

Рекомендована д. мед. наук, проф. С. І. Климнюком

УДК 615.076:615.456:615.012

## СПОСОБИ ЗМЕНШЕННЯ ВМІСТУ БАКТЕРІЙНИХ ЕНДОТОКСИНІВ НА СТАДІЯХ ВИГОТОВЛЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ДЛЯ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ЗАСТОСУВАННЯ

© Н. В. Ділай, Т. Г. Калинюк

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

**Резюме:** досліджено основні стадії виготовлення лікарських засобів для парентерального введення та їх вплив на вміст бактерійних ендотоксинів. Ризик отримання лікарських засобів для парентерального застосування неналежної якості на 34 % залежить від води для ін'єкцій, на 26 % – активних фармацевтичних інгредієнтів та 40 % – проведення технологічного процесу: 21 % фільтрація, 9 % підготовка, контроль первинного пакування, 6 % контроль приготованих розчинів, 4 % стерилізація.

**Ключові слова:** бактерійні ендотоксини, лікарські засоби для парентерального застосування.

**Вступ.** Виготовлення лікарських засобів (ЛЗ) для парентерального застосування є одним з найактуальніших питань фармацевтичної технології. Якісні та безпечні ЛЗ для парентерального застосування можна виготовити тільки при правильній організації технологічного процесу. З впровадженням у дію Державної фармакопеї України (ДФУ) у 2001 році вводиться показник «Бактерійні ендотоксини» (БЕ), п. 2.6.14. З цього часу цей показник поступово впроваджується у фармацевтичну галузь України. Визначають БЕ за допомогою ЛАЛ-тесту і застосовують не тільки для контролю якості готових ЛЗ, але і для постадійного контролю та оптимізації технологічного процесу. Оскільки забруднення БЕ може відбуватись і накопичуватись на будь-якій стадії технологічного процесу, дослідження отримання ЛЗ для парентерального застосування, які відповідали б вимогам ДФУ, є важливою проблемою.

Контроль БЕ є невід'ємною частиною виготовлення ЛЗ для парентерального застосування [1–5]. Однак на стадії вхідного контролю (ВК) цей тест проводиться на розсуд виробника.

Фармакопеї нормують вміст БЕ тільки до деяких активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) [2–5].

При виготовленні ЛЗ для парентерального застосування використовуються як вільні від БЕ [5] АФІ, так і АФІ, в яких вміст БЕ ненормований. Якщо ЛЗ виготовляється в умовах асептики без застосування термічної стерилізації та стерилізуючої фільтрації, то використовуються вільні від БЕ АФІ; вони обов'язково перевіряються на вміст БЕ [5]. Якщо ЛЗ для парентерального застосування виготовляється із застосуванням стерилізуючої фільтрації та/чи термічної стерилізації, то використовуються звичайні АФІ, та інколи не проводиться ВК цих АФІ за вмістом БЕ.

лізації, то використовуються звичайні АФІ, та інколи не проводиться ВК цих АФІ за вмістом БЕ.

**Методи дослідження.** Вміст БЕ визначали згідно з ДФУ 2.6.14. «Бактерійні ендотоксини», (Метод А, В, С) за допомогою ЛАЛ-тесту. Для проведення досліджень використовували набори реактивів «Associates of Cape Cod Inc.»(США): ЛАЛ-реактив Pyrotell (заявлена чутливість – 0,03 МО/мл) Pyrotell-Т, ЛАЛ-вода Pyroclear (заявлена чистота – 0,001 МО/мл), контрольний стандарт ендотоксину (*Escherichia coli* 0113:H10) і буферний розчин Pyrosol (0.2М трис-НСІ буфер, рН =7,4). Для розведення використовували апірогенні накопичувачі та пробірки 13x75 мм, а для проведення тесту – пробірки 10x75 мм. Інкубацію реакційної суміші проводили при температурі (37±1) °С протягом (60±2) хв у сухо-повітряному термоблоці «PYROTHERM» (фірма «OPULUS», Угорщина), струшувач «Vortex Genuie», дозатори «Eppendorf», для кількісних методів використовували мікропланшетний фотометр «Multiscan FC».

Дослідження технологічних процесів проводили на ПАТ «Галичфарм» та інших фармацевтичних підприємствах України.

**Результати й обговорення** Досліджувані групи ЛЗ для парентерального застосування за призначенням і умовами виготовлення наведено у таблиці 1. Виділено 4 категорії: ветеринарні препарати, ЛЗ для парентерального застосування, виготовлені в умовах аптек, в умовах, наближених до належної виробничої практики (НВП), та виготовленні в умовах НВП. Досліджували розчини для ін'єкцій, інфузій, порошки для приготування розчинів для ін'єкцій/інфузій тощо.

Таблиця 1. Досліджувані групи ЛЗ для парентерального застосування

№ з/п	Лікарська форма	Ветеринарні лікарські препарати	ЛЗ для парентерального застосування, виготовлені в умовах аптек	ЛЗ для парентерального застосування, виготовлені в наближених до НВП умовах	ЛЗ для парентерального застосування, виготовлені в умовах НВП
1	Розчин для інфузій	Глюкоза, 40%	Глюкоза, 40%	Глюкоза, 5%	Глюкоза, 50 мг/мл
2	Розчин для інфузій	Натрію хлорид, 0,9%	Натрію хлорид, 0,9%	Натрію хлорид, 0,9%	Натрію хлорид, 9 мг/мл
3	Розчин для ін'єкцій	Натрію хлорид, 0,9%	-	Натрію хлорид, 0,9%	Натрію хлорид, 9 мг/мл
4	Розчин для ін'єкцій	-	-	-	Вода для ін'єкцій
5	Розчин для ін'єкцій	-	-	-	Рибоксин, 20 мг/мл
6	Ліофілізат для приготування розчину для інфузій	-	-	-	Хімотрипсин, 10 мг/фл
7	Ліофілізат для розчину для ін'єкцій	-	-	-	Глітейк
8	Розчин для ін'єкцій	Кальцію хлорид, 10%	-	-	Кальцію хлорид, 100 мг/мл

Обрані зразки належать до ЛЗ широкого застосування, інші біологічного походження, а також проблемні лікарські препарати.

Дослідження проводили у декілька етапів:

- вхідний контроль АФІ, води для ін'єкцій (ВДІ), первинного пакування;
  - контроль підготовки АФІ, ВДІ, первинного пакування;
  - контроль приготованих розчинів;
  - контроль фільтрованих розчинів:
- 1) контроль після попередньої фільтрації,
  - 2) контроль після стерилізації з використанням номінальних фільтрів,
  - 3) контроль після стерилізуючої фільтрації,

4) контроль стерилізованих розчинів.

У результаті проведених досліджень виявлено, що найбільший ризик щодо вмісту БЕ становлять АФІ та ВДІ неналежної якості, а також проведення технологічного процесу з відхиленнями від вимог НВП. Відсоткові співвідношення наведено на рисунку 1.

У деяких випадках АФІ не відповідали вимогам за вмістом БЕ, і оскільки альтернативи не було, проводили дослідження щодо зниження БЕ у вже приготованому розчині.

Підготовка та отримання ВДІ – наступний важливий етап у виготовленні ЛЗ для парентерального застосування. Підготовка ВДІ відповідно до

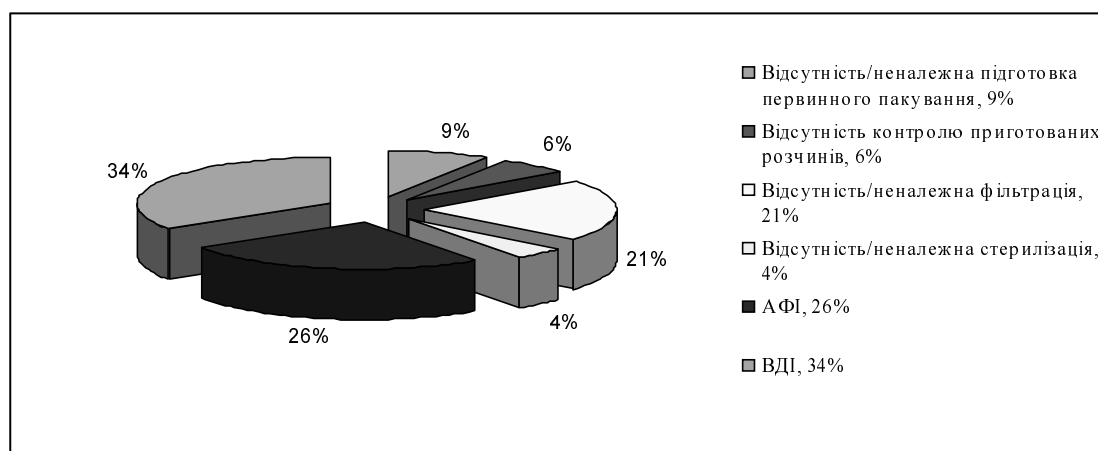


Рис. 1. Ризик отримання ЛЗ для парентерального застосування неналежної якості за вмістом БЕ на стадіях технологічного процесу.

НВП, за допомогою зворотного осмосу та дистилляції, а також рутинний контроль вмісту БЕ, зменшує ризики утворення БЕ.

Згідно з НВП обов'язковою умовою виготовлення ЛЗ для парентерального застосування є підготовка, а саме миття та депірогенізація (стерилізація для гумових корків) первинного пакування. При дотриманні цих вимог достатньо провести валідацію підготовки первинного пакування за вмістом БЕ та валідацію депірогенізації з використанням БЕ. Проте в деяких випадках депірогенізаційний тунель може бути «вузьким місцем» у технологічному процесі; виробник може оминати процес депірогенізації, або застосовувати стерилізацію, що також часто призводить до виготовлення неякісних ЛЗ. У таких випадках валідація та рутинний контроль за вмістом БЕ є обов'язковими для первинного пакування.

Контроль приготованих розчинів на вміст БЕ, згідно з існуючими вимогами проводять при потребі [1]. Зважаючи на таке формулювання, цей контроль практично не проводиться на сертифікованих відповідно до вимог НВП підприємствах і взагалі не проводиться на не сертифікованих підприємствах. Це пов'язано як з ускладненим впровадженням ЛАЛ-тесту, так із нерозумінням, що цей контроль обов'язковий хоча б при валідації технологічного процесу.

Фільтрація може як знижувати, так і збільшувати вміст БЕ у стерильних ЛЗ. Процес фільтрації

повинен бути валідований. Для зниження вмісту БЕ можуть застосовуватися фільтри з позитивним зарядом, які взаємодіють з негативним зарядом ендотоксину. Ця властивість фільтрів була виявлена випадково і використовується виробниками фільтрів як маркетинговий хід, оскільки не можливо встановити, яку кількість ендотоксинів може затримати фільтр, оскільки це залежить від хімічного складу ЛЗ, навантаження БЕ тощо. Проте при валідації і дослідженнях у більшості випадків фільтрація таки знижувала вміст БЕ. Особливої актуальності зниження вмісту БЕ набуває при виготовленні стерильних ЛЗ в умовах асептики.

При проведенні досліджень встановлено також, що при застосуванні термічної стерилізації відбувається зниження вмісту БЕ при умові, що на стадії фільтрації максимально знижене мікробне навантаження. В іншому випадку, при мікробному навантаженні грамнегативними мікроорганізмами, вміст БЕ після стерилізації буде зростати.

На рисунку 2 наведено блок-схему оптимального технологічного процесу для ЛЗ для парентерального застосування.

Основною умовою цього процесу є контроль вмісту БЕ на етапі вхідного контролю для АФІ, ВДІ у рутинному контролі, контроль БЕ на всіх стадіях виробництва при валідації, а також контроль стерильного ЛЗ у первинному пакуванні.



**Рис. 2.** Блок-схема оптимізації технологічного процесу ЛЗ для парентерального застосування з метою мінімізації вмісту БЕ.

**Висновки.** У результаті проведених досліджень встановлено, що вміст БЕ у ЛЗ для парентерального застосування залежить від технологічного процесу. Найбільший ризик отримання ЛЗ для парентерального застосування неналежної якості пов'язаний з АФІ та ВДІ.

Визначення БЕ за допомогою ЛАЛ-тесту дозволяє оперативно коригувати технологічний процес і покращувати якість ЛЗ для парентерального застосування. Дотримання вимог НВП є однією з ключових умов виготовлення якісних ЛЗ для парентерального застосування за вмістом БЕ.

#### Література

1. Настанова. Лікарські засоби. Належна виробнича практика. Київ. – 2013. – 295 с.  
2. Коцюмбас І. Я. Проблема визначення ендотоксинів як основної причини пірогенності / І. Я. Коцюмбас, Г. Ю. Тесляр, А. О. Костюк [та ін.] // Ветеринарна медицина України. – 2001. – № 8. – С. 34-36.

3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доповнення 4. – Харків. 2008. – 620 с.  
4. European Pharmacopoeia, 8-rd ed. 2014. – 3656 p.  
5. The United States Pharmacopoeia, 37-th ed., NF 32., 2014. – 5230 p.

### СПОСОБЫ УМЕНЬШЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЭНДОТОКСИНОВ НА СТАДИЯХ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

**Н. В. Дилай, Т. Г. Калинюк**

*Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого*

**Резюме:** исследованы основные стадии изготовления лекарственных средств для парентерального применения и их влияние на содержание бактериальных эндотоксинов. Риск получения лекарственных средств для парентерального применения ненадлежащего качества на 34 % зависит от воды для инъекций, на 26 % – активных фармацевтических ингредиентов и 40 % – проведение технологического процесса: 21 % фильтрация, 9 % подготовка, контроль первичной упаковки, 6 % контроль приготовленных растворов, 4 % стерилизация.

**Ключевые слова:** бактериальные эндотоксины, лекарственные средства для парентерального применения.

### METHODS OF REDUCTION OF BACTERIAL ENDOTOXINS AT THE PRODUCTION STAGES OF MEDICAMENTS FOR PARENTERAL USE

**N. V. Dilai, T. H. Kalyniuk**

*Lviv National Medical University by Danylo Halytsky*

**Summary:** the basic stages of production of medicinal products for parenteral use, and their effects on bacterial endotoxins content are examined. The risk of a receiving of medicaments for parenteral use of poor quality depends by 34 % on water for injection, by 26 % on active pharmaceutical ingredients and by 40 % on technological process: 21 % filtration, 9 % preparation, control of primary packaging, 6 % control over prepared solvents, 4 % sterilization.

**Key words:** bacterial endotoxins, medicaments for parenteral use.

Отримано 18.08.14