

ФАРМАЦЕВТИЧНІ НАУКИ

УДК 615.451.1.014:661.155/.158:636.5/.6.085.57

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.37794

ТЕХНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ВИРОБНИЦТВА 1 % ІН'ЄКЦІЙНОГО РОЗЧИНУ «АВЕССТИМ»

© І. В. Бушусва

Проведено аналіз літературних джерел з питання застосування імуностимуляторів в ветеринарній практиці. Зазначено, що на сучасному фармацевтичному ветеринарному ринку існують імпортовані високоякісні препарати. За мету було поставлено створення оригінального вітчизняного лікарського засобу для боротьби з вірусними інфекціями тварин. Проведено технологічні дослідження імуностимулюючого засобу для посилення специфічної імунопрофілактики сільськогосподарської птиці 1 % ін'єкційного розчину Авесстим, розроблено технологічну схему виробництва даного лікарського засобу в ампулах

Ключові слова: препарат, захворювання, Авесстим, ін'єкційний розчин, якісний аналіз, кількісний аналіз, технологічна схема, виробництво

The analysis of the literature on the use of immunostimulants in veterinary practice is conducted. It is noted that in today's market, there are pharmaceutical veterinary import expensive drugs. The goal was to put the creation of original domestic drug to combat viral infections of animals. It is conducted technological research of immunostimulatory agent for enhancing the specific immunization of poultry 1 % injectable solution Avesstim. It is developed technological scheme of production of the drug in ampoules

Keywords: drug, disease, Avesstim, injectable solution, qualitative analysis, quantitative analysis, flow chart, production

1. Вступ

В даний час птахівництво є однією з найбільш ефективних галузей тваринництва. Воно забезпечує споживачів дієтичними продуктами харчування, легку промисловість сировиною. Ця сільськогосподарська галузь має низку специфічних особливостей, які значною мірою визначають її економічну ефективність в умовах, що склалися [1]. Враховуючи високу щільність сучасних птахофабрик, молодняк птиці поряд з інвазійними і бактеріальними захворюваннями схильний до захворювань вірусної етіології, які мають повсюдне поширення і можуть завдавати колосальний економічний збиток промислового птахівництву. Тому, створення і виведення на ветеринарний ринок препаратів оригінального вітчизняного лікарського засобу для боротьби з вірусними інфекціями є актуальним.

2. Постановка проблеми

Метою дослідження була розробка науково-обґрунтованого складу, технології, аналізу 1 % ін'єкційного розчину Авесстиму.

3. Аналіз літературних джерел

З літературних даних відомо, що в основі розвитку вірусних захворювань птиці лежить зміна функціонування імунної системи. Розвиток імунодефіцитного стану сприяє затягуванню

основного процесу і виникнення ускладнень. Антибіотики і сульфаніламідні препарати не коригують імунодефіцит [2]. На даний час в вітчизняній ветеринарній практиці застосовуються такі імуностимулятори, як фоспреніл, гамавіт, КАФІ, гамапрен, які є імпортованими та високоякісними препаратами. За таких умов важливе значення набуває розробка та використання вітчизняних імуностимулюючих препаратів, які складуть конкуренцію за доступністю, ефективністю та ціною. Використання у птахівництві України імуностимулюючих препаратів потребує наукового обґрунтування. Більшість досліджень такого плану присвячена вивченню впливу пробіотиків на організм птиці з метою підвищення функціональної активності, життєздатності та продуктивних показників. Щодо дії імуностимуляторів на організм птиці в науковій літературі менше повідомлень. Мало вивченим залишається питання їх застосування для підвищення ефективності щеплення проти вірусних інфекцій сільськогосподарської птиці.

Кожевнікова Т. Н. вказує на застосування фоспренілу разом із вакцинами, враховуючи його здатність стимулювати клітинну імунну відповідь [3].

Ігнатов П. Е. перед щепленням птиці проти інфекційного бронхіту (ІБК) у 1 – 10 добовому віці, 14 – та доба проти інфекційної бурсальної хвороби (ІББ), 19 – та доба проти Ньюкаслської хвороби (НХ) випоював 0,4 % – ний розчин ФП у дозі 0,05 мг/кг

маси тіла. У дослідній групі збереження курчат було вище порівняно до контрольної на 1,47 % і складала 92,17 % [4,5].

Отже, в сучасній ветеринарній практиці в якості одного з імуностимуляторів використовується препарат фоспреніл – продукт фосфорилування полипренолов хвої сосни, основний компонент - динатрієва сіль фосфату полипренолов. Серед незначної кількості різноманітних засобів, що обумовлюють імуностимулюючу та протівірусну дію, особливої уваги заслуговують похідні 1,2,4 – триазолу [6, 7].

4. Матеріали і методи дослідження

Авесстим – жовтого кольору порошок, із слабким своєрідним запахом. Легко розчиний у воді (1:10), важко розчинний в органічних розчинниках.

Для приготування розчину Авесстиму для ін'єкцій застосовували воду очищену, що відповідає вимогам ДФУ (п. 5. № 2., 1.4., С. 389) [8]. Крім того, воду перевіряють на пірогенність за вимогами ДФУ (п. 2.6.8, 1.0, С. 107) [8].

Для приготування води для ін'єкцій, позбавленої вуглекислоти, воду кип'ятили безпосередньо після дистиляції протягом 30 хвилин. Розчин Авесстиму ізотонували натрію хлоридом, за вимогам ДФУ (п. 5. № 2., 1.1, С. 422) [8].

Методика якісного та кількісного аналізу 1 % ін'єкційного розчину Авесстиму.

Якісний аналіз 1 % ін'єкційного розчину Авесстиму. 0,5–1 мл розчину Авесстиму поміщали у пробірку і нагрівали над полум'ям газового пальника до кипіння. Вологий червоний лакмусовий папір, піднесений до отвору пробірки, синіє (морфолін).

При подальшому нагріванні папірець, змочений розчином ацетату свинцю, піднесений до отвору пробірки, буріє (сірка).

Близько 1 мл розчину Авесстиму поміщали в пробірку, додавали близько 0,1 г диметиламінобензальдегіду, 2 мл суміші оцтовий ангідрид-оцтова кислота (1:1) і нагрівали при слабкому кипінні на полум'ї пальника 1–2 хвилини, рідина забарвлюється

в оранжево-коричневий колір (5-(4-піридил)-1,2,4-тріазоліл-3-тіоацетатна кислота).

Кількісний аналіз аналіз 1 % ін'єкційного розчину Авесстиму. 1 мл розчину поміщали в мірну колбу місткістю 50 мл, доводили об'єм розчину водою до мітки і перемішували, 5 мл цього розчину переносили піпеткою в іншу мірну колбу місткістю 100 мл, доводили водою до мітки і перемішували.

Оптичну густину одержаного розчину вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 226 нм в кварцових кюветах з товщиною шару 10 мм.

Паралельно в тих же умовах проводили вимірювання оптичної густини розчину стандартного зразку Авесстиму. Як розчин порівняння використовували воду очищену.

Вміст Авесстиму в 1 мл розчину в грамах обчислювали за формулою:

$$\chi = \frac{D \times 0,000016 - 50 \times 100}{D_0 \times 1 \times 5}, \tag{1}$$

де D – оптична густина випробовуваного розчину; D₀ – оптична густина розчину стандартного зразку.

Вміст Авесстиму в 1 мл розчину для ін'єкцій повинен бути 0,0097-0,0103 г.

5. Розробка складу і технології ін'єкційного розчину Авесстиму

Визначення ізотонічної концентрації Авесстиму в 1 % ін'єкційному розчині.

Розрахунок ізотонічної концентрації проводили на підставі вимірювання депресії температури кристалізації 1 % розчину Авесстиму – криоскопічним методом.

Готували 1 % розчин Авесстиму і 0,9 % розчин натрію хлориду. Депресію точок замерзання вказаних розчинів в порівнянні з температурою замерзання води визначали за допомогою термометра Бекмана, що дозволяє фіксувати незначні зміни температури за допомогою умовної шкали.

Результати визначення температури замерзання води, 1 % розчину Авесстиму і 0,9 % розчину натрію хлориду представлені в табл. 1.

Таблиця 1

Температура кристалізації води 1 % розчину Авесстиму і 0,9 % розчину натрію хлориду

Температура замерзання (свідчення за термометром Бекмана)		
вода	0,9 % розчин натрію хлориду	1 % розчин Авесстиму
4,35	3,70	4,10
4,27	3,68	4,09
4,25	3,71	4,12
4,36	3,69	4,11
4,20	3,70	4,08
4,30	3,72	4,14
4,40	3,70	4,11
4,30	3,66	4,13
4,30	3,70	4,07
<u>4,30</u>	<u>3,74</u>	<u>4,15</u>
4,30	3,70	4,11

Депресія температури кристалізації 1 % розчину Авесстиму складає – 0,19, 0,9 % розчину натрію

хлориду – 0,6 °С. Ізотонічна концентрація розчину Авесстиму:

$$C_{(\%) } = \frac{0,6 \times 0,1}{0,19} = 3,158, \quad (2)$$

3,158 г Авесстиму створюють в 100 мл розчину ізотонічну концентрацію.

Встановили кількість натрію хлориду, яка необхідна для ізотонування 1 % розчину Авесстиму. 3,158 г Авесстиму відповідає 0,9 г натрій хлориду (у 100 мл розчину),

$$X_r = \frac{0,9 \times 1}{3,158} = 0,285, \quad (3)$$

Кількість натрію хлориду, що необхідна для ізотонування 1 % розчину Авесстиму складає: 0,9 г – 0,285 г = 0,615 г натрій хлориду на 100 мл 1 % розчину Авесстиму.

Вивчення чинників, що впливають на стабільність 1 % ін'єкційного розчину Авесстиму.

Попередні дослідження показали, що для приготування ін'єкційного розчину необхідно використовувати Авесстим після 2-х кратної перекристалізації з етанолу. Приготовлені 3 серії 1 % ізотонічного розчину Авесстиму. Дані розчини профільтрували, заповнили ампули місткістю 2 мл з скла марки НС-3.

Вимірювали рН ін'єкційних розчинів і води до стерилізації. Частина ампул з ін'єкційним розчином, а також ампули з водою простерилізували текучою парою протягом 30 хвилин. Решта ампул – в автоклаві при 120 °С протягом 15 хвилин. Температуру контролювали за допомогою максимального термометра. Після стерилізації і охолодження ампули розкрили, встановили рН розчинів, що вивчаються і води, визначили кількісний вміст Авесстиму в кожній серії ампул.

Проведені дослідження показали, що режим стерилізації істотно не впливає на кількісний вміст Авесстиму в ін'єкційному розчині. Розчин Авесстиму, як солі, утвореної слабкою основою і слабкою кислотою, проявляє буферні властивості і компенсує зрушення рН води в лужний бік після стерилізації. Для приготування ін'єкційного розчину Авесстиму необхідно використовувати свіжо-прокип'ячену воду. При проведенні подальших досліджень ін'єкційні розчини Авесстиму стерилізували при температурі 120°С протягом 15 хвилин в автоклаві типу ВК-30.

Визначення стабільності ін'єкційного розчину Авесстиму в ампулах.

При вивченні стабільності ампул з ін'єкційним розчином (3 серії) контролювали в процесі зберігання кількісний зміст діючої речовини. Експериментальне зберігання проводили до того моменту, коли втрата діючої речовини склала 3 %.

Встановили, що після закінчення терміну експериментального зберігання, відповідного дворічному терміну придатності, препарат відповідає вимогам ДФУ.

При зберіганні розчину Авесстиму 1 % для ін'єкцій в ампулах при кімнатній температурі термін придатності складає 2 роки. Зберігати препарат необхідно в захищеному від світла місці (можливість окислення).

6. Апробація результатів дослідження

На підставі результатів досліджень для подальшого вивчення запропонований наступний склад ін'єкційного розчину:

- авесстим – 10,0
- натрію хлориду – 5,6 г (ДФУ, п. 5.№2., 1.1, С. 422)
- води для ін'єкцій – до 1 л (ДФУ п. 5. №2, 1.4, С. 385.)

Технологічна схема виробництва розчину Авесстиму 1 % для ін'єкцій

Технологічний процес приготування ін'єкційного розчину складається з чотирьох технологічних стадій (рис. 1):

1. Підготовка ампул до наповнення.
2. Приготування розчину.
3. Ампулювання.
4. Упаковка.

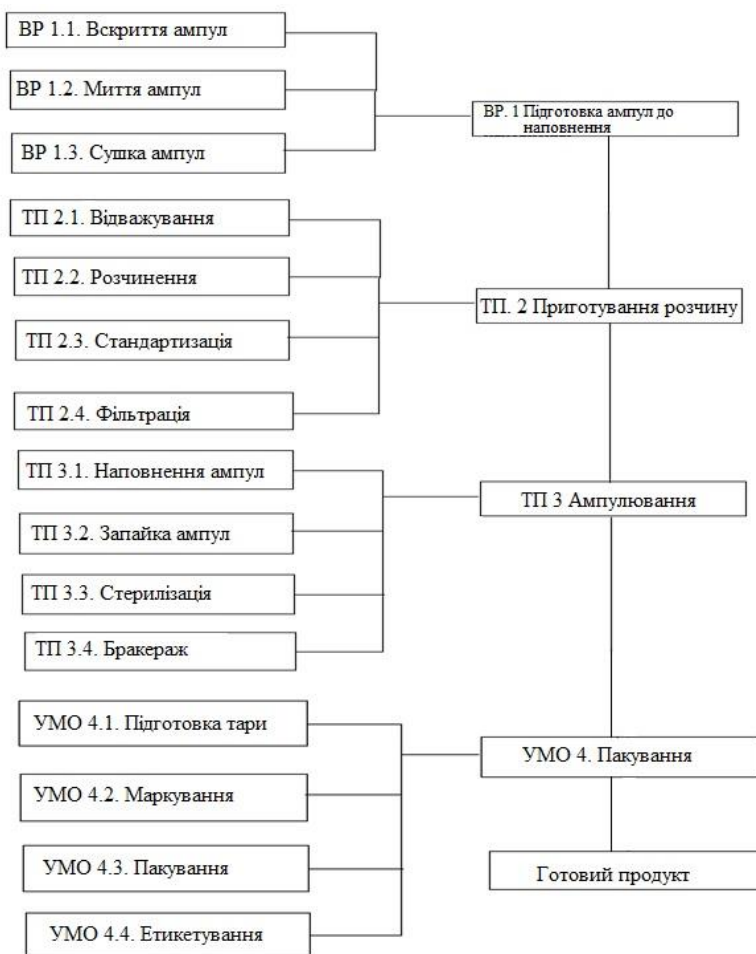


Рис. 1. Технологічна схема виробництва 1 % ін'єкційного розчину «Авесстим»

ВР.1 Підготовка ампул до наповнення включає у себе 3 технологічні операції.

ВР 1.1. Розкриття ампул.

Ампули місткістю 2 мл розкривають на однаковій висоті шляхом відламування запаяного кінчика стебла після нанесення на склі насічки-подряпини за допомогою карборундового каменя-бруска, що обертається.

ВР 1.2. Миття ампул.

Розкриті ампули по черзі надягають на довгу вертикальну порожнисту голку, сполучену трубкою з склянкою судиною, що містить воду очищену. Натисненням затиску закривають гумову трубку, одержують струмінь води, який промиває ампули. Промиті ампули струшують від залишків води, а потім обполіскують водою для ін'єкцій. Ампули, наповнені водою, ретельно візуально контролюють на відсутність механічних забруднень.

ВР 1.3. Сушка ампул.

Ампули перевірені на чистоту, звільняють від води, поміщають капілярами вниз і ставлять в сушильну шафу для сушки і стерилізації при 180°C протягом 20 хвилин.

Після сушки ампули напівохолоджені завертають в стерильні листи пергаменту і зберігають до заповнення їх розчином.

ТП. 2 Приготування розчину для ін'єкцій.

Включає наступні технологічні операції:

ТП 2.1. Зваження Авесстиму, натрію хлориду і відмірювання води.

На ручних вагах зважують 10 г Авесстиму і 5,6 г натрій хлориду переносять в стерильну мірну колбу на I л. Відміряють свіжопрокип'ячену воду для ін'єкцій.

ТП 2.2. Розчинення.

У стерильній мірній колбі розчиняють при помішуванні Авесстим, натрій хлорид в частині води. Потім доводять водою до мітки. Перемішують.

ТП 2.3. Стандартизація.

Кількісний вміст Авесстиму в ін'єкційному розчині визначали спектрофотометричним методом. У разі підвищення концентрації до розчину, враховуючи його об'єм, додавали воду для ін'єкції у разі пониження концентрації – розраховану кількість Авесстиму.

ТП 2.4. Фільтрування.

Ін'єкційний розчин фільтрують через складчастий фільтр з фільтрувального паперу. Розчин піддають триразовому фільтруванню.

ТП. 3 Ампулювання.

Включає чотири технологічні операції:

ТП 3.1. Наповнення ампул.

Профільтрований розчин, що знаходиться в стерильному хімічному стакані, розливають в ампули в об'ємі 2,1 мл.

ТП 3.2. Запаявання ампул.

Запаявання ампул виробляють методом сплаву в полум'ї газового пальника. Ампули вносять в полум'я кінцем капіляра і нагрівають, повертаючи навколо осі, до сплаву скла.

ТП 3.3. Стерилізація.

Стерилізацію розчину в ампулах здійснюють відразу після їх запаявання при температурі 120 °C протягом 15 хвилин.

ТП 3.4. Бракераж.

Гарячі ампули занурюють в холодний розчин метиленового синього і залишають в ньому до охолодження. Ампули виймають і обполіскують теплою водою. Забарвлені ампули вилучають. Ампули піддають візуальному контролю на відсутність механічних забруднень за допомогою апарату УК-2. Ампули, що знайшли муть або наявність механічних домішок, бракують.

УМО 4 Пакування.

Включає наступні технологічні операції:

УМО 4.1. Підготовка тари.

УМО 4.2. Маркування.

На ампулі швидкозастиваючою фарбою указують назву препарату українською і латинською мовами, концентрацію розчину і об'єм розчину в мл.

УМО 4.3. Пакування.

По 5 ампул укладають в контурні осередкові упаковки з плівки поліхлорвінілової, фольги алюмінієвої друкарської і лакованої. Контурні упаковки по 20 штук поміщають в упаковку з картону. В кожну упаковку вкладають 5 інструкцій по застосуванню і 5 ножів для розкриття ампул. Коробки обклеюють бандероллю з паперу друкарського. Кінці бандеролі заклеюють етикеткою з паперу друкарського або етикеточного.

Коробки по 10 штук упаковують в стопу папером обгортувальним. Стопи укладають в ящики фанерні, задалегідь вистилають папером обгортувальним. Вільний простір в ящиках заповнюють макулатурою паперовою. В ящик укладають пакувальний лист.

УМО 4.4. Етикетування.

На коробці, контурній упаковці і етикетці вказують: міністерство; назву заводу-виробника і його товарний знак; назву препарату латинською та українською мовами; концентрацію розчину; об'єм розчину в ампулі; кількість ампул в упаковці; вказівку «стерильно»; «внутрішньом'язовий»; умови зберігання; номер реєстраційного посвідчення; номер серії; термін придатності; ціну.

На етикетці стопи і груповій коробці додатково вказують кількість упаковок без вказівки ціни.

Випробування ін'єкційного розчину на пірогенність.

Дане випробування проводили згідно методу, описаному в ДФУ (п. 2.6.8., 1.4, С. 107). Результати досліду приведено в табл. 2.

Таблиця 2

Динаміка зміни ректальної температури у кроликів після внутрішньовенного введення 1 мл 1 % розчину Авесстиму

№ з/п	Маса кролика, кг	Початкова температура, °С	Зміна ректальної температури, °С через		
			1 годину	2 години	3 години
1	1,850	38,3	38,6	38,4	38,4
2	1,900	38,2	38,4	38,5	38,4
3	1,750	38,5	38,6	38,6	38,6

Проведені дослідження показали, що ін'єкційний розчин Авесстиму, що вивчається, є апірогенним, оскільки після введення ні у одного з трьох піддослідних кроликів протягом експерименту ректальна температура не підвищилася більш, ніж на 0,6 °С. У сумі підвищення температури у 3 кроликів не перевищувало 1,4 °С.

7. Висновки

Таким чином, на підставі проведених досліджень:

1. Досліджено стан ветеринарного ринку імуностимуляторів для ветеринарних потреб (за даними літературних джерел).
2. Розроблено науково – обґрунтований склад і технологія ін'єкційного розчину Авесстиму, що забезпечує можливість отримання вказаної лікарської форми в промислових умовах.
3. Запропоновано методи якісного і кількісного визначення Авесстиму в ін'єкційному розчині, відмінні високою чутливістю і відтворюваністю.

Література

1. Значення і стан птахівництва в Україні і у світі [Електронний ресурс] / Режим доступу: http://studopedia.com.ua/1_129578_Istoriya-rozvitku-ptahivnitstva-yak-galuzi-v-ukraini.html
2. Никулина, Н. Б. Применение препарата «Фоспренил» при лимфотропной терапии энрофлоком бронхопневмонии телят [Електронний ресурс] / Н. Б. Никулина, В. М. Аксенова. – Режим доступу: <http://plafm.ru/books/aa-volkova/primenenie-preparata-fo>
3. Кожевникова, Т. Н. Использование фоспренила в качестве дьюванта для вакцин и стимулятора продукции специфических антител при изготовлении гипериммунных сывороток [Текст] / Т. Н. Кожевникова // Ветеринарная клиника, 2004. – С. 23–25.
4. Игнатов, П. Е. Повышение сохранности, яйценоскости и массы яйца у кур – несушек с использованием иммунобиостимулирующего препарата Фоспренил [Текст] / П. Е. Игнатов // Ветеринария – 2000. – № 2. – С. 21–22.
5. Алиева, Е. В. Опыт получения иммунных сывороток для производства диагностических препаратов [Текст] / Е. В. Алиева // Курский научно – практический вестник «Человек и его здоровье» – 2008. – № 1. – С. 10–13.
6. Пархоменко, Л. І. Гематологічні показники крові курчат – бройлерів після щеплення живою вакциною проти

метапневмовірусної інфекції птиці за впливу похідних 1,2,4 – триазолу [Текст] / Л. І. Пархоменко, Р. А. Дубін, О. І. Панасенко та ін. // Науково-технічний бюлетень. – 2012. – Вип. 13, № 1-2. – С. 425–430.

7. Пархоменко, Л. І. Визначення впливу нових похідних 1,2,4 – триазолу РАРК – 60 та АІ – 1 щодо метапневмовірусу птиці у куриних ембріонах [Текст] / Л. І. Пархоменко, Р. А. Дубін, О. І. Панасенко та ін. // Збірник наук. праць Луганського національного аграрного університету. – 2012. – № 40. – С. 141–147.

8. Державна Фармакопея України [Текст] / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр»; 1-е вид.; Доповнення 1. – Харків: РІРЕГ, 2008. – 620 с.

References

1. Znachennya i stan ptahivnytstva v Ukraini i u sviti. available at: http://studopedia.com.ua/1_129578_Istoriya-rozvitku-ptahivnitstva-yak-galuzi-v-ukraini.html
2. Nykulyna, N. B., Aksenova, V. M. Primenenye preparata «Fosprenyl» pry limfotropnoy terapiyu yenrofloksom bronkhopnevmonyyu telyat. Available at: <http://plafm.ru/books/aa-volkova/primenenie-preparata-fo>
3. Kozhevnykova, T. N. (2004). Yspol'zovanye fosprenyla v kachestve d'yuvanta dlya vaksyn y stymulyatora produktsyy spetsyfycheskykh antytel pry yzhotovlenyyu hyperimmunnykh syvorotok, Veterynarnaya klynyka, 23–25.
4. Yhnatov, P. E. (2000). Povyshenye sokhrannosty, yaysenoskosty y massy yaysa u kur – nesushek s yspol'zovanyem ymmunobyostymulyruyushcheho preparata Fospreny. Veterynaryya, 2, 21–22.
5. Alyeva, E. V. (2008). Opyt poluchenyya ymmunnykh syvorotok dlya proyzvodstva dyahnostycheskykh preparatov. Kurskyy nauchno – praktycheskyy vestnyk «Chelovek y eho zdorov'e», 1, 10–13.
6. Parkhomenko, L. I (2012). Hematolohichni pokaznyky krovi kurchat – broyleriv pislya shcheplyennya zhyvoyyu vaksynoyu proty metapnevmovirusnoyi infektsiyi ptytsi za vplyvu pokhidnykh 1,2,4 – tryazolu. Naukovo – tekhnichnyy byuletyn, 13, 1 – 2, S. 425 – 430.
7. Parkhomenko, L. I., Dubin, R. A., Panasenko, O. I. (2012). Vyznachennya vplyvu novykh pokhidnykh 1,2,4 – tryazolu RАРK – 60 ta АІ – 1 shchodo metapnevmovirusu ptytsi u kurynykh embrionakh, Zbirnyk nauk. prats' Luhanskoho natsional'noho ahrarnoho universytetu, 40, 141–147.
8. Derzhavna Farmakopeya Ukrainy (2008). Derzhavne pidpryyemstvo „Naukovo-ekspertnyy farmakopeynyuy tsentr”. First edition. Kharkiv: RIREH, 620.

Рекомендовано до публікації д-р фарм. наук Є. Г. Книш.
Дата надходження рукопису 29.01.2015 р.

Бушусва Інна Володимирівна, кандидат фармацевтичних наук, доцент, кафедра клінічної фармації, фармакотерапії і управління і економіки фармації, Запорізький державний медичний університет, пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, Україна, 69035
E-mail: valery999@ukr.net