РАЗРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Хайтам Фади Мостафа, Мохаммед Аббас Ибрагим, Адел Сакр 2
Таблетки гидробромида декстрометорфана, диспергируемые в полости рта
Разработка и усовершенствование рецептуры с использованием различных переменных

Свен П. Вихерт, Эльмар Хербиг, Михаэль К. Вер 14
Сверхчистая вода как компонент мультипараметрических методов измерений в исследованиях биологически активных веществ

АНАЛИТИКА

Саша Гигольд (Dr.) 22
Автоматизированная очистка целевых соединений для высокочистых субстанций

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ ПРОИЗВОДСТВО

Юлия Шнорр, Хильде Шпан-Ланггут (Prof. Dr.), Петер Ланггут (Prof. Dr.) 26
Изготовление медикаментов по стандарту GMP в Майнцском университете
В новых производственных помещениях отделения фармацевтической технологии в Майнце изготавливают экспериментальные препараты для клинических исследований

МАШИНЫ И КОМПЛЕКТНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Ральф Вайнекёттер (Dr.) 32
Дозирующе-смешивающие модули непрерывного действия как базовые блоки для производства твердых субстанций

Кармен Штарк (Dipl.-Ing.), Марио Кнехт 38
Асептическое регулирование дозировки малых количеств

Джеймс Л. Дринкуотер 44
Контроль окружающей среды по правилам GMP и мониторинг процессов асептической обработки

ПРАВИЛА GMP

Карин Аммон (Dr.) 54
Процесс разработки по стандарту GMP
Планирование, реализация, контроль и документирование

ПРОДУКТЫ

60

ВЫХОДНЫЕ ДАННЫЕ

64

Проверенное качество

Журнал комплектуется материалами из выходящих в Германии научно-технических журналов "pharmind - die pharmazeutische industrie" и "TechnoPharm - Making Science Work", подобранными с учетом интересов фармацевтической отрасли России.
В обоих журналах статьи, поступающие от авторов, проходят обязательное рецензирование. Перед публикацией их проверяют на релевантность и качество содержания признанные специалисты из университетской среды и фармацевтической отрасли Германии.

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Таблетки гидробромида декстрометорфана, диспергируемые в полости рта

Разработка и усовершенствование рецептуры с использованием различных переменных

Хайтам Фади Мостафа • Кафедра фармацевтической промышленности д-ра Валида Кайали, отделение фармакологии фармацевтического колледжа Университета им. короля Сауда (Эр-Рияд, Королевство Саудовская Аравия)
Мохаммед Аббас Ибрагим • Отделение фармакологии и промышленной фармации фармацевтического колледжа Университета аль-Азхар, Асьют / Египет
Адел Сакр • Future University, Каир / Египет

Почтовый адрес: Mohamed Abbas Ibrahim, Associate Professor, Faculty of Pharmacy, Kayyali Chair for Pharmaceutical Industries, King Saud University, P.O. Box 1247, Riyadh 11451, Kingdom of Saudi Arabia; **e-mail:** abbma71@gmail.com

Аннотация

Цель данного исследования – разработка простого и недорогого способа производства диспергируемых в полости рта таблеток (ородисперсных таблеток - ОДТ) гидробромида декстрометорфана и изучение влияния некоторых переменных параметров рецептуры. Для оптимизации концентрации разбавителя, декстратов NF (X_1) и супердезинтегранта – кроскармеллозы натрия (X_2) использовался полный факторный эксперимент с двумя факторами и тремя уровнями (3^2). Для всех рецептур варьировались значения времени распадаемости (Y_1) – от 17,33 до 279,5 с, твердости (Y_2) – от 3,58 до 4,97 кгс и времени T_{50}, необходимого для высвобождения 50 % действующего вещества (Y_3), – от 1,2 до 5 мин. Результаты исследования показали большую зависимость избранных характеристик ОДТ (времени распадаемости, твердости и времени T_{50}) от избранных переменных. С помощью метода оптимизации множественных откликов в качестве оптимальной была выбрана рецептура выпускаемых ОДТ, состоящих из 30,6 % декстратов в сочетании с 4,2 % кроскармеллозы натрия. На корректность плана эксперимента указывает тот факт, что между предсказанными и наблюденными значениями характеристик таблеток при оптимизированной рецептуре существенных различий не наблюдалось. При оптимизированной рецептуре таблетки имели существенно меньшие значения времени распадаемости и времени T_{50} в сравнении с обычными таблетками, представленными на рынке. Сравнение с формулой на основе pharmburst™ выявило существенно большее время распадаемости и меньшую твердость.

1 Введение

Способность к глотанию у многих пациентов, например, пожилых людей или детей, слишком слаба для приема таблеток и капсул, что нарушает их лечение или делает его неэффективным [1]. Новейшие подходы в области систем доставки лекарственных средств направлены на получение удобных лекарственных форм, позволяющих улучшить качество лечения пациента. Один из таких подходов заключается в применении ородисперсных таблеток [1-4]. Ородисперсные таблетки представляют собой твердые лекарственные формы, содержащие лекарственные вещества, легко и быстро растворяющиеся в полости рта без необходимости запивать их водой [5]. Такие лекарственные формы имеют особенные преимущества в применении для определенных групп больных – пациентов пожилого, детского возраста, а также психиатрических пациентов [6, 7]. Подобные таблетки могут быть полезны при некоторых медицинских состояниях и заболеваниях (боль, мигрень, тошнота, приступы паники, аллергические состояния, кашель/насморк, болезнь Альцгеймера) [8]. Есть и другие преимущества ОДТ: они позволяют легко растворяться и всасываться некоторым лекарственным веществам, способным оказывать быстрое действие [7, 9–11], улучшают биодоступность некоторых веществ, разлагаемых печеночным метаболизмом при предгаструляционном всасывании [12,13]. Кроме того, ОДТ обладают достоинствами как твердых, так и жидких лекарственных форм, к числу которых относятся высокая стабильность, точное дозирование, простота

Немецкое производство лекарств / DPI 2016, №1, 2-12
© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

производства, небольшой размер упаковки, удобность обращения, а также легкость проглатывания, быстрая дезинтеграция и растворимость [1]. Такая лекарственная форма подходит для путешествующих и много работающих людей, у которых нет незамедлительного доступа к воде. Она способствует расширению ассортимента, предоставляет возможность управления жизненным циклом продукции и продления срока действия патента [9, 14].

Рецептуры ОДТ составлены таким образом, что таблетки в ротовой полости быстро диспергируются, растворяются или разрушаются, позволяя действующему веществу высвобождаться из лекарственной формы без применения воды. Это происходит благодаря быстрому впитыванию воды сердцевиной таблеток, быстрому распаду таблеток и диспергированию их водорастворимых компонентов, что приводит к быстрому растворению таблеток в целом. Растворенный препарат, либо глотаемый, либо подвергающийся предгаструляционному всасыванию, быстрее и в большей степени абсорбируется и может способствовать снижению метаболизма печени [15].

Наиболее распространенным методом изготовления ородисперсных таблеток является компрессионный метод. Применялись многие методы: влажного гранулирования [16–18], сухого гранулирования [19], гранулирования расплава [16], сушки распылением [20], сублимации [21] и прямого прессования [18, 22]. Но самым простым и экономически эффективным способом изготовления ОДТ является метод прямого прессования [23]. Он имеет множество преимуществ, к которым относятся простота оборудования, использование широко распространенных субстанций, возможность применения больших дозировок, а также ограниченное количество производственных этапов в процессе изготовления таблеток [24]. Распадаемость и растворение таблеток, изготовленных методом прямого прессования, зависит главным образом от отдельного или комбинированного действия водорастворимых разбавителей, супердезинтегрантов, а также смазывающих и газообразующих агентов [25, 26]. Поэтому важно оптимизировать тип и концентрацию разбавителей, дезинтегрантов, смазывающих агентов и/или других компонентов, использующихся в рецептуре ОДТ.

Таблица 1

Переменные полного факторного эксперимента 3^2 для декстратов и кроскармеллозы натрия

Независимая переменная, фактор			
	Низкий (-1)	Средний (0)	Высокий (1)
X_1: декстраты (%)	0	30	60
X_2: кроскармеллоза натрия (%)	0	3	6
Зависимая переменная, отклик			
Y_1: время распадаемости (с) Y_2: твердость (кгс) Y_3: время T_{50} (мин)			

В данном исследовании для оптимизации концентрации как разбавителя (декстраты NF, X_1), так и супердезинтегранта – кроскармеллозы натрия (X_2) – использовался полный факторный эксперимент с двумя факторами и тремя уровнями (3^2).

Для оценки влияния на распадаемость ОДТ (Y_1) двух факторов – твердости (Y_2) и времени T_{50}, необходимого для высвобождения 50 % лекарственного вещества (Y_3) – были созданы статистические модели со взаимодействующими параметрами. Оптимизированная формула сравнивалась с другими рецептурами: на основе формулы Pharmburst™; обычной продукции, представленной на рынке, и аналогичной оптимизированной рецептуры, полученной с помощью другого разбавителя – микрокристаллической целлюлозы (МКЦ) [27].

2 Материал и методы

2.1 Материалы

Гидробромид декстрометорфана (DM) и кроскармеллоза натрия (КК натрия) были предоставлены фирмой SPIMACO (Эль-Касим, Саудовская Аравия), микрокристаллическая целлюлоза Emcocel® HD-90 и декстраты NF, Emdex® – фирмой JRS (Ален, Германия), а высушенный методом распыления маннитол Mannogem™ EZ – фирмой SPI (Гранд Хейвен, США). Стеарат магния был закуплен у фирмы Riedel-de Haën (Зельце, Германия).

2.2 Методы

2.2.1 План эксперимента

Для оптимизации рецептур ОДТ был выполнен полный факторный эксперимент с двумя факторами и тремя уровнями (3^2). Влияние концентрации разбавителя Emdex® (X_1) и супердезинтегранта КК натрия (X_2) на свойства ОДТ было изучено с помощью пакета программ для обработки статистических данных (Statgraphics Plus, версия 5.01). Для оценки воздействия двух факторов на отклики – время

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

распадаемости ОДТ (Y_1), твердость (Y_2) и время T_{50} на высвобождение 50 % лекарственного вещества (Y_3) – были выведены статистические модели со взаимодействующими параметрами.

Два выбранных фактора, а также их уровни и проанализированные отклики приведены в таблице 1. Матрица факторного анализа показана в таблице 2. Каждая строка матрицы представляет эксперимент, а каждый эксперимент дает результат (отклик). Рецептура таблеток отражена в таблице 3. Такой план эксперимента соответствует эмпирической полиномиальной модели второго порядка. При таком математическом подходе каждый экспериментальный отклик Y может быть представлен следующим квадратным уравнением поверхности отклика:

$$Y = B_0 + B_1X_1 + B_2X_2 + B_3X_1X_2 + B_4X_1^2 + B_5X_2^2 \quad (1)$$

2.2.2 Изготовление таблеток

Таблетки с рецептурой, приведенной в таблице 3, были изготовлены методом прямого прессования. На илл. 1 показаны этапы изготовления ОДТ гидробромида декстрометорфана.

2.2.3 Масса и ее отклонения

В каждой партии была измерена масса двадцати таблеток и зафиксированы среднее значение массы и значение стандартного отклонения.

2.2.4 Толщина

С помощью микрометра фирмы Starrett (Атол, Массачусетс, США) была измерена толщина 10 предварительно взвешенных таблеток каждой рецептуры. Были зафиксированы среднее значение толщины, значения стандартного отклонения и относительного стандартного отклонения.

2.2.5 Твердость

Твердость таблеток определялась с помощью твердомера фирмы Pharma test GmbH (Хайнбург, Германия). Для каждой партии была измерена твердость 10 таблеток известной массы и толщины. Были зафиксированы среднее значение твердости, значения стандартного отклонения и относительного стандартного отклонения.

Таблица 2

Матрица полного факторного эксперимента 3^2 для декстратов и кроскармеллозы натрия

№ эксперимента	Декстраты (%)	Кроскармелоза натрия (%)
1	0	0
2	30	0
3	60	0
4	0	3
5	30	3
6	60	3
7	0	6
8	30	6
9	60	6

2.2.6 Истираемость

Истираемость таблеток определялась в соответствии с требованиями фармакопеи США (USP30-NF25). Говоря вкратце, двадцать таблеток были взвешены (W_1) и на 4 минуты помещены в фриабилятор TA3R фирмы ERWEKA (Хойзенштамм, Германия), вращающийся со скоростью 25 об/мин. Затем, после удаления мелких частиц, таблетки были повторно взвешены (W_2), и по формуле 100 x (W_1–W_2)/W_1 была рассчитана их истираемость.

2.2.7 Однородность дозирования

Однородность дозирования оценивалась в соответствии с требованиями фармакопеи США

Таблица 3

Рецептура ОДТ гидробромида декстрометорфана

Компонент	Масса (%)
Декстрометорфан	10
Декстраты	0/30/60
Кроскармеллоза натрия	0/3/6
Стеарат магния	1
Магнитол	до 100
Масса таблетки: 150 мг	

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

(USP30-NF25). Партия признается соответствующей этим требованиям в том случае, если показатель приемлемости (AV) однородности содержания не превышает 15 для первых тестируемых 10 таблеток (часть 1-AV). В случае, если AV выше этого значения (AV > 15), испытанию подвергаются дополнительные 20 таблеток (часть 2-AV). Если часть 2-AV и последняя из 30 единиц дозирования соответствуют критерию, тест считается пройденным.

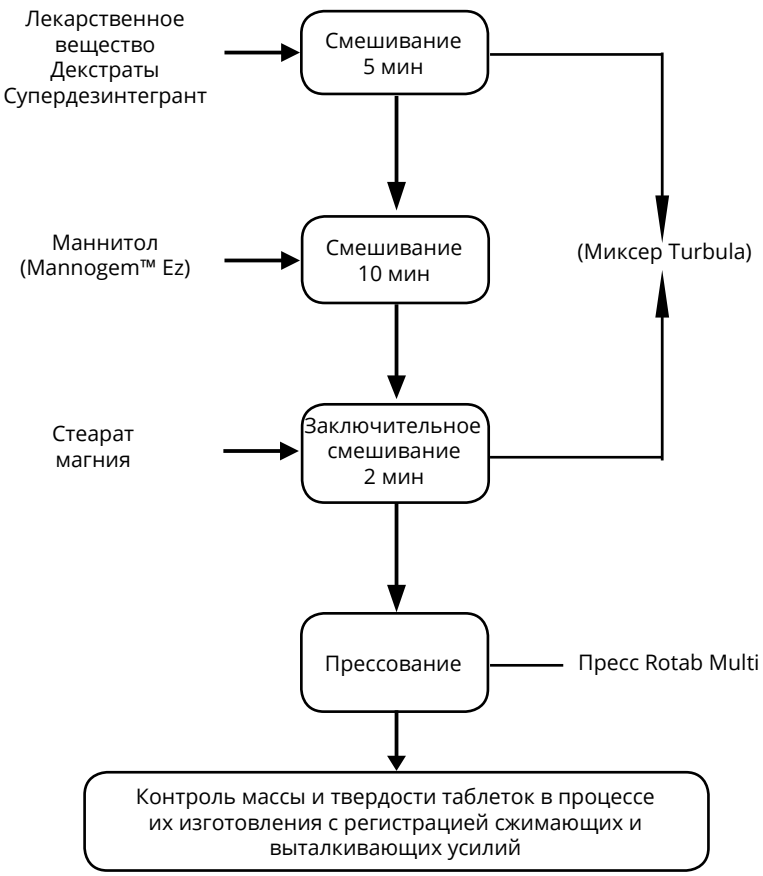
Содержание ОДТ гидробромида декстрометорфана анализировалось с помощью спектрофотометра для диапазона УФ-излучения фирмы Labomed Inc. (США) – см. Mostafa et al. [27].

2.2.8 Испытание на распадаемость (in vitro)

Испытание in vitro на распадаемость оценивалось в соответствии с требованиями фармакопеи США (USP30-NF25), предъявляемыми к таблеткам с быстрым высвобождением действующего вещества. В каждую из шести трубок корзинки помещали по одной единице дозирования. Применялся прибор ED-21 от Electrolab (Мумбаи, Индия), в котором в качестве иммерсионной жидкости использовалась очищенная вода с температурой 37°C ± 2°C. Регистрировалось время распадаемости каждой таблетки, стандартного отклонения и относительного стандартного отклонения.

2.2.9 Исследование растворимости (in vitro)

Исследование in vitro ОДТ гидробромида декстрометорфана на высвобождение действующего вещества выполнялось в соответствии с требованиями испытания растворения фармакопеи США (USP30-NF25), предъявляемыми к лекарственным формам с быстрым высвобождением активного компонента. Было испытано минимум по 6 таблеток каждого вида продукции. Растворимость



Илл. 1: Блок-схема технологического процесса изготовления ОДТ гидробромида декстрометорфана методом прямого прессования (источник: все числовые показатели представлены авторами)

одисперсных таблеток контролировалась с помощью автоматического прибора для проведения тестов на растворимость фирмы LOGAN Instrument Corp. (Сомерсет, штат Нью-Джерси, США), работающего в паре с автоматическим устройством для отбора проб (перистальтический насос SP-100, Сомерсет, штат Нью-Джерси, США).

Для определения скорости высвобождения лекарственного препарата использовался метод фармакопеи США (USP30) с применением лопастной мешалки. Растворение выполнялось в 500 мл фосфатного буфера с pH 6,8 ± 0,05, имитирующего слюнную жидкость. Лопастная мешалка вращалась со скоростью 50 об/мин при температуре 37 ± 0,5°C. Затем образцы извлекались и автоматически анализировались на длине волны 278 нм через заданные временные интервалы (1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 15, 20, 25 и 30 мин).

2.2.10 Время смачивания и коэффициент смачивания

В чашку Петри диаметром 10 см, в которую были вложены круги папиросной бумаги диаметром 10 см, залили 10 мл очищенной воды с добавлением водорастворимого красителя эозина. Одна таблетка была аккуратно помещена точно в центр чашки Петри. Время, необходимое для того, чтобы вода достигла верхней поверхности этой таблетки, регистрировалось как время смачивания. Результат теста был представлен в виде среднего значения из трех определений такого времени ± стандартное отклонение. Затем

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Таблица 4

Результаты для отдельных планов полного факторного эксперимента 3^2 с ОДТ гидробромида декстрометорфана

Рецептура	Масса (мг)	Толщина (мм ± CO[1])	Истираемость (%)	Время смачивания (с ± CO[1])	Коэффициент смачивания (% ± CO[1])	Однородность содержания действующего вещества	
						%	OCO[2]
1	148,57 ± 1,14	3,34 ± 0,008	0,667	28,85 ± 2,58	25,0 ± 2,39	102,77	1,87
2	149,63 ± 1,09	3,23 ±0,010	0,431	10,86 ± 2,23	22,47 ± 1,63	99,50	1,91
3	150,79 ± 1,39	3,17 ± 0,010	0,407	11,16 ± 1,19	16,24 ± 2,22	100,20	3,58
4	150,35 ± 0,96	3,39 ± 0,008	0,448	10,73 ± 1,27	83,0 ± 4,27	103,20	2,31
5	150,46 ± 1,25	3,27 ± 0,009	0,575	20,20 ± 3,9	64,15 ± 9,47	99,70	2,38
6	151,16 ± 1,22	3,18 ± 0,010	0,464	21,43 ± 1,17	32,82 ± 13,1	99,12	2,94
7	151,80 ± 1,05	3,40 ± 0,008	0,522	16,74 ± 1,63	112,6 ± 10,45	102,60	2,55
8	148,03 ± 1,06	3,21 ± 0,014	0,434	17,38 ± 3,81	72,36 ± 5,25	99,77	2,54
9	153,92 ± 1,23	3,12 ± 0,007	0,386	15,71 ± 1,87	31,15 ± 7,45	99,50	2,37

[1] CO - стандартное отклонение
[2] OCO - относительное стандартное отклонение

полностью смоченные таблетки взвешивались. Коэффициент поглощения воды R рассчитывался по следующей формуле:

$$R = 100\ (W_a - W_b)/W_b, \qquad (2)$$

где W_a и W_b – масса таблетки до и после поглощения воды соответственно.

2.2.11 Сравнение оптимизированного состава ОДТ с другими рецептурами ОДТ, продукцией на рынке, и готовыми системами ОДТ Pharmburst™

Было проведено сравнение оптимизированного состава с иной оптимизированной рецептурой, приготовленной с помощью других наполнителей (МСС) [27]. Для каждой рецептуры контролировалось время распадаемости таблеток, твердость таблеток при раздавливании и параметр T_{50}.

Кроме того, было проведено сравнение представленной на рынке обычной таблетки (Tussilar®) с ородисперсной таблеткой, изготовленной по оптимизированной рецептуре. Препарат Tussilar® представляет собой покрытые пленкой таблетки с быстрым высвобождением действующего вещества, содержащие 15 мг гидробромида декстрометорфана.

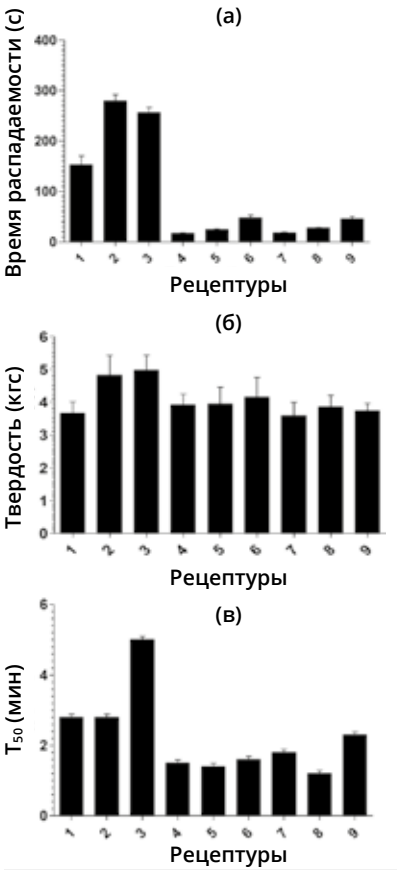
И наконец, оптимизированная рецептура ОДТ была сравнена с Pharmburst™ – готовой системой ОДТ Pharmburst™ представляет собой запатентованную фирмой SPI Pharma быстрорастворимую систему доставки ородисперсных таблеток.

Эта система отличается высокой степенью компактности, экономической эффективностью, обеспечивает высокое содержание действующего вещества, приятное ощущение в ротовой полости и быстрый распад таблеток.

3 Результаты

3.1 Данные, полученные экспериментально

В таблице 4 сведены данные о свойствах ОДТ гидробромида декстрометорфана (масса, толщина, время смачивания, коэффициент смачивания и содержание действующего вещества). Результаты измерения откликов представлены на илл. 2.



Илл. 2: Влияние декстратов и кроскармеллозы натрия на свойства ОДТ декстрометорфана

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

sartorius

I love

Мне очень нравится моя лабораторная система очистки воды, потому что благодаря ей у меня появилось больше времени на исследования.

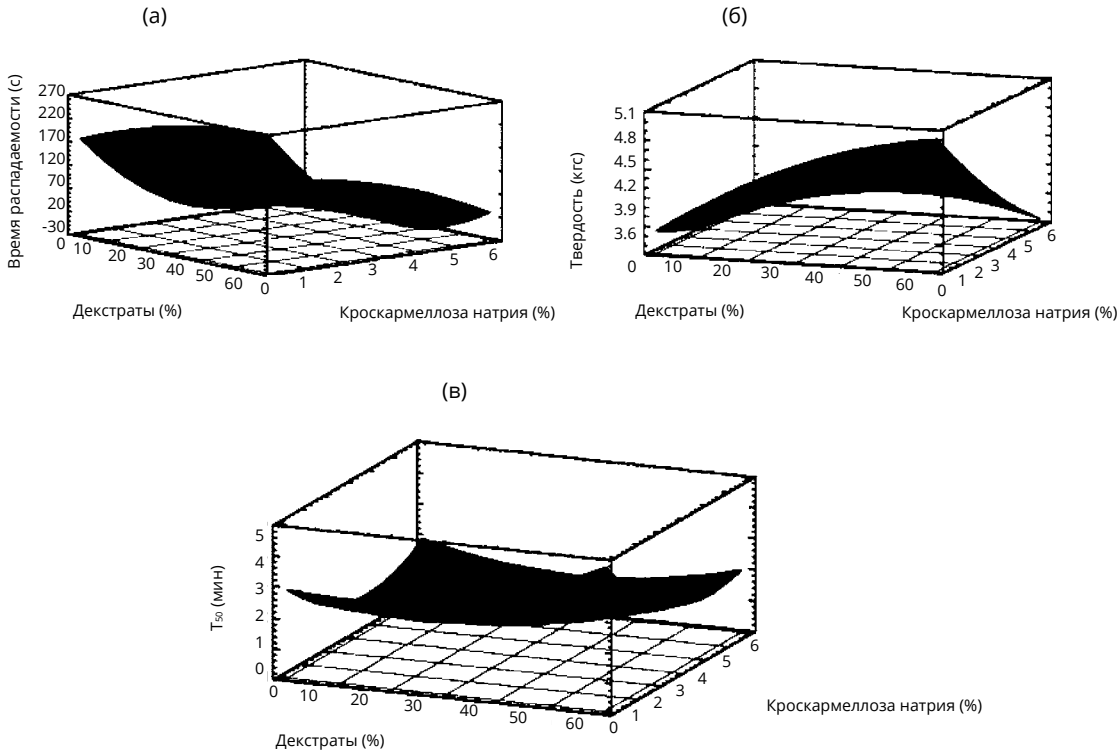
#passionforscience

arium® mini. Единственная система с уникальной технологией хранения воды.

Воспользуйтесь преимуществами самой современной системы хранения воды для суточного потребления до 10 литров. Экономьте время благодаря отсутствию стадии очистки с использованием опасных реагентов. Подавайте в систему очищенную воду или подключите ее к крану, чтобы получить воду 1 типа.

Поделитесь вашей #passionforscience на сайте www.passionforscience.com/ru

Взвешивание | Лабораторная вода | Центрифугирование | Дозирующее оборудование | Фильтрация | Микробиологический анализ | Сервис



Илл. 3: Графические изображения поверхностей отклика для определения влияние декстратов (X_1) и кроскармеллозы натрия (X_2) на свойства ОДТ гидробромида декстрометорфана

Были получены следующие результаты анализа для каждой переменной отклика:

$$Y_1 = 176{,}49 + 2{,}93\,X_1 - 93{,}52\,X_2 - 0{,}023\,X_{12} - 0{,}21\,X_1X_2 + 11{,}12\,X_{22} \quad (3)$$

$$Y_2 = 3{,}84 + 0{,}032\,X_1 - 0{,}098\,X_2 - 0{,}00022\,X_{12} - 0{,}0032\,X_1X_2 + 0{,}011\,X_{22} \quad (4)$$

$$Y_3 = 2{,}87 - 0{,}016\,X_1 - 0{,}91\,X_2 + 0{,}00077\,X_{12} - 0{,}0047\,X_1X_2 + 0{,}12\,X_{22} \quad (5)$$

Рецептуры всех таблеток соответствовали требованиям фармакопеи США (USP30-NF25) в отношении однородности дозирования. Показатели приемлемости для всех рецептур не превышали предел (AV < 15), установленный фармакопеей США (USP30-NF25), содержание действующего вещества варьировалось в пределах 99,12–103,2 % при относительном стандартном отклонении 1,87–3,58 %. Кроме того, все показатели истираемости таблеток были ниже 0,67 %, что также соответствует требованиям фармакопеи США.

Значения времени распадаемости, твердости и параметра T_{50} для всех девяти рецептур (илл. 2) варьировались в пределах 17,33–279,5 с, 3,58–4,97 кг и 1,2–5,0 мин соответственно. Такие результаты указывают на то, что выбранные переменные оказывают сильное влияние на измеренные отклики. Можно утверждать, что наиболее существенное влияние в уравнениях регрессии 3–5 имеет фактор X_2. Следовательно, концентрация КК натрия (X_2) (супердезинтегранта) была главным фактором, оказывающим существенный антагонистический эффект ($p < 0{,}05$) на все отклики (время распадаемости, твердость и параметр T_{50}) рецептур ОДТ. Та же переменная КК натрия (X_2) оказывает существенный ($p < 0{,}05$) квадратичный эффект (X22) на время распадаемости (Y_1), показывая отклонение отклика. В то же время фактор X_2 оказывает заметный, но не существенный ($p = 0{,}054$) квадратичный эффект (X_{22}) на параметр T_{50} (Y_3), а также очень небольшой квадратичный эффект на твердость (Y_2).

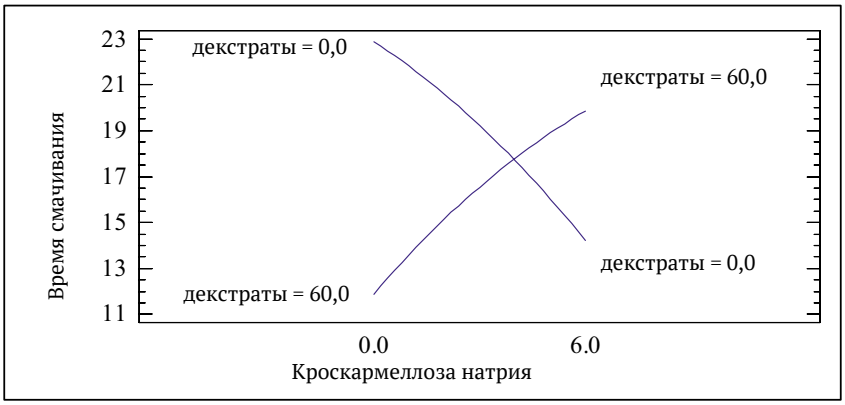
Результаты исследования также показали, что концентрация декстратов (X_1) оказывает заметный, но не существенный ($p = 0{,}07$) синергический эффект на твердость таблеток (Y_2). Кроме того, она имеет небольшой и незначительный синергический эффект на время распадаемости (Y_1) и на параметр T_{50} (Y_3).

Наблюдалось заметное, но не существенное влияние зависимости между X_1 и X_2 на твердость (Y_2) ОДТ. Выяснилось, что синергический эффект, оказываемый декстратами на твердость, уменьшается с увеличением концентрации КК натрия.

3.2 Анализ полученных данных

Графические изображения поверх-

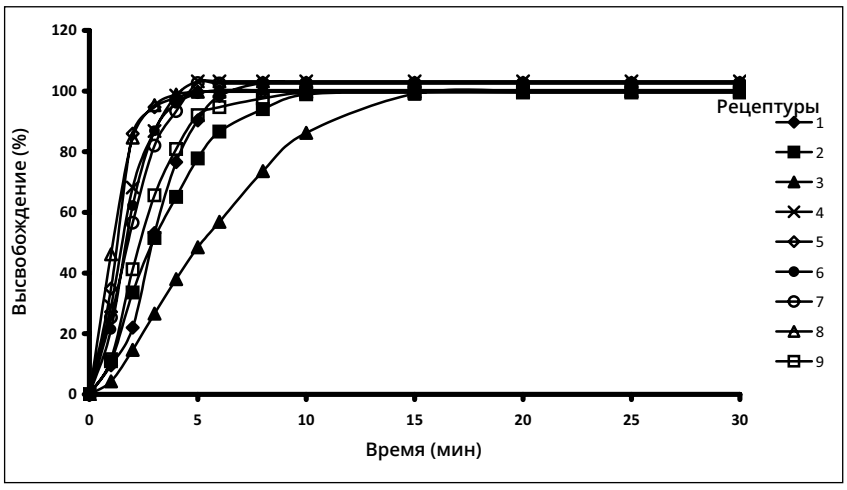
© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия



Илл. 4: Влияние эффекта взаимодействия между декстратами и кроскармеллозой натрия на время смачивания ОДТ декстрометорфана

ности отклика, представленные на илл. 3, показывают влияние независимых переменных X_1 и X_2 на отклики Y_1, Y_2 и Y_3. Как видно из графика, концентрация декстратов (X_1) не оказывает существенного влияния на время распадаемости ОДТ. Однако с увеличением концентрации супердезинтегранта (X_2) время распадаемости уменьшалось. Достигнув своего минимального значения при 4,2 % концентрации КК натрия, оно затем немного увеличилось за счет квадратичного эффекта (илл. 3а).

Такие результаты соответствуют сведениям, указанным у Чебли и Картилье [28]. Эти исследователи использовали различную концентрацию (2–20 %) КК натрия в сочетании с тремя различными наполнителями (Emcompress – кальция гидрофосфат дигидрат, лактоза зернистостью 100 меш и лактоза, полученная методом сушки распылением). Полученные результаты показали, что минимальное время распадаемости было достигнуто при концентрации 2–5, 2–5 и 5 % КК натрия с Emcompress, лактозой зернистостью 100 меш и лактозой, полученной методом сушки распылением соответственно. При более высокой концентрации КК натрия наблюдалось увеличение времени распадаемости как с Emcompress, так и с лактозой зернистостью 100 меш. С лактозой, полученной методом сушки распылением, существ[30] отмечено, что при применении КК натрия время распадаемости на начальном этапе невелико, но затем, при уровне концентрации этого компонента от 4 до 6 %, оно резко увеличивается. Авторы объяснили эти результаты тем, что дезинтеграционное действие КК натрия при его низких концентрациях в таблетке связано с его волокнистой природой, позволяющей воде впитываться в структуру таблеток за счет капиллярного эффекта. Набухание приводит к сглаживанию граней частиц, что в свою очередь приводит к уменьшению длины периметра на единицу поверхности. Таким образом, при более низкой концентрации КК натрия его волокнистая природа более выражена, но в процессе набухания влияние этой особенно- щественных изменений времени распадаемости при этом не зафиксировано. В работе Шанкаррао и др. [32] показано, что и при прочих рецептурах минимальное время распадаемости и максимальную скорость растворения дает концентрация КК натрия на уровне 5 %. Кроме того, Ферреро и др. [29], изучая воздействие концентрации КК натрия на распадаемость, отметили, что при высоких ее значениях (> 8 %) время распадаемости не только менее значительно сокращается, но может даже увеличиваться. Авторы объяснили это довольно крупнопористой структурой, отмечаемой при этих уровнях концентрации дезинтегранта. Вследствие быстрого проникания его в наиболее крупные капилляры изолируются другие зоны с более мелкопористой структурой. Воздух уже не может выходить из этих зон, потому они в дальнейшем не участвуют в общем поглощении жидкости. При концентрации КК натрия ниже 7,6 % преобладающим механизмом был процесс набухания. Распределение пор по размерам показало, что при этих уровнях процентного содержания дезинтегранта структура более мелкопористая. При таких условиях супердезинтегрант создает достаточное давление в порах таблетки для ее эффективного распада. Более того, в работе Джагдейла и др.



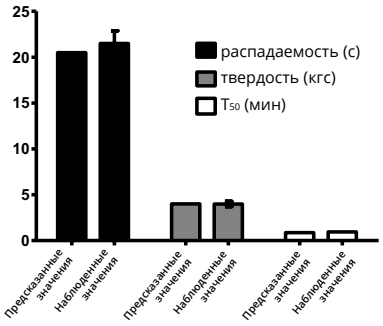
Илл. 5: Кривые зависимости растворимости различных рецептур ОДТ гидробромида декстрометорфана

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Таблица 5

Оптимизированные рецептуры ОДТ, приготовленные с применением декстратов, микрокристаллической целлюлозы (МКЦ) и Pharmburst

Компонент	Формула с декстратами	Формула с МКЦ	Формула Pharmburst
Декстрометорфан	10	10	10
Декстраты	30	0	0
Микро-кристаллическая целлюлоза (%)	0	30	0
Pharmburst (%)	0	0	89
Кроскармеллоза натрия %)	3	3	0
Стеарат магния (%)	1	1	1
Маннитол (%)	56	56	0
Масса таблетки: 150 мг			

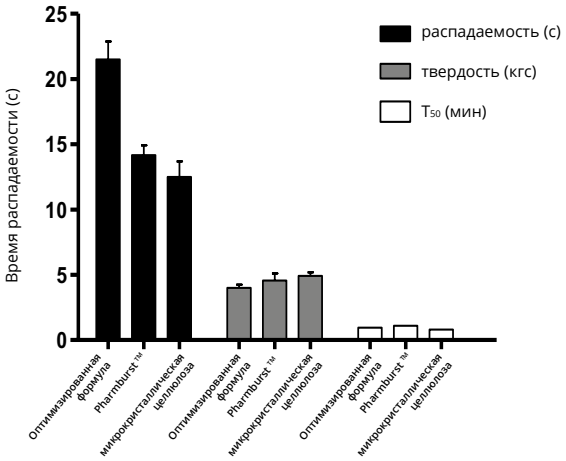


Илл. 6: Сравнение предсказанных и наблюденных значений времени распадаемости, твердости и времени T_{50} при контрольных значениях концентрации X_1 и X_2 в ОДТ гидробромида декстрометорфана

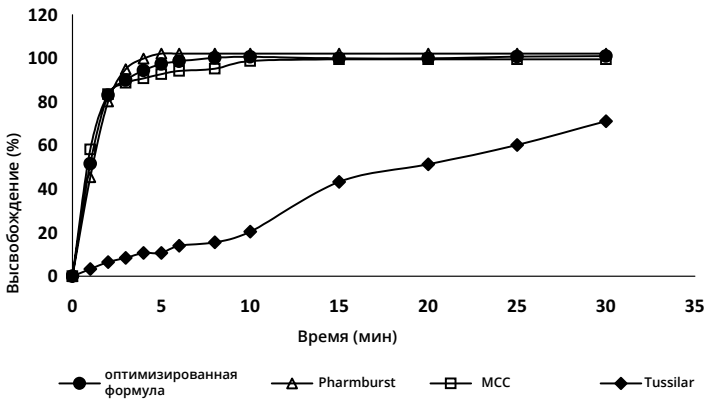
сти постепенно ослабляется. При высокой концентрации возникает вероятность одновременного осуществления капиллярного просачивания и набухания, благодаря чему грани частиц сглаживаются, а размер пор уменьшается.

Кроме того, наблюдалось влияние эффекта взаимодействия между декстратами и КК натрия на время смачивания (показано на илл. 4). В отсутствие декстратов КК натрия показал антагонистическое действие на время смачивания. Однако при 60 % содержании декстратов действие изменилось, вызвав синергический эффект в отношении времени распадаемости. Этим может объясняться более длительное время распадаемости в случае рецептур с высокой концентрацией КК натрия при 60 % содержании декстратов.

На илл. 5 показаны кривые растворимости рецептур ОДТ. Как видно, самую низкую скорость растворения показала рецептура 3, за которой следуют рецептуры 1 и 2 (без супердезинтегрантов). Другие рецептуры показали более высокие скорости растворения, дающие максимальное растворение действующего вещества через 4 мин. Рецептуры 4, 5, 6, 7 и 8 показали очень быстрые скорости растворения через 4 мин (98,5 %, 97,7 %, 95,9 %, 93,4 % и 98,8% соответственно). Быстрое растворение ОДТ, изготовленных по этим рецептурам, может быть обусловлено сочетанием действия быстрорастворимых в воде разбавителей (маннитола и декстратов) с капиллярным просачиванием, набуханием и быстрым



Илл. 7: Сравнение оптимизированной формулы с применением декстратов с формулой на основе Pharmburst™, а также оптимизированной формулой с микрокристаллической целлюлозой (МКЦ)



Илл. 8: Кривые растворимости препаратов оптимизированной формулы с декстратами, формулы с микрокристаллической целлюлозой (МКЦ), формулы на основе Pharmburst™, а также таблеток Tussilar®

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

поглощением воды супердезинтегрантом КК натрия [11,31].

По поверхности отклика, представленной на илл. 3c, видно, что значение параметра T_{50} с увеличением концентрации КК натрия (X_2) уменьшалось, достигло своего минимума при уровне этой концентрации в 4 %, а затем увеличилось из-за квадратичного эффекта. Минимальное значение T_{50} было получено при той же концентрации КК натрия, которая дала минимальное значение времени распадаемости. Этим может объясняться влияние КК натрия на высвобождение из ОДТ декстрометорфана. У Прия и др. [31] было отмечено, что среди 4-х значений концентраций (2, 3, 4 и 5 %) кроскармеллозы натрия, самую высокую скорость высвобождения дает концентрация 3 %. Кроме того, Шанкаррао и др. [32], исследуя различные дезинтегранты, используемые в разной концентрации, пришли к выводу, что наименьшее время распадаемости, а также самую высокую скорость растворения дает 5 % концентрация КК натрия. Лопез-Солис и Вильяфуэрте-Роблес [33] показали,, что концентрация КК натрия более 2,5 % уменьшает скорость растворения таблеток норфлоксацина. Такое явление объяснялось проявлением связывающих свойств КК натрия при его высоких концентрациях.

По поверхности отклика, представленной на илл. 3b, видно, что концентрация КК натрия оказывала существенное ($p < 0,05$) антагонистическое воздействие на твердость ОДТ. Хан и Роудс [34] отметили, что в случае рецептур, содержащих две нерастворимые системы (изготовленные методом прямого прессования), при увеличении концентрации супердезинтегранта прочность таблетки на разрыв уменьшалась. На илл. 3b видно, что декстраты оказывали синергический эффект на твердость ОДТ. Это может быть объяснено хорошими связующими свойствами декстратов, а также их способностью подвергаться прямому прессованию [35], что в свою очередь объясняет рост параметра T_{50} при концентрации декстратов свыше 23 %.

3.3 Проверка корректности модели и оптимизация параметров рецептуры

Для проверки уравнений регрессии или модели были выбраны контрольные значения концентрации X_1 = 30,6 % и X_2 = 4,2 %. Предсказанные и наблюденные значения времени распадаемости, твердости, а также времени высвобождения из таблеток 50 % действующего вещества (T_{50}) при контрольных значениях концентрации хорошо согласовывались со значениями, предсказанными моделью. В качестве оптимальных были выбраны уровни концентрации декстратов и CSS, дававшие наименьшее время распадаемости, небольшое время T_{50} и высокую твердость (рассматривались рецептуры, содержащие декстраты). Применялся метод оптимизации множественных откликов. Оптимальные значения концентрации были подтверждены контурными диаграммами для всех откликов. При этих оптимальных значениях концентрации ородисперсные таблетки имели следующие характеристики: время распадаемости – 20,49 с (предсказанное значение) и 21,5 ± 1,37 с (наблюденное), время T_{50} – 0,87 мин (предсказанное) и 0,95 мин (наблюденное), твердость – 4,01 кгс (предсказанное) и 3,99 ± 0,29 кгс (наблюденное) – см. илл. 6.

3.4 Сравнение оптимизированной формулы ОДТ с другими оптимизированными рецептурами ОДТ, продукцией, представленной на рынке и готовыми системами ОДТ на основе формулы Pharmburst™

В таблице 5 представлены рецептуры ОДТ, приготовленные с применением декстратов, микрокристаллической целлюлозы (МСС), а также на основе формулы Pharmburst™.

Из илл. 7 видно, что время распадаемости ОДТ формулы Pharmaburst™ было существенно меньше, чем у ОДТ оптимизированной формулы. В то же время твердость ОДТ формулы Pharmburst™ была значительно выше, чем у ОДТ оптимизированной формулы. Для времени T50 были зафиксированы значения 0,95 мин и 1,1 мин для ОДТ оптимизированной формулы и формулы Pharmburst™ соответственно. В случае обеих рецептур, как показано на илл. 8, более 80 % содержащегося действующего вещества высвобождалось в течение 2 минут, а максимальное высвобождение было достигнуто после 4-й и 6-й минуты для формулы Pharmburst™ и оптимизированной формулы соответственно.

Кроме того, было проведено сравнение обычной таблетки декстрометорфана, представленной на рынке (Tussilar®), с ОДТ оптимизированной формулы. Результаты этого сравнения показали, что время распадаемости и время T_{50} у ОДТ оптимизированной формулы были существенно меньше, чем у таблеток Tussilar®. Твердость таблеток Tussilar® тоже была значительно выше, чем у таблеток, изготовленных по оптимизированной формуле.

На илл. 8 видно, что оптимизированная рецептура ОДТ дала значительно более высокие скорости растворения, чем у обычных таблеток, представленных на рынке.

Оптимизированная формула с применением микрокристаллической целлюлозы уже была оптимизирована прежде, о чем сообщалось в [27]. Выяснилось, что время распадаемости и время T_{50} у ОДТ оптимизированной формулы с микрокристаллической целлюлозой были значительно ниже, чем аналогичные характеристики ОДТ формулы на основе декстратов. В то же время твердость таблеток, изготовленных по оптимизиро-

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

ванной формуле с применением микрокристаллической целлюлозы, была значительно выше, чем у таблеток оптимизированной формулы на основе декстратов.

4 Заключение

На основании приведенных выше данных был сделан вывод о том, что план полного факторного эксперимента 3^2 для оптимизации ОДТ декстрометорфана оказался успешным. На свойства ОДТ большое влияние имели и концентрация разбавителя, и концентрация супердезинтегранта.

Оптимизированные ОДТ декстрометорфана показали низкие значения времени распадаемости, времени T50 и твердости. Такие характеристики могут улучшить всасываемость и биодоступность препарата, обеспечивающего быстрое купирование кашля. Это повысит эффективность лекарства и будет способствовать соблюдению пациентом предписаний по его приему.

Благодарность

Авторы выражают особую благодарность профессору, д-ру Фарсу Аль-Анази, заведующему кафедрой фармацевтической промышленности д-ра Валида Кайали, за любезное предоставление свободного доступа ко всему оборудованию лаборатории, а также за финансирование данной работы. Авторы также выражают признательность Центру науки и технологий им. короля Абдель Азиза (KACST) за финансовую поддержку проекта номер P-S-10-0041 в рамках программы грантов KACST на научно-исследовательские работы. Кроме того, выражаем благодарность г-ну Дели Тюнсеру (фирма JRS Pharma, Германия) и д-ру Джону Тиллотсону (фирма SPI Pharma, США, за их щедрую помощь в предоставлении необходимых химических веществ.

Литература

[1] Seager H. Drug-delivery products and the zydis fast-dissolving dosage form. J Pharm Pharmacol. 1998; 50(4):375-82.

[2] Chang K, Guo X, Burnside A, Couch A. Fast dissolving tablets. Pharm Tech. 2000; 24:52-8.

[3] Dobetti L. Fast melting tablets: Developments and technologies. Pharm Tech. 2001; (Suppl): 44-50.

[4] Kuchekar S, Arumugam V. Fast dissolving tablets. Indian J Pharm Edu. 2001: 35:150-2.

[5] Bi Y, Sunada H, Yonezawa Y, Danjyo K, Otsuka A, Iida K. Preparation and Evaluation of a Compressed Tablet Rapidly Disintegrating in the Oral Cavity. Chem Pharm Bull. 1996; 44:2121-7.

[6] Sastry V, Nyshadham, R. & Fix, A. Recent technological advances in oral drug delivery - a review. Pharm Sci Technol Today. 2000; 3 (4): 138-45.

[7] Suresh B, Kumar M, Ramesh G, Madhusudan R. Orodispersible tablets: An overview. Asian J Pharm. 2008; 2:2-11.

[8] Wagh M, Dilip K, Salunkhe K, Chavan N, Daga V. Techniques used in orally disintegrating drug delivery system. Int J Drug Del. 2010; 2 (2): 98-107.

[9] Ciper M, Bodmeier R. Preparation and characterization of novel fast disintegrating capsules (fastcaps) for administration in the oral cavity. Int J Pharm. 2005; 303(1-2): 62-71.

[10] Pfister W, Ghosh T. Orally disintegrating tablets: Product, tech¬nologies, and development Pharm. Technol. 2005; oct: 136-50.

[11] Abdelbary A, Elshafeey H, Zidan G. Comparative effects of different cellulosic-based directly compressed orodispersable tablets on oral bioavailability of famotidine. Carbohydrate Polymers. 2009; 77 (4): 799-806.

[12] Gafitanu E, Dumistracel I, Antochi S. formulations and bioavail¬ability of propyphenazone in lyophilized tablets. Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi. 1991; 95:127-8.

[13] Samprasit W, Opanasopit P, Akkaramongkolporn P, Ngawhirunpat T, Wongsermsin K, Panomsuk S. Preparation and evaluation of taste-masked dextromethorphan oral disintegrating tablet. Pharm Dev Technol. 2010; 17(3): 315-20.

[14] Habib W, Khankari R. Hontz J. Preparation and evaluation of taste- masked dextromethorphan oral disintegrating tablet. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst. 2000; 17(1): 61-72.

[15] Van Arnum P. Advancing ODT technology. Pharma Technol. 2007; 31 (10): 66-76.

[16] Abdelbary G, Prinderre P, Eouani C, Joachim J, Reynier P, Piccerelle P. The preparation of orally disintegrating tablets using a hydro¬philic waxy binder. Int J Pharm. 2004; 278(2): 423-33.

[17] FukamiJ, Yonemochi E, Yoshihashi Y, Terada K. Evaluation of rapidly disintegrating tablets containing glycine and carboxy- methylcellulose. Int J Pharm. 2006; 310(1-2): 101-9.

[18] Sunada H, Bi Y. Preparation, evaluation and optimization of rapidly disintegrating tablets. Powder Technol. 2002; 122(2-3): 188-98.

[19] Eoga B, Valia H. Method for making fast-melt tablets. United States, Warner Lambert Company (Morris Plains, NJ). 1999. U.S. patent 5,939,091.

[20] Gonnissen Y, Remon P, Vervaet C. Effect of maltodextrin and su¬perdisintegrant in directly compressible powder mixtures prepared via co-spray drying. Eur J Pharm Biopharm. 2008; 68(2): 277-82.

[21] Koizumi I, Watanabe Y, Morita K, Utoguchi N, Matsumoto M. New method of preparing high-porosity rapidly saliva soluble com¬pressed tablets using mannitol with camphor, a subliming material. Int J Pharm. 1997; 152(1): 127-31.

[22] Yamamoto Y, Fujii M, Watanabe I, Tsukamoto M, Shibata Y, Kondoh M, Watanabe Y. Effect of powder characteristics on oral tablet disintegration. Int J Pharm. 2009; 365(1-2): 116-20.

[23] De La Luz Reus Medina M, Kumar V. Evaluation of cellulose ii powders as a potential multifunctional excipient in tablet formu¬lations. Int J Pharm. 2006; 322(1-2): 31-5.

[24] Shangraw F. Compressed tablets by direct compression, in: Lieberman H A, Lachman L & Schwartz JB. (Eds) Pharmaceutical dosage forms: Tablets, (vol. 1) (New York Marcel Dekker, INC.). 1989: 195-246.

[25] Fu Y, Yang S, Jeong S, Kimura S, Park K. Orally fast disintegrating tablets: Developments, technologies, taste-masking and clinical studies. Crit Rev Ther Drug Carrier syst. 2004; 21: 433-76.

[26] Shukla D, Chakraborty S, Singh S, Mishra B. Mouth dissolving tablets i: An overview of formulation technology. Sci. Pharm. 2009; 76: 309-26.

[27] Mostafa H, Ibrahim M, Sakr A. Development and optimization of dextromethorphan hydrobromide oral disintegrating tablets: effect of formulation and process variables. Pharm Dev Tech. 2013; 18 (2): 454-63.

[28] Chebli C, Cartilier L. Cross-linked cellulose as a tablet excipient: A binding/disintegrating agent. Int J Pharm. 1998; 171(1): 101-10.

[29] Ferrero C, Munoz N, Velasco V, Munoz-Ruiz A, Jimenez-Castellanos R. Disintegrating efficiency of croscarmellose sodium in a direct compression formulation. Int J Pharm. 1997; 147(1): 11-21.

[30] Jagdale SC, Fernandes NC, Kushekar BS, Shah TP, Chabukswar AR. Selection of superdisintegrant for famotidine rapidly disintegrating tablets. J Chem. Pharm. Res. 2010; 2(2): 65-72.

[31] Priya V, Rao S, Reddy S, Reddy P. The effect of different superdisintegrants and their concentration on the dissolution of topiramate immediate release tablets. Int J Pharm Sci Nano. 2009; 2(2): 531-6.

[32] Shankarrao K, Mahadeo G, Balavantrao K. Formulation and in-vitro evaluation of orally disintegrating tablets of olanzapine-2-hydroxypropyl-[3-cyclodextrin inclusion complex. Iran J Pharm Res. 2010; 9(4): 335-47.

[33] Lopez-Solis J, Villafuerte-Robles L. Effect of disintegrants with different hygroscopicity on dissolution of norfloxacin/pharmatose del 11 tablets. Int J Pharm. 2001; 216(1-2): 127-135.

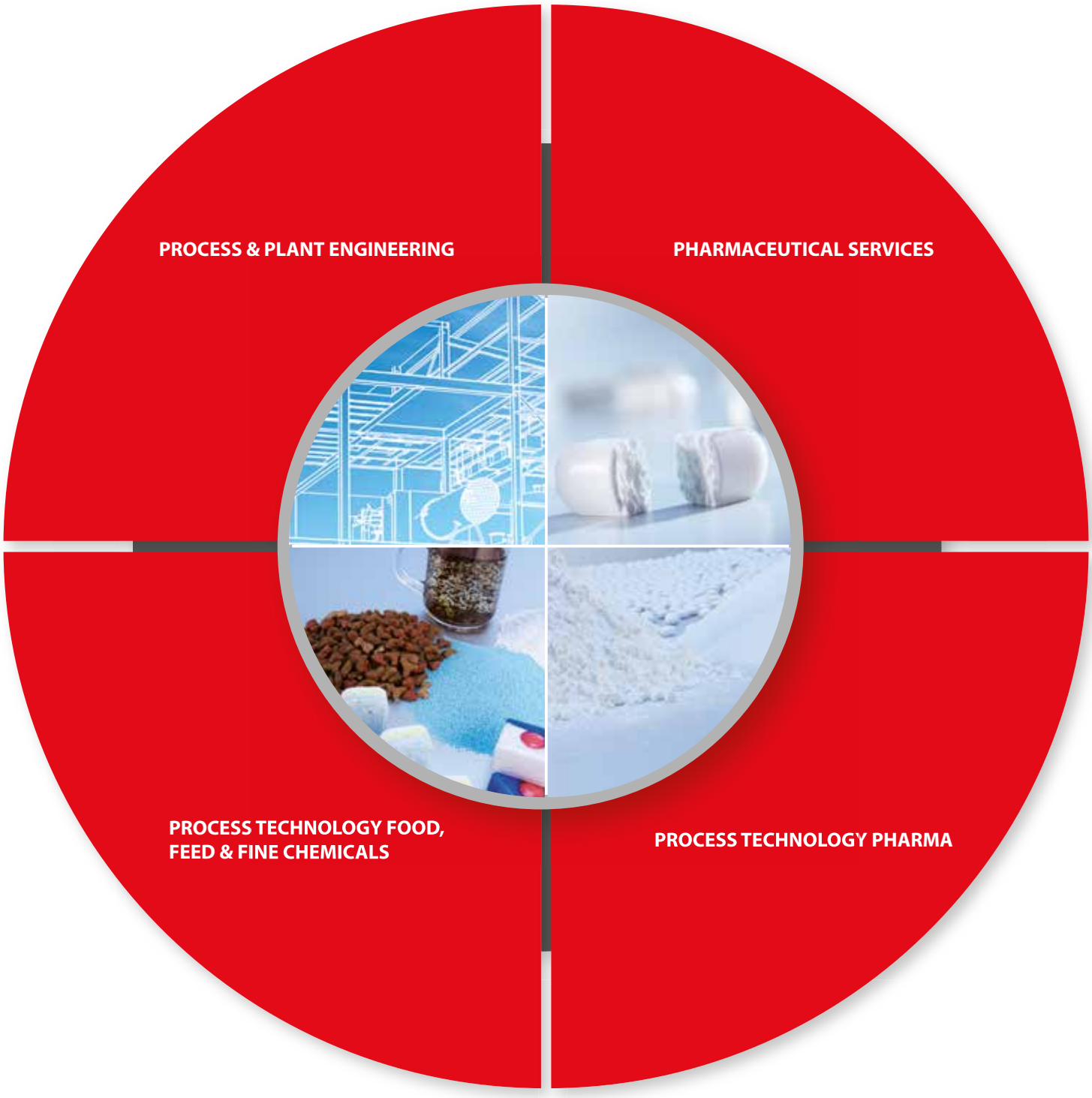
[34] Khan A, Rhodes T. Effect of disintegrant concentration on disintegration and compression characteristics of two insoluble direct compression systems. Can. J. Pharm. Sci. 1973; 8: 77-80.

[35] Bohuis K, Chowhan T. Materials for direct compaction, in: A. Goran & C. Nystrom (Eds) Pharmaceutical powder compaction technology (vol. 71) (New York. Marcel Dekker, Inc), 1996: 419-500.

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

www.glatt.com

Четырехкратная компетенция и единое решение.



Сверхчистая вода как компонент мультипараметрических методов измерений в исследованиях биологически активных веществ

Свен П. Вихерт • Институт экспериментальной медицины Общества Макса Планка, Гёттинген / Германия, в настоящее время работает в Systasy Bioscience GmbH, Мюнхен / Германия
Эльмар Хербиг • Sartorius Lab Instruments GmbH & co. KG, Гёттинген / Германия
Михаэль К. Вер • Институт экспериментальной медицины Общества Макса Планка, Гёттинген / Германия, в настоящее время работает в Systasy Bioscience GmbH, Мюнхен / Германия

Почтовый адрес: Michael C. Wehr, Systasy Bioscience GmbH, Adams-Lehmann-Str. 56, 80797 München / Germany;
e-mail: wehr@systasy.de

Аннотация

Сверхчистая вода используется в биотехнологии для решения таких задач молекулярной и клеточной биологии, как, например, постановка полимеразной цепной реакции (ПЦР). Кроме того, сверхчистая вода применяется в качестве компонента мультипараметрических цитологических анализов. Эти анализы, которые называются EXTassays и используются в исследованиях биологически активных веществ, основываются на генетических сенсорах, отбираемых молекулярными репортерами со штрихкодом и позволяющих выполнять всеобъемлющий анализ внутриклеточных сигналов. Эти специфические анализы комбинируются с технологией высокопроизводительного секвенирования *«Секвенирование нового поколения» (СНП)*, благодаря чему в процессе одного измерения можно получить обширные наборы данных. В ходе одного эксперимента был исследован дифференциальный ответный сигнал, вызванный специфическим стимулом *(доменом, подобным эпидермальному фактору роста)*, по отношению к стимулу широкого действия (форбол-12-миристат-13-ацетат (ФМА) и сыворотка). Клетки, стимулированные доменом, подобным эпидермальному фактору роста, проявили так называемую *реакцию генов раннего реагирования*, в то время как ФМА и сыворотка повысили активность сигнальных путей для иммунного ответа. Добавление препарата Лапатиниб привело к полному подавлению сигналов, подаваемых доменом, подобным эпидермальному фактору роста, в то время как ответы, индуцированные ФМА / сывороткой, были заторможены лишь частично. Сверхчистая вода была с успехом использована в многочисленных высокочувствительных экспериментах, например, при амплификации генов-репортеров со штрихкодом посредством ПЦР и СНП. Благодаря этому она может без проблем использоваться в молекулярно-биологических работах, требующих высокого качества воды.

1 Введение

В биомедицинских фундаментальных исследованиях биологически активных веществ, в том числе важных с точки зрения фармацевтики, все чаще эксперименты на клетках комбинируют с мультипараметрическими методами измерений для того, чтобы получить возможность еще глубже изучить чрезвычайно сложные процессы протекания заболеваний и воздействия веществ. Эти методы включают в себя методы молекулярной и клеточной биологии, которым в качестве основы требуется опять-таки сверхчистая вода, как, например, при полимеразной цепной реакции или культивировании клеток.

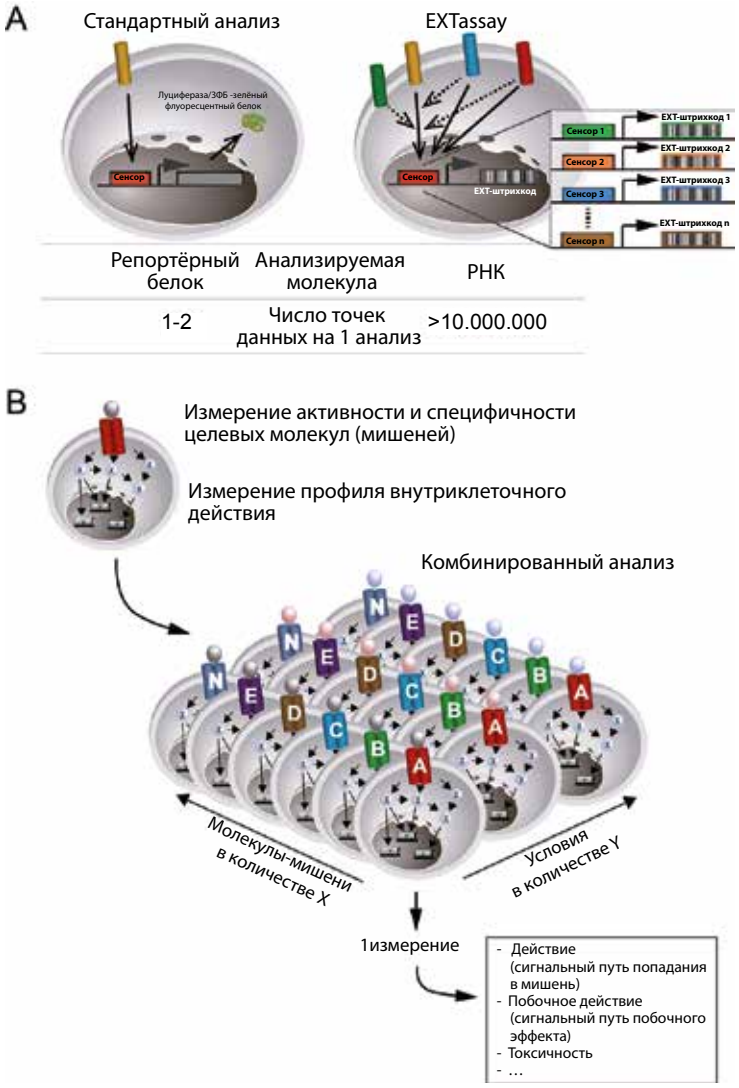
При исследованиях на клетках определяют внутриклеточные процессы до или после добавления вещества, при этом устанавливают главным образом относительные изменения определенных классов молекул (в т. ч. информационной РНК (иРНК), микроРНК, протеинов). Непосредственный анализ действия и функции молекул, важных с биологической точки зрения, например у веществ с химико-медицинским механизмом действия и антител, на предмет определенных внутриклеточных процессов может быть проведен только при очень высоких материальных затратах и чрезвычайно высокой чистоте используемых растворов (в т. ч. воды). Поэтому мультипараметрические методы измерений все больше выступают на передний план.

Немецкое производство лекарств / DPI 2016, №1, 14-21
© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Описание метода измерения

Эти мультипараметрические методы измерений позволяют выполнять одновременный анализ реакции большого количества внутриклеточных целевых молекул (так называемых молекул-мишеней) на введение биологически активных веществ и благодаря этому составить профиль их действия на клеточном уровне. Такие всеобъемлющие и трудоемкие анализы необходимы, в частности, для того, чтобы подтвердить желаемое медицинское действие и определить нежелательные побочные эффекты. Они имеют значение также и для освоения новых областей применения уже разрешенных медикаментов. Кроме того, получение в результате мультипараметрического метода измерений большого количества данных сочетается с огромными преимуществами в отношении затрат, которые могут быть реализованы на практике, например, с помощью технологии EXTassay [1].

Эта технология основывается на молекулярных репортерах со штрихкодом и позволяет применить принципиально новые и проводимые в высокой степени параллельно измерения (EXT означает *Expressed Sequence Tag* = *маркер экспрессируемой последовательности*; EXT – это короткие синтетические молекулы РНК со специфически кодированной последовательностью длиной 49 пар нуклеотидов). Так, эта технология позволяет получить несколько миллионов точек данных за одно измерение, поскольку отдельные внутриклеточные события, связанные с молекулярными штрихкодами, могут быть проанализированы с помощью секвенирования [1] (илл. 1 A). Классический анализ по репортеру позволяет измерять только одну или две точки данных за один сеанс, в связи с чем для получения многих точек данных используют автоматику. В противоположность этому специфическая система анализа основана на репортерных молекулах, так называемых EXT-репортерах или EXT-штрихкодах, несущих в себе адреса молекул и тем самым позволяющих сделать заключение о месте и времени их экспрессии. С помощью этих штрихкодов можно одновременно идентифицировать и функционально отобразить многие различные внутриклеточные процессы, напр. активирование рецепторов и другие следующие за этим клеточные сигналы (илл. 1 B).



Илл. 1: A) Специфические анализы позволяют одновременно исследовать различные виды деятельности клеток в процессе одного измерения. В отличие от классических анализов с использованием генов-репортеров в результате специфических анализов получают более 10 миллионов точек данных за один эксперимент. B) Анализы отображают специфичность и профиль воздействия веществ на клетки. Профили действия различных молекул-мишеней в количестве X в ходе одного измерения одновременно регистрируются при различных условиях в количестве Y (источник: все иллюстрации предоставлены авторами, если не указано иное)

При таком мультипараметрическом анализе в качестве системы отбора для функционального и количественного анализа различных внутриклеточных процессов используется технология высокопроизводительного секве-

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

нирования (СНП). Первоначально технология СНП применялась для секвенирования геномов [2].

Бурное развитие этой технологии привело к тому, что ее стали применять и в целях медицины, в частности для терапевтической диагностики и идентификации рисков генетических заболеваний. Далее представлены возможности применения сверхчистой воды на различных стадиях этого многоуровневого метода.

2 Материал и методы

Применение сверхчистой воды для мультипараметрического метода измерений

В различных процедурах одного эксперимента со специфическими репортерами сверхчистая вода играет решающую роль: так, например, стерилизованную в автоклаве сверхчистую воду использовали для увлажнения термостата для клеточных культур, чтобы обеспечить стерильное инкубирование клеток без микроорганизмов и спор. Для определения молекулярно-биологических параметров (например, концентрации ДНК и РНК) также использовалась сверхчистая вода.

Помимо этого, сверхчистая вода использовалась при подготовке проб к СНП, т. е. при очистке EXT-репортеров с помощью комплекта для изоляции РНК, при записи к ДНК, а также при дальнейших шагах ПЦР, необходимых для амплификации репортерного материала для высокопроизводительного секвенирования. Сверхчистая вода использовалась также в заключительных процедурах СНП, проводимых с помощью устройства *Ion Torrent Personal Genome Machine®* (секвенатор PGM™) фирмы Life Technologies (см. ниже).

Илл. 2: Современная система приготовления сверхчистой воды arium®pro VF (источник: Sartorius Lab Instruments)

Сверхчистая вода, подготовленная для соответствующих процедур метода с помощью системы arium® pro VF (илл. 2), была приготовлена способом, описанным в работе Нитцки и Хербига [3].

Клеточная культура

Культивирование клеток линии PC12-tet-OFF (PC12-OFF) (фирма Clontech) происходило в среде DMEM (концентрация глюкозы 1 г/л, фирма Lonza) на пластинах, покрытых поли-L-лизином, в увлажненном сверхчистой водой воздушном инкубаторе при 37 °C и 5 % CO_2. В среду были добавлены 10 % фетальной бычьей сыворотки (ФБС), 5 % лошадиной сыворотки (ЛС), 1 % пенициллин-стрептомицина и 1 % глютамакса (фирма Invitrogen).

Трансфекция анализируемых репортерных векторов

Суспензия клеток линии PC12-OFF была трансфицирована репортерными векторами. Для этого клетки были трипсинизированы, гранулированы и ресуспендированы в среде DMEM (с добавлением лишь 1 % ФБС) плотностью 10^6 клеток на 1 мл. Каждый из комплексов «ДНК-липофектамин» из 1 мкг ДНК и 4 мкл липофектамина 2000 (фирма Invitrogen) добавляли в 100 мкл среды OptiPEM на 1,5 x 10^6 клеток. Спустя 20 минут инкубирования при комнатной температуре смесь соединяли с клеточной суспензией и инкубировали при 37 °C в течение 4 часов. Для удаления трансфекционных реактивов клетки один раз промыли средой DMEM (1 % ФБС). Перед анализом клетки культивировали при идентичных условиях. Для анализа использовали 5 нг на 1 плазмиду ДНК и 1 EXT-репортерную конструкцию. Для каждого цис-регуляторного элемента было клонировано 3-5 репортерных конструкций с различными EXT.

Подготовка проб к секвенированию Экстракция РНК

РНК была подготовлена с помощью набора RNeasy фирмы Qiagen, включая расщепление ДНКазой-1 в колонке согласно протоколу производителя. После очистки РНК пробы были преципитированы половиной объема 7,5 моля ацетата аммония (растворенного в сверхчистой воде) и 3 объемами 100-процентного этанола. Для синтеза кДНК использовали 1 мкг экстрагированной РНК, обратной транскриптазы Superscript III Reverse Transcriptase (компания Invitrogen) и 120 пмолей случайных праймеров в нанометровом диапазоне. Чистоту РНК и возможные загрязнения ДНК проверяли средствами, не содержащими обратной транскриптазы (-RT).

Ампфликация продуктов EXT-кДНК с помощью декодирующей ПЦР

Декодирующие ПЦР проводились с помощью полимеразы HotStarTag Plus, dNTP (оба препарата фирмы Qiagen) и сверхчистой воды в течение 30 циклов (цикл: 30 с при 95 °C, 30 с при 59 °C, 30 с при 72 °C, илл. 3). Исходным материалом служила обратно транскрибированная кДНК. При негативном контроле (последней сборки) кДНК не использовалась.

Кодирующие ПЦР также проводились с помощью полимеразы HotStarTag Plus и с использованием сверхчистой воды, но в течение только 10 циклов (цикл: 30 с при 95 °C, 20 с при 58 °C, 20 с при 72 °C, илл. 3). В качестве исходного материала брали по 1 мкл раз-

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Совместный вклад в развитие безопасной медицины

Локализация производства высококачественной фармацевтической упаковки позволяет нам поддерживать высокие стандарты качества партнеров и, как следствие, обеспечивать безопасность клиентов.
Каким будет ваш следующий шаг?

SCHOTT
glass made of ideas

SCHOTT AG, Pharmaceutical Systems,
www.schott.com/pharmaceutical_systems

бавленной в соотношении 1:10 пробы декодирующей ПЦР, при негативном контроле исходный материал не использовали. Все продукты ПЦР были визуализированы и проверены с помощью агарозного геля.

Полупроводниковое секвенирование

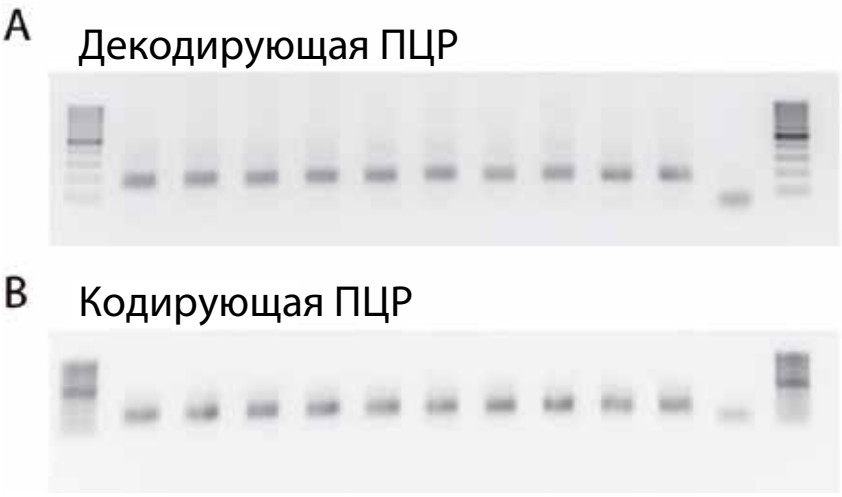
Секвенирование репортерных молекул EXT проводили по технологии СНП с применением секвенатора (илл. 4). Эта технология секвенирования основывается на последовательной детекции протонов, высвободившихся в процессе полимеризации ДНК. Когда к комплементарной ДНК цепи присоединяется одно из оснований (аденин, гуанин, цитозин или тимин) высвобождается протон, который детектируется ионными датчиками [4].

Анализ результатов секвенирования

Для анализа данных секвенирования использовали отдельные инструменты на базе операционной системы UNIX из пакета FastX-Toolkit [5] (программа-конвертор FASTQ-to-FASTA и разделитель штрихкода FASTX). Присутствие и идентичность каждого маркера EXT определяли посредством комплекса программ BLAST [6] на базе созданной самостоятельно библиотеки эталонов EXT, а идентификацию и количественную оценку EXT с дифференциальной экспрессией выполняли с помощью R-скриптов [7].

3 Результаты

Мультипараметрическая аналитическая платформа использовалась в сочетании с технологией СНП с применением сверхчистой воды для того, чтобы выполнить измерение множества последующих реакций, которые проявляются под воздействием a) специфического стимула, b) стимула широкого действия либо c) после



Илл. 3: Контроль качества процедур ПЦР, амплифицирующих EXT. Агарозный гель для декодирующей ПЦР (A) и кодирующей ПЦР (B). В каждом случае последняя сборка указывает на негативный контроль со сверхчистой водой; в каждом примере видны праймер-димеры

добавления специфического ингибитора. В этом случае клетки PC12 были трансфицированы 33 различными EXT-репортерами, которые в совокупности могут отобразить активность одиннадцати различных сигнальных путей. Для введения специфического стимула (a) был трансфицирован рецептор эпидермального фактора роста ERBB4. Рецептор ERBB4 играет роль в различных биологических процессах, в т. ч. в развитии сердца и функциональной дифференциации нейронов, а также в возникновении рака и таких психических заболеваний, как шизофрения [8, 9]. Рецептор ERBB4 был активирован лигандом «нейрегулин-1» или его биологически активной и растворимой частью – доменом, подобным эпидермальному фактору роста (EGFld). Эту активацию удалось отобразить с помощью мультипараметрического анализа [1, 10]. Активность рецептора ERBB, вызванная доменом EGFld, была специфическим образом блокирована ингибитором киназы ERBB, т. е. препаратом «Лапатиниб» (c), который используется также для лечения рака. В качестве стимула широкого действия (b) избрали комбинацию из форбол-12-ми-

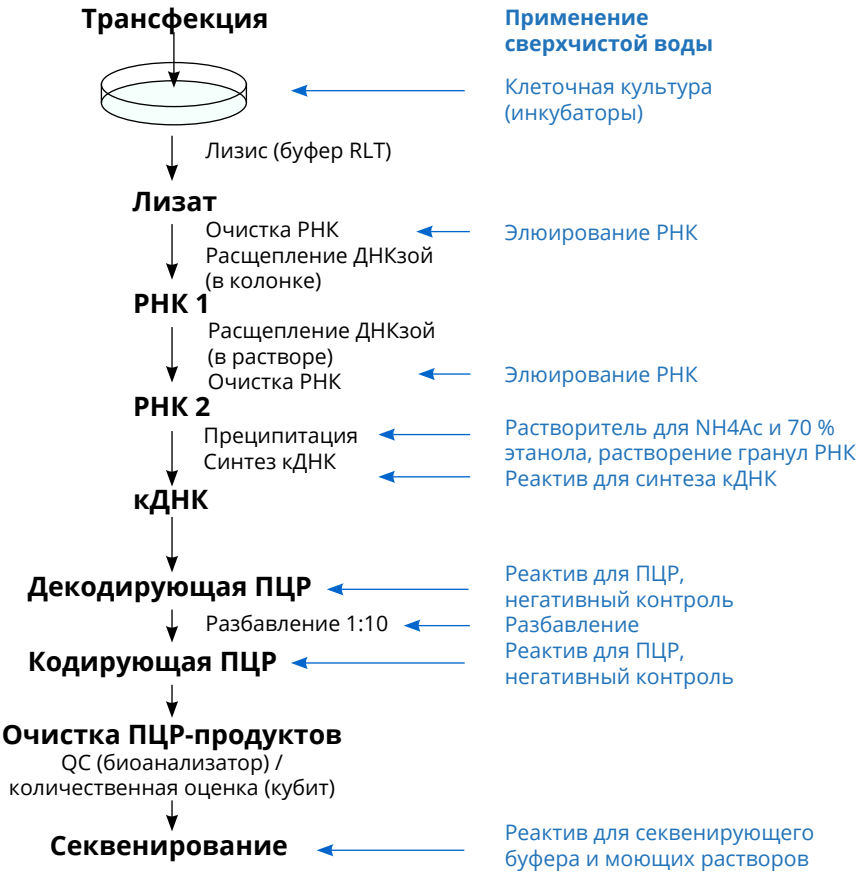
Илл. 4: Ion Torrent Personal Genome Machine® – секвенатор PGM™ (источник: лаборатория фирмы Sustasy Bioscience GmbH, Мюнхен)

ристат-13-ацетата (ФМА) и сывороточной стимуляции.

Сверхчистая вода как компонент системы подготовки проб к секвенированию

Сверхчистая вода с успехом использовалась в ходе нескольких процедур пробоподготовки (илл. 5). Она нашла применение, в частности, в молекулярно-биологических работах, например, для ПЦР при подготовке проб (декодирующие и кодирующие ПЦР, илл. 3), а также для секвенирования, выполняемого в секвенаторе PGM™ (илл. 6). При этом, согласно руководству по эксплуатации секвенатора, для секвенирования требовалась вода высокого качества с удельным сопротивлением 18 МОм х см (см. руководство по эксплуатации секвенатора Ion

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия



Илл. 5: Процесс работы по подготовке проб к секвенированию; Использование сверхчистой воды в отдельных процедурах

Torrent [11]). При отсутствии такого качества воды надежность секвенирования не гарантируется.

Сверхчистая вода, успешно использованная для экспериментов, не имела детектируемого количества РНКазы и ДНКазы (концентрация РНКазы и ДНКазы была ниже предела обнаружения, равного 20 нг/мл и, соответственно, 80 нг/мл) и благодаря низкой концентрации общего органического углерода (< 2 ppb) и удельному сопротивлению 18,2 МОм х см, приведенному к температуре 25 °C, обеспечила постоянное стабильное качество, необходимое для экспериментов.

Количественный и кинетический анализ внутриклеточной сигнальной активности

Количественный и кинетический анализ последующей сигнальной активности выявил дифференциальный образец активации, являющийся специфичным для соответствующего стимула (илл. 7). Так, например, в клетках, обработанных доменом, подобным эпидермальному фактору роста (EGFld), были в большей степени активированы *гены раннего реагирования* (это гены, которые активируются сразу после стимулирования и через каскады MAP-киназы, например, EGR 1, EGR 2, FOS, FOSB и JUN [12]), в то время как сигнальные пути для стрессовых реакций (II.6, II.8 и NFkB) активированы не были (илл. 7, столбцы 1–4). Клетки, обработанные EGFld и ингибитором «Лапатиниб», демонстрируют почти полную инактивацию исследованных сигнальных путей (илл. 7, столбцы 5–8). В клетках, обработанных ФМА/сывороткой, были в большей степени индуцированы стрессовые реакции (рисунок 7, столбцы 9–12), которые после обработки препаратом «Лапатиниб» были ингибированы лишь частично (илл. 7, столбцы 13–16, ср. точки данных, полученные через 2 часа после добавления препаратов).

Сверхчистая вода с успехом использовалась в рамках мультипараметрических анализов и последующих анализов по технологии СНП. Они показали, что действие биологически активных веществ на клеточном уровне может быть направлено на базе мультипараметрической платформы профилирования EXTassay. Это позволит больше узнать как о желательных, так и о нежелательных механизмах воздействия биологически активных веществ на клетки еще на ранних стадиях разработки лекарств и тем самым снизить риски убытков и уменьшить затраты на медицинские исследования биологически активных веществ.

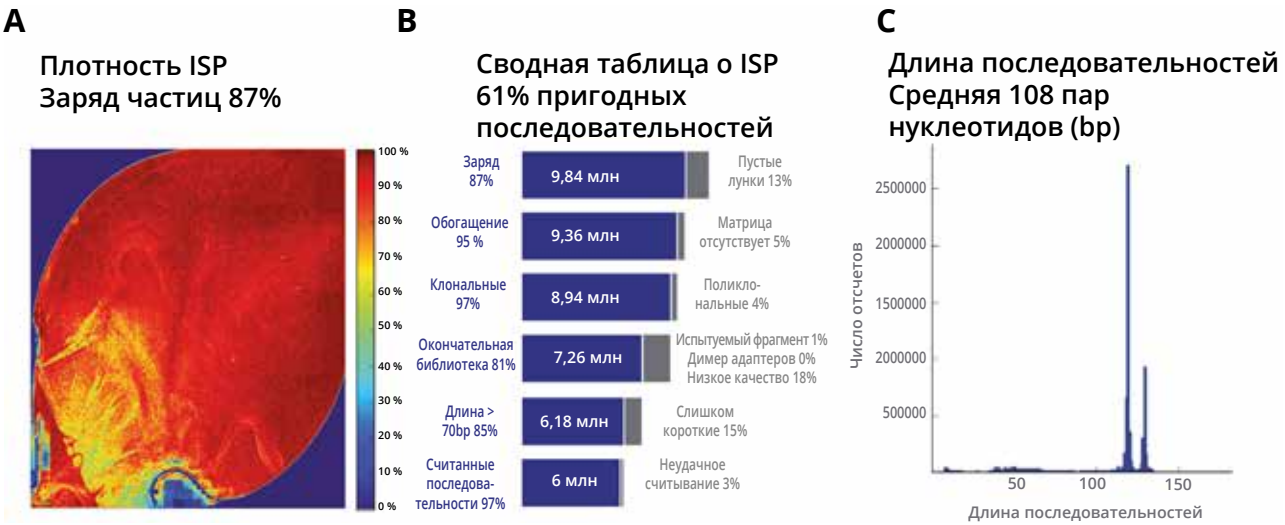
4 Обсуждение

Указанная здесь сверхчистая вода может успешно применяться в описанных выше биохимических, молекулярно-биологических и цитологических исследованиях и способствовать получению точных результатов. Сверхчистая вода использовалась, помимо прочих случаев применения, для выполнения критических процедур подготовки проб для СНП с помощью ПЦР и последующего высокопроизводительного секвенирования (илл. 3+6). Проведение мультипараметрических анализов позволило идентифицировать интенсивную дифференциальную сигнальную реакцию между специфическим стимулом и стимулом широкого действия (илл. 7).

Реакции секвенирования в особой степени требуют соблюдения высоких стандартов качества сверхчистой воды, которым она соответствует благодаря очень низкой концентрации общего органического углерода и поддержанию стабильности качества.

Помимо этого, сверхчистая вода лишена детектируемой ну-

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

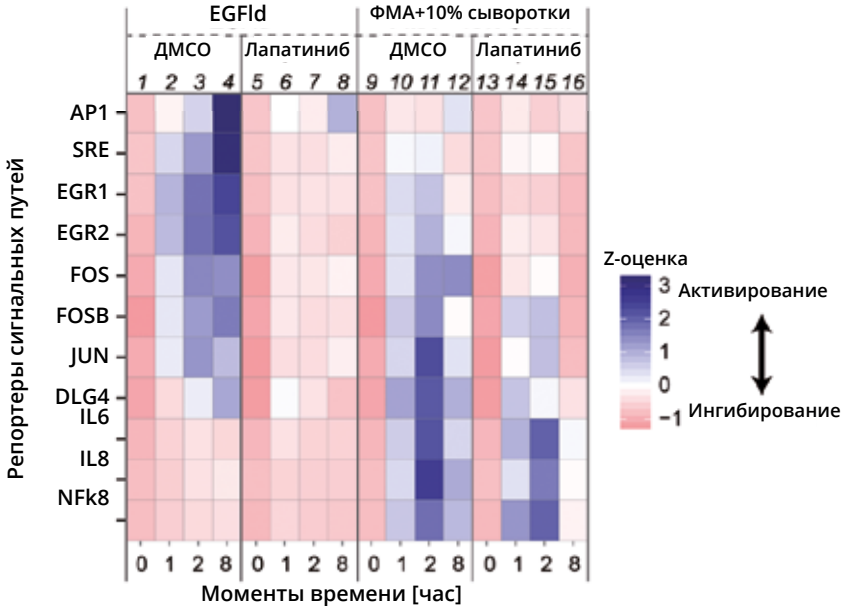


Илл. 6: Контроль качества секвенирования с помощью секвенатора Ion PGM™.
A) Плотность ISP (заряженных частиц в ионной сфере) – плотность зарядов заряженных пробой частиц ISP по цветной шкале. B) Сводная таблица частиц ISP с информацией о плотности зарядов (заряд 87 %, 9,84 млн «лунок»), о произошедшем до секвенирования обогащении заряженными последовательностями частиц ISP (обогащение 95 %), количестве клональных ISP (97 %), общей сумме полученных последовательностей (7,26 млн считанных последовательностей) и числе пригодных для анализа последовательностей (6 млн). C) Информация о средней длине отдельных полученных последовательностей

клеазной активности (даже незначительная активность нуклеаз может нарушить протекание чувствительных молекулярно-биологических процессов, напр., ПЦР) и обладает постоянным удельным сопротивлением, равным 18,2 МОм х см.

Поэтому секвенирование с помощью PGM™, требующее постоянного качества воды с удельным сопротивлением 18,2 МОм х см (неопубликованные данные свидетельствуют о том, что вода с удельным сопротивлением менее 18,2 МОм х см не пригодна для биохимических и молекулярно-биологических работ, например, для анализов по методу «вестерн-блот» и ПЦР), может успешно проводиться лишь с использованием сверхчистой воды. Для получения воспроизводимых результатов необходимо соблюдение всех указанных параметров качества сверхчистой воды.

В противоположность этому подготовленная вода с худшими качественными показателями, например, с присутствием легких загрязнений, не может привести к получению удовлетворительных результатов. Поэтому водопроводная вода должна быть изначально полностью исключена, поскольку она содержит многие компоненты (соли, органические соединения, нуклеазы, микроорганизмы и свободную ДНК), которые к тому же могут сильно отличаться от региона к региону.



Илл. 7: Количественный и кинетический анализ внутриклеточных сигнальных путей (AP 1, SRE, DLG4 обозначают точки соединения факторов транскрипции; пояснения к другим репортерам сигнальных путей см. в тексте) с помощью специфической технологии анализа. Активность сигнальных путей, вызванная специфическим стимулом – доменом, подобным эпидермальному фактору роста (EGFld) – или стимулом широкого действия – форбол-12-миристат-13-ацетатом (ФМА)/10 % сыворотки – ингибируется ингибитором «Лапатиниб» в различной степени. Номера столбцов указаны курсивом

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Заключение

Мультипараметрические анализы позволяют выполнить масштабное профилирование клеточных реакций и все шире используются на ранних этапах исследования биологически активных веществ, чтобы иметь возможность быстро и без больших затрат отличить желательное действие этих веществ от их побочных эффектов. Описанные в данной работе анализы, основанные на генетических сенсорах с молекулярными репортерами штрихкода, требуют наивысших стандартов качества используемых материалов. Это было с успехом продемонстрировано на примере сверхчистой воды, использованной для различных экспериментальных процедур при выполнении мультипараметрических анализов.

Благодарность

Авторы выражают благодарность Бену Бранкачк, Забрине Галински, Александре Рупп и Елене Циирдаевой за сотрудничество и содержательные дискуссии.

Литература

[1] Botvinnik A, Wichert SP, Fischer TM, Rossner MJ. Integrated analysis of receptor activation and downstream signaling with EX- Tassays. Nat Methods. 2010 Jan;7(1):74–80.

[2] Koboldt DC, Steinberg KM, Larson DE, Wilson RK, Mardis ER. The Next-Generation Sequencing Revolution and Its Impact on Genomics. Cell. 2013 Sep 26;155(1):27–38.

[3] Nitzki F, Herbig E. In situ Hybridisierung – Die Bedeutung von Reinstwasser für RNA Technologien. GIT Labor-Fachzeitschrift. 2013 März;(57. Jahrgang, 3):157–9.

[4] Rusk N. Torrents of sequence. Nat Meth. 2011 Jan;8(1):44–44.

[5] Patel RK, Jain M. NGS QC Toolkit: a toolkit for quality control of next generation sequencing data. PLoS ONE. 2012;7(2):e30619.

[6] Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. J Mol Biol. 1990 Oct 5;215(3):403–10.

[7] R Core Team. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2012.

[8] Mei L, Nave K-A. Neuregulin-ERBB Signaling in the Nervous System and Neuropsychiatric Diseases. Neuron. 2014 Jul 2;83(1):27–49.

[9] Citri A, Yarden Y. EGF-ERBB signalling: towards the systems level. Nat Rev Mol Cell Biol. 2006 Jul;7(7):505–16.

[10] Wehr MC, Laage R, Bolz U, Fischer TM, Grünewald S, Scheek S, et al. Monitoring regulated protein-protein interactions using split TEV. Nat Methods. 2006 Dec;3(12):985–93.

[11] Life Technologies. Ion PGMTM Sequencing 200 Kit v2 [Internet]. 2013. Available from: https://www.lifetechnologies.com/order/catalog/product/4482006 Zuletzt abgerufen am 15.04.2015.

[12] Avraham R, Yarden Y. Feedback regulation of EGFR signalling: decision making by early and delayed loops. Nat Rev Mol Cell Biol. 2011 Feb;12(2):104–17.

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Автоматизированная очистка целевых соединений для высокочистых субстанций

Саша Гигольд (Dr.) • Shimadzu Deutschland GmbH, Дуйсбург / Германия
Почтовый адрес: Dr. Sascha Giegold, Shimadzu Deutschland GmbH, Albert-Hahn-Str. 6-10, 47269 Duisburg / Germany;
e-mail: sg@shimadzu.de

Аннотация

Сегодня при разработке новых лекарственных средств крайне важны высокая производительность, эффективность и рентабельность, а также качество конечной продукции, а также надежность и воспроизводимость технологического процесса. Современные автоматизированные технологии позволяют выполнить эти требования. Новая система Crude2Pure (C2P) на базе препаративной жидкостной хроматографии автоматизирует процессы очистки и позволяет получить очищенный потенциальный активный фармацевтический ингредиент уже на ранних этапах разработки. Для того чтобы получить активный ингредиент в твердой форме, используется модуль захвата и инновационная система восстановления. Запатентованная «умная крышка» (Smart Cap) ампул для конечного продукта обеспечивает воспроизводимые результаты. Программное обеспечение с возможностью удаленного доступа позволяет управлять всей системой C2P из нескольких лабораторий.

Введение

Разработка новых активных фармацевтических ингредиентов происходит в несколько этапов. Особенно много времени и усилий требует очистка целевого соединения после его синтеза, при этом необходимо получить желаемую солевую форму последнего и достичь максимальной степени чистоты. Новая система Crude2Pure (C2P) позволяет упростить и автоматизировать эти процессы. С опорой на метод препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) синтезированное вещество очищается, далее целевые фракции помещаются в колонки-ловушки, где происходит концентрирование целевого соединения и удаляются все использованные при хроматографическом разделении растворители. Затем целевое соединение переводится в колонке-ловушке в необходимую солевую форму и с помощью соответствующего растворителя распыляется по ампулам. На финальной стадии происходит испарение растворителя путем нагревания ампул. В конечном итоге получают порошок очищенного высокочистого действующего вещества в заданной форме.

Автоматизация при исследовании действующих веществ

На многих участках работы в лабораториях автоматизация ускоряет и упрощает процессы и повышает их точность. Ключевые слова в этой связи – высокая производительность, эффективность и рентабельность.

В последние десятилетия именно в сфере исследования действующих веществ были реализованы инновационные идеи, которые позволили усовершенствовать поиск соответствующих веществ-кандидатов. Еще в 70-е гг. XX века ежегодно изготавливали всего 20–25 новых субстанций. С внедрением высокопроизводительных скринингов и комбинаторных технологий [1, 2] эти цифры постоянно растут. Цель такой автоматизации – повысить рентабельность, что означает не только повышение производительности в пересчете на одного сотрудника, но и улучшение качества продукции, а также надежности и воспроизводимости процессов.

Современный подход к разработке действующих веществ

Решающее влияние на давно известные принципы работы, применяемые в медицинской химии для нахождения новых путей синтеза возможных веществ-кандидатов, оказало развитие жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии (МС) и их применение в сочетании. Сегодня при очистке и сепарации промежуточных и конечных продуктов полагаются именно на хроматографические методы, поскольку их применение более рентабельно, чем поиск новых путей синтеза с более высоким выходом [3].

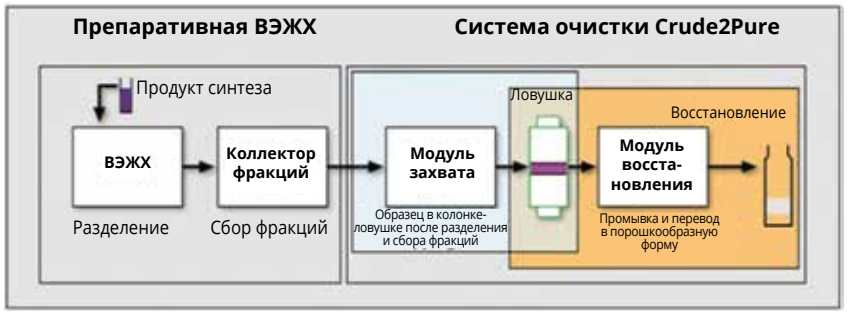
Немецкое производство лекарств / DPI 2016, №1, 22-25
© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Благодаря разработкам в области обнаружения прототипов стало возможным расходовать меньшее количество материала образцов для создания субстанций со всеми необходимыми фармакологическими характеристиками. Это ведет к тому, что значимость выхода синтеза уменьшается.

Сложности возникают, только когда найден прототип и для дальнейшей разработки требуется большое его количество. Выбранный путь синтеза при этом оказывается нерентабельным, слишком дорогим и затратным по времени. Важную роль для последующей разработки играли бы и физические свойства, например, солевая форма субстанции [4]. Но большинство субстанций, получаемых в результате выявления прототипов, изолированы посредством ВЭЖХ и исследованы как аморфные твердые вещества. Однако как раз для фармакокинетических исследований обязательно использование определенной солевой формы, так как это позволяет найти подходящую рецептуру для управляющих органов. [5]. Таким образом, возникает потребность в автоматизированном способе создания высокочистых прототипов-кандидатов с определенной солевой формой уже на ранних этапах разработки, причем способ этот должен быть высоко воспроизводимым, с тем чтобы качество продукции оставалось неизменным.

Система Crude2Pure

Здесь в действие вступает система Crude2Pure (C2P). Она объединяет в себе модуль очистки полученных в ходе препаративной ВЭЖХ образцов, и инновационную технологию восстановления, которая позволяет получать высокочистое вещество в твердой форме. Для препаративной ВЭЖХ могут использоваться любые системы, оснащенные коллектором фракций. На илл. 1 представлено схематическое изображение всей платформы, включающей препаративный хроматограф с коллектором фракций и систему Crude2Pure.



Илл. 1: Схематическое изображение платформы Crude2Pure (источник: все иллюстрации Shimadzu)

Илл. 2: Результаты по пяти действующим веществам после очистки в системе Crude2Pure

Модуль захвата

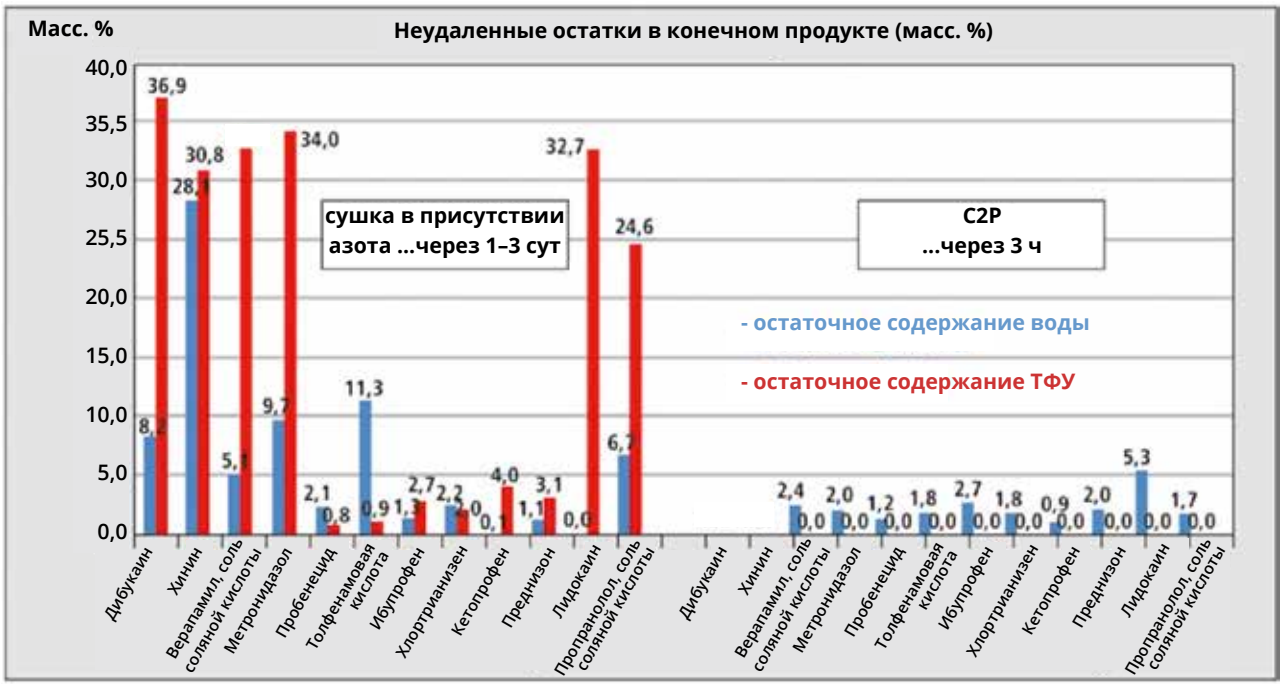
Crude2Pure можно разделить на два модуля. В первом модуле – системе захвата – фракции, полученные при разделении посредством ВЭЖХ, помещаются в специальные колонки-ловушки, действующие по принципу твердофазной экстракции. Для этого используются хроматографические насосы и автоматический дозатор образцов.

Колонки (до 48 штук) размещаются в держателях в модуле захвата. При использовании коллектора фракций ВЭЖХ существует возможность распределять целевую субстанцию по нескольким виалам, поэтому одну колонку можно загружать несколько раз. Одну фракцию также можно загружать в несколько колонок, если максимальное количество загрузки по объему или массе оказывается недостаточным. Поскольку автоматический дозатор образцов оснащен датчиком уровня жидкости, возможна различная высота наполнения виал для сбора фракций. Таким образом гарантируется, что в колонку-ловушку будет перемещен весь образец. Когда целевое соединение полностью иммобилизовано в колонке-ловушке, последняя перемещается во второй модуль – систему восстановления.

Модуль восстановления

В системе восстановления целевые вещества, находящиеся в колонке-ловушке, очищаются и затем распыляются по ампулам для получения максимально возможного количества активного ингредиента в твердой форме. Для этого колонку сначала промывают различными растворителями для удаления всех

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия



Илл. 3: Сравнение остаточного содержания растворителей и воды в действующих веществах после обычной обработки (слева) и после обработки в системе Crude2Pure (справа)

оставшихся со стадии ВЭЖХ компонентов, например, тетрафторуксусной кислоты (ТФУ). Другие загрязнения, такие как побочные продукты синтеза, которые невозможно отделить посредством ВЭЖХ, на этом этапе удалить нельзя.

На следующем этапе можно выбрать желаемую конечную форму продукта. Так, например, промывая колонку-ловушку водным раствором аммиака, получают действующее вещество в форме свободного основания. В завершение ловушку промывают водой, в результате получают иммобилизованное и очищенное действующее вещество в водной фазе.

После проведения этого этапа целевое соединение вымывают из колонки-ловушки дихлорметаном (ДХМ) и метанолом. Благодаря несмешиваемости воды и ДХМ операция выполняется под высоким давлением. Ампулы в которые распыляется целевое вещество, нагреваются, что ускоряет испарение растворителя. В качестве вспомогательного средства ампулы продуваются азотом, что улучшает диспергирование и высыхание продукта. В идеальном случае получают высокочистое действующее вещество в твердой форме.

На илл. 2 представлены ампулы для восстановления с пятью целевыми соединениями после обработки 120 мг исходного сырья в системе C2P. Благодаря тому, что в модуле восстановления параллельно используется до шести потоков, за 24 часа можно обработать 48 колонок.

Чистота целевого соединения

Цель автоматизации процессов в лабораториях – повышение производительности обработки образцов. Благодаря параллельному принципу действия системы C2P в течение 24 часов можно провести обработку 48 образцов – от сырья до высокочистого вещества в твердой форме.

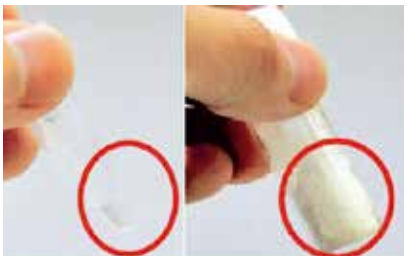
Но, как уже упоминалось, при оптимизации рабочих процессов поиска новых активных

Таблица 1

Воспроизводимость результатов по каждому из двух циклов очистки четырех субстанций

Образцы	Цикл	Цикл	Показатель
Субстанция 1	2,04 мг	2,01 мг	99 %
Субстанция 2	5,13 мг	5,08 мг	99 %
Субстанция 3	10,09 мг	8,44 мг	84 %
Субстанция 4	13,21 мг	13,16 мг	100 %

Немецкое производство лекарств / DPI 2016, №1, 22-25
© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия



Илл. 4: Сравнение результатов очистки обычным методов (слева) и в системе C2P (справа)

фармацевтических ингредиентов во внимание принимается не столько повышение производительности обработки исходного сырья, сколько получение субстанций высокого качества. В результате иммобилизации образцов в колонках-ловушках, последующей очистки и перевода в порошкообразную форму получают высокочистые субстанции, не содержащие примесей растворителей, применяемых на предшествующем этапе.

При прежних методах исследования действующих веществ готовый продукт содержит в большинстве случаев всего 65 % чистой субстанции. Оставшиеся 35 % составляют вода, свободная ТФУ и соли ТФУ, поскольку при препаративном хроматографическом разделении в большинстве случаев добавляют ТФУ. Сравнение остаточного содержания растворителей и воды в различных действующих веществах, полученных с помощью классических методов и при применении системы C2P, представлено на илл. 3. В системе C2P ТФУ полностью удаляется, содержание воды тоже уменьшается.

Дальнейшее исследование удаления ТФУ при очистке пропранолола гидрохлорида и удаления диметилсульфоксида (ДМСО) при очистке фуросемида показало, что при использовании обычного метода, в данном случае – ротационного испарения, через восемь часов в масляном конечном продукте еще остается 1,2 % ТФУ и 5 % ДМСО соответственно. При очистке того же исходного сырья в системе C2P в течение трех часов содержание остатков растворителей составляло 0,001 % ТФУ и 0,0005 % ДМСО. Кроме того, конечный продукт был получен в виде белого порошка (илл. 4).

Воспроизводимость

Третья цель автоматизации – обеспечение воспроизводимости процесса создания продукта. Запатентованная «умная крышка» (Smart Cap) ампул, в которые распыляют продукт, сконструирована так, что при распылении очищенного целевого соединения в приемную емкость достигается постоянный результат. Чтобы удалить возможные остатки воды или растворителей, которые применяются для вымывания действующего вещества из колонки, ампулы могут подогреваться.

Для сравнения четыре субстанции были очищены по два раза. В таблице 1 представлены данные о воспроизводимости результатов в обоих циклах. Самый низкий показатель – 84 %. Это свидетельствует о том, что даже сложные субстанции можно создавать с высокой воспроизводимостью.

Параметры очистки, концентрирования и восстановления в системе C2P можно устанавливать посредством программного обеспечения Open Solution.

ПО с удаленным доступом

Построение системы по принципу удаленного доступа упрощает ее применение. Всем комплексом C2P можно управлять из нескольких лабораторий.

Возможен также вариант, что в одной лаборатории может стоять только модуль захвата, доступный для использования другими лабораториями; при этом в каждой лаборатории есть собственные модули восстановления. Так разные лаборатории могут выполнять проекты на общей платформе.

Заключение

Мультипараметрические анализы При разработке новых лекарственных средств платформа Crude2Pure обеспечивает высокое качество получаемых результатов за счет автоматизации всех необходимых этапов очистки целевых соединений и, соответственно, высокой степени чистоты конечных продуктов. Таким образом, исследования действующих веществ становятся более информативными, поскольку можно использовать высокочистые субстанции и тем почти полностью исключить влияние загрязнений на их эффективность.

Литература

[1] William J Coates, David J Hunter, William S MacLachlan, Successful implementation of automation in medicinal chemistry, Drug Discovery Today, Volume 5, Issue 11, 1 November 2000, p. 521-527, ISSN 1359-6446, http://dx.doi.org/10.1016/ S1359-6446(00)01571-3. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359644600015713

[2] Gallop, M.A. et al. (1994), Applications of combinatorial technologies to drug discovery. 1. Background and peptide combinatorial libraries. J. Med. Chem. 37, 1233–1251.

[3] Potoski, J. Timely synthetic support for medicinal chemists, Drug Discovery Today, Volume 10, Issue 2, 2 January 2005, p. 115-120.

[4] Curatolo, W. (1998), Physical Chemical Properties of Oral Drug Candidates in the Discovery and Exploratory Development Settings. Pharm. Sci. Technol. Today 1, 387- 393.

[5] Grand, D.J.W., Byrn, S.R. (2004), A Timely Re-examination of Drug Polymorphism in Pharmaceutical Development and Regulation. Adv. Drug. Deliv. Rev. 56, 237-239.

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Изготовление медикаментов по стандарту GMP в Майнцском университете

В новых производственных помещениях отделения фармацевтической технологии в Майнце изготавливают экспериментальные препараты для клинических исследований

Юлия Шнорр, Хильде Шпан-Ланггут (Prof. Dr.), Петер Ланггут (Prof. Dr.) • Майнцский университет имени Иоганна Гутенберга

Почтовый адрес: Prof. Dr. Langguth, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Institut für Pharmazie und Biochemie, Staudinger Weg 5,55099 Mainz / Germany; **e-mail:** langguth@uni-mainz.de

Аннотация

Национальные и международные предписания стандарта GMP (Good Manufacturing Practic – надлежащая производственная практика) оказывают сильное влияние на фармацевтическую промышленность. Поэтому для начинающих фармацевтов знания в данной области абсолютно необходимы. Однако при изучении фармацевтики в вузе основное внимание уделяется преимущественно биологическим, фармакологическим, химическим и клиническим аспектам, поэтому выпускники часто чувствуют себя недостаточно подготовленными для последующей деятельности в фармацевтической промышленности. Для исправления этой ситуации и с целью обеспечения условий для более независимой исследовательской работы в Майнцском университете имени Иоганна Гутенберга на отделении фармацевтической технологии и биофармации было создано производственное предприятие, в котором изготавливаются экспериментальные препараты для клинического изучения в соответствии со стандартом GMP.

В данной статье рассматривается вопрос о необходимости и полезности таких производственных организаций в академической среде, а также рассказывается о сложных задачах, которые ставит перед университетом подобный проект в отношении соблюдения регуляторных требований и подбора персонала.

1 Введение

Многие провизоры сразу по окончании обучения в вузе или после получения ученой степени начинают работать в фармацевтической промышленности в области производства, а также контроля и обеспечения качества. Таким образом, они оказываются в значительной степени вовлеченными в такие процессы изготовления лекарств, которые определяют их качество. В соответствии с § 14 Федерального закона Германии «О лекарственных средствах» провизоры занимают преимущественно должность «компетентного специалиста». Для обретения необходимого уровня компетентности требуется не менее двух лет опыта практической деятельности в области качественного и количественного анализа, а также других проверок качества лекарственных средств. Получить такую компетенцию могут также врачи, химики и биологи с законченным высшим образованием. Однако им надо не только иметь обычно необходимый практический опыт, но еще и подтвердить, что их академическое образование отвечает минимальным требованиям, которые соответствуют образованию провизора по сокращенной программе (таблица 1). Необходимые практические и теоретические знания должны быть обязательно получены в высшем учебном заведении [1]. «Компетентный специалист» ответственен за принятие решения о том, соответствует ли партия лекарственных средств предписанным требованиям по качеству и может ли она быть выпущена в продажу или же должна быть отклонена [1, 2]. При этом защита пациента ставится выше экономических интересов. Поэтому здесь абсолютно необходимо четкое понимание качества и как можно более раннее овладение методиками GMP. В Майнцском университете дисциплина «Обеспечение качества» уже с 1990 г. является обязательной в программе обучения будущих провизоров. Во всей остальной Германии она стала обязательной только в 2000 г., после принятия второго постановления об изменении порядка получения разрешения на работу в качестве провизора [3]. Если сравнить университетское образование в целом с требованиями, которые будут позже предъявляться к про-

Немецкое производство лекарств / DPI 2016, №1, 26-31
© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Таблица 1

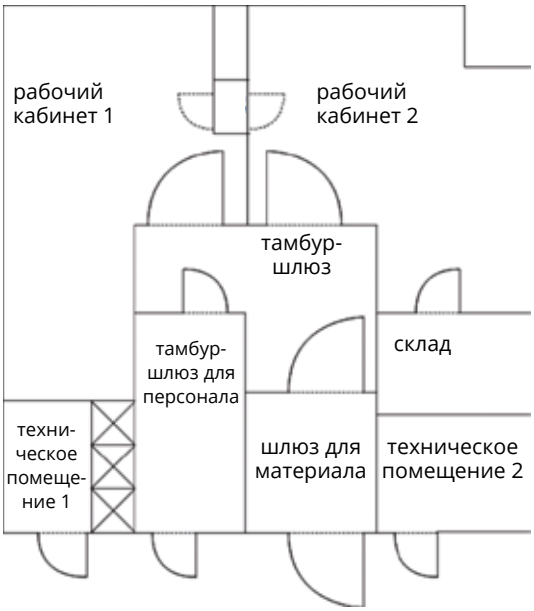
Сравнение минимального теоретического и практического образования, согласно § 15 [1] Федерального закона Германии «О лекарственных средствах» необходимого лицам, не являющимися провизорами, для подтверждения компетенции, и объема обучения провизоров в академических часах в соответствии с «Порядком получения разрешения на работу в качестве провизора» (приложение 1)

Основные дисциплины согл. § 15 (2) Федерального закона Германии «О лекарственных средствах»	Соответствующий раздел учебной программы высшего фармацевтического образования	Объем обучения в академических часах	Из них практических занятий[1]
Общая и неорганическая химия	Раздел A. Общая химия лекарственных, вспомогательных и ядовитых веществ	462 ч	336 ч
Аналитическая химия	Раздел B. Фармацевтическая аналитика	392 ч	308 ч
Экспериментальная физика	Раздел C[2]. Научные основы, математика и учение о лекарственных формах	280 ч	140 ч + 14 ч семинаров
Физиология	Раздел D[2]. Основы биологии и биология человека	392 ч	230 ч[3]
Фармацевтическая биология	Раздел G. Биогенные лекарственные вещества	238 ч	84 ч[4] + 42 ч[4] семинаров
Биохимия	Раздел E[2]. Биохимия и патохимия	196 ч	98 ч
Фармацевтическая технология	Раздел F[2]. Фармацевтическая технология и биофармация	364 ч	196 ч + 42 ч семинаров
Фармацевтическая химия	Раздел H. Медицинская химия и аналитика лекарственных веществ	420 ч	280 ч
Фармакология	Раздел I[2]. Фармакология и клиническая фармация	406 ч	112 ч + 98 ч семинаров
Токсикология			

[1] Если нет других указаний, то 20 % учебных часов отводится семинарским занятиям.
[2] Объем материала выходит за рамки требований Федерального закона Германии «О лекарственных средствах» к компетентности.
[3] Раздел D
[4] Раздел G

визору, занятому в фармацевтической промышленности, то следует признать, что изучение стандарта GMP играет недостаточно значимую роль в обучении, затрагивая, как правило, только теоретическую часть. Однако должный уровень компетенции для оценки факторов, имеющих значение для качества, достигается только при активном практическом применении этого стандарта. Основной исследовательской задачей отделения фармацевтической технологии является разработка, изготовление и усовершенствование фармацевтических препаратов. Испытания in vitro дают важные знания, однако часто требуют дополнительных испытаний in vivo для подтверждения достоверности полученных результатов. При изготовлении лекарственных средств, используемых в клиническом изучении, должны соблюдаться требования стандартов GMP и GCP (Good Clinical Practice – надлежащая клиническая практика) [4, 5]. Также следует учитывать предписания Постановления о производстве лекарственных средств и действующих веществ (AMWHV) [6]. Поэтому научно-исследовательские учреждения и институты без собственной производственной базы для лекарственных препаратов часто не могут обойтись без субподрядчиков. Кроме этой зависимости и возможных дополнительных расходов возникает еще одно обстоятельство – субподрядчики оказываются опосредованно втянутыми в исследование и влияют на него, иногда значительно. Необходимо также учитывать, что изготовление лекарств в собственном научно-исследовательском учреждении предоставляет научным сотрудникам, преследующим цель получения ученой степени, ценную и незаменимую возможность практического применения их теоретических знаний стандарта GMP и углубленного изучения действующих нормативных документов. С 2001 г. отделение фармацевтической технологии и биофармации Майнцского университета имеет разрешение в

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия



	Воздухообмен ($ч^{-1}$)	Давление/избыточное давление в помещении
Рабочий кабинет 1	25	+45 Па / ± 5 Па
Рабочий кабинет 2	26,5	+40 Па / ± 5 Па
Шлюз	10,5	+25 Па / ± 5 Па
Тамбур-шлюз для персонала	7,1	+15
Шлюз для материала	7,1	+15
Склад	14	+0

Илл. 1: План комплекса чистых помещений и основные технические данные (все иллюстрации предоставлены авторами)

Илл. 2: Чистое помещение 1 для изготовления жидких и мягких лекарственных форм (слева); чистое помещение 2 для изготовления твердых лекарственных форм (справа)

Илл. 3: Ламинарный модуль в производственном помещении 1

соответствии с §13 Федерального закона Германии «О лекарственных средствах» на изготовление нестерильных твердых лекарственных форм для применения в качестве экспериментальных препаратов для клинических исследований. Это позволяет проводить различные исследования фазы I. Чтобы иметь возможность самостоятельно изготавливать инновационные лекарственные формы – жидкие и мягкие – согласно требованиям стандарта GMP, отделение фармацевтической технологии и биофармации в сотрудничестве с техническим отделом университета и Земельным предприятием по обслуживанию недвижимости и строительства в Майнце оборудовал новые чистые помещения, отвечающие требованиям класса чистоты D. В мае 2015 г. после приемочной инспекции было получено расширенное разрешение на изготовление мягких и жидких нестерильных лекарственных форм. Однако на пути от первого плана, конкретизировавшего изначальную идею, до завершения проекта пришлось преодолеть множество препятствий, так что в конце концов потребовалось более десяти лет на то, чтобы спланировать, построить, оборудовать и запустить в эксплуатацию помещения в нынешнем их виде.

2 Концепция обустройства и использования чистых помещений

Существующий сегодня комплекс чистых помещений состоит из двух рабочих кабинетов площадью 15,34 $м^2$ и 13,02 $м^2$, соответствующих технических помещений, склада и тамбур-ш-

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

люзов. Воздухообмен и наддув в помещениях выбраны в соответствии с требованиями DIN EN ISO 14644 «Чистые помещения и связанные с ними контролируемые среды» для помещений класса чистоты D и частично даже их превосходят (илл. 1) [7].

Контроль давления, влажности и температуры воздуха в помещениях осуществляется подключением помещений к автоматизированной системе управления зданиями Майнцского университета. Дополнительно в каждом производственном помещении существуют дисплеи для снятия вручную актуальных показателей параметров микроклимата.

В производственном помещении 1 (илл. 2) изготавливаются жидкие и мягкие лекарственные формы. Ламинарный модуль (илл. 3) позволяет работать в условиях класса чистоты C. Помещение 2 (илл. 2) служит для изготовления твердых лекарственных форм. Для уменьшения перекрестного загрязнения из-за пыли и обеспечения лучшей защиты сотрудников в числе прочих мер установлен весовой аспирационный модуль (илл. 4). Оба производственных помещения соединены шлюзом для материалов.

Чтобы иметь возможность изготавливать как можно больше лекарственных форм, в помещении стационарно установлена только часть производственных машин. Большинство же аппаратов дополнительно располагается в помещении в соответствии с конкретным проектом согласно описанным технологическим условиям. Это позволяет на одной площадке размером менее 30 м^2 делать как таблетки и капсулы, так и все другие жидкие и мягкие лекарственные формы. Для контроля качества имеется отдельная лаборатория, позволяющая сейчас самостоятельно выполнять все необходимые для контроля качества испытания, за

Илл. 4: Весовой аспирационный модуль в производственном помещении 2

исключением микробиологии.

В производстве и контроле качества заняты 5–6 сотрудников: руководитель производства, одновременно являющийся и «компетентным специалистом»; руководитель службы контроля и обеспечения качества и еще 2 штатных сотрудника по производству и контролю качества. Планирование производства и всех необходимых квалификаций и переквалификаций, а также испытаний качества, включая составление нормативной документации (Product Specification Files), выполняется выпускниками университета, работающими над диссертациями, в рамках их исследовательских проектов.

Для поддержания технического состояния помещений привлекается дополнительно персонал университета. Для этого потребовалось предварительно провести определенную разъяснительную работу, поскольку большинство университетских сотрудников, занятых технической работой и уборкой, еще никогда не сталкивались со специфическими требованиями к фармацевтическому производству.

Благодаря широкомасштабному обучению персонала еще до начала эксплуатации производственных помещений, а также использованию оборудования университета на этапе создания этих помещений была заложена хорошая основа для будущего сотрудничества. Теперь имеется достаточно обученных людей, как для технической работы, так и для уборки помещений, так что всегда есть сотрудники, выполняющие требования стандарта GMP.

Окончательная квалификация помещений проведена внешней организацией.

3 Конкретные примеры исследований

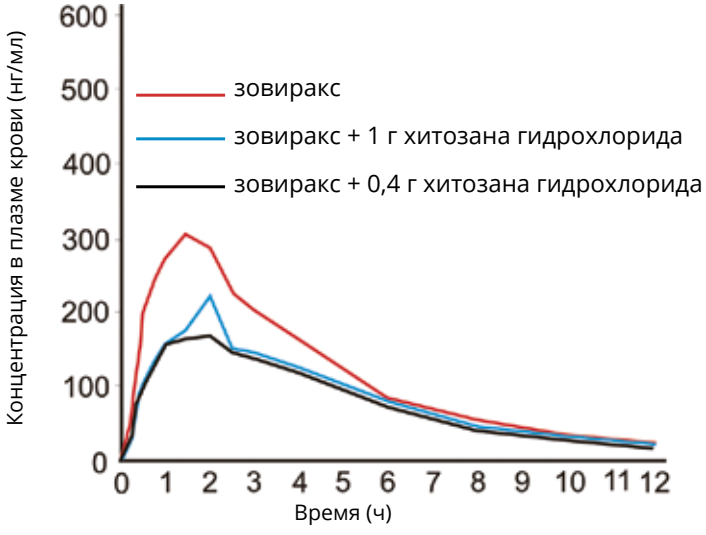
В соответствии с разрешением на изготовление твердых лекарственных форм, полученным в 2001 г., уже были реализованы различные исследовательские проекты. Ниже описываются два их них.

3.1 Влияние хитозана на резорбцию лекарственных веществ низкой проницаемости (класс III согласно БКС)

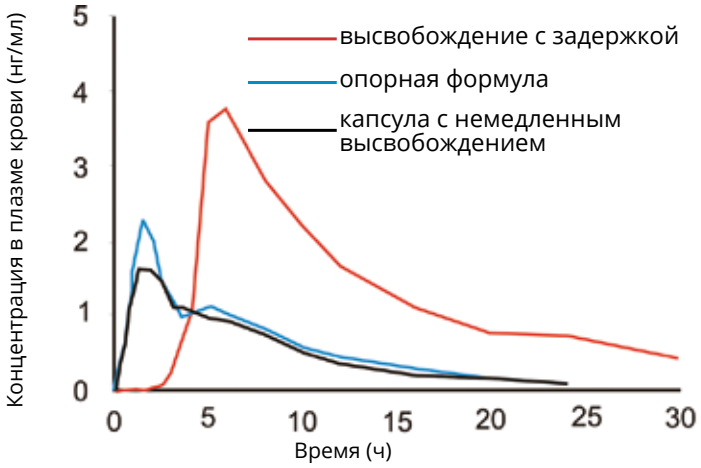
В многочисленных сообщениях о доклинических исследованиях in vitro и in vivo приводятся

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

сведения о свойствах некоторых вспомогательных фармацевтических веществ, повышающих проницаемость, – например полиаминосахарида хитозана. Здесь открываются интересные перспективы для разработок формуляций, нацеленных на улучшение биологической доступности плохо всасываемых лекарственных веществ. Но одновременно возникает вопрос, будут ли наблюдаться улучшения, предсказанные на доклинических моделях резорбции, также и при применении фармакологического вещества на людях.



Илл. 5: Средние значения концентрации ацикловира в плазме крови у здоровых добровольцев (n=12) после приема 200 мг растворимых таблеток (зовиракс) в сочетании с 400 мг (1000 мг) гидрохлорида хитозана



Илл. 6: Кривые зависимости концентрации в плазме крови от времени для симвастатина после перорального приема 20 мг в виде твердой капсулы с быстрым высвобождением (черная линия), в виде таблетки с замедленным высвобождением (красная линия), а также для контрольной лекарственной формы (Zocor™, синяя линия)

В Центре клинических исследований Майнцского университета с участием здоровых добровольцев было проведено открытое перекрестное исследование с тремя периодами для изучения фармакокинетики ацикловира (лекарственное вещество класса III по БКС) в присутствии хитозана в двух различных дозах.

Для сопоставления использовалась контрольная лекарственная форма без хитозана.

Вопреки предположению, что хитозан улучшит биодоступность ацикловира, измерения показали значительное снижение концентрации действующего вещества в плазме при применении хитозана (илл. 5) [8].

Важными в отношении стандарта GMP в этом исследовании были такие аспекты, как импорт готового лекарственного средства, содержащего ацикловир, из других европейских стран, замена маркировки, проверка качества, выпуск на основании собственного разрешения на производство, а также подготовка и фармацевтическая характеристика вспомогательного вещества гидрохлорид хитозана в соответствии со стандартом GMP.

В последующем исследовании оцениваются доклинические модели в отношении прогноза по данному феномену.

3.2 Улучшение биодоступности лекарственных веществ при применении лекарственных форм с замедленным высвобождением

В этом исследовании предполагалось проверить гипотезу о том, что кишечный метаболизм лекарственных веществ, имеющих сродство к изоферменту цитохрома P4503A4, ответственного за окислительный метаболизм, можно предотвратить, по крайней мере частично, если действу-

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

ющее вещество будет медленно высвобождаться в дистальном отделе кишечника. Такой принцип доставки подходит прежде всего для труднорастворимых лекарственных веществ класса II по БКС, если задержка высвобождения сочетается с эффективным действием солюбилизирующего агента. В качестве модели лекарственного вещества использовался симвастатин. На илл. 6 представлены значения концентрации действующего вещества в плазме, полученные при проведении фазы I открытого перекрестного исследования. Новая система высвобождения может дать трехкратное увеличение биологической доступности в сравнении с быстровысвобождающейся лекарственной формой [9].

Аспекты этого исследования, важные в отношении стандарта GMP: изготовление лекарственной формы с контролируемым высвобождением (смешивание, гранулирование, таблетирование, глазирование) и капсул с быстрым высвобождением (смешивание, гранулирование, заполнение твердых капсул), а также контроль качества этих лекарственных форм. Изготовление, проверка качества и выпуск выполнялись в соответствии с указаниями нормативной документации.

Благодарность

Авторы благодарят сотрудников Земельного ведомства по вопросам социальной помощи, молодежи и материальному обеспечению, в особенности госпожу Гудрун Бах, за оказанную в период создания чистых помещений поддержку многочисленными рекомендациями, за письма и личные встречи. Полученные импульсы в значительной мере способствовали успеху всего проекта. Мы признательны отделению техники Майнцского университета и Земельному предприятию по обслуживанию недвижимости и строительства за эффективное сотрудничество при осуществлении проекта.

Мы приносим также благодарность многим другим сотрудникам и всем тем, кто на протяжении многих лет оказывал поддержку проекту.

Литература

[1] Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln (AMG) vom 12.12.2005 (BGBl. I S. 3394), zuletzt geändert durch Artikel 1 der Verordnung vom 02.09.2015 (BGBl. 1 S. 1571).

[2] Approbationsordnung für Apotheker (AAppO) vom 19.07.1989 (BGBl. 1 S. 1489), zuletzt geändert durch Artikel 1 der Verordnung vom 02.08.2013 (BGBl. 1 S. 3005).

[3] 2. Verordnung zur Änderung der Approbationsordnung für Apotheker (2. AppO-ÄndV) vom 14.12.2000 (BGBl. 1 S. 1714).

[4] EudraLex The Rules Governing Medicinal Products in the European Union, Volume 4, EU Guidelines to Good Manufacturing Practice, Medicinal Products for Human and Veterinary Use.

[5] Verordnung über die Anwendung der Guten Klinischen Praxis bei der Durchführung von klinischen Prüfungen mit Arzneimitteln zur Anwendung am Menschen (GCP-Verordnung) (§§ 5,4 Abs. 1+2, 10 Abs. 1) vom 09.08.2004 (BGBl. I S. 2081), zuletzt geändert durch Artikel 8 des Gesetzes vom 19.10.2012 (BGBl. I S. 2192).

[6] Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung (AMWHV) vom 03.11.2006 (BGBl. I S. 2523); zuletzt geändert durch Artikel 1 der Verordnung vom 28.10.2014 (BGBl. I S. 1655).

[7] DIN EN ISO 14644, Reinräume und zugehörige Reinraumbereiche, Deutsche Fassung.

[8] Kubbinga M, Nguyen MA, Staubach P, Teerenstra S, Langguth P. The Influence of Chitosan on the Oral Bioavailability of Acyclovir - A Comparative Bioavailability Study in Humans. Pharm Res. 2015 Jul;32 (7): 2241-9.

[9] Tubic-Grozdanis M, Hilfinger JM, Amidon GL, Kim JS, Kijek P, Staubach P, Langguth P. Pharmacokinetics of the CYP 3A substrate simvastatin following administration of delayed versus immediate release oral dosage forms. Pharm Res. 2008 Jul;25 (7):1591-600.

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Дозирующе-смешивающие модули непрерывного действия как базовые блоки для производства твердых субстанций

Ральф Вайнекёттер (Dr.) • Gericke AG (Регенсдорф, кантон Цюрих, Швейцария)

Почтовый адрес: Dr. Ralf Weinekötter, Gericke AG, Althardstr. 120, CH-8105 Regensdorf-Zürich;
e-mail: r.weinekötter@gericke.net

Аннотация

Фармацевтические препараты в форме гранул и таблеток, как правило, изготавливаются партиями. Это касается как собственной подготовки исходных компонентов согласно рецептуре, так и смешивания вспомогательных веществ с порошкообразными активными веществами. В других же областях промышленности, в частности, в химической и пищевой, аналогичные процессы по изготовлению порошкообразных смесей выполняются непрерывно, поскольку это улучшает технологический контроль и снижает стоимость производства. Инициатива FDA (Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов, США) под названием Continuous Manufacturing (Непрерывное Производство) подтолкнула исследования в области методов непрерывного производства фармацевтической продукции, прежде всего в США и Европе. Эта инициатива побудила станкостроителей к разработке модулей и процессов непрерывного действия в области производства твердых субстанций. Данная статья сосредоточена на одном из базовых блоков непрерывного производства: дозирующе-смешивающем модуле. Такой модуль для 4-6 компонентов не требует много места – всего 2 x 2 x 2 м. Он применяется как для прямого сжатия, так и в непрерывных процессах сухой и влажной грануляции. Принципы и границы непрерывного гравиметрического дозирования действующих и вспомогательных веществ отображаются на экране. Постоянство дозирования определяет время пребывания вещества в модуле и, следовательно, размеры непрерывного смесителя. Однако, чем крупнее смеситель, тем позже достигается стационарный режим после начала производства. Один и тот же модуль может использоваться как для изготовления первого клинического экспериментального препарата, так и позже для его серийного производства, поскольку время работы непрерывного модуля может варьироваться от нескольких минут до часов. Исчезает необходимость в квалификационных испытаниях различных серий препарата, что ускоряет процесс разработки.

Растет ли эффективность благодаря непрерывным процессам?

Препараты в виде гранул, порошка и твердого вещества изготавливаются на разных производствах, а затем перерабатываются в смеси. В этом смысле

Автор

Ральф Вайнекёттер (Dr.)

Д-р Ральф Вайнекёттер изучал химико-инженерное дело в университете Карлсруэ (Universität Karlsruhe, Германия) и в Политехническом университете г. Нанси (ENSIC Nancy, Франция). Защитил диссертацию при Швейцарской высшей технической школе Цюриха (ETH-Zürich) по теме «Непрерывное смешивание мелкодисперсных твердых веществ». Д-р Вайнекёттер является автором специальных книг по теме смешивания, например, «Смешивание твердых веществ» (“Mixing of Solids“, Springer Verlag) или соответствующая глава в последнем номере «Справочника инженера-химика Дж. Перри» («Perry’s Chemical Engineering Handbook”). Работал в отделах технологического развития, инжиниринга и сбыта на фирме Gericke AG (Швейцария). В данный момент д-р Вайнекёттер занимает должность управляющего директора фирмы Gericke AG.

Немецкое производство лекарств / DPI 2016, №1, 32-37
© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Таблица 1

Миксер твердых веществ непрерывного действия для изготовления полиэтилена, в том числе для фармацевтических изделий

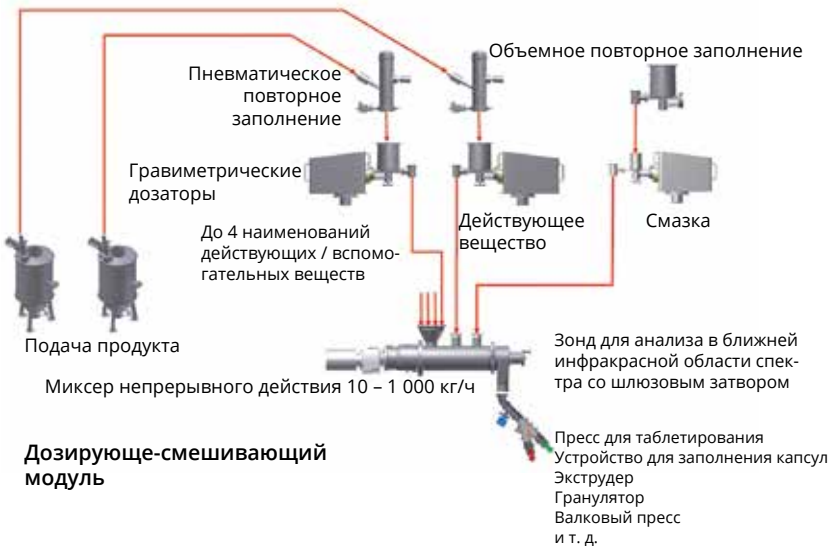
Химия полимеров – ПЭТ Используется с 1960 г. Производительность: 80 000 кг/ч Полезный объем: 1 000 л Последующий процесс: экструзия	Детское питание С 1990 г. Производительность: 8 000 кг/ч Полезный объем: 60 л Последующий процесс: упаковка	Фармацевтическое производство С 2005 г. Производительность: 10 - 100 кг/ч Полезный объем: 1 - 15 л Последующий процесс: таблетирование, грануляция; экструзия, заполнение капсул

галеника, то есть производство медикаментов, например, в виде порошка, капсул или таблеток, является одной из областей технологии производства. Дозирование, измельчение, смешивание и гранулирование – это механическая технология, сушка в вихревом слое – технология термическая. Все эти процессы изначально выполнялись отдельными партиями. То же можно сказать и о большинстве процессов смешивания. Фармацевтические смесители представляют собой преимущественно контейнерные или двухконусные смесители. Здесь технологические операции – подготовка рецептуры, смешивание, опорожнение смесителя – ведутся одна за другой. Исходные компоненты для смешивания взвешиваются согласно данным рецептуры вручную, затем вводятся в миксер. Однако в других областях промышленности, с высоким давлением конкуренции, затраты на производство снижались за счет непрерывного и полностью автоматизированного ведения процессов, в т. ч. смешивания. В таблице 1 показаны примеры миксеров непрерывного действия в нефтехимии, в производстве детского питания и фармацевтической промышленности. Особый интерес в этой таблице вызывают два параметра: длительность первого цикла и размер использованного миксера. Уже более 50 лет в нефтехимической промышленности применяется технология непрерывного смешивания. Усовершенствования техники взвешивания позволили вести взвешивание непрерывно и, как следствие этого, обеспечить контролируемое и управляемое дозирование исходных компонентов.

Движущей силой такого развития явилось ценовое давление. Непрерывное ведение какого-либо процесса неизбежно предполагает его полную автоматизацию. При этом значительно уменьшаются размеры оборудования и потребность в площадях. Благодаря уменьшению размеров оборудования воздействие на препарат и его обработка становятся более равномерными. Непрерывная технология характеризуется интенсификацией производства. В аппаратном же смысле перенос смесительного оборудования непрерывного действия из нефтехимической в фармацевтическую промышленность требует просто уменьшения его габаритов.. В галенике пропускная способность должна быть отрегулирована в зависимости от последующих процессов (например, производительности пресса для изготовления таблеток) и, как правило, не превышает 100 кг/ч. В области же изготовления дженериков уже сейчас промышленные объемы производства достигают 1 000 кг/ч.

Классическая галеника давно уже включается в эту интенсификацию лишь ограниченно. Средства, предназначенные на развитие, вкладываются в разработку вариантов непрерывного производства ограниченно, хотя в других областях промышленности уже есть готовые и пригодные решения. Причиной этому явилась некорректная интерпретация понятий «партия» или «серия», используемых в директивах FDA. В 2014 году Ж. Вудкок [1] заявила, что в Своде федеральных нормативных актов CFR 210.3 не имеется регламентирующих ограничений для непрерывного производства. Термины «серия» или «партия» в непрерывном

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия



Илл. 1: Технологическая схема дозирующе-смешивающего модуля непрерывного действия (источник: Gericke AG)

Илл. 2: Дозирующе-смешивающий модуль непрерывного действия – технологическая идея (источник: Gericke AG)

производстве касаются определенного времени производства или изготовленного объема, в пределах которых препарат имеет гомогенную консистенцию в заданных границах.

Непрерывное производство

По инициативе FDA некоторые университеты включились в исследование непрерывного производственного процесса для фармацевтической промышленности. Упоминаются здесь MIT (Массачусетский технологический институт) и ERC (Научно-технический исследовательский центр, образованный Ратгерским университетом, Университетом Пердью, Технологическим институтом Нью-Джерси и Университетом Пуэрто-Рико) в США. В своих исследованиях эти организации сконцентрировались на следующей задаче: уже созданное порошкообразное действующее вещество (активная фармацевтическая субстанция - API) нужно непрерывно выводить в его конечную форму. Исследованию подверглись процессы дозирования и смешивания, влажной грануляции, сушки и экструзии. В Европе также проводятся изыскания в данной области: RCPE (г. Грац, Австрия), университеты Дюссельдорфа (Германия) и Гента (Бельгия). При этом ученые ссылаются на более ранние результаты исследований в области общей технологии лишь изредка; фармацевтическая технология все еще может извлечь пользу из достижений в области общей технологии производства.

Промышленное применение

На международной выставке Achema в 2012 году 3 производителя фармацевтического оборудования представили модули непрерывного действия в области производства твердых субстанций; в 2015 году к ним присоединились другие. Центральным узлом непрерывного производства является дозирующе-смешивающий модуль (илл. 1). Он применяется как для прямого прессования, так и в процессах сухой и влажной грануляции, которые ведутся непрерывно.

Технологическая идея непрерывного

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

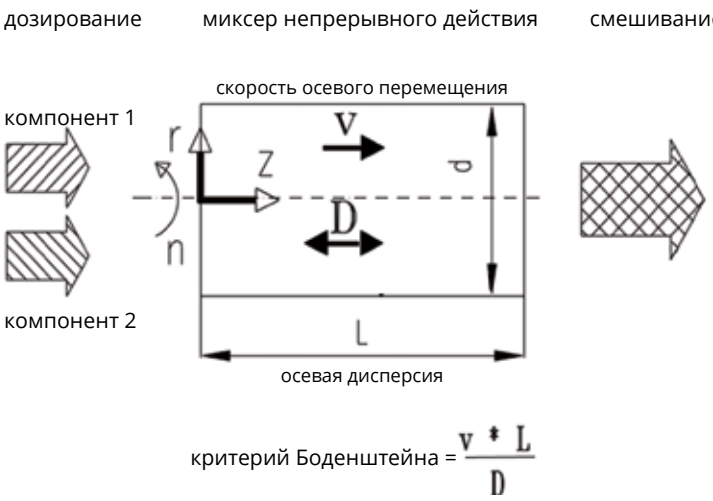
дозирующе-смешивающего модуля

Дозирующе-смешивающий модуль непрерывного действия состоит из гравиметрических дозаторов твердого вещества – наполнителей и активных фармацевтических субстанций (АФС), а также подключенного за ним компактного миксера (илл. 2).

Технологическая идея такова: подающий контейнер для пресса таблетирования, сухой или влажной грануляции, экструзии и т.п. заменяется уменьшенной установкой дозирования и смешивания, работающей по непрерывному принципу. Полезный объем миксера - всего несколько литров. Один и тот же модуль используется для изготовления материала для клинических тестов и для последующего серийной выработки, так что расширять производство не требуется. Пропускная способность дозирующе-смешивающего модуля, измеряемая в кг/ч, регулируется в зависимости от последующего этапа технологии. Точное соблюдение рецептуры обеспечивается благодаря гравиметрическому дозатору непрерывного действия для твердых веществ. В миксер можно добавлять одновременно до 6 компонентов.

Принцип непрерывного производства предполагает, что в одну машину или для одного процесса постоянно подаются несколько потоков исходных материалов, а отводится один поток полученного продукта.

В стационарном состоянии количество продукта, накапливаемого в одной машине или в рамках одного процесса, всегда постоянно. Вот несколько примеров непрерывных процессов в фармацевтической промышленности: экструзия, компактирование (таблеток) и сухая грануляция (валковым прессом), а также процессы смешивания. Исходные компоненты смешиваются в миксере в радиальном и осевом направлении (илл. 3).



Илл. 3: Функциональный принцип дозирующе-смешивающего модуля непрерывного действия (источник: [2])

Качество смешивания

Целью любого процесса смешивания является пространственно равномерное распределение компонентов, вначале в смесительной камере. Решающее значение имеет конечное распределение в пользовательской упаковке. Во многих случаях смешиванию подлежат вещества аналогичной концентрации (например, в соотношении 50:50); с технологической же точки зрения гораздо интереснее процесс распределения микрокомпонентов (действующих веществ) в основном материале. Оптимальное распределение этих компонентов определяется не только выбором миксера для твердых веществ; намного важнее может быть размер частиц используемых материалов. Качество конечного изделия во многом определяется непрерывным процессом взвешивания, предшествующим смешиванию. Любая ошибка в дозировке приводит к отклонению реальной концентрации вещества в конечном продукте от заданного целевого значения.

Гомогенность порошкообразных смесей оценивается зачастую эмпирическим путем. Качество смеси измеряется непосредственно в процессе при помощи сенсоров PAT (Process Analytical Technology – процессно-аналитическая технология) и анализа их показаний. Это позволяет на выходе из непрерывного миксера применить спектроскопию в ближнем инфракрасном диапазоне, при которой определяется концентрация действующего вещества, а также гомогенность готового продукта.

Диапазон отклонения фактической концентрации (дисперсия при выборочном контроле) одного действующего вещества в одной пробе определяет качество смешивания или гомогенность. Чем меньше отклонения концентрации и, соответственно, дисперсия, тем лучше смесь.

Точность такой оценки зависит от количества проб и технологии забора этих проб. При этом необходимо знать, что дисперсия (как критерий качества смеси или гомогенности) снижается с увеличением размера пробы. В одной и той же смеси 10 г проб покажут более высокую дисперсию, чем 1 кг проб.

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Таблица 2

Перспективы применения непрерывной технологии в процессах смешивания твердых веществ в фармацевтике

Общий вывод: усиление позиции непрерывного производства при смешивании твердых веществ	Значение для обработки твердых веществ в фармацевтике
Простота интеграции в уже существующий непрерывный процесс	Изготовление таблеток, экструзия и валковое прессование - это непрерывные технологические процессы
Сниженная потребность в пространстве для смесительной установки непрерывного действия благодаря компактным размерам оборудования	Дозирующе-смешивающий модуль для 4 – 6 компонентов требует для размещения всего 2 x 2 x 2 м
Низкий риск расслоения смеси, т.к. объем процесса небольшой и не требуется опорожнения крупных порционных миксеров или промежуточных емкостей. Количество материала, накапливаемого на промежуточных этапах, значительно уменьшено.	Миксер непрерывного действия объемом 1—10 л. Время изготовления 5 минут, начиная от исходного вещества и заканчивая готовой таблеткой. Быстрота изготовления благодаря более интенсивной технологии.
	Сокращается время разработки благодаря использованию одного и того же смешивающего и дозирующего модуля как для изготовления первого экспериментального препарата, так и для последующего серийного производства товара, готового к продаже. Увеличение размера партии благодаря увеличению времени производства.
Полная автоматизация процесса снижает производственные затраты. Процесс изготовления и качество продукта контролируются высокотехнологичным измерительным и управляющим оборудованием	Дозирующее и взвешивающее оборудование непрерывного действия представляет собой встроенное решение с использованием технологии PAT. Это гарантирует точность соблюдения рецептуры до 0,1 - 0,5 % благодаря высокому разрешению по времени и взвешиванию
Высокое качество продукта: очень равномерный градиент сдвига и ограниченное распределение по времени выдержки обеспечивают высокую гомогенность продукта	Щадящая обработка чувствительных компонентов благодаря низкой скорости, маленькой высоте сбрасывания и малому времени смешивания – меньше 30 секунд
	Сниженное количество отходов [3]

Случайное передвижение частиц приводит к изменению их времени выдержки, которое, в свою очередь, в качестве осевого смешивания позитивно демпфирует колебания дозирования, ограниченные во времени [3]. Конструкция смесительной камеры и лопастей мешалки обеспечивают контролируемое осевое и радиальное смешивание. Таким образом, распределение по времени выдержки оказывается контролируемым. Среднее время выдержки варьируется от 5 до 50 секунд. На среднее время выдержки или нахождения частиц в смесительной камере оказывают влияние многие факторы [2]:

- объемный поток исходных компонентов (от 10 до 500 кг/ч, чем выше показатели процесса, тем короче среднее время выдержки);
- степень открытия спускной перегородки на выпуске из миксера;
- частота вращения миксера;
- форма и угол установки лопастей мешалки.

Эффективность миксера непрерывного действия описывается согласно теории Данквертса со снижением дисперсии [2]. Глубокая дисперсия означает очень высокую степень гомогенности, поэтому дисперсия концентрации или близкая к ней степень стандартного отклонения часто используются как критерий качества смеси.

Гравиметрические дозаторы работают, как правило, по принципу потери веса. Их задача

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

– обеспечение постоянного дозированного потока (массового потока).

Типичная единица измерения массового потока – килограмм в секунду. Массовый поток – это изменение массы (Δm), как правило, в килограммах, за интервал времени Δt, как правило, в секундах или в часах. При непрерывном дозировании посредством взвешивающего оборудования высокого разрешения регистрируется уменьшение веса (= loss in weight) дозатора Δm через короткие интервалы времени Δt. Специальный контроллер задает число оборотов дозирующего шнека таким образом, чтобы обеспечить постоянный массовый поток в этой мехатронной системе взвешивающего и управляющего оборудования.

Дозатор заполняется периодически, что происходит без прерывания производственного процесса. Технологически это может осуществляться пневматическим способом: исходные материалы всасываются по тонким трубкам из подающей емкости. Тонкие когезионные действующие и вспомогательные вещества требуют трудоемких механических и технологических решений.

Когезионные материалы, например, можно точно и фиксировано по времени дозировать и подавать в миксер при помощи сдвоенного шнека (илл. 2). Кроме того, в фармацевтической индустрии существуют высокие требования к ограничению распространения и к надежному и полному очищению. Все это можно обеспечить благодаря постоянному использованию герметичных быстродействующих затворов.

Есть другие решения, позволяющие отсоединить загрязненные емкости дозаторов от редукторных и взвешивающих блоков и надежно очистить в автоклавах. Дозаторы необходимо отрегулировать для применения вместе с миксерами непрерывного действия. Уже на этапе планировки дозирующего и смешивающего модуля необходимо учитывать необходимость легкой и надежной очистки.

Миксеры, используемые в фармацевтической индустрии, имеют объем всего 1-15 л. По сравнению с оборудованием в других областях, перерабатывающим большие объемы, они могут считаться микромиксерами. Однако именно эта миниатюризация позволяет использовать их новым и интересным образом.

В качестве примера следует упомянуть односторонне закрепленные смесительные роторы: такое крепление позволяет буквально за несколько секунд отсоединить от стационарного привода смесительную камеру, ротор и уплотнение вала.

Таким образом, эти некрупные компоненты можно быстро снять с основного оборудования, отдельно их вычистить и поместить в автоклав для стерилизации в атмосфере давления пара. За счет компактности и небольшого веса микромиксер или весь модуль дозирования и смешивания легко встраиваются в изолятор.

Перспективы применения непрерывного режима

Фармацевтическая промышленность, как и другие отрасли, испытывает ценовое давление, которое вынуждает ее искать новые пути в разработке технологических процессов.

Период от разработки нового лекарства до начала его серийного производства длится до 12 лет. Такая длительность связывает серьезные финансовые и кадровые ресурсы. Сокращение любого из этапов напрямую повышает рентабельность нового продукта и создает конкурентные преимущества.

При изготовлении партиями для того, чтобы новое лекарственное средство получило допуск, процесс смешивания в некоторых случаях подвергается валидации до трех раз. Причина в том, что валидации требует каждый из этапов расширения производства:

- в лабораторном масштабе при изготовлении первичного препарата для клинических испытаний;
- на пилотной установке;
- на реальном производственном оборудовании.

Планирование и реализация процесса смешивания, создаваемого трижды, требует времени и денег.

Преимущество непрерывной технологии - в возможности сокращения времени разработки и повышения гибкости производства (ср. таблицу 2).

В этом случае размер партии зависит не от размера миксера, а от количества препарата, произведенного в течение заданного времени. Гравиметрические дозаторы и миксеры представляют собой компактные модули, устанавливаемые непосредственно над прессом для таблеток, гранулятором или экструдером.

Литература

[1] Woodcock, J.: Modernizing Pharmaceutical Manufacturing - Continuous Manufacturing as a Key Enabler M1T-CMAC International Symposium on Continuous Manufacturing of Pharmaceuticals Cambridge, MA May 20, 2014 Center for Drug Evaluation and Research, FDA

[2] Weinekötter, R. ; Reh, L.: Continuous Mixing of Fine Particles, Part. Part. Syst. Charact.12 (1995) 46-53

[3] Weinekötter, R.: Compact and efficient continuous mixing processes for production of food and pharmaceutical powders; Trends in Food Science & Technology 2009

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Асептическое регулирование дозировки малых количеств

Кармен Штарк (Dipl.-Ing.) и Марио Кнехт • GEMÜ Gebr. Müller Apparatebau GmbH &Co. KG, Ингельфинген / Германия

Почтовый адрес: Dipl.-Ing. Carmen Stark, GEMÜ Gebr. Müller Apparatebau GmbH & Co. KG, Fritz-Müller-Straße 6–8, 74653 Ingelfingen / Germany; **e-mail:** carmen.stark@gemue.de

Аннотация

Проектировщикам оборудования часто приходится идти на компромисс для того, чтобы обеспечить возможность точной дозировки малых количеств вещества в асептическом производственном процессе. Обычные мембранные клапаны хорошо приспособлены для очистки, однако не позволяют регулировать количество с необходимой точностью. С другой стороны, существуют седельные клапаны с сильфоном в качестве уплотнительного элемента. Они отличаются высоким качеством регулирования, но с трудом поддаются очистке, особенно при работе с вязкими веществами. Что делать? Возможное решение – седельные клапаны с конической мембраной. В этом варианте преимущества мембранного клапана сочетаются с достоинствами седельных клапанов. Зона, соприкасающаяся с обрабатываемым веществом, отделена от привода посредством мембраны, а количество вещества регулируется надежным фасонным конусом из нержавеющей стали. Такие клапаны обеспечивают высокую точность регулировки при очень хорошей очищаемости. С помощью регулировочной иглы можно отмерять даже очень малый объем вещества. Такая система может работать при подключении обводной линии в процесс очистки.

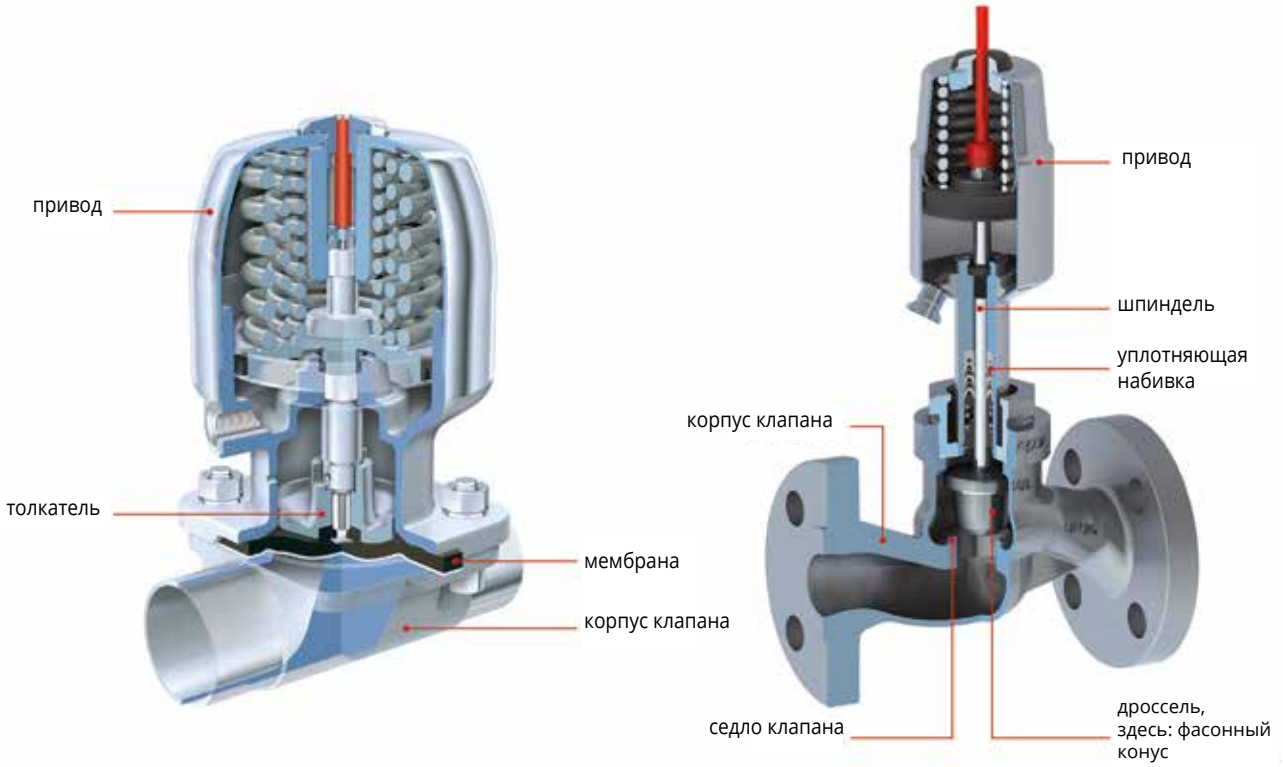
1 Введение

В последние десятилетия очень возросли требования к чистоте и качеству медикаментов. Процессы в фармацевтическом производстве должны быть все более точными и гигиеничными. С одной стороны, это позволяет увеличить срок годности и повысить качество продукта, а с другой – соответствовать строгим предписаниям и условиям допуска. Даже в тех областях, где до сих пор асептические клапаны не применялись, теперь они оказываются все более востребованными. Если необходимо добавлять очень малое количество вещества, выбор правильного клапана становится сложной задачей. Мембранный клапан (илл. 1, слева) – это лучший вариант, когда требуются асептический клапан, так как он легко чистится и приспособлен для безразборной мойки (CIP) и стерилизации (SIP). Клапаны такого типа пригодны и для грубого регулирования. Однако точная дозировка или работа с большим регулировочным диапазоном находятся за пределами возможностей такого клапана, поскольку нельзя отменить заданную площадь поперечного сечения. Седельный клапан с дросселем (илл. 1, справа) дает возможность точной регулировки, но асептическим не является никоим образом, поскольку из-за так называемого эффекта втягивания на шпинделе обрабатываемое вещество попадает в уплотнение и при чистке системы не может быть удалено оттуда. Поэтому в области уплотнения могут размножаться бактерии. Чтобы избежать этого, в качестве уплотнения привода часто используются сильфоны. Однако и на них, между складками, может скапливаться вещество, так что провести удовлетворительную очистку практически невозможно. Вариант решения – регулировочный клапан с использованием так называемой мембранно-плунжерной технологии (Plug-Diaphragm, PD, илл. 2). В таком клапане сочетаются преимущества мембранного и регулирующего клапанов.

2 Выбор регулирующего клапана по пропускной способности Kv

Для сравнения вариантов арматуры и клапанов, различающихся геометрией, принципом работы и величиной условного прохода, испытания и измерения проводятся всегда при одинаковых условиях. Результатом, то есть контрольной величиной, становится при этом пропускная способность, специфическая для данного клапана, которая, помимо прочих показателей, служит основанием для расчетов при планировании оборудования. Пропускная способность как коэффициент объемного расхода, обеспечиваемого клапаном, является величиной постоянной. Значение Kv рассчитывается согласно DIN EN 60534 [1] и указывается в $м^3$/ч. Оно соответствует объемному расходу воды, протекающей через клапан при перепаде давления 1 бар. Для выбора подходящего регулирующего клапана сначала следует вычислить требуемое значение Kv. Для быстрого расчета можно использовать упрощенные фор-

Немецкое производство лекарств / DPI 2016, №1, 38-43
© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия



Илл. 1: Слева: строение мембранного клапана; справа: строение седельного клапана (источник: все иллюстрации – GEMÜ)

мулы из таблицы к илл. 3. Влияние присоединения клапана в данном случае не учитывается.
Параметр Kvs – это коэффициент условной пропускной способности при номинальном ходе клапана 100 % и согласно DIN EN 60534 может отличаться от фактического коэффициента пропускной способности (параметра Kv) на +/- 10 %.

3 Регулирующий мембранно-плунжерный клапан

В регулирующем клапане (клапане PD), в котором применяется мембранно-плунжерная технология, отделение зоны прохождения среды от привода осуществляется с помощью так называемой конической мембраны, а регулировка выполняется через фасонный конус.

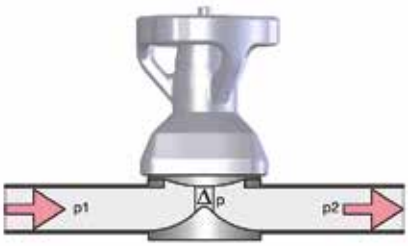
Преимущества мембраны и углового корпуса клапана – это простота очистки и геометрия с минимальной застойной зоной. Благодаря этому клапан PD пригоден для использования в качестве регулирующего для асептических условий и для самых различных задач регулирования. Кроме того, такой клапан может применяться и в других областях, где требуется точность регулировки и простота очистки. Поскольку клапан PD предназначен для использования в асептических условиях, то в нем не только элементы, соприкасающиеся со средой, но и корпус, а также привод выполняются из нержавеющей стали или высокопрочного полимерного материала. Изготовление из нержавеющей стали позволяет чистить внешние поверхности всеми распространенными чистящими средствами. Клапаны из нержавеющей стали более предпочтительны, чем покрытые лаком, не только из-за их очень хорошей очищаемости, но и по причине все возрастающих требований к внешнему виду самого оборудования. Поскольку оборудование для асептического производства изготавливается, как правило, из нержавеющей стали, клапан, выполненный полностью из такой же стали, органичнее вписывается в общую картину.

Илл. 2: Регулирующий клапан на основе технологии PD

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Падение давления	Kv	для воды	для жидкостей	для пара	для газов
$\Delta p < \frac{p_1}{2}$ $\left(p_2 > \frac{p_1}{2}\right)$	Kv	$= \frac{Q}{\sqrt{\Delta p}}$	$= \frac{Q}{31{,}6} \cdot \sqrt{\frac{\rho_1}{\Delta p}}$	$= \frac{\dot{M}}{31{,}6} \cdot \sqrt{\frac{v'}{\Delta p}}$	$= \frac{Q_n}{514} \cdot \sqrt{\frac{\rho_n \cdot T_1}{\Delta p \cdot p_2}}$
$\Delta p > \frac{p_1}{2}$ $\left(p_2 < \frac{p_1}{2}\right)$	Kv	$= \frac{Q}{\sqrt{\Delta p}}$	$= \frac{Q}{31{,}6} \cdot \sqrt{\frac{\rho_1}{\Delta p}}$	$= \frac{\dot{M}}{31{,}6} \cdot \sqrt{\frac{2 \cdot v''}{p_1}}$	$= \frac{Q_n}{257 \cdot p_1} \cdot \sqrt{\rho_n \cdot T_1}$

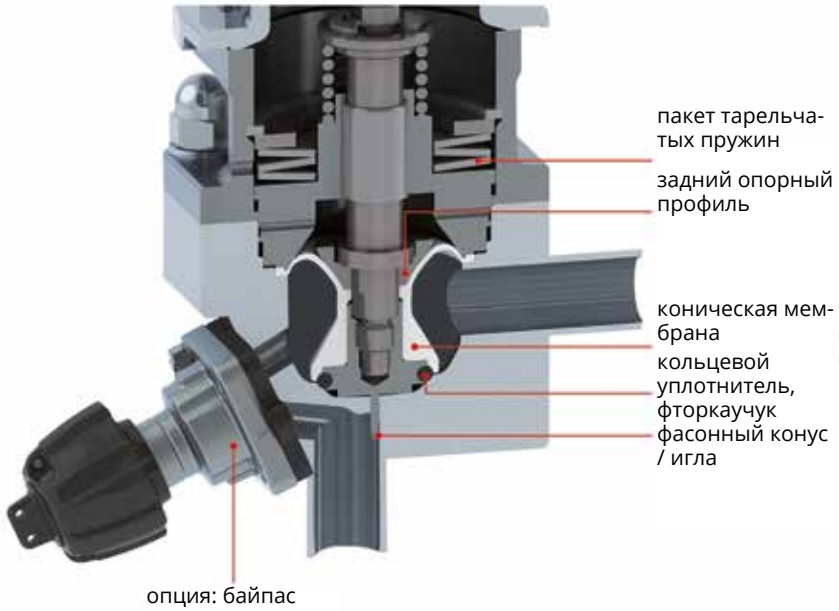
Kv	м³/ч	коэффициент расхода	ρ_1	кг/м³	плотность вещества в рабочем состоянии T_1 и p_2
Q	м³/ч	расход	ρn	кг/м³	плотность газа при 0 °C и 1014 мбар
Qn	м³/ч	объемный поток газа при 0 °C и 1014 мбар	v_3	м³/кг	удельный объем пара при T_1 и p_2
p_1	бар	абсолютное давление перед исполнительным элементом (при Q)	v_3	м³/кг	удельный объем пара при $p_1/2$ и T_1
p_2	бар	абсолютное давление после исполнительного элемента (при Q)	M	кг/ч	массовый поток
Δp	бар	(Δp) – перепад давления p_1 - p_2 (при Q)	T_1	K	температура среды



Илл. 3: Определение значения Kv

4 Функциональное устройство

Регулирующий клапан, выполненный с применением мембранно-плунжерной технологии, состоит из привода, проставки и корпуса (илл. 4). Исполнительный механизм клапана может быть сделан в виде поршневого, ручного или электропривода. Проставка служит для соединения. Отверстие для контроля утечек и кольцевой паз, имеющиеся в проставке, позволяют быстро обнаруживать утечку. Коническая мембрана служит для герметичной изоляции потока среды от клапанного привода. Собственно регулирующая функция выполняется посредством фасонного конуса из нержавеющей стали, расположенного под конической мембраной.



Илл. 4: Функциональное строение регулирующего клапана на основе технологии PD

Немецкое производство лекарств / DPI 2016, №1, 38-43
© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Уплотнение седла клапана осуществляется посредством кольцевого уплотнителя, установленного на регулировочном конусе. Такой способ уплотнения обеспечивает «мягкую» герметизацию и плотное закрытие, которое достигается в течение всего срока службы клапана. Кроме того, посредством кольцевого уплотнителя осуществляется уплотнение между конической мембраной и регулирующим конусом и тем самым исключается возможность попадания среды в клапанный привод. Материал фторкаучук (FPM) был выбран, поскольку он исключительно устойчив ко многим средам. Для него не представляют опасности алифатические, эфирные, хлорированные углеводороды, а также минеральные масла, концентрированные или разбавленные кислоты и слабые щелочи. Фторкаучук также прекрасно подходит для работы с животными и растительными жирами, а также с водой для инъекций. Циклы безразборной мойки и дезинфекции также не наносят ему вреда.

Корпус клапана из нержавеющей стали (1.4435) оптимизирован под поток и имеет такую геометрическую форму, которая обеспечивает холостой ход также и в закрытом состоянии. Условием для этого является горизонтальная установка клапана. Для обеспечения геометрии корпуса, максимально удобной для очистки, предварительно были проведены многочисленные испытания с моделированием потока. Поэтому, например, сливной штуцер был подтянут как можно ближе к конической мембране. В этом месте действие сил сдвига максимально, вследствие чего очищаемость улучшается. Теоретические результаты были подтверждены испытаниями с рибофлавином: ни внутри клапана, ни в уплотнительных зазорах остатков рибофлавина обнаружено не было.

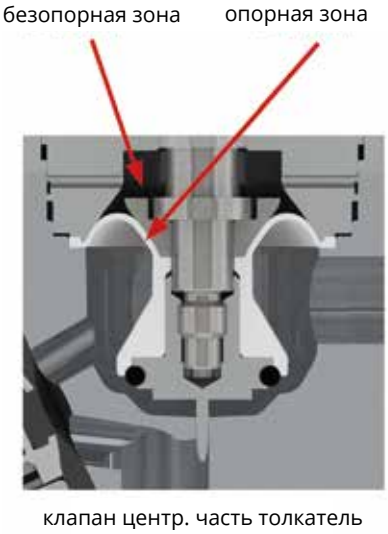
Чем меньше объем, который необходимо отмерить, а также чем меньше требуемое значение Kv, тем меньше становится и внутренний диаметр седла клапана. Диаметр иглы может быть 2 мм, и внутренний диаметр седла, следовательно, тоже. Например, игла диаметром 2 мм с минимальным Kvs = 0,063 м³/ч работает в диапазоне Kv = 6-63 л/ч.

Чтобы обеспечить устойчивое обтекание седла и конуса даже при таких малых значениях расхода протекающей жидкости и тем самым гарантировать максимально возможное качество очистки, было разработано решение с обводным клапаном. Во время процесса очистки открывается встроенный байпас, что гарантирует полное очищение.

В случае необходимости подключения нескольких клапанов, например, обычных мембранных и клапанов PD, а места для этого мало, имеется возможность соединить все вентили в единый многоходовой клапанный блок, изготавливаемый под конкретные требования заказчика.

5 Ключевой элемент: коническая мембрана

Коническая мембрана вместе с патентованным профилем заднего седла образуют ключевой элемент клапана. Для изготовления выбран политетрафторэтилен, или фторопласт (ПТФЭ). Это синтетическое соединение состоит из линейных, предельно длинных углеродных цепей, окруженных исключительно атомами фтора. Атомы фтора прикрывают атомы углерода, защищая молекулу от химического воздействия. Этот материал характеризуется очень широким температурным диапазоном применения и почти универсальной устойчивостью к химическим веществам, а также химической нерастворимостью. Кроме того, ПТФЭ не впитывает воду и не содержит примесей – другими словами, это материал очень высокой степени чистоты. Другими достоинствами этого материала являются высокая прочность на разрыв и способность сохранять форму, а также очень низкая склонность к прилипанию.



Илл. 5: Поддержка конической мембраны опорным профилем заднего седла

Еще лучше себя зарекомендовал материал TFM®, представляющий собой модифицированный ПТФЭ. TFM обладает теми же свойствами, что и фторопласт, но имеет еще ряд иных достоинств. Это, помимо прочего, более плотная, малопористая полимерная структура, благодаря которой материал имеет меньшую проницаемость и более гладкую поверхность. По химическому строению он отличается от обычного фторопласта тем, что в линейную полимерную цепь встроен модифицированный перфторвинилэфир. Выбранный материал пригоден для безразборной мойки и стерилизации и, кроме того, имеет допуск Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA). Геометрическая форма мембраны зависит от имеющегося монтажного пространства, то есть от диаметра мембраны и от требуемого хода. В регулирующем клапане ход мембраны должен быть максимально большим, чтобы возможна была точная настройка заданных параметров. Чем больше ход, тем точнее регулировка,

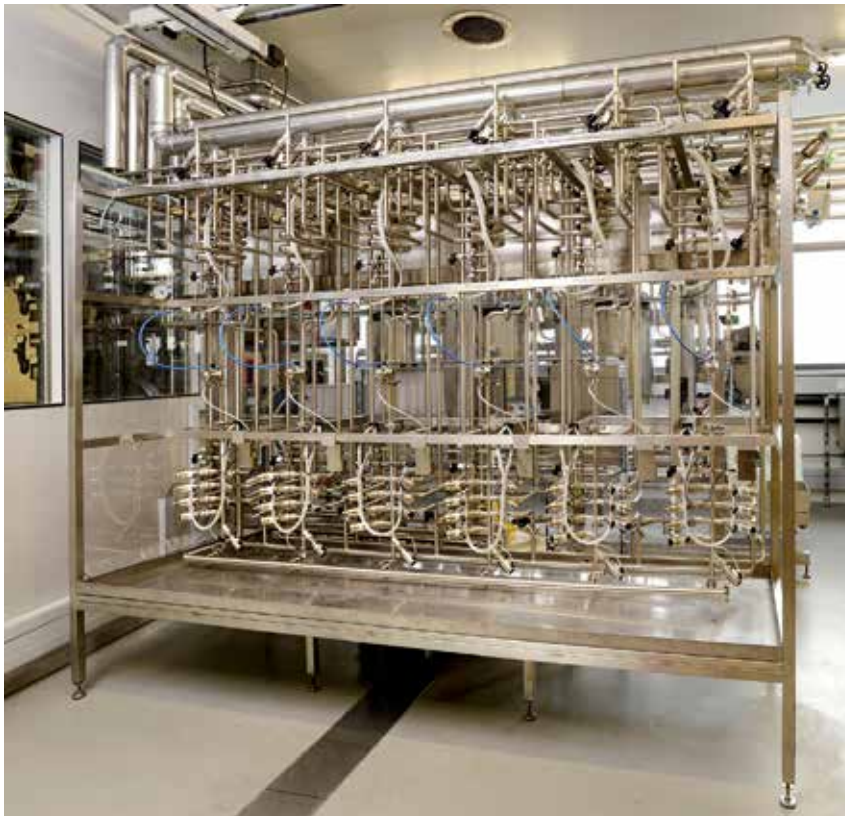
© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

осуществляемая клапаном. Вместе с тем при большом ходе снижается срок службы мембраны. Другими определяющими факторами являются максимальное рабочее давление и рабочая температура. В данном случае эти значения соответствуют макс. 10 бар и макс. 100 °C (температура стерилизации – 160 °C, макс. 30 минут). Чем выше рабочее давление, тем толще должна быть мембрана. Однако более толстая мембрана означает также, что для деформации мембраны требуется и бóльшая сила, вызывающее смятие. Все эти требования должны быть выполнены как можно более полно. Благодаря патентованному корпусу заднего седла, состоящему из двух деталей (илл. 5), точно отрегулированному под раскатывание мембраны, есть возможность обеспечить и большой ход, и соответствующее давление. Для достижения длительной и независимой от температуры герметизации коническая мембрана спрессовывается с помощью пакета тарельчатых пружин. Благодаря этому отпадает необходимость подтягивать винты, как это делается в конструкциях с обычными мембранами.

За теоретическими выкладками последовали практические испытания в условиях, приближенных к реальным, на испытательных стендах на заводе-изготовителе. Поскольку срок службы мембраны зависит от множества разных воздействий, клапан был подвергнут нескольким статическим и динамическим испытаниям. Еще до их начала мембрана должна была выдержать испытания на растяжение под воздействием температуры. Затем последовали статические испытания, то есть испытания на герметичность, при которых устанавливается внешняя герметичность клапана и герметичность седла. Согласно DIN EN 12266 [2] минимальное испытательное давление над седлом должно составлять не менее 1,1 максимального рабочего давления, а при испытании внешней герметичности, соответственно, минимум 1,5 максимально допустимого рабочего давления. Представляемый здесь клапан классифицирован согласно DIN IEC 60534-4 [3], и ему присвоен класс герметичности IV. Испытание на герметичность стало важным критерием для определения срока службы клапана.

Для проверки долговечности клапан был подвергнут динамическим испытаниям. Коническая мембрана испытывалась во встроенном состоянии. Установленный рабочий цикл – 5 секунд в открытом состоянии и 5 секунд в закрытом. Испытания проводились с холодной водой, вакуумом (среда – воздух) и без среды. Для максимально точной имитации циклов очистки, проводимых при биологических процессах, были проведены так называемые испытания смоделированной стерилизации. Цикл очистки включал следующее: стерилизацию паром при открытом клапане, работу с очищающим паром 135 °C, вакуумом 0,8 бар при открытом клапане, работу с холодной водой 4 °C и в заключение повторную работу с вакуумом. По окончании весь цикл повторялся сначала.

На стерилизационном испытательном стенде завода-изготовителя требования были выполнены с превышением. Клапан прошел в два раза больше циклов переключения, чем сравнимые мембранные клапаны. Для проверки корректной работы до начала испытания на долговечность и после его окончания согласно DIN EN 12266 была проведена проверка на герметичность. Названные испытания являются главными для выдачи разрешения на применение конической мембраны и всего клапана в целом. Дополнительно могут быть проведены особые испытания на стенде для безразборной мойки и стерили-



Илл. 6: Испытательный стенд безразборной мойки (CIP) и стерилизации (SIP)

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

зации, если заводские стандарты заказчика этого требуют (илл. 6).

6 Возможности применения регулирующих клапанов с технологией PD

В фармакологическом производстве для различных операций требуется стерильный воздух. Он служит, например, для стерильной сушки (Drying In Place – DIP) оборудования после безразборной мойки и стерилизации. Благодаря такой сушке гарантируется отсутствие микроорганизмов на оборудовании и в резервуарах для хранения и тем самым исключается загрязнение рабочей среды. Для этого необходимо обеспечить идеальную очистку и стерилизацию клапана с полным удалением микроорганизмов и других загрязнений. Это достижимо благодаря профилю конической мембраны.

Описываемые здесь клапаны находят применение в различных областях асептического регулирования, поскольку отличаются хорошей очищаемостью и регулирующей способностью. В частности, клапаны применяются для регулирования стерильного пара или воздуха, например, в сепараторах. Кроме того, клапаны такого вида применяются в биореакторах для регулирования подвода и отвода сред различной вязкости или воздуха. Точная регулировка позволяет вводить в реактор или выводить из него среды, смешивая с другими в точных пропорциях. Асептические клапаны такого вида могут использоваться также для регулирования малого потока – например, между двумя резервуарами.

Эти клапаны могут находить применение на фармацевтическом оборудовании, например, для настройки и регулировки значения pH. Это делается посредством дозирования щелочи или кислоты.

Здесь указаны только некоторые возможности применения описываемых клапанов. Их можно использовать почти в любых случаях, когда требуется регулирование малого потока или дозирование малого количества. Асептические клапаны применимы в системах оборудования и на участках производства, где нужен допуск в соответствии с требованиями директив Евросоюза по защите от взрывов (Atmosphere explosìble – ATEX).

Литература

[1] DIN EN 60534 2-3 Stellventile für die Prozessregelung, Durchflusskapazität – Prüfverfahren, Dezember 1998.

[2] DIN EN12266-2 Industriearmaturen - Prüfung von Armaturen aus Metall, April 2012.

[3] DIN EN 60534-4 Stellventile für die Prozessregelung, Juni 2006.

www.lbbohle.com

LB BOHLE

Лидер в сфере технологий:
КОАТЕР BOHLE BFS.

- В центре конструкции – двойная винтовая спираль
- Смешивание в противотоке на двух уровнях
- Максимальная площадь поверхности и длина распыления: соотношение длины к диаметру (L:D) >1
- Предотвращение высыхания наносимого покрытия – нагревается только слой таблеток
- Эффективная очистка CIP барабана под давлением
- Безопасное масштабирование

Получаемые преимущества:

- Увеличение производительности на 40%
- Наилучшая однородность нанесения покрытия (RSD <2%)
- Минимальные потери наносимого покрытия <5%

Протестируйте запатентованный коатер Bohle BFC!

Контроль окружающей среды по правилам GMP и мониторинг процессов асептической обработки

Джеймс Л. Дринкуотер • Franz Ziel GmbH, Биллербек / Германия)

Почтовый адрес: James L. Drinkwater, Head of Aseptic processing technologies and GMP compliance, Franz Ziel GmbH, Josef-Suwelack-Str. 20, 48727 Billerbeck, Germany; **e-mail:** James.Drinkwater@ziel-gmbh.com

Аннотация

При производстве стерильной лекарственной и медицинской продукции необходим подход в соответствии с программой оценки рисков и правилами надлежащей производственной практики (Good Manufacturing Practice, GMP). Основные нормативные требования отражены в системе управление рисками для качества (Quality Risk Management, QRM). Она предполагает правильное планирование процесса, понимание его слабых мест, проведение работы по изучению этих слабых мест и принятие соответствующих мер контроля (технических и организационных) для уменьшения рисков до низкого и контролируемого уровня.

В целом это относительно просто: понять процесс, включая критические показатели качества (CQA), и таким образом выявить существующие при производстве стерильной продукции риски для качества продукции и безопасности пациента. После того, как риски выявлены, можно применять меры контроля и определять отклонения параметров.

Несмотря на кажущуюся прямолинейность этих принципов, фирмы сталкиваются с трудностями при принятии реальных технологических решений в соответствии с прогнозируемыми результатами GMP, основанной на оценке рисков. В данной статье рассматриваются некоторые принципы экологического контроля и мониторинга на основе оценки рисков с целью оказать помощь в применении мер контроля рисков и методов экологического мониторинга в соответствии с идеей лучшей практики.

Обзор задач

Меры контроля должны снижать риск до приемлемых уровней. Предотвратить все риски нельзя, но их можно контролировать. Однако при установлении мер контроля возникают проблемы, поскольку новые виды продукции – включая новые биологические препараты – ставят уникальные задачи обработки (илл. 1) с растущими требованиями к контролю перекрестного загрязнения, а также с новыми технологиями производства и экологического мониторинга (например, системы одноразового использования и быстрые микрометоды (RMM) мониторинга окружающей среды).

Контроль прямого и перекрестного загрязнения начинается с надлежащего технологического проектирования. На сегодняшний день предпочтительнее проектировать такие технологические решения, которые просто не позволят оператору сделать то, что является нежелательным. Не должно быть таких конструктивных решений оборудования, для которых сбой в работе оператора и человече-

Автор

Джеймс Л. Дринкуотер

Джеймс Л. Дринкуотер является главой отдела технологий асептической обработки и соответствия правилам GMP фирмы Franz Ziel GmbH. Он работает в сфере асептической обработки, специализируясь на барьерной технологии, изоляторах, барьерных системах ограниченного доступа (RABS) и соответствующих передаточных устройствах. В качестве председателя некоммерческого Общества фармации и валеологии (PHSS) участвует в образовательных программах GMP и ведет ряд специальных групп, в том числе по темам биологического загрязнения и мониторингу технологических процессов, основанному на оценке рисков.

Немецкое производство лекарств / DPI 2016, №1, 44-52
© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

ская ошибка представляют высокий риск.

Эффективность стерильной медицинской и терапевтической продукции увеличивается при использовании биологических «систем доставки», в число которых входят антитела и вирусные векторы. Кроме того, некоторые виды конъюгированной продукции используют подобные системы для целевой доставки токсичного компонента, применяемого при лечении онкологических больных. Такие виды продукции требуют асептической обработки, поскольку они, как правило, не могут быть окончательно простерилизованы в контейнере, содержащем готовую продукцию.

Для соответствия современным нормативным требованиям при асептической обработке применяются меры контроля риска загрязнения с использованием технологии разделительного барьера [1], изоляторов, а также барьерных систем с ограниченным доступом (Restricted Access Barrier Systems, RABS). Если для того или иного процесса необходим контроль перекрестного загрязнения, это часто означает, что требуется та или иная форма защиты, приводящая к необходимости расширения локализующих свойств изоляторов свыше возможностей, предоставляемых системами RABS. Для контроля перекрестного загрязнения важно, чтобы продукция оставалась в заданных границах технологической зоны с контролем поступления и выхода материала, и чтобы материал можно было обеззараживать в этих границах. Конструкция технологической линии не должна иметь зон, недоступных для механической очистки, или застойных участков.

Исходя из различных видов продукции, были разработаны три типа асептической обработки (илл. 1):

- асептическая обработка стерильных безопасных лекарственных средств, например, фармацевтических препаратов или непатогенной биологической продукции, требующая защиты от загрязнения в процессе производства/наполнения;
- асептическая обработка токсичных стерильных лекарственных средств, включая цитотоксины, требующая мер контроля по защите продукции и оператора (и, возможно, контроля перекрестного загрязнения);
- асептическая обработка биологически опасной продукции, включая биологические препараты и живые вирусы, требующая мер контроля по защите продукции, оператора, а также контроля перекрестного загрязнения.

Илл. 1: Три типа асептического производства, разработанные исходя из различных типов продукции (все иллюстрации: Franz Ziel GmbH)

В связи с изменением профилей продукции больше внимания уделяется проблемам обработки небольших партий, имеющих разные требования к асептической обработке [2]. Это ведет к расширению линейки продукции, выпускаемой на одном производственном объекте, и смещению акцента на контроль перекрестного загрязнения.

При обработке биологической продукции происходит переход от «обработки в закрытой системе», где продукция или исходные компоненты находятся внутри закрытой системы (например, в ферментаторе, реакторе и т.д.), в «обработку в открытой системе», где продукция открыто подвергается воздействию производственной среды, соответствующей требованиям стандартов ISO 14644-1, ISO 5/VDI 2083-3 (например, во время заполнения открытых контейнеров). В Приложении 1 к правилам GMP для ЕС указаны экологические классы от ISO 5/EU-A до ISO 8/EU-C, устанавливающие общие требования к содержанию частиц размером 0,5 и

Илл. 2: Баланс технических и организационных мер контроля

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Таблица 1

Примеры технических и организационных мер контроля

Технические меры	Организационные меры
Качество технологического проектирования: в проекте производственного процесса сочетаются элементы контроля прямого и перекрестного загрязнения с действующими правилами надлежащей медицинской практики (GMP), требованиями к качеству продукции и безопасности пациента. Открытые или закрытые систем обработки.	Фармацевтическая система обеспечения качества (PQS). Управление рисками при обеспечении качества (QRM). Процедуры: стандартные операционные процедуры (СОП) – графическое представление (передовая практика). Обучение – обмен знаниями между поставщиками и службой контроля качества (QA)/производственным отделом/операторами
Разделение контролируемых областей на зоны и применение режимов дифференциального давления с целью: 1) защиты продукции; 2) предотвращения перекрестного загрязнения.	Специализированные производственные объекты. Специализированное оборудование (полностью или частично). Организация переодевания на входе в чистые помещения, включая применение средств индивидуальной защиты (PPE).
Воздушный поток; защита продукции/предотварщение распространения заражения. Отделение операторов от технологического процесса/продукции с помощью барьерной технологии; герметичность барьера.	Оборудование, используемое для разных типов продукции, при смене типа и/или партии, подвергается чистке/обеззараживанию. Управление аутсорсингом/цепочкой поставок.
Системы одноразового применения. Устройства закрытой передачи материала, например, порт быстрой передачи (RTP) альфа/бета. Передача материала происходит с применением этапа обеззараживания, например, парообразной перекисью водорода (VHP). Процессы обеззараживания: мойка, стерилизация, поверхностная стерилизация, дезинфекция, химическая дезактивация.	Разделение производства продукции по периодам, например, сезонным, с проведением чистки/обеззараживания между периодами. Асептические/стерильные условия хранения для каждой партии продукции. Быстрая переналадка под производство другого типа продукции (короткое время простоя). Планирование мероприятий по восстановлению технологического процесса в случае аварий/значительных отклонений параметров.

5,0 мкм, а также пределы микробиологических уровней в колониеобразующих единицах (КОЕ).

При обработке в закрытой системе остаются риски перекрестного загрязнения; при обработке в открытой системе существует значительный риск увеличения загрязнения в асептических соединениях, при отборе проб и переносе продукта.

Экологическое окружение закрытых систем требует определенного уровня контроля биологической нагрузки и соответствующего мониторинга, причем с гораздо более масштабным экологическим контролем и мониторингом из-за увеличения рисков, возникающих, когда продукция подвергается воздействию окружающей среды, соответствующей стандарту ISO 5.

Чтобы иметь уверенность в том, что текущее состояние контроля соответствует заданному и удовлетворяет необходимым нормативным требованиям, производственные среды, соответствующие требованиям стандарта ISO 5 (воздействию которых подвергается стерильная продукция), требуют тщательного контроля, мониторинга и отслеживания динамики данных.

Баланс технических и организационных мер контроля при производстве стерильной продукции

Для надлежащего технологического проектирования с соблюдением требований заданного качества продукции, а также эффективности и безопасности пациентов, необходим баланс между мерами технического и организационного контроля (илл. 2). Подход к производству стерильной продукции должен быть представлен в стратегии управления [3], которая является составной частью требований GMP.

Ключевое значение в технологическом проектировании имеет масштаб открытой и закрытой систем обработки, а также баланс между ними.

Чем больше стерильной продукции обрабатывается в открытой системе, тем больше риски подвергнуть ее загрязнению. В закрытых системах могут иметься одноразовые пакеты, поточные линии и соединения, объединенные в стерильную систему.

Требования правил GMP должны быть всё в большей степени сбалансированы в отношении обеспечения безопасности оператора и/или контроля перекрестного загрязнения.

Меры предосторожности на уровне биологической защиты (Biological safety level, BSL) характерны для обработки патогенных микроорганизмов, где первостепенное значение отводится защите оператора и окружающей среды.

Часто указываются камеры с отрицательным давлением и воздухообменом с однонаправленным потоком воздуха, но такая мера контроля при асептической обработке не в полной мере соответствует требованиям по обеспечению безопасности пациента, так

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

как любое натекание извне в подобные камеры может поставить под угрозу стерильность содержащейся в ней продукции, а следовательно, безопасность пациента.

Кроме того, в соответствии с правилами GMP ключевым признаком управления в средах, соответствующих требованиям стандарта ISO 5, является однонаправленный поток воздуха, что не совсем соответствует требованиям, предъявляемым к контролируемым зонам с однонаправленным потоком воздуха.

Меры защиты в фармацевтике должны толковаться в соответствии с правилами GMP таким образом, чтобы не ставить под угрозу качество стерильной продукции и безопасность пациента.

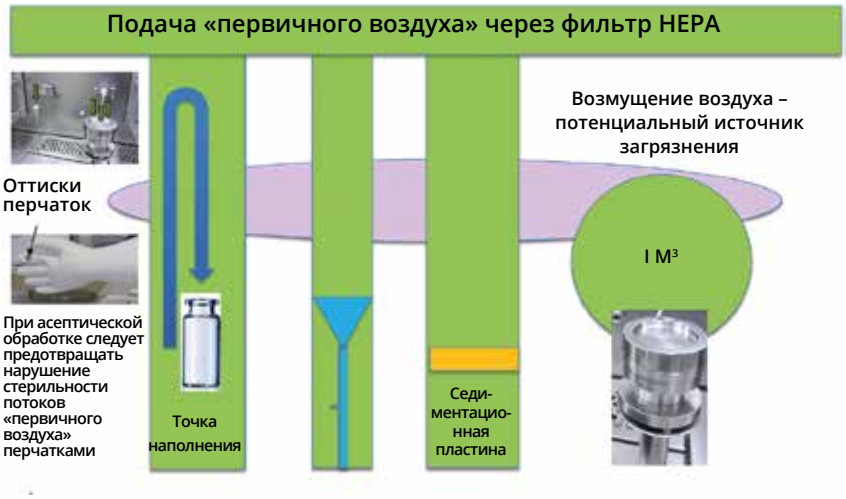
Общество фармации и валеологии (Healthcare Sciences Society, PHSS) в публикации Biocontamination technical monograph 20 [4] разъясняет иерархию мер, которую необходимо соблюдать для обеспечения баланса между требованиями защиты и правилами GMP. Для достижения устойчивости технологического решения при его проектировании необходимо учитывать производительность/выработку, доступные ресурсы и возврат инвестиций.

Технические и организационные меры контроля будут меняться в зависимости от типа асептической обработки.

В таблице 1 приведены разновидности технических и организационных мер, которые должны учитываться при контроле прямого и перекрестного загрязнения.

Основные требования к асептическому наполнению для безопасной продукции

- Асептическая обработка с применением барьерной технологии, включая изоляторы и системы RABS, обеспечивающая соответствующие требованиям стандарта ISO 5 контролируемые



Илл. 3: Сочетание методов мониторинга окружающей среды

среды со встроенными системами экологического мониторинга на основе оценки рисков, а также системами отслеживания тенденций изменений.
- Фоновая среда для создания разделительного барьера: чистое помещение в соответствии с требованиями стандарта ISO 8 (передовая практика) для «открытой обработки» фармацевтической продукции. Фоновая среда для систем RABS: чистое помещение в соответствии со стандартом ISO 7/EU-B. Зона наполнения с избыточным давлением по отношению к окружающей среде.
- Система отопления, вентиляции и кондиционирования воздуха (HVAC), настроенная на частичную рециркуляцию с притоком свежего воздуха.
- Система воздухоподготовки изолятора/RABS, настроенная на частичную рециркуляцию и воздухообмен с забором воздуха из окружающей среды и возвратом его туда же.
- Для безопасности изоляторов требуются закрытые передаточные устройства, передающие обрабатываемые и контролируемые материалы в зону технологического процесса, соответствующую требованиям стандарта ISO 5 (в том числе седиментационные пластины для экологического мониторинга). В случае применения систем RABS в точках передачи стерилизованных предметов через барьер можно использовать аэродинамическую защиту, предотвращающую загрязнение зоны RABS, соответствующей требованиям стандарта ISO 5.
- В изоляторах, как правило, применяется дезинфекция газообразными средствами, а именно парообразной перекисью водорода (vH2O2). В системах RABS обычно применяется ручная дезинфекция, при которой все контактирующие с продукцией детали стерилизуются вне места применения, передаются к барьеру и собираются в асептических условиях на месте.
- Готовые к использованию (Ready to Use, RTU) предварительно простерилизованные контейнеры для продукции (флаконы, шприцы или картриджи) могут поступать в соответствующую требованиям стандарта ISO 5 зону наполнения через системы выемки/ бесконтактной передачи (No-Touch-Transfer systems, NTT) [5]; применяемые меры контроля загрязнения: сочетание перепадов давления и аэродинамической защиты. Такая технология может заменять собой другие методы обеззараживания внешних поверхностей

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Таблица 2

Комбинированные программы мониторинга окружающей среды, обеспечивающие мониторинг всего процесса контроля

План отбора проб для мониторинга окружающей среды Этап квалификации
Определение характеристик при запуске и классификация в период простоя (квалификация производственной операции – OQ).
Квалификация эксплуатационных качеств (PQ) при организации контроля окружающей среды: моделирование процесса/наполнение средами.
Регулярный мониторинг окружающей среды на производственных участках отбора проб, выбранных на основе оценки рисков: отслеживается динамика результатов мониторинга окружающей среды и количество случаев отклонения параметров.
Мониторинг окружающей среды по окончании изготовления партии/производственного этапа: мониторинг окружающей среды, включая отбор проб с поверхностей (отслеживается динамика).

«стаканчиков» контейнеров (например, с помощью систем E-Beam).

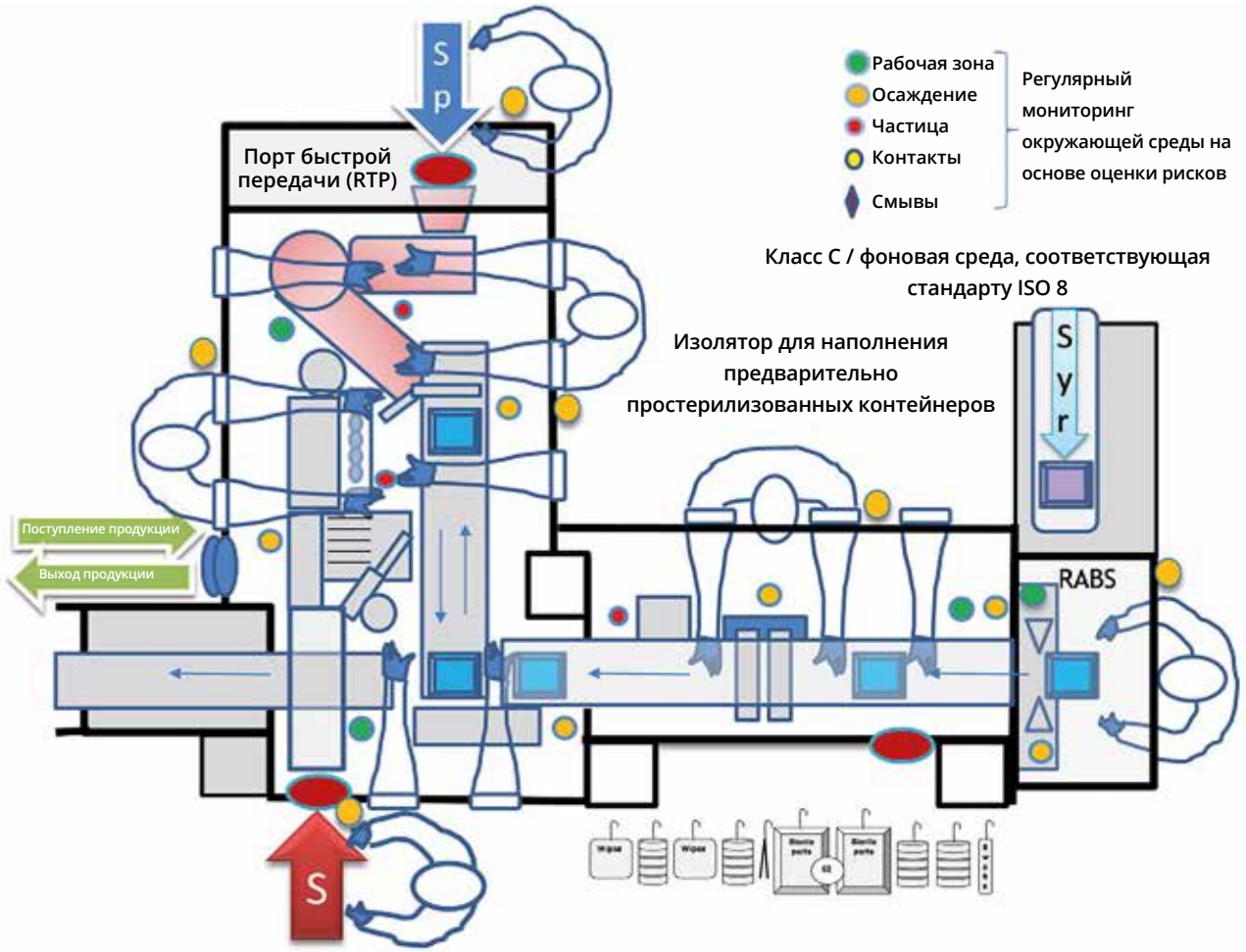
Основные требования к асептическому наполнению токсичной (цитотоксичной) продукции

- Асептическая обработка при технологии барьерного изолятора требует обеспечения контролируемых сред, соответствующих стандарту ISO 5, встроенными системами экологического мониторинга на основе оценок риска.
- Фоновая среда изолятора: чистое помещение по стандарту ISO 8 для «открытой обработки» фармацевтической продукции. Избыточное давление зоны наполнения превышает давление окружающего пространства, но для обеспечения защиты от загрязнения оно должно быть менее избыточным, чем давление среды любого из дополнительных смежных модулей изолятора по стандарту ISO 5.
- На выходе контейнера из изолятора может потребоваться «активный» порт, необходимый для выброса содержащегося воздуха и предотвращения смешивания воздуха изолятора с воздухом окружающей среды.
- Для предотвращения распространения загрязнения на последующие участки технологической линии может потребоваться система мойки/обеззараживания внешней поверхности контейнера с продукцией.
- В чистом помещении необходимо наличие системы HVAC, настроенной на частичную рециркуляцию и приток свежего воздуха. Система подвода воздуха в помещение и (в зависимости от рисков) система отвода отработанного воздуха через разделительный барьер должны быть оснащены концевыми высокоэффективными фильтрами очистки воздуха по частицам (High Efficiency Particulate Air Filter, HEPA).
- Система воздухоподготовки изолятора, настроенная на частичную рециркуляцию и воздухообмен. Забор воздуха может осуществляться из окружающей среды или специального блока подготовки воздуха (Air Handling Unit, AHU), а вывод отработанного воздуха из вентиляционной системы наружу – через HEPA при двойном фильтровании с мешочной системой безопасной замены фильтра на границе главной защиты.
- Безопасные «закрытые» передаточные устройства для всех используемых в технологическом процессе материалов (включая материалы, используемые для экологического мониторинга), поступающих в зону, соответствующую стандарту ISO 5, и покидающих ее.
- Готовые к использованию предварительно простерилизованные контейнеры могут попадать в среду наполнения, соответствующую стандарту ISO 5, через устройство системы выемки/ бесконтактной передачи вместе с дополнительными разделительными модулями (с каждой стороны зоны наполнения). Этим обеспечивается барьер высокого давления для воздушных потоков, поступающих в среду, соответствующую стандарту ISO 5, и в разделительный модуль (без смешивания).
- Системы безразборной мойки (CIP) для поверхностей барьера/оборудования, загрязняемых в процессе обработки. Осуществляется обработка и удаление всех загрязненных отходов.
- Обеззараживание поверхности разделительного барьера, неконтактных поверхностей оборудования, стерилизация поверхностей запирающих воронок и направляющих деталей, а также тары с упакованным продуктом, плохо поддающихся ручной дезинфекции, выполняются с применением газообразной перекиси водорода (Gaseous Vaporised Hydrogen Peroxide, VHP).

Основные требования к асептическому наполнению биологически опасной продукции, включая биологические препараты и живые вирусы

- Асептическая обработка по тех-

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия



Илл. 4: Места отбора проб для мониторинга окружающей среды

нологии барьерного изолятора обеспечивает защиту с созданием контролируемых сред, соответствующих стандарту ISO 5, со встроенными системами экологического мониторинга на основе оценок риска.

- Фоновая среда для создания разделительного барьера: чистое помещение в соответствии с требованиями стандарта ISO 8 для «открытой обработки» фармацевтической продукции (передовая практика по правилам GMP).
- Система отопления, вентиляции и кондиционирования (HVAC) чистого помещения должна быть настроена на воздухообмен с однонаправленным потоком воздуха с применением в системе подачи воздуха на границе чистого помещения оконечных фильтров HEPA и двойных выходных фильтров с первичным выходным заграждающим фильтром класса ULPA, соответствующим требованиям биологической безопасности (Biological safety, BSL). Требуется обеспечивать баланс между мерами защиты и текущими правилами GMP, не снижая уровень безопасности пациента или качества продукции.
- Система воздухоподготовки изолятора, настроенная на частичную рециркуляцию и воздухообмен в соответствии с требованиями стандарта ISO 5 в отношении асептической обработки, необходима в случае когда асептическое наполнение в биологически безопасные контейнеры осуществляется без учета принятых норм.
- Безопасные «закрытые» передаточные устройства для всех используемых в технологическом процессе материалов, поступающих в зону, соответствующую стандарту ISO 5, и покидающих ее.
- Забор воздуха может осуществляться из окружающей среды или специального блока AHU, а вывод отработанного воздуха из вентиляционной системы наружу – через фильтры сверхвысокой эффективности (Ultra Low Penetration Air, ULPA) и HEPA при двойном фильтровании с мешочной системой безопасной замены фильтра на границе главной защиты. Для границы главной защиты изолятора и встроенного оборудования должны быть предусмотрены системы безразборной чистки и обеззараживания.
- Готовые к использованию предварительно простерилизованные контейнеры могут

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

попадать в среду наполнения, соответствующую стандарту ISO 5, через устройство системы выемки/ бесконтактной передачи вместе с дополнительными разделительными модулями (с каждой стороны зоны наполнения). Этим обеспечивается барьер высокого давления для воздушных потоков, поступающих в среду, соответствующую стандарту ISO 5, и в защитную зону изолятора (без смешивания).

- Обеззараживание поверхности разделительного барьера, неконтактных поверхностей оборудования, стерилизация поверхностей запирающих воронок и направляющих деталей, а также тары с упакованным продуктом, плохо поддающихся ручной дезинфекции, выполняются с применением газообразной перекиси водорода. При необходимости применение газообразной перекиси водорода может быть также предусмотрено для очистки окружающей среды от вирусов.

Контроль окружающей среды на основе оценок риска: классификация и мониторинг

В принципе определяющим для контроля окружающей среды являются уровни «общего содержания частиц» – по двум контрольным размерам частиц для Европы (0,5 мкм и 5,0 мкм) и только по одному размеру (0,5 мкм) для США в соответствии с требованиями Управления по надзору за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств (FDA). Кроме того, осуществляется мониторинг микробиологических уровней КОЕ, которые не должны превышать уровни/пределы, установленные в Приложении 1 к правилам GMP для ЕС и в инструкции FDA для асептической обработки в промышленности.

В целях классификации определяются общие уровни содержания частиц в одном кубическом метре пробы, взятой на каждом исследуемом участке. Для каждого класса зон (ISO 5–8) устанавливаются уровни КОЕ на (объемную) меру воздуха в один кубический метр и количество осевших/вступивших в контакт с каждой пластиной колоний. Минимальное количество мест отбора проб на единицу площади указано в стандарте ISO 14644-1/2.

Для мониторинга на фармацевтическом предприятии необходим постоянный контроль общего содержания частиц внутри зон, соответствующих стандарту ISO 5. Для получения лучшего представления о состоянии окружающей среды данные по одному кубическому фута пробы обрабатываются с помощью непрерывных линейных графиков, представляющих в «бегущем режиме» результаты одного кубического метра.

Микробиологический мониторинг имеет известные ограничения как в отношении степени обнаружения, так и размера пробы, принимая во внимание небольшой фактический объем обрабатываемого воздуха и небольшую площадь поверхности отбора пробы в контролируемой зоне и на соответствующем оборудовании [5]. Чтобы создать более полную картину динамики показателей контроля загрязнения, требуются данные программ отбора проб.

К таким данным о динамике относятся: частота случаев заболеваемости выше уровней предупреждения и принятия мер, установленных в программе мониторинга окружающей среды (Environmental Monitoring, EM), отклонения частоты случаев заболеваемости за пределы заданных требований (Out Of Specification, OOS, повторяющиеся аварийные сигналы, указывают на то, что процесс не имеет надежного контроля), а также отклонения за пределы тенденции (Out Of Trend, OOT).

Необходимо контролировать критические параметры управления (Critical Control Parameters, CPP), обнаруживать отклонения и реагировать на них соответствующим образом.

В чистом воздухе сред, соответствующих стандарту ISO 5, внутри изолятора с барьерами крайне маловероятно существование настолько однородного распределения загрязнения, что единичная проба, взятая в определенном месте, могла бы давать представление об общем состоянии загрязнения зоны.

Как правило, однонаправленный нисходящий поток «первичного воздуха» выполняет защитную функцию, обеспечивая поступление чистого воздуха от фильтров HEPA. Он вступает в первый контакт с критическими поверхностями, например, с контейнерами для продукции и с самой продукцией (илл. 3). В процессе мониторинга важно обнаруживать любое нарушение качества «первичного воздуха», которое могло бы подвергнуть критические поверхности или продукцию риску загрязнения.

Выбор места отбора проб на основе оценки рисков был предметом обсуждения в специальной литературе и определен терминологически. Отмечается, что при выборе таких мест должны учитываться возможные причины возникновения и источники загрязнения, а также пути от таких источников до участков возникновения риска (например, контейнеров для продукции или наполненной продукции).

Расположение седиментационных пластин

Для определения мест отбора проб на основе оценки рисков необходимо рассмотреть последовательность технологического процесса, что сопряжено с потенциальным вмешательством – основательным или корректирующим – в барьерную систему. Должна быть также проведена оценка движе-

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

ния воздуха и вероятности перемещения источника загрязнения к рискованному месту (например, к незащищенной продукции или открытому контейнеру перед его наполнением).

Подобная оценка движения воздуха требует исследования испарений. Это может быть визуальное изучение или отслеживание движения частиц с двояким использованием испарения – как причину появления частиц и как счетчика частиц. Такие исследования играют важную роль для проверки правильности расположения седиментационных пластин.

К выбору места расположения седиментационной пластины может быть два подхода. Пластина может устанавливаться: 1) на вероятном пути действий (в зоне ввода перчаток оператора во время асептической обработки) или 2) для контроля потока воздуха, который, пройдя над критической поверхностью, должен оказываться над пластиной. Хорошим примером может служить чаша питателя: во время обработки в ней нельзя разместить седиментационную пластину, но зато с помощью этой пластины можно контролировать поток воздуха, который выходит/выдавливается из чаши.

Отбор проб воздуха рабочей зоны

Отбор проб воздуха рабочей зоны требуется проводить в начале настройки производственных операций, чтобы предоставить доказательство, что начальные условия соответствуют правилам. В зависимости от продолжительности производственного цикла может оказаться также полезным брать пробы воздуха рабочей зоны в процессе работы, в конце смены или рабочего дня.

Это делается для того, чтобы при длительных периодах эксплуатации не возникал риск ненадлежащего мониторинга. Если позднее обнаружится отклонение от установленных или нормативных уровней, то это потребует проведения трудоемкого расследования.

Пробы воздуха рабочей зоны необходимо брать в местах риска, т. е. в местах осуществления действий внутри изоляторов (там, куда имеется доступ для перчаток оператора).

Необходимость дополнительного отбора воздуха рабочей зоны может быть определена во время наполнения сред – для оценки связанных с этим воздействий оператора (хотя такие воздействия происходят в условиях барьерной защиты). Предполагается, что отбор проб воздуха рабочей зоны в конце смены или производственного цикла должен выполняться в любом случае (для подтверждения непрерывности контроля).

Эффективность пробоотборника воздуха рабочей зоны определяется величиной D50 [4].

Контактные пластины, оттиски перчаток (отпечатки пальцев) и смывы

Отбор проб с поверхности завершается в конце производства партии или производственного цикла, так как этот процесс обычно загрязняет поверхности питательной средой, которую трудно удалить (неприемлемый риск) в процессе работы. Смывы берутся с поверхностей сложных форм, которые не подходят для отбора проб с помощью контактной пластины.

В изоляторах обычно допустимо брать только пробы оттисков перчаток, которые были использованы в процессе производства. При асептическом наполнении рекомендуется брать смывы с игл по окончании производства партии.

Если отбор пробы с поверхности требуется осуществить в процессе производства, то в зависимости от оценки рисков контактные пластины с питательной средой заменяются на не загрязняющие смывы, рекуперация которых как минимум аналогична рекуперации контактных пластин.

Планы отбора проб для мониторинга окружающей среды на основе оценки рисков

Планы отбора проб и соответствующее ему определение мест отбора требуются на разных этапах квалификации оборудования и производства продукции (таблица 2).

Для проведения полной оценки контролируемой зоны мест отбора проб может быть больше в зависимости от характеристики и классификации, но когда речь идет о регулярном мониторинге, пробоотбор должен быть ограничен ключевыми участками риска, так как вообще этот процесс сам по себе может стать рискованным. «Перебор» здесь приносит больше риска, чем пользы. Из объединения данных, поступающих ото всех программ мониторинга окружающей среды, формируется мониторинг всего процесса контроля окружающей среды.

Определение мест отбора проб

Для определения мест отбора проб «на основе оценки рисков» требуется полный обзор технологических потоков и связанных с ними рисков загрязнения критических точек. Необходимы четкие схемы (илл. 4) мест отбора проб, распределенных по категориям в зависимости от метода отбора или типа проб. Такие схемы должны показывать путь, который проходят открытые контейнеры с продукцией, а также участки, где операторы взаимодействуют с барьерной системой (включая окружающую среду изолятора, в которой находятся операторы). Для обнаружения загрязнения на схемах отображаются в профильной проекции фактическое

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

местонахождение проб, а также высота, на которой они берутся. Окружающая среда барьера, соответствующего стандарту ISO 7, требует мониторинга для понимания степени биологической нагрузки, испытывающей барьер на прочность. С измеряемым уровнем КОЕ в этих средах можно предпринимать превентивные меры, если увеличение уровней загрязнения перед зонами, соответствующими стандарту ISO 5, укажет на потенциальное загрязнение. Это позволит избежать очень сложных исследований первопричин появления опасности загрязнения.

Перспективы применения RMM в мониторинге окружающей среды, основанном на оценке рисков

Несомненно, будущее систем мониторинга в изоляторах – за технологией быстрых микробиологических методов (RMM), но она все еще находится на стадии разработки и апробации. Эта технология дает большие преимущества при регистрации данных мониторинга и реагирования на них в режиме реального времени, улучшая контроль рисков загрязнения и управление ими. Кроме того, она позволяет обходиться без вмешательства, поскольку отпадает необходимость введения в контролируемую зону пластин с питательной средой, что само по себе может представлять риск.

Находящийся в настоящее время в процессе разработки вопрос разграничения между флуоресцирующими материалами небиологического происхождения и подсчитанными действительно биологическими единицами призван разрешить проблему «избыточной регистрации» загрязнений, возникающую вследствие ложных подсчетов, а также проблему того, что отчеты по партиям не соответствуют нормативным требованиям из-за несовместимости данных. Полное внедрение технологии RMM потребует технических разработок, но в то же время для ее воплощения необходимо признание нормативами разных форм данных: биологических единиц как электронных данных и показателя КОЕ получаемого методами, основанными на классификации выращенной биологической культуры. Поскольку эта технология считается пока не в достаточной степени отработанной, пересмотра Приложения 1 к правилам GMP для ЕС в отношении применения быстрых микробиологических методов в режиме реального времени к зонам наполнения, соответствующих стандарту ISO 5, не ожидается.

Выводы

Программы, основанные на оценке рисков, повышают безопасность пациента и качество продукции, но их потенциал реализуется только при внедрении на практике практических мер контроля надлежащего технологического проектирования, которые учитывают требования, предъявляемые и к обработке различных видов продукции, и к методам асептической обработки. Речь идет о фундаментальном понимании продукции, типов обработки, технических и организационных мер контроля рисков, осуществляемых на основе надежных научных знаний и в соответствии с принятыми нормами.

Более полную картину об уровне контроля загрязнения в производственных средах дают показатели динамики. Но сегодня производители лекарственных средств должны рассматривать также возможности применения мер контроля перекрестного загрязнения, которые часто зависят и от оборудования, и от планировки производственного объекта, определяющих реализацию технологического решения.

Качество данных при проведении мониторинга окружающей среды зависит от места отбора проб, планов и программ, а расположение мест мониторинга определяется представлениями о риске. В чистых средах важно учитывать технологические потоки, а также взаимодействия оператора и оборудования, которые могут стать источником загрязнения и привести к возникновению отклонений. Изоляторы не являются непреодолимым барьером для загрязняющих факторов. Поэтому условием для обеспечения стерильности, а также уверенности в том, что стерильные продукты не подвергнутся риску в процессе производства, служит контроль и мониторинг на основе оценки рисков.

Литература

[1] ISPE Conference Baltimore USA 2015: Aseptic processing technologies, presentation by James L Drinkwater: Next generation of Isolator barrier technology for Aseptic filling. Presentations available via the International society of Pharmaceutical Engineers - 1SPE USA.

[2] PDA Conference Turkey 2014: Parenteral manufacturing, presentation by Wenzel Novak; Developments in Aseptic filling of parenterals. Presentation available via PDA Europe.

[3] Control Strategy: James Drinkwater Chairman of PHSS; Pharmaceutical and Healthcare Sciences society. European Pharmaceutical Review, Volume 19, Issue 5, 2014.

[4] PHSS Bio-contamination technical monograph 20. Published September 2014. Prepared by a PHSS Bio-contamination special interest group and reviewed by the MHRA before publication.

[5] Transfer of Ready to use sterilised product primary packaging containers and single use systems into small batch filling systems in Isolators. James L Drinkwater, Franz Ziel GmbH, Dr Wenzel Novak, Groninger GmbH, Andrea Cecchetto Nuovo Ompi Stevanato group Italy. European Journal of Parenteral and Pharmaceutical Sciences 2015; 20(1): 23-31.

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

VIALEX™

ВЫСОКИЕ ТЕХНОЛОГИЕ КОНТРОЛЯ ПОВЕРХНОСТИ

СТАНДАРТНЫЕ ПРОМЫШЛЕННЫЕ ФЛАКОНЫ

На поверхности представленного флакона проявляются отложения бора и кремния. (Примечание: Этот стандарт закреплен в фармакопеях USP, EP, JP)

VIALEX™

VIALEX, делает поверхность действительно гладкой. Никаких отложений бора или зон с повышенным содержанием кремния.

ПРЕИМУЩЕСТТВА VIALEX

- Ощутимое снижение риска отслаивания
- Беспрецидентно высокая гидролитичская устойчивость
- Минимальное выщелачивание
- Уменьшение сдвига pH
- Сниженная экстрагируемость

ТЕХНОЛОГИЯ VIALEX

- Никаких покрытий
- Никаких изменений сырья
- Не требуется проведения дополнительных работ по валидации
- 100% инспеция флаконов на производственной линии *(Все пункт по "API")*

NIPRO PHARMAPACKAGING

NIPRO PHARMAPACKAGING INTERNATIONAL HEADQUARTERS
Weihoek 3H, 1930 Zaventem, Belgium
www.nipro-pharmapackaging.com | info@nipro-pharmapackaging.com

Процесс разработки по стандарту GMP

Планирование, реализация, контроль и документирование

Карин Аммон (Dr.) • PLATO AG, Дортмунд / Германия
Почтовый адрес: Dr. Karin Ammon, PLATO AG, Emil-Figge-Str. 76-90 ,44227 Dortmund / Germany;
e-mail: karin.ammon@plato.de

Аннотация

Процессы разработки в медицинской и фармацевтической отрасли ориентированы на высокое качество продукции, что порождает значительные затраты на документирование, защиту и получение допусков. Методика PLM (управление жизненным циклом изделия) позволяет ускорить процесс разработки, повысить его эффективность и воспроизводимость. При этом всегда на передний план выходят структура изделия и управление знаниями.

В данной статье в качестве примера рассматривается с точки зрения производителя оборудования процесс разработки по стандарту GMP стерильного реактора с мешалкой для выделения действующих веществ. Единая концепция методов разработки и контроля качества, обработки данных и документирования включает в себя следующие задачи, соответствующие стандарту GMP: планирование, реализация, контроль и ведение подтверждающей документации задач разработки, объединение методов разработки и обеспечения качества по стандарту GMP в единую систему, управление знаниями, составление актов создания оборудования (в данном случае реактора с мешалкой).

Кроме того, посредством прикладной методики PLM все информационные данные и документы дополнительно соотносятся с компонентами оборудования и увязываются с ведомостью спецификаций. Допуск к этой информации получают и те подразделения предприятия, которые ответственны за последующие этапы жизни оборудования, что позволяет им более эффективно организовать работу, например, при продаже, сервисном обслуживании. То же касается и пользователя оборудования.

Такой подход к проблеме является основной предпосылкой для функционирования интегрированной системы управления изменениями и выполнения ограничительного требования Управления по надзору за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA 21 CFR Part 820).

Методика PLM преодолевает барьеры

Реализация стратегии PLM затрагивает несколько направлений деятельности предприятия:

- структуру продукции;
- структуру процессов;
- систему организации.

Все потоки данных и прочей информации между этими тремя направлениями необходимо свести в один банк данных и эффективно им управлять.

Стандарт GMP предполагает, что при создании оборудования все компоненты разрабатываются с учетом ожидаемой сферы применения.

На многих предприятиях в качестве процедуры, подтверждающей пригодность оборудования к условиям применения, проводится квалификация в соответствии с

Автор

Карин Аммон (Dr.)

После защиты в 1990 г. диссертации в области биотехнологий в Дортмундском техническом университете начала свою работу в фирме Plato AG. Прежде чем занять должность руководителя направления обучения и консультирования, занималась сопровождением международных предприятий в качестве консультанта и руководителя проектов, посвященных анализу видов и последствий отказов (FMEA). В настоящее время основным направлением деятельности д-ра К. Аммон является разработка концепции индивидуальных клиентских решений управления качеством в регулируемой среде медицинских и фармацевтических технологий. С момента основания образовательного центра PLATO akademie К. Аммон ведет в нем краткие специализированные курсы семинаров по темам, связанным с процессом создания продукции, в ходе которых делится своими знаниями, основанными на практическом опыте, и методической компетентностью.

Немецкое производство лекарств / DPI 2016, №1, 54-58
© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

правилами GMP. Квалификация включает в себя все меры, с помощью которых можно подтвердить надлежащее функционирование производственного оборудования.

План действий PLM позволяет полностью интегрировать дополнительные процедуры квалификации в классический процесс реализации проекта. Благодаря применению единых методов и использованию общего банка данных, с одной стороны, сокращаются затраты для всех участников проекта, а с другой – на предприятии усиливается положительное восприятие осуществляемых мер.

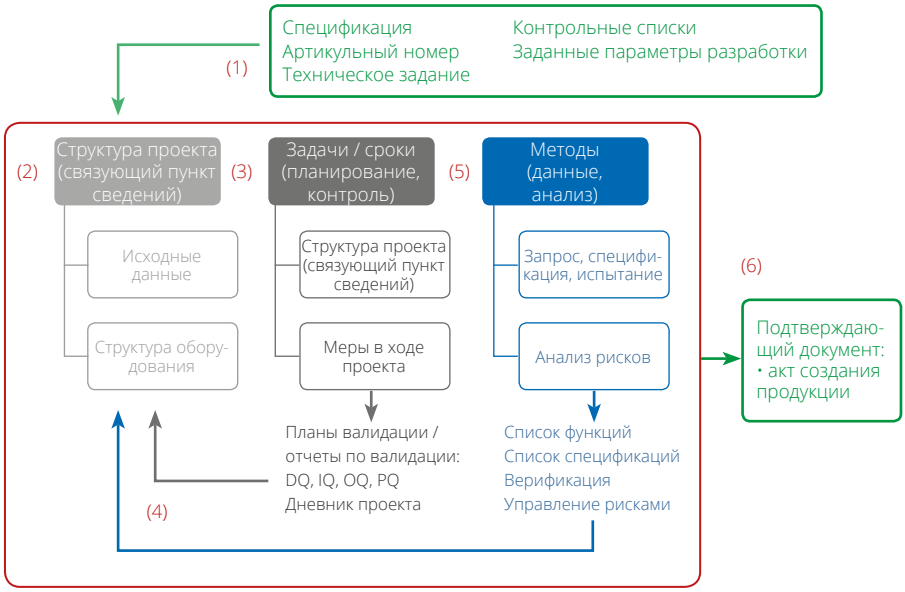
В связи с этим первостепенной задачей предприятия становится согласование процессов на предприятии, таких как, например, управление проектами, процедурами, документами, требованиями, рисками а также предоставление необходимой информации всем участникам соответствующего проекта и управленческому аппарату.

На иллюстрации 1 схематично показан вариант концепции PLM. Можно выделить шесть областей задач, данных или же подразделений предприятия. Они взаимодействуют между собой и работают с общими данными и с общей информацией. Задачи каждой из шести областей пошагово описаны ниже.

Исходные данные проекта как связующий пункт для всей информации (1, 2)

Первый шаг при запуске проекта после получения заказа от клиента на разработку нового реактора с мешалкой с особыми требованиями к регулированию температуры – воспроизведение структуры установки на основании данных из системы ERP (планирование ресурсов предприятия).

Для каждого конструктивного узла или компонента дается предварительная информация о номере по спецификации и поставщике. Эта информация служит теперь отправной точкой для управления данными о продукции в рамках проекта (илл. 2).

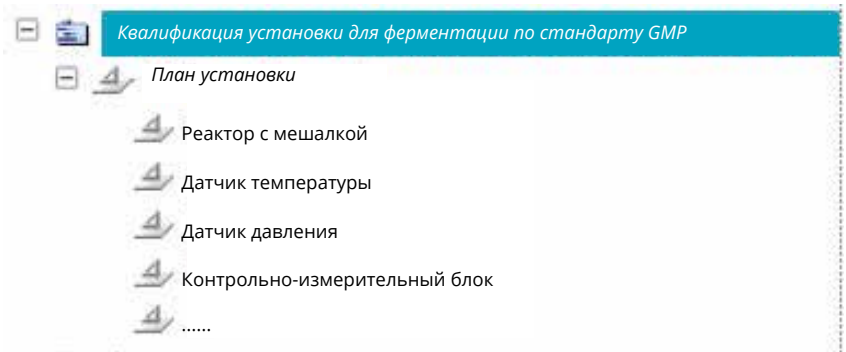


Илл. 1: Стратегия PLM, применяемая при разработке оборудования по стандарту GMP (источник: все иллюстрации предоставлены фирмой PLATO AG)

Реализация процесса разработки с помощью управления проектом и управления мерами (3)

Для планирования и управления процедурой валидации по стандарту GMP служит центральная система управления мерами, которая позволяет централизованно регистрировать, контролировать все меры и документировать их реализацию – как в отношении планирования, так и в отношении осуществления проекта и применения методов. Из создающегося таким образом дневника проекта возникает история всех решений, принимаемых в ходе общего процесса разработки оборудования.

1. Для планирования проекта определяются фазы проекта и сроки завершения с учетом из последовательности (илл. 3).
2. Для всех фаз проекта, то есть для каждого срока их завершения формируется список задач. Об этом необходимо проинформировать ответственных лиц, которые ведут регулярное документирование состояния реализации проекта.

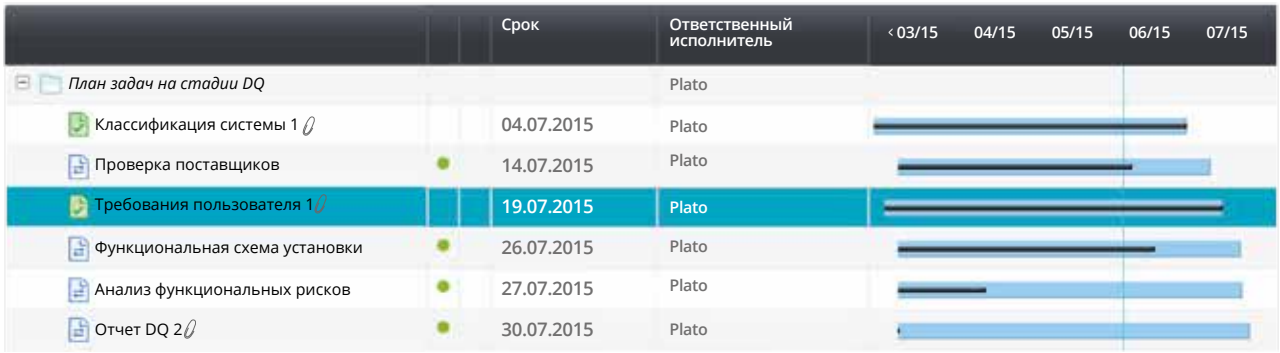


Илл. 2: Древовидная структура для визуализации и навигации в структуре оборудования

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

	Срок	Ответственный исполнитель	‹ 03/15 04/15 05/15 06/15 07/15 08/15 09/15 10/15 11/15 12/15
02 Системная валидация установки для ферментации по стандарту GMP	31.01.2017	Plato	
Начало проекта	01.03.2015	Plato	
Разрешение DQ	29.07.2015	Plato	
Разрешение IQ	07.09.2015	Plato	
Разрешение OQ	06.11.2015	Plato	
Разрешение PQ	05.01.2016	Plato	
Окончание проекта	31.01.2017	Plato	

Илл. 3: Структурный план проекта



	Срок	Ответственный исполнитель	‹ 03/15 04/15 05/15 06/15 07/15
План задач на стадии DQ		Plato	
Классификация системы 1	04.07.2015	Plato	
Проверка поставщиков	14.07.2015	Plato	
Требования пользователя 1	19.07.2015	Plato	
Функциональная схема установки	26.07.2015	Plato	
Анализ функциональных рисков	27.07.2015	Plato	
Отчет DQ 2	30.07.2015	Plato	

Илл. 4: План задач на стадии квалификации проектной документации (DQ)

	Срок	Ответственный исполнитель	‹ 03/15 04/15 05/15 06/15 07/15
02 Валидация системы установки для ферментации по стандарту GMP	31.01.2017	Plato	
Начало проекта	01.03.2015	Plato	
Разрешение DQ	29.07.2015	Plato	
Схема установки		Plato	
Датчик давления		Plato	
Контрольно-измерительный блок		Plato	
Реактор с мешалкой		Plato	
Повышение требований к качеству поверхности	19.07.2015	Plato	
Датчик температуры		Plato	

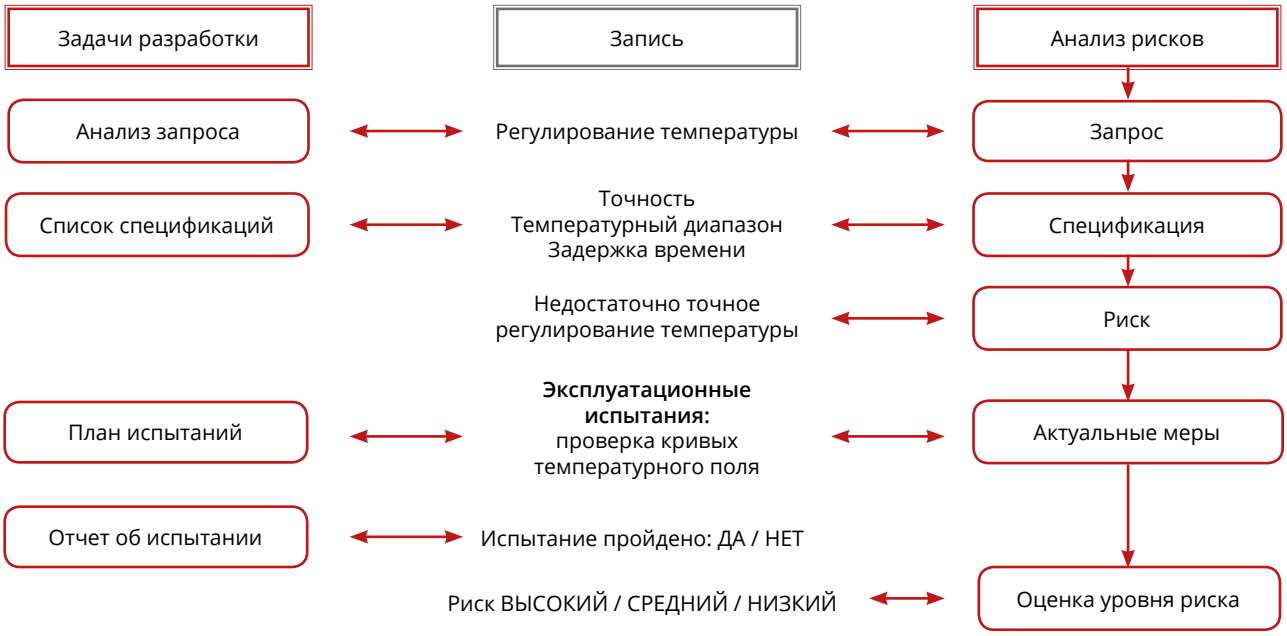
Илл. 5: Дневник проекта: документирование задач проекта, не получивших в плане конкретного описания

Название	Статус	Изм.	Дата изменения	Размер	Автор опции
Отчет DQ Отчет DQ (предварит.) V01 201505020.pdf	Черновик	0.1	20 суток назад	42.09 KB	Plato
Требования пользователя Требования пользователя – Установка для ферментации LH.docx	Разрешено	1.0	менее минуты назад	14.43 KB	Plato
Классификация системы Классификация системы установки для ферментации.docx	Разрешено	1.0	20 суток назад	14.43 KB	Plato

Илл. 6: Список документов, отсортированных из структуры проекта и оборудования

3. Непосредственно при осуществлении меры ведется документирование результатов, что обеспечивает воспроизводимость. Итоговые документы должны быть понятно обозначены (символ скрепки на илл. 4) и доступны всем участникам проекта. В системе управления

Немецкое производство лекарств / DPI 2016, №1, 54-58
© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия



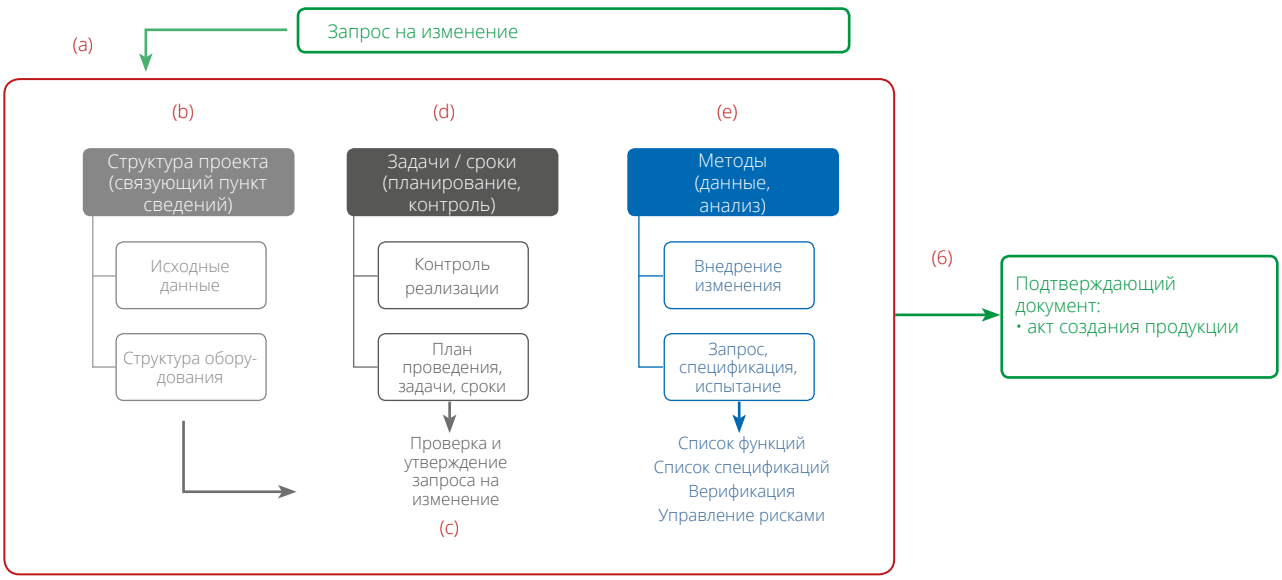
Илл. 7: Схема методов и данных в соответствии с правилами GMP

документооборотом осуществляется версионирование этих документов, дается разрешение на пользование ими; документы привязываются к компонентам оборудования и номерам по спецификации.

4. Прочие задачи, возникающие по ходу реализации проекта, следует в целях обеспечения воспроизводимости всех решений документировать всегда как отдельные меры, привязывая их к определенному сроку выполнения и компоненту оборудования (илл. 5).

Подготовка информации через управление документооборотом (4)

Интегрированная система управления документооборотом позволяет предоставлять итоговые документы в пользование всем участникам проекта одно-



Илл. 8: Схема процесса контроля изменений в проекте разработки

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

временно. Связующими точками для такой информации служат наряду со структурой проекта также и структура оборудования и номера деталей/компонентов по спецификации.

Для внешних документов тоже должна существовать возможность быстрого и простого включения в структуру проекта или оборудования (илл. 6). Если система управления документооборотом валидирована по правилам GAMP (Надлежащая практика автоматизированного производства), то официальное разрешение на пользование документами может оформляться посредством электронной подписи согласно FDA 21 CFR Part 11; таким образом, отпадает необходимость в избыточном хранении данных на бумажных носителях.

Сквозная концепция методов обработки данных и анализа (5)

Классический процесс разработки технического оборудования характеризуется использованием экспертных методов, которые часто работают с различной систематикой и несовместимыми инструментами.

Однако даже простой запрос на изменение может расшатать такую конструкцию, и отработать его удается часто только с большими затратами.

Благодаря подходу, основанному на использовании модели, и сквозной концепции методов и данных, применяемой на всех этапах от обработки запроса и спецификации, анализа рисков, планирования испытаний и до реализации, можно избежать избыточности записей. Изменения в ходе проекта согласованно вносятся за один раз.

Таким образом, всегда обеспечивается прослеживаемость данных между запросом, спецификацией, анализом рисков и испытанием, и она может быть подтверждена одним нажатием кнопки.

С помощью различных форм идентичные записи банка данных адресуются и визуально отображаются.

Если необходимо изменение, например, спецификации, то это выполняется централизованно. Изменение сразу же вносится во всех формы – в анализ запроса, анализ рисков, план испытаний и отчет об испытаниях.

Интегрированные системы делают возможным процесс контроля изменений

Запрос на изменение, например, спецификации (см. илл. 8 (a)) в процессе разработки может быть принят посредством внешней формы и включен в системную структуру оборудования (b).

Через систему управления документооборотом (c) проводится проверка изменения и дается разрешение на его внесение. Затем с помощью системы управления мерами осуществляется планирование и контроль реализации изменения и дальнейших действий (d).

После того, как дано разрешение на изменение, список спецификаций (e) централизованно меняется и в режиме реального времени предоставляется к пользованию с применением всех остальных методов.

Акт создания продукции как подтверждающий документ (6)

В завершение вся информация и все документы, представляющие важность, сводятся в единый акт создания оборудования.

Методика PLM позволяет увязывать все данные со структурным планом проекта и структурой продукции (оборудования), и использовать их для составления акта. Не возникает дополнительных затрат, связанных с поиском недостающей информации по проекту.

Выводы

Методика PLM, позволяющая полностью интегрировать задачи валидации в классический процесс реализации проекта и использовать общие методы и источники данных, способствует положительному восприятию проекта и сокращает затраты по сравнению с децентрализованной организацией работы.

Планирование, реализация, контроль и ведение подтверждающей документации задач разработки с использованием централизованной системы управления мерами позволяет иметь всегда актуальные данные о состоянии проекта и об анализе, проводимом в рамках управления проектом.

Все существенные документы и решения сохраняются в дневнике проекта, что способствует воспроизводимости.

Методы разработки и обеспечения качества объединяются в единую сеть, благодаря чему в прошлое уходит хранение избыточных и противоречивых данных.

Изменения достаточно внести лишь в одном месте, и они сразу становятся доступны всем участникам проекта.

Управление данными по проекту и продукции позволяет даже лицам, не участвующим в проекте, легко и быстро находить всю существенную информацию о разработке и валидации.

Технический акт создания продукции генерируется автоматически в ходе реализации проекта и документирования, а не составляется вручную в конце процесса.

Немецкое производство лекарств / DPI 2016, №1, 54-58
© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

ecv

EU Guide to Good Manufacturing Practice

for Medicinal Products for Human and Veterinary Use

G. Auterhoff, S. Throm

ISBN 978-3-87193-431-5

- 72,76 €
- 8th revised and enlarged edition 2016
- 148 x 210 mm, Soft Cover, 325 pages

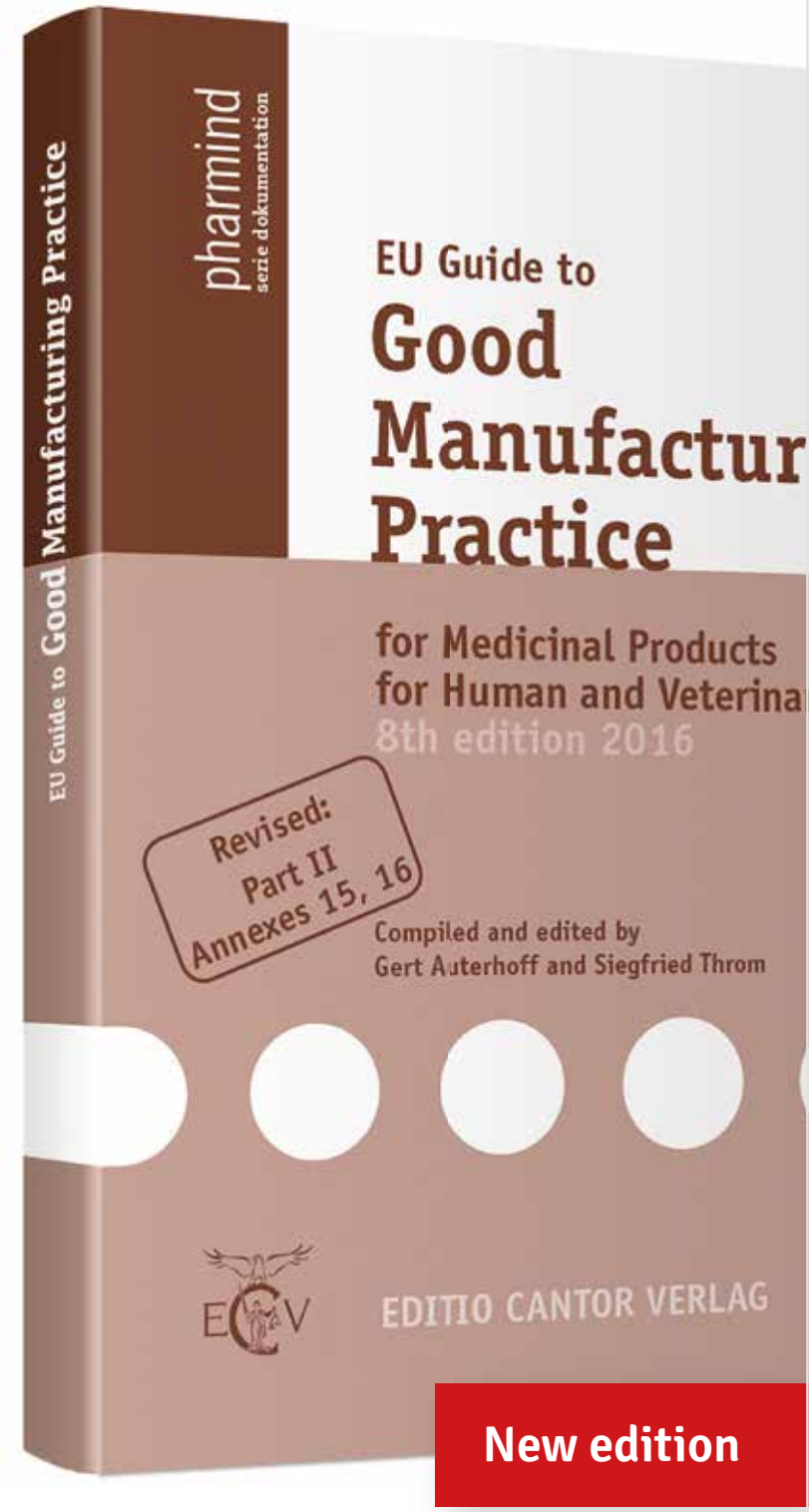
This brochure contains the second official edition of the EU Guide to Good Manufacturing Practice (GMP), the corresponding Commission Directives for GMP for medicinal products and investigational medicinal products for human use and for veterinary medicinal products as well as a glossary.

Having been restructured in 2005 and further revised later on, the current EU GMP Guide comprises three parts: Part I Basic Requirements for Medicinal Products, Part II Basic Requirements for Active Substances used as Starting Materials, and Part III GMP Related Documents. The Annexes 1 to 19 cover additional requirements relevant to specific areas.
The latest revisions concern the Chapters 2, 3, 5, 6 and 8 (in Part I), Part II and the Annexes 15 and 16.

This edition has been extended by the Commission Delegated Regulation (EU) No. 1252/2014 of 28 May 2014 supplementing Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council with regard to principles and guidelines of good manufacturing practice for active substances for medicinal products for human use – applicable from 25 May 2015.

Target groups

- Pharmaceutical industry
- Cosmetic industry
- Suppliers
- Contract Reseach Organisations (CRO)
- Authorities
- Lawyers



Order

Tel. +49 (0)711-6672-1924 · Fax +49(0)711-6672-1974 · eMail svk@svk.de · Online shop, book extracts and table of contents

www.ecv.de

Машины для укупоривания

Новая укупорочная машина Optima H4 производства фирмы Optima* предназначена для обработки установленных в кассеты флаконов, шприцев и картриджей. Открытие туб и удаление бумаги Tyvek® при необходимости может выполняться роботизированным устройством. С целью экономии места робот установлен в зоне машины наполнения. Могут быть встроены также и полуавтоматические системы. Кроме того, имеется возможность выбора системы защиты от воздействия окружающей среды. Стандартизованное основание машины позволяет оборудовать любую систему защиты – барьерную с ограниченным доступом (RABS) или изолятор. Наполнение осуществляется с помощью десятиместной системы. Смена типоразмера тары происходит благодаря возможности в любое время перенастроить систему на использование роторно-поршневого или перистальтического насоса, а также на дозирование по времени и давлению. Система транспортировки машины OPTIMA H4 обладает высокой производительностью – до 24 тыс. ед. в час, но при этом обеспечивает бережную и аккуратную обработку контейнеров. Имеется возможность увеличения выпуска до 36 тыс. единиц в час.

Благодаря высокой степени стандартизации процесса возможно изготовление модулей для машины OPTIMA H4

*OPTIMA pharma GmbH
Otto-Hahn-Str. 1
74523 Schwäbisch Hall / Germany
www.optima-packaging-group.de

Машины для наполнения капсул

Фирма Fette Compacting* представляет машину для наполнения капсул FEC40. Здесь разделенные прежде технологические этапы наполнения капсул объединены. Освободившиеся узлы позволяют получать до 400 тыс. капсул в час. Можно выбирать между двумя узлами набивки или четырьмя узлами для производства пеллет. Для смены узлов набивки предусмотрена запатентованная система дооснащения. Это позволяет быстро переключаться между различными технологиями дозирования и осуществлять смену продуктов или размеров партий. Графический пользовательский интерфейс дает обзор всех значимых параметров и показателей качества продукции. В ходе производства непрерывно измеряется уровень наполнения капсул и емкостей с продукцией; данные обрабатываются системой управления. Осуществляется сплошной контроль всех партий с регистрацией результатов.

Машина FEC40 с узлами набивки

* Fette Compacting GmbH
Grabauer Str. 24
21493 Schwarzenbek / Germany
www.fette-compacting.de

Системы сериализации

Система DIGILINE Single 450 Pharma производства Atlantic Zeiser* оснащена модулями для печати, нанесения этикеток, транспортировки и съемки на камеру. На ней установлено новое ПО Unique Code Software, разработанное с учетом всех предписаний по сериализации. В частности, ПО распознает дубликаты при импорте в систему, позволяет без риска распределять задачи по нескольким машинам, а при необходимости и перераспределять задачи. Благодаря встроенным функциям управления задачами (Order-Management) в любой момент можно получить обзор всех машин в системе и всех задач, в том числе тогда, когда несколько машин работают параллельно на различных площадках. ПО исключает вероятность двойного присвоения серийного номера в случае возможной ошибки оператора при чрезвычайных ситуациях. Транспортировка рассчитана на установку различных модулей: принтера OMEGA DoD-UV-Inkjet, этикетировочной машины или камеры для инспектирования. Возможна двусторонняя печать на картонных коробках.

DIGILINE Single 450 Pharma – комплексная система сериализации для плоских картонных коробок

*Atlantic Zeiser GmbH
Bogenstraße 6-8
78576 Emmingen / Germany
www.atlanticzeiser.com

Немецкое производство лекарств / DPI 2016, №1, 60-62
© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Термоформовочная машина

Термоформовочной машиной R 081 фирма Multivac* пополнила свой ассортимент моделью начального уровня для упаковки малых партий. Машина оснащается механизмами, обеспечивающими повышенное усилие термоштамповки и оптимальное распределение давления. Благодаря этому достигается постоянно высокое качество запечатывания и повышенная надежность упаковки. Машина позволяет перерабатывать мягкую, твердую пленку, упаковочные материалы на бумажной основе, пленку Tyvek®, изготавливать как вакуумную упаковку, так и упаковку с модифицированной атмосферой и пониженным содержанием остаточного кислорода. Смена формовочных и запечатывающих инструментов осуществляется быстро и с высокой степенью воспроизводимости благодаря зарекомендовавшей себя системе сменных модулей. Машина выпускается с различной номинальной шириной и обеспечивает гибкость при смене формата упаковки. Предлагается комплектация с системами печати, этикетирования и контроля. Возможна работа в ручном режиме одиночного хода с помощью педали-выключателя.

Компактная машина для упаковки отличается высокой гибкостью в части упаковочных материалов и форматов

* Multivac Sepp Haggenmüller GmbH & Co. KG
Bahnhofstr. 4
87787 Wolfertschwenden / Germany
www.multivac.com

Линии по производству блистерной упаковки

Фирма Uhlmann* пополнила ассортимент машин типа BEC для производства упаковки высокоскоростной линией BEC 700. Смена формата осуществляется без инструментов; благодаря малому количеству деталей переналадка выполняется в течение 30 минут. BEC 700 может выпускать до 700 блистеров и 500 складных коробок в минуту. Модульная конструкция позволяет подстраивать новую линию под требования заказчика. Доступны два режима изготовления упаковок: для складных коробок до 105 x 105 x 155 мм с производительностью 300 шт/мин и для коробок до 80 x 90 x 155 мм с производительностью 500 шт/мин. BEC 700 может оснащаться системами контроля и отслеживания (Track-&-Trace). Система управления Smart-Control BEC 700 работает по принципу Touch-&-Teach.

Ассортимент легко переналаживаемых машин фирмы Uhlmann для производства листерной и картонной упаковки с быстрой сменой формата пополнился высокоскоростной линией BEC 700

* Uhlmann Pac-Systeme GmbH & Co. KG
Uhlmannstr. 14-18
88471 Laupheim / Germany
www.uhlmann.de

Системы чистых помещений

Системы чистых помещений Clean SteriCell®, отвечающих стандарту GMP, разработаны фирмой Schilling Engineering* для защиты продукции и людей в фармацевтике. Система рециркуляции внутри чистого помещения обеспечивает высокую энергетическую эффективность. Фильтрованный и охлажденный воздух возвращается в контур воздухообмена. Снижается износ фильтров и значительно уменьшается потребность в техническом обслуживании. Прерывать работу чистых помещений недопустимо, поэтому здесь используются долговечные компоненты, такие как фильтр U15-ULPA или система светодиодного освещения. Стеновые элементы системы чистых помещений соединяются при помощи зажимной герметизирующей системы, отвечающей стандарту GMP, без силикона. Управление, контроль и мониторинг по стандартам ISO осуществляются через централизованную систему CR Control®. Эти функции доступны теперь и с планшетного компьютера.

Системы чистых помещений «под ключ» проектируются и сертифицируются согласно требованиям клиента

* Schilling Engineering GmbH
Industriestr. 26
79793 Wutöschingen / Germany
www.schillingengineering.de

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Двойной роторный пресс

Инновационный двойной роторный пресс XT 600 разработан фирмой Korsch* для высокопроизводительного изготовления одно- и двухслойных таблеток. Он отличается прочной конструкцией, в которой уже зарекомендовавшие себя элементы сочетаются с экономичным дизайном. XT 600 позволяет выпускать до 1 млн однослойных таблеток. Простота переналадки при смене продукта способствует гибкости производства. При разработке большое значение придавалось, помимо производительности, удобству в использовании. Патентованный пресс-инструмент с виброизоляцией обеспечивает комфорт для оператора благодаря уменьшенному шумовому и вибрационному воздействию. Машина доступна для обслуживания со всех четырех сторон. Электрика, периферия и аспирационные шланги встроены в открывающиеся многофункциональные каналы (с угловым соединением). Сенсорный смарт-дисплей на 19" системы управления Simotion с интуитивно понятным интерфейсом позволяет легко перемещать, масштабировать и перетягивать изображение.

*KORSCH AG
Breitenbachstraße 1
13509 Berlin / Germany
http://www.korsch.de

Двойной роторный пресс отличается удобством при использовании и техобслуживании

Системы дозирования и наполнения

Системы опорожнения, дозирования и наполнения, изготавливаемые фирмой ViscoTec*, предназначены специально для работы с высоковязкими продуктами. Сначала жидкости или пасты выкачиваются из бочек с помощью устройств выгрузки, затем поступают в насосы для высокоточного дозирования и наполнения емкостей. Регулируемый обратный клапан в насосной системе обеспечивает абсолютную чистоту процесса, отсутствие подтеков и тянущихся нитями остатков вязких составов. Простота эксплуатации в сочетании с гигиеническим исполнением системы обеспечивают хорошие результаты опорожнения и дозирования. Бочки опорожняются почти полностью (остаток содержимого в бочке не превышает 1 %). Наполнение также отличается высокой степенью воспроизводимости результатов, отклонения составляют менее 1 %. При этом даже при минимальных количествах дозирование и наполнение выполняются безотказно.

* ViscoTec Pumpen- u. Dosiertechnik GmbH
Amperstraße 13
84513 Töging a. Inn / Germany
www.viscotec.de

ViscoTec предлагает системы высокоточного дозирования и наполнения для вязких продуктов

Контроль герметичности

Система AMI 120 от Pfeiffer Vacuum* осуществляет неразрушающий контроль целостности блистерной упаковки в процессе производства. Система предназначена для высокочувствительного количественного измерения течей в режиме реального времени без применения индикаторного газа. Малейшая негерметичность – отверстия менее 1 мкм – может нарушить стабильность лекарственного средства. Прибор имеет допуск фармацевтических предприятий и способен измерять интенсивность течи в 1/10 мкм в пределах цикла менее 45 с. Автоматическая калибровка осуществляется на основе отслеживания утечек. Система AMI 120 соответствует стандарту CFR 21, ч. 11. Экономична в эксплуатации, так как не требует применения специального индикаторного газа. Проверку целостности можно проводить в порядке управления технологическим процессом для всех видов блистерных упаковок.

* Pfeiffer Vacuum GmbH
Berliner Str. 43
35614 Asslar / Germany
www.pfeiffer-vacuum.com

AMI 120 – система контроля герметичности блистерных упаковок фармацевтической продукции

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия

Международная выставка оборудования, сырья
и технологий для фармацевтического производства

International exhibition of equipment, raw materials
and technologies for pharmaceutical production

pharmtech
& ingredients

Организатор
Группа компаний ITE
+7 (499) 750-08-28
pharmtech@ite-expo.ru

pharmtech-expo.ru

Выходные данные

Издательство
ECV · Editio Cantor Verlag für Medizin
und Naturwissenschaften GmbH
Baendelstockweg 20
88326 Aulendorf (Germany)
Регистр. №: Amtsgericht Ulm HRB 600174

Управляющие директоры
Claudius Arndt, Andreas Gerth
Тел. +49 (0) 7525-9400
Факс +49 (0) 7525-940 180
http://www.ecv.de

Редакция
Главный редактор:
Claudius Arndt (V. i. S. d. P.)
Тел. +49 (0) 7525-940 159

Секретариат:
Gudrun Below
Тел. +49 (0) 7525-940 159
E-Mail: redaktion@ecv.de

Отдел рекламы
Judith Scheller
Тел. +49 (0) 7525-940 112
Факс +49 (0) 7525-940 155
E-Mail: anzeigen@ecv.de

Авторские и издательские права
Все опубликованные в журнале материалы защищены законом об авторских правах. Никакая часть журнала не может быть в обход законодательства об авторских правах использована в какой-либо форме (размножение, распространение, реализация, машинный перевод) без письменного разрешения издательства. Категорически запрещены дигитализация, сохранение на носителях, использование для электронных баз данных любого вида.

Ответственность
Содержание этого журнала тщательно проверено. Вместе с тем авторы, редсовет, редакция и издательство не несут какой-либо ответственности за приводимые данные, равно как за ошибки перевода, верстки и печати.

Товарные знаки
Отсутствие символа ® после названия не означает, что название не защищено в качестве товарного знака.

Распечатки
Распечатки отдельных статей можно приобрести в издательстве ECV · Editio Cantor Verlag GmbH

Производство, продажа и распространение в России
Medien Transfer Verlag GmbH / Humburg Media Group
Am Hilgeskamp 53, 28325 Bremen

Управляющий директор
Wolf-Eberhardt Hain

Перевод, редактирование, верстка
директор издательства, главный редактор
Владимир Соколов
Тел. +49 (0) 421-427 9844
Факс +49 (0) 421-427 9845
E-Mail: mtv@hmg.de

Экспертиза переводов
Научно-исследовательский институт фармакологии им. В. В. Закусова, г. Москва
проф. д. т. н. Константин Алексеев
E-Mail: zakusovpharm@mail.ru

Прием подписки, клиентский сервис, заявки на рекламу
Аркадий Альтшуль
Тел. +49 (0) 421-427 9843
Факс +49 (0) 421-427 9845
E-Mail: mtv-marketing@hmg.de

Типография
Druckhaus Humburg GmbH & Co. KG
Humburg Media Group
Am Hilgeskamp 53, 28325 Bremen

Условия подписки
В 2017 году выходит 2 номера журнала.
Цена 1 экземпляра в розничной продаже 49,50 €.
Цена годовой подписки на 1917 г. - 99,00 €.
Стоимость подписки включает доставку и пакет бухгалтерской документации по нормативам РФ для каждого экземпляра.
Оплата подписки возможна в рублях, перечислением на счет в российском банке.

© ECV • Editio Cantor Verlag, Аулендорф / Германия