорида (табл. 1.3).

Таблица 1.3 – Лекарственные средства, используемые для насыщения микросфер

Лекарственное средство	Регистрационный номер CAS
Доксорубицин	CAS 23214-92-8
Гемцитабин	CAS 95058-81-4
Иринотекан	CAS 100286-90-6
Доцетаксел	CAS 148408-66-6
Митомицин	CAS 50-07-7
Оксалиплатин	CAS 61825-94-3
Цисплатин	CAS 15663-27-1
Карбоплатин	CAS 41575-94-4

Доксорубицин – антрациклиновый противоопухолевый антибиотик, используется для лечения широкого спектра типов рака. Является одним из широко назначаемых препаратов [11,12].

Доксорубицин наиболее часто включается в эксплуатационную документацию по применению насыщаемых цитостатиками микросфер. Данное лекарственное вещество хорошо совместимо с полимерными материалами, эффективно сорбируется отрицательно заряженными полимерными эмболами и модифицировано высвобождается в месте окклюзии.

Контролируемое высвобождение цитостатического препарата является одной из основных задач производителей микросфер. На десорбцию лекарственного вещества из полимера может оказать влияние множество критериев: технология производства микросфер, лекарственная форма сорбируемого препарата, методика введения цитостатика в эмболизационный материал, растворители, используемые для насыщения микросфер и др. При этом знание динамики высвобождения препарата из микросфер помогает

подобрать индивидуальную для конкретного пациента дозу цитостатика и спрогнозировать последующее лечение.

Цитостатические препараты могут значительно отличаться по своим сорбционным свойствам и динамике высвобождения. В связи с этим одним из основных направлений *in vitro* и *in vivo* исследований свойств микросфер, предназначенных для эмболизации, является изучение зависимостей, помогающих спрогнозировать особенности поведения насыщенных микросфер в организме человека.

Научные исследования показывают, что сорбция цитостатических препаратов микросферами может происходить по двум основным направлениям. В случае с доксорубицином насыщение микросфер происходит путем ионного обмена, в отличие от цисплатина, механизм загрузки полимера которым основан на поглощении раствора как такового. При этом насыщенные полимерные микросферы высвобождают за 14 дней порядка 40% доксорубицина. Однако цисплатин микросферы способны высвободить значительно быстрее – более 90% за 24 часа.

Таким образом, специфика применения полимерных микросфер определяет важность исследований, направленных на изучение совместимости микросфер с цитостатическими препаратами и изучение свойств полимера, от которых зависят клинические результаты.

1.3 Производные гамма-пирона как эффективное средство для купирования болевых синдромов

Важной частью рентгенэндоваскулярных процедур является премедикация, которая преследует сразу две цели: успокоить пациента и облегчить болевые ощущения. Среди болевых ощущений можно выделить боль, связанную непосредственно с болезнью, возникающую в результате развития злокачественного новообразования и выделения опухолью патологических веществ, и боль, которая может возникнуть при проведении процедуры [23].

Премедикация и обезболивание осуществляются, как правило, наркотическими средствами. Данные препараты эффективно снижают боль, помогают достичь предоперационной седации и позволяют, при необходимости, поддерживать уровень обезболивающего препарата в крови во время болезненной процедуры путем дополнительного введения наркотиков [23].

Одно из наиболее серьезных неблагоприятных побочных действий обезболивающих наркотического характера – угнетение дыхания, которое зависит от вводимой дозы препарата. Это требует особой осторожности от врача, в особенности при работе с пожилыми пациентами [23].

Подавляющее большинство онкологических пациентов (70-90%) испытывают боль разной интенсивности. При этом 75% больных испытывают боли в связи с распространением опухоли, в 20% случаев боль обусловлена лечением, а в остальных 5% не связана ни с опухолевым процессом, ни с лечением. При этом боль в данном случае не несет защитной функции, а, напротив, может приводить к нарушениям функций органов и систем организма за счет патологического восприятия болевых импульсов [11, 25].

1.3.1 Использование в терапии наркотических препаратов

Существует трехступенчатая система обезболивания, регламентированная Всемирной системой здравоохранения (ВОЗ), которая заключается в назначении пациенту обезболивающих препаратов в соответствии с предварительной оценкой болевых ощущений. При слабой боли назначаются неопиоидные анальгетические средства – нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), парацетамол, при умеренной – неопиоиды и слабые опиоидные анальгетики (кодеин, трамадол), при сильной боли – сильнодействующие анальгетические препараты морфинового ряда (морфин, оксикодон). При этом полноценное адекватное обезболивание включает в себя не только оказание помощи при наступившей боли, но и предупреждение развития хронических болевых синдромов [68].

Проблема обезболивания с применением опиодных препаратов связана с тем, что их эффективная терапевтическая доза близка к той, которая вызывает побочные эффекты. Согласно исследованию ORADE (opioid-related adverse drug events), в 20% случаев прием пациентами наркотических анальгетиков в постоперационный период приводил к таким осложнениям, как кожный зуд, парез кишечника, делирий, задержка мочи. Пожилые пациенты страдали дыхательной недостаточностью и сонным апноэ [14, 40].

Существенную часть российского рынка анальгетических препаратов для купирования средней и сильной боли традиционно составляют синтетические и полусинтетические опиоиды. В настоящее время в развитых странах в качестве активных фармацевтических субстанций используется около 50 наркотических анальгезирующих веществ и их комбинаций, около 60% из них – на основе синтетических опиоидов, остальные 40% – на основе природных опиатов и полусинтетических опиоидов [65].

Немаловажной проблемой наркотических анальгетиков в России является недоступность таких лекарственных средств для пациента в связи со сложностями лицензирования медицинских и аптечных организаций и финансово затратным оборотом данных препаратов. Многие организации прибегают к использованию альтернативных обезболивающих препаратов или просто отказывают в выписке наркотических анальгетиков, что приводит к недостаточному оказанию помощи больному, увеличивая риск возникновения хронических болей. При этом выписка рецепта врачом не гарантирует того, что пациент получит наркотический анальгетик в аптеке, поскольку боязнь нарушить требования оборота препаратов данной группы зачастую приводит к отказу аптечных организаций держать в обороте наркотические препараты [27, 28, 36, 45].

Таким образом, потребность пациентов в России в сильнодействующих анальгетиках обеспечивается менее, чем на 20%, что резко снижает качество оказываемой помощи в целом и исключает персонализированную анальгезию [66].

В качестве решения вышеизложенных проблем актуальна разработка и введение в клиническую практику ненаркотических сильнодействующих анальгетиков [65].

1.3.2 Коеновая кислота и ее производные

Коеновая кислота (5-гидрокси- γ -пирон-2-карбоновая кислота) (рис. 1.1) исследуется учеными на протяжении нескольких последних десятилетий, выявляют все новые направления ее фармакологической активности. Известно, что коеновая кислота обладает антиоксидантной активностью, мягким седативным действием, а также нейротропным, антиабстинентным, анксиолитическим и антидепрессантными свойствами [47, 53, 57, 80].

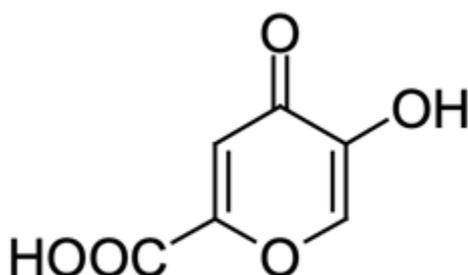


Рисунок 1.1 – Формула коеновой кислоты
(5-гидрокси-4-оксо-4Н-пирон-2-карбоновой кислоты)

Особый интерес вызывают исследования анальгетической активности коеновой кислоты, согласно которым она не только превосходит по обезболивающему действию метамизол натрия, но и не уступает морфина гидрохлориду. Данные исследования, которые были проведены на животных в условиях «формалинового теста» и теста «горячая пластина» (рис. 1.2), показывают, что коеновая кислота является высокоэффективным ненаркотическим анальгетическим средством, способствующим долговременному снятию болевого синдрома, при этом не вызывает зависимости и привыкания [35, 51, 76].

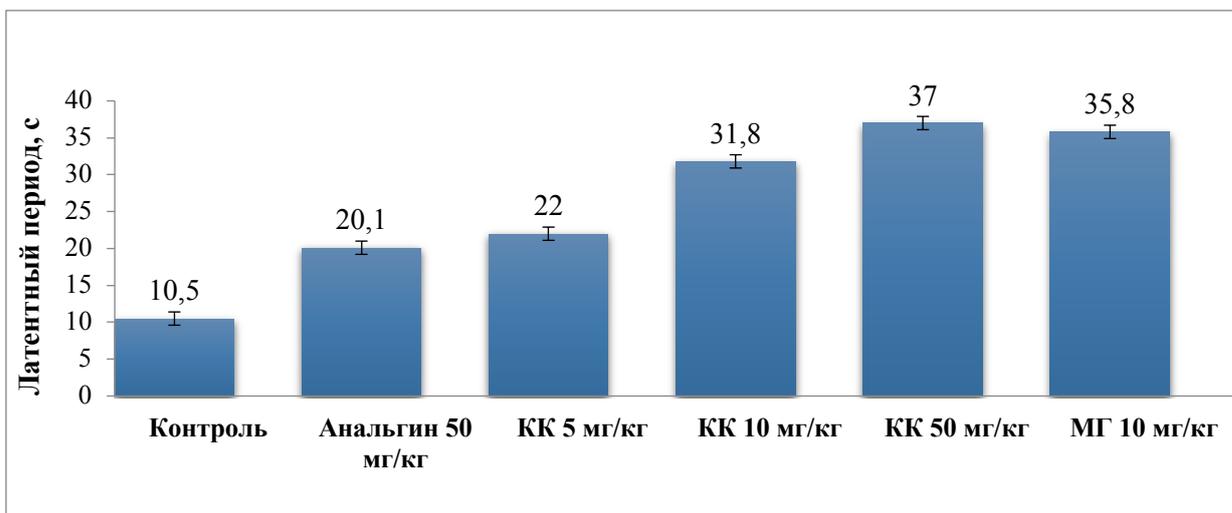


Рисунок 1.2 – Сравнение анальгетической активности коеновой кислоты (КК) с анальгином и морфина гидрохлоридом (МГ) – метод «горячая пластина» [51]

Совместно с этим было доказано, что коеновая кислота существенно купирует абстинентный синдром у крыс с морфиновой зависимостью, при этом сама она зависимости не вызывает [12, 26].

Другие исследования показали, что производные коеновой кислоты, содержащие изоксазольные и изотиазольные фрагменты, оказывают синергетический эффект при совместном использовании с противоопухолевыми препаратами, усиливая их терапевтическое действие [93].

Исследования солей коеновой кислоты показывают, что в определенных условиях они проявляют более выраженное действие по сравнению с коеновой кислотой. Так, например, коенат кальция в условиях стресса животного показывал более интенсивное снижение активации перекисного окисления липидов по сравнению с коеновой кислотой [33].

На отечественном фармацевтическом рынке коеновая кислота входит в состав антисептического лекарственного средства «Бализ-2» – раствора для приема внутрь, местного и наружного применения, предназначенного для лечения раневых повреждений кожного покрова различной этиологии, перитонитов, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, проктологических заболеваний [21, 38, 77].

Коленовая кислота также является действующим веществом незарегистрированного препарата «Аноцептин», обладающего доказанной обезболивающей эффективностью. Исследования данного препарата показали, что оно обеспечивает наступление анальгетического эффекта через несколько минут после парентерального введения и действует в течение 6 часов. При парабубарном введении препарата проявляется длительный противовоспалительный эффект в течение 10 дней. При этом препарат не влиял на рост трансплантируемых опухолей – рака Эрлиха и лимфосаркомы Плисса, а клинические испытания говорят о его безопасности [34, 35].

Таким образом, коленовая кислота и ее производные проявляют различное терапевтическое действие, а их изучение является перспективным направлением для создания новых эффективных лекарственных препаратов.

1.4 Современные технологические аспекты производства инъекционных лекарственных форм

Парентеральные лекарственные средства представляют собой лекарственные формы, предназначенные для введения в организм человека путем инъекций, инфузий или имплантаций. Данная категория лекарственных средств занимает 30% всего фармацевтического рынка. Это связано с их высокой биодоступностью, быстротой наступления терапевтического эффекта и возможностью применения в бессознательном состоянии больного [37]. Однако данные препараты предполагают нарушение целостности кожного покрова при введении, в связи с чем предъявляются повышенные требования к их производству и качеству готового продукта [20].

Особенности производства. Стадии основного технологического процесса классического производства парентеральных лекарственных средств включают: подготовку сырья, приготовление и фильтрацию раствора, наполнение раствором первичной упаковки с последующей укупоркой и герметизацией и финишную стерилизацию (если термическая обработка не влияет на стабильность препарата). Для всех операций производственного процесса характерно большое количество рисков, особенно при трансфере на

производственный участок нового препарата. Одна из существенных сложностей заключается в необходимости учитывать множество факторов, которые могут повлиять на готовый продукт. В том числе при масштабировании важен правильный подбор технологических параметров, включающих производственные условия, оборудование, персонал, производственные методы, упаковку [108].

На сегодняшний день этап развития технологии парентеральных лекарственных средств характеризуется расширением номенклатуры упаковочных материалов, увеличением числа препаратов, не подлежащих финишной стерилизации, усложнением технологических процессов, разнообразием технологического оборудования. Наибольшими темпами развиваются такие элементы технологического оснащения как изоляторы, перчаточные боксы, локальные барьерные устройства. Это обусловлено ростом номенклатуры лекарственных средств, содержащих сильнодействующие активные вещества, и препаратов, производство которых исключает финишную стерилизацию [73].

Технология, предполагающая финишную стерилизацию, является классическим подходом к производству парентеральных лекарственных средств. Качество препарата в данном случае напрямую зависит от четкого соблюдения требований и инструкций и грамотности организации производственных процессов. Асептическое производство ставит более сложные задачи, поскольку гарантия стерильности при отсутствии финишной стерилизации предполагает сложное и дорогостоящее производственное оснащение и использование прогрессивных технологических приемов [19, 72].

На сегодняшний день актуальной остается проблема защиты лекарственного средства на этапе производства от внешних воздействий и, одновременно с этим, защиты работников и окружающей среды от препарата. В связи с этим наблюдается постоянное ужесточение законодательного контроля и регулирования фармацевтического производства (FDA, GMP,

ATEX, Health and Safety), что стимулирует развитие технических решений, основанных на использовании изоляторов и барьерных систем [32, 6].

Основная концепция асептического производства заключается в раздельной стерилизации первичных упаковочных материалов и нерасфасованного продукта с последующей фасовкой в зоне чистоты А (рис. 1.3).

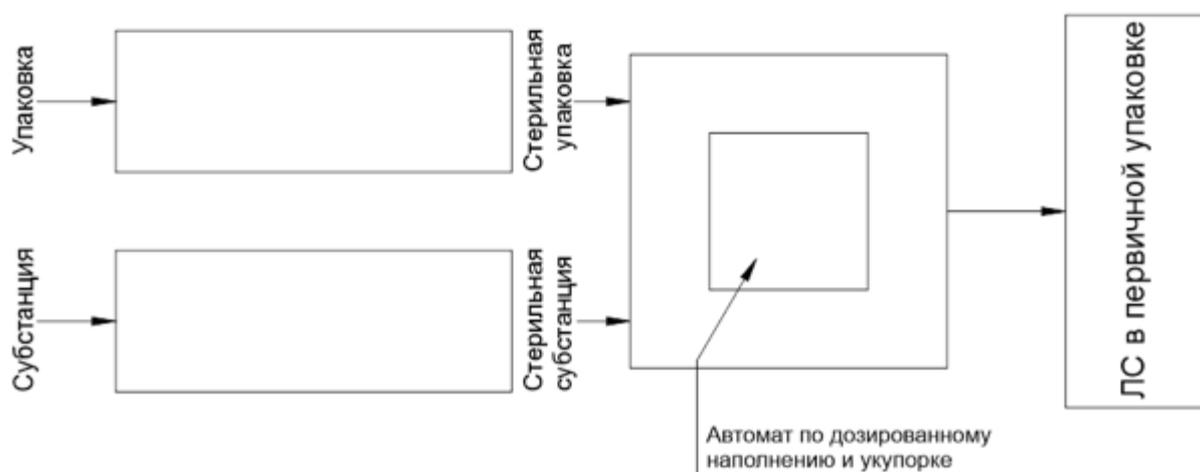


Рисунок 1.3 – Классическая схема производства стерильных лекарственных средств без финишной стерилизации [61]

Современные технические решения делают возможным модернизацию данной концепции при помощи изоляторных технологий и барьерных систем с ограниченным доступом RABS (Reduced Access Barrier System).

Барьерные системы открытого типа. Данные системы предполагают установку защитного барьера из стекла или поликарбоната на оборудование, участвующее в розливе препарата и герметизации первичной упаковки. Такие барьеры, как правило, оснащают перчатками, благодаря чему персонал может выполнять очистку оборудования или совершать вспомогательные манипуляции без угрозы случайного контакта с продуктом.

Открытые барьерные системы бывают пассивного и активного типа. В системах пассивного типа воздушный поток генерируется внешним источником (фенами, фильтрами, через которые поступает воздух в производственное помещение). Барьерные системы активного типа предполагают наличие независимой системы вентиляции воздуха.

RABS открытого типа являются одним из самых экономически доступных и простых барьерных систем, но имеют ряд недостатков: их установка возможна только в помещении класса чистоты В; они не обеспечивают защиту персонала от продукта, поскольку воздух, выбрасываемый в производственное помещение, не предполагает фильтрации и контроля. К недостаткам эксплуатации барьерной системой открытого типа также следует отнести невозможность проведения автоматической дезинфекции и необходимость демонтажа при мойке оборудования [39].

Барьерные системы закрытого типа. RABS закрытого типа, как и барьерные системы активного типа, имеют систему внутренней вентиляции. Однако отличие данных систем заключается в том, что в системах закрытого типа воздух рециркулирует внутри RABS или контролируемо выводится, избегая выбросов в производственное помещение. Такие барьерные системы допускается использовать при производстве продуктов невысокой токсичности, однако, вследствие отсутствия классификации воздухонепроницаемости барьерных систем, они не пригодны для работы с высокотоксичными веществами [39].

Изоляторы. Данные системы являются одними из самых современных и высокотехнологичных на фармацевтическом рынке. В случае применения изоляторных технологий вместо стерильной зоны создается стерильный бокс (рис. 1.4).

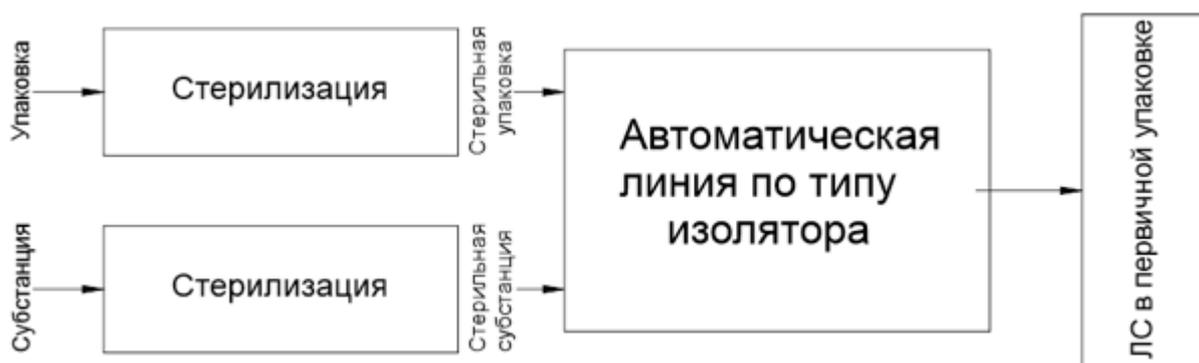


Рисунок 1.4 – Схема производства стерильных лекарственных средств с использованием изоляторных технологий [61]

Изоляторы производят из нержавеющей стали и закаленного стекла. Благодаря их герметичности и конструктивных особенностей возможна установка системы в помещении класса чистоты С. Высокий уровень автоматизации позволяет производить очистку оборудования в полуавтоматическом режиме и полностью автоматизировать процесс дезинфекции. Несмотря на невозможность установки изоляторов на существующее оборудование и их высокую стоимость, данное техническое решение получает все большее признание и широко используется при организации производственных процессов асептической и токсичной продукции [39].

Технология «bottelpack». Данная технология предполагает параллельное изготовление первичной упаковки и получения нерасфасованного продукта (рис. 1.5).



Рисунок 1.5 – Схема производства стерильных лекарственных средств с использованием технологии «bottelpack» [61]

Формирование тары осуществляют из полимерных материалов при температуре 180-250°C, что обеспечивает ее стерильность. Одновременно с этим процессом осуществляют стерилизацию препарата, после чего дозируют продукцию в первичную упаковку в зоне чистоты А.

К данной схеме производства можно отнести как технологию BFS (Blow-Fill-Seal – выдувание-наполнение-запаивание) для производства продукции в полимерных контейнерах, так и FFS (Form-Fill-Seal – формовка-

наполнение-запечатывание), которое предполагает производство лекарственных средств в пластиковых пакетах [39].

Новые подходы к инспектированию. Ужесточение требований к качеству лекарственных средств для парентерального применения и разработка новых продуктов, имеющих свойства, затрудняющие инспектирование (мутные растворы, растворы, склонные к пенообразованию, твердые инъекционные лекарственные формы) стимулируют развитие рынка фармацевтического оборудования. Еще 20 лет назад инспекционные помещения занимали довольно большие производственные площади, поскольку должны были вмещать порядка трех видов контрольных машин: машины для контроля на механические включения, машины для инспекции трещин и проверки на герметичность первичной упаковки, машины для обнаружения косметических дефектов в упаковках. Кроме того, автоматическое инспекционное оборудование было доступно лишь единичным предприятиям. В связи с этим и в силу отсутствия жестких требований к использованию автоматических инспекционных машин, многие производства использовали полуавтоматические инспекционные машины или ручной труд [5].

На сегодняшний день инспектирование парентеральных лекарственных средств без использования автоматических инспекционных машин становится практически невозможным. В первую очередь этому поспособствовало введение обязательного контроля на наличие невидимых частиц. Поскольку при выборе оборудования часто учитывают величину необходимых для установки машины производственных площадей, производительность и технологические среды, требуемые для работы, на фармацевтическом рынке все большее внимание уделяют компактности и функциональности оборудования.

Современный рынок фармацевтической промышленности предлагает техническое оснащение, представляющее собой инспекционные линии и машины, выполняющие многоступенчатую проверку продукции. Таким

образом, оборудование, отличающееся компактностью, позволяет выполнять инспекцию по наличию механических частиц, косметическую инспекцию первичной упаковки, инспекцию наконечника ампулы, уровень заполнения, проверку алюминиевого колпачка, корректность печати на упаковке [42].

Изменились и методы контроля герметичности первичной упаковки. Современные технологии оставили в прошлом инспекцию с использованием красящих агентов в вакуумной камере. Сегодня принцип действия автоматических машин основан на воздействии на первичную упаковку высокого напряжения, что исключает окрашивание стекла и значительно повышает производительность [43,44].

Большое внимание уделяется и вторичной упаковке лекарственного препарата. В связи с введением обязательной маркировки и сериализации, на рынке фармацевтического оборудования образовалось новое направление, предлагающее решения по нанесению идентификационной маркировки на пачку. Поскольку данное оборудование требует установки не только принтера высокого качества печати, но и сопутствующих установок для генерирования цифрового изображения, обмена информацией и контроля качества упаковки, подобные технические решения отличаются высокой стоимостью и по-прежнему вызывают сложности с внедрением данного технологического оснащения на многих предприятиях [37].

Персонал. Человек в фармацевтическом производстве является одной из основных причин всех проблем, возникающих в производственных процессах. Наиболее критичные технологические приемы, как например, асептический розлив, современные технологии позволяют проводить в изоляторах без участия человека, что обусловлено в первую очередь отсутствием контакта персонала со стерильным продуктом. Минимизировать производственные ошибки с участием персонала возможно путем постоянного теоретического и практического обучения и контроля навыков сотрудников. Еще одним важным инструментом в данном случае является написание «рабочих» стандартных операционных процедур и осуществление

производственных процессов строго в соответствии с ними. Данные документы помогают в организации воспроизводимых процессов и предотвращении ошибок на рабочем месте [108].

Первичная упаковка. В разработке технологии производства лекарственных препаратов для парентерального применения важное место занимает выбор первичной упаковки. В первую очередь необходимо определить материал первичной упаковки, поскольку ее непосредственный контакт с препаратом может оказывать влияние на его стабильность. Первичная упаковка должна защищать препарат от воздействия факторов внешней среды, не влиять на физико-химические свойства препарата, быть удобной в применении и экономически целесообразной для производителя.

В качестве материалов для изготовления первичной упаковки для парентеральных препаратов наиболее широко используют стекло и полимеры. Для изготовления полимерной упаковки наиболее часто используют полиэтилен, получаемый при высоком давлении (полиэтилен низкой плотности). Реже используют полипропилен, поливинилхлорид, полиэтиленвинилацетат. Для полимерной первичной упаковки, в отличие от стеклянной, характерна высокая прочность, легкость и пластичность [79].

Однако первичная упаковка из стекла, несмотря на хрупкость материала, остаются наиболее востребованными в рамках производства парентеральных растворов. Современные технологии позволили улучшить качество стеклянных материалов, добиться их высокой химической стойкости и максимальной защиты лекарственного средства. Возможность защитить препарат от УФ-излучения, нанести защитное покрытие от царапин, выбрать форму концов трубок из различных вариантов оформления сохраняет конкурентоспособность стеклянной первичной упаковки на фармацевтическом рынке.

Наиболее востребованными первичными упаковками являются ампулы и флаконы. Данные виды упаковок технологичны на производстве и привычны для конечного потребителя.

Все большее распространение в технологии парентеральных лекарственных средств находят преднаполненные шприцы. Они могут быть выполнены как из стекла, так и из полимерных материалов. К преимуществам такой первичной упаковки с технологической точки зрения можно отнести отсутствие операций, связанных с предварительной подготовкой первичной упаковки (мойкой, стерилизацией). При использовании данной упаковки потребителем отсутствует риск контаминации при наборе препарата в шприц перед инъекцией, а процедура применения значительно упрощается [72].

1.5 Особенности разработки лекарственных средств с учетом концепции Quality-by-Design

Одной из проблем обеспечения планируемого поведения препарата и процессов его производства заключается в отсутствии анализа рисков на этапе разработки.

Традиционно основным критерием качества выпускаемой продукции является приемлемый процент брака. При этом критерием отвалидированного технологического процесса является проверка достижения вероятности соответствия 99,7% опытной партии продукции в ходе постановки продукции на производство. Однако требования потребителей существенно выросли за последние годы, а значительное усложнение продукции, высокая конкуренция на фармацевтическом рынке и требуемая быстрота реакции задают направление риск-ориентированных разработок [46].

Quality-by-Design (QbD) – качество путем разработки – это руководство Международного совета по гармонизации (ICH), содержащее системный подход к разработке лекарственного препарата, который заключается в заранее сформулированных целях и поэтапном анализе и понимании всех стадий получения предполагаемого препарата [17, 70, 91, 92].

QbD подразумевает постоянство производственных процессов и предсказуемого и предопределенного качества препарата, что достигается путем снижения рисков для качества. Данная концепция прежде всего предполагает уход от эмпирического подхода к фармацевтической разработке,

предлагая переход к более механистическому пониманию ее свойств, используя при этом многофакторные эксперименты с применением инструментов процессно-аналитической технологии (PAT) [102, 112].

QbD стремится затронуть все возможные процессы и материалы, которые используются на этапе разработки и будут задействованы в производстве лекарственного препарата, поскольку стабильность качества препарата является прежде всего результатом проектирования, контроля разработанной рецептуры и производственного процесса [102, 110].

Определение профиля препарата. Основу QbD формируют заранее определенные объективные критерии профиля препарата, которые и создают основу для его разработки. В данном ключе разработка может включать следующие этапы планирования:

- предполагаемое использование в клинических условиях: способ системы доставки действующего вещества, лекарственная форма, способ введения препарата;
- дозировка препарата;
- способ доставки действующего вещества, процесс его высвобождения и влияние на данные процессы фармакокинетических свойств;
- критерии качества лекарственного препарата в зависимости от его лекарственной формы [104].

Действующие вещества. Целью разработки препарата в рамках программы QbD является прежде всего достижение потребностей пациента и определение свойств, которыми должен обладать разрабатываемый препарат, чтобы оказывать определенный терапевтический эффект. Разработка продукта должна быть научно обоснованной, систематизированной и основанной на оценке рисков, которые могут возникнуть на пути достижения намеченных целей [102].

Вспомогательные вещества. В рамках QbD вспомогательные вещества можно рассматривать сразу с двух сторон: QbD для вспомогательных веществ и их оценка в рамках QbD производителя готовых лекарственных форм.

Вспомогательные вещества являются важнейшим звеном в разработке препарата, поскольку от их качества и функциональности напрямую зависит эффективность доставки действующего вещества в организме пациента. Важно выбирать хороших поставщиков, поскольку они тестируют вспомогательные вещества в разных условиях и процессах и могут поделиться своими наблюдениями, значительно сократив время разработки [16].

Определение критических параметров показателей качества.

Критические параметры показателей качества – это все свойства и характеристики препарата, которые должны находиться в определенном диапазоне для обеспечения желаемого качества продукта. Данная информация в основном следует из профиля продукта и используется для руководства разработкой препарата, а затем – для управления рисками для качества [104].

Оценка рисков. Традиционно риск определяется как сочетание вероятности причинения вреда и определение тяжести его последствий. Оценка рисков помогает повысить качество технологического процесса, помогает определить критические параметры, которые могут повлиять на качество готовой продукции. Основную концепцию анализа рисков можно определить как оценку рисков, связанную с защитой потребителя, и заранее предпринятые меры для их устранения. Управление рисками – это многоэтапный процесс, который объединяет все подразделения предприятия [104].

Разработка дизайна эксперимента. Экспериментальный план – это многомерная комбинация и взаимодействие исходных переменных. Работа в рамках дизайна прежде всего ведет к созданию продукта с отвечающему определенным требованиям и качеству. Для планирования эксперимента доступны различные математические модели. Их использование предполагает подходы, основанные на своевременном контроле качества промежуточной продукции, а не на окончательном тестировании готового продукта [104].

Разработка и реализация стратегии контроля. Данная стратегия необходима для гарантии того, что параметры процессы и характеристики

используемых материалов и полупродукта находятся в рамках ожидаемых пределов. Все процессы и материалы регулярно контролируются, что в последующем прежде всего позволяет судить об их воспроизводимости. Стратегия контроля имеет большое значение в масштабировании производственных процессов. Зачастую масштабирование осуществляется методом проб и ошибок. В действительности в процессе масштабирования параметры могут отличаться, но атрибуты, влияющие на качество, остаются неизменными, поэтому и требуется стратегия контроля [104].

Принцип постоянного улучшения. Качество препарата можно улучшить на протяжении всего его жизненного цикла. QbD предполагает уход от традиционных замороженных процессов и призывает совершенствовать продукт и подходы к его производству, используя современные технологии и накопленный опыт [104].

В настоящее время подходы, заложенные в руководстве QbD, продолжают развиваться и служат для достижения высоких стандартов качества продукции. Внедрение принципов QbD означает признание концепции, которая заключается в том, что: «Качество не может быть проверено на продукции, оно должно быть заложено при разработке».

Таким образом, на этапе разработки лекарственных средств необходимо руководствоваться рекомендациями руководств ICH Q8, неотъемлемой частью которого является научный подход к планированию экспериментов при разработке.

В России руководство QbD до недавнего времени носило рекомендательный характер. Однако игнорирование инструментов, используемых лидерами мирового рынка, может привести к потере конкурентоспособности отечественного рынка и отставанию в инновациях фармацевтической технологии [17].

1.6 Особенности разработки инъекционного лекарственного препарата в рамках действующего фармацевтического предприятия

Одной из главных задач при разработке препарата, который будет производиться в условиях уже действующего предприятия, – убедиться в возможностях производственной площадки и провести аудит предприятия для выявления рисков, которые могут повлиять на качество разрабатываемого препарата [89].

Все большее количество предприятий используют для производства инъекционных препаратов условия асептического розлива. С одной стороны, данные методы производства предполагают максимальную защиту продукта от окружающей производственной среды, с другой – исключают финишную стерилизацию, повышая вероятность микробиологической загрязненности готовой продукции.

Важным этапом для разработки препаратов на таком предприятии является проверка соответствия его действующей практики и организации производства актуальным требованиям законодательства. При этом важно убедиться не только в соответствии тем требованиям, которые действуют в настоящее время, но и проанализировать те изменения и нововведения, которые ожидаются в ближайшее время, в особенности если планируется выход разрабатываемого препарата на зарубежный рынок.

Одной из главных задач аудита предприятия является разработка плана и протокола аудита, а также алгоритм работы с ними. Основой протокола аудита является оценочная таблица, в которой представлены требования, ожидаемые от производства и поля для проставления оценок, отражающих реальную ситуацию. При работе с протоколом все несоответствия можно разделить на несоответствия, требующие модернизации производства (закупку оборудования, перепланировку помещений, установку контрольно-измерительных приборов и др.) и несоответствия, которые требуют работы с внутренней документацией. Далее все несоответствия необходимо оценить на

предмет критичности относительно производства в рамках выпуска разрабатываемого препарата [94].

Несоответствия можно оценить, используя различные методы анализа рисков. Одним из инструментов для эффективного анализа рисков является метод НАССР (Hazard analysis and critical control points), который направлен на понимание процесса или продукта путем определения параметров для контроля и мониторинга. Согласно Серии технических отчетов ВОЗ № 908 (2003 г.), НАССР является систематизированным методом выявления, оценки и контроля рисков [10, 15, 88].

Наиболее эффективным результатом работы с рисками является сочетание количественной и качественной оценки. Так, к примеру, метод FMEA (Failure modes and effects analysis), который предназначен для оценки потенциальных сбоев процессов, а также возможных последствий этих сбоев. Метод FMEA позволяет провести количественный анализ рисков выявленных в ходе аудита несоответствий, определяя числовую связь между серьезностью, вероятностью и возможностью обнаружения несоответствий и риском, связанным с ними [94].

Важным шагом является оценка возможности устранения несоответствий и связи между общей оценкой риска и действиями, которые позволят его устранить или снизить выявленный риск [94].

Каждый из потенциальных рисков, вызванных несоответствием, должен быть количественно оценен, после чего возможно расставление приоритетности выявленных несоответствий и разработка плана по их устранению.

Таким образом, аудит предприятия может снизить риски до уровня, на котором возможно их принятие, а критические риски перевести в группу умеренных [94].

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1

На основе анализа данных, представленных в научной литературе, можно сделать следующие выводы:

1. Исследования, реализуемые в рамках эндоваскулярной хирургии, являются перспективным направлением в связи с ее широким распространением в клинической практике. Особый интерес представляют исследования в области химиоэмболизации микросферами как современного метода рентгенохирургии.

2. Представлена сравнительная характеристика эмболизирующих материалов для эндоваскулярной хирургии и перспектива использования микросфер в данной области.

3. Коленовая кислота способна проявлять анальгетическое действие, сопоставимое с анальгетиками большой группы, что позволяет рассматривать ее в качестве перспективного активного компонента сильнодействующего ненаркотического обезболивающего препарата.

4. При планировании экспериментальных этапов разработки лекарственных препаратов в настоящее время необходимо использовать концепцию Quality-by-Design для внедрения качества в лекарственный препарат на этапе его создания.

5. Приведен анализ современных технологических аспектов производства инъекционных лекарственных форм и особенности разработки парентеральных препаратов в рамках действующего предприятия. Показана необходимость контроля условий производства, в том числе посредством проведения аудита производственной площадки.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнялась на кафедре промышленной технологии лекарственных препаратов ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Нарботка опытно-промышленных партий растворов коеновой кислоты и полимерных микросфер проводилась на базе фармацевтического предприятия ООО «Фарма Ген».

2.1 Объекты исследования

Полимерные микросферы

Объектом исследования стали полимерные микросферы на основе этилакрилата и винилацетата размерных диапазонов 55-70 мкм, 80-105 мкм, 125-145 мкм, 160-200 мкм (в ненасыщенном состоянии) (рис. 2.1, а).



а



б

Рисунок 2.1 – Фото объектов исследования:

а – полимерные микросферы; б – субстанция коеновой кислоты

Полимерные микросферы представляют собой лиофилизированный порошок белого цвета из сферических частиц разных размерных диапазонов во флаконах. Один флакон содержит 25 мг микросфер. Возможно насыщение микросфер различными растворителями: водой, 0,9% раствором натрия хлорида, лекарственными средствами. При насыщении микросферы увеличиваются в диаметре в несколько раз в зависимости от их размерного

диапазона и насыщаемого раствора. Насыщенные микросферы представляют собой эластичные частицы, способные сорбировать лекарственные средства с дальнейшей возможностью их высвобождения.

Коеновая кислота (субстанция)

Субстанция коеновой кислоты (ООО «Фарма Ген», Россия) представляет собой порошок белого цвета с желто-серым оттенком с кристаллической структурой (рис. 2.1, б), имеет легкий специфический запах.

Доксорубицина гидрохлорид (цитостатический препарат)

В качестве лекарственного препарата для насыщения полимерных микросфер использовали доксорубицина гидрохлорид в дозировке 50 мг (Доксорубицин-ЛЭНС, Верофарм, Россия (Р N000005/01)).

Доксорубицина гидрохлорид – цитостатический антрациклиновый антибиотик. Выпускается в виде лиофилизата для приготовления раствора для внутрисосудистого и внутрипузырчатого введения. Представляет собой пористую массу красного цвета; гигроскопичен. Успешно используется для насыщения полимерных микросфер с целью проведения химиоэмболизации в рентгенохирургии. В научных исследованиях применяется для контроля равномерности насыщения полимерных микросфер, определения их сорбционной емкости и изучения динамики десорбции [90, 95, 97].

Вспомогательные вещества

Для разработки раствора на основе субстанции коеновой кислоты использовались следующие вспомогательные вещества:

Гидрокарбонат натрия (NaHCO_3)

Белый или почти белый кристаллический порошок без запаха; растворим в воде. Содержание основного вещества: 99,0-100,5%.

Производитель: Ranheas, Германия (Ph. Eur.).

Гидроксид натрия (NaOH)

Порошок, представляющий собой цилиндрические палочки с кристаллической структурой на изломе; сильно гигроскопичен; хорошо растворим в воде и спирте. Содержание основного вещества: не менее 98,0%.

Производитель: Ranгeас, Германия (Ph. Eur.).

2.2 Растворители и реактивы

Ацетонитрил (СН₃СN) для хроматографии, сорт 0 (осч)

Бесцветная прозрачная жидкость с резким запахом. Легко растворяется в воде и различных органических растворителях. Содержание воды: не более 0,03%. Используется в качестве элюента в жидкостной хроматографии.

Производитель: КРИОХРОМ, Россия (ТУ 2634-002-54260861-2013).

Калий фосфорнокислый однозамещенный (КН₂РО₄), хч

Бесцветные кристаллы, растворимые в воде; слабо гигроскопичны. Содержание основного вещества: не менее 99,5%. Используется для приготовления подвижной фазы в хроматографии.

Производитель: ЛенРеактив, Россия (ГОСТ 4198-75).

Тетрабутиламмония гидросульфат (С₁₆Н₃₇NO₄S)

Белый порошок, растворимый в воде; гигроскопичен. Содержание основного вещества: не менее 99,0%. Используется для приготовления подвижной фазы в хроматографии.

Производитель: Sigma Aldrich, США (Ph. Eur.).

Натрий фосфорнокислый 1-замещенный 2-водный (NaН₂РО₄·2Н₂О)

Кристаллы белого цвета, растворимые в воде. Содержание основного вещества: 98,0-100,5%. Используется для приготовления фосфатных буферных растворов.

Производитель: Ranгeас, Германия (Ph. Eur.).

Вода очищенная (ФС.2.2.0020.18)

Бесцветная прозрачная жидкость без запаха.

Вода для инъекций (ФС.2.2.0019.18)

Бесцветная прозрачная жидкость без запаха.

Калия гидроксид (КОН), хч

Гранулы чечевицеобразной формы, хорошо растворимые в воде и спирте; сильно гигроскопичны. Содержание основного вещества: не менее 86,0%. Используется для приготовления подвижной фазы в хроматографии.

Производитель: ЛенРеактив, Россия (ГОСТ 24363-80).

Натрия хлорид-Солофарм раствор для инфузий 0,9%

Прозрачная бесцветная жидкость.

Производитель: Гротекс, Россия (ЛП-002485).

2.3 Оборудование и средства измерения

- весы МВ 210-А; диапазон измерения: 0,001-210 г; отклонение: 0,03-0,1 г (Сартогосм, Россия);
- весы ВК-3000.1; диапазон измерения: 5-3000 г; отклонение: 0,1 г (Massa-K, Россия);
- хроматограф жидкостной/ионный «Стайер» (НПК Аквилон, Россия);
- аналитическая колонка Luna 5 мкм С18(2) 100А (Phenomenex, США);
- шейкер орбитальный SHAKER S-3 (ELMI, Латвия);
- шейкер орбитальный OS-20 (Biosan, Латвия);
- спектрофотометр СФ-2000 (Спектр, Россия);
- рН-метр РВ-11 (Sartorius, Франция);
- рН-электрод BlueLine 15 рН; диапазон рН от 0 до 14; платиновая диафрагма; система сравнения Ag/AgC (Si Analytics, Германия);
- микроскоп Levenhuk D320L с цифровой камерой (Levenhuk, США);
- термостат лабораторный суховоздушный ТС-1/80 СПУ (Смоленское СКТБ СПУ, Россия);
- фильтры шприцевые с полиэфирсульфоновой мембраной 0,45 мкм (Jet Biofil, Китай);
- фильтры мембранные, нейлон 0,45 мкм Phenex (Phenomenex, США);

- дозатор автоматический 10-200 мкл Thermo Scientific (Thermo Fisher Scientific, США);
- дозатор автоматический 500-5000 мкл Thermo Scientific (Thermo Fisher Scientific, США);
- насос вакуумный Microsart maxi vac (Sartorius, Франция);
- термогигрометр ИВА-6 (Микрофор, Россия);
- влагомер термогравиметрический МА-150 (Sartorius, Франция);
- мешалка магнитная ПЭ-6100 (Экрос, Россия).

2.4 Методы исследования полимерных микросфер

Насыщение полимерных микросфер доксорубицина гидрохлоридом

Во флакон с 50 мг лиофилизированного доксорубицина гидрохлорида добавляли 20 мл 0,9% раствора натрия хлорида. Полученный раствор перемешивали при помощи шейкера SHAKER S-3 в течение двух часов до полного растворения доксорубицина гидрохлорида.

25 мг полимерных микросфер отвешивали на весах МВ 210-А в полимерной пробирке типа фалькон (далее по тексту – фалькон), после чего приливали к микросферам раствор доксорубицина гидрохлорида и перемешивали вручную путем встряхивания пробирки.

Насыщение полимерных микросфер раствором коеновой кислоты

25 мг полимерных микросфер отвешивали на весах МВ 210-А в фальконе, после чего приливали к микросферам 10 мл раствора коеновой кислоты, приготовленного по п. 5.1, и перемешивали вручную путем встряхивания фалькона.

Анализ сорбции доксорубицина гидрохлорида полимерными микросферами

25 мг полимерных микросфер насыщали раствором доксорубицина гидрохлорида в соответствии с п. 2.4 (Насыщение полимерных микросфер доксорубицина гидрохлоридом). Раствор с микросферами перемешивали

вручную дважды в течение 5 секунд каждые 5 минут. Анализ осуществляли путем отбора пробы надосадочной жидкости и контроля в ней количественного содержания доксорубицина гидрохлорида методом спектрофотометрии на приборе СФ-2000 при длине волны 481 нм. В качестве раствора сравнения использовали 0,9% раствор натрия хлорида. В течение первого часа исследования пробу отбирали каждые 5 минут, далее – каждые 10 минут. При высоких концентрациях доксорубицина гидрохлорида пробу разбавляли 0,9% раствором натрия хлорида. Анализ продолжали до сорбции полимерными микросферами не менее 98% доксорубицина гидрохлорида.

Процент сорбции доксорубицина гидрохлорида полимерными микросферами определяли по формуле 2.1:

$$\% \text{ Сорбции} = \frac{m_{d0} - ((-0,03 \cdot \ln(T) + 0,1372) \cdot V_{d0} \cdot k)}{m_{d0}} \cdot 100\% \quad (2.1)$$

где:

m_{d0} – начальная масса доксорубицина гидрохлорида в растворе, мг;

V_{d0} – начальный объем раствора доксорубицина гидрохлорида, мл;

k – коэффициент разбавления пробы;

$-0,03 \cdot \ln(T) + 0,1372$ – логарифмическое выражение закона Бугера-Ламберта-Бера для доксорубицина гидрохлорида;

T – коэффициент пропускания, %.

Исследование проводили до сорбции полимерными микросферами не менее 95% доксорубицина гидрохлорида.

Анализ десорбции доксорубицина гидрохлорида из полимерных микросфер

Исследование десорбции доксорубицина гидрохлорида проводили в соответствии с разработанной методикой, описанной в главе 3.

25 мг полимерных микросфер насыщали раствором доксорубицина гидрохлорида в соответствии с п. 2.4 (Насыщение полимерных микросфер

доксорубицина гидрохлоридом) или использовали насыщенные микросферы после анализа сорбции.

Насыщенные микросферы помещали в плоскодонную колбу объемом 1000 мл и добавляли 500 мл 0,9% раствора натрия хлорида. Колбу термостатировали при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ при постоянном перемешивании при помощи шейкера OS-20 со скоростью 50 об/мин.

Анализ осуществляли путем отбора пробы надосадочной жидкости и контроля в ней количественного содержания доксорубицина гидрохлорида методом спектрофотометрии на приборе СФ-2000 при длине волны 481 нм. В качестве раствора сравнения использовали 0,9% раствор натрия хлорида. В течение первого дня исследования пробу отбирали каждый час в течение 3-5 часов, далее – один раз в день. Часть надосадочной жидкости ежедневно заменяли на свежий 0,9% раствор натрия хлорида для избегания установления в ней равновесной концентрации доксорубицина гидрохлорида.

Процент десорбции доксорубицина гидрохлорида полимерными микросферами определяли по формуле 2.2:

$$\% \text{ Десорбции} = \frac{(-0,03 \cdot \ln(T) + 0,1372) \cdot V_{\text{р-ра}} + m_{\text{дуд}}}{m_{\text{д0}}} \cdot 100\% \quad (2.2)$$

где:

$m_{\text{д0}}$ – начальная масса доксорубицина гидрохлорида в растворе, мг;

$m_{\text{дуд}}$ – масса доксорубицина гидрохлорида, удаленная из системы вследствие замены надосадочной жидкости на свежий 0,9% раствор натрия хлорида;

$V_{\text{р-ра}}$ – объем раствора в колбе, мл;

$-0,03 \cdot \ln(T) + 0,1372$ – логарифмическое выражение закона Бугера-Ламберта-Бера для доксорубицина гидрохлорида;

T – коэффициент пропускания, %.

Исследование проводили в течение 30 дней.

Герметичность флаконов

Проверку герметичности первичной упаковки проводили следующим образом: флаконы погружали в воду на глубину 300 мм и выдерживали в течение 60 с. Упаковку считали герметичной, если отсутствовало выделение пузырьков воздуха.

2.5 Методы исследования субстанции коеновой кислоты

Кристалличность

Кристалличность субстанции изучали при помощи микроскопа Levenhuk D320L (США) в соответствии с ОФС.1.1.0018.15 «Кристалличность» [20].

Потеря в массе при высушивании

Потерю в массе при высушивании сырья измеряли при помощи влагомера термогравиметрического инфракрасного МА-150. Определение влажности сырья проводили при температуре 100-102°C, масса навески – 2 г.

Степень сыпучести

Степень сыпучести субстанции определяли в соответствии с ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков» [20] по двум критериям: угол естественного откоса и насыпной объем.

Угол естественного откоса определяли, насыпая субстанцию в виде конуса на ровную поверхность и измеряя угол откоса при помощи транспортира. О степени сыпучести субстанции судили по величине угла откоса в соответствии с табл. 2.1.

Таблица 2.1 – Степень сыпучести порошков и соответствующий угол естественного откоса

Степень сыпучести	Угол естественного откоса, град
Очень хорошая	25-30
Хорошая	31-35
Удовлетворительная	36-45
Неудовлетворительная	46-55

Плохая	56-65
Очень плохая	более 66

Для определения насыпного объема в 100 мл цилиндр насыпали навеску субстанции массой 50 г и фиксировали насыпной объем.

По полученным результатам вычисляли насыпную плотность по формуле 2.3:

$$\text{Насыпная плотность (г/мл)} = \frac{m}{V_0} \quad (2.3)$$

где:

m – масса навески субстанции, г;

V_0 – насыпной объем, мл.

Растворимость

Растворимость субстанции определяли в соответствии с ОФС 1.2.1.0005.15 «Растворимость» [20].

Навеску субстанции массой 1 г растирали в тонкий порошок и прибавляли 1 мл растворителя, после чего непрерывно встряхивали в течение 10 мин. Если субстанция полностью растворилась, считали ее очень легко растворимой.

Если субстанция растворялась не полностью, то к 100 мг растертой субстанции прибавляли 1 мл растворителя и проводили растворение по вышеуказанной методике. Если субстанция растворялась, ее считали легко растворимой.

Если субстанция растворялась не полностью, то добавляли 2 мл растворителя и продолжали растворение. Если субстанция полностью растворялась, считали ее растворимой.

Если субстанция растворялась не полностью, то добавляли 7 мл растворителя и продолжали растворение. Если субстанция полностью растворялась, считали ее умеренно растворимой.

Если субстанция растворялась не полностью, то к 10 мг растертой субстанции прибавляли 10 мл растворителя и проводили растворение по

вышеуказанной методике. Если субстанция растворялась, ее считали мало растворимой.

Если субстанция растворялась не полностью, то к 10 мг растертой субстанции прибавляли 100 мл растворителя и проводили растворение по вышеуказанной методике. Если субстанция растворялась, ее считали очень мало растворимой.

Если субстанция не растворялась, ее считали практически не растворимой в данном растворителе.

Подлинность

Подлинность субстанции определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в соответствии с ОФС.1.2.1.2.0005.15 «Высокоэффективная жидкостная хроматография» [20] путем сравнения хроматограммы раствора исследуемого образца с хроматограммой раствора РСО. Выводы о подлинности делали при соответствии времени удерживания основного пика на хроматограмме образца времени удерживания пика на хроматограмме раствора РСО.

Условия хроматографирования, приготовление раствора РСО и подвижной фазы осуществляли в соответствии с методикой, описанной в разделе 2.7 (Количественное содержание коеновой кислоты).

Приготовление раствора исследуемого образца. 25 мг (точная навеска) субстанции помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в подвижной фазе и доводили объем раствора подвижной фазой до метки.

Массовая доля коеновой кислоты в субстанции

Массовую долю коеновой кислоты в субстанции определяли методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС.1.2.1.2.0005.15 «Высокоэффективная жидкостная хроматография» [20]. Условия хроматографирования, приготовление раствора РСО и подвижной фазы осуществляли в соответствии с методикой, описанной в разделе 2.7 (Количественное содержание коеновой

кислоты). Приготовление раствора исследуемого образца осуществляли в соответствии с разделом 2.5 (Подлинность).

Массовую долю коеновой кислоты в субстанции (X , %) вычисляли по формуле 2.4:

$$X = \frac{S_x \cdot a_0}{S_0 \cdot a_x} \cdot \omega \quad (2.4)$$

где:

S_x – площадь пика коеновой кислоты на хроматограмме исследуемого раствора (mAU·сек);

S_0 – площадь пика коеновой кислоты на хроматограмме раствора РСО (mAU·сек);

a_x – масса навески субстанции коеновой кислоты (г);

a_0 – масса навески РСО (г);

ω – массовая доля коеновой кислоты в РСО (%).

Примеси

Процентное содержание примесей коеновой кислоты в субстанции определяли методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС.1.2.1.2.0005.15 «Высокоэффективная жидкостная хроматография» [20]. Условия хроматографирования, приготовление раствора РСО и подвижной фазы осуществляли в соответствии с методикой, описанной в разделе 2.7 (Количественное содержание коеновой кислоты). Приготовление раствора исследуемого образца осуществляли в соответствии с разделом 2.5 (Подлинность).

Массовую долю примесей в субстанции (X , %) вычисляли по формуле 2.5:

$$X = \left(\frac{\sum S_i}{S} \right) \cdot 100 \quad (2.5)$$

где:

S – сумма площадей всех пиков на хроматограмме (%);

S_i – площадь единичной примеси (%);

$\sum S_i$ – сумма площадей всех дополнительных пиков (%).

Остаточные органические растворители

Контроль субстанции на содержание органических растворителей осуществляли в соответствии с ОФС.1.1.0008.15 «Остаточные органические растворители» [20]. Заключение о содержании остаточных растворителей в субстанции коеновой кислоты делали на основании протоколов анализа ООО «Фарма Ген».

Тяжелые металлы

Контроль субстанции на содержание тяжелых металлов осуществляли в соответствии с ОФС.1.2.2.2.0012.15 «Тяжелые металлы» [20]. Заключение о количественном содержании тяжелых металлов в субстанции коеновой кислоты делали на основании протоколов анализа ООО «Фарма Ген».

2.6 Методы расчета количественного соотношения компонентов для растворов коеновой кислоты

Расчет компонентного соотношения для растворов коеновой кислоты, нейтрализованной гидрокарбонатом натрия

Расчет производили в соответствии с реакцией, протекающей при взаимодействии коеновой кислоты с гидрокарбонатом натрия (рис. 2.2).

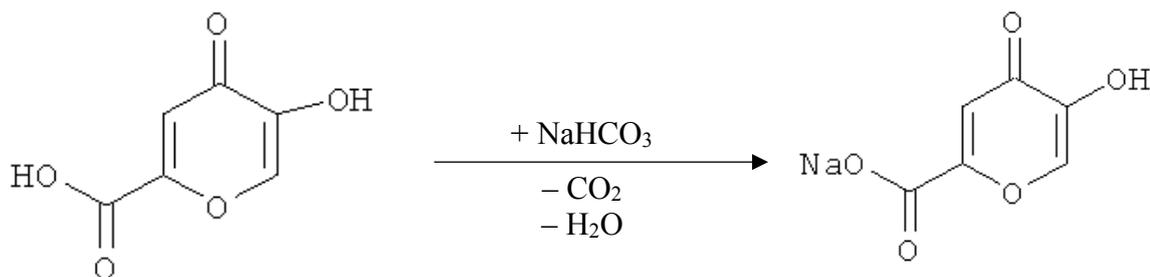


Рисунок 2.2 – Схема реакции взаимодействия коеновой кислоты с гидрокарбонатом натрия

Для расчета массы гидрокарбоната натрия, необходимого для проведения реакции, использовали формулу 2.6:

$$m(\text{NaHCO}_3) = \frac{m(\text{KK})}{M(\text{KK})} \cdot M(\text{NaHCO}_3) \quad (2.6)$$

где:

$m(\text{NaHCO}_3)$ – масса гидрокарбоната натрия, г;

$m(\text{KK})$ – масса коеновой кислоты, г;

$M(\text{KK})$ – молярная масса коеновой кислоты, г/моль;

$M(\text{NaHCO}_3)$ – молярная масса гидрокарбоната натрия, г/моль.

Расчет компонентного соотношения для растворов коеновой кислоты, нейтрализованной гидроксидом натрия

Расчет производили в соответствии с реакцией, протекающей при взаимодействии коеновой кислоты с гидроксидом натрия (рис. 2.3).

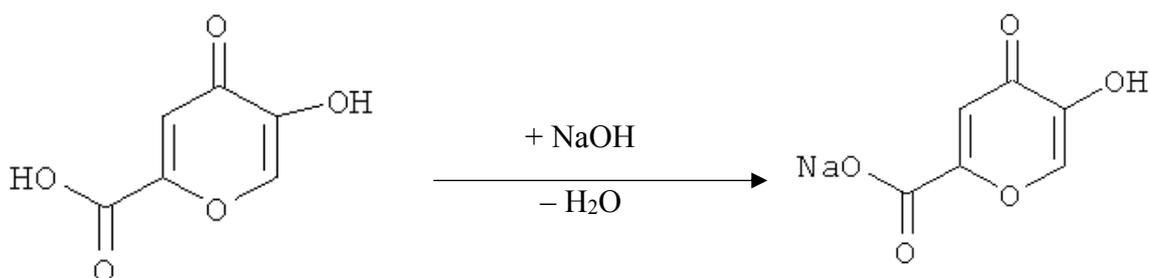


Рисунок 2.3 – Схема реакции коеновой кислоты с гидроксидом натрия

Для расчета объема 10% раствора гидроксида натрия, необходимого для проведения реакции использовали формулу 2.7:

$$V(\text{NaOH}) = \frac{m(\text{KK}) \cdot M(\text{NaOH})}{M(\text{KK}) \cdot \rho(\text{NaOH})} \quad (2.7)$$

где:

$V(\text{NaOH})$ – объем 10% раствора гидроксида натрия, мл;

$m(\text{KK})$ – масса коеновой кислоты, г;

$M(\text{KK})$ – молярная масса коеновой кислоты, г/моль;

$M(\text{NaOH})$ – молярная масса гидроксида натрия, г/моль;

$\rho(\text{NaOH})$ – плотность 10% раствора гидроксида натрия, г/мл.

2.7 Методы исследования растворов коеновой кислоты

Описание

Оценку растворов коеновой кислоты по внешнему виду проводили визуально в соответствии с ОФС.1.4.1.0011.18 «Растворы» [20].

Стерильность

Контроль стерильности растворов коеновой кислоты проводили методом мембранной фильтрации в соответствии с ОФС.1.2.4.0003.15 «Стерильность» [20]. Заключение о стерильности растворов коеновой кислоты делали на основании протоколов анализа ФГБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии № 122 федерального медико-биологического агентства».

Определение pH

Значение pH определяли потенциометрически в соответствии с ОФС.1.2.1.0004.15 «Ионометрия» [20] при помощи pH-метра Sartorius PB-11 (Франция).

Количественное содержание коеновой кислоты

Количественное содержание коеновой кислоты в растворах определяли методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС.1.2.1.2.0005.15 «Высокоэффективная жидкостная хроматография» [20] на хроматографе «Стайер» (Россия).

125 мкл образца помещали в фалькон и прибавляли 475 мкл подвижной фазы при помощи автоматического дозатора. В жидкостный хроматограф последовательно делали инъекцию испытуемого образца и раствора РСО объемом по 10 мкл.

Условия хроматографирования:

- колонка из нержавеющей стали размером 250x4,6 мм Luna, заполненная сферическим силикагелем типа C18(2), размер зернения 5 мкм, пористость 100А;
- температура 20±2°C;

- скорость потока – 1 мл/мин;
- рабочая длина волны УФ-детектора – 285 нм.

Приготовление раствора РСО. 25 мг (точная навеска) коеновой кислоты помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в подвижной фазе и доводили объем раствора подвижной фазой до метки.

Приготовление буферного раствора. В мерную колбу вместимостью 500 мл помещали 0,68 г калия фосфорнокислого однозамещенного, 1,695 г тетрабутиламмония гидросульфата и 450 мл воды очищенной. рН раствора доводили до значения 4,5 добавлением 10% раствора калия гидроксида (потенциометрически). Объем раствора доводили до метки водой очищенной. Приготовленный буферный раствор фильтровали через мембранный фильтр 0,45 мкм методом вакуумной фильтрации.

Приготовление подвижной фазы. Буферный раствор смешивали с ацетонитрилом в соотношении 70:30.

Содержание коеновой кислоты в 1 мл исследуемого раствора вычисляли по формуле 2.8:

$$X = \frac{S_{\text{обр}} \cdot m_{\text{н}} \cdot V_{\text{исп}} \cdot K \cdot 1000}{S_{\text{сто}} \cdot V_{\text{сто}} \cdot V_{\text{а}} \cdot 100} \quad (2.8)$$

где:

$S_{\text{обр}}$ – площадь пика коеновой кислоты на хроматограмме исследуемого раствора, (mAU·сек);

$m_{\text{н}}$ – масса навески стандартного образца, г;

$V_{\text{исп}}$ – объем испытуемого раствора, мл;

K – содержание коеновой кислоты в субстанции, %;

$S_{\text{сто}}$ – площадь пика коеновой кислоты на хроматограмме раствора РСО, (mAU·сек);

$V_{\text{сто}}$ – объем раствора РСО, мл;

$V_{\text{а}}$ – объем аликвоты исследуемого раствора, мл.

Подлинность

Подлинность растворов коеновой кислоты определяли методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС.1.2.1.2.0005.15 «Высокоэффективная жидкостная хроматография» [20] путем сравнения хроматограммы исследуемого раствора с хроматограммой раствора РСО. Хроматограммы получали в соответствии с методикой, описанной в разделе 2.7 (Количественное содержание коеновой кислоты). Исследуемый образец считали подлинным при соответствии времени удерживания основного пика на хроматограмме образца времени удерживания пика на хроматограмме раствора РСО.

Пирогенность

Испытание на пирогенность проводили в соответствии с ОФС 1.2.4.0005.15 «Пирогенность» [20]. Заключение о пирогенности растворов коеновой кислоты делали на основании протоколов анализа ЦККЛС ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета».

Герметичность ампул

Проверку герметичности первичной упаковки проводили следующим образом: ампулы погружали в воду на глубину 300 мм и выдерживали в течение 60 с. Упаковку считали герметичной, если отсутствовало выделение пузырьков воздуха.

2.8 Методы статистической обработки полученных данных

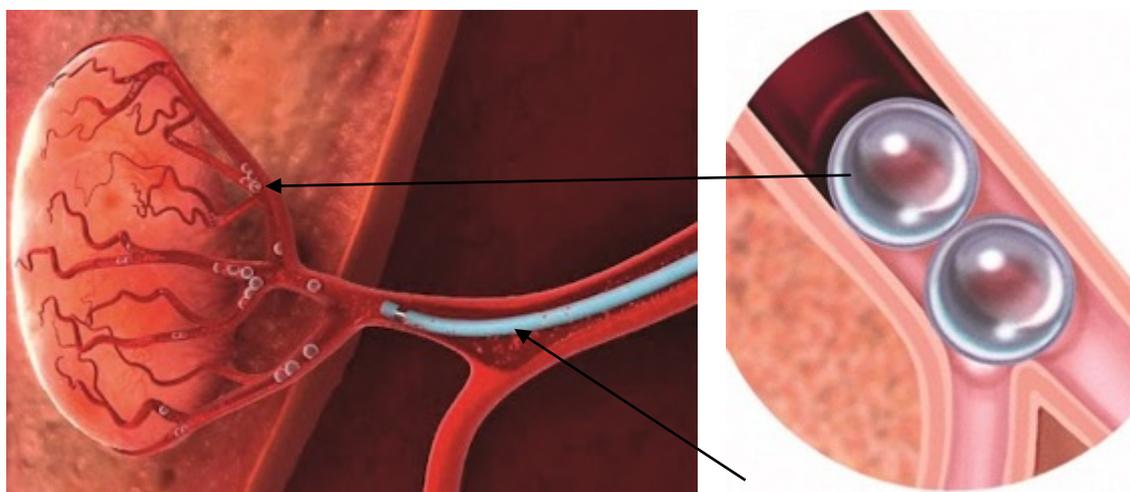
Статистическую обработку результатов проводили в соответствии с ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» [20].

Числовые данные, приводимые в таблицах, представлены в виде: средняя арифметическая (M) \pm ошибка среднего (m). Уровень доверительной вероятности был задан равным 95%.

ГЛАВА 3. СТАНДАРТИЗАЦИЯ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИМЕРНЫХ МИКРОСФЕР

Исследуемые полимерные микросферы получают путем сополимеризации винилацетата с метилакрилатом [54]. Они представляют собой лиофилизированный порошок белого цвета из сферических гидрофильных частиц разных размерных диапазонов. Полимерные микросферы являются насыщаемыми, в следствие чего их идентифицируют двумя размерными диапазонами: исходный размер в сухом виде и рабочий размер в насыщенном состоянии. При насыщении микросфер 0,9% раствором натрия хлорида их размер увеличивается в 3-4 раза в зависимости от их исходного размерного диапазона.

Полимерные микросферы используют для эмболизации – локальной искусственной окклюзии (закупорки) кровеносного канала с целью ограничения или прекращения питания тканей, в которых наблюдается развитие нежелательного образования (рис. 3.1).



Катетер для введения микросфер

Рисунок 3.1 – Эмболизация кровеносных каналов микросферами

Более эффективным методом является химиоэмболизация, которая предполагает предварительное насыщение полимерных микросфер лекарственным средством, что позволяет параллельно с тромбированием угнетать опухоль, уничтожая ее клетки.

Вышеописанное применение полимерных микросфер определяет требования к их основным характеристикам. Они должны: быть эластичными для обеспечения прохождения через катетер; принимать прогнозируемые размеры в физиологических жидкостях для минимизации риска неконтролируемого закупоривания кровеносных каналов; эффективно сорбировать противоопухолевые средства и контролируемо высвобождать их в месте окклюзии.

Начальным этапом проведения стандартизации процесса получения полимерных микросфер стало изучение существующей технологии и составления процессуальной схемы производства (рис. 3.2).

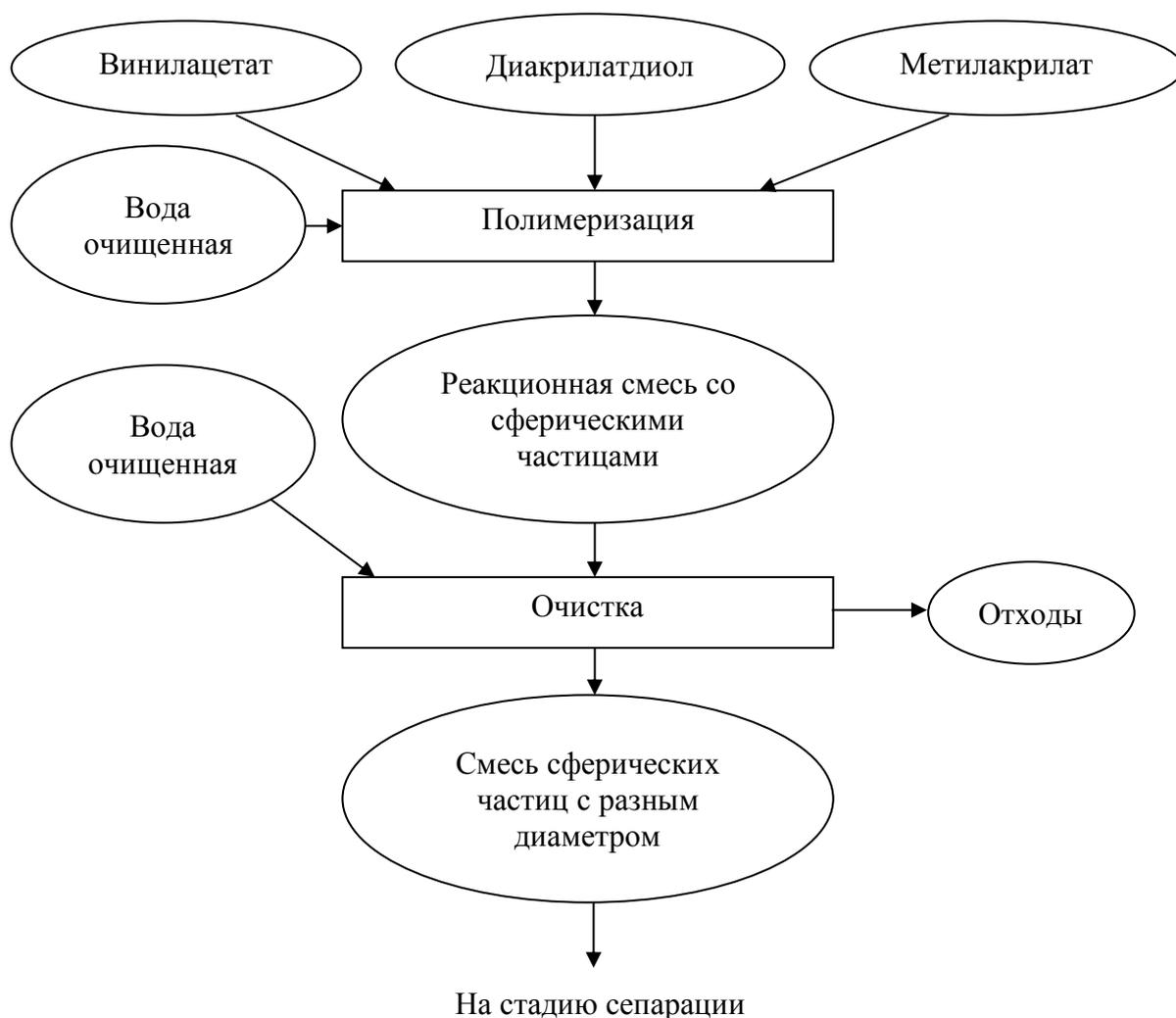
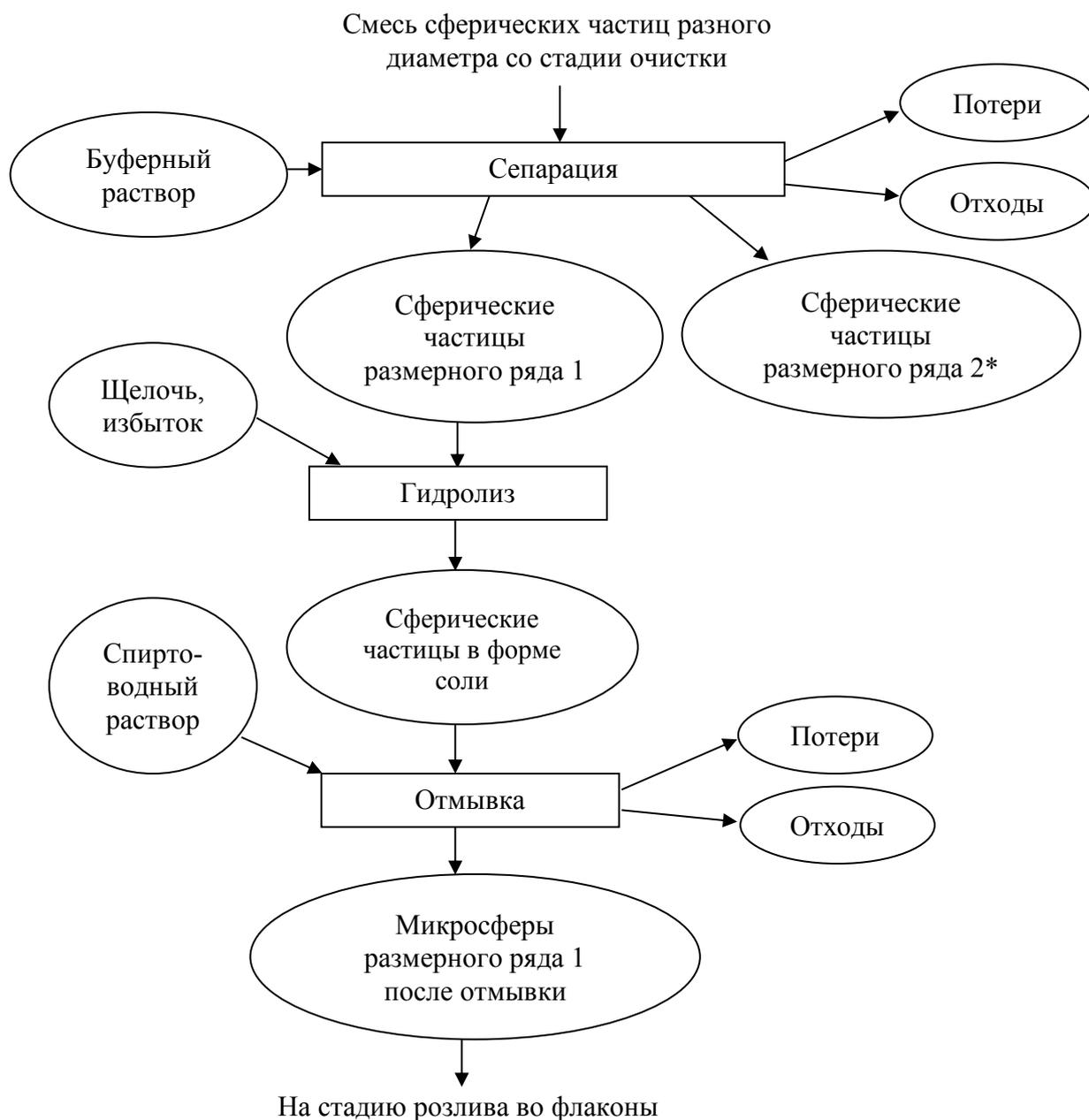


Рисунок 3.2 – Процессуальная схема получения микросфер

Получение полимерных микросфер начинают со стадии полимеризации, на выходе из которой получают реакцию массу со сферическими частицами разного размера. Полученный полупродукт очищают от побочных продуктов полимеризации и остаточных мономеров путем многократной промывки водой очищенной. Смесь сферических частиц передают на калибровку.



*в процессе сепарации получают несколько размерных диапазонов микросфер, каждый из которых подвергают процессам, описанным для сферических частиц размерного ряда 1

Рисунок 3.2 – Процессуальная схема получения микросфер (продолжение)

Калибровка полимерных частиц осуществляется при помощи металлических сит с разным диаметром пор в потоке буферного раствора. Затем каждый из полученных размерных диапазонов сферических частиц подвергается гидролизу путем отстаивания в избытке щелочи, после чего осуществляется отмывка частиц спирто-водным раствором.

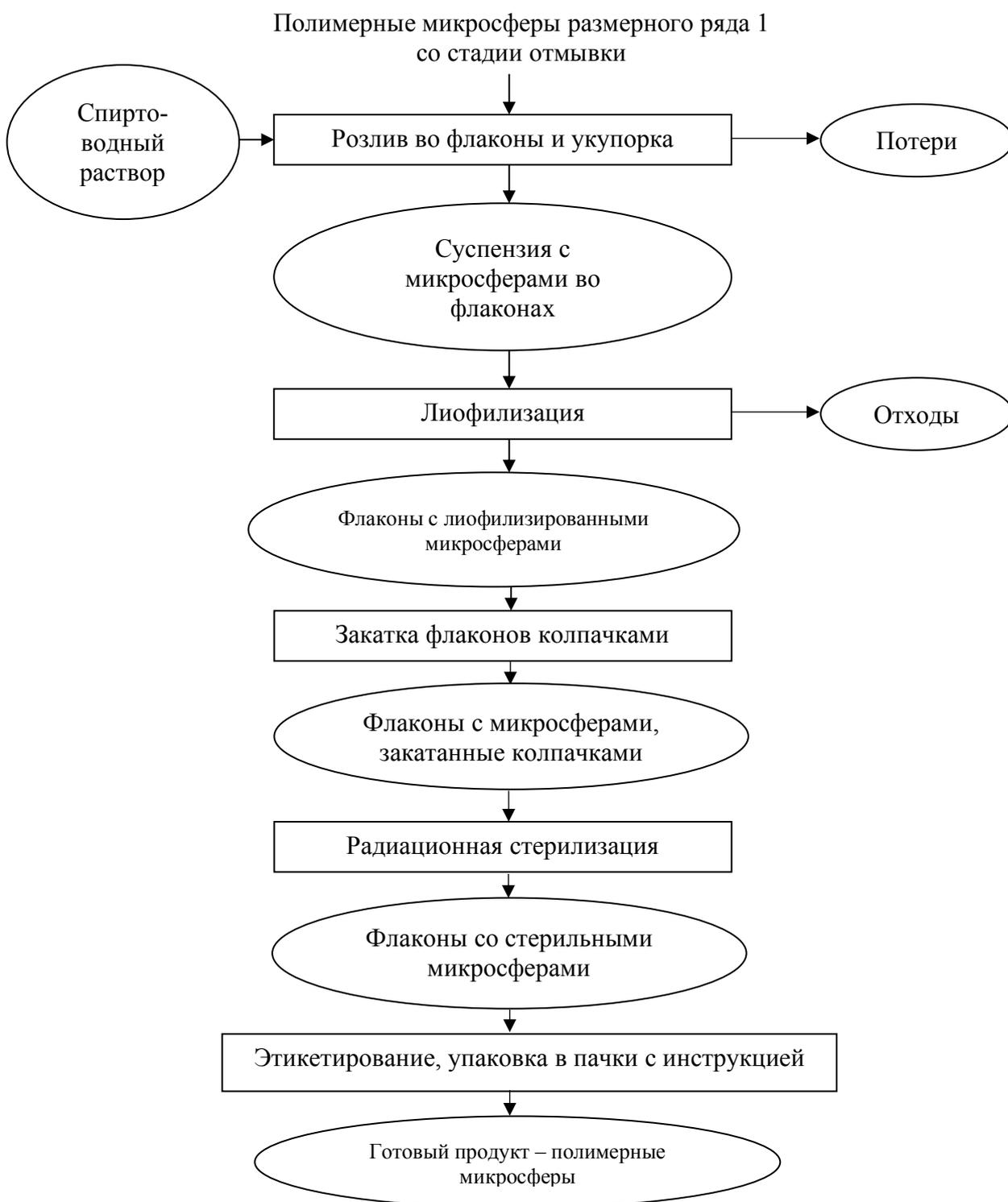


Рисунок 3.2 – Процессуальная схема получения микросфер (окончание)

После отмывки микросферы в спирто-водном растворе в виде суспензии разливают во флаконы и укупоривают пробками. Затем осуществляют лиофилизацию микросфер, после чего флаконы с лиофилизатом закатывают колпачками. Микросферы в первичной упаковке подвергают радиационной стерилизации и передают на стадию маркировки и упаковки.

До стандартизации каждая из представленных стадий имела широкий диапазон значений параметров, которые влияли на размерный диапазон, выход и качество микросфер. Вследствие отсутствия четких границ данных параметров и неопределенности контрольных точек производства, качество готового продукта было непостоянным и сложно прогнозируемым. Контроль качества готовых полимерных микросфер был осложнен отсутствием регламентированных методик, описания контролируемых параметров и спецификации качества на готовую продукцию.

Поскольку полимерные микросферы являются перспективным продуктом для фармацевтического рынка, было принято решение произвести отработку технологии их получения с целью стандартизации процесса производства.

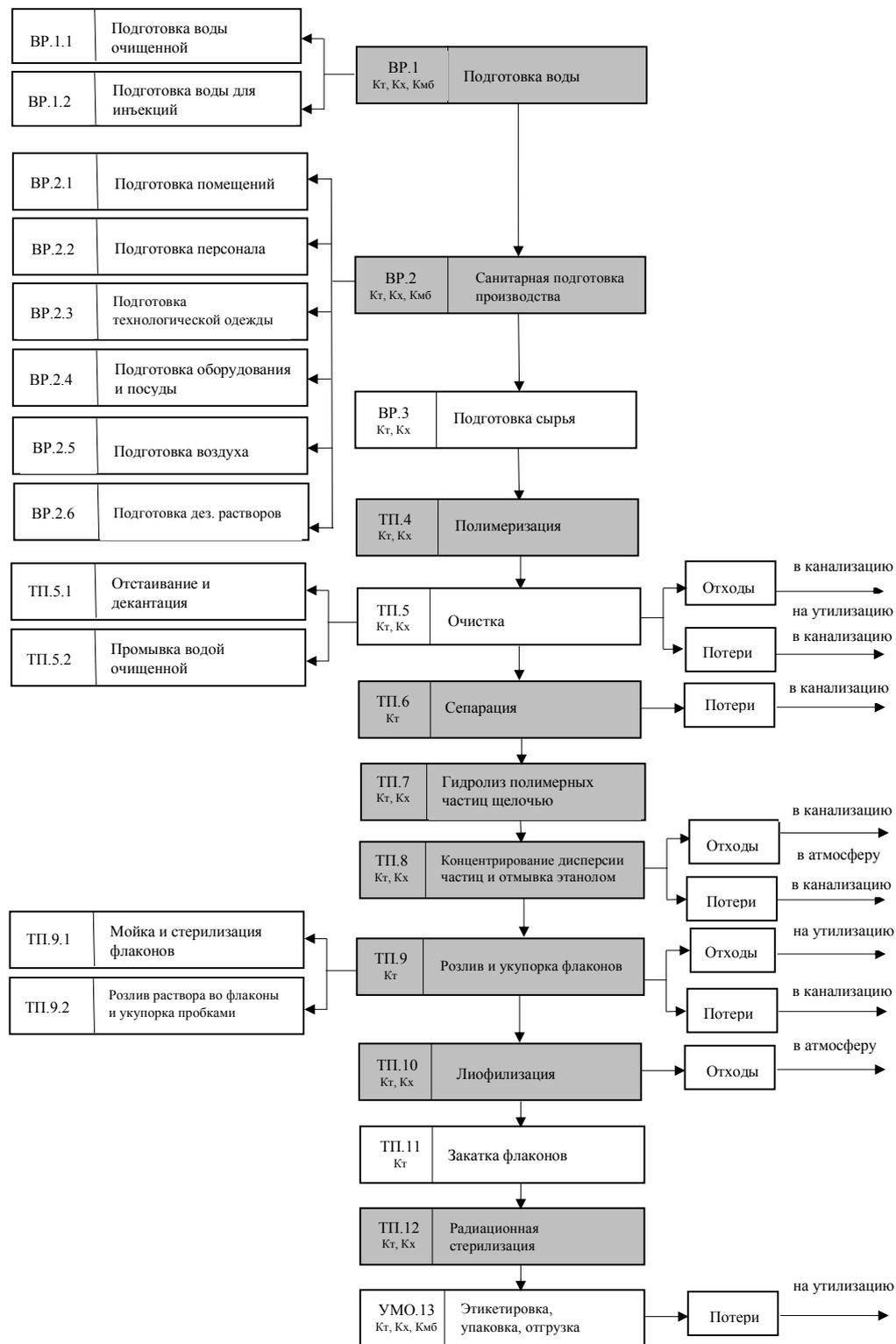
Полимерные микросферы предназначены для парентерального введения, поэтому условия их производства должны исключать попадание в продукт механических частиц и обеспечивать стерильность и апиrogenность готового продукта.

В рамках данной работы изучали технологические стадии и операции производства полимерных микросфер, а также устанавливали влияние параметров технологического процесса на показатели качества для анализа контрольных критических точек методом ХАССП (Hazard Analysis and Critical Control Points (НАССР)) [10].

3.1 Разработка технологической схемы производства полимерных микросфер

В связи с периодически возникающими отклонениями в процессе производства полимерных микросфер была разработана технологическая

схема их получения с подробным постадийным анализом и выявлением потенциальных и опасных рисков, связанных с технологическим процессом с применением метода ХАССП (рис. 3.3).



(К_т, К_х, К_{мб} – контроль технологический, химический, микробиологический)

Рисунок 3.3 – Технологическая схема производства полимерных микросфер

При разработке технологической схемы были проанализированы этапы получения микросфер и выделены соответствующие стадии основного технологического процесса. Также в технологическую схему были включены стадии, характерные для производства парентеральных лекарственных средств: подготовка воды, санитарная подготовка производства, подготовка сырья, упаковка продукции во вторичную упаковку.

Определены критические стадии основного процесса производства полимерных микросфер (выделены на технологической схеме серым цветом): ТП.4 Полимеризация, ТП.6 Сепарация, ТП.7 Гидролиз полимерных частиц щелочью, ТП.8 Концентрирование дисперсии частиц и отмывка этанолом, ТП.9 Розлив и укупорка флаконов, ТП.10 Лиофилизация, ТП.12 Радиационная стерилизация.

Показано, что большинство стадий основного технологического процесса являются критическими и требуют определения и анализа контрольных точек для оптимизации процесса.

3.2 Анализ контрольных критических точек производства полимерных микросфер

Основной технологический процесс получения микросфер состоит из следующих стадий:

ТП.4 Полимеризация. На данной стадии подготовленные компоненты (винилацетат, метилакрилат, бисазаизобутиронитрил, диакрилатдиол) загружают в реактор с поливиниловым спиртом, растворенным в воде. Синтез осуществляют при заданной скорости перемешивания реакционной массы и температуре. Поскольку реакционная масса представляет собой эмульсию водной фазы и смеси мономеров, скорость перемешивания определяет размер образующихся капель, которые впоследствии и образуют полимерные частицы определенного размера. Реакция полимеризации является экзотермической, поэтому нижний предел температуры реакционной массы составляет 68°C, более низкая температура может повлечь за собой снижение скорости разложения инициатора, что приведет к низкому выходу продукта.

При этом температура реакционной массы определяется температурой кипения мономеров и, при данном способе получения полимерных микросфер, не должна превышать 72°C во избежание закипания винилацетата.

После завершения процесса полимеризации реакционная масса представляет собой суспензию из смеси микросфер и примесей, представляющих собой непрореагировавшие органические вещества.

Для того, чтобы убедиться в кондиционности полученного полупродукта, необходимо определить внешний вид частиц. Данный параметр контролируют методом микроскопии. Микросферы должны быть сферичными, целостными и иметь ровную поверхность (рис. 3.4). Частицы не должны слипаться между собой, поскольку это может затруднить их дальнейшее разделение в ходе сепарации.

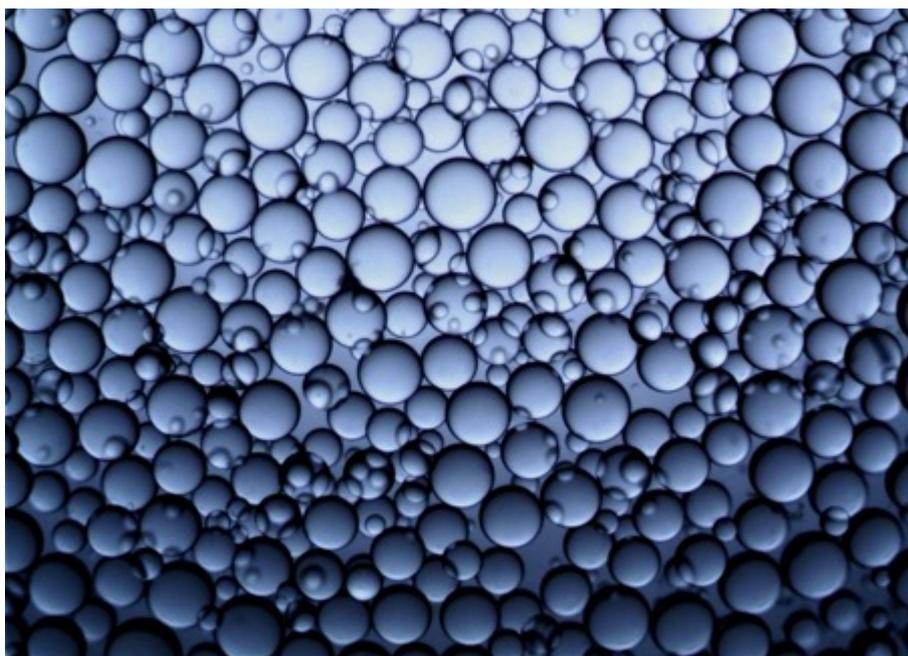


Рисунок 3.4 – Фотография микросфер, полученных на стадии
ТП.4 Полимеризация (увеличение в 40 раз)

ТП.5 Очистка. Полученные микросферы передают на стадию ТП.5 Очистка, где осуществляют промывку полупродукта от непрореагировавших веществ водой очищенной.

На данной стадии контролируются только технологические параметры, а именно – объем промывной жидкости. Объем промывной жидкости

колеблется в диапазоне 3-5 л, составляя соотношение к микросферам около 100:1, и не является критичным параметром.

ТП.6 Сепарация. В ходе синтеза получают смесь полимерных частиц, размер которых может варьировать от 0,1 до 3000 мкм в зависимости от условий проведения процесса полимеризации. Разделение микросфер по размерным диапазонам осуществляют при помощи металлических калиброванных сит, диаметр отверстий которых подбирают в соответствии с типоразмерами получаемых микросфер. Сита устанавливают в порядке уменьшения диаметра отверстий и на верхнее сито переносят смесь микросфер. Разделение осуществляют в потоке воды очищенной. Качество сепарации проверяют методом микроскопии проб, отобранных с каждого из сит. При неудовлетворительном разделении микросфер в соответствии с размерными диапазонами процесс сепарации повторяют.

На качество сепарации прежде всего влияет частота и амплитуда колебаний платформы виброустановки, скорость потока промывной жидкости и время разделения по фракциям. Данные технологические параметры подбираются в зависимости от количества разделяемых микросфер и их размерного диапазона. Параметры подбираются таким образом, чтобы поток промывной жидкости не задерживался на ситах, микросферы не концентрировались, образуя агломераты, а вибрация не вызывала выброса микросфер вместе с каплями промывной среды.

ТП.7 Гидролиз полимерных частиц щелочью. Механическая прочность микросфер, необходимая для сепарации, обусловлена дополнительными связями, которые формируются при синтезе за счет добавления диакрилатдиола. В процессе гидролиза происходит разрушение этих связей, а сложноэфирные группы частиц переводятся в функциональные карбоксилатные группы в солевой форме, что впоследствии позволяет насыщать полимерные микросферы лекарственными веществами.

Гидролиз осуществляют двукратным избытком щелочи. Рассчитанным объемом 2М водного раствора натрия гидроксида заливают микросферы и настаивают в течение 3-4 дней при перемешивании 1-2 раза в день.

Для гидролизованных микросфер характерно контролируемое изменение размера в состоянии насыщения различными растворителями. Для контроля насыщаемости использовали 0,9% раствор натрия хлорида. Физиологический раствор используют в качестве соразтворителя при насыщении микросфер лекарственным средством или для насыщения полимерных микросфер в случае необходимости их введения без препарата. Насыщенные физиологическим раствором микросферы приобретают «рабочий» размер, а именно, размер, в котором микросферы вводятся для проведения локального закупоривания артерий.

Гидролизованные микросферы при насыщении физиологическим раствором должны увеличиваться в размере в 3-4 раза (рис. 3.5) и быть эластичными.

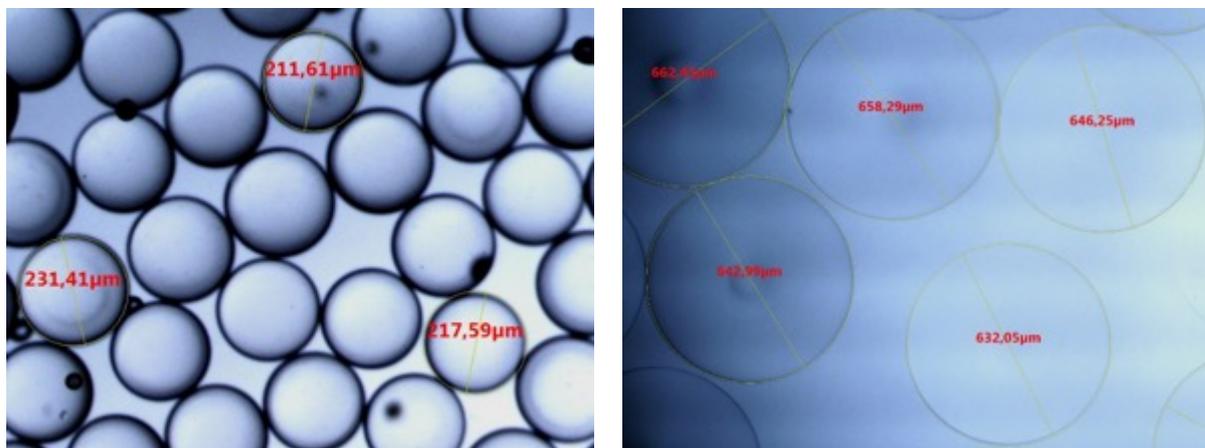


Рисунок 3.5. Микросферы, полученные на стадии ТП.7 «Гидролиз полимерных частиц щелочью» (слева – до насыщения физиологическим раствором; справа – после насыщения физиологическим раствором)

Качество полупродукта на данной стадии контролируют методом микроскопии. Определяют внешний вид частиц и размер частиц в насыщенном состоянии (рабочий размер).

ТП.8 Концентрирование дисперсии частиц и отмывка этанолом.

Избыточную щелочь и продукты гидролиза вымывают путем обработки микросфер этанолом. Полупродукт контролируют по внешнему виду методом микроскопии, затем определяют качественные и количественные характеристики его насыщения лекарственным средством.

Для контроля насыщаемости микросфер используют раствор доксорубина гидрохлорида, который имеет яркий от оранжевого до красно-оранжевого цвет, что позволяет определить равномерность насыщаемости по окрашиванию микросфер (рис. 3.6).

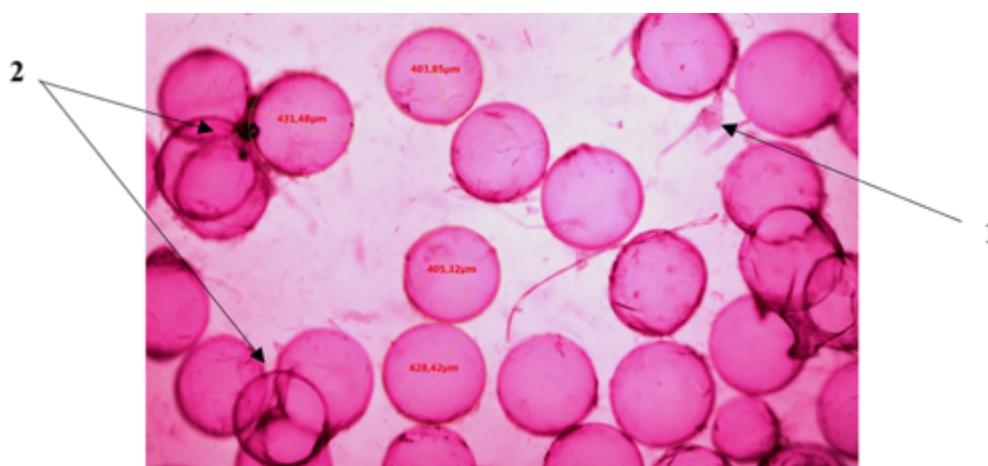


Рисунок 3.6. Недостаточная очистка микросфер

При недостаточной отмывке доксорубина гидрохлорид окрашивает не только микросферы, но и загрязнения органического характера (поз. 1, рис. 3.6). При наличии органических загрязнений микросферы могут слипаться между собой, образуя агломераты (поз. 2, рис. 3.6).

ТП.9 Розлив и укупорка флаконов. Этанольную суспензию микросфер передают на первичную упаковку. В процессе розлива контролируют объем наполнения.

ТП.10 Лиофилизация. Суспензию микросфер во флаконах лиофилизируют, после чего контролируют внешний вид, показатель сорбции и равномерность насыщения полупродукта.

ТП.11 Закатка флаконов. Флаконы с лиофилизатом микросфер закатывают колпачками.

ТП.12 Радиационная стерилизация. Флаконы с лиофилизированными микросферами подвергают радиационной стерилизации, после чего контролируют внешний вид частиц, стерильность, пирогенность, насыщаемость и показатель сорбции. Затем передают флаконы с микросферами на этикетировку и упаковку в пачки.

В соответствии с технологической схемой и описанием стадий производства при помощи инструментов метода ХАССП были определены контрольные критические точки основного производственного процесса полимерных микросфер (табл. 3.1).

Таблица 3.1 – Критические контрольные точки производства полимерных микросфер [10]

Наименование операции	Критические контрольные точки	Значения критических контролируемых параметров и показателей качества	Методы контроля
ТП.4 Полимеризация	температура реакционной массы	68-72°C	контактная термометрия
	скорость перемешивания	в соответствии с техническим заданием	контроль при помощи датчика измерения скорости мешалки
	внешний вид частиц	сферическая форма, целостность частиц, частицы не слипаются между собой	микроскопия
ТП.6 Сепарация	размер частиц	от 0,1 до 3000 мкм (в соответствии с техническим заданием)	микроскопия
ТП.7 Гидролиз полимерных частиц щелочью	внешний вид частиц	сферическая форма, целостность частиц	микроскопия
	размер частиц	увеличение размера частиц при насыщении физ. раствором в 3-4 раза	
ТП.8 Концентрирование дисперсии частиц и отмывка этанолом	насыщаемость	равномерное насыщение доксорубицина гидрохлоридом	микроскопия
	внешний вид частиц	частицы не слипаются между собой, отсутствуют побочные продукты синтеза	
	показатель сорбции	сорбция доксорубицина гидрохлорида не менее 95% (при насыщении микросфер доксорубицина гидрохлоридом 1:2)	спектрофотометрия
ТП.9 Розлив и укупорка флаконов	объем наполнения флакона	в соответствии с техническим заданием	калиброванный цилиндр

ТП.10 Лиофилизация	внешний вид частиц	сферическая форма, целостность частиц	микроскопия
	насыщаемость	равномерное насыщение доксорубицина гидрохлоридом	микроскопия
	показатель сорбции	сорбция доксорубицина гидрохлорида не менее 95% (при насыщении микросфер доксорубицина гидрохлоридом 1:2)	спектрофотометрия
ТП.12 Радиационная стерилизация	стерильность	стерильность	в соответствии с ГФ
	пирогенность	апирогенность	в соответствии с ГФ
	внешний вид частиц	сферическая форма, целостность частиц	микроскопия
	насыщаемость	равномерное насыщение доксорубицина гидрохлоридом	микроскопия
	показатель сорбции	сорбция доксорубицина гидрохлоридом не менее 95% (при насыщении микросфер доксорубицина гидрохлоридом 1:2)	спектрофотометрия

Мониторинг контрольных критических точек производства полимерных микросфер показал, что ряд стадий требуют повышенного внимания к полученному полупродукту. В частности, ТП.4 Полимеризация, ТП.10 Лиофилизация и ТП.12 Радиационная стерилизация отличаются тем, что при получении некондиционного полупродукта на данных стадиях он подвергается утилизации вследствие необратимости проводимых технологических процессов.

3.3 Разработка проекта спецификации качества на полимерные микросферы

В соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи и на основании выявленных критических контрольных точек производства был разработан проект спецификации качества на полимерные микросферы (табл. 3.2).

Таблица 3.2 – Проект спецификации качества на полимерные микросферы

Наименование показателя	Метод определения	Требования	Характеристика полимерных микросфер
Описание	органолептический	лиофилизат белого цвета, без запаха	лиофилизат белого цвета, без запаха
Однородность массы	в соответствии с ГФ	25+1,25 мг; 50+2,5 мг	соответствует
Размер микросфер	микроскопия	55-70 мкм, 80-105 мкм, 125-145 мкм, 160-200 мкм; содержание микросфер, не входящих в размерный диапазон, не более 10%	соответствует
Остаточное количество спирта	в соответствии с ГФ	не более 0,5%	соответствует
Потеря в массе при высушивании	в соответствии с ГФ	не более 0,5%	соответствует
Насыщаемость	насыщение раствором доксорубицина гидрохлоридом, микроскопия	микросферы должны быть равномерно окрашены доксорубицина гидрохлоридом	соответствует
Показатель сорбции	насыщение раствором доксорубицина гидрохлорида, спектрофотометрия	микросферы должны сорбировать не менее 95% доксорубицина гидрохлорида (при насыщении микросфер доксорубицина гидрохлоридом 1:2)	соответствует
Герметичность	в соответствии с ГФ	флаконы должны быть герметичными	соответствует
Стерильность	в соответствии с ГФ	должны быть стерильными	стерильные
Пирогенность	в соответствии с ГФ	должны быть апиrogenными	апиrogenные
Упаковка	в соответствии с ГФ	флакон из стекла 1-ого гидролитического класса, пробка резиновая, колпачок комбинированный	соответствует
Хранение	в соответствии с ГФ	при температуре +15-25°C, в защищенном от света месте	соответствует
Срок годности		3 года	соответствует

Разработанный проект спецификации содержит 13 показателей качества, по которым следует контролировать полимерные микросферы. В ходе проведения испытаний установлено, что полученные по стандартизированной технологии полимерные микросферы соответствуют требованиям данной спецификации.

3.4 Исследование кинетики сорбции доксорубина гидрохлорида полимерными микросферами

Одним из основных критических параметров для анализа полупродукта и готового продукта является показатель сорбции, определяющий возможность насыщения полимерных микросфер лекарственным средством.

Изучение кинетики сорбции проводили путем насыщения микросфер раствором доксорубина гидрохлорида. Данный препарат позволяет сделать количественный и качественный анализ насыщения микросфер, поскольку раствор доксорубина гидрохлорида имеет яркое оранжево-красное окрашивание.

В ходе исследования 25 мг микросфер насыщали 50 мг доксорубина гидрохлорида. Кинетику сорбции лекарственного средства полимерными микросферами исследовали по методике, описанной в разделе 2.4. Исследование проводили на микросферах размерных диапазонов: 55-70 мкм, 80-105 мкм, 125-145 мкм, 160-200 мкм. Результаты представлены на рис. 3.7.

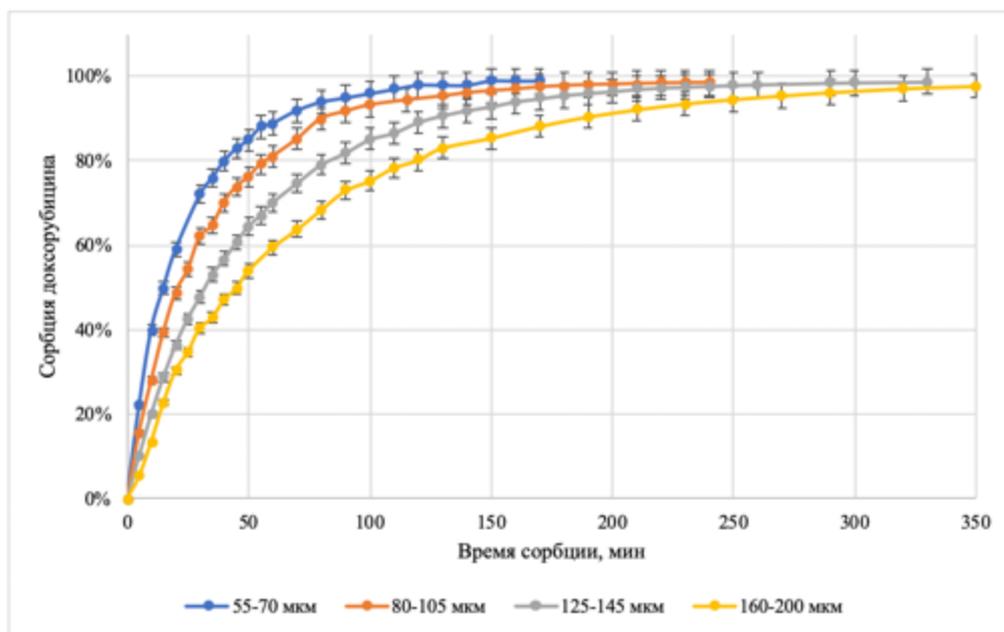


Рисунок 3.7 – Кривые сорбции доксорубина гидрохлорида микроферами различного диаметра

Согласно полученным кривым сорбции (рис. 3.7) наиболее быстро насыщаются доксорубина гидрохлоридом микроферы размерного ряда 55-70 мкм (95% за 1,5 ч), медленнее всего сорбируют лекарственное средство микроферы с диаметром 160-200 мкм (95% за 4,2 ч).

Установлено, что полученные микроферы эффективно сорбируют доксорубина гидрохлорид. Анализируя полученные результаты, можно сделать выводы о зависимости скорости насыщения полимерных микрофер доксорубина гидрохлоридом от их размера, а именно: чем меньше диаметр микрофер, тем быстрее они сорбируют лекарственное средство. Это связано с тем, что суммарная площадь поверхности микрофер увеличивается с уменьшением их диаметра.

Однако, чтобы удостовериться в функциональных свойствах полимерных микрофер, была определена динамика высвобождения доксорубина гидрохлорида из насыщенных полимерных микрофер.

3.5 Разработка методики проведения десорбции доксорубицина гидрохлорида из полимерных микросфер

Одной из ключевых характеристик полимерных микросфер является способность контролируемо высвобождать лекарственное средство. Знание динамики высвобождения препарата из микросфер позволяет подобрать индивидуальную схему лечения для конкретного пациента. Основной сложностью является отсутствие унифицированной методики для определения процессов десорбции. Наиболее наглядными системами для определения данного показателя могут быть установки, моделирующие артериальный кровоток и позволяющие имитировать процессы локальной эмболизации артерий. Однако подобные модели отличаются сложностью технического исполнения, что делает актуальным поиск новых методик для анализа десорбционных свойств.

В ходе изучения процессов высвобождения лекарственных средств из полимерных микросфер была разработана методика проведения десорбции доксорубицина гидрохлорида. При разработке методики было изучено влияние следующих параметров процесса высвобождения: растворитель (среда для десорбции) и его замена в модельной системе, интенсивность перемешивания, температура.

Проведение исследований. Предварительно полимерные микросферы насыщали раствором доксорубицина гидрохлорида в соответствии с п. 2.4. Насыщенные микросферы помещали в плоскодонную колбу и заливали 500 мл растворителя. Колбу термостатировали при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ до окончания опыта. Ежедневно контролировали высвобождение доксорубицина гидрохлорида из полимерных микросфер путем измерения его содержания в надосадочной жидкости методом спектрофотометрии.

Методика 1. В качестве среды для десорбции использовали 0,9% раствор натрия хлорида, приготовленный на буферном растворе на основе дигидрофосфата натрия (рН 6,0). Среду для десорбции с насыщенными

микросферами перемешивали на орбитальном шейкере со скоростью 120 об/мин.

Спустя неделю наблюдали выпадение белого хлопьевидного осадка, который в дальнейшем окрашивался в красный цвет доксорубицина гидрохлоридом (рис. 3.8).



Рисунок 3.8 – Фото микросфер в растворителе (слева – второй день десорбции, справа – седьмой день десорбции) (методика 1)

Опыт был прекращен досрочно. Установлено, что образование осадка вызвано использованием в качестве растворителя буферного раствора на основе натрия дигидрофосфата. Поскольку известны методики, в которых успешно используются буферные системы с pH 6,0 в качестве среды для десорбции [95, 97], значение водородного показателя растворителя исключили из вероятных причин образования осадка. Предположили, что данный процесс стал следствием взаимодействия натрия дигидрофосфата, используемого в составе буферной системы, и маннитола (манита), входящего в состав лекарственного препарата, который использовали для насыщения микросфер.

Методика 2. Среду десорбции заменили на стерильный 0,9% раствор натрия хлорида. Скорость перемешивания среды оставили прежней - 120 об/мин.

Спустя 20 дней после начала опыта наблюдалось помутнение надосадочной жидкости и наличие взвеси частиц. Был проведен анализ внешнего вида микросфер методом микроскопии, который показал, что

целостность микросфер нарушена и в надосадочной жидкости присутствуют их обломки (части разрушенных микросфер) (рис. 3.9).

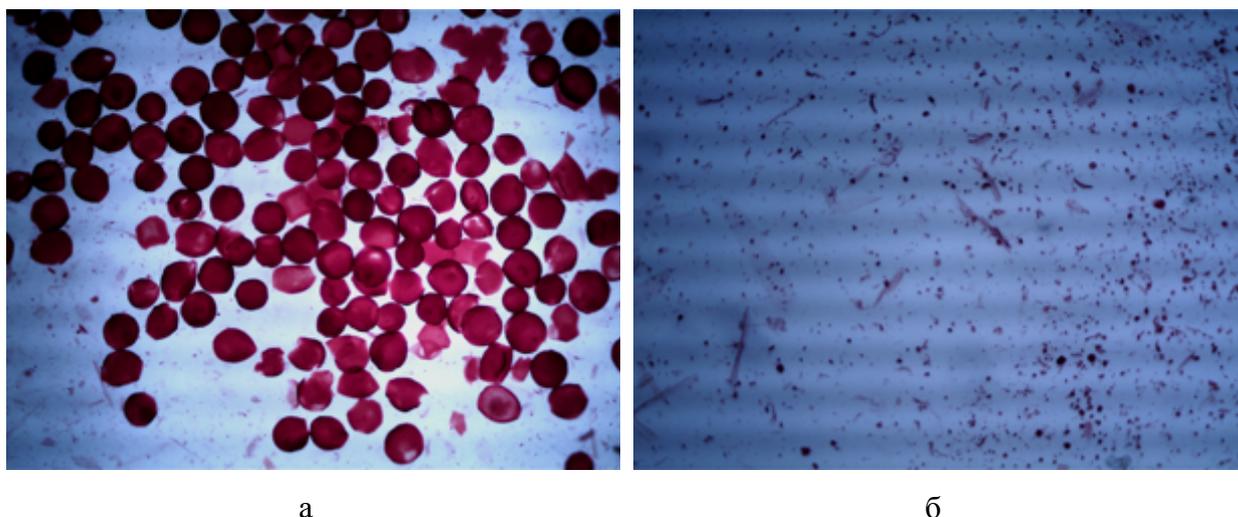


Рисунок 3.9 – Фото спустя 20 дней после начала опыта (увеличение в 40 раз):
а – разрушенные микросферы, б – обломки микросфер в надосадочной
жидкости (методика 2)

Установили, что на механическую прочность микросфер оказали влияние скорость и длительность перемешивания среды.

Методика 3. В качестве среды десорбции, как и в методике 2, использовали стерильный 0,9% раствор натрия хлорида, однако среду для десорбции не перемешивали.

В ходе исследования получили кривую процесса десорбции, изображенную на рис. 3.10.

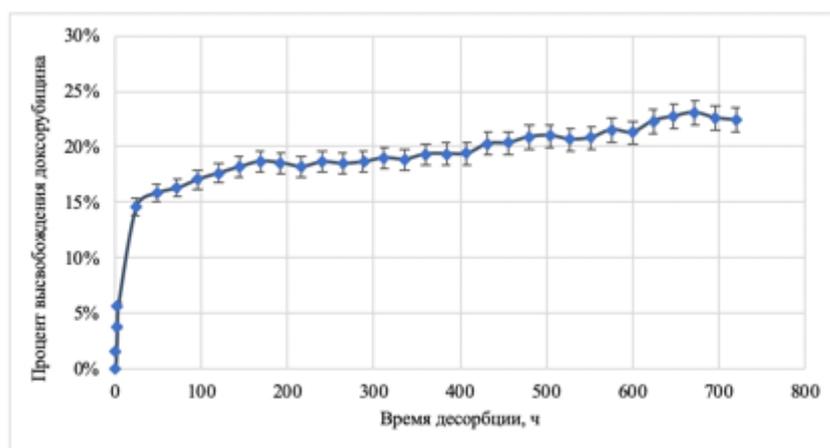


Рисунок 3.10 – Кривая высвобождения доксорубина гидрохлорида
из микросфер 55-70 мкм (методика 3)

На графике видно, что в течение первой недели из микросфер высвободилось около 15% доксорубина гидрохлорида, затем скорость десорбции значительно снизилась и на протяжении трех недель колебалась в диапазоне $20\pm 5\%$ (рис. 3.10).

Спустя 30 дней был проведен анализ внешнего вида микросфер, который показал, что целостность микросфер нарушена (рис. 3.11), однако при этом установлено, что на целостность микросфер не влияет скорость перемешивания.

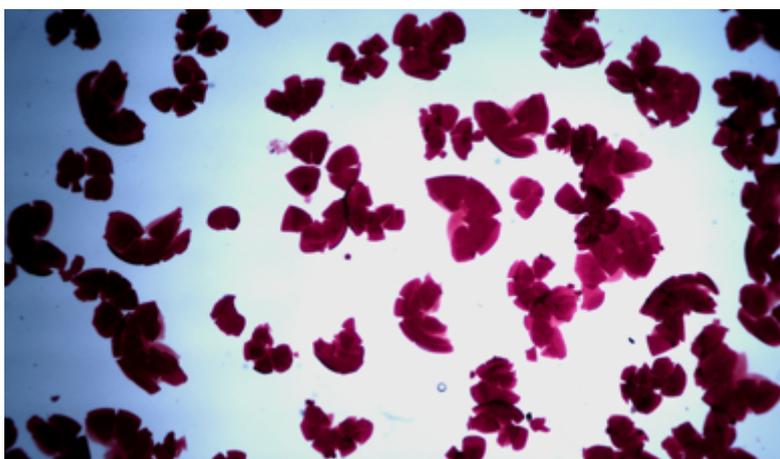


Рисунок 3.11 – Фото микросфер спустя 30 дней
(увеличение в 40 раз) (методика 3)

Цифровая микроскопия показала, что микросферы спустя месяц после начала опыта ярко окрашены доксорубина гидрохлоридом (рис. 3.11), это может свидетельствовать о том, что нарушение целостности микросфер и низкие показатели высвобождения лекарственного средства связаны с длительным нахождением микросфер в растворе с равновесной концентрацией препарата.

Методика 4. После анализа вышеизложенных результатов были предложены новые условия проведения десорбции, максимально приближенные к условиям высвобождения доксорубина гидрохлорида из полимерных микросфер при закупоривании артерии.

В качестве среды десорбции использовали стерильный 0,9% раствор натрия хлорида. Поскольку при окклюзии артерии местное кровоснабжение

нарушается, опытным путем была установлена скорость перемешивания, при которой сферы находятся в состоянии покоя и лишь слегка омываются надсадочной жидкостью (50 об/мин). Ежедневно часть надсадочной жидкости заменяли для предотвращения достижения равновесной концентрации доксорубина гидрохлорида в растворе.

Апробация данной методики в течение 30 дней показала, что микросферы в данных условиях проведения десорбции остаются целостными и сферичными, постепенно высвобождая доксорубина гидрохлорид. Данную методику использовали при дальнейших исследованиях полимерных микросфер.

3.6 Исследование динамики высвобождения доксорубина гидрохлорида из полимерных микросфер

Изучение процесса десорбции доксорубина гидрохлорида из полимерных микросфер осуществляли в соответствии с разработанной методикой (раздел 3.5). Для этого 25 мг микросфер предварительно насыщали 50 мг доксорубина гидрохлорида.

Исследование проводили на микросферах размерных диапазонов: 55-70 мкм, 80-105 мкм, 125-145 мкм, 160-200 мкм. Результаты представлены на рис. 3.12.

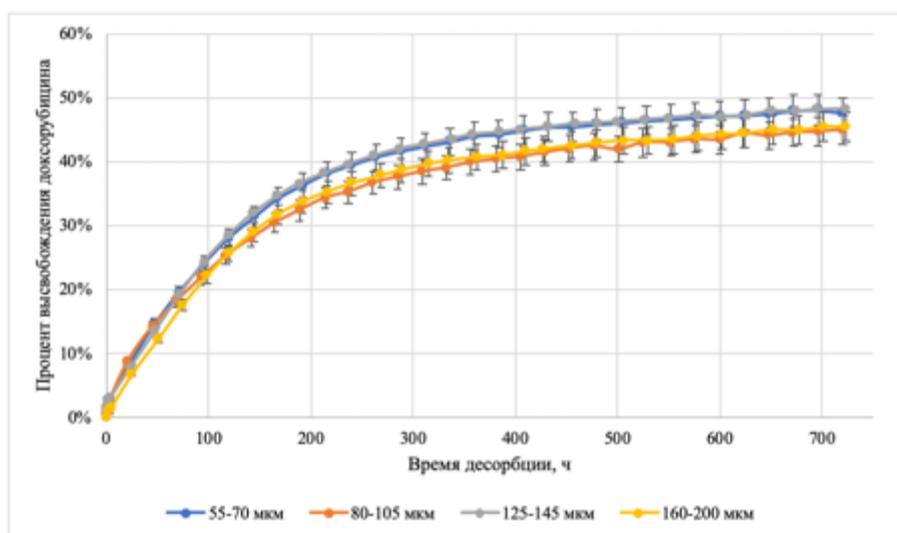


Рисунок 3.12 – Кривые десорбции доксорубина гидрохлорида микросферами различного диаметра

Из рис. 3.12 видно, что в первую неделю из микросфер высвобождается около 30% доксорубина гидрохлорида, что соответствует 15 мг лекарственного средства, затем процесс десорбции замедляется.

Установлено, что полимерные микросферы постепенно высвобождают доксорубина гидрохлорид, при этом за 30 дней в среду растворителя переходит около 45% лекарственного средства. Это свидетельствует о том, что функциональные свойства исследуемых полимерных микросфер не нарушены в ходе их получения по стандартизированной технологии.

Анализируя кривые десорбции (рис. 3.12), можно сделать вывод об отсутствии зависимости скорости высвобождения доксорубина гидрохлорида из полимерных микросфер от их размерного диапазона.

Было интересно сравнить полученные результаты исследования высвобождения лекарственного средства из изучаемых микросфер с динамикой процесса десорбции доксорубина гидрохлорида из широко используемых в области рентгенохирургии микросфер Hepasphere/Quadrasphere, выпускаемых фирмой Merit Medical, South Jordan, UT. Они представляют собой сферические частицы из полимера (SAP) (амин-акрилат). Согласно научным источникам, при схожих условиях насыщения доксорубина гидрохлоридом и использовании в качестве среды десорбции 0,9% раствора натрия хлорида данные микросферы размерного ряда 50-100 мкм (в ненасыщенном состоянии) высвобождали около 44% доксорубина гидрохлорида за 28 дней [97], что сопоставимо с изучаемыми в нашей работе микросферами.

Таким образом, показано что исследуемые полимерные микросферы могут являться перспективным продуктом для импортозамещения иностранного средства для эмболизации Hepasphere/Quadrasphere.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3

1. В результате проведенного анализа существующего способа получения полимерных микросфер, представляющих собой сополимер винилацетата с метилакрилатом, установлено отсутствие четких границ технологических параметров и неопределенности контрольных точек производства, в следствии чего, качество готового продукта было непостоянным и сложно прогнозируемым. Контроль качества готовых полимерных микросфер был осложнен отсутствием регламентированных методик, описания контролируемых параметров и спецификации качества на готовую продукцию.

2. С целью стандартизации условий проведения технологического процесса и определения критических стадий производства разработана технологическая схема производства полимерных микросфер, определены необратимые критические стадии основного технологического процесса: ТП.4 Полимеризация, ТП.10 Лиофилизация, ТП.12 Радиационная стерилизация. Составлен проект спецификации качества на готовые полимерные микросферы.

3. Установлена зависимость скорости насыщения полимерных микросфер доксорубицином гидрохлоридом от их размера: чем меньше диаметр микросфер, тем быстрее они сорбируют лекарственное средство.

4. Разработана и апробирована методика проведения десорбции доксорубицина гидрохлорида из полимерных микросфер. Установлены оптимальные условия для высвобождения доксорубицина гидрохлорида микросферами *in vitro* максимально приближенные к высвобождению в организме человека:

- использование в качестве среды десорбции стерильного 0,9% раствора натрия хлорида;
- термостатирование при $37\pm 1^\circ\text{C}$;
- перемешивание на орбитальном шейкере со скоростью 50 об/мин;

– ежедневная замена надсадочной жидкости до окончания эксперимента.

5. Изучена динамика десорбции доксорубицина гидрохлорида из полимерных микросфер. Установлено отсутствие зависимости скорости высвобождения доксорубицина гидрохлорида из полимерных микросфер от их размера в диапазоне от 55 до 200 мкм.

Показано, что исследуемые микросферы являются перспективным продуктом для импортозамещения иностранных средств для эмболизации.

ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ СУБСТАНЦИИ КОМЕНОВОЙ КИСЛОТЫ

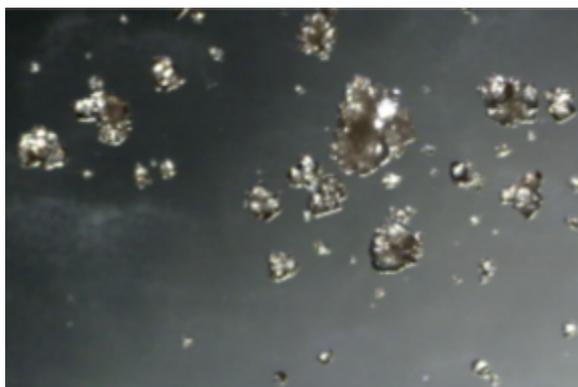
Согласно литературным данным коменовая кислота обладает высокой анальгетической активностью. Поскольку хирургические вмешательства с использованием полимерных микросфер и заболевания, для которых используются методы терапии с их применением, сопровождаются сильными болями, особый интерес представляет получение комбинированного лекарственного средства на основе полимерных микросфер и коменовой кислоты. Так как данная комбинация предполагает разработку и изучение растворов коменовой кислоты, нами были исследованы физико-химические и технологические свойства субстанции, наиболее важные для производства растворов для парентерального применения.

В качестве объекта исследования использовали субстанцию, полученную на базе фармацевтического предприятия ООО «Фарма Ген». Субстанция коменовой кислоты представляет собой порошок белого цвета с желто-серым оттенком, имеет легкий специфический запах.

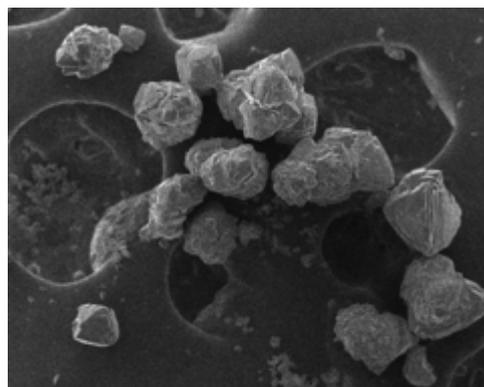
4.1 Изучение физико-химических свойств субстанции коменовой кислоты

Субстанцию коменовой кислоты исследовали по следующим параметрам: кристалличность, растворимость.

Кристалличность. Степень кристалличности субстанции является одним из важных показателей, от которых зависит качество лекарственного препарата [20]. Кристалличность субстанции коменовой кислоты определяли по методике, описанной в разделе 2.5. Установлено, что исследуемая субстанция представляет собой агломераты различных размеров неправильной формы и обладает 100% кристалличностью (рис. 4.1).



а



б

Рисунок 4.1 – Фото субстанции коеновой кислоты:

а – увеличение в 1000 раз, б – увеличение в 2710 раз

В ходе изучения шести серий субстанции установлена воспроизводимость ее кристаллической структуры.

Растворимость. Растворимость субстанции коеновой кислоты определяли по методике, описанной в разделе 2.5. В качестве растворителей исследовали растворы, используемые для производства парентеральных лекарственных средств. Полученные результаты представлены в табл. 4.1.

Таблица 4.1 – Растворимость субстанции коеновой кислоты

Растворитель	Очень легко растворима	Легко растворима	Растворима	Умеренно растворима	Мало растворима
	до 1 мл	1-10 мл	10-30 мл	30-100 мл	100-1000 мл
Вода для инъекций	–	–	–	–	+
Раствор натрия хлорида 0,9%	–	–	–	–	+
Раствор Рингера	–	–	–	–	+
Раствор глюкозы 5%	–	–	–	–	+
Этанол 50%	–	–	–	–	+
Этанол 96%	–	–	–	–	+
Бензиловый спирт 1%	–	–	–	–	+
Бензиловый спирт 10%	–	–	–	–	+

Глицерин 5% (водный)	–	–	–	–	+
Глицерин 30% (водный)	–	–	–	–	+
Изопропилмиристат	–	–	–	–	+
Диметилсульфоксид	–	+	–	–	–
Реополиглюкин	–	–	–	–	+
Маннит 20% (водный)	–	–	–	–	+
Диметилацетамид	–	+	–	–	–
Полоксамер 188	–	–	–	–	+

Установлено, что субстанция коеновой кислоты мало растворима в большей части исследуемых растворителей и соразтворителей, используемых для получения парентеральных лекарственных средств, легко растворима в диметилсульфоксиде и диметилацетамиде.

Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод о том, что для получения раствора коеновой кислоты целесообразно использование вспомогательных веществ, повышающих ее растворимость.

4.2 Изучение технологических свойств субстанции коеновой кислоты

Используя методики, описанные в разделе 2.5, субстанцию коеновой кислоты исследовали по следующим показателям: сыпучесть, насыпная плотность, потеря в массе при высушивании. Результаты исследований приведены в табл. 4.2.

Таблица 4.2 – Технологические свойства субстанции коеновой кислоты

Технологические свойства	Серия 1	Серия 2	Серия 3	Серия 4	Серия 5	Серия 6
Угол естественного откоса, град.	37,0±2,0	39,0±2,0	42,0±3,0	39,0±4,0	40,0±2,0	38,0±1,0
Потеря массы при высушивании, %	0,12±0,02	0,14±0,01	0,16±0,01	0,21±0,02	0,12±0,01	0,18±0,03
Насыпная плотность, г/мл	0,76±0,04	0,72±0,05	0,75±0,02	0,73±0,04	0,72±0,04	0,78±0,04

Установлено, что субстанция коеновой кислоты обладает удовлетворительными технологическими свойствами для получения парентерального лекарственного средства: стабильной насыпной плотностью, незначительной потерей в массе при высушивании, удовлетворительной сыпучестью. Данные свойства субстанции необходимо учитывать при производстве парентеральных лекарственных средств, а именно: осуществление хранения субстанции, выбор передаточных емкостей, условия хранения открытого тарного места, осуществление загрузки.

4.3 Проверка подлинности субстанции коеновой кислоты

Помимо технологических свойств необходимым является определение подлинности активной фармацевтической субстанции.

Подлинность субстанции коеновой кислоты определяли методом ВЭЖХ в соответствии с методикой, описанной в разделе 2.5, путем сравнения хроматограммы раствора исследуемого образца (рис. 4.3) с хроматограммой раствора РСО (рис. 4.2). Исследуемый образец считается подлинным при соответствии времени удерживания основного пика на хроматограмме образца времени удерживания пика на хроматограмме раствора РСО.

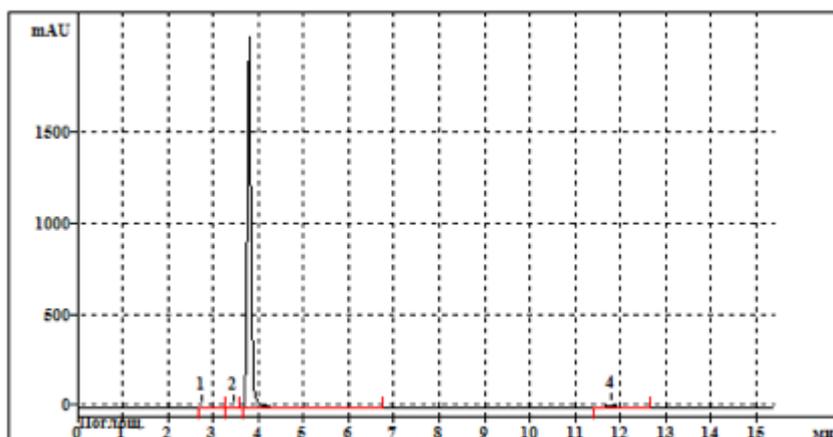


Рисунок 4.2 – Хроматограмма раствора РСО

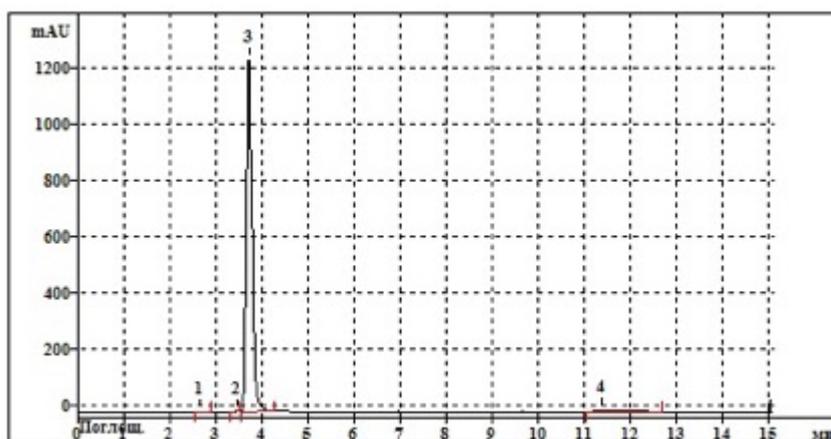


Рисунок 4.3 – Хроматограмма раствора исследуемой субстанции

На хроматограммах (рис. 4.2, 4.3) пик 3 соответствует выходу коеновой кислоты, пик 4 – выходу примесей (бензилкоеновой кислоты). Время удерживания основного пика на хроматограмме образца соответствует времени удерживания пика на хроматограмме раствора РСО, что свидетельствует о подлинности субстанции.

4.4 Определение массовой доли коеновой кислоты в субстанции

Массовую долю коеновой кислоты в субстанции определяли методом ВЭЖХ в соответствии с методикой, описанной в разделе 2.5. Установлено, что массовая доля коеновой кислоты в исследуемой субстанции составляет $98,23 \pm 0,05\%$.

4.5 Разработка проекта спецификации качества на субстанцию коеновой кислоты

В соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи (ОФС.1.1.0006.15) был разработан проект спецификации качества на субстанцию коеновой кислоты (табл. 4.3).

Таблица 4.3 – Проект спецификации качества на субстанцию коеновой кислоты

Наименование показателя	Метод определения	Требования	Характеристика субстанции
Описание	органолептический	мелкокристаллический порошок белого цвета с желто-серым оттенком с легким специфическим запахом	мелкокристаллический порошок белого цвета с желто-серым

			оттенком с легким специфическим запахом
Растворимость	в соответствии с ГФ	мало растворима в воде и этаноле 96%	соответствует
Прозрачность	в соответствии с ГФ	раствор должен быть прозрачным	соответствует
Цветность	в соответствии с ГФ	раствор должен выдерживать сравнение с эталоном Y ₃	соответствует
pH	потенциометрический	от 4,0 до 6,0	соответствует
Количественное содержание коеновой кислоты	ВЭЖХ; в соответствии с ГФ	не менее 97%	соответствует
Примеси идентифицируемые	ВЭЖХ; в соответствии с ГФ	не более 2,5%	соответствует
Примеси неидентифицируемые	ВЭЖХ; в соответствии с ГФ	не более 0,5%	соответствует
Подлинность	ВЭЖХ; в соответствии с ГФ	время удерживания основного пика должно соответствовать времени удерживания пика раствора РСО	соответствует
Потеря в массе при высушивании	в соответствии с ГФ	не более 0,5%	соответствует
Тяжелые металлы	в соответствии с ГФ	не более 0,001%	соответствует
Сульфатная зола	в соответствии с ГФ	не более 0,1%	соответствует
Остаточное количество спирта	в соответствии с ГФ	не более 0,5%	соответствует
Микробиологическая чистота	в соответствии с ГФ	общее число аэробных бактерий, дрожжевых и плесневых грибов (суммарно) не более 10 ² КОЕ в 1 г отсутствие энтеробактерий, устойчивых к желчи, в 1 г отсутствие <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г отсутствие <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г	соответствует
Пирогенность	в соответствии с ГФ	субстанция должна быть апиrogenна	соответствует
Упаковка	в соответствии с ГФ	в банках стеклянных из коричневого стекла по 0,5 или 1 кг	соответствует
Хранение	в соответствии с ГФ	при температуре +8-+15°C, в защищенном от света месте	соответствует

Срок годности	2 года	соответствует
---------------	--------	---------------

Разработанный проект спецификации качества содержит 18 показателей качества, по которым следует контролировать субстанцию коеновой кислоты. В ходе проведения исследований использовалась субстанция, прошедшая контроль качества по показателям проекта спецификации.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4

1. В ходе изучения физико-химических свойств субстанции коеновой кислоты установлено, что она мало растворима в большей части растворителей, применяемых для получения парентеральных лекарственных средств, что свидетельствует о целесообразности использования вспомогательных веществ, повышающих растворимость коеновой кислоты при разработке парентеральной лекарственной формы.

2. Установлено, что субстанция коеновой кислоты обладает удовлетворительными технологическими свойствами для получения парентерального лекарственного средства: стабильной насыпной плотностью, незначительной потерей в массе при высушивании, удовлетворительной сыпучестью. Полученные результаты позволяют организовать производство растворов коеновой кислоты с учетом технологических особенностей субстанции.

3. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии установлена подлинность исследуемой субстанции и массовая доля коеновой кислоты в ней – $98,23 \pm 0,05\%$.

4. Для контроля качества субстанции коеновой кислоты в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи (ОФС.1.1.0006.15) предложены показатели качества и составлен проект спецификации качества на субстанцию коеновой кислоты.

ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ РАСТВОРОВ КОМЕНОВОЙ КИСЛОТЫ

Для изучения влияния составов растворов коменовой кислоты на их стабильность исследования первоначально проводили в лабораторных условиях. После этого осуществляли трансфер технологии на производственную площадку и изучали стабильность образцов, полученных опытно-промышленным путем.

С точки зрения концепции Quality-by-Design, чтобы знать критические точки и распределение их значений, необходимо изучить влияние максимального количества параметров на стабильность лекарственного препарата [70]. Вследствие этого исследовали стабильность растворов коменовой кислоты в различной первичной упаковке при разных условиях хранения.

5.1 Разработка составов растворов коменовой кислоты

Содержание действующего вещества в растворе определяли, основываясь на терапевтических свойствах коменовой кислоты, описанных в литературе, согласно которым предпочтительная доза коменовой кислоты составляет от 0,05 до 300 мг в один или несколько дневных приемов. Превышение дозы 300 мг в сутки нецелесообразно, поскольку анальгетический эффект не увеличивается, но при этом начинает проявляться седативный эффект [49].

Разработка растворов с концентрацией коменовой кислоты 30 мг/мл и 35 мг/мл была обусловлена пролонгированным действием коменовой кислоты при модифицированном высвобождении из полимерных микросфер. Также были разработаны составы растворов с концентрациями коменовой кислоты 10 мг/мл, 15 мг/мл, 20 мг/мл и 25 мг/мл, введение которых возможно в качестве раствора для инъекций.

В связи с малой растворимостью коменовой кислоты в наиболее распространенных растворителях, используемых для получения

парентеральных лекарственных средств, было принято решение использовать вспомогательные вещества, повышающие растворимость субстанции, одним из которых, по данным литературы, является натрия гидрокарбонат [50].

Улучшение растворимости в данном случае основано на переводе коеновой кислоты в солевую форму (рис. 5.1). Согласно научной литературе данный процесс не влияет на фармакологический эффект субстанции [50].

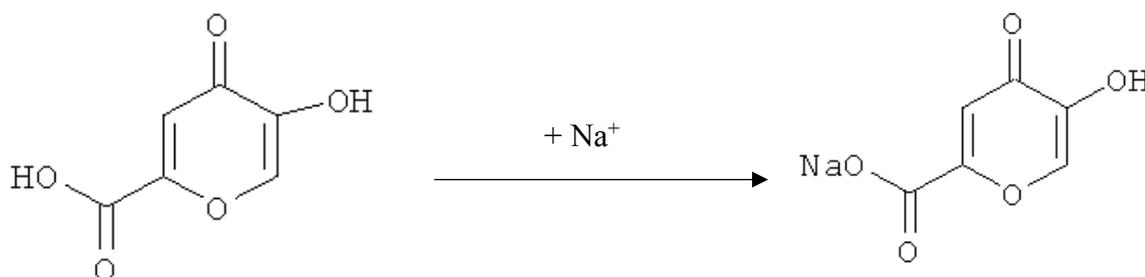


Рисунок 5.1 – Схема реакции получения соли коеновой кислоты

Расчет соотношения компонентов осуществляли в соответствии с методикой, описанной в разделе 2.6. Полученные составы растворов коеновой кислоты представлены в табл. 5.1.

Таблица 5.1 – Состав растворов коеновой кислоты с натрия гидрокарбонатом

Компоненты	Состав на 100 мл раствора в зависимости от концентрации коеновой кислоты					
	1%	1,5%	2%	2,5%	3%	3,5%
Коеновая кислота, г	1,01	1,52	2,02	2,53	3,03	3,54
Натрия гидрокарбонат, г	0,56	0,83	1,10	1,37	1,65	1,93
Вода для инъекций, мл	до 100	до 100	до 100	до 100	до 100	до 100

Недостатком использования гидрокарбоната натрия в данном случае является выделение диоксида углерода, что может приводить к выбросу коеновой кислоты вместе с образующимся углекислым газом. В связи с этим был разработан состав растворов с альтернативным способом нейтрализации коеновой кислоты – добавлением 10% раствора натрия гидроксида (табл. 5.2). Гидроксид натрия использовали в виде раствора с целью предотвращения сильного нагрева суспензии коеновой кислоты.

Таблица 5.2 – Состав растворов коеновой кислоты с натрия гидроксидом

Компоненты	Состав на 100 мл раствора в зависимости от концентрации коеновой кислоты					
	1%	1,5%	2%	2,5%	3%	3,5%
Коеновая кислота, г	1,01	1,52	2,02	2,53	3,03	3,54
Натрия гидроксид, раствор 10%, мл	2,59	3,89	5,17	6,47	7,75	9,05
Вода для инъекций, мл	до 100	до 100	до 100	до 100	до 100	до 100

Для приготовления растворов коеновой кислоты на весах ВК-3000.1 (Россия) взвешивали 50 г воды для инъекций. В воду добавляли отвешенное на весах МВ 210-А (Россия) количество субстанции коеновой кислоты при постоянном перемешивании при помощи магнитной мешалки ПЭ-6100 (Россия). В полученную суспензию добавляли нейтрализатор коеновой кислоты (гидрокарбонат натрия или 10% раствор натрия гидроксида) при постоянном измерении водородного показателя потенциала на рН-метре Sartorius РВ-11 (Франция), раствор постепенно становился прозрачным. Далее добавляли оставшееся количество воды для инъекций и перемешивали в течение 5 минут. При необходимости доводили рН нейтрализатором. Полученные растворы хранили в герметично закрытых стеклянных колбах при температуре +15-25°C.

Для изучения влияния рН разработанных составов на их стабильность были приготовлены растворы с различными диапазонами значений водородного показателя потенциала: 4,0-6,0; 6,0-7,0 и 7,0-8,0.

5.2 Изучение стабильности растворов коеновой кислоты, нейтрализованной гидрокарбонатом натрия

Полученные по технологии, описанной в п. 5.1, образцы представляли собой прозрачные бесцветные или с желтоватым оттенком растворы коеновой кислоты без осадка. В ходе исследования стабильности растворы контролировали по следующим параметрам: внешний вид, рН, количественное содержание коеновой кислоты в растворе. Контроль образцов осуществляли на второй, одиннадцатый и тридцатый день с момента их приготовления (табл. 5.3).

Таблица 5.3 – Результаты исследования стабильности растворов коеновой кислоты, нейтрализованной гидрокарбонатом натрия

Диапазон рН раствора	рН на момент начала опыта	Количественное содержание коеновой кислоты, мг/мл			рН на момент окончания опыта	Внешний вид на момент окончания опыта
		2 ^{ой} день	11 ^{ой} день	30 ^{ый} день		
Раствор коеновой кислоты 10 мг/мл (1%)						
4,0-6,0	5,0±0,1	9,94±0,05	10,05±0,10	9,95±0,20	5,7±0,1	Бесцветный, с желтоватым оттенком, без осадка
6,0-7,0	6,5±0,1	9,93±0,01	10,20±0,09	9,96±0,14	6,8±0,1	Светло-желтый, без осадка
7,0-8,0	7,6±0,1	10,10±0,02	9,86±0,27	9,48±0,01	7,7±0,1	Ярко-желтый, без осадка
Раствор коеновой кислоты 15 мг/мл (1,5%)						
4,0-6,0	5,0±0,1	15,01±0,03	15,34±0,28	15,08±0,10	5,5±0,1	Бесцветный, с желтоватым оттенком, без осадка
6,0-7,0	6,5±0,1	15,27±0,08	15,19±0,33	14,92±0,17	6,8±0,1	Желтый, без осадка
7,0-8,0	7,5±0,1	15,25±0,06	14,93±0,24	14,31±0,20	7,7±0,1	Желтый, с коричневым оттенком, без осадка
Раствор коеновой кислоты 20 мг/мл (2,0%)						

4,0-6,0	5,0±0,1	19,97±0,17	20,15±0,42	20,11±0,36	5,4±0,1	Бесцветный, с желтоватым оттенком, без осадка
6,0-7,0	6,4±0,1	20,11±0,19	19,88±0,62	19,63±0,25	6,7±0,1	Желтый, с коричневым оттенком, без осадка
7,0-8,0	7,4±0,1	19,63±0,71	19,51±0,36	18,80±0,23	8,1±0,1	Желто-коричневый, с осадком
Раствор коеновой кислоты 25 мг/мл (2,5%)						
4,0-6,0	5,0±0,1	24,58±0,09	25,03±0,39	25,23±0,12	5,2±0,1	Бесцветный, с желтоватым оттенком, без осадка
6,0-7,0	6,5±0,1	24,84±0,23	24,92±0,45	24,82±0,30	6,7±0,1	Ярко-желтый, без осадка
7,0-8,0	7,5±0,1	24,00±0,17	24,13±0,59	23,60±0,11	7,8±0,1	Желтый, с коричневым оттенком, с осадком
Раствор коеновой кислоты 30 мг/мл (3,0%)						
4,0-6,0	5,1±0,1	29,19±0,25	30,48±0,30	30,51±0,14	5,4±0,1	Бесцветный, с желтоватым оттенком, с осадком
6,0-7,0	6,5±0,1	29,37±0,37	30,62±0,45	29,95±0,08	6,7±0,1	Ярко-желтый, с осадком
7,0-8,0	7,5±0,1	28,65±0,77	28,50±0,41	27,87±0,45	7,8±0,1	Желтый, с коричневым оттенком, с осадком
Раствор коеновой кислоты 35 мг/мл (3,5%)						
4,0-6,0	5,0±0,1	35,20±0,73	34,97±0,60	33,28±0,62	5,3±0,1	Светло-желтый, с осадком
6,0-7,0	6,5±0,1	35,04±0,61	34,21±0,09	33,39±0,05	6,9±0,1	Желто-коричневый, с осадком
7,0-8,0	7,5±0,1	34,04±0,62	32,87±0,40	32,69±0,27	8,1±0,1	Коричневый, с осадком

Установлено, что растворы коеновой кислоты наиболее стабильны в диапазоне значений pH 4,0-6,0. Растворы с pH 6,0-7,0 и 7,0-8,0 с течением

времени значительно меняли цветность, в некоторых образцах наблюдалось выпадение осадка. Растворы с концентрациями коеновой кислоты 30 мг/мл (3,0%) и 35 мг/мл (3,5%) наименее стабильны во всех исследуемых диапазонах рН.

5.3 Изучение стабильности растворов коеновой кислоты, нейтрализованной гидроксидом натрия

Изучение стабильности растворов коеновой кислоты, полученных с использованием гидроксида натрия, проводили с учетом результатов, полученных в разделе 5.2. При приготовлении образцов исключили концентрации раствора 30 мг/мл (3,0%) и 35 мг/мл (3,5%) как наименее стабильные, исследуемый диапазон рН ограничили значениями 4,0-6,0 – каждый раствор готовили в трех вариантах рН $4,5 \pm 0,1$; $5,0 \pm 0,1$, $5,5 \pm 0,1$. Для доведения значения рН до необходимого использовали нейтрализатор – 10% раствор гидроксида натрия.

Полученные по технологии, описанной в п. 5.1, образцы представляли собой прозрачные бесцветные или с желтоватым оттенком растворы коеновой кислоты без осадка. В ходе исследования стабильности растворы контролировали по следующим параметрам: внешний вид, рН, количественное содержание коеновой кислоты в растворе (табл. 5.4).

Таблица 5.4 – Результаты исследования стабильности растворов коеновой кислоты, нейтрализованной гидроксидом натрия

рН раствора	рН на момент начала опыта	Количественное содержание коеновой кислоты, мг/мл			рН на момент окончания опыта	Внешний вид на момент окончания опыта
		2 ^{ой} день	11 ^{ой} день	30 ^{ый} день		
Раствор коеновой кислоты 10 мг/мл (1%)						
4,5	$4,5 \pm 0,1$	$10,07 \pm 0,10$	$10,11 \pm 0,18$	$9,92 \pm 0,09$	$4,5 \pm 0,1$	Бесцветный, с желтоватым оттенком, без осадка
5,0	$5,0 \pm 0,1$	$10,18 \pm 0,12$	$10,07 \pm 0,11$	$10,04 \pm 0,12$	$5,0 \pm 0,1$	Бесцветный, с желтоватым оттенком, без осадка

5,5	5,5±0,1	10,15±0,23	10,01±0,13	10,06±0,11	5,4±0,1	Бесцветный, с желтоватым оттенком, без осадка
Раствор коеновой кислоты 15 мг/мл (1,5%)						
4,5	4,5±0,1	14,85±0,18	14,90±0,11	14,91±0,16	4,5±0,1	Бесцветный, с желтоватым оттенком, без осадка
5,0	5,0±0,1	15,14±0,18	14,96±0,24	14,90±0,08	5,0±0,1	Бесцветный, с желтоватым оттенком, без осадка
5,5	5,5±0,1	15,14±0,26	14,91±0,23	14,83±0,28	5,4±0,1	Бесцветный, с желтоватым оттенком, без осадка
Раствор коеновой кислоты 20 мг/мл (2,0%)						
4,5	4,5±0,1	20,24±0,29	20,06±0,10	19,91±0,18	4,5±0,1	Бесцветный, с желтоватым оттенком, без осадка
5,0	5,0±0,1	20,05±0,20	19,87±0,10	19,92±0,12	5,0±0,1	Бесцветный, с желтоватым оттенком, без осадка
5,5	5,5±0,1	20,28±0,18	19,98±0,39	19,95±0,34	5,4±0,1	Бесцветный, с желтоватым оттенком, без осадка
Раствор коеновой кислоты 25 мг/мл (2,5%)						
4,5	4,5±0,1	25,76±0,16	24,84±0,10	24,70±0,54	4,5±0,1	Бесцветный, с желтоватым оттенком, с осадком
5,0	5,0±0,1	25,93±0,34	24,78±0,09	25,12±0,65	5,0±0,1	Бесцветный, с желтоватым оттенком, с осадком
5,5	5,5±0,1	25,71±0,41	25,29±0,24	24,93±0,41	5,4±0,1	Бесцветный, с желтоватым оттенком, с осадком

Установлено, что исследуемые образцы в течение 30 дней стабильны по показателям внешний вид, рН и количественное содержание коеновой кислоты за исключением образцов с концентрацией 25 мг/мл, в которых выпал осадок.

При сравнении результатов стабильности растворов коеновой кислоты, нейтрализованной натрия гидрокарбонатом (табл. 5.3) и растворов коеновой кислоты, нейтрализованной 10% раствором натрия гидроксида

(табл. 5.4) было установлено, что при нейтрализации натрия гидроксидом значения показателя рН растворов более стабильны. Это может быть связано с агрегатным состоянием нейтрализатора. При добавлении в раствор натрия гидрокарбоната реакция нейтрализации и, вместе с тем, повышение рН происходит по мере растворения нейтрализатора в воде, поэтому при недостаточном времени перемешивания рН может измениться уже в готовом растворе. Таким образом, использование нейтрализатора в виде предварительно подготовленного раствора имеет явные преимущества и может рассматриваться в качестве альтернативного способа получения растворов коеновой кислоты.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5

1. Разработаны и обоснованы составы растворов коеновой кислоты с учетом физико-химических свойств субстанции. Впервые предложено использование раствора натрия гидроксида в качестве нейтрализатора коеновой кислоты с целью улучшения ее растворимости в технологии получения растворов.

2. Разработана технология получения растворов коеновой кислоты. При сравнении способов нейтрализации растворов коеновой кислоты установлено, что более технологичным вспомогательным компонентом для повышения растворимости коеновой кислоты является 10% раствор натрия гидроксида, так как использование натрия гидрокарбоната в качестве нейтрализатора может способствовать выбросу коеновой кислоты вместе с образующимися парами углекислого газа.

3. Изучение стабильности растворов коеновой кислоты, нейтрализованной гидрокарбонатом натрия, показало, что исследуемые растворы наиболее стабильны в диапазоне рН 4,0-6,0. Установлено, что растворы с концентрациями 30 мг/мл (3,0%) и 35 мг/мл (3,5%) неустойчивы при хранении при комнатной температуре.

4. Изучение стабильности растворов коеновой кислоты, нейтрализованной гидроксидом натрия, показало, что исследуемые растворы стабильны в диапазоне рН 4,0-6,0 в концентрациях от 10 мг/мл (1,0%) до 20 мг/мл (2,0%). Установлено, что растворы с концентрациями 25 мг/мл (2,5%) неустойчивы при хранении при комнатной температуре.

5. Установлено, что при приготовлении растворов коеновой кислоты необходимо учитывать агрегатное состояние нейтрализатора. Использование нейтрализатора в виде раствора (10% раствор натрия гидроксида) обеспечивает более быстрое проведение реакции и доведение рН до необходимого значения. При использовании вспомогательного вещества в твердом виде (натрия гидрокарбонат) необходимо обеспечить более длительное перемешивания раствора по мере добавления нейтрализатора.

ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ОПЫТНО-ПРОМЫШЛЕННЫХ ПАРТИЙ РАСТВОРОВ КОМОНОВОЙ КИСЛОТЫ

Проведенные лабораторные испытания растворов комоновой кислоты позволили определить концентрации и диапазон рН, при которых исследуемые растворы наиболее стабильны. Составы, прошедшие отбор по заданным критериям стабильности: внешний вид, рН и количественное содержание комоновой кислоты, были получены в результате трансфера технологий на опытно-промышленный участок для изучения влияния первичной упаковки и условий хранения на стабильность растворов комоновой кислоты.

6.1 Разработка технологической схемы производства растворов комоновой кислоты

Для определения специфики получения растворов комоновой кислоты в промышленных условиях была разработана технологическая схема производства.

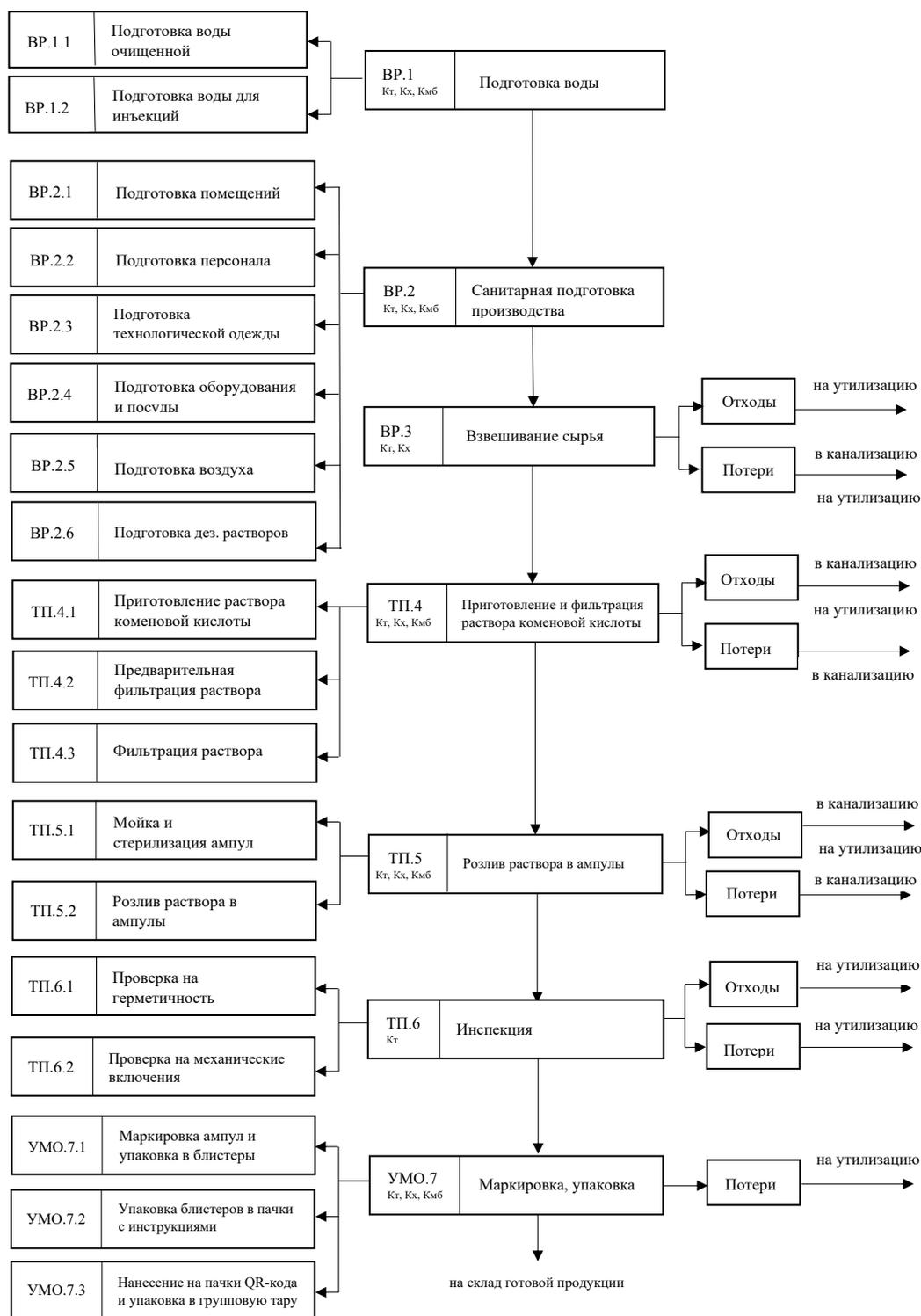
Основной технологический процесс производства исследуемых растворов по большей части совпадает с классической схемой получения парентеральных лекарственных средств. Однако была необходима адаптация технологии разработанных составов под используемые производственные мощности с учетом технологических и физико-химических свойств субстанции.

Наработка опытно-промышленных партий растворов комоновой кислоты была проведена с учетом требований надлежащей производственной практики к производству лекарственных средств для парентерального введения.

В качестве первичной упаковки использовали бесцветные и коричневые ампулы формы D (закрытого типа) из стекла первого гидролитического класса

Schott FIOLAX, обладающего хорошими технологическими параметрами, химической нейтральностью, непроницаемостью и прочностью.

Разработанная технологическая схема представлена на рис. 6.1.



(К_т, К_х, К_{мб} – контроль технологический, химический, микробиологический)

Рисунок 6.1 – Технологическая схема производства растворов коеновой кислоты в ампулах

Технологическая схема производства растворов коеновой кислоты в ампулах

(рис. 6.1) включает следующие стадии: ВР.3 Взвешивание сырья, ТП.4 Приготовление и фильтрация раствора коеновой кислоты, ТП.5 Розлив раствора в ампулы и ТП.6 Инспекция, которая предусматривает индивидуальную двухступенчатую проверку растворов в ампулах на герметичность и наличие механических включений путем воздействия тока высокого напряжения.

Технологическая схема не включает стадию финишной стерилизации, поскольку предполагает осуществление розлива растворов коеновой кислоты в асептических условиях. Это связано с тем, что при автоклавировании ампул с раствором коеновой кислоты при температуре $121\pm 1^\circ\text{C}$ под давлением 120 кПа в течение 8 мин (ОФС 1.1.0016.18) наблюдалось изменение цветности и значения показателя рН растворов сразу после стерилизации (рис. 6.2), что свидетельствует о термолабильности растворов коеновой кислоты.

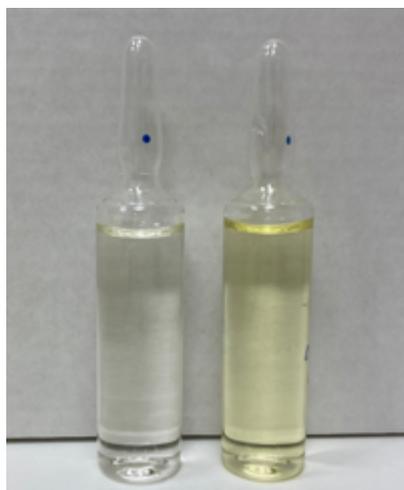


Рисунок 6.2 – Фото растворов коеновой кислоты 20 мг/мл до (слева) и после (справа) финишной стерилизации

6.2 Разработка технологических инструкций на наработку опытно-промышленных партий растворов коеновой кислоты

В соответствии с вышеизложенной технологической схемой были составлены технологические инструкции на наработку опытно-промышленных партий растворов коеновой кислоты.

В соответствии с рекомендациями Международной ассоциации фармацевтического инжиниринга Евразийского экономического союза (ISPE ЕАЭС) первым этапом трансфера был проведен аудит производственной площадки для установления соответствия выбранного производственного участка требованиям надлежащей производственной практики [94].

При переносе технологии с лабораторного оборудования на опытно-промышленный участок были определены критические точки процесса получения растворов коеновой кислоты (табл. 6.1).

Таблица 6.1 – Критические точки получения растворов коеновой кислоты

Наименование операции	Критические показатели	Диапазон значений	Уровень критичности
ВР.3 Взвешивание сырья			
Взвешивание	масса коеновой кислоты	отклонение $\pm 0,1$ г	К
	масса/объем нейтрализатора	отклонение $\pm 0,1$ г/мл	К
	масса воды для инъекций	отклонение $\pm 0,1$ г	К
ТП.4 Приготовление и фильтрация растворов коеновой кислоты			
Приготовление раствора	Скорость перемешивания	220÷250 об/мин	Н
	рН раствора	отклонение $\pm 0,1$	З
	Время перемешивания после добавления всех компонентов	10÷15 мин	З
Предварительная фильтрация	Целостность фильтра	целостный	Н
	Размер пор фильтра	1 мкм	Н
Стерилизующая фильтрация	Целостность фильтра	целостный	К
	Размер пор фильтра	0,2 мкм	З
ТП.5 Розлив раствора в ампулы			
	Объем наполнения	10,5 \pm 0,1 мл	Н

Розлив раствора в ампулы	Запайка ампул	Отсутствие нагара, визуальная целостность	3
--------------------------	---------------	---	---

В табл. 6.1 представлено описание технологических операций, наиболее критических параметров ведения процесса и диапазон возможных отклонений. Также отражена качественная оценка критичности данных операций в соответствии со следующим буквенным выражением уровней критичности:

К – критическое отклонение: может оказать явное влияние на качество, эффективность или безопасность продукции;

З – значительное отклонение: потенциально может вызвать риски в отношении качества, эффективности или безопасности продукции, но не критичное для качества продукции;

Н – незначительное отклонение: не оказывает влияние на качество, эффективность или безопасность продукции, может быть легко устранено в рамках системы качества.

На основании проведенного качественного анализа рисков были разработаны технологические инструкции на производство опытно-промышленных партий растворов коеновой кислоты (Приложение А, В).

6.3 Проведение анализа рисков при трансфере технологии с лабораторного на опытно-промышленный участок

В соответствии с разработанной технологической схемой был проведен анализ рисков технологических процессов производства растворов коеновой кислоты при помощи метода FTA (Fault Tree Analysis; анализ дерева неисправностей).

На первом этапе было построено дерево неисправностей. В качестве главного события выбран наихудший случай – некорректное выполнение получения опытно-промышленных серий растворов коеновой кислоты (рис. 6.3).

Далее были определены нежелательные события в работе системы. Для этого выделили основные группы с общими характеристиками, представляющие собой операции и области организации технологических процессов, наиболее критичные для наработки опытно-промышленной партии растворов коеновой кислоты (рис. 6.3).

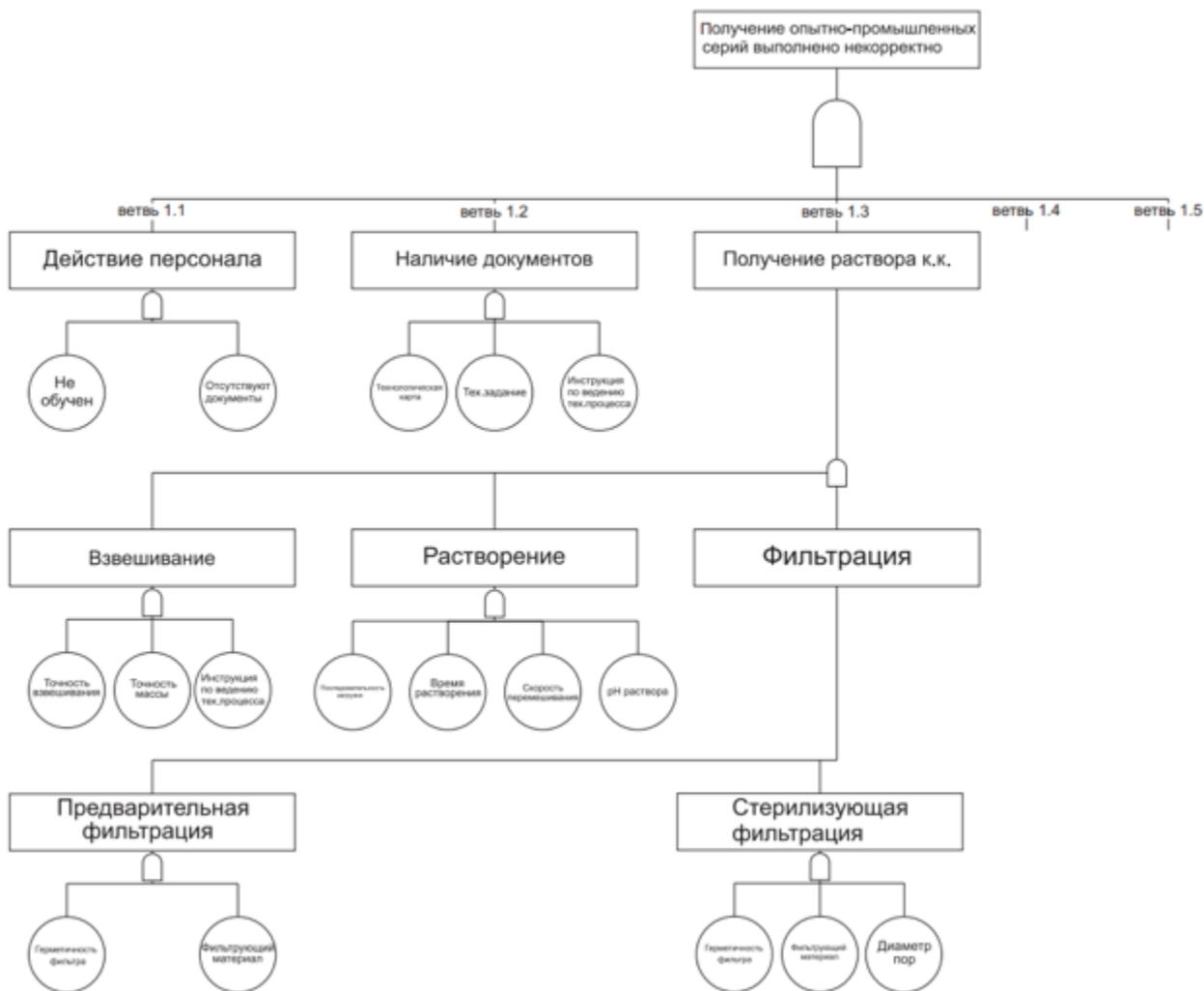


Рисунок 6.3 – Дерево неисправностей

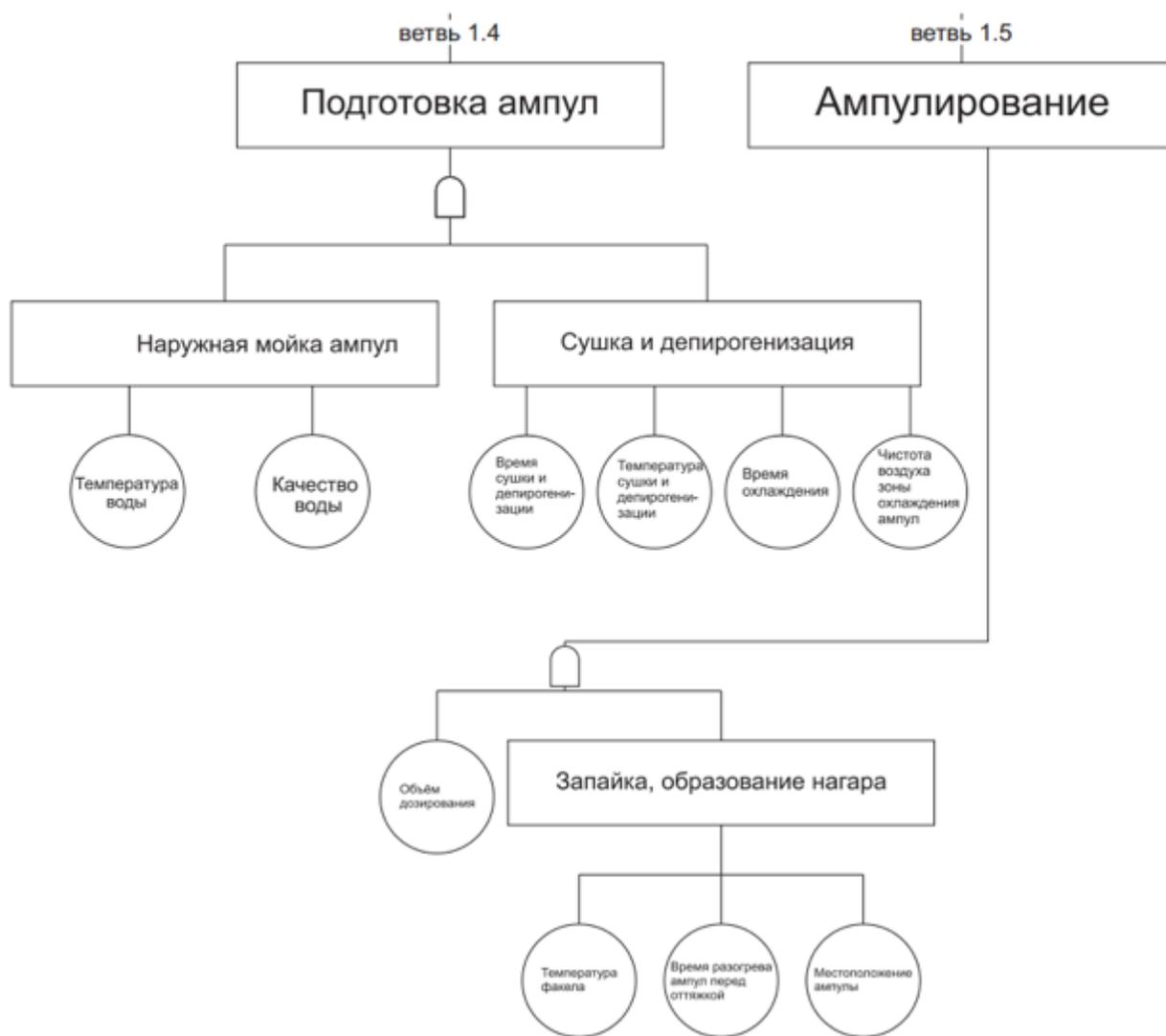


Рисунок 6.3 – Дерево неисправностей (окончание)

Все возможные отклонения были распределены между пятью ветвями дерева неисправностей по операциям. Для каждой ветви были идентифицированы первичные риски, которые могут служить причиной отклонений при производстве опытно-промышленной партии растворов коеновой кислоты, влияющих на качество продукции.

Затем была проведена количественная оценка идентифицированных рисков методом FMEA (Failure Mode and Effects Analysis; анализ видов и последствий отказов). Для этого были разработаны шкалы для оценки значимости (табл. 6.2), вероятности наступления (табл. 6.3) и вероятности обнаружения рисков (табл. 6.4).

Таблица 6.2 – Шкала значимости риска

Значимость	Критерий значимости риска	Балл (S)
Очень высокое	Данный вид потенциального риска ведет к невозможности трансфера технологии или оказывает существенное влияние на показатели качества лекарственного средства	5
Высокое	Данный вид потенциального риска ведет к снижению эффективности трансфера технологии из-за нарушения одного или нескольких параметров процесса или условий подготовки к проведению технологическому процессу и может оказывать влияние на показатели качества лекарственного средства	4
Умеренное	Трансфер технологии осуществляем, но возможны нарушения в ходе его работы и оказывает незначительное влияние на показатели качества лекарственного средства	3
Низкое	Трансфер технологии проводится по плану, но за счет возникновения незначительных сбоев могут наблюдаться небольшие отклонения и не оказывает влияние на показатели качества лекарственного средства	2
Отсутствует	Последствий нет	1

Таблица 6.3 – Шкала вероятности обнаружения риска

Вероятность обнаружения	Критерии обнаружения риска	Балл (D)
Почти невозможная	Обнаружить несоответствие можно только по его влиянию на качество продукта	5
Маловероятная	В рамках текущего контроля мало шансов обнаружить несоответствие	4
Умеренная	В рамках текущего контроля можно обнаружить несоответствие	3
Хорошая	В рамках текущего контроля в большинстве случаев можно обнаружить несоответствие	2
Очень хорошая	В рамках текущего контроля несоответствие будет обязательно обнаружено	1

Таблица 6.4 – Шкала вероятности наступления риска

Вероятность наступления	Критерий возникновения риска	Балл (O)
Очень высокая	Высокая вероятность возникновения риска	5
Высокая	Частое возникновение риска	4
Умеренная	Данный риск имеет равные шансы проявления и не проявления	3
Низкая	Наступление риска сведено к минимуму	2

Малая	Наступление риска маловероятно	1
-------	--------------------------------	---

Для оценки критичности рисков по методу FMEA с использованием разработанных шкал была сформирована матрица ранжирования рисков, значения и условные обозначения которой представлены в таблице 6.5.

Таблица 6.5 – Матрица ранжирования рисков

Приоритетное число рисков ПЧР	Значимость последствий
От 1 до 10	Незначительные
От 11 до 25	Малые
От 25 до 50	Умеренные
От 51 до 125	Серьезные

Значимость возникающих последствий представлена классической цветовой гаммой. При выявлении незначительных и малых рисков, выделенных зеленым цветом, не нужно проводить дополнительных корректирующих мероприятий, а только осуществлять наблюдение с фиксацией в соответствующей документации. При выявлении умеренных рисков, обозначенных оранжевым цветом, необходимо предпринять корректирующие действия в определенный период времени.

При наступлении серьезного риска (красный цвет) все работы останавливаются до его снижения. Идентификация обнаружения рисков на этапе разработки технического задания позволяет предусмотреть и провести корректирующие мероприятия до их возникновения, а также позволяет разработать комплекс мероприятий в рамках планово-предупредительного ремонта, снижающего вероятность возникновения рисков.

На втором этапе все идентифицированные риски (рис. 6.3) были проанализированы при помощи метода FMEA.

Анализ рисков методом FMEA с присвоением каждому риску баллов и ранжировании рисков по их значимости, вероятности наступления и вероятности обнаружения, а также расчет приоритетного числа риска и разработка корректирующих мероприятий с повторным анализом рисков

представлен для каждой ветви. Результаты данного анализа приведены в таблице 6.6.

Таблица 6.6 – Результаты оценки последствий и отказов по FMEA

№ п/п	Потенциальный вид отказа	S	O	D	Приоритетное число рисков (ПЧР)	Как избежать риска	Новые баллы			
							S	O	D	ПЧР
Действие персонала										
1	Персонал не обучен	4	4	4	64	Разработать документацию (СОП, инструкции, протоколы оценки обучения); Провести обучение персонала; Осуществить контроль эффективности обучения персонала	4	2	2	16
2	Отсутствие документов	3	4	3	36	Разработать соответствующие документы и внести в реестр системы документации; Провести обучение персонала; Осуществить контроль эффективности обучения персонала	4	1	1	4
Наличие документов										
3	Отсутствие технологических карт	2	2	4	16	Разработать технологические карты; Провести обучение персонала; Осуществить контроль эффективности обучения персонала	2	2	1	4
4	Отсутствие технического задания	3	3	3	27	Разработать техническое задание; Провести обучение персонала; Осуществить контроль эффективности обучения персонала	3	2	1	6
5	Отсутствие инструкции по ведению процесса	3	3	3	27	Разработать техническое задание; Провести обучение персонала; Осуществить контроль эффективности обучения персонала	3	2	1	6
Получение раствора коеновой кислоты. Взвешивание										
6	Нарушение точности взвешивания	4	4	4	64	Провести оценку соответствия технической характеристики весов требованиям точности взвешивания для данных процессов	4	2	2	16

7	Нарушение точности массы	4	4	4	64	Разработать и вести журнал калибровки и проверки весов; Обеспечить фиксацию допустимых отклонений в технологических картах	4	1	1	4
8	Отсутствие инструкции по ведению технологического процесса	3	3	3	27	Разработать инструкции по ведению технологического процесса; Провести обучение персонала; Осуществить контроль эффективности обучения персонала	3	2	2	12
Получение раствора коеновой кислоты. Растворение										
9	Нарушение последовательности загрузки	3	3	2	18	Обозначить последовательность загрузки в технологических картах и инструкции по ведению технологического процесса	3	1	2	6
10	Несоответствие времени растворения	4	4	5	80	Обозначить время растворения в технологических картах и инструкции по ведению технологического процесса	4	1	2	8
11	Нарушение скорости перемешивания раствора	2	2	4	16	Обозначить скорость перемешивания раствора в технологических картах и инструкции по ведению технологического процесса	2	1	2	4
12	Несоответствие pH раствора	5	3	2	30	Разработать и вести журнал калибровки pH-метра; Обеспечить фиксацию допустимых отклонений в технологических картах; Включить в технологическую инструкцию раздел по доведению pH раствора; Отражать доведение pH раствора в технологических картах	5	1	1	5
Получение раствора коеновой кислоты. Предварительная фильтрация										
13	Нарушение герметичности фильтра	2	2	2	8	Вести обязательный контроль фильтра на герметичность до и после фильтрации	2	1	1	2
14	Несоответствие фильтрующего материала	3	3	3	27	Ввести фиксацию сведений о материале фильтра в технологических картах; Обеспечить контроль маркировки фильтров	3	1	1	3
Получение раствора коеновой кислоты. Стерилизующая фильтрация										
15	Нарушение герметичности фильтра	3	3	5	45	Вести обязательный контроль фильтра на герметичность до и после фильтрации	3	1	1	3
16	Несоответствие фильтрующего материала	3	3	4	36	Ввести фиксацию сведений о материале фильтра в технологических картах;	3	1	2	6

						Обеспечить контроль маркировки фильтров				
17	Несоответствие диаметра пор	4	4	5	80	Вести фиксацию сведений о диаметре пор фильтра в технологических картах; Обеспечить контроль маркировки фильтров	4	1	3	12
Подготовка ампул. Наружная мойка ампул										
18	Несоответствие температуры воды	2	2	4	16	Установить термодатчики в систему мойки	2	1	1	2
19	Несоответствие качества воды	3	3	4	36	Вести периодический мониторинг качества воды	3	1	1	3
Подготовка ампул. Сушка и депирогенизация										
20	Нарушение времени сушки и депирогенизации	4	4	5	80	Вести контроль скорости депирогенизационного туннеля	4	1	1	4
21	Несоответствие температуры сушки и депирогенизации	4	4	5	80	Установить термодатчики в систему сушки и депирогенизации	4	1	1	4
22	Несоответствие времени охлаждения ампул	5	2	3	30	Вести контроль времени охлаждения ампул	5	1	1	5
23	Нарушение чистоты воздуха зоны охлаждения ампул	4	4	5	80	Вести периодический мониторинг чистоты воздуха зоны охлаждения ампул	4	2	1	8
Ампулирование										
24	Нарушение объема дозирования	4	4	5	80	Вести внутрипроизводственный контроль объема дозирования; Обеспечить фиксацию внутрипроизводственного контроля объема дозирования в технологических картах; Включить в технологическую инструкцию раздел по внутрипроизводственному контролю объема дозирования	4	2	1	8
25	Несоответствие температуры факела	5	3	5	75	Описать в технологической инструкции алгоритм контроля и фиксации параметров технологических сред; Обеспечить фиксацию параметров технологических сред в технологических картах	5	2	1	10
26	Несоответствие времени разогрева ампул перед оттяжкой	5	3	5	75	Описать в технологической инструкции алгоритм контроля и фиксации параметров установки для розлива и запайки ампул	5	2	1	10
27	Нарушение местоположения ампулы	2	3	2	12	Описать в технологической инструкции алгоритм контроля и фиксации	2	1	1	2

						параметров установки для розлива и запайки ампул; Разработать инструкцию по подготовке к работе линии розлива при смене форматных частей				
--	--	--	--	--	--	---	--	--	--	--

В ходе анализа процессов, требуемых для осуществления наработки опытно-промышленной партии растворов коеновой кислоты методом FMEA было проанализировано 27 возможных отклонений, которые могут повлиять на качество продукции. При выявлении незначительных и малых рисков не нужно проводить дополнительных корректирующих мероприятий, а только осуществлять наблюдение (с фиксацией в соответствующей документации). При выявлении умеренных рисков необходимо предпринять корректирующие действия в определенный период времени.

Для предупреждения и снижения тяжести последствий выявленных видов отказа были разработаны корректирующие действия. Анализ рисков с учетом принятия предложенных мер показал, что существует возможность исключить серьезные и умеренные последствия, снизив вероятность наступления рисков и повысив вероятность их обнаружения при помощи разработки дополнительной документации и введения элементов контроля в технологическом процессе (рис. 6.4).

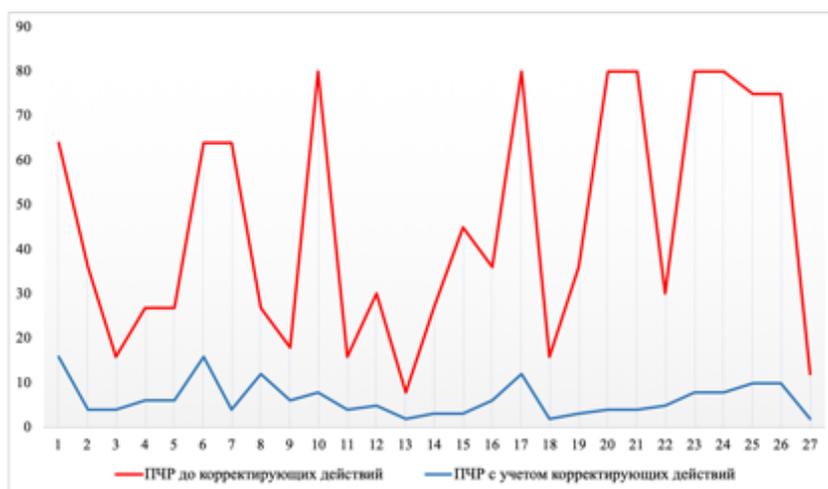


Рисунок 6.4 – Сравнение ПЧР до и после введения корректирующих действий

Сравнение приоритетных чисел рисков отказов до и после введения корректирующих действий (рис. 6.4) позволило проследить влияние

выявленных рисков на качество продукции и оценить степень этого влияния. Показано, что последствия возможных отклонений при производстве растворов коеновой кислоты могут быть сведены к минимуму уже на этапе наработки опытно-промышленной партии при принятии мер, направленных на снижение рисков для качества продукции.

6.4 Изучение стабильности опытно-промышленных партий растворов коеновой кислоты, нейтрализованной натрия гидрокарбонатом

При трансфере технологий для наработки опытно-промышленных партий растворов коеновой кислоты была разработана комбинированная технологическая инструкция, подробно описывающая процесс приготовления и розлива растворов и содержащая заполняемую форму для регистрации оператором значений параметров производственных процессов (см. Приложение А).

В соответствии с разработанной технологической инструкцией было наработано три опытно-промышленные партии растворов коеновой кислоты.

Растворы готовили в помещении класса чистоты С, стерилизующую фильтрацию раствора, розлив в ампулы и запайку осуществляли в зоне А класса чистоты В.

Приготовленные растворы фильтровали через предварительный фильтр КФВг.П-100-К-60 из микроволокна полипропилена повышенной прочности (1 мкм). Затем проводили стерилизующую фильтрацию при помощи фильтра МКМ.ПС-020 (полиэфирсульфоновая миникапсула 0,2 мкм).

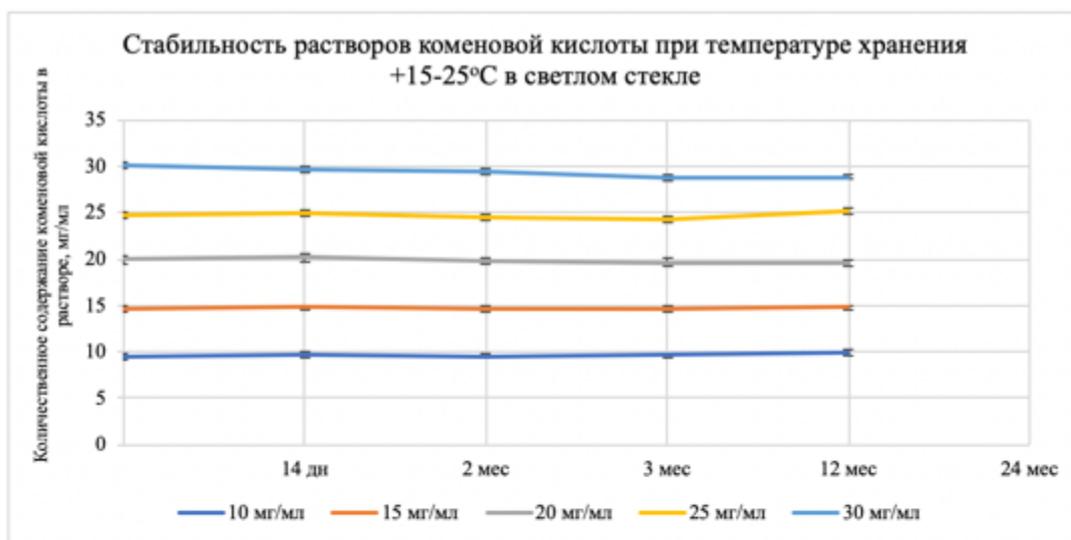
К основным сложностям, возникшим в процессе наработки опытно-промышленных партий растворов коеновой кислоты, можно отнести стадию приготовления растворов, поскольку при добавлении натрия гидрокарбоната наблюдается выделение тепла и активное газо- и пенообразование, вследствие чего возможны потери активного вещества вместе с парами углекислого газа. В связи с этим нейтрализатор к водной суспензии коеновой кислоты добавляли небольшими порциями при постоянном перемешивании.

Полученные образцы были исследованы по показателям качества: описание, механические включения (в соответствии с ГФ), герметичность, подлинность, количественное содержание коеновой кислоты (по методикам, описанным в разделе 2.7), рН (потенциометрически), стерильность и пирогенность. Некондиционные образцы забраковывали и исключали из дальнейших исследований.

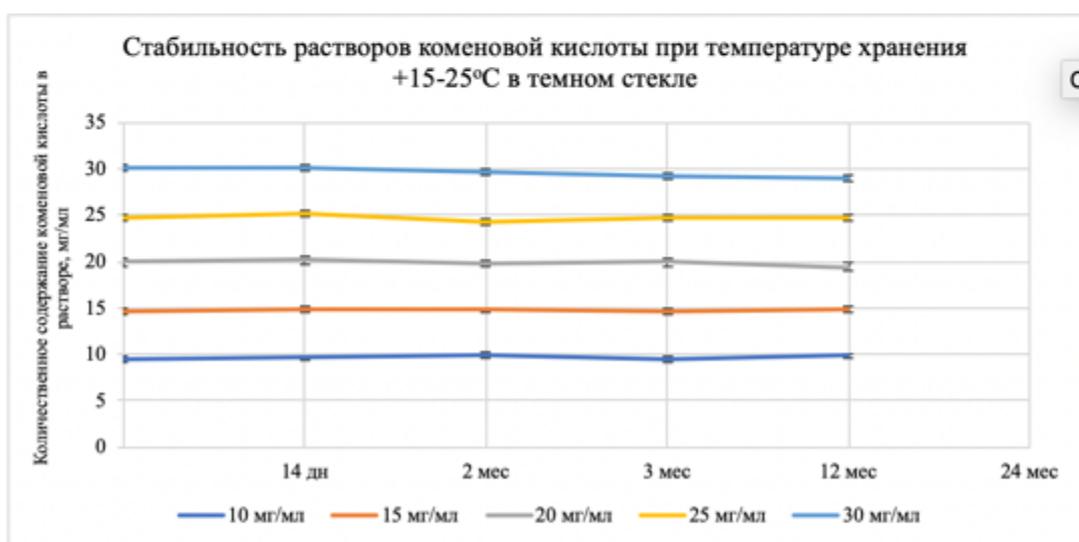
Образцы, прошедшие контроль по показателям качества, закладывали на хранение при разных температурных условиях: +4-8°C, +8-15°C, +15-25°C и изучали стабильность растворов с течением времени (рис. 6.5-6.7).

Для исследования влияния первичной упаковки и условий хранения на стабильность растворов коеновой кислоты образцы, наработанные в рамках опытно-промышленных партий, контролировали по ряду параметров.

Изучение стабильности растворов коеновой кислоты проводили по следующим критериям: внешний вид, рН, количественное содержание коеновой кислоты, подлинность. Исследования проводили в соответствии с методиками, описанными в разделе 2.7. Для построения графиков, характеризующих стабильность растворов, исследование образцов по заданным критериям проводили со следующей периодичностью: 1 день (нулевая точка), 2 недели, 2 месяца, 3 месяца, 12 месяцев, 24 месяца. Полученные результаты представлены на рисунках 6.5-6.7 (таблицы с полученными значениями см. в Приложении Б).



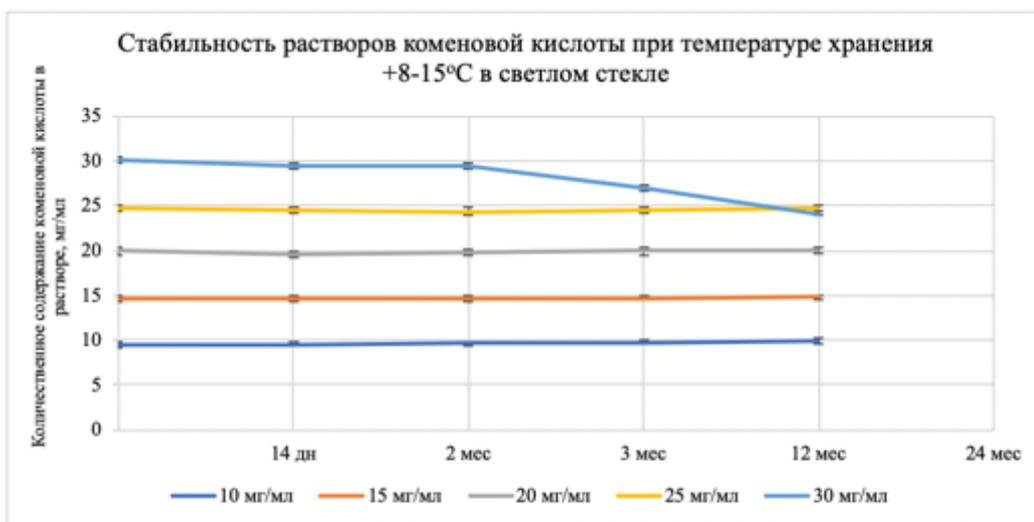
а



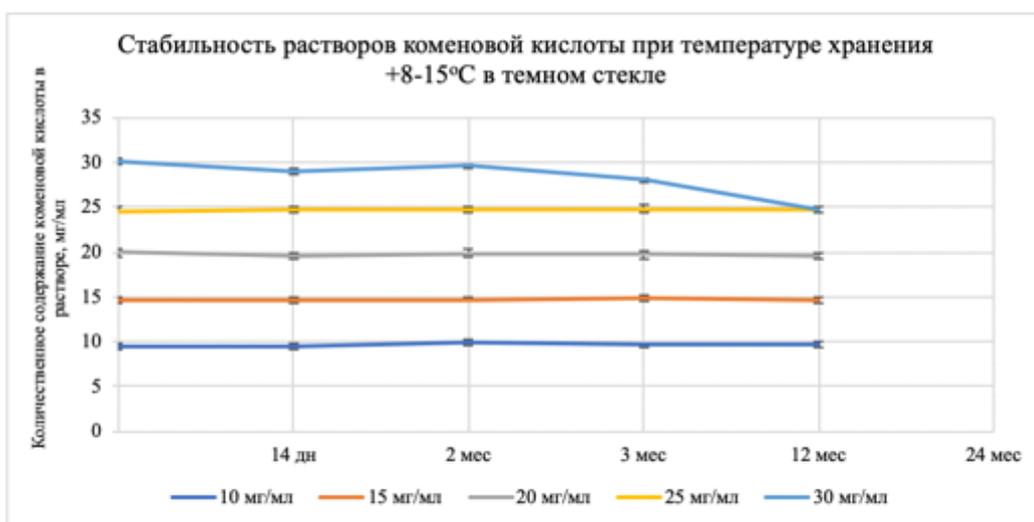
б

Рисунок 6.5 – Кривые стабильности растворов коеновой кислоты при температуре хранения +15-25°C по критерию «количественное содержание коеновой кислоты в растворе» в светлых ампулах (а) и темных ампулах (б)

Из рис. 6.5 видно, что содержание коеновой кислоты в растворе с концентрацией действующего вещества 30 мг/мл спустя 12 месяцев снизилось примерно на 1 мг/мл, при этом разницы между кривыми стабильности в светлых и темных ампулах не наблюдается.



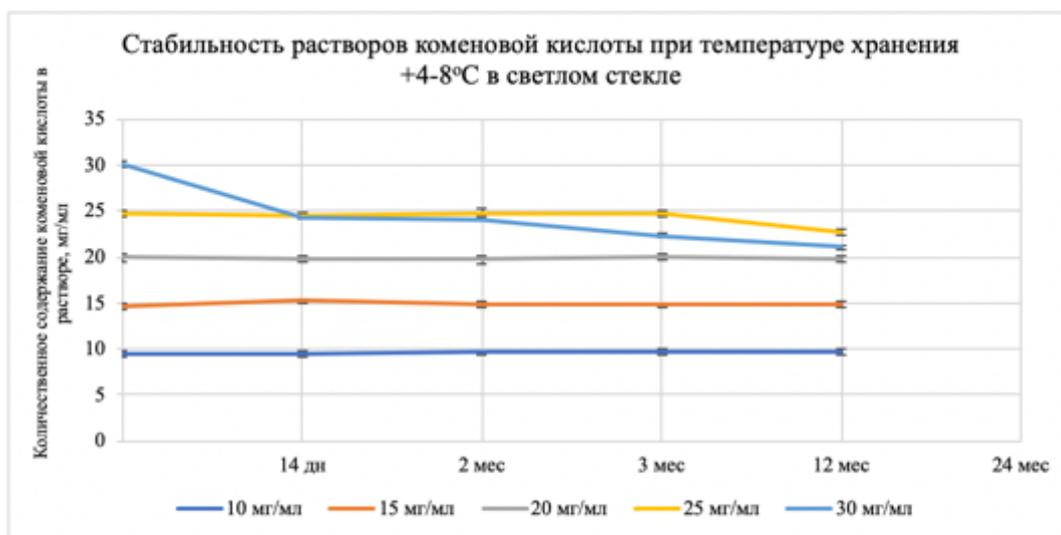
а



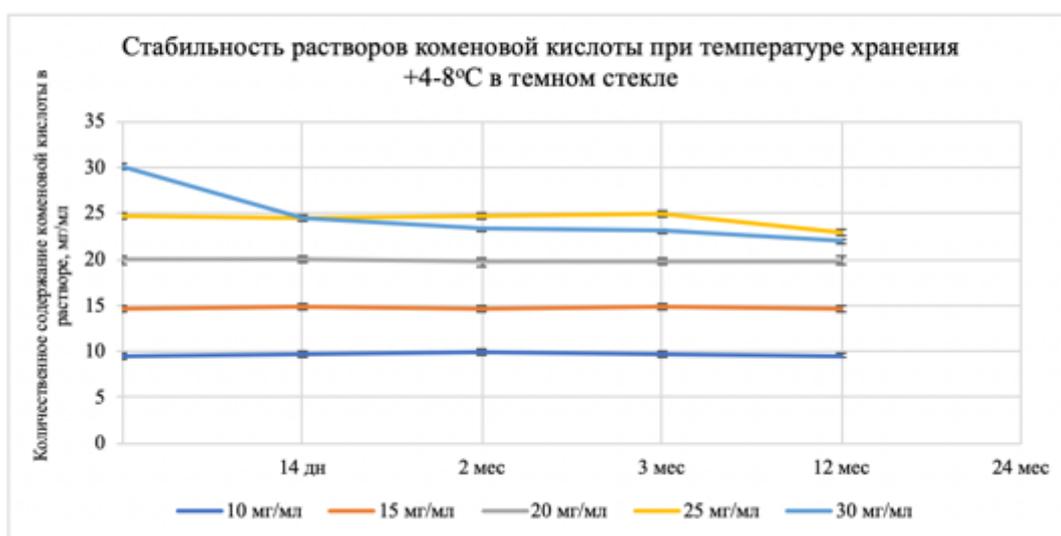
б

Рисунок 6.6 – Кривые стабильности растворов коеновой кислоты при температуре хранения +8-15°C по критерию «количественное содержание коеновой кислоты в растворе» в светлых ампулах (а) и темных ампулах (б)

Согласно рис. 6.6 содержание коеновой кислоты в растворе с концентрацией действующего вещества 30 мг/мл спустя 12 месяцев хранения при температуре +8-15°C снизилось более значительно (на 5-6 мг/мл), по сравнению с образцами, хранившимися при температуре +15-25°C (рис. 6.3).



а



б

Рисунок 6.7 – Кривые стабильности растворов коеновой кислоты при температуре хранения +4-8°C по критерию «количественное содержание коеновой кислоты в растворе» в светлых ампулах (а) и темных ампулах (б)

Из рис. 6.7 видно, что содержание коеновой кислоты в растворе с концентрацией действующего вещества 30 мг/мл спустя 12 месяцев хранения при температуре +4-8°C значительно снизилось (на 8-9 мг/мл) по сравнению с другими условиями хранения (рис. 6.5, 6.6). Остальные образцы (10 мг/мл, 15 мг/мл, 20 мг/мл и 25 мг/мл) стабильны по критерию «количественное содержание коеновой кислоты в растворе».

На данном этапе исследования было изучено влияние на стабильность растворов коеновой кислоты, нейтрализованной натрия гидрокарбонатом, концентрации действующего вещества, упаковки и условий хранения.

Установлено, что раствор коеновой кислоты с концентрацией 30 мг/мл (3,0%) нестабилен в изучаемых условиях хранения. Для данной концентрации раствора характерно выпадение осадка спустя две недели после получения раствора и постепенное снижение количественного содержания коеновой кислоты в течение всего срока хранения. В связи со значительными изменениями значений показателей стабильности была проведена идентификация растворов путем проведения испытаний на подлинность (рис. 6.8).

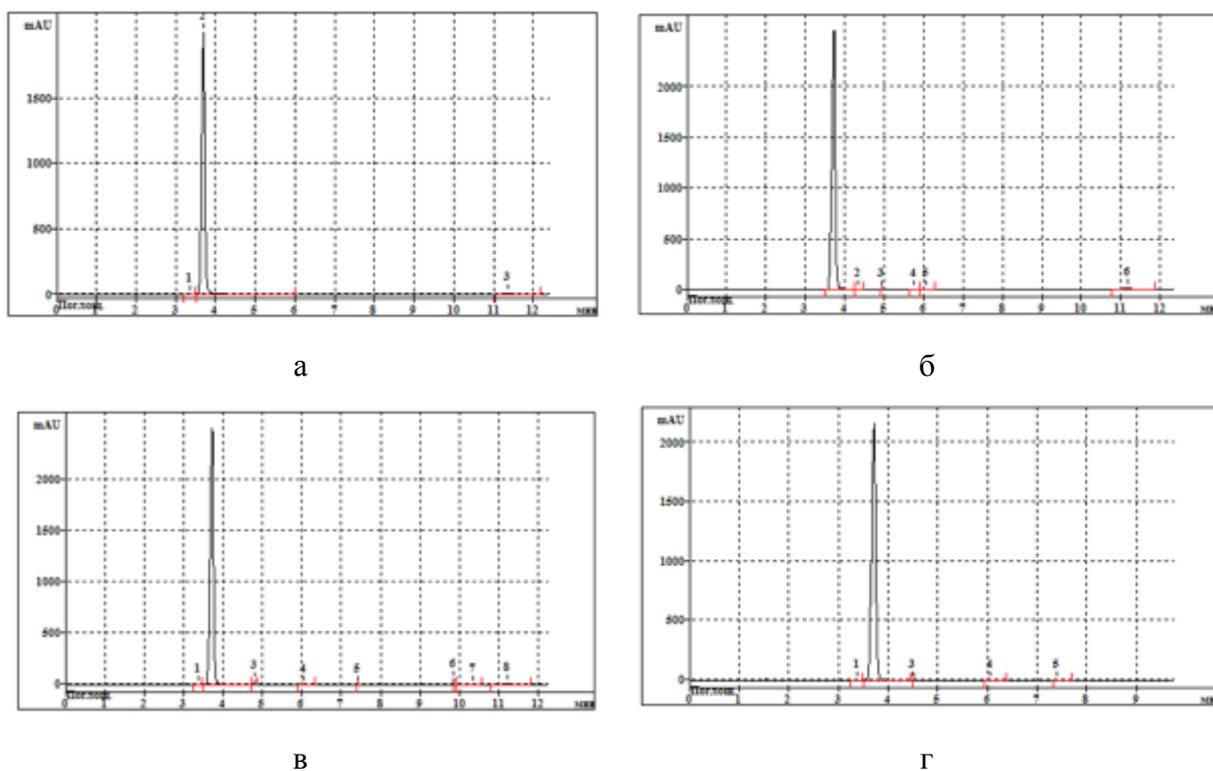


Рисунок 6.8 – Хроматограмма раствора РСО коеновой кислоты (а), хроматограммы растворов коеновой кислоты 30 мг/мл после хранения в течении 12 месяцев при температуре +15-25°C (б), +8-15°C (в), +4-8°C (г)

На хроматограммах растворов коеновой кислоты 30 мг/мл после хранения в течении 12 месяцев (рис. 6.8, б,в,г) время удерживания основного пика соответствует времени удерживания на хроматограмме раствора РСО коеновой кислоты (рис. 6.8, а), что свидетельствует о подлинности

растворов. Из этого следует, что, несмотря на выпадение осадка и изменение цветности (рис. 6.9), химический состав растворов остается неизменным.

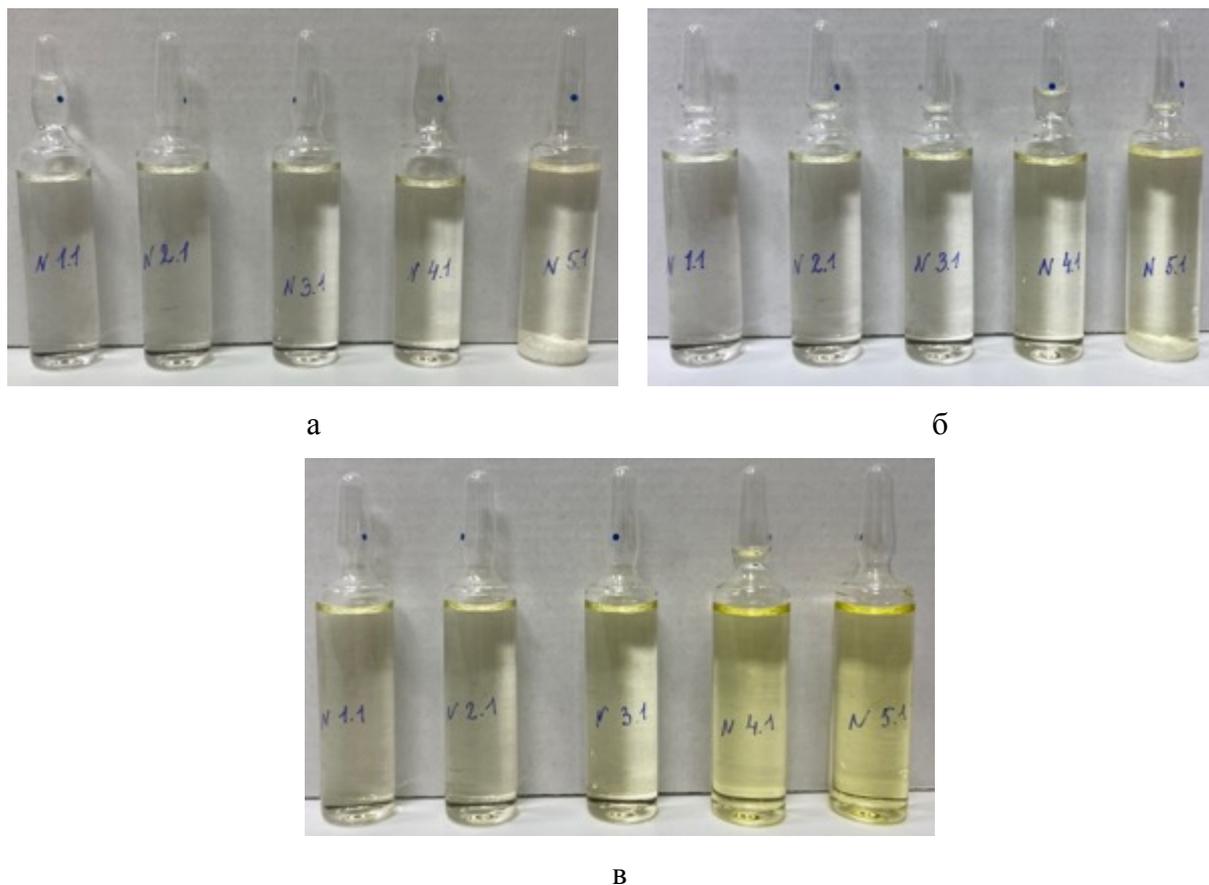


Рисунок 6.9 – Фото растворов коеновой кислоты спустя 12 месяцев хранения при температуре +4-8°C (а), +8-15°C (б), +15-25°C (в) (№ 1.1 – концентрация 10 мг/мл; № 2.1 – концентрация 15 мг/мл; № 3.1 – концентрация 20 мг/мл; № 4.1 – концентрация 25 мг/мл; № 5.1 – концентрация 30 мг/мл)

На рис. 6.9 приведены фотографические изображения ампул с раствором коеновой кислоты, расположенных в порядке возрастания процентного содержания коеновой кислоты в растворе. Обнаружена следующая закономерность: количество осадка больше в образцах при температуре хранения +4-8°C. Однако в изменении цветности выявлена противоположная зависимость: интенсивность цветности более выражена в образцах, хранившихся при температуре +15-25°C (рис. 6.9, в).

В растворах с концентрациями коеновой кислоты от 10 мг/мл до 25 мг/мл спустя 12 месяцев не выявлено существенных изменений по заданным

критериям стабильности. Разницы в стабильности растворов коеновой кислоты при сравнении образцов в ампулах из темного и светлого стекла не наблюдалось.

В дальнейшем планируется получить еще одну точку (24 мес.) для построения кривых стабильности исследуемых растворов.

6.5 Изучение стабильности опытно-промышленных партий растворов коеновой кислоты, нейтрализованной натрием гидроксидом

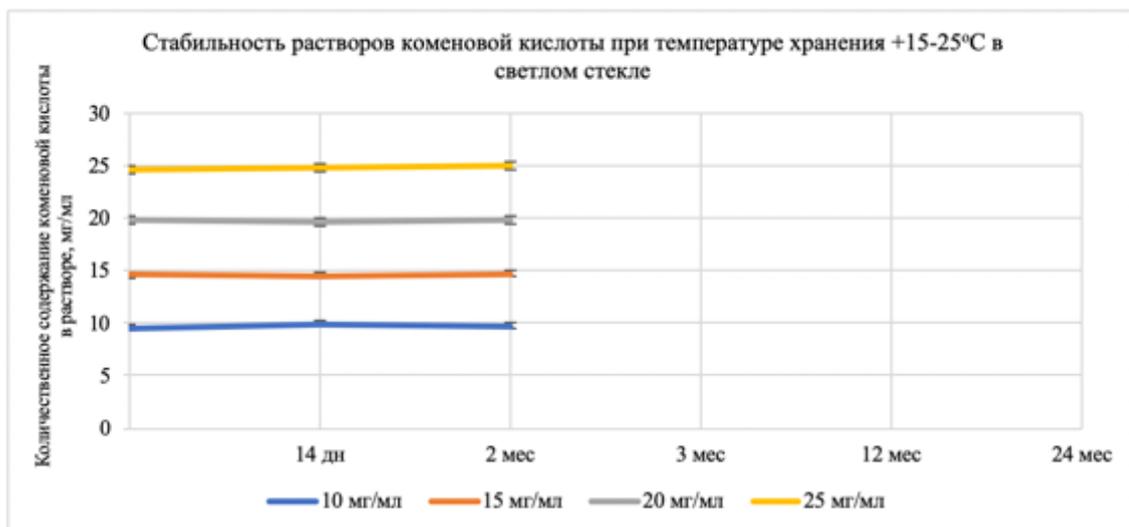
Для сравнения способов нейтрализации коеновой кислоты была разработана технологическая инструкция на получение опытно-промышленных партий растворов с использованием в качестве нейтрализующего агента 10% раствора натрия гидроксида (см. Приложение В), в соответствии с которой были наработаны три опытно-промышленные партии растворов коеновой кислоты.

Наработку опытно-промышленных партий растворов коеновой кислоты, нейтрализованной натрием гидроксидом, осуществляли по технологии, аналогичной разделу 6.4. Из опыта был исключен раствор коеновой кислоты с концентрацией 30 мг/мл из-за его нестабильности в ходе хранения.

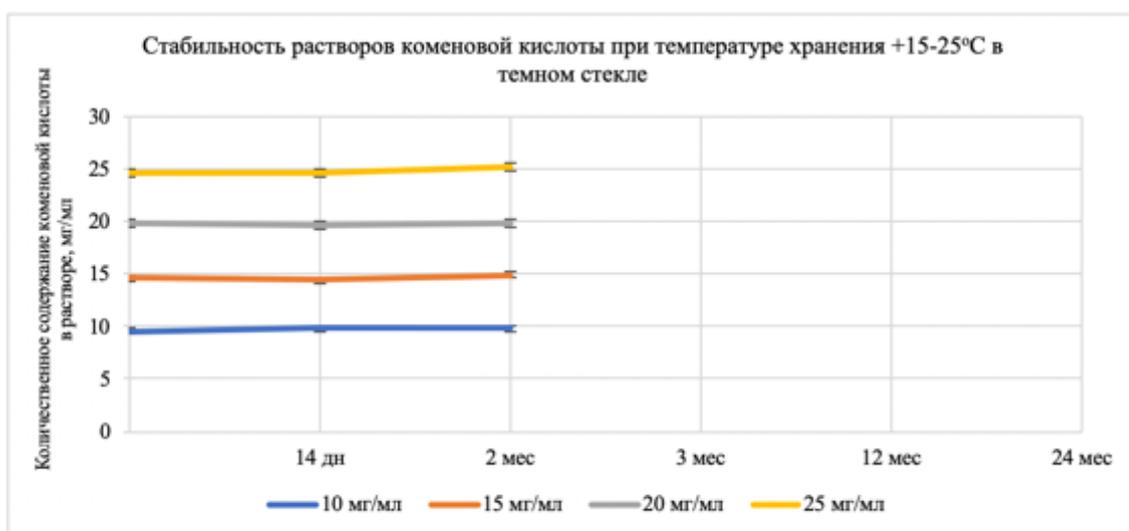
В отличие от технологии получения растворов коеновой кислоты с натрием гидрокарбонатом использование в качестве нейтрализатора 10% раствора натрия гидроксида предполагает увеличение числа операций на стадии ТП.4.1 Приготовление раствора коеновой кислоты, поскольку требуется предварительная подготовка раствора нейтрализатора и его охлаждение. Однако к существенным преимуществам 10% раствора натрия гидроксида можно отнести отсутствие пенообразования и выделения тепла при приготовлении растворов коеновой кислоты. Это может стать критерием для выбора данного способа нейтрализации при масштабировании производственных процессов.

Исследование стабильности растворов коеновой кислоты, нейтрализованной 10% раствором натрия гидроксида, проводили аналогично

разделу 6.4. Полученные результаты представлены на рис. 6.10-6.12 (таблицы с полученными значениями см. в Приложении Г).

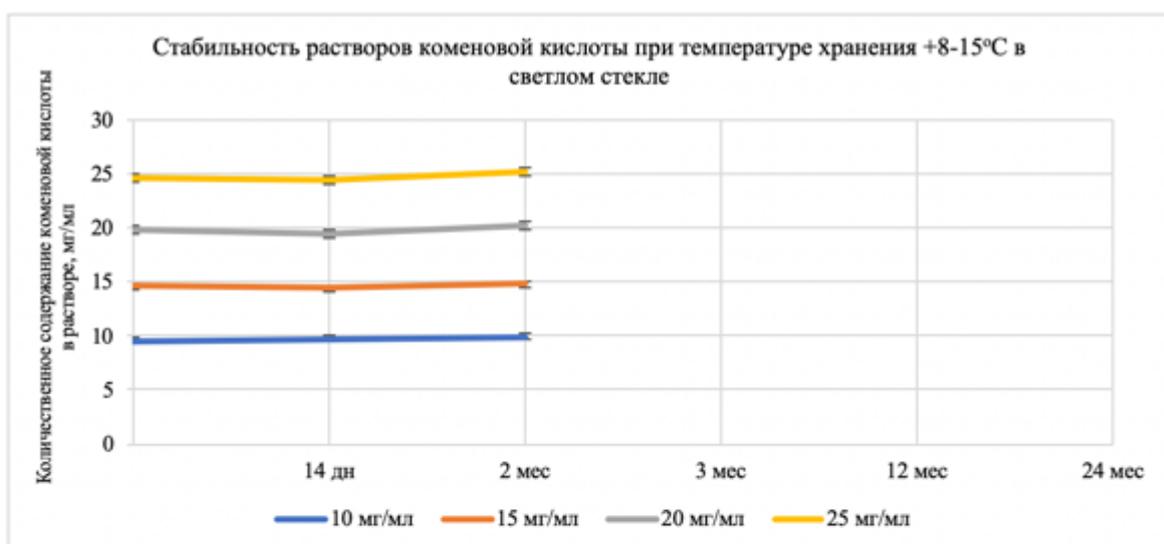


а

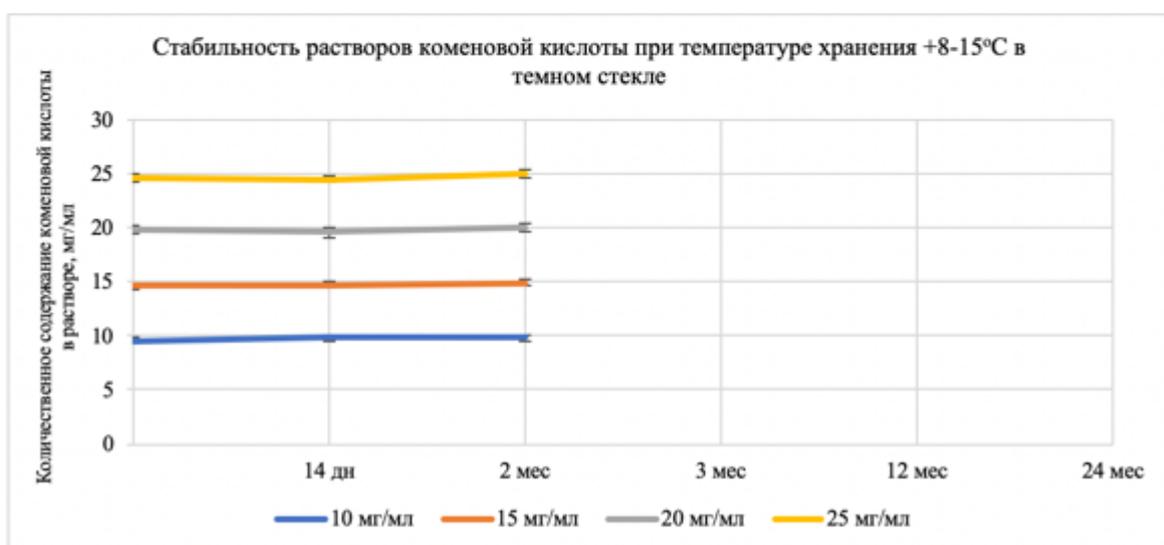


б

Рисунок 6.10 – Исследование стабильности растворов коеновой кислоты при температуре хранения +15-25°C в темном стекле по критерию «количественное содержание коеновой кислоты в растворе» в светлых ампулах (а) и темных ампулах (б)

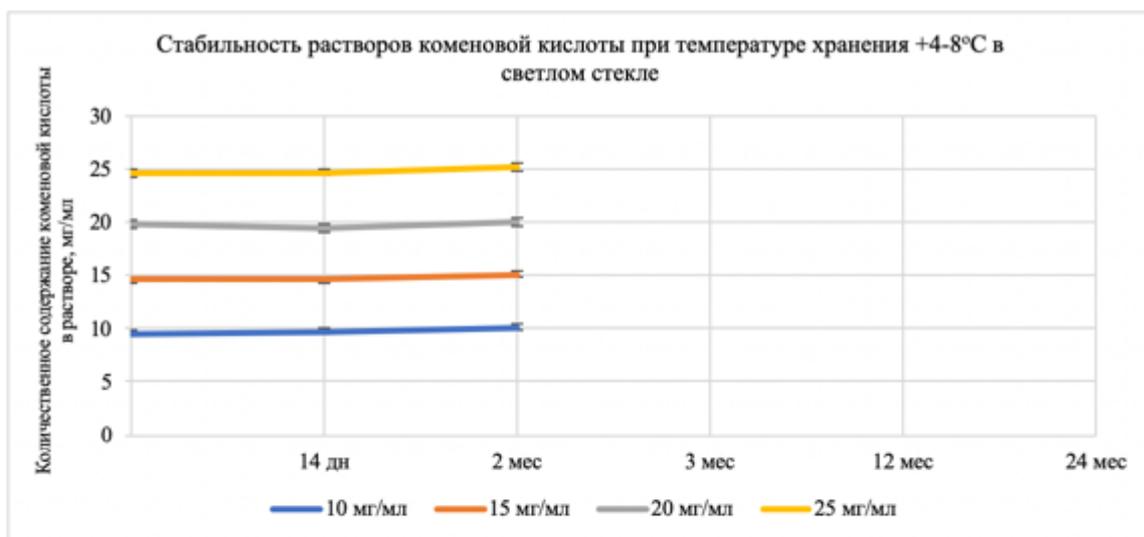


а

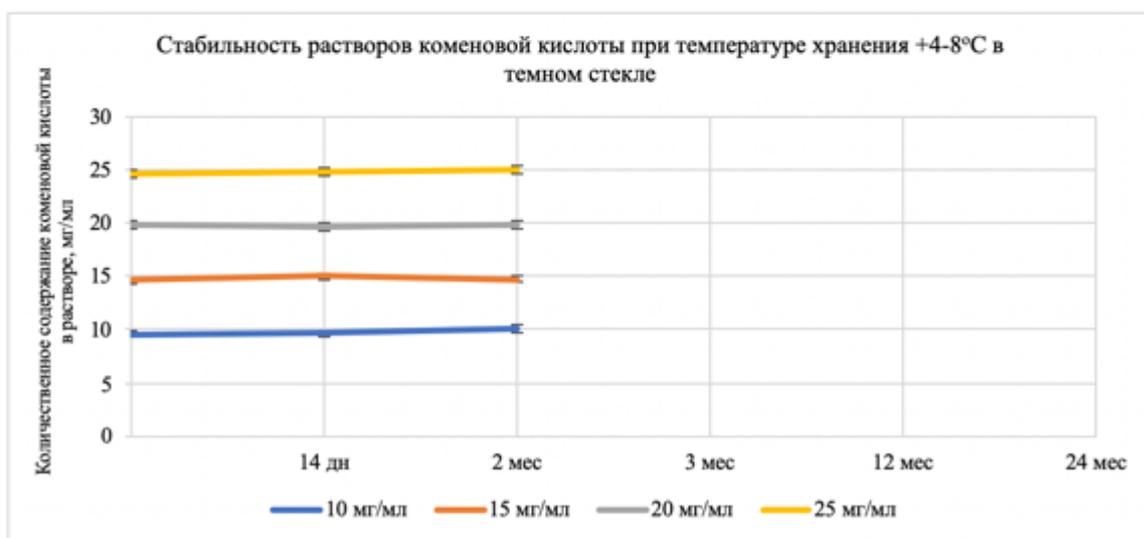


б

Рисунок 6.11 – Исследование стабильности растворов коеновой кислоты при температуре хранения +8-15°C в темном стекле по критерию «количественное содержание коеновой кислоты в растворе» в светлых ампулах (а) и темных ампулах (б)



а



б

Рисунок 6.12 – Исследование стабильности растворов коеновой кислоты при температуре хранения +4-8°C в темном стекле по критерию «количественное содержание коеновой кислоты в растворе» в светлых ампулах (а) и темных ампулах (б)

На данном этапе исследования было получено три точки для построения кривых стабильности растворов коеновой кислоты, изготовленных опытно-промышленным путем.

Спустя два месяца в исследуемых растворах коеновой кислоты не выявлено существенных изменений по заданным критериям стабильности. Разницы в стабильности растворов коеновой кислоты при сравнении

образцов в ампулах из темного и светлого стекла не наблюдалось (рис. 6.10-6.12).

В дальнейшем планируется получить еще три точки (3, 12, 24 мес.) для построения графиков стабильности исследуемых растворов.

6.6 Разработка проекта спецификации качества на инъекционный раствор коеновой кислоты

В соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи к лекарственным формам для парентерального применения был разработан проект спецификации качества на инъекционный раствор коеновой кислоты (табл. 6.7).

Таблица 6.7 – Проект спецификации качества на инъекционный раствор коеновой кислоты

Наименование показателя	Метод определения	Требования	Характеристика растворов коеновой кислоты
Описание	органолептический	прозрачная жидкость от бесцветного до желтоватого цвета без запаха	прозрачная жидкость от бесцветного до желтоватого цвета без запаха
pH	потенциометрический	от 4,0 до 6,0	соответствует
Прозрачность	в соответствии с ГФ	раствор должен быть прозрачным	соответствует
Цветность	в соответствии с ГФ	раствор должен выдерживать сравнение с эталоном Y ₃	соответствует
Количественное содержание коеновой кислоты	ВЭЖХ	для концентрации 10 мг/мл – от 9 до 11 мг/мл; для концентрации 15 мг/мл – от 13,5 до 16,5 мг/мл; для концентрации 20 мг/мл – от 18 до 22 мг/мл; для концентрации 25 мг/мл – от 22,5 до 27,5 мг/мл; для концентрации 30 мг/мл – от 27 до 33 мг/мл	соответствует
Подлинность	ВЭЖХ	время удерживания основного пика должно соответствовать времени удерживания пика раствора РСО	соответствует

Механические включения	в соответствии с ГФ	раствор должен соответствовать требованиям ГФ	соответствует
Герметичность	в соответствии с ГФ	ампулы должны быть герметичны	соответствует
Стерильность	в соответствии с ГФ	раствор должен быть стерильным	стерильный
Пирогенность	в соответствии с ГФ	раствор должен быть апиrogenным	апиrogenный
Упаковка	в соответствии с ГФ	ампулы из стекла 1-го гидролитического класса (темные или светлые)	на стадии исследования
Хранение	–	+8-15°C	на стадии исследования
Срок годности	2 года		на стадии исследования

Разработанная спецификация содержит 13 показателей качества, по которым следует контролировать инъекционный раствор коеновой кислоты. В ходе наработки опытно-промышленных партий образцов растворов коеновой кислоты все растворы соответствовали требованиям спецификации за исключением раствора коеновой кислоты, нейтрализованной натрием гидрокарбонатом, с концентрацией 30 мг/мл (3,0%), вследствие чего данный опытный образец был исключен из дальнейших исследований.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6

1. Разработана технологическая схема получения растворов коеновой кислоты с учетом современных требований к производству парентеральных лекарственных форм. Установлено, что финишная стерилизация растворов коеновой кислоты влияет на их стабильность, вследствие чего производство разработанных составов следует осуществлять в асептических условиях, используя метод стерилизующей фильтрации.

2. Определены критические операции основного технологического процесса для наработки опытно-промышленных партий образцов растворов коеновой кислоты: взвешивание, приготовление раствора, предварительная фильтрация, стерилизующая фильтрация, розлив раствора в ампулы. На основании проведенного качественного анализа рисков разработаны технологические инструкции на производство опытно-промышленных партий растворов коеновой кислоты.

3. Проведен анализ рисков технологических процессов производства растворов коеновой кислоты. Определены потенциальные виды отказа, проведена их количественная оценка и разработаны корректирующие мероприятия, направленные на снижение рисков для качества продукции.

4. Нароботаны три опытно-промышленные партии растворов коеновой кислоты, нейтрализованной натрия гидрокарбонатом. Установлена стабильность растворов коеновой кислоты с концентрациями от 10 мг/мл до 25 мг/мл при хранении в течении трех месяцев при температурах +4-8°C, +8-15°C, +15-25°C.

Установлено, что растворы коеновой кислоты с концентрацией 30 мг/мл не стабильны с течением времени. Выявлены следующие закономерности:

- чем ниже температура хранения раствора, тем ниже стабильность раствора по критерию «количественное содержание коеновой кислоты в растворе»;

- чем выше температура хранения раствора, тем сильнее с течением времени меняется цветность раствора.

Зависимости стабильности раствора коеновой кислоты от цвета стекла ампул (темного/бесцветного) не установлено.

5. Нарботаны три опытно-промышленные партии растворов коеновой кислоты, нейтрализованной натрия гидроксидом. Установлена стабильность растворов коеновой кислоты с концентрациями от 10 мг/мл до 25 мг/мл при хранении в течении двух месяцев при температурах +4-8°C, +8-15°C, +15-25°C.

6. Проведено сравнение способов нейтрализации коеновой кислоты при получении растворов. Установлено, что использование 10% раствора натрия гидроксида в качестве нейтрализатора более технологично по сравнению с нейтрализацией гидрокарбонатом натрия. Однако на стабильность растворов коеновой кислоты исследуемые способы нейтрализации не влияли.

7. Определены показатели качества для растворов коеновой кислоты, в соответствии с которыми разработан проект спецификации качества на готовый раствор коеновой кислоты.

РАЗДЕЛ 7. РАЗРАБОТКА КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ МИКРОСФЕР С ДОКСОРУБИЦИНА ГИДРОХЛОРИДОМ И ИНЪЕКЦИОННОГО РАСТВОРА КОМЕНОВОЙ КИСЛОТЫ

Проведенный анализ литературных данных показал перспективность создания комбинации на основе полимерных микросфер с доксорубицином гидрохлоридом и коеновой кислотой как лекарственного средства для химиоэмболизации.

7.1 Изучение возможности создания микросфер, насыщенных коеновой кислотой

На основе анализа литературы было установлено, что включение в полимерные микросферы, предназначенные для эмболизации, анальгетического средства востребовано, поэтому представляло интерес изучить возможность насыщения раствором коеновой кислоты микросфер.

На первом этапе исследования микросферы насыщали раствором коеновой кислоты согласно методике, описанной в разделе 2.4 (рис. 7.1), изучали надосадочную жидкость в течение трех месяцев, определяя количественное содержание коеновой кислоты и подлинность.



а

б

Рисунок 7.1 – Полимерные микросферы:

а – ненасыщенные; б – насыщенные раствором коеновой кислоты

В ходе эксперимента наблюдали насыщение раствором микросфер, однако в процессе контроля надосадочной жидкости было установлено, что микросферы насыщены растворителем, но коленовая кислота микросферами не сорбируется (табл. 7.1).

Таблица 7.1 – Количественное содержание коленовой кислоты в образцах

Наименование образца	Количественное содержание коленовой кислоты в растворе, мг/мл	
	1 день	20 дней
коленовая кислота (20 мг/мл) исходный раствор	19,63±0,16	
надосадочная жидкость в комбинации: коленовая кислота (20 мг/мл) + микросферы	19,88±0,37	19,78±0,30

При анализе данного процесса было сделано предположение о том, что функциональные группы микросфер и коленовой кислоты имеют одинаковый (отрицательный) ионный заряд, в следствие чего процесс сорбции не возможен (рис. 7.2).

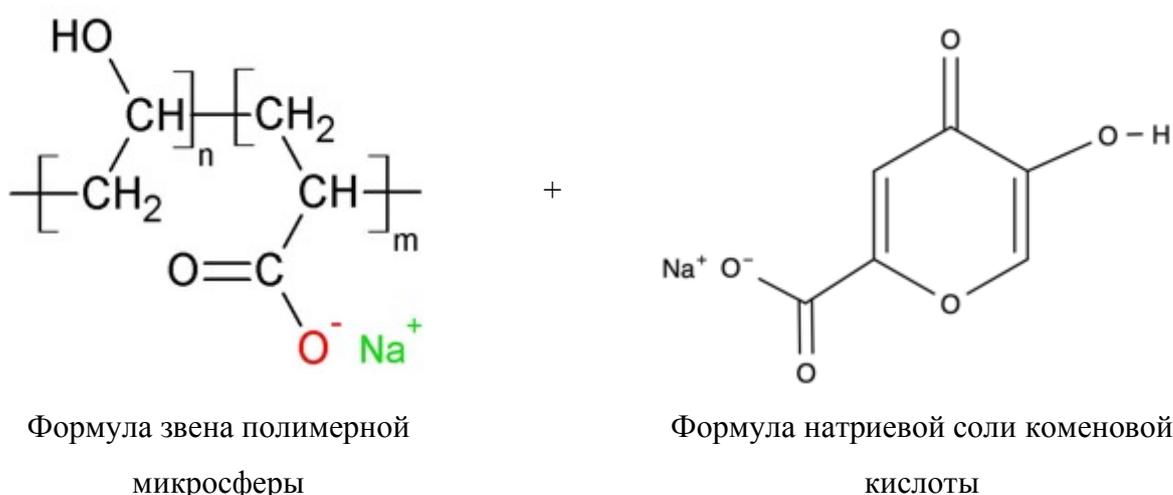


Рисунок 7.2 – Структура коленовой кислоты и полимерных микросфер

В связи с этим в составе комбинированного препарата раствор коленовой кислоты использовался в виде инъекционного раствора в ампулах.

7.2 Разработка технологии получения полимерных микросфер, насыщенных доксорубицина гидрохлоридом

Известно, что в химиоэмболизации для насыщения микросфер используют цитостатические лекарственные средства, в частности

доксорубицина гидрохлорид. Насыщение микросфер препаратом, как правило, производится специалистами в лечебных учреждениях непосредственно перед применением. Такая подготовка многостадийна (растворение лиофилизата доксорубицина гидрохлорида в физиологическом растворе, введение раствора доксорубицина гидрохлорида во флакон с микросферами, выдержка микросфер в растворе доксорубицина гидрохлорида для насыщения) и занимает не менее 2 часов. С целью оптимизации времени и стандартизации предоперационной подготовки была разработана готовая лекарственная форма, представляющая собой микросферы, насыщенные доксорубицина гидрохлоридом.

Для увеличения стабильности в процессе хранения микросферы, насыщенные доксорубицина гидрохлоридом в соотношении 1:2 (микросферы:доксорубицина гидрохлорид), сушили путем лиофилизации. В ходе исследования было получено четыре варианта исполнения сухих микросфер с доксорубицина гидрохлоридом в соответствии со схемой, изображенной на рис. 7.3.

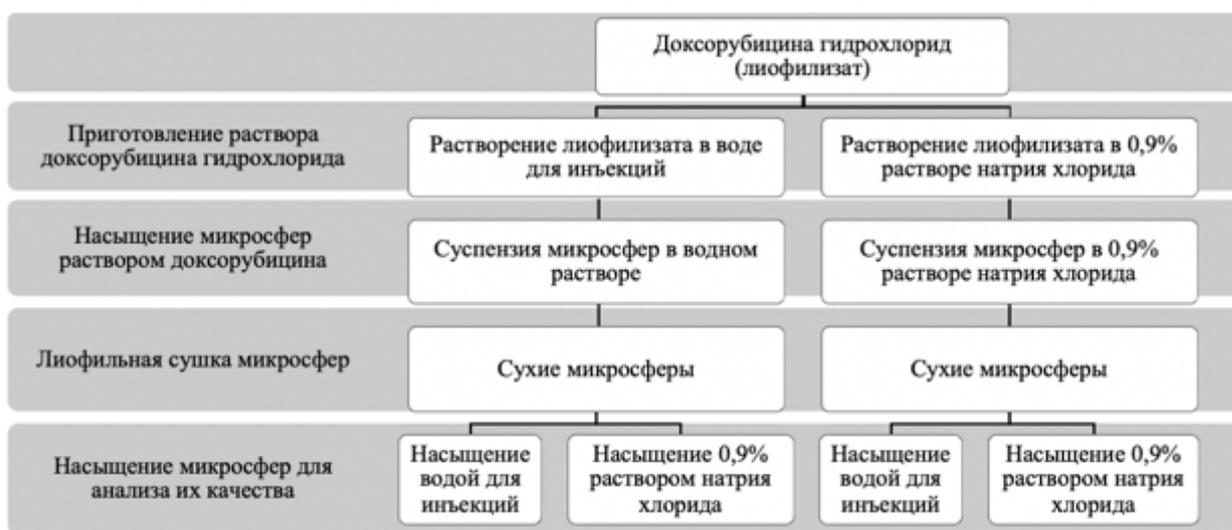


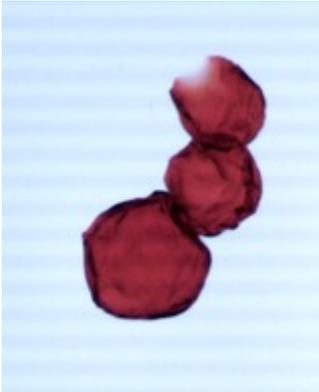
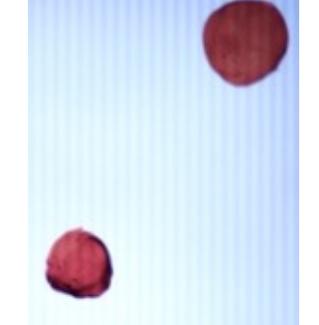
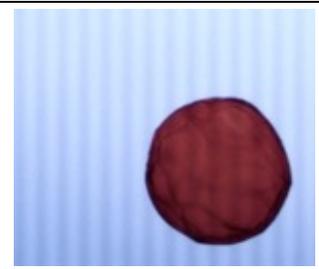
Рисунок 7.3 – Схема получения микросфер с доксорубицина гидрохлоридом

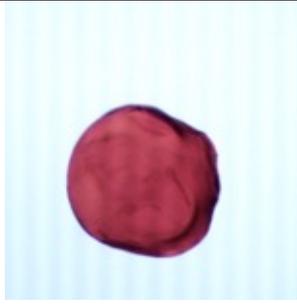
Получение микросфер с доксорубицина гидрохлоридом начинали с подготовки раствора доксорубицина гидрохлорида. Для этого лиофилизат препарата растворяли в воде для инъекций или физиологическом растворе. Затем проводили насыщение микросфер доксорубицина гидрохлоридом (в

соответствии с п. 2.4), после чего осуществляли сублимационную сушку микросфер (рис. 7.3).

Для проверки качества полученные микросферы насыщали растворителями: водой для инъекций или физиологическим раствором и анализировали внешний вид полученных частиц методом микроскопии (табл. 7.2).

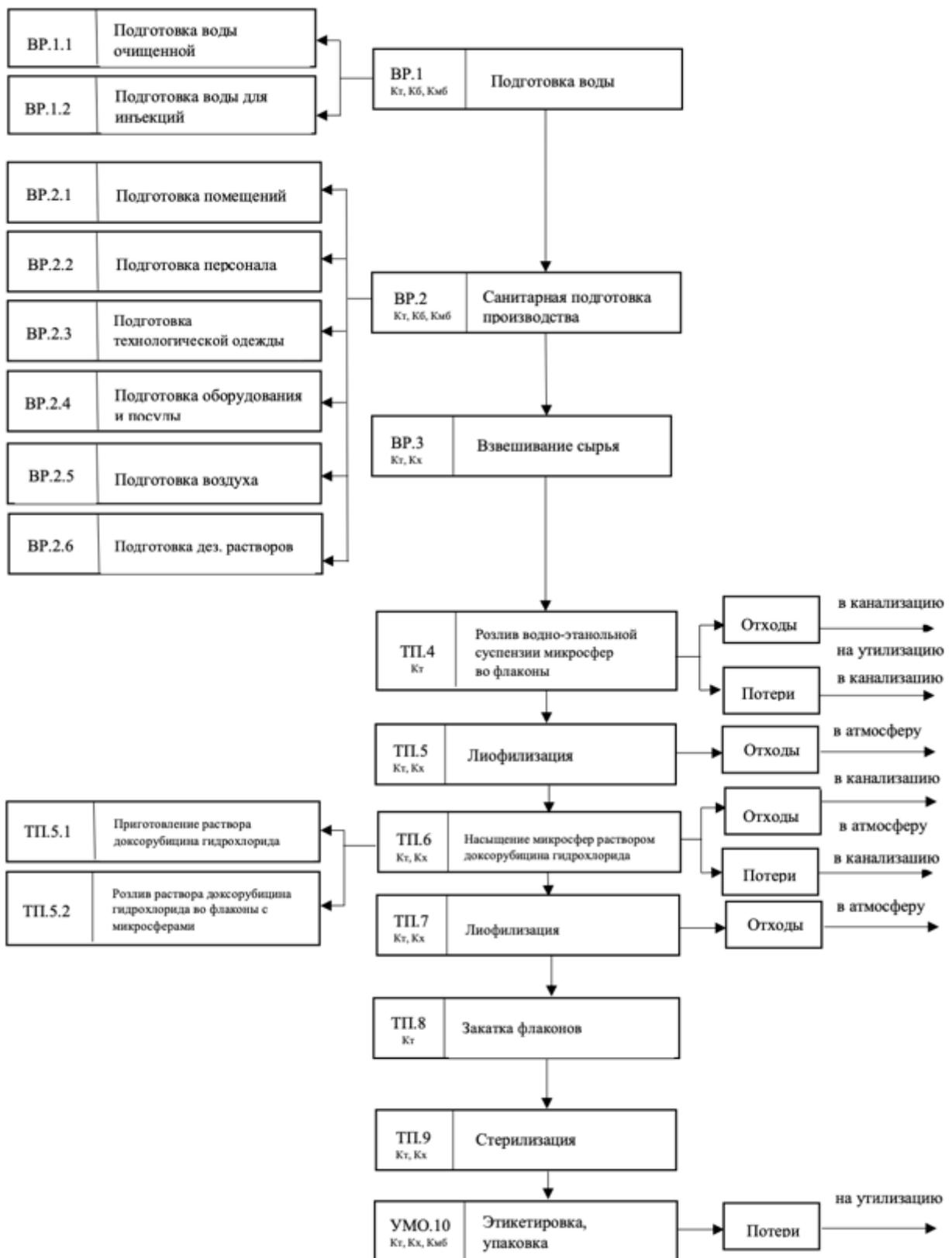
Таблица 7.2 – Варианты исполнения полимерных микросфер, насыщенных доксорубицином гидрохлоридом

Вариант исполнения	Фотографическое изображение, увеличение в 40 раз	Наблюдения
<p>1. Доксорубицин гидрохлорид + 0,9% раствор натрия хлорида + микросферы ⇒ сушка ⇒ сухие микросферы с доксорубицином гидрохлоридом + 0,9% раствор натрия хлорида</p>		<p>Наблюдали значительную деформацию микросфер, сферичность частиц была нарушена, однако частицы при насыщении после сушки были эластичными и ярко окрашенными доксорубицином гидрохлоридом.</p>
<p>2. Доксорубицин гидрохлорид + 0,9% раствор натрия хлорида + микросферы ⇒ сушка ⇒ сухие микросферы с доксорубицином гидрохлоридом + вода для инъекций</p>		<p>Наблюдали небольшую деформацию микросфер, сферичность частиц менее нарушена, в сравнении с вариантами исполнения 1 и 2. Микросферы</p>
<p>3. Доксорубицин гидрохлорид + вода для инъекций + микросферы ⇒ сушка ⇒ сухие микросферы с доксорубицином гидрохлоридом + вода для инъекций</p>		<p>Наблюдали небольшую деформацию микросфер, сферичность частиц менее нарушена, в сравнении с вариантами исполнения 1 и 2. Микросферы</p>

<p>4. Доксорубицина гидрохлорид + вода для инъекций + микросферы ⇒ сушка ⇒ сухие микросферы с доксорубицина гидрохлоридом + 0,9% раствор натрия хлорида</p>		<p>эластичны, ярко окрашены доксорубицина гидрохлоридом.</p>
---	--	--

Исследование высушенных после насыщения доксорубицина гидрохлоридом микросфер показало, что в качестве раствора для насыщения предпочтительно использовать водный раствор доксорубицина гидрохлорида для минимизации деформации полимера (табл. 7.2, вариант исполнения 3 и 4). Полученные таким образом микросферы при насыщении водой почти не отличались по внешнему виду от микросфер, насыщение которых производили 0,9% раствором натрия хлорида. Однако предпочтительным является 4 вариант исполнения, поскольку использование воды для инъекций в качестве «рабочего раствора» (раствора для насыщения микросфер перед введением) может приводить к изменению размера полимера, что приведет к его бесконтрольному перемещению по кровеносным каналам.

На основе выбранной схемы получения насыщенных доксорубицина гидрохлоридом микросфер была разработана технологическая схема их производства (рис. 7.4).



(К_т, К_х, К_{мб} – контроль технологической, химический, микробиологический)

Рисунок 7.4 – Технологическая схема производства полимерных микросфер, насыщенных доксорубина гидрохлоридом

7.3 Разработка комбинированного лекарственного средства на основе полимерных микросфер с доксирубина гидрохлоридом и инъекционного раствора коеновой кислоты

В качестве первичной упаковки для насыщенных доксорубина гидрохлоридом микросфер выбраны светлые стеклянные флаконы, резиновая пробка и быстросъемный колпачок flip-off. В качестве первичной упаковки для инъекционного раствора коеновой кислоты используются стеклянные ампулы из темного или светлого стекла.

Один флакон, содержащий 25 мг сухих микросфер размерного ряда 55-70 мкм, или 80-105 мкм, или 125-145 мкм, или 160-200 мкм, насыщенных доксорубина гидрохлоридом, и одну ампулу с раствором коеновой кислоты в дозировке 20 мг/мл объемом 10 мл помещают в пачку картонную с инструкцией. Варианты исполнения готовой лекарственной формы комбинированного препарата представлены в табл. 7.3.

Таблица 7.3 – Варианты исполнения готовой лекарственной формы

Характеристики готовой лекарственной формы	Варианты исполнения готовой лекарственной формы
Флакон с лиофилизатом полимерных микросфер с доксорубина гидрохлоридом	
Типоразмеры полимерных микросфер	Вариант 1: 55-70 мкм Вариант 2: 80-105 мкм Вариант 3: 125-145 мкм Вариант 4: 160-200 мкм
Масса полимерных микросфер	25 мг
Содержание доксорубина гидрохлорида в микросферах	50 мг
Ампула с инъекционным раствором коеновой кислоты	
Концентрации растворов коеновой кислоты	20 мг/мл
Объем раствора в ампуле	10 мл

Использование данной комбинации предполагает предварительное насыщение микросфер 0,9% раствором натрия хлорида с последующим введением полученной суспензии локально через катетер с целью

эмболизации сосудов и проведения химиотерапии. Раствор коеновой кислоты вводится внутривенно до или после проведения процедуры эмболизации для купирования болевого синдрома. Содержание в растворе 200 мг коеновой кислоты будет обеспечивать высокое анальгетическое действие в течение 6 часов, что позволит проводить процедуру эмболизации, снижая болевые ощущения при проведении процедуры и/или после нее [49].

В соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи был разработан проект спецификации качества на комбинированное лекарственное средство на основе полимерных микросфер с доксорубицином гидрохлоридом и раствора коеновой кислоты. Он включает в себя проект спецификации на инъекционный раствор коеновой кислоты (п. 6.6; табл. 6.7) и проект спецификации на лиофилизированные микросферы, содержащие доксорубицин гидрохлорид (табл. 7.4).

Таблица 7.4 – Проект спецификации качества на лиофилизат полимерных микросфер с доксорубицином гидрохлоридом

Наименование показателя	Метод определения	Требования	Характеристика лиофилизата
Описание	органолептический	лиофилизат темно-красного цвета, без запаха	лиофилизат темно-красного цвета, без запаха
Однородность массы	в соответствии с ГФ	25±1,25 мг	соответствует
Размер микросфер	микроскопия	Вариант 1: 55-70 мкм Вариант 2: 80-105 мкм Вариант 3: 125-145 мкм Вариант 4: 160-200 мкм Содержание микросфер, не входящих в размерный диапазон, не более 10%	соответствует
Количественное содержание доксорубицина гидрохлорида	ВЭЖХ; в соответствии с ГФ	50±2,5 мг	соответствует
Потеря в массе при высушивании	в соответствии с ГФ	не более 0,5%	соответствует

Герметичность	в соответствии с ГФ	флаконы должны быть герметичными	соответствует
Стерильность	в соответствии с ГФ	должны быть стерильными	стерильные
Пирогенность	в соответствии с ГФ	должны быть апирогенными	апирогенные
Упаковка	в соответствии с ГФ	флакон из стекла 1-ого гидролитического класса, пробка резиновая, колпачок комбинированный	соответствует
Хранение	в соответствии с ГФ	при температуре +15-25°C, в защищенном от света месте	соответствует
Срок годности	3 года		соответствует

Разработанный проект спецификации содержит 11 показателей качества, по которым следует контролировать лиофилизат полимерных микросфер с доксорубицина гидрохлоридом и 13 показателей качества для контроля качества инъекционного раствора коеновой кислоты (п. 6.6). В ходе проведения испытаний установлено, что полученное комбинированное лекарственное средство на основе полимерных микросфер с доксирубицина гидрохлоридом и инъекционного раствора коеновой кислоты соответствует требованиям проекта спецификации.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 7

1. Изучена возможность насыщения полимерных микросфер коеновой кислотой. Установлено, что при насыщении микросфер раствором коеновой кислоты не возникает процесса сорбции, предположительно в связи одинаковым ионным зарядом функциональных групп микросфер и соли коеновой кислоты в растворе.

2. Разработана технология получения насыщенных доксорубицина гидрохлоридом полимерных микросфер, представлена технологическая схема их производства.

3. Разработано и обосновано создание комбинированного лекарственного средства, предназначенного для эмболизации в области рентгенохирургии, содержащее:

- флакон с лиофилизатом полимерных микросфер размерного ряда 55-70 мкм, или 80-105 мкм, или 125-145 мкм, или 160-200 мкм, насыщенных 50 мг доксорубицина гидрохлорида, предназначенных для проведения химиоэмболизации;

- ампулу с раствором, содержащим 20 мг/мл коеновой кислоты, предназначенным для внутривенного введения с целью купирования болей.

Разработан проект спецификации на комбинированное лекарственное средство на основе полимерных микросфер с доксирубицина гидрохлоридом и инъекционного раствора коеновой кислоты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Проведена стандартизация способа получения полимерных микросфер с учетом анализа рисков. Представлена технологическая схема производства микросфер, определены и обоснованы контрольные критические точки их получения. Составлен проект спецификации качества на готовые полимерные микросферы.

2. Определена кинетика сорбции доксорубина гидрохлорида полимерными микросферами. Установлена зависимость скорости насыщения полимерных микросфер доксорубина гидрохлоридом от их размера, а именно: скорость насыщения возрастает по мере уменьшения размера и увеличения удельной поверхности микросфер.

Разработана и апробирована методика проведения десорбции доксорубина гидрохлорида из полимерных микросфер. Установлены оптимальные условия для высвобождения доксорубина гидрохлорида микросферами *in vitro* максимально приближенные к высвобождению в организме человека:

- использование в качестве среды десорбции стерильного 0,9% раствора натрия хлорида;
- термостатирование при $37\pm 1^\circ\text{C}$;
- перемешивание на орбитальном шейкере со скоростью 50 об/мин;
- ежедневная замена надсадочной жидкости до окончания эксперимента.

Определена динамика десорбции доксорубина гидрохлорида из полимерных микросфер. Установлено отсутствие зависимости скорости высвобождения доксорубина гидрохлорида из полимерных микросфер от их размера в диапазоне от 55 до 200 мкм.

3. Изучены физико-химические и технологические свойства субстанции коеновой кислоты. Установлено, что исследуемая субстанция мало растворима в большей части исследуемых растворителей, применяемых для

получения парентеральных лекарственных средств: воде, растворе натрия хлорида 0,9%, растворе глюкозы 5%, бензиловом спирте 1% и 10%, этаноле 50%, что требует введения в состав инъекционного раствора вспомогательных веществ.

Разработан проект спецификации качества на субстанцию коеновой кислоты.

4. Разработан состав растворов для инъекций коеновой кислоты (10 мг/мл, 15 мг/мл, 20 мг/мл, 25 мг/мл, 30 мг/мл, 35 мг/мл) и изучена стабильность растворов, полученных в лабораторных условиях.

Установлено, что растворы коеновой кислоты, нейтрализованные гидрокарбонатом натрия, наиболее стабильны в диапазоне pH 4,0-6,0, в концентрациях от 10 мг/мл до 20 мг/мл, как и растворы коеновой кислоты, нейтрализованные гидроксидом натрия.

Проведен трансфер технологии получения растворов коеновой кислоты для инъекций в ампулах на опытно-производственный участок на основании анализа рисков.

Изучена стабильность опытно-промышленных партий растворов коеновой кислоты с концентрациями от 10 мг/мл до 30 мг/мл при хранении в течении 12 месяцев при температурах +4-8°C, +8-15°C, +15-25°C. Экспериментально обоснована температура хранения растворов коеновой кислоты для инъекций в ампулах из темного или светлого стекла: +8-15°C.

Проведено сравнение способов нейтрализации коеновой кислоты при получении растворов. Установлено, что использование 10% раствора натрия гидроксида в качестве нейтрализатора более технологично по сравнению с нейтрализацией гидрокарбонатом натрия. Однако на стабильность растворов коеновой кислоты исследуемые способы нейтрализации не влияют.

Определены показатели качества для растворов коеновой кислоты, в соответствии с которыми разработан проект спецификации качества на готовый раствор для инъекций на основе коеновой кислоты.

5. Установлено, что при насыщении микросфер раствором коеновой кислоты не возникает процесса сорбции.

Разработана технология получения насыщенных доксорубицина гидрохлоридом полимерных микросфер, представлена технологическая схема их производства.

Разработано комбинированное лекарственное средство, предназначенное для применения в области рентгенохирургии, содержащее:

- флакон с лиофилизатом полимерных микросфер размерного ряда 55-70 мкм, 80-105 мкм, 125-145 мкм, 160-200 мкм, насыщенных доксорубицина гидрохлоридом в соотношении 1:2, предназначенных для проведения химиоэмболизации;

- ампулу с раствором, содержащим 20 мг/мл коеновой кислоты, предназначенным для внутривенного введения с целью купирования болей.

Разработан проект спецификации качества на комбинированное лекарственное средство на основе полимерных микросфер с доксорубицина гидрохлоридом и инъекционного раствора коеновой кислоты.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- GMP** (Good Manufacturing Practic) – надлежащая производственная практика
- FMEA** (Failure modes effects analysis) – анализ причин и последствий отказов
- FTA** (Fault Tree Analysis) – анализ дерева неисправностей
- ICH** (International Conference on Harmonisation) – Международный совет по гармонизации
- ISPE EAЭС** (International Society for Pharmaceutical Engineering Евразийского экономического союза) – Международная ассоциация фармацевтического инжиниринга Евразийского экономического союза
- ORADE** (opioid-related adverse drug events) – побочные эффекты, связанные с приемом опиоидов
- PAT** (Process analytical technology) – технология анализа процессов
- QbD** (Quality-by-Design) – качество путем разработки
- ВДИ** – вода для инъекций
- ВОЗ** – Всемирная организация здравоохранения
- ВР** – вспомогательные работы
- ВЭЖХ** – высокоэффективная жидкостная хроматография
- ЕС** – Европейский союз
- ГФ** – Государственная Фармакопея
- КК** – коленовая кислота
- МГ** – морфина гидрохлорид
- НПВП** – нестероидные противовоспалительные препараты
- ПЧР** – приоритетное число рисков
- РСО** – рабочий стандартный образец
- ТОС** – общий органический углерод
- ТП** – основной технологический процесс
- ХАССП** (Hazard Analysis and Critical Control Points (НАССР)) - концепция, предусматривающая идентификацию, оценку и управление опасными факторами, влияющими на безопасность продукции

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдулаев, М.А. Применение малоинвазивных методов в лечении метастазов колоректального рака в печени (обзор литературы) / М.А. Абдулаев, Е.В. Напольская, М.Ю. Цикоридзе, Э.Э. Топузов, Э.Г. Топузов // Гинекология. – № 5 (138). – 2016. – С. 109-114.
2. Абдулаев, М.А. Современное состояние проблемы малоинвазивных методов локального лечения метастазов колоректального рака в печени (обзор литературы) / М.А. Абдулаев, Е.В. Напольская, М.Ю. Цикоридзе // Тазовая хирургия и онкология. – Т. 6, № 1. – 2016. – С. 43-47.
3. Абузарова, Г.Р. Боль в онкологии: грани проблемы / Г.Р. Абузарова // Медицинский совет. – № 10. – 2018. – С. 97-100.
4. Алекян, Б.Г. Состояние рентгенэндоваскулярной диагностики и лечения в Российской Федерации (2016 г.) / Б.Г. Алекян, А.М. Григорьян, А.В. Стаферов // Эндоваскулярная хирургия. – Т. 4, № 2. – 2017. – С. 75-92.
5. Ангелов, Д. Современное инспекционное оборудование для фармацевтических производств / Д. Ангелов, Р. Христо, А. Росол. // Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской технике. – 2004. – № 6. – С. 67-69.
6. Басевич, А.В. Внедрение и поддержание системами контроля PIC/S и ЕАЭС гармонизированных стандартов GMP качества производства стерильных лекарственных средств / А.В. Басевич, И.Е. Каухова, А.А. Кодаш, Т.А. Биткина, Е.М. Смирнова, В.И. Степченков // Формулы Фармации. – 2020. – Т. 2, № 2. – С. 8-19.
7. Безбородова О.А. Противоопухолевые лекарственные препараты: планирование доклинических исследований по оценке эффективности и безопасности / О.А. Безбородова, А.А. Панкратов, Е.Р. Немцова, Ю.Б. Венедиктова, М.С. Воронцова, Г.Н. Енгальчева, Р.Д. Сюбаев // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2020. – Т. 10, № 2. – С. 96-110.

8. Биткина, Т.А. Актуальность разработки изделий медицинского назначения для рентгенохирургии / Т.А. Биткина, А.В. Басевич // Абу Али ибн Сино и инновации в современной фармацевтике: сб. III междун. науч.-практ. конф. 22.05.2020 Ташкент. – Узбекистан, 2020. – С. 69-70.
9. Биткина, Т.А. Исследование полимерных микросфер как перспективного эмболизационного материала и носителя лекарственных веществ / Т.А. Биткина, А.В. Басевич, И.Е. Каухова, В.А. Вайнштейн // Innovations in life sciences: сб. материалов IV международного симпозиума, г. Белгород, 25-27 мая 2022 г. – С. 202-203.
10. Биткина, Т.А. Критические точки производства полимерных микросфер, используемых в рентгенохирургии / Т.А. Биткина, А.В. Басевич, В.М. Родин // Разработка и регистрация лекарственных средств. – Т. 9, № 3. – 2020. – С. 28-35.
11. Бояринцев, В.В. Современные возможности рентгеноэндоваскулярной хирургии в экстренной и неотложной практике / В.В. Бояринцев, Н.В. Закарян, А.А. Шелеско, А.С. Панков, А.Г. Давтян // КМКВ. – № 2. – 2016. – С. 9-11.
12. Буткевич, И.П. Влияние модулятора передачи сигналов от опиоидного рецептора к натриевым каналам на самостимуляцию гипоталамуса / И.П. Буткевич, В.А. Михайленко, Б.В. Крылов, В.Н. Казаков, Т.И. Панова, В.А. Отеллин // Фізіол. журн. – 2003. – Т. 49, № 5. – С. 52-57.
13. Ванатиев, Г.В. Методика эмболизации портальной вены кролика / Г.В. Ванатиев, Я.А. Гушин, М.А. Горячева, И.Е. Макаренко, М.А. Ковалева, М.Н. Макарова // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2017. – № 3 (20). – С. 152-155.
14. Волчков, В.А. Современные аспекты послеоперационного обезболивания (обзор литературы) / В.А. Волчков, С.В. Ковалев, А.Н. Кубынин // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. – 2018. – Т. 13, № 3. – С. 245-270.

15. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) [Электронный ресурс] URL: <https://www.who.int/medicines/publications/pharmprep/ru> (Дата обращения: 10.06.2020).
16. Гай, А. Качество на этапе разработки – Quality by Design (QbD) – для вспомогательных веществ / А. Гай // Фармацевтическая отрасль. – 2012. – № 3(32). – С. 60-64.
17. Гильдеева, Г.Н. Концепция Quality-by-Design как ключевой элемент в обеспечении качества лекарственных препаратов / Г.Н. Гильдеева, А.В. Белостоцкий // Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской технике. – 2017. – № 3. – С. 54-58.
18. Гительзон, Д.Г. Основы химиоэмболизации (обзор литературы) / Д.Г. Гительзон, Д.А. Рогов, А.Э. Васильев, Е.А. Гительзон // Вестник РУДН. Сер. медицина. – 2017. – № 2. – С. 194-204.
19. Гой, А.М. Модернизация и рациональный дизайн фармацевтической разработки и промышленного внедрения высокотехнологичных парентеральных препаратов / А.М. Гой, Г.Л. Воскобойникова // Актуальные проблемы медицины. – 2016. – Т. 34, № 12 (233). – С. 168-173.
20. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издание [Электронный ресурс] URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> (Дата обращения: 15.02.2021).
21. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс] URL: <https://grls.rosminzdrav.ru> (Дата обращения: 25.11.2020).
22. Грицаенко, А.И. Первый опыт лечения неоперабельного гепатоцеллюлярного рака печени путем химиоэмболизации печеночной артерии микросферами / А.И. Грицаенко, И.Ф. Мухамедьянов, В.В. Погадаев, Р.Р. Иштуков // Креативная хирургия и онкология. – № 1-2. – 2014. – С. 9-12.
23. Долгушин, Б.И. Интервенционная радиология в онкологии / Б.И. Долгушин // Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. – Т. 13, № 1. – 2002. – С. 3-12.

24. Долгушин, Б.И. Трансартериальная химиоэмболизация микросферами с доксорубицином в лечении неоперабельных больных гепатоцеллюлярным раком (отдаленные результаты) / Б.И. Долгушин, Э.Р. Виршке, В.Ю. Косырев, И.А. Трофимов, А.В. Кукушкин, В.А. Черкасов, О.Н. Сергеева, Д.В. Мартынков, Н.А. Шишкина // Российский журнал боли. – Т. 18, № 4. – 2013. – С. 10-16.
25. Жумалиева, В.А. Актуальность проблемы хронической нейропатической боли у онкологических пациентов / В.А. Жумалиева // Медицина и экология. – № 4. – 2015. – С. 40-46.
26. Казаков, В.Н. Лаборатории теоретической и прикладной нейрофизиологии кафедры физиологии донецкого национального медицинского университета им. М. Горького – 30 лет / В.Н. Казаков, Д.Ю. Кустов // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2019. – Т. 28, № 2. – С. 107-112.
27. Каминская, И.А. Конфликт в применении опиоидных анальгетиков / И.А. Каминская, Р.А. Гевандова, А.Е. Лакеев // Биоэтика. – 2015. – № 2 (16). – С. 47-51.
28. Каминская, И.А. Морально-этические аспекты наркотического обезболивания онкологических больных / И.А. Каминская, С.А. Вешнева, Л.Г. Скрипченко // Федеральный научно-практический журнал. – 2015. – № 1 (15). – С. 50-52.
29. Каприн, А.Д. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность) / А.Д. Каприн, В.В. Старинский, А.О. Шахзадова. – Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2020. – 252 с.
30. Каприн, А.Д. Радиоэмболизация печени: новая глава в отечественной онкологии / А.Д. Каприн, С.А. Иванов, В.В. Кучеров, А.П. Петросян, К.В. Майоров, Н.В. Марков, Л.О. Петров, Г.А. Давыдов, М.А. Сигов, Н.К. Силантьева, Т.П. Березовская, А.Ю. Усачева, Д.Б. Санин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – Т. 29, № 5. – 2019. – С. 7-18.

31. Кедик, С.А. Гелеобразующие полимеры для создания жидких эмболизатов / С.А. Кедик, В.В. Суслов, А.П. Малкова, Е.А. Шняк, Ю.М. Домнина // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2017. – № 4 (21). – С. 56-63.
32. Кодряну, Н. Чистые технологии – ключевое направление технического прогресса / Н. Кодряну // Фармацевтическая отрасль. – 2014. – № 4 (45). – С. 102-107.
33. Лебедев, Н.В. Рентгенэндоваскулярная эмболизация в профилактике рецидива кровотечения / Н.В. Лебедев, Г.Е. Белозеров, А.Е. Климов, П.Ю. Соколова, А.А. Спасский, А.А. Бархударов // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2017. – № 5. – С. 31-35.
34. Лопатина, Е.В. Синтетический анальгетик аноцептин: результаты доклинических и клинических исследований / Е.В. Лопатина, Ю.И. Поляков // Эфферентная терапия. – 2011. – Т. 17, № 3. – С. 79-81.
35. Лопатина Екатерина Валентиновна. Фармакологическая модуляция сигнальной функции Na^+ , K^+ -АТФазы: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 14.03.06, 03.03.01 / Лопатина Екатерина Валентиновна; ФГУ Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова Росмедтехнологий. – Санкт-Петербург, 2010. – 37 с.
36. Микаэлян, М.Ф. Оборот наркотических средств и психотропных веществ. взгляд на проблему в российской федерации / М.Ф. Микаэлян // Вестник ВолгГМУ. – 2014. – № 4 (52). – С. 13-17.
37. Митькина, Л.И. Лекарственные средства для парентерального применения / Л.И. Митькина, З.С. Шпрах, Е.Л. Ковалева // Фармация. – 2011. – № 1. – С. 3-5.
38. Николайчук, И.В. Опыт применения препарата «Бализ-2» в клинической и экспериментальной медицине / И.В. Николайчук, А.Н. Плеханов // Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация. – 2011. – № 12. – С. 166–169.

39. Обзор барьерных систем: барьерные системы открытого и закрытого типов (RABS), изоляторы. Энергосбережение – в центре внимания // Фармацевтическая отрасль. – 2013. – № 6 (41). – С. 66-69.
40. Овечкин, А.М. Послеоперационная боль: состояние проблемы и современные тенденции послеоперационного обезболивания / А.М. Овечкин // Регионарная анестезия и лечение острой боли. – 2015. – Т. 9, № 2. – С. 29-39.
41. Ольшанский, М.С. Эндоваскулярное лечение местно-распространенного рака прямой кишки с учетом особенностей ее кровоснабжения (обзор литературы и собственные наблюдения) / М.С. Ольшанский, Н.Н. Коротких, Е.Н. Понамарева, О.В. Казарезов // Тазовая хирургия и онкология. – № 1. – 2013. – С. 31-36.
42. Официальный сайт компании Solid Pharma [Электронный ресурс] URL: <https://solidpharma.ru> (Дата обращения: 03.11.2021).
43. Официальный сайт компании Seidenader [Электронный ресурс] URL: <http://www.kurako.com> (Дата обращения: 03.11.2021).
44. Официальный сайт компании Центр развития перспективных технологий [Электронный ресурс] URL: <http://www.kurako.com> (Дата обращения: 03.11.2021).
45. Палехов, А.В. Опиоидные анальгетики: проблемы сегодняшнего дня и поиск путей их решения / А.В. Палехов, Е.С. Введенская // Российский журнал боли. – 2017. – № 3-4 (54). – С. 89-94.
46. Панов, А.Н. Перспективное планирование качества продукции – основа для проектирования технологических процессов при риск-ориентированном подходе / А.Н. Панов, Ж.А. Мрочек, В.М. Пашкевич // Вестник Белорусско-Российского университета. – 2021. – № 1 (70). – С. 31-41.
47. Панова, Т.И. Механизмы влияния коеновой кислоты на интегративную деятельность мозга / Т.И. Панова // Теоретическая экспериментальная медицина. Медицина сегодня и завтра. – 2005. – № 1. – С. 28–33.
48. Пат. 2304433 Российская Федерация, МПК А61К31/337, А61К47/30, А61К9/16, А61L31/08, А61L31/16, А61P35/00. Композиции, подавляющие

развитие кровеносных сосудов, и способы их использования / Барт Элен М., Хантер Уильям Л., Мэчэн Линдсэй С., Арсено А. Лэрри, Джексон Джон К.; заявитель и патентообладатель Энджиоджинезис Текнолоджиз, Инк., Дзе Юниверсити Оф Бритиш Колумбия. - № 2001132111/15; заявл. 28.11.01; опубл. 27.07.03, Бюл. № 23. – 94 с.

49. Пат. 2322977 Российская Федерация, МПК А61К031/351, А61Р029/02. Синтетическое анальгетическое средство и способ лечения на основе этого средства / Крылов Б.В., Лопатина Е.В.; заявитель и патентообладатель ЗАО Физиофарм. - № 2006128504/15; заявл. 01.08.06; опубл. 27.04.08, Бюл. № 12. – 24 с.

50. Пат. 2362554 Российская Федерация, МПК А61КА61Р. Регенерирующее противовоспалительное средство и способы лечения с помощью этого средства / Лопатина Е.В., Карецкий А.В., Крылов Б.В.; заявитель и патентообладатель Лопатина Екатерина Валентиновна. - № 2007135967/15; заявл. 27.09.07; опубл. 27.07.09, Бюл. № 21. – 28 с.

51. Пат. 2367432 Российская Федерация, МПК А61К31/353, А61К47/02, А61К9/08, А61Р29/02. Анальгетическое средство и способ лечения болевого синдрома различной этиологии с помощью этого средства / Крылов Б.В., Лопатина Е.В.; заявитель и патентообладатель Лопатина Екатерина Валентиновна. - № 2007135968/15; заявл. 27.09.07; опубл. 20.09.09, Бюл. № 26. – 26 с.

52. Пат. 2373958 Российская Федерация, МПК А61К51/00, А61К49/04, А61К36/14, С08G69/00. Полимерные по существу рентгеноконтрастные продукты для эмболотерапии / Брандом Д. К., Шмид Э., Зелтингер Д., Кон Д. Б., Боликал Д.; заявитель и патентообладатель Рутгерс, Дзе стейт юниверсити. - № 2006113933/04; заявл. 27.09.04; опубл. 10.09.06, Бюл. № 33. – 62 с.

53. Пат. 2528914 Российская Федерация, МПК А61К31/351, А61К33/06, А61Р25/00. Нейропротекторное фармакологическое средство / Шурыгина Л.В., Злищева Э.И., Кравцов А.А., Андросова Т.В., Злищева Л.И., Скороход Н.С., Полещук Л.А.; заявитель и патентообладатель Федеральное

государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Кубанский государственный университет» (ФГБОУ ВПО «КубГУ»). - № 2013141871/15; заявл. 12.09.13; опубл. 20.09.14, Бюл. № 26. – 17 с.

54. Пат. 2646832 Российская Федерация, МПК А61К9/16, А61К2121/00, С08F218/08. Способ получения полимерных микросфер для эмболизации и химиоэмболизации / Дунаев А.А., Блинов О.В.; заявитель и патентообладатель Дунаев Андрей Александрович, Блинов Олег Валентинович. - № 2016139194; заявл. 05.10.16; опубл. 07.03.18, Бюл. № 7. – 7 с.

55. Пат. 2725890 Российская Федерация, МПК А61К9/16, А61К31/718, А61Р7/04, С08В31/04. Микросферы гидролизованного крахмала с эндогенными заряженными лигандами / Мальмсье М., Тордарсон Э., Апелль С. П., Фюхр П.; заявитель и патентообладатель Магле АБ. - № 2016122487; заявл. 17.11.20; опубл. 07.07.20, Бюл. № 19. – 26 с.

56. Пензин Олег Владимирович. Прогностическая модель для оценки риска развития миелотоксических осложнений химиотерапевтического лечения: дис. ... канд. мед. наук: 03.01.09 / Пензин Олег Владимирович; ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова. – Москва, 2019. – 168 с.

57. Пенниайнен, В.А. Новый механизм модуляции роста нейритов: роль коеновой кислоты / В.А. Пенниайнен, Е.В. Лопатина, Т.И. Панова, Б.В. Крылов // Питання експериментальної та клінічної медицини: сб. статей. – Донецьк, 2008. – Вып. 12. – С. 120-125.

58. Плечев, В.В. Эффективность лечения гепатоцеллюлярного рака и метастазов рака других локализаций в печень методом химиоэмболизации / В.В. Плечев, Ф.Ф. Муфазалов, А.И. Шестаков, В.Ш. Ишметов, М.О. Логинов, И.Д. Утенская // Медицинский вестник Башкортостана. – 2012. – Т. 7, № 1. – С. 80-83.

59. Покровский, А.В. Состояние рентгенэндоваскулярной диагностики и лечения в РФ в 2018 году / А.В. Покровский, А.Л. Головюк // Ангиология и сосудистая хирургия. Приложение. – Т. 25, № 2. – 2018. – С. 1-40.
60. Попов, М.В. Методика трансартериальной химиоэмболизации при первичных и метастатических опухолях печени / М.В. Попов, М.С. Аронов, С.Э. Восканян, О.В. Карпова // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2016. – Т.12, № 4. – С. 716-720.
61. Портнов, В. Производство стерильных лекарственных средств: современные технологии и упаковочное оборудование / В. Портнов, М. Губин // Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской технике. – 2004. – №. 1-2. – С. 85-89.
62. Пятикоп, В.А. Предоперационная эмболизация сосудов, кровоснабжающих первичны опухоли головного мозга / В.А. Пятикоп, Ю.А. Котляревский, И.А. Кутовой, Ю.Г. Сергиенко, А.А. Пшеничный, А.Г. Набойченко, В.Л. Левинчкий // Украинский нейрохирургический журнал. – 2012. – № 3. – С. 14-19.
63. Серегин, А.А. Рентгеноэндоваскулярная химиоэмболизация печеночной артерии – современный метод региональной химиотерапии злокачественных поражений печени / А.А. Серегин, А.И. Зайцев, Е.М. Загайнов, Е.Г. Шарабрин, В.Е. Загайнов // Креативная хирургия и онкология. – Т. 7, № 1. – 2017. – С. 57-62.
64. Серегин, А.А. Рентгеноэндоваскулярная химиоэмболизация печеночной артерии – современный метод регионарной химиотерапии злокачественных поражений печени (обзор) / А.А. Серегин // Современные технологии в медицине. – Т. 6, № 2. – 2014. – С. 110-125.
65. Соснов, А.В. Критерии выбора соединений для разработки сильнодействующих анальгетиков и других лекарств центрального действия / А.В. Соснов, Ф.М. Семченко, В.Н. Тохмахчи, А.А. Соснова, М.И. Власов, А.С. Радилов, Д.В. Криворотов // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2018. – № 3. – С. 114–128.

66. Соснов, А.В. Сильнодействующие ненаркотические анальгетики как направление развития фармацевтики / А.В. Соснов, С.В. Садовников, Ф.М. Семченко, К.А. Руфанов, В.Н. Тохмахчи, А.А. Соснова, И.А. Тюрин // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2016. – № 1. – С. 196–206.
67. Таразов, П.Г. Методы регионарной терапии опухолей различных локализаций / П.Г. Таразов // Практическая онкология. – 2015. – Т.16, № 4. – С. 131-139.
68. Трухан, Д.И. Лечение болевого синдрома на амбулаторно-поликлиническом этапе. Выбор анальгетика с позиций коморбидности и лекарственной безопасности в фокусе – декскетопрофен / Д.И. Трухан, Д.С. Иванова // Медицинский совет. – 2017. – № 20. – С. 56-64.
69. Трякин А.А. Практические рекомендации по общим принципам проведения противоопухолевой лекарственной терапии / А.А. Трякин, Н.С. Бесова, Н.М. Волков, О.А. Гладков, В.В. Карасева, Д.Д. Сакаева, И.Ю. Страдаева, Н.В. Фадеева // Практические рекомендации RUSSCO. – 2020. – Т. 10, № 3s2. – С. 26-39.
70. Фармацевтическая разработка (ICH Q8). Перевод: PharmAdvisor, версия перевода от 04.12.2020. URL: <https://pharmadvisor.ru/document/tr3614/> (дата обращения: 27.01.2021).
71. Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения [Электронный ресурс] URL: <https://www.roszdravnadzor.ru/services/misearch> (Дата обращения: 17.04.2020).
72. Федотов, А.Е. Производство стерильных лекарственных средств / А.Е. Федотов // Фармацевтические технологии и упаковка. – 2014. – № 5. – С. 38-41.
73. Федотов, А.Е. Чистые технологии – ключевое направление технического прогресса / А.Е. Федотов // Поликлиника. – 2012. – № 4. – С. 10-13.
74. Филатова, Е.В. Малотоксичные микросферы для направленной доставки доксорубицина / Е.В. Филатова, А.П. Бонарцев, Г.А. Бонарцева // Эффективная фармакотерапия. – 2018. – № 5. – С. 30-33.

75. Филатова Е.В. Пролонгированное высвобождение хлорамбуцила и этопозида из полимерных микросфер на основе поли-3-оксибутирата / Е.В. Филатова, С.Г. Яковлев, А.П. Бонарцев, Т.К. Махина, В.Л. Мышкина, Г.А. Бонарцева // Прикладная биохимия и микробиология. – 2012. – Т. 48, № 6. – С. 662-667.
76. Чайка, А.В. Методы экспериментального доклинического тестирования анальгетического действия различных факторов на лабораторных мышах и крысах / А.В. Чайка, И.В. Черетаев, Д.Р. Хусаинов // Ученые записки Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского. Биология. Химия. – 2015. – Т. 1(67), № 1. – С. 161-173.
77. Шамсутдинова, М.Х. Синтез и строение координационных соединений коеновой кислоты с ионами меди(II) / М.Х. Шамсутдинова, Ю. Курбанов, И. Висалиев // Архивариус. – 2017. – Т. 2, № 4 (19). – С. 63-68.
78. Шаназаров, Н.А. Варианты ангиоархитектоники злокачественных новообразований печени и ее влияние на возможность выбора диаметра микросфер (обзор литературы) / Н.А. Шаназаров, Т.У. Туганбеков, И.Е. Нурсеитов, Н.Б. Малаев // Журнал Казахского НИИ онкологии и радиологии. – 2016. – № 4 (42). – С. 45-50.
79. Шевченко, В.А. Новаторские фармацевтические решения в процессе создания лекарственных средств для парентерального и орального применения / В.А. Шевченко, С.Н. Ролик-Аттия, Н.А. Домар // Modern scientific researches. – 2019. – Т. 8, № 1. – С. 78-82.
80. Шурыгина, Л.В. Антиоксидантные свойства коеновой кислоты и её кальциевой соли в условиях экспериментального стрессового воздействия / Л.В. Шурыгина, Э.И. Злищева, А.А. Кравцов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81, № 4. – С. 3-7.
81. Яковлев, В.Н. Возможности эндоваскулярной эмболизации, химиэмболизации и химиоиммуноэмболизации в условиях многопрофильной больницы / В.Н. Яковлев, А.В. Араблинский, Е.Р.

Хайрутдинов, В.А. Цуркан, В.Н. Фомин, В.Г. Алексеев // Клиническая медицина. – 2012. – № 12. – С. 65-69.

82. Al-Malky, H.S. Major obstacles to doxorubicin therapy: Cardiotoxicity and drug resistance / H.S. Al-Malky, S.E. Al Harthi, A.M. Osman // Journal of oncology pharmacy practice: official publication of the International Society of Oncology Pharmacy Practitioners. – 2020. – Т. 26, № 2. – P. 434-444.

83. Boulin, M. Transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma: An old method, now flavor of the day / M. Boulin, E. Delhom, M.-A. Pierredon-Foulongne, J.-P. Cercueil, B. Guiu // Diagn Interv Imaging. – 2015. – Т. 96, № 6. – P. 162-171.

84. Bouvry, C. Transarterial Radioembolization (TARE) Agents beyond 90Y-Microspheres / C. Bouvry, X. Palard, J. Edeline, V. Ardisson, P. Loyer, E. Garin, N. Lepareur // BioMed Research International. – 2018. – Т. 2018. – P. 14.

85. Chen, C. Autophagy and doxorubicin resistance in cancer / C. Chen, L. Lu, S. Yan, H. Yi, H. Yao, D. Wu, G. He, X. Tao, X. Deng // Anticancer Drugs. – 2018. – Т. 29, № 7. – P. 1-9.

86. Chen, Y.P. Recent Advances on Polymeric Beads or Hydrogels as Embolization Agents for Improved Transcatheter Arterial Chemoembolization (TACE) / Y.P. Chen, J.L. Zhang, Y. Zou, Y.L. Wu // Frontiers in Chemistry. – 2019. – № 7. – P. 408.

87. Doucet, J. Advances in Degradable Embolic Microspheres: A State of the Art Review / J. Doucet, L. Kiri, K. O'Connell, S. Kehoe, R.J. Lewandowski, D.M. Liu, R.J. Abraham, D. Boyd // Journal of Functional Biomaterials. – 2018. – Т. 9, № 1. – P. 14.

88. Gandhi, A. Quality by Design (QbD) in Pharmaceutical Industry: Tools, Perspectives and Challenges / A. Gandhi, C. Roy // PharmaTutor. – 2016. – № 4 (11). – P. 12-20.

89. ISO: Guide 73:2009. Risk Management – Vocabulary [Electronic resource] URL: <https://www.iso.org/standard/44651.html> (21.02.2020).

90. Jordan, O. Comparative Study of Chemoembolization Loadable Beads: In vitro Drug Release and Physical Properties of DC Bead and Hepasphere Loaded with Doxorubicin and Irinotecan / O. Jordan, A. Denys, T.D. Baere, N. Boulens, E. Doelker // *Journal of Vascular Interventional Radiology*. – 2010. – T. 21, № 7. – P. 1084-1090.
91. Karanakov, L. ICH Q8 implementation by a generic pharmaceutical industry - critical view / L. Karanakov, J. Tonic-Ribarska // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2011. – T. 44. – P. 118-119.
92. Kelley, B. Integration of QbD risk assessment tools and overall risk management / B. Kelley, M. Cromwell, J. Jerkins // *Biologicals*. – 2016. – T. 44, № 5. – P. 341-351.
93. Kletskov, A.V. Synthesis and Biological Activity of Novel Comenic Acid Derivatives Containing Isoxazole and Isothiazole Moieties / A.V. Kletskov, V.I. Potkin, I.A. Kolesnik, S.K. Petkevich, A.V. Kvachonak, M.O. Dosina, D.O. Loiko, M.V. Larchenko, S.G. Pashkevich, V.A. Kulchitsky // *Natural Product Communications*. – 2018. – T. 13, № 11. – P. 1507-1510.
94. Kodash, A. Audit of the Production of Sterile Medicines for Compliance with the Requirements of the Draft EU GMP Annex 1 with Risk Analysis / A. Kodash, A. Basevich, T.A. Bitkina, E. Smirnova, I. Kaukhova // *Atlantis Press*. – 2019. – № 7. – P. 153-155.
95. Kos, S. Elution characteristics of doxorubicin-loaded microspheres differ by drug-loading method and microsphere size / S. Kos, E. Wasan, G. Weir, P. Reb, C. Cornell, J.A. Ford, D.M. Liu // *Journal of Vascular Interventional Radiology*. – 2011. – T. 22, № 3. – P. 361-368.
96. Kunliang, L. A biodegradable multifunctional porous microsphere composed of carrageenan for promoting imageable trans-arterial chemoembolization / L. Kunliang, J. Zhicheng, H. Xiaolong, Y. Dan, Z. Yu, Z. Haidong, T. Gaojun, X. Fei // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2020. – T. 142. – P. 866-878.

97. Liu, D.M. Optimization of Doxorubicin Loading for Superabsorbent Polymer Microspheres: in vitro Analysis / D.M. Liu, S. Kos, A. Buczkowski, S. Kee, P.L. Munk, D. Klass, E. Wasam // *Cardiovasc Intervent Radiol.* – 2012. – T. 35, № 2. – P. 391-398.
98. Malagari, K. The ten commandments of chemoembolization: expert discussion and report from Mediterranean Interventional Oncology (MIOLive) congress 2017 / K. Malagari, R. Iezzi, S.N. Goldberg, J.I. Bilbao, A. Sami, O. Akhan, F. Giuliante, M. Pompili, L. Crocetti, V. Valentini, A. Gasbarrini, C. Colosimo, R. Manfredi // *European Review for Medical and Pharmacological Sciences.* – 2018. – № 22. – P. 372-381.
99. Nagarajan, S. Bio-absorbable polymers in implantation – An overview / S. Nagarajan, B. Reddy // *Journal of Scientific & Industrial Research.* – 2009. – T. 68. – P. 993-1009.
100. Nouri, Y.M. Update on Transarterial Chemoembolization with Drug-Eluting Microspheres for Hepatocellular Carcinoma / Y.M. Nouri, J.H. Kim, H.K. Yoon, H. K. Ko, J. H. Shin, D. I. Gwon // *Korean J Radiol.* – 2019. – T. 1, № 20. – P. 34-49.
101. Poursaid, A. Polymeric materials for embolic and chemoembolic applications / A. Poursaid, M.M. Jensen, E. Huo, H. Ghandehari // *Journal of Controlled Release.* – 2016. – T. 240. – P. 414-433.
102. Pramod, K. Pharmaceutical product development: A quality by design approach / K. Pramod, M.A. Tahir, N.A. Charoo, S.H. Ansari, J. Ali // *Pharmaceutical Investigation.* – 2016. – № 6 (3). – P. 129-138.
103. Rodari, M. HCC Radioembolization with Yttrium-90 Polymer Beads (SIR-Spheres) / M. Rodari, R. Muglia // *Clinical Applications of Nuclear Medicine Targeted Therapy.* – 2018. – P. 127-136.
104. Sangshetti, J.N. Quality by design approach: Regulatory need / J.N. Sangshetti, M. Deshpande, Z. Zaheer, D.B. Shinde, R. Arote // *Arabian Journal of Chemistry.* – 2017. – T. 10, № 2. – P. 3412-3425.
105. Sheth, R.A. Endovascular Embolization by Transcatheter Delivery of Particles: Past, Present, and Future / R.A. Sheth, S. Sabir, S. Krishnamurthy, R.K. Avery, Y.S.

- Zhang, A. Khademhosseini, R. Oklu // *Journal of Functional Biomaterials*. – 2017. – T. 8, № 2. – P. 12.
106. Stechele, M. Novel MR-Visible, Biodegradable Microspheres for Transcatheter Arterial Embolization: Experimental Study in a Rabbit Renal Model / M. Stechele, H. Wittgenstein, N. Stolzenburg // *Cardiovasc Intervent Radiol*. – 2020. – № 43 (10). – P. 1515-1527.
107. Streitparth, F. Biodegradable Polydioxanone Microspheres for Transcatheter Arterial Embolization: Proof of Principle / F. Streitparth, H. Wittgenstein, M. Stechele, J. Neumann, C. Schmidt, J. Schnorr, B. Hamm, R.W. Günther // *Journal of Vascular and Interventional Radiology*. – 2020. – T. 31, № 12. – P. 2132-2140.
108. Siddiqui, M.S. Current Challenges in the Manufacturing of Injectable Drug Products / M.S. Siddiqui, G. Sarwar // *RADS Journal of Biological Research & Applied Sciences*. – 2013. – T. 4, № 1. – P. 47-49.
109. Vaidya, S. Opportunitie An overview of embolic agents / S. Vaidya, K.R. Tozer, J. Chen // *Seminars in interventional radiology*. – 2008. – T. 25, № 3. – P. 204-215.
110. Varu, R.K. Opportunities and Challenges to Implementing Quality by Design Approach in Generic Drug Development / R.K. Varu, A. Khanna // *Journal of Generic Medicines*. – 2010. – T. 7, № 1. – P. 60-73.
111. Weng, L. Bioresorbable Hydrogel Microspheres for Transcatheter Embolization: Preparation and in Vitro Evaluation / L. Weng, H.C. Le, R. Talaie, J. Golzarian // *Journal of Vascular Interventional Radiology*. – 2011. – T. 22. – P. 1464-1470.
112. Wu, H. Quality-by-Design (QbD): An Integrated Process Analytical Technology (PAT) Approach for Real-Time Monitoring and Mapping the State of a Pharmaceutical Coprecipitation Process / H. Wu, M.A. Khan // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2010. – T. 99, № 3. – P. 1516-1534.
113. Zhu, C. Crosslinked Dextran Gel Microspheres with Computed Tomography Angiography and Drug Release Function / C. Zhu, X. Ma, D. Ma, T. Zhang, N. Gu

// Journal of Nanoscience and Nanotechnology. – 2018. – T. 18, № 4. – P. 2931-2937.

Приложение А

Технологическая инструкция на розлив растворов коеновой кислоты, нейтрализованной натрия гидрокарбонатом

Технологическая инструкция

на розлив раствора коеновой кислоты 1,0%, 1,5%, 2,0%, 2,5%, 3,0% (рН 4,0-6,0)

Подготовить ампулы объемом 10 мл:

из темного стекла – 450 шт; из светлого стекла – 450 шт.

Для приготовления раствора использовать субстанцию № 1

(среднее количественное содержание коеновой кислоты 98,23%)

Приготовление растворов: В чистый сухой стакан отвесить коеновую кислоту. К отвешенному количеству коеновой кислоты добавить 1300 г воды для инъекций – образуется суспензия белого цвета. Суспензию аккуратно перемешать.

Начать добавление натрия гидрокарбоната в суспензию (небольшими порциями) при перемешивании 200-220 об/мин. После добавления натрия гидрокарбоната добавить оставшееся количество воды для инъекций. Раствор тщательно перемешать. Измерить рН полученных растворов.

Если рН будет больше 4,0-6,0, то добавить в раствор субстанцию коеновой кислоты до получения нужного рН. Если рН будет меньше 4,0-6,0, то добавить в раствор натрия гидрокарбонат до получения нужного рН.

Приготовление **Раствора 1** – 1,0% раствор коеновой кислоты

Состав:

Наименование компонента	Состав, г	
	100% содержание	С учетом пересчета
Коеновая кислота	16 г	16,29 г
Натрия гидрокарбонат	8,8 г	8,8 г
Вода для инъекций	1575,2 г	1574,92 г
ИТОГО	1600 мл	1600 мл

Фактический рН: _____ Подпись оператора: _____

Приготовление **Раствора 2** – 1,5% раствор коеновой кислоты

Состав:

Наименование компонента	Состав, г	
	100% содержание	С учетом пересчета
Коеновая кислота	24 г	24,43 г
Натрия гидрокарбонат	13,2 г	13,2 г
Вода для инъекций	1562,8 г	1562,38 г
ИТОГО	1600 мл	1600 мл

Фактический рН: _____ Подпись оператора: _____

Приготовление **Раствора 3** – 2,0% раствор коеновой кислоты

Состав:

Наименование компонента	Состав, г	
	100% содержание	С учетом пересчета
Коеновая кислота	32 г	32,58 г
Натрия гидрокарбонат	17,6 г	17,6 г
Вода для инъекций	1550,4 г	1549,82 г
ИТОГО	1600 мл	1600 мл

Фактический pH: _____ Подпись оператора: _____

Приготовление **Раствора 4** – 2,5% раствор коеновой кислоты

Состав:

Наименование компонента	Состав, г	
	100% содержание	С учетом пересчета
Коеновая кислота	40 г	40,72 г
Натрия гидрокарбонат	22 г	22 г
Вода для инъекций	1538 г	1537,29 г
ИТОГО	1600 мл	1600 мл

Фактический pH: _____ Подпись оператора: _____

Приготовление **Раствора 5** – 3,0% раствор коеновой кислоты

Состав:

Наименование компонента	Состав, г	
	100% содержание	С учетом пересчета
Коеновая кислота	48 г	48,86 г
Натрия гидрокарбонат	26,4 г	26,4 г
Вода для инъекций	1525,6 г	1524,75 г
ИТОГО	1600 мл	1600 мл

Фактический pH: _____ Подпись оператора: _____

Розлив растворов:

Предварительная фильтрация: предфильтр КФВг.П-100-К-60 – 1 шт.

Стерилизующая фильтрация: фильтр МКМ.ПС-020 – 2 шт.

Параметры настройки машины для розлива:

Скорость наполнения: 35 ампул/мин

Давление пропана: 0,5 кгс/см²

Давление кислорода: 1,0 кгс/см²

Раствор профильтровать через предфильтр, затем стерилизующий фильтр и разлить в ампулы по 10,5 мл: 70 ампул из светлого стекла и 70 ампул из темного стекла. Розлив осуществлять через Flexboy от раствора с меньшей концентрацией к раствору с большей концентрацией (без промывки водой).

Приложение Б

**Результаты исследования стабильности растворов коеновой кислоты,
нейтрализованной натрия гидрокарбонатом**

Таблица Б.1 – Результаты исследования стабильности растворов коеновой кислоты при температуре хранения +15-25°C

Концентрация раствора, цвет стекла ампул		1 день				14 дней			
		Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность	Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность
1,0%	светлое	9,53±0,09	5,7±0,1	нет	соотв.	9,74±0,12	5,9±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	9,63±0,03	5,8±0,1	нет	соотв.
1,5%	светлое	14,69±0,07	5,4±0,1	нет	соотв.	14,75±0,14	5,4±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	14,81±0,31	5,4±0,1	нет	соотв.
2,0%	светлое	19,94±0,13	5,3±0,1	нет	соотв.	20,14±0,24	5,3±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	20,14±0,64	5,3±0,1	нет	соотв.
2,5%	светлое	24,70±0,14	5,3±0,1	нет	соотв.	24,98±0,13	5,3±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	25,14±0,38	5,3±0,1	нет	соотв.
3,0%	светлое	30,07±0,10	5,3±0,1	нет	соотв.	29,66±0,36	5,2±0,1	да	соотв.
	темное			нет	соотв.	30,10±0,32	5,2±0,1	да	соотв.

Таблица Б.1 – Результаты исследования стабильности растворов коеновой кислоты при температуре хранения +15-25°C (окончание)

Концентрация раствора, цвет стекла ампул		2 месяца				3 месяца			
		Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность	Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность
1,0%	светлое	9,56±0,47	5,8±0,1	нет	соотв.	9,60±0,22	5,8±0,1	нет	соотв.
	темное	9,95±0,25	5,8±0,1	нет	соотв.	9,53±0,27	5,8±0,1	нет	соотв.
1,5%	светлое	14,68±0,30	5,4±0,1	нет	соотв.	14,69±0,22	5,4±0,1	нет	соотв.
	темное	14,75±0,27	5,3±0,1	нет	соотв.	14,69±0,40	5,3±0,1	нет	соотв.
2,0%	светлое	19,82±0,21	5,2±0,1	нет	соотв.	19,68±0,24	5,2±0,1	нет	соотв.
	темное	19,78±0,23	5,2±0,1	нет	соотв.	19,91±0,29	5,2±0,1	нет	соотв.
2,5%	светлое	24,48±0,27	5,2±0,1	нет	соотв.	24,32±0,03	5,2±0,1	нет	соотв.
	темное	24,25±0,32	5,2±0,1	нет	соотв.	24,70±0,18	5,1±0,1	нет	соотв.

3,0%	светлое	29,50±0,64	5,1±0,1	да	соотв.	28,83±0,11	5,2±0,1	да	соотв.
	темное	29,60±0,38	5,1±0,1	да	соотв.	29,27±0,83	5,1±0,1	да	соотв.

Таблица Б.2 – Результаты исследования стабильности растворов коеновой кислоты при температуре хранения +8-15°C

Концентрация раствора, цвет стекла ампул		1 день				14 дней			
		Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность	Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность
1,0%	светлое	9,53±0,09	5,7±0,1	нет	соотв.	9,55±0,23	5,8±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	9,48±0,02	5,9±0,1	нет	соотв.
1,5%	светлое	14,69±0,07	5,4±0,1	нет	соотв.	14,58±0,29	5,5±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	14,70±0,60	5,4±0,1	нет	соотв.
2,0%	светлое	19,94±0,13	5,3±0,1	нет	соотв.	19,62±0,08	5,2±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	19,60±0,11	5,3±0,1	нет	соотв.
2,5%	светлое	24,70±0,14	5,3±0,1	нет	соотв.	24,46±0,13	5,3±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	24,80±0,17	5,3±0,1	нет	соотв.
3,0%	светлое	30,07±0,10	5,3±0,1	нет	соотв.	29,51±0,31	5,2±0,1	да	соотв.
	темное			нет	соотв.	29,00±0,06	5,2±0,1	да	соотв.

Таблица Б.2 – Результаты исследования стабильности растворов коеновой кислоты при температуре хранения +8-15°C (окончание)

Концентрация раствора, цвет стекла ампул		2 месяца				3 месяца			
		Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность	Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность
1,0%	светлое	9,61±0,22	5,8±0,1	нет	соотв.	9,81±0,20	5,8±0,1	нет	соотв.
	темное	9,86±0,09	5,9±0,1	нет	соотв.	9,62±0,24	5,8±0,1	нет	соотв.
1,5%	светлое	14,59±0,27	5,4±0,1	нет	соотв.	14,73±0,18	5,4±0,1	нет	соотв.
	темное	14,71±0,35	5,3±0,1	нет	соотв.	14,82±0,08	5,3±0,1	нет	соотв.
2,0%	светлое	19,81±0,14	5,2±0,1	нет	соотв.	19,95±0,32	5,2±0,1	нет	соотв.
	темное	19,88±0,39	5,2±0,1	нет	соотв.	19,70±0,46	5,2±0,1	нет	соотв.
2,5%	светлое	24,38±0,26	5,2±0,1	нет	соотв.	24,56±0,07	5,2±0,1	нет	соотв.
	темное	24,72±0,09	5,2±0,1	нет	соотв.	24,82±0,21	5,2±0,1	нет	соотв.

3,0%	светлое	29,40±0,03	5,1±0,1	да	соотв.	26,95±0,72	5,2±0,1	да	соотв.
	темное	29,56±0,11	5,2±0,1	да	соотв.	28,01±0,71	5,2±0,1	да	соотв.

Таблица Б.3 – Результаты исследования стабильности растворов коеновой кислоты при температуре хранения +4-8°C

Концентрация раствора, цвет стекла ампул		1 день				14 дней			
		Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность	Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность
1,0%	светлое	9,53±0,09	5,7±0,1	нет	соотв.	9,45±0,20	5,9±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	9,77±0,09	5,9±0,1	нет	соотв.
1,5%	светлое	14,69±0,07	5,4±0,1	нет	соотв.	15,22±0,10	5,5±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	14,79±0,11	5,4±0,1	нет	соотв.
2,0%	светлое	19,94±0,13	5,3±0,1	нет	соотв.	19,77±0,16	5,3±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	20,01±0,36	5,3±0,1	нет	соотв.
2,5%	светлое	24,70±0,14	5,3±0,1	нет	соотв.	24,47±0,27	5,3±0,1	да	соотв.
	темное			нет	соотв.	24,45±0,18	5,3±0,1	да	соотв.
3,0%	светлое	30,07±0,10	5,3±0,1	нет	соотв.	24,39±0,24	5,3±0,1	да	соотв.
	темное			нет	соотв.	24,48±0,27	5,3±0,1	да	соотв.

Таблица Б.3 – Результаты исследования стабильности растворов коеновой кислоты при температуре хранения +4-8°C (окончание)

Концентрация раствора, цвет стекла ампул		2 месяца				3 месяца			
		Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность	Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность
1,0%	светлое	9,63±0,17	5,8±0,1	нет	соотв.	9,73±0,07	5,8±0,1	нет	соотв.
	темное	9,91±0,05	5,8±0,1	нет	соотв.	9,68±0,09	5,8±0,1	нет	соотв.
1,5%	светлое	14,89±0,18	5,4±0,1	нет	соотв.	14,78±0,19	5,4±0,1	нет	соотв.
	темное	14,68±0,18	5,3±0,1	нет	соотв.	14,85±0,19	5,3±0,1	нет	соотв.
2,0%	светлое	19,70±0,16	5,2±0,1	нет	соотв.	19,98±0,73	5,2±0,1	нет	соотв.
	темное	19,69±0,10	5,2±0,1	нет	соотв.	19,78±0,38	5,2±0,1	нет	соотв.
2,5%	светлое	24,84±0,02	5,2±0,1	нет	соотв.	24,80±0,31	5,2±0,1	нет	соотв.
	темное	24,72±0,25	5,2±0,1	нет	соотв.	24,90±0,13	5,2±0,1	нет	соотв.

3,0%	светлое	24,12±0,55	5,2±0,1	да	соотв.	22,32±0,20	5,2±0,1	да	соотв.
	темное	23,35±0,41	5,2±0,1	да	соотв.	23,12±0,46	5,2±0,1	да	соотв.

Приложение В

Технологическая инструкция на розлив растворов коеновой кислоты, нейтрализованной натрия гидроксидом

Технологическая инструкция
на розлив раствора коеновой кислоты 1,0%, 1,5%, 2,0%, 2,5% (рН 4,5-5,5)

Подготовить ампулы объемом 10 мл:

из темного стекла – 340 шт; из светлого стекла – 340 шт.

Для приготовления раствора использовать субстанцию № 1

(среднее количественное содержание коеновой кислоты 98,79%)

Приготовление 10% раствора натрия гидроксида: 30 г гидроксида натрия растворить в 270 мл воды для инъекций (реакция проходит с выделением тепла).

Приготовление растворов коеновой кислоты: В чистый сухой стакан отвесить коеновую кислоту. К отвешенному количеству коеновой кислоты добавить отвешенное количество воды для инъекций – образуется суспензия белого цвета. Суспензию аккуратно перемешать.

Начать добавление 10% раствора натрия гидроксида в суспензию (небольшими порциями) при перемешивании 220-250 об/мин при постоянном измерении рН. рН полученных растворов должен быть в диапазоне 4,5-5,5.

Если рН будет больше 5,5, то добавить в раствор субстанцию коеновой кислоты до получения нужного рН.

Если рН будет меньше 4,5, то добавить в раствор 10% раствор натрия гидроксида до получения нужного рН.

Приготовление **Раствора 1** – 1,0% раствор коеновой кислоты

Состав:

Наименование компонента	Состав, г	
	100% содержание	С учетом пересчета
Коеновая кислота	14 г	14,17 г
Натрия гидроксид 10% р-р	-	33,56 мл
Вода для инъекций	-	1352,27 г
ИТОГО	1400 мл	1400 мл

Фактический рН: _____ Подпись оператора: _____

Приготовление **Раствора 2** – 1,5% раствор коеновой кислоты

Состав:

Наименование компонента	Состав, г	
	100% содержание	С учетом пересчета
Коеновая кислота	21 г	21,26 г
Натрия гидроксид 10% р-р	-	50,35 г
Вода для инъекций	-	1328,39 г
ИТОГО	1400 мл	1400 мл

Фактический pH: _____ Подпись оператора: _____

Приготовление **Раствора 3** – 2,0% раствор коеновой кислоты

Состав:

Наименование компонента	Состав, г	
	100% содержание	С учетом пересчета
Коеновая кислота	28 г	28,34 г
Натрия гидроксид 10% р-р	-	67,12 мл
Вода для инъекций	-	1304,54 г
ИТОГО	1400 мл	1400 мл

Фактический pH: _____ Подпись оператора: _____

Приготовление **Раствора 4** – 2,5% раствор коеновой кислоты

Состав:

Наименование компонента	Состав, г	
	100% содержание	С учетом пересчета
Коеновая кислота	35 г	35,43 г
Натрия гидроксид 10% р-р	-	83,91 мл
Вода для инъекций	-	1280,66 г
ИТОГО	1400 мл	1400 мл

Фактический pH: _____ Подпись оператора: _____

Розлив растворов:

Предварительная фильтрация: предфильтр КФВг.П-100-К-60 – 1 шт.

Стерилизующая фильтрация: фильтр МКМ.ПС-020 – 2 шт.

Раствор профильтровать через предфильтр, затем через стерилизующий фильтр и разлить в ампулы по 10,5 мл: 60 ампул из светлого стекла и 60 ампул из темного стекла. Розлив осуществлять от раствора с меньшей концентрацией к раствору с большей концентрацией (без промывки водой).

Приложение Г

**Результаты исследования стабильности растворов коеновой кислоты,
нейтрализованной натрия гидроксидом**

Таблица Г.1 – Результаты исследования стабильности растворов коеновой кислоты, нейтрализованной натрия гидроксидом при температуре хранения +15-25°C

Концентрация раствора, цвет стекла ампул		1 день				14 дней			
		Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность	Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность
1,0%	светлое	9,57±0,20	5,0±0,1	нет	соотв.	9,90±0,29	4,9±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	9,85±0,18	5,0±0,1	нет	соотв.
1,5%	светлое	14,61±0,23	5,0±0,1	нет	соотв.	14,54±0,35	5,0±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	14,42±0,50	4,9±0,1	нет	соотв.
2,0%	светлое	19,82±0,24	5,0±0,1	нет	соотв.	19,61±0,25	5,0±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	19,68±0,26	4,9±0,1	нет	соотв.
2,5%	светлое	24,66±0,20	5,0±0,1	нет	соотв.	24,72±0,39	5,0±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	24,64±0,42	4,9±0,1	нет	соотв.

Таблица Г.1 – Результаты исследования стабильности растворов коеновой кислоты при температуре хранения +15-25°C (окончание)

Концентрация раствора, цвет стекла ампул		2 месяца				3 месяца			
		Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность	Содержание КК,	pH	Осадок	Подлинность
1,0%	светлое	9,71±0,34	4,9±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
	темное	9,84±0,29	4,8±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
1,5%	светлое	14,75±0,51	5,0±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
	темное	14,90±0,41	4,8±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
2,0%	светлое	19,85±0,46	5,0±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
	темное	19,77±0,31	4,8±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
2,5%	светлое	24,97±0,52	5,0±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
	темное	25,14±0,39	4,8±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-

Таблица Г.2 – Результаты исследования стабильности растворов коеновой кислоты, нейтрализованной натрия гидроксидом при температуре хранения +8-15°C

Концентрация раствора, цвет стекла ампул		1 день				14 дней			
		Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность	Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность
1,0%	светлое	9,57±0,20	5,0±0,1	нет	соотв.	9,73±0,24	5,0±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	9,83±0,15	5,0±0,1	нет	соотв.
1,5%	светлое	14,61±0,23	5,0±0,1	нет	соотв.	14,38±0,24	5,0±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	14,68±0,24	4,9±0,1	нет	соотв.
2,0%	светлое	19,82±0,24	5,0±0,1	нет	соотв.	19,40±0,24	5,0±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	19,54±0,55	5,0±0,1	нет	соотв.
2,5%	светлое	24,66±0,20	5,0±0,1	нет	соотв.	24,40±0,21	5,0±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	24,51±0,20	5,0±0,1	нет	соотв.

Таблица Г.2 – Результаты исследования стабильности растворов коеновой кислоты при температуре хранения +8-15°C (окончание)

Концентрация раствора, цвет стекла ампул		2 месяца				3 месяца			
		Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность	Содержание КК,	pH	Осадок	Подлинность
1,0%	светлое	9,90±0,13	5,0±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
	темное	9,82±0,24	5,0±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
1,5%	светлое	14,82±0,47	5,0±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
	темное	14,86±0,21	5,0±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
2,0%	светлое	20,17±0,39	5,0±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
	темное	19,98±0,36	4,9±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
2,5%	светлое	25,12±0,05	5,0±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
	темное	25,01±0,12	5,0±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-

Таблица Г.3 – Результаты исследования стабильности растворов коеновой кислоты, нейтрализованной натрия гидроксидом при температуре хранения +4-8°C

Концентрация раствора, цвет стекла ампул		1 день				14 дней			
		Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность	Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность
1,0%	светлое	9,57±0,20	5,0±0,1	нет	соотв.	9,76±0,54	5,0±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	9,60±0,17	5,0±0,1	нет	соотв.
1,5%	светлое	14,61±0,23	5,0±0,1	нет	соотв.	14,61±0,26	5,0±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	14,98±0,51	5,0±0,1	нет	соотв.
2,0%	светлое	19,82±0,24	5,0±0,1	нет	соотв.	19,46±0,23	5,0±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	19,61±0,49	5,0±0,1	нет	соотв.
2,5%	светлое	24,66±0,20	5,0±0,1	нет	соотв.	24,70±0,44	5,0±0,1	нет	соотв.
	темное			нет	соотв.	24,77±0,16	5,0±0,1	нет	соотв.

Таблица Г.3 – Результаты исследования стабильности растворов коеновой кислоты при температуре хранения +4-8°C (окончание)

Концентрация раствора, цвет стекла ампул		2 месяца				3 месяца			
		Содержание КК, мг/мл	pH	Осадок	Подлинность	Содержание КК,	pH	Осадок	Подлинность
1,0%	светлое	10,12±0,42	5,0±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
	темное	10,07±0,11	5,0±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
1,5%	светлое	15,10±0,23	5,0±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
	темное	14,70±0,29	5,0±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
2,0%	светлое	20,09±0,31	5,0±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
	темное	19,78±0,41	5,0±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
2,5%	светлое	25,11±0,05	5,0±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-
	темное	24,99±0,28	5,0±0,1	нет	соотв.	На стадии изучения	На стадии изучения	-	-

УТВЕРЖДАЮ
Ректор ФГБОУ ВО СПХФУ
Минздрава России,
д.фарм.н. профессор



И.А. Наркевич

2022 г.

**Акт внедрения
результатов научно-практической работы
в учебный процесс**

Комиссия в составе:

Председателя	проректора по учебной работе, канд. фарм. наук, доцент	Ю.Г. Ильиновой
и членов комиссии	начальника учебно-методического отдела директора департамента науки и подготовки научно-педагогических кадров, канд. биол. наук	Д.С. Грицаненко И.А. Титович

назначенная приказом ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России от «12» марта 2021 г. №100, составила акт о нижеследующем.

Результаты диссертационного исследования Биткиной Татьяны Александровны на тему: «Разработка состава и технологии комбинированного лекарственного средства на основе микросфер с доксорубицином гидрохлоридом и коеновой кислоты», представленного на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, а именно: «Особенности разработки лекарственных средств с учетом концепции Quality-by-Design», «Анализ рисков при трансфере технологии для производства опытно-промышленных партий растворов коеновой кислоты» внедрены в учебный процесс по учебной дисциплине «Управление рисками для качества в производстве лекарственных средств» в рамках программы высшего образования – программы магистратуры по направлению подготовки 18.04.01 «Химическая технология. Промышленное производство и обеспечение качества лекарственных средств» очной формы обучения.

Председатель	проректор по учебной работе, канд. фарм. наук, доцент		Ю.Г. Ильинова
члены комиссии	начальник учебно-методического отдела директора департамента науки и подготовки научно-педагогических кадров, канд. биол. наук	 	Д.С. Грицаненко И.А. Титович

УТВЕРЖДАЮ

Ген. директор ООО «НПК» СФЕРА

Моисеев А.Н.

«17» августа 2021 г.



АКТ АПРОБАЦИИ

Технология получения полимерных микросфер, стандартизованная ассистентом кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов ФГБОУ ВО СПбХФУ Биткиной Т.А., была апробирована на производственной площадке ООО «НПК «СФЕРА».

Полученные опытные партии полимерных микросфер по показателям качества соответствовали требованиям разработанной нормативной документации (проекту спецификации качества).

Главный технолог
ООО «НПК «СФЕРА»

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "И.В. Ларионов".

Ларионов И.В.

УТВЕРЖДАЮ

Директор ООО «Фарма Ген»

Резяпкин А.А.

«15» октября 2021 г.



АКТ АПРОБАЦИИ

Технология получения инъекционных растворов коеновой кислоты, разработанная ассистентом кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов ФГБОУ ВО СПбХФУ Биткиной Т.А., была апробирована в промышленных условиях ООО «Фарма Ген».

Полученные опытно-промышленные партии инъекционных растворов коеновой кислоты по показателям качества соответствовали требованиям разработанной нормативной документации (проекту спецификации качества).

Зам. директора по производству
ООО «Фарма Ген»

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'M.I. Savina'.

Савина М.Ю.