

Зміст

Наші ювіляри	
До 60-річчя від дня народження Петрух Л.І.	3
До видання Доповнення 2 до Державної Фармакопеї України	
Проект монографії «Вугілля активоване»	4
Проект монографії «Тальк»	7
<i>Георгієвський В.П., Литвиненко В.І., Аммосов О.С.</i>	
Питання введення в Державну Фармакопею України монографії «Солодки корені»	10
Проблеми. Пошук. Рішення.	
<i>Романова Я.Ю., Козлова Н.Г., Довга І.М., Замараєва О.Є.</i>	
Сучасні аспекти лікування туберкульозу	17
Аналітичний огляд	
<i>Георгієвський Г.В.</i>	
Біологічна активність похідних 1,2,4-тріазолу	27
Фітохімічні дослідження	
<i>Кошовий О.М., Осолодченко Т.П., Мудрик І.М., Ковальова А.М., Комісаренко А.М.</i>	
Перспективи створення нового лікарського засобу шляхом комплексної переробки листа евкаліпта	32
<i>Комісаренко С.М.</i>	
Карденолідні глікозиди насіння <i>Ornithogalum magnum</i>	
Krasch. et Schischk. локундьезид і 19-гідрокси-сарментогенін-рамнозид	36
Рослинні препарати та їх фармакологічна дія	
<i>Левицький А.П., Макаренко О.А., Хогаков І.В., Россаханова Л.М., Зеленіна Ю.В., Попова Н.В., Литвиненко В.І.</i>	
Вплив ізофлавоноїдів на обмін кальцію у щурів після овариєктомії	39
Біотехнологічні дослідження	
<i>Соколов Ю.В., Краснопольський Ю.М.</i>	
Вивчення залежності продукування гіалуронідази штамом <i>S. aureus</i> від умов культивування	43
Готові лікарські засоби	
<i>Січкач Л.А., Діхтярьов С.І., Денисенко Н.В.</i>	
Дослідження природи осаду в екстрактах селезінки великої рогатої худоби	47
<i>Блажесвський М.Є., Миронюк П.Л.</i>	
Хемілюмінесцентне визначення ізоніазиду в таблетках ізоніазиду по 0.3 г	52
Стандартизація лікарських засобів	
<i>Дем'яненко В.Г., Жежжах Самар, Дем'яненко Д.В.</i>	
Розробка методик контролю якості ліпофільного екстракту плодів шипшини	56
Технологія лікарських засобів	
<i>Рибачук Д.В., Рибачук В.Д., Пашнев П.П.</i>	
Розробка складу та технології таблеток природного цеоліту	63

- Рецензенти: д.фарм.н., професор, чл.-кор. НАНУ Георгієвський В.П.; д.х.н., професор Гризодуб О.І.; д.фарм.н., професор Діхтярьов С.І.; д.фарм.н., професор Казарінов М.О.; к.фарм.н. Котов А.Г.; к.х.н. Куліков А.Ю.; д.б.н., професор Маслова Н.Ф.; д.фарм.н. Півень О.П.; к.х.н. Рибаченко А.І.; к.мед.н. Чайка Л.О.
- Випуск підготували: Саматов Р.С., Тихоненко Т.М., Тихоненко Н.І.
- Рекомендовано до друку Вченою радою ДП «Державний науковий центр лікарських засобів», протокол № 7 від 28.07.2006 р.
- Підписано до друку 04.09.2006 р. Тираж 500 прим.

Загорій В.А., Стромко С.Б., Буцька В.Є., Перемот З.П., Загорій Г.В.

Дослідження пресуємості лактози моногідрату в технології препарату
«Бромгексин-Дарниця», таблетки по 8 мг, одержаного методом прямого пресування 67

Організація діяльності фармацевтичних підприємств

Толочко В.М., Зарічкова М.В.

Дослідження зовнішньоторговельної діяльності вітчизняних
фармацевтичних оптових та оптово-роздрібних підприємств (організацій) 72

Толочко В.М., Хмельницька О.А.

Вивчення діяльності регіональних державних інспекцій
з контролю якості лікарських засобів з метою її регулювання 78

Маркетингові дослідження

Півень О.П., Котляр В.О., Тихомирова О.В., Хренова О.О.

Маркетингове обґрунтування програми розробки
протитуберкульозних лікарських засобів для дітей 83

Мнушко З.М., Дорохова Л.П., Пестун І.В., Ларіонова Н.В.

Система та методи контролю маркетингової діяльності фармацевтичних підприємств 88

Наші ювіляри

До 60-річчя від дня народження Петрух Любові Іванівни



Виповнилося 60 років засновнику кафедри фармацевтичної хімії факультету післядипломної освіти Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, доктору фармацевтичних наук, професору Петрух Любові Іванівни.

Кандидатську дисертацію на тему «Синтез і дослідження похідних етиленіміну» захистила у Львові в 1975 році; докторську дисертацію «Синтез і перетворення похідних флуорену, які виявляють біологічну активність» — у 1990 році в Державному науковому центрі лікарських засобів у місті Харків.

Автор 370 наукових праць, серед них 70 патентів на винаходи України. Брала участь у розробці монографій та загальних статей Державної Фармакопеї України.

Працює над проблемою промислового синтезу похідних флуорену, питаннями фармакопейного аналізу та стандартизації показників якості лікарських засобів, впровадженням нових ліків у виробництво та медичну практику.

Автор препарату «Флуренізид» і шести готових лікарських форм на його основі. Флуренізид — оригінальний український препарат протитуберкульозної, антихламідійної та імунотимулюючої дії.

Професор Петрух Л.І. є членом лікарської комісії наукового товариства імені Т.Г.Шевченка, членом АН вищої школи України; Голова громадської організації «Фармацевтична асоціація Львівщини».

У травні 1994 року у Львові відбувся I Конгрес Світової Федерації Українських Фармацевтичних товариств (СФУФТ), в організації та проведенні якого провідна заслуга належить Любові Іванівні.

Професор Петрух Л.І. — голова міжгалузевого підкомітету «Охорона здоров'я» Львівського осередку Технічного комітету стандартизації науково-технічної термінології (ТК СНТТ) Держстандарту та Міністерства освіти і науки України, із 1993 року — постійний член організаційного комітету міжнародних наукових конференцій «Проблеми української науково-технічної термінології»; член редакційної колегії науково-інформаційного збірника «Національні інтереси» (серія «Безпека державної мови України»).

Протягом 1990-1995 років очолювала Видавничу спілку «Словник», у якій 70 вчених Львівського державного медичного інституту — фахівці з 36 основних спеціальностей — працювали над створенням «Орфографічного словника українських медичних термінів» (1993 рік) та 2-ох томного видання «Українсько-латинсько-англійського медичного тлумачного словника» (1994 рік).

За вагомий внесок у розвиток м. Львова, наукові та навчальні успіхи в галузі фармацевтичних наук 21 вересня 1997 року д.фарм.н., проф. Петрух Л.І. нагороджена Львівською міською радою і Західним регіональним відділенням АН вищої школи України «Дипломом кращого професора-науковця».

Проф. Петрух Л.І. — скромна і працелюбна, педагог-професіонал, спеціаліст своєї справи. Під її керівництвом захищено 7 дисертаційних робіт.

Колектив кафедри щиро вітає Петрух Любов Іванівну. Зичимо доброго здоров'я, радості, невичерпної енергії у втіленні задумів, плідної діяльності, віри незламної, любові, сили для повсякденної наукової і творчої праці в ім'я України.

*Колектив кафедри фармацевтичної хімії факультету післядипломної освіти
Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького*

До видання Доповнення 2 до Державної Фармакопеї України

До Вашої уваги представлено проект монографії Доповнення 2 до Державної Фармакопеї України 1-го видання на вугілля активоване.

Проект монографії «Вугілля активоване» наданий до друку групою «Монографії на лікарські субстанції» (керівник групи — к.фарм.н. Георгієвський Г.В., відповідальний виконавець — наук. співр. Тихоненко Т.М.) відділу Державної Фармакопеї України ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». Представлений проект складений на основі монографії Європейської Фармакопеї 5-го видання та її Доповнень.

В обговоренні проекту брали участь Гризодуб О.І. (д.х.н., професор, директор ДП НЕФЦ), Согоян Т.П. (к.х.н., ст. наук. співр. лабораторії фармакопейного аналізу НП НЕФЦ), Черниш Л.Я. (наук. співр. лабораторії фізико-хімічних процесів ДП ДНЦЛЗ).

Зауваження та пропозиції щодо представленого проекту Ви можете направляти на адресу ДП «Науково-експертний фармакопейний центр» (відділДФУ) або журналу «Фармаком».

Запрошуємо всіх зацікавлених осіб до відкритого обговорення на Форумі сайту журналу «Фармаком» Farmacomua.narod.ru.

ПРОЕКТ

ВУГІЛЛЯ АКТИВОВАНЕ

Carbo activatus

CHARCOAL, ACTIVATED

Вугілля активоване одержують із рослинної сировини з використанням підходящого процесу карбонізації, що забезпечує високу абсорбційну активність субстанції.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Легкий порошок чорного кольору, вільний від сторонніх включень.

Розчинність. Практично не розчинний у всіх звичайних розчинниках.

ІНДЕТИФІКАЦІЯ

А. Субстанція, що нагріта до червоного жару, згоряє повільно без полум'я.

В. Субстанція має витримувати вимоги з абсорбційної активності, зазначені в розділі «Випробування на чистоту».

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Розчин S. 2.0 г субстанції поміщають у конічну колбу із притертою пробкою і додають 50 мл кислоти хлористоводневої розведеної Р. Обережно кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 1 год і фільтрують, фільтр промивають кислотою хлористоводневою розведеною Р. Фільтрат і промивну рідину по-

єднують і упарюють насухо на водяній бані. Одержаний залишок розчиняють в 0.1 М розчині кислоти хлористоводневої та доводять об'єм тим самим розчинником до 50.0 мл.

Кислотність або лужність. До 2.0 г субстанції додають 40 мл води Р і кип'ятять протягом 5 хв. Одержаний розчин охолоджують, доводять до початкового об'єму водою, вільною від вуглецю гіоксиду, Р і фільтрують. Перші 20 мл фільтрату відкидають. До 10 мл фільтрату додають 0.25 мл розчину бромтимолового синього Р1 і 0.25 мл 0.02 М розчину натрію гідроксиду; з'являється синє забарвлення, що переходить у жовте при додаванні не більше 0.75 мл 0.02 М розчину кислоти хлористоводневої.

Речовини, розчинні в кислоті. До 1.0 г субстанції додають 25 мл кислоти азотної розведеної Р і кип'ятять протягом 5 хв, одержаний гарячий розчин фільтрують крізь скляний фільтр (10), фільтр промивають 10 мл гарячої води Р. Фільтрат і промивну рідину поєднують, упарюють насухо на водяній бані. До одержаного залишку додають 1 мл кислоти хлористоводневої Р і знову упарюють насухо на водяній бані. Одержаний залишок сушать до постійної маси при температурі від 100 °С до 105 °С. Маса залишку не має перевищувати 30 мг (3 %).

Забарвлені речовини, розчинні в лузі. До 0.25 г субстанції додають 10 мл розчину натрію гідроксиду розведеного Р, кип'ятять протягом 1 хв, охолоджують і фільтрують. Одержаний фільтрат доводять водою Р до об'єму 10 мл. Забарвлення одержаного розчину має бути не інтенсивнішим за еталон GY₄ (2.2.2, метод II).

Речовини, розчинні в 96 % спирті. До 2.0 мг субстанції додають 50 мл 96 % спирту Р, кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 10 хв, відразу фільтрують і охолоджують. Одержаний розчин доводять 96 % спиртом Р до об'єму 50 мл. Забарвлення одержаного розчину має бути не інтенсивнішим за еталон Y₆ або ВY₆ (2.2.2, метод II). 40 мл фільтрату упарюють насухо, одержаний залишок сушать до постійної маси при температурі від 100 °С до 105 °С. Маса залишку не має перевищувати 8 мг (0.5 %).

Флуоресціюючі речовини. 10.0 г субстанції обробляють 100 мл циклогексану Р1 в апараті пульсаційної екстракції протягом 2 год. Одержану рідину збирають і доводять циклогексаном Р1 до об'єму 100 мл. Випробування проводять за довжини хвилі 365 нм. Флуоресценція одержаного розчину має бути не інтенсивнішою за флуоресценцію розчину 83 мкг хініну Р у 1000 мл 0.005 М розчину кислоти сірчаної.

Сульфід. 1.0 г субстанції поміщають у конічну колбу, додають 5 мл кислоти хлористоводневої Р1 і 20 мл води Р і нагрівають до кипіння. Пара, що виділилася, не має забарвлювати свинцево-ацетатний папір Р у коричневий колір.

Мідь. Не більш 0.0025 % (25 ppm Cu). Визначення проводять методом атомно-абсорбційної спектроскопії (2.2.23, метод I).

Випробовуваний розчин. Розчин S.

Розчини порівняння. Готують відповідними розведеннями еталонного розчину міді (0.1 % Cu) Р 0.1 М розчином кислоти хлористоводневої.

Вимірюють поглинання одержаних розчинів за довжини хвилі 325.0 нм, використовуючи як джерело випромінювання лампу з порожнистим мідним катодом і повітряно-ацетиленове полум'я.

Свинець. Не більш 0.001 % (10 ppm Pb). Визначення проводять методом атомно-абсорбційної спектроскопії (2.2.23, метод I).

Випробовуваний розчин. Розчин S.

Розчини порівняння. Готують відповідними розведеннями еталонного розчину свинцю (100 ppm Pb) Р 0.1 М розчином кислоти хлористоводневої.

Вимірюють поглинання одержаних розчинів за довжини хвилі 283.3 нм, використовуючи як джерело випромінювання лампу з порожнистим свинцевим катодом і повітряно-ацетиленове полум'я. У залежності від приладу може використовуватися довжина хвилі 217.0 нм.

Цинк. Не більш 0.0025 % (25 ppm Zn). Визначення проводять методом атомно-абсорбційної спектроскопії (2.2.23, метод I).

Випробовуваний розчин. Розчин S.

Розчини порівняння. Готують відповідними розведеннями еталонного розчину цинку (100 ppm Zn) Р 0.1 М розчином кислоти хлористоводневої.

Вимірюють поглинання одержаних розчинів за довжини хвилі 214.0 нм, використовуючи як джерело випромінювання лампу з порожнистим цинковим катодом і повітряно-ацетиленове полум'я.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 15 %. 1.00 г субстанції сушать при температурі 120 °С протягом 4 год.

Сульфатна зола (2.4.14). Не більше 5.0 %. Визначення проводять з 1.0 г субстанції.

Адсорбційна активність. 0.300 г субстанції поміщають у конічну колбу місткістю 100 мл із притертою пробкою і додають 25.0 мл свіжоприготованого розчину 0.5 г феназону Р у 50 мл води Р. Ретельно струшують протягом 15 хв, фільтрують і відкидають перші 5 мл фільтрату. До 10.0 мл фільтрату додають 1.0 г калію броміду Р, доводять до об'єму 20 мл кислотою хлористоводневою розведеною Р і повільно (1 крапля кожні 15 с) титрують 0.0167 М розчином калію бромату до зникнення червоного забарвлення, використовуючи як індикатор 0.1 мл розчину метилового червоного Р.

Паралельно проводять контрольний дослід із використанням 10.0 мл розчину феназону.

Кількість феназону, що адсорбується в 100 г субстанції, обчислюють за формулою:

$$\frac{2.353 \cdot (a - b)}{m}$$

де:

a — об'єм 0.0167 М калію бромату, використаний на титрування в контрольному досліді, у мілілітрах;

b — об'єм 0.0167 М калію бромату, використаний на титрування випробовуваного розчину, у мілілітрах;

m — маса наважки субстанції, у грамах.

У 100 г вугілля активованого, у перерахунку на суху речовину, має адсорбуватися не менше 40 г феназону.

Мікробіологічна чистота. Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів (2.6.12): не більше 10^3 (аеробних бактерій і грибів сумарно) у грамі. Визначення проводять методом висівання на чашки.

ЗБЕРІГАННЯ

У повітронепроникному контейнері.

_____ *N*

Речовини, розчинні у воді. Не більше 1.0 %. 2.5 г субстанції поміщають у колбу місткістю 200 мл із притертою пробкою, додають 50 мл води *P* і кип'яють зі зворотним холодильником протягом 5 хв. Вміст колби охолоджують, фільтрують крізь беззольний фільтр і доводять водою *P* до об'єму 50 мл. 20 мл одержаного фільтрату упарюють насухо на водяній бані. Одержаний залишок сушать при температурі від 100 °С до 105 °С до постійної маси.

Хлориди (2.4.4). Не більше 0.2 %. 5 мл фільтрату, одержаного у випробуванні «Речовини, розчинні у воді» доводять водою *P* до об'єму 100 мл. 10 мл одержаного розчину доводять водою *P* до об'єму 15 мл. Одержаний розчин має витримувати випробування на хлориди.

Сульфати (2.4.13). Не більше 0.02 %. 3.75 г субстанції поміщають у колбу місткістю 200 мл, додають 50 мл води *густильованої P* та кип'яють зі зворотним холодильником протягом 5 хв. Вміст колби охолоджують, фільтрують крізь беззольний фільтр і доводять водою *густильованою P* до об'єму 50 мл. 10 мл одержаного розчину мають витримувати випробування на сульфати.

Залізо (2.4.9). Не більше 0.06 %. Розчин, одержаний у випробуванні «Сульфіді», охолоджують, доводять водою *P* до об'єму 20 мл, перемішують та фільтрують крізь беззольний фільтр. 0.8 мл одержаного фільтрату доводять водою *P* до об'єму 25 мл. 10 мл одержаного розчину мають витримувати випробування на залізо.

Арсен (2.4.2, метод А). Не більше 0.0001 %. 1.0 г субстанції має витримувати випробування на арсен.

До Вашої уваги представлено проект монографії Доповнення 2 до Державної Фармакопеї України 1-го видання на тальк.

Тальк є однією з найпоширеніших допоміжних речовин, що використовуються у виробництві таблетованих лікарських форм.

Проект монографії «Тальк» наданий до друку групою «Монографії на лікарські субстанції» (керівник групи — к.фарм.н. Георгієвський Г.В., відповідальний виконавець — наук.співр. Тихоненко Т.М.) відділу Державної Фармакопеї України ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». Представлений проект складений на основі монографії Європейської Фармакопеї 5-го видання та її Доповнень.

В обговоренні проекту брали участь Гризодуб О.І. (д.х.н., професор, директор ДП НЕФЦ), Согоян Т.П. (ст. наук. співр. лабораторії фармакопейного аналізу НП НЕФЦ), Юдіна І.І. (зав. сектором науково-технічної експертизи НТД на хіміко-фармацевтичні препарати, субстанції та допоміжні речовини ДП НЕФЦ).

Зауваження та пропозиції щодо представленого проекту Ви можете направляти на адресу ДП «Науково-експертний фармакопейний центр» (відділ ДФУ) або журналу «Фармаком».

Запрошуємо всіх зацікавлених осіб до відкритого обговорення на Форумі сайту журналу «Фармаком» Farmacomua.narod.ru.

ТАЛЬК

Talcum

TALC

Тальк являє собою порошкоподібний, добірний, природний, гідратований магнею силікат. Чистий тальк має формулу $[\text{Mg}_3\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2]$; М.м. 379.3]. Субстанція може містити різні кількості супутніх мінералів, серед яких переважають хлорити (гідратовані алюмінію та магнею силікати), магнезит (магнею карбонат), кальцит (кальцію карбонат) і доломіт (кальцію та магнею карбонат).

ВИРОБНИЦТВО

Тальк, одержаний із родовищ, про які відомо, що вони містять супутній асбест, не придатний для фармацевтичного застосування. Виробник несе відповідальність за доведення за допомогою випробувань на амфіболи та серпентини, що кінцевий продукт не містить асбесту. Наявність амфіболів і серпентинів виявляється рентгенівською дифракцією або абсорбційною спектроскопією в інфрачервоній області (див. А та В). У разі виявлення асбесту за допомогою методів, наведених нижче, методом оптичної мікроскопії мають бути досліджені специфічні морфологічні ознаки асбесту, щоб визначити: наявний тремолітовий асбест або хризотилітовий.

ПРОЕКТ

А. Випробування проводять методом абсорбційної спектроскопії в інфрачервоній області (2.2.24). Субстанцію досліджують у дисках із калію бромідом Р. В області довжин хвиль від 740 см^{-1} до 760 см^{-1} використовують збільшення масштабу. Смуга поглинання за довжини хвилі $(758 \pm 1)\text{ см}^{-1}$ свідчить про наявність тремоліту або хлориту. Якщо смуга поглинання залишається після прожарювання субстанції при температурі $850\text{ }^\circ\text{C}$ протягом не менше 30 хв, це означає наявність тремоліту. В області довжин хвиль від 600 см^{-1} до 650 см^{-1} використовують збільшення масштабу. Виявлені смуга поглинання або плече вказують на наявність серпентинів.

В. Випробування проводять методом рентгенівської дифракції за таких умов:

- трубка Cu Ka монохроматичного випромінювання від 24 мА до 30 мА при 40 кВ,
- вхідна щілина: 1° ,
- щілина детектора: 0.2° ,
- швидкість гоніометра: $1/10^\circ 2\theta/\text{хв}$,
- область сканування: від 10° до $13^\circ 2\theta$ та від 24° до $26^\circ 2\theta$,
- зразок не орієнтований.

Поміщають зразок у тримач; ущільнюють і розгладжують його поверхню полірованим предметним склом.

Записують дифрактограми.

Наявність амфіболів виявляється дифракційним піком $(10.5 \pm 0.1)^\circ 2\theta$, наявність серпентинів виявляється піками $(24.3 \pm 0.1)^\circ 2\theta$ та $(12.1 \pm 0.1)^\circ 2\theta$.

Якщо одним із 2 методів виявляються амфіболи та/або серпентини, підходящим методом оп-

тичної мікроскопії визначають природу асбестів.

Випробування проводять методом оптичної мікроскопії. Асбести наявні, якщо виявляються наведені нижче критерії.

- відношення довжини до ширини знаходиться у діапазоні від 20:1 до 100:1 або більше для волокон, довгих за 5 мкм,
- здатність до розшарування на дуже тонкі волокна,

та якщо виявляються 2 або більше із наведених нижче 4 критеріїв:

- паралельні волокна, що знаходяться в пучках,
- пучки волокон, що мають стерті кінці,
- волокна у формі тонких голок,
- поплутані маси поодиноких волокон та/або викривлені волокна.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Легкий, однорідний порошок білого або майже білого кольору. Маслянистий на дотик (не абразивний).

Розчинність. Практично не розчинний у воді *P*, 96 % спирті *P* і в розведених розчинах кислот і гідроксидів лужних металів.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Перша ідентифікація: **A**.

Друга ідентифікація: **B, C**.

A. Інфрачервоний спектр (2.2.24) субстанції, одержаний у дисках із калію бромідом *P*, повинен мати смуги поглинання за довжин хвиль $(3677 \pm 2) \text{ см}^{-1}$, $(1018 \pm 2) \text{ см}^{-1}$ та $(669 \pm 2) \text{ см}^{-1}$.

B. Суміш 0.2 г натрію карбонату безводного *P* та 2.0 г калію карбонату *P* плавлять у платиновому тиглі. До розплавленої маси додають 0.1 г субстанції, нагрівають до повного розплавлення суміші, охолоджують і одержану розплавлену масу переносять у випарну чашку за допомогою 50 мл гарячої води *P*. Додають кислоту хлористоводневу *P* до припинення бурхливого спінування, потім додають 10 мл кислоти хлористоводневої *P*, випарюють насухо на водяній бані та витримують до охолодження. До одержаного сухого залишку додають 20 мл води *P*, нагрівають до кипіння та фільтрують (залишок використовують для ідентифікації **C**). До 5 мл одержаного фільтрату додають 1 мл розчину аміаку *P* та 1 мл розчину амонію хлориду *P* і фільтрують. До одержаного

фільтрату додають 1 мл розчину динатрію гідрофосфату *P*; утворюється білий кристалічний осад.

C. Залишок, одержаний в ідентифікації **B**, дає реакцію на силікати (2.3.1).

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Розчин S1. 10.0 г випробовуваної субстанції зважують у конічній колбі, яку з'єднують зі зворотним холодильником, додають 50 мл 0.5 *M* розчину кислоти хлористоводневої, зрідка перемішуючи, нагрівають на водяній бані протягом 30 хв і витримують до охолодження. Одержану суміш переносять у склянку, витримують до осадження нерозчинних речовин та фільтрують надосадову рідину крізь фільтрувальний папір із середньою швидкістю фільтрування у мірну колбу місткістю 100 мл, зберігаючи якомога більше нерозчинних речовин у склянці. Залишок і склянку промивають 3 порціями, по 10 мл кожна, гарячої води *P*. Промивають фільтр 15 мл гарячої води *P*, витримують фільтрат до охолодження і доводять об'єм фільтрату тим самим розчинником до 100.0 мл.

Розчин S2. Перхлорати, змішані із важкими металами, є вибухонебезпечними, тому при виконанні даної процедури слід дотримуватися належної обережності. 0.5 г випробовуваної субстанції зважують у політетрафторетиленовій чашці місткістю 100 мл, додають 5 мл кислоти хлористоводневої *P*, 5 мл кислоти азотної, вільної від свинцю, *P* і 5 мл кислоти хлорної *P*, обережно перемішують, додають 35 мл кислоти фтористоводневої *P* і повільно випарюють насухо на гарячій пластинці. До одержаного залишку додають 5 мл кислоти хлористоводневої *P*, накривають годинниковим склом, нагрівають до кипіння та витримують до охолодження. Промивають годинникове скло і чашку водою *P*. Переносять вміст у мірну колбу, обполіскують чашку водою *P* і доводять об'єм тим самим розчинником до 50.0 мл.

Кислотність або лужність. 2.5 г субстанції кип'ятять зі зворотним холодильником із 50 мл води, вільної від вуглецю діоксида, *P* і фільтрують під вакуумом. До 10 мл фільтрату додають 0.1 мл розчину бромтимолового синього *P1*; зелене забарвлення має з'явитися при додаванні не більше 0.4 мл 0.01 *M* розчину кислоти хлористоводневої. До 10 мл фільтрату додають

0.1 мл розчину фенолфталеїну P1; рожеве забарвлення має з'явитися при додаванні не більше 0.3 мл 0.01 M розчину натрію гідроксиду P.

Речовини, розчинні у воді. До 10.0 г субстанції додають 50 мл води, вільної від вуглецю діоксиду, P, нагрівають до кипіння, кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 30 хв, витримують до охолодження, фільтрують крізь паперовий фільтр із середньою швидкістю фільтрування і доводять об'єм водою, вільною від вуглецю діоксиду, P до 50.0 мл. 25.0 мл одержаного фільтрату випарюють насухо при нагріванні до температури 105 °C протягом 1 год. Маса сухого залишку не має перевищувати 10 мг (0.2 %).

Алюміній. Не більше 2.0 % Al. Випробування проводять методом атомно-абсорбційної спектрометрії (2.2.23, метод I).

Випробовуваний розчин. До 5.0 мл розчину S2 додають 10 мл розчину 25.34 г/л цезію хлориду P, 10.0 мл кислоти хлористоводневої P і доводять об'єм розчину водою P до 100.0 мл.

Розчини порівняння. В 4 однакові мірні колби, кожна із яких містить 10.0 мл кислоти хлористоводневої P і 10 мл розчину 25.34 г/л цезію хлориду P поміщають відповідно 5.0 мл, 10.0 мл, 15.0 мл і 20.0 мл еталонного розчину алюмінію (100 ppm Al) P і доводять об'єм розчину водою P до 100.0 мл.

Вимірюють поглинання одержаних розчинів за довжини хвилі 309.3 нм, використовуючи як джерело випромінювання лампу із алюмінієвим порожнистим катодом і полум'я закис азоту - ацетилен.

Кальцій. Не більше 0.9 % Ca. Випробування проводять методом атомно-абсорбційної спектрометрії (2.2.23, метод I).

Випробовуваний розчин. До 5.0 мл розчину S2 додають 10.0 мл кислоти хлористоводневої P, 10.0 мл розчину лантану(III) хлориду P і доводять об'єм розчину водою P до 100.0 мл.

Розчини порівняння. В 4 однакові мірні колби, кожна із яких містить 10.0 мл кислоти хлористоводневої P і 10.0 мл розчину лантану(III) хлориду P поміщають відповідно 1.0 мл, 2.0 мл, 3.0 мл і 4.0 мл еталонного розчину кальцію (100 ppm Ca) P1 і доводять об'єм розчину водою P до 100.0 мл.

Вимірюють поглинання одержаних розчинів за довжини хвилі 422.7 нм, використовуючи як

джерело випромінювання лампу із кальцієвим порожнистим катодом і полум'я закис азоту — ацетилен.

Залізо. Не більше 0.25 % Fe. Випробування проводять методом атомно-абсорбційної спектрометрії (2.2.23, метод I).

Випробовуваний розчин. До 2.5 мл розчину S1 додають 50.0 мл 0.5 M розчину кислоти хлористоводневої доводять об'єм розчину водою P до 100.0 мл.

Розчини порівняння. В 4 однакові мірні колби, кожна із яких містить 50.0 мл 0.5 M розчину кислоти хлористоводневої поміщають відповідно 2.0 мл, 2.5 мл, 3.0 мл і 4.0 мл еталонного розчину заліза (250 ppm Fe) P і доводять об'єм розчину водою P до 100.0 мл.

Вимірюють поглинання одержаних розчинів за довжини хвилі 248.3 нм, використовуючи як джерело випромінювання лампу із залізним порожнистим катодом і повітряно-ацетиленове полум'я. Для коригування використовують дейтерієву лампу.

Свинець. Не більше 0.001 % (10 ppm) Pb. Випробування проводять методом атомно-абсорбційної спектрометрії (2.2.23, метод I).

Випробовуваний розчин. Розчин S1.

Розчини порівняння. В 4 однакові мірні колби, кожна із яких містить 50.0 мл 0.5 M розчину кислоти хлористоводневої поміщають відповідно 5.0 мл, 7.5 мл, 10.0 мл і 12.5 мл еталонного розчину свинцю (10 ppm Pb) P1 і доводять об'єм розчину водою P до 100.0 мл.

Вимірюють поглинання одержаних розчинів за довжини хвилі 217.0 нм, використовуючи як джерело випромінювання лампу із свинцевим порожнистим катодом і повітряно-ацетиленове полум'я.

Магній. Від 17.0 % до 19.5 % Mg. Випробування проводять методом атомно-абсорбційної спектрометрії (2.2.23, метод I).

Випробовуваний розчин. 0.5 мл розчину S2 доводять водою P до об'єму 100.0 мл. До 4.0 мл одержаного розчину додають 10.0 мл кислоти хлористоводневої P, 10.0 мл розчину лантану(III) хлориду P і доводять об'єм розчину водою P до 100.0 мл.

Розчини порівняння. В 4 однакові мірні колби, кожна із яких містить 10.0 мл кислоти хлористоводневої P і 10.0 мл розчину лантану(III) хлориду P

рису Р поміщають відповідно 2.5 мл, 3.0 мл, 4.0 мл і 5.0 мл *еталонного розчину магнію (100 ppm Mg) P1* і доводять об'єм розчину водою Р до 100.0 мл.

Вимірюють поглинання одержаних розчинів за довжини хвилі 285.2 нм, використовуючи як джерело випромінювання лампу із магнієвим порожнистим катодом і повітряно-ацетиленове полум'я.

Втрата в масі при прожарюванні. Не більше 7.0 %. 1.00 г субстанції спалюють до постійної маси при температурі від 1050 °С до 1100 °С.

Мікробіологічна чистота. Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів (2.6.12):

не більше 10^2 (аеробних бактерій і грибів сумарно) у грамі, якщо субстанція призначена для виробництва лікарських засобів для місцевого застосування.

Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів (2.6.12): не більше 10^3 аеробних бактерій і не більше 10^2 грибів у грамі, якщо субстанція призначена для виробництва лікарських засобів для орального застосування.

МАРКУВАННЯ

Якщо необхідно, зазначають:

— субстанція придатна для виробництва лікарських засобів для орального або місцевого застосування.

УДК 615.322:582.736.3

Георгиевский В.П., Литвиненко В.И., Аммосов А.С.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Вопросы введения в Государственную Фармакопею Украины монографии «Солодки корни»

Проведен сравнительный анализ показателей качества сырья корней солодки, регламентируемых ЕФ, ГФ Х, ГОСТ, а также Фармакопеями Индии и Японии. Показано, что данные статьи являются документами, регламентирующими качество, прежде всего, различных видов солодки. Показана необходимость дополнительных исследований по некоторым показателям качества.

Солодка (*Glycyrrhiza L.*) — один из самых популярных родов, корни солодки некоторых видов с древних времен широко используются как в народной, так и в научной медицине [1, 2, 3, 4]. Корни солодки (с.голой и с.уральской) являются официальным лекарственным растительным сырьем во всех европейских странах, странах СНГ и других странах мира [4, 5].

По запасам и заготовкам корней солодки СССР занимал одно из ведущих мест в мире. Основная масса этого сырья (до 70-80 %) предназначалась на экспорт и не перерабатывалась внутри страны [3, 6].

На территории Украины солодка в настоящее время не возделывается и не произрастает в диком состоянии, хотя ареал ее распространения в недалеком прошлом имел место и в Украине [12].

В период 60-80-х годов XX века в ГНЦАС (ХНИХФИ-ВНИИХТЛС) была разработана комплексная технология переработки солодки. Медицинской промышленностью СССР (ФФ «Здоровье», г. Харьков) выпускался ряд оригинальных лекарственных препаратов на основе тритерпеноидов и флавоноидов солод-

ки: таблетки глицирама и ликвиритона, гранулы флакарбина [22]. Качество сырья для производства этих препаратов определялось требованиями ГФ Х [11] или ГОСТ [6, 7], в которых качественно и количественно анализировалась только глицирризиновая кислота, хотя со стороны ГНЦАС и были предприняты попытки введения в АНД на сырье теста на качественное и количественное определение флавоноидов [18, 21, 22].

В настоящее время в Государственную Фармакопею Украины 1-го издания (ГФУ 1) и ее Дополнение 1 не введены статьи на растительное сырье вообще и на корень солодки в частности [19].

Стандартизация корней солодки в зарубежных Фармакопеях: Европейской [8], Индийской [9], Японской [10] и в ГФ Х [11] проводится по количественному содержанию только глицирризиновой кислоты (ГК) с регламентацией от 2.5 % до (4-6) %.

Показательными для введения современных требований на лекарственное растительное сырье в ГФУ являются подходы ЕФ [5] и Японской Фармакопеи [10]. В них присутствуют монографии на корень солодки, где приво-

дятся методы качественной оценки сырья по флавоноидам (ЕФ) и ГК (Японская Фармакопея) (метод ТСХ) и количественного определения ГК не менее 4 % и 2.5 %, соответственно (метод ВЭЖХ).

Целью настоящей работы является исследование возможности гармонизации национальной законодательной базы (ГФУ) по контролю качества лекарственного растительного сырья - корней солодки с требованиями ЕФ на данное растительное сырье.

Для достижения поставленной цели в первую очередь необходимо проведение сравнительного анализа показателей качества корней солодки, регламентируемых статьей ГФ X, требованиями ГОСТ 22839-88, ГОСТ 3320-88, монографией ЕФ 5.6 «Liquorice root», монографией Фармакопеи Индии «Liquorice», монографией Фармакопеи Японии «Glycyrrhiza» (Табл. 1-7).

При сравнении требований к качеству корней солодки, описанных в данных документах, выяснено следующее.

Название. ГФ X «Корень солодки» (*Radix Glycyrrhizae*), ГОСТ 22839-88 «Корни и корневища солодки», ЕФ 5.6 «Солодки корень» (*Liquorice root*), Фармакопея Индии «Солодка» (*Liquorice*), Фармакопея Японии «Солодка» (*Glycyrrhiza*). Незначительная разница в названии этих документов не должна ставить под вопрос дальнейшее обсуждение, так как во всех вышеперечисленных документах описан один и тот же тип сырья.

Вводная часть. В ГФ X, ГОСТ 22839-88, ЕФ 5.6 описаны 3 вида солодки: с. голая, с. вздутая, с. уральская, в Фармакопее Японии — 2 вида: солодка голая и солодка уральская, тогда как в Фармакопее Индии — один вид (солодка голая). В ГФ XI корень солодки не описан, хотя, например, в ГФ IX приведены 3 вида солодки (произрастающие в СССР): с. голая, с. уральская и с. Коржинского. В научной литературе встречается термин «коммерческая солодка». Это общее название сырья различных ботанических видов, как правило содержащих в корнях глицирризин и дополнительно имеющих «собственное имя» — название по месту заготовки (выращивания): русская, сирийская, египетская, испанская, турецкая, итальянская, афганская, индийская, китайская и др.

С. голая распространена в странах Европы, Египте, Сирии (Ближний Восток), Украине, России (Европейская часть и Юго-Западная Сибирь), Центральной Азии, Афганистане, Индии, тогда как с. уральская распространена в

России (Восточная Сибирь), Казахстане, Монголии, Китае. В Приуралье и Зауралье, Западной Сибири (Россия), Казахстане встречается с. Коржинского, по части территории Восточной Сибири, Монголии и Китая — с. вздутая и с. шероховатая. Все это виды и подвиды солодки, которые в подземных органах содержат глицирризин и могут служить лекарственным растительным сырьем [3, 4, 12, 13].

В территориальных границах Украины в природном состоянии солодка почти не встречается. Хотя в средние века она была распространена в Причерноморье и называлась «сладким скифским корнем» [1, 3]. На украинский фармацевтический рынок как сырье солодка может поступать из разных мест заготовки, поэтому ее классификация по видовому составу и разработка требований к качеству весьма актуальны. Не исключена перспектива выращивания солодки в культуре на Украине, т.к. в естественных местах произрастания запасы ее постоянно истощаются.

Из всего вышесказанного следует, что введение в ГФУ монографии на корень солодки необходимо, актуально и своевременно. Данная монография будет востребована заготовщиками (производителями), поставщиками лекарственного растительного сырья, производителями готовых лекарственных средств, а также контролирующими органами.

Макроскопия (Внешние признаки). По ГФ X сырьем являются корни и подземные побеги (очищенные и неочищенные) с. голой и с. уральской, по ГОСТ 22839-88 — корни и корневища дикорастущих и выращенных в культуре с. голой и с. уральской (неочищенные), по ЕФ 5.6 - корни и столоны с. голой и/или с. уральской, и/или с. вздутой (очищенные и неочищенные), по Фармакопее Индии - корни и столоны с. голой (неочищенные), по Фармакопее Японии — корни и столоны с. голой и с. уральской (очищенные или неочищенные от перидермы) (Табл. 1).

Перечисленные документы дают информацию об указанных видах солодки, детально описывая внешний вид, размеры, цвет, приводят характеристики излома корней, корневищ и/или столонов, а также показывают анатомические отличия корней от столонов. В случае очищенных или неочищенных подземных органов приводится их внешнее отличие. Во всех документах, кроме ЕФ 5.6, указывается сладкий вкус лекарственного растительного сырья, в некоторых случаях с определенными оттенками. Запах не очень характерный и приводится не во всех документах (Табл. 2).

Таблица 1

Сравнительные данные по разделу «Вводная часть»

ГФ X	ГОСТ 22839-88	ЕФ 5.6	Фармакопея Индии	Фармакопея Японии
Корни и подземные побеги очищенные и неочищенные с.голой и с.уральской, содержащие не менее 6 % ГК	Корни и корневища дикорастущих и выращенных в культуре с.голой и с.уральской неочищенные.	Корни и столоны с.голой и/или с. уральской, и/или с. вздутой очищенные и неочищенные, содержащие не менее 4 % ГК.	Корни и столоны с.голой неочищенные.	Корни и столоны с.голой и с.уральской очищенные или неочищенные, содержащие не менее 2.5 % ГК

Таблица 2

Сравнительные данные по разделу «Макроскопия»

ГФ X	ГОСТ 22839-88	ЕФ 5.6	Фармакопея Индии	Фармакопея Японии
Куски корней и подземных побегов цилиндрической формы различной длины, толщиной от 0.5 см до 5 см и более. Поверхность неочищенных корней и побегов слегка продольно морщинистая, покрытая бурой пробкой; очищенное сырье снаружи от светло-желтого до буровато-желтого цвета с незначительными остатками пробки; излом светло-желтый, волокнистый; запах отсутствует; вкус сладкий, приторный, слегка раздражающий. Резанное сырье: кусочки различной формы, размером: для неочищенного сырья от 1 мм до 10 мм, для очищенного сырья - от 3 мм до 6 мм.	Цельные корни и корневища цилиндрической формы, различной длины, толщиной: корни 7-50 мм, корневища 7-150 мм. Корни и корневища снаружи покрыты тонким пробковым слоем. В корневище заметна сердцевина, в корнях ее нет. На поперечном срезе наблюдаются многочисленные сердцевинные лучи, которые расходятся от центра и пронизывают желтоватую древесину и сильно развитую кору. Вдоль сердцевинных лучей в корнях часто образуются трещины. Излом - волокнистый, светло-желтый; цвет снаружи: светло- и серовато-бурый; запах: свойственный корню солодки; вкус: приторно-сладкий, слегка раздражающий.	Корень маловетвистый. Кора коричневато-серого или коричневого цвета, продольно морщинистая, с грубыми следами от боковых корней. Столоны цилиндрические от 1 см до 2 см в диаметре; внешне похожи на корни, но иногда имеют боковые почки. Излом корней и столонов зернистый и волокнистый. Слой коры тонкий; вторичная флоэма толстая, светло-желтого цвета, с радиальной бороздчатостью. Ксилема желтая, цилиндрическая, плотная, с радиальной структурой. Столоны имеют сердцевину, в корнях ее нет. У очищенных корней внешняя часть коры отсутствует.	Корень маловетвистый, различной длины, от 0.5 см до 3 см в диаметре, от коричневато-серого до коричневого цвета с продольной бороздчатостью и грубыми следами от боковых корней. Столоны цилиндрические, несколько метров длиной и несколько сантиметров в диаметре; внешне похожи на корни. Излом корней и столонов волокнистый. Кора тонкая; флоэма светло-желтого цвета, с радиальной бороздчатостью. Ксилема желтая, цилиндрическая, плотная, с радиальной структурой. Столоны имеют сердцевину, в корнях ее нет. Запах характерный и слегка ароматный; вкус сладкий, слабо вяжущий.	Куски почти цилиндрической формы, 0.5- 3 см в диаметре, свыше 1 м в длину. Корни от темно-коричневого до красно-коричневого цвета с продольной бороздчатостью, столоны с небольшими почками, очищенные корни светло-желтого цвета, волокнистые. Поперечный разрез имеет четкую границу между флоэмой и ксилемой, и радиальную структуру с радиальными трещинами. Столоны имеют сердцевину, в корнях ее нет. Запах слабый; вкус сладкий.

Микроскопия. Наблюдается некоторое отличие, прежде всего, в проведении эксперимента: в ГФ X исследуют поперечные срезы очищенных и неочищенных корней с выделением различных диагностических признаков в различных участках образца, в ГОСТ 22839-88 микроскопия не проводится, хотя в ГОСТ 3320-88 «Порошок корня солодки» микроскопия приведена. В ГФ X, ЕФ 5.6, Фармакопее Индии в описании структурных элемен-

тов сырья приведены линейные размеры этих элементов, в ГОСТ 3320-88 и Фармакопее Японии они не приводятся. Во всех документах приведены подробные описания диагностических признаков. Приведены различия в строении корней и столонов. Во всех случаях отмечается наличие крахмальных зерен (Табл. 3).

Идентификация (Качественные реакции). В ГФ X, Фармакопее Индии приводятся цветные реакции с растворами серной кислоты

Таблица 3

Сравнительные данные по разделу «Микроскопия»

ГФ Х	ГОСТ 3320-88	ЕФ 5.6	Фармакопея Индии	Фармакопея Японии
<p>На препарате поперечного среза неочищенного корня видна многослойная пробка, под ней первичная кора. У очищенных корней вместе с пробкой частично удалена и первичная кора. Вторичная кора широкая, в ней хорошо заметны широкие, кнаружи иногда расширенные сердцевинные лучи, чередующиеся с лубом, состоящие из ситовидных трубок, лубяных волокон и паренхимных клеток. Ситовидные трубки, кроме узкого слоя, прилегающего к камбию, сдавленные и представляют собой так называемый деформированный луб, образующий удлинённый конус, обращенный широким основанием к камбию, а вытянутая вершина проходит изгибами между группами лубяных волокон. Лубяные волокна с сильно утолщенными стенками и малой, почти точечной полостью, собраны в группы и окружены кристаллической обкладкой. Паренхимные клетки коры и сердцевинных лучей содержат зерна крахмала - простые, округлые или яйцевидные, величиной 2-12 мкм, редко до 20 мкм. Древесина - сосуды разного диаметра - от узкого до очень широкого. На продольно-радиальном срезе в коре и древесине видны длинные, сильно утолщенные склеренхимные волокна с кристаллической обкладкой; древесные узкие сосуды - сетчатые, средние - со щелевидными порами и широкие - с бочковидными короткими члениками и ромбическими окаймленными порами, расположенными косыми рядами.</p>	<p>Обрывки пробки, обрывки клеток паренхимы с крахмалом; обрывки паренхимы с участками облитерированного луба. Обрывки сосудов и трахеидов древесины, сосуды с окаймленными порами из коротких широких члеников ("бочковатые"), сетчатые сосуды более узкие; трахеиды узкие с окаймленными порами. Обрывки пробки из мелких, плотно сомкнутых коричневых клеток многоугольной формы; радиальные обрывки имеют вид узких прямоугольных клеток, лежащих рядами. Крахмальные зерна мелкие, круглые или слегка овальные с ровной поверхностью.</p>	<p>Порошок от светло-желтого или бледно-сероватого цвета, содержит фрагменты желтых толстостенных волокон, длиной 700-1200 мкм, шириной 10-20 мкм, часто с включениями кристаллов кальция оксалата длиной 10-35 мкм, шириной 2-5 мкм. Стенки крупных сосудов желтые, 5-10 мкм толщиной, одревесневшие и имеющие многочисленные углубления щелевидной формы; фрагменты коры состоят из тонкостенных клеток и изолированных призм кальция оксалата, которые встречаются часто также как и фрагменты паренхимной ткани. Фрагменты коры в очищенных корнях отсутствуют. Порошок содержит простые, круглые или овальные зерна крахмала 2-20 мкм в диаметре.</p>	<p>Кора и филодерма узкая. Флоэма, состоит из пучков желтых толстостенных волокон с узкими светлыми клетками, состоящими каждая из призм кальция оксалата. Сердцевинные лучи паренхимы, расширяющиеся к наружной стороне, от 3 мкм до 12 мкм шириной. Ксилема состоит из радиальных рядов трахей и чередующихся сосудов с пучками одревесневших волокон с кристаллоподобными оболочками, такими как во вторичной флоэме; сосуды 30-150 мкм в диаметре, с толстыми стенками (5-10 мкм). Сердцевинные лучи в ширину состоят из 2-5 клеток. Клетки паренхимы содержат простые, круглые, овальные или веретенообразные крахмальные зерна от 2 мкм до 20 мкм в диаметре.</p>	<p>В поперечном разрезе видны несколько слоев коры желто-коричневого цвета. Кора содержит сердцевинные лучи и облитерированные ситовидные трубки; флоэма содержит группы волокон с толстыми стенками клеток, окруженными кристаллами; у очищенных корней отчасти отсутствует перидерма и часть флоэмы; ксилема содержит широкие желтые сосуды и сердцевинные лучи, состоящие из 3-10 рядов радиальных сосудов. Клетки паренхимы содержат зерна крахмала и часто отдельные кристаллы кальция оксалата.</p>

Таблица 4

Сравнительные данные по разделу «Идентификация»

ГФ Х	ГОСТ 22839-88	ЕФ 5.6	Фармакопея Индии	Фармакопея Японии
Порошок корня смачивают 80 % раствором кислоты серной. Он окрашивается в оранжево-желтый цвет (глицирризин).	Данные не приводятся.	Определение проводят методом тонкослойной хроматографии.	Смешивают порошок корня с 1 каплей серной кислоты. Частицы порошка изменяют цвет на оранжево-желтый. Многие фрагменты медленно окрашиваются в розово-красный цвет.	Определение проводят методом тонкослойной хроматографии.

Таблица 5

Сравнительные данные по разделу «Числовые показатели»

ГФ Х	ГОСТ 22839-88	ЕФ 5.6	Фармакопея Индии	Фармакопея Японии
<p><u>Посторонние примеси</u> Для цельного неочищенного сырья: - корней дряблых, в изломе желто-бурых, и остатков стеблей - не более 4 %; - органической примеси - не более 1 %; - минеральной примеси - не более 1 %.</p> <p>Для цельного очищенного сырья: - корней, плохо очищенных от пробки - не более 15 %; - корней, потемневших и побуревших с поверхности, но светло-желтых в изломе - не более 20 %; - органической примеси - не более 0.5 %; - минеральной примеси - не более 0.5 %.</p> <p><u>Потеря в массе при высушивании.</u> Для цельного и резанного сырья - не более 14 %.</p> <p><u>Общая зола:</u> - для неочищенного сырья - не более 8 %; - для очищенного сырья - не более 6 %.</p> <p><u>Зола, нерастворимая в 10 % растворе кислоты хлористоводородной:</u> - для цельного неочищенного сырья - не более 2.5 %; - для цельного очищенного сырья - не более 1.0 %.</p>	<p><u>Посторонние примеси</u> Для цельного неочищенного сырья: - корни дряблые, в изломе темно-бурые, распадающиеся на отдельные волокна, головки корней с почками возобновления (карабаш), частицы корней белого цвета, а также частицы других неядовитых растений - не более 4 %; - земля, песок, камешки - не более 2 %; - наличие плесени – не допускается; - наличие устойчивого постороннего запаха, не исчезающего при проветривании - не допускается; - зараженность сырья амбарными вредителями 2 и 3 степени – не допускается.</p> <p><u>Потеря в массе при высушивании</u> - не более 12 %.</p>	<p><u>Потеря в массе при высушивании</u> - не более 10 %.</p> <p><u>Общая зола:</u> - для неочищенного сырья - не более 10 %; - для очищенного сырья - не более 6 %.</p> <p><u>Зола, нерастворимая в кислоте хлористоводородной:</u> - для неочищенного сырья - не более 2.0 %; - для очищенного сырья - не более 0.5 %.</p>	<p><u>Общая зола</u> - не более 10 %.</p> <p><u>Зола, нерастворимая в кислоте хлористоводородной</u> - не более 2.5 %.</p>	<p><u>Потеря в массе при высушивании</u> - не более 12 %.</p> <p><u>Общая зола</u> - не более 7 %.</p> <p><u>Зола, нерастворимая в кислоте хлористоводородной</u> - не более 2.0 %.</p> <p><u>Содержание экстрактивных веществ, растворимых в этаноле</u> - не менее 25 %.</p>

Таблица 6

Сравнительные данные по разделу «Количественное определение»

ГФ X	ГОСТ 22839-88	ЕФ 5.6	Фармакопея Индии	Фармакопея Японии
<p>Методы: 1) титрование; 2) абсорбционная спектрофотометрия в УФ-области.</p> <p>Содержание ГК в сырье должно быть не менее 6 %.</p>	<p>Данные не приводятся.</p>	<p>Метод: жидкостная хроматография.</p> <p>Содержание ГК в сырье должно быть не менее 4 %.</p>	<p>Экстрактивные вещества, растворимые в воде: масса сухого остатка - не менее 0.1 г.</p>	<p>Метод: жидкостная хроматография.</p> <p>Содержание ГК в сырье должно быть не менее 2.5 %.</p>

Таблица 7

Сравнительные данные по разделу «Хранение»

ГФ X	ГОСТ 22839-88	ЕФ 5.6	Фармакопея Индии	Фармакопея Японии
<p>На складах: цельный корень - в кипах, резанный - в мешках, порошок - в двойных мешках; в аптеках: резанный - в ящиках, порошок - в банках.</p>	<p>Корни и корневища упаковывают в кипы, не обшитые тканью, размером по длине 80-85 см, по ширине 50-53 см. Масса кипы не должна превышать 200 кг. Упаковку россыпи корня производят в мешки. Хранение: в закрытых складских помещениях.</p>	<p>Хранить в защищенном от света месте. На этикетке указывают: очищенные или неочищенные корни являются сырьем.</p>	<p>В плотнокупоренных, светонепроницаемых контейнерах.</p>	<p>Данные не приводятся.</p>

различной концентрации с указанием оттенков окрашивания сырья, в ГОСТ 22839-88 качественные реакции не приводятся, в Фармакопее Индии приведена цветная реакция, и только в ЕФ 5.6 и Фармакопее Японии приведены подробно описанные с образцами стандартов, но различные по выполнению методы тонкослойной хроматографии: в ЕФ 5.6 в качестве вещества-свидетеля используют глицирретиновую кислоту (Гк), кроме того, на хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона изоликвидигенина (флавоноидное соединение корней солодки), в Фармакопее Японии — ГК с выявлением на хроматограммах соответствующих пятен веществ по их окраске и значениям R_f (Табл. 4).

Посторонние примеси. В ГФ X, ГОСТ 22839-88 подробно описаны посторонние примеси органического и минерального характера с указанием допустимых количественных показателей. В случае ЕФ общей статьей на посторонние примеси в лекарственном растительном сырье регламентируется содержание посторонних примесей на уровне 2 % (м/м) (Табл. 5).

Числовые показатели (Табл. 5). «Потеря в массе при высушивании»: в ГФ X для цельного и резанного сырья, в ГОСТ 22839-88 для цельного неочищенного сырья, в ЕФ 5.6, в

Фармакопее Японии приведены различные значения этого показателя, в Фармакопее Индии этот показатель не приведен.

Показатели «Общая зола» и «Зола, нерастворимая в кислоте хлористоводородной» в ГОСТ не приводятся, в ГФ X и ЕФ 5.6 они приведены как для неочищенного, так и для очищенного сырья с различными показателями для каждого документа, в Фармакопее Индии и Японии эти показатели различны. В Фармакопее Японии приведено также содержание экстрактивных веществ, растворимых в этаноле (не менее 25 %).

Количественное определение (Табл. 6). По этому разделу в рассматриваемых документах в методиках и регламентации наблюдается определенная разница. Следует отметить, что только в ГОСТ количественное определение не приведено. В Фармакопее Индии определяется сумма водорастворимых веществ весовым методом. В ГФ X представлены в 2-х вариантах методики определения по ГК: в одном случае методом титрования, в другом случае - методом спектрофотометрии. В обоих случаях из сырья готовят испытуемый раствор по довольно длительной и трудоемкой методике. В ЕФ 5.6 и Фармакопее Японии определение проводят методом ВЭЖХ, но в каждом случае по разным методикам и для приготовления

испытуемых растворов используют стандарты ГК или моноаммония глицирризната.

Хранение (Табл. 7). По этому разделу имеются четкие указания во всех документах, лишь в Фармакопее Японии нет никаких сведений. Наиболее подробные сведения приведены в ГФ X и ГОСТ.

В раздел «Количественное определение» считаем целесообразным ввести методику количественного определения суммы флавоноидов. Это необходимо по ряду причин: как известно, среди основных групп БАВ корня солодки, помимо уже определяемой ГК (тритерпенового сапонина), существенное место занимает комплекс флаванон-халконовых гликозидов, который, наряду с глицирризином, непременно содержится как в нативном сырье (корни солодки) [3, 14, 16], так и входит в состав производимых из этого сырья препаратов (сухой и густой экстракты солодки или, например, ранее производимые в Украине ликвиритон, ликуразид, халкорин). От надлежащего содержания глицирризина и флавоноидов в определенной степени зависит и качество получаемых из корней солодки препаратов. Кроме этого, по качественному составу индивидуальных флавоноидных соединений и их количественному содержанию можно проконтролировать и видовой состав используемого сырья [15, 16]. Поэтому для разрабатываемой монографии ГФУ «Солодки корни» ГП ГНЦЛС совместно с ГП НЭФЦ (и другими заинтересованными структурами), по нашему мнению, следует провести дополнительные исследования по изучению возможности введения методики количественного определения флавоноидов в корнях солодки [17]. Для этого, по-видимому, требуется вернуться к производству (получению) некоторых веществ-стандартов, специфичных для корней солодки флавоноидов (ликвиритина, ликвиритигенина, ликуразида, изоликвиритигенина) [18].

Из упоминаемых в ЕФ 5.6 стандартов (ГК, Гк и моноаммония глицирризнат) в СНГ производились по разработанной в ВИЛАР документации ГК и моноаммония глицирризнат (глицирам). Кроме того, в свое время в ГП ГНЦЛС были разработаны комплекты НТД и АНД на ликуразид-стандарт, а также на субстанции ликвиритона, ликуразида, халкорина (ликвиритин, ликвиритигенин, изоликвиритигенин) и выпускались на ФФ «Здоровье» (г. Харьков) получаемые из них препараты [22, 23, 24, 25]. Были предложены для анализа сырья спектрофотометрические методики анализа суммы

флавоноидов (халконов и флаванонов) в пересчете на ликвиридигенин с содержанием в сырье не менее 5.3 % [25]. В настоящее время некоторые суммарные флавоноидные препараты начали выпускаться в России (Опытное производство ВИЛАР).

Выводы

1. Проведенный сравнительный анализ показателей качества корней солодки показал, что анализируемые документы регламентируют, в основном, качество двух видов солодки: с.голой и с.уральской.

2. Следует обсудить необходимость введения в национальную часть монографии количественного определения суммы экстрактивных веществ, суммы тритерпеновых сапонинов, суммы флавоноидов, как базовых показателей для данного вида сырья.

3. Для введения в ГФУ монографии «Солодки корни» необходимы исследования сырья, используемого отечественными производителями, на соответствие требованиям ЕФ. Необходимо также участие заинтересованных лиц в предоставлении образцов для анализа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Муравьева Д.А. Фармакогнозия. - М: Медицина, 1991. - С. 261-266, 485-486.
2. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства Hydrangeaceae – Haloragaceae. - Л.: Наука, 1987. - С. 136-144.
3. Лекарственные растения Государственной Фармакопее / Под ред. проф. И.А. Самылиной. - М: АНМИ, 1999. - С. 274-282.
4. Лекарственное растительное сырье. Фармакогнозия / Под ред. Г.П. Яковлева и К.Ф. Блиновой. - С-Пб: СпецЛит, 2004. - С. 273-280.
5. Tyler V.E. Pharmacognosy. - 9thed. - Philadelphia: Lea & Febiger, 1988. - 519 p.
6. ГОСТ 22389-88. Корни и корневища солодки. - М.: Из-во стандартов, 1988. - 4 с.
7. ГОСТ 3320-88. Порошок корня солодки. - М.: Из-во стандартов, 1988. - 6 с.
8. European Pharmacopoeia. - 5th ed. - Sup. 5.6. - Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2005.
9. Pharmacopoeia of India. - Vol. 1. - Delhi, 1988. - P. 286-287.
10. The Japanese Pharmacopoeia. - XIV ed. - 2001. - 1090 p.
11. Государственная Фармакопее СССР. - X изд. - М.: Медицина, 1968. - С. 582-584.
12. Круганова Е.А. Обзор видов *Glycyrrhiza L.* и *Meristotropis Fisch. et Mey.* // Тр. Ботан. ин-та АН СССР. Сер. 1. - 1955. - Вып. 2. - С. 161-197.
13. Гранкина В.П., Надежина Т.П. Солодка уральская. - Новосибирск: Наука, 1991. - 152 с.
14. Литвиненко В.И. Химическое исследование флавоноидов солодки: Автореф. дис. ... к.х.н. - Харьков, 1964. - 19 с.
15. Chemical studies of Chinese licorice-roots. I. Elucidation of five new flavonoid constituents from the roots of

Glycyrrhiza glabra L. collected in Xinjiang / Kitagawa I, Chen W.Z., Hori K. et al. // Chem. Pharm. Bull. - 1994. - Vol. 42, No. 5. - P. 1056-1062.

16. О межвидовых и внутривидовых различиях содержания флавоноидов у трех видов *Glycyrrhiza* L. / Литвиненко В.И., Аммосов А.С., Попова Т.П., Надежина Т.П. // Хемосистематика и эволюционная биохимия высших растений: Тез. докл. — М, 1979. - С. 42-43.

17. Аналіз компонентів ліквіриту і халкорину методом високоєфективної рідинної хроматографії / Тюкавікіна Н.О., Литвиненко В.І., Ручкін В.С. та ін. // Фармац. журнал. — 1992. - № 4. - С. 54-58.

18. Аммосов А. С. Химическое исследование и комплексная переработка солодки: Автореф. дис. ... к.фарм.н. — Харьков, 1988. - 16 с.

19. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: РІРЕГ, 2001. - Доповнення 1. - 2004. - 520 с.

20. РАС-АПТЕКАРЬ: Регистр лекарственных средств России. - 2003. - Вып. 5. - С. 348, 593.

21. Литвиненко В.И., Аммосов А.С., Попова Т.П. Химический состав и технология комплексной переработки солодки // III Симпозиум по изучению и использованию солодки в народном хозяйстве СССР / Матер. науч. общ. — Ашхабад, 1988. - С. 110-111.

22. Литвиненко В.И. Химия природных флавоноидов и создание препаратов при комплексной переработке растительного сырья: Дис. в форме науч. доклада ... д.х.н. — Харьков, 1990. - 79 с.

23. Георгиевский В.П. Исследование физико-химических свойств флавоноидов, кумаринов и антрахинонов с целью разработки методов анализа некоторых фитохимических препаратов: Дис. ... д.фарм.н. — Харьков, 1980. - 413 с.

24. Георгиевский В.П., Казаринов Н.А., Каррыев М.О. Физико-химические методы анализа биологически активных веществ растительного происхождения. - Ашхабад: Ылым. - 1976. - 239 с.

25. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. - Новосибирск: Наука, 1990. - 333 с.

Резюме

Георгиевський В.П., Литвиненко В.І., Аммосов О.С.

Питання введення в Державну Фармакопею України монографії «Солодки корені»

Проведено порівняльний аналіз показників якості коренів солодки, що регламентуються ЄФ, ГФ Х, ГОСТ, Фармакопеями Індії та Японії. Показано, що дані статті є документами, що регламентують якість, перш за все, різних видів солодки. Показано необхідність додаткових досліджень за деякими показниками якості.

Summary

Georgiyevsky V.P., Litvinenko V.I., Ammosov A.S.

Matters of introduction of the monograph «Liquorice root» into the State Pharmacopoeia of Ukraine

Comparative analysis of liquorice root quality indices, regulated by EP, SP X, all-Union State Standards, and also by India and Japan Pharmacopoeias, was conducted. It was shown that these monographs were documents, which first of all regulated the quality of different species of the liquorice. The necessity of additional studies on several quality indices was shown.

Георгиевский Виктор Петрович. Окончил фармацевтическое отделение 1-го Московского медицинского института (1959). Работает в ГП ГНЦЛС (с 1958). Д.фарм.н. (1980). Чл.-корр. НАН Украины. Директор ГП ГНЦЛС. Засл. деятель науки и техники Украины.

Литвиненко Василий Иванович (р. 1932). Окончил Харьковский фармацевтический институт (1959). Д.х.н. (1990). Профессор (1991). Академик Инженерной академии Украины (2000). Зав. сектором химии и технологии фенольных препаратов ГП ГНЦЛС.

Аммосов Алексей Серафимович (р. 1940). Окончил Ленинградский химико-фармацевтический институт. Работает в ГП ГНЦЛС (с 1970). К.фарм.н. (1988). Ст. науч. сотрудник сектора химии и технологии фенольных препаратов.

Проблеми. Пошук. Рішення.

УДК 615.454.2

Романова Я.Ю., Козлова Н.Г., Довга І.М., Замараєва О.Є.

Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів»

Сучасні аспекти лікування туберкульозу

Проаналізовано шляхи боротьби з туберкульозом, що полягають у впровадженні сучасних стратегій лікування та розвитку ринку протитуберкульозних препаратів. Наведено аналітичний огляд ринку протитуберкульозних препаратів. Показано доцільність створення комбінованих препаратів для лікування туберкульозу.

Туберкульоз — інфекційна хвороба, що викликається мікобактеріями, протікає з періодичними загостреннями, рецидивами та ремісіями, спричиняє високу тимчасову та стійку втрату працездатності, вимагає тривалого комплексного лікування та реабілітації хворих. Негативні соціально-економічні наслідки, що

спричиняються туберкульозом, дали підстави віднести цю хворобу до групи соціально небезпечних.

Туберкульоз відомий із давнини і до теперішнього часу залишається однією з найпоширеніших хвороб світу, що має тенденцію до швидкого розвитку. За даними Всесвітньої

організації охорони здоров'я (ВООЗ) майже третина населення земної кулі інфікована мікобактеріями туберкульозу (МБТ). Вважається, що один хворий може інфікувати 10-15 здорових осіб протягом 1 року. Щорічно у світі на туберкульоз захворюють 8-10 млн. людей і майже 3 млн. вмирає від нього. Загальна кількість хворих у світі сягає 50-60 млн. людей. Зважаючи на ці цифри, ВООЗ у 1993 році проголосила туберкульоз глобальною небезпекою [1, 2, 3]. Особливої гостроти проблема розповсюдження туберкульозу набула у Центральній і Східній Європі та країнах, що входили до складу колишнього СРСР. Відмічається зростання захворюваності на туберкульоз і в багатьох розвинених країнах. Так, за останні 5 років захворюваність на туберкульоз зростає в Іспанії на 28 %, Норвегії — на 21 %, США — на 20 %, Нідерландах — на 19 %, Росії — на 70 % [1, 4, 5, 6, 7].

Значне зростання захворюваності та смертності від туберкульозу в Україні почалося від початку 90-х років і зберігається до теперішнього часу, що свідчить про недостатню ефективність протитуберкульозних заходів.

У порівнянні з 1990 роком захворюваність на туберкульоз збільшилася на 72.5 %, а смертність від цієї хвороби на 92.6 %. На теперішній час в Україні зареєстровано більше 650 тис. хворих на туберкульоз, що становить 1.5 % населення країни, із них хворі активними формами туберкульозу складають 21.2 %. Кожний день в Україні інфікується 82 людини. Крім цього, існує велика група людей із підвищеним фактором ризику, що складається із (30-40) % школярів, (50-70) % підлітків і молоді та 100 % дорослих. Зростає захворюваність на туберкульоз дітей (у 2.1 рази), що є дуже несприятливою прогностичною ознакою. Крім того, 67.4 % вперше захворілих на туберкульоз складають особи найбільш працездатного та репродуктивного віку — від 20 до 50 років. Таким чином, туберкульоз можна назвати руйнівником трудового потенціалу країни [1, 7, 8, 9].

ВООЗ у 1995 році була зареєстрована епідемія туберкульозу в Україні. Вона невпинно прогресує і стає загрозливою медично-соціальною проблемою [10, 11, 12, 13].

У грудні 1999 року в Україні експертами ВООЗ і Американської агенції міжнародного розвитку було проведено оцінку захворюваності на туберкульоз та констатовано, що епідемія туберкульозу вже сягнула катастрофічних розмірів і вийшла за рамки медичної проблеми [14].

Оцінка епідеміологічної ситуації з туберкульозу заснована на аналізі основних показників: ризику інфікування, інфікованості, захворюваності та смертності населення. Джерелом інфікування мікобактеріями туберкульозу може бути хвора людина або тварина (найчастіше — велика рогата худоба). Шляхи передавання збудника туберкульозу можуть бути різні: аерозольний, аерогенний, аліментарний, контактний і навіть внутрішньоутробний. Найбільш поширеним є аерозольний шлях. На його частку припадає 95 % усіх випадків інфікування туберкульозом. МБТ дуже стійкі до впливу зовнішнього середовища. Вони з легкістю переносять низькі температури (близько -273°C), витримують кип'ятіння протягом 1-2 хв, виживають за прямої дії сонячних променів протягом 15-20 хв, витримують вплив кислот та лугів. МБТ зберігають здатність до розмноження протягом дуже довгого часу. В Єгипті із уражених внутрішніх органів мумії, що зберігалася 2 тис. років, вчені виділили паличку Коха, яка не втратила своєї життєздатності [15, 16, 17].

Можливість захворюваності на туберкульоз зростає зі збільшенням мігруючих груп населення, наростаючою інфікованістю людей внаслідок циркуляції серед них невиявлених хворих та заразні форми хвороби, зі зростанням соціально дезадаптованих верств населення, перед усім бездомних, ув'язнених, хворих на наркоманію та алкоголізм.

У наш час туберкульоз є найпоширенішою в Україні інфекційною хворобою, що займає перше місце у структурі смертності людей від інфекційної патології. Щорічно туберкульоз забирає 7-7.5 тис. життів, що на 80.7 % більше, ніж вмирає від всіх інфекційних і паразитних хвороб разом узятих. У порівнянні з 1990 роком смертність серед населення України зростає у 2.4 рази, або на 146 %. Встановлено, що темпи зростання смертності у 2.1 рази більші від темпів зростання захворюваності [1].

Сьогодні розрізняють триєдину епідемію туберкульозу. Перша її складова — зростання захворюваності на типовий туберкульоз. Друга складова епідемії зумовлена хіміорезистентними формами туберкульозу, що сприяє поширенню епідемії швидкими темпами та створює велику небезпеку. Третя складова епідемії туберкульозу зумовлена зростанням захворюваності населення на СНІД.

Спад в економіці України призвів до зниження життєвого рівня населення та труднощів у наданні послуг із лікування туберкульозу. Виявлення випадків туберкульозу вже

в активній стадії захворювання, госпіталізація, неправильне лікування, незадовільне постачання медикаментів, недостатнє фінансування та відсутність контролю за процесом лікування сприяли поширенню лікарської резистентності, що вважається однією з істотних причин зростання епідемії туберкульозу. Практично у 50 % випадків виникає втрата чутливості МБТ, принаймні, до одного лікарського препарату. Полірезистентні форми туберкульозу становлять (10-15) % від числа первинних випадків захворювання на туберкульоз. За даними ВООЗ (1997 р.) показники первинної резистентності МБТ до протитуберкульозних препаратів у різних країнах світу значно варіюють: до ізоніазиду — 31.7 %, до стрептоміцину — 28 %, до рифампіцину — 16.8 %, до етамбутолу — 1 % [10].

Повторна резистентність виникає внаслідок неправильного режиму антибактеріальної терапії. Полірезистентність МБТ — найсерйозніша лікарська та економічна проблема. Вартість лікування полірезистентної форми туберкульозу зростає майже у 100 разів [18, 19, 20, 21].

Крім того, ситуація з туберкульозом потенційно погіршилася у зв'язку з епідемічним зростанням ВІЛ-інфікованих. На Заході ще в середині 80-х років ХХ ст. стали приділяти увагу фатальному симбіозу СНІД і туберкульозу, а приблизно п'ять років тому подібні повідомлення з'явилися і в Україні. Збудник СНІД — ретровірус, вражаючи імунну систему людини, робить її беззахисною перед паличкою Коха. Внаслідок цього первинне зараження туберкульозом призводить до розвитку активної форми захворювання. І навпаки, коли носій латентного туберкульозу інфікується ВІЛ, «дрімаюча» паличка Коха активізується. Розповсюдження СНІД значно сприяло відродженню туберкульозу. У всьому світі майже одна третина смертельних випадків серед людей із позитивним показником на ВІЛ настає через туберкульоз. Зрозуміло, що подібне явище може прискорити епідемію у десятки разів.

Погіршенню епідеміологічної ситуації з туберкульозом сприяло також посилення антропогенного впливу на біосферу, внаслідок чого знижуються захисні функції організму; катастрофа на Чорнобильській АЕС, що призвела до негативного впливу на організм людини (через ослаблений імунітет у забруднених районах майже 70 % дітей інфіковано МБТ); неповноцінна соціальна та медична допомога хворим [15].

Отже, епідемічна ситуація з туберкульозом в Україні складна і продовжує погіршуватися. За прогностичними оцінками в найближчі 10 років не передбачається її істотної стабілізації. Туберкульоз сьогодні становить національну небезпеку, бо Україна, як резервуар інфекції, може бути економічно та політично ізольована від світового співтовариства через загрозу розповсюдження цієї хвороби [1]. У цих умовах необхідні невідкладні заходи боротьби з туберкульозом як інфекційним захворюванням.

Проблему лікування туберкульозу в Україні підняли на рівень першочергових загальнодержавних задач. У Законі України від 5 липня 2001 року № 2586-III «Про боротьбу із захворюванням на туберкульоз» та Указі Президента України від 20 серпня 2001 року № 643/2001 «Про Національну програму боротьби із захворюванням на туберкульоз на 2002-2005 роки» вказано, що одним із найважливіших напрямків організації боротьби із туберкульозом має стати підвищення ефективності лікування шляхом використання сучасних засобів хіміотерапії [8, 22].

Ціллю даної статті є аналіз ринку протитуберкульозних препаратів та обґрунтування доцільності впровадження у вітчизняну медичну практику стратегії DOTS.

Хіміотерапія туберкульозу. Довгий час причини виникнення туберкульозу були невідомі, тому його лікування було неможливим.

Зараз існує незначна група протитуберкульозних препаратів, що складається з різних за хімічною структурою та за механізмом дії хімічних сполук. За походженням препарати для лікування туберкульозу можна розділити на синтетичні, антибіотики та фторхінолони. Антибіотики та фторхінолони характеризуються широким спектром дії, а синтетичні лікарські засоби діють тільки на МБТ [8, 15].

Лікувальний ефект протитуберкульозних препаратів заснований на їх бактеріостатичній або бактерицидній дії по відношенню до МБТ, що призводить до зменшення або знищення бактерійної популяції в організмі хворого. Клінічна ефективність протитуберкульозних препаратів визначається багатьма факторами, серед яких головними є: масивність самої мікобактеріальної популяції, чутливість або стійкість МБТ до застосовуваних препаратів, здатність окремих МБТ до швидкого розмноження; рівень бактеріостатичної концентрації препарату, що утворюється у крові та ступінь проникнення в осередок ураження; взаємодія з іншими лікарськими

засобами; можливість препаратів впливати на внутрішньоклітинно розташовані (фагоцитовані) МБТ; властивість препаратів індукуювати лікарську резистентність збудника, а також переносимість хворими протитуберкульозних препаратів.

Найбільш істотною для ефективного лікування є бактерицидна дія деяких протитуберкульозних препаратів, здатних швидко знищувати велику кількість МБТ і навіть досягати стерилізуючого ефекту. Слід також мати на увазі, що протитуберкульозні препарати по-різному впливають на внутрішньоклітинні та позаклітинно розташовані МБТ. Так, при прогресуванні процесу відбувається інтенсивне розмноження МБТ в організмі людини, їх вихід у тканини уражених органів, розповсюдження лімфо-бронхогенним та гематогенним шляхом, внаслідок чого з'являються нові ділянки уражень. Більшість МБТ у цей період знаходиться позаклітинно, а та частка бактеріальної популяції, яка виявилася фагоцитованою у процесі виразкової реакції, внаслідок інтенсивного внутрішньоклітинного розмноження зумовлює руйнування фагоцитів і знову виявляється розташованою позаклітинно. Таким чином, внутрішньоклітинна локалізація МБТ на цьому етапі є порівняно короткостроковою. На бактеріальну популяцію, що активно розмножується, виражену антибактеріальну дію виявляють практично всі протитуберкульозні препарати. У міру затихання туберкульозного процесу бактеріальна популяція зменшується внаслідок пригнічення розмноження МБТ. В умовах проведення хіміотерапії та зменшення бактеріальної популяції в організмі хворого зберігається частка МБТ, що знаходяться у «дрімаючому» стані.

На етапі, коли інтенсивне розмноження бактеріальної популяції змінюється станом персистування її частини, МБТ знаходяться, головним чином, внутрішньоклітинно. Пригнітити життєдіяльність внутрішньоклітинно розташованих МБТ дуже важко, бо препарати виявляють бактериостатичну дію на внутрішньоклітинно розташованих збудників значно слабше, ніж на тих, що розташовані поза макрофагами.

Згідно з класифікацією Міжнародної протитуберкульозної спілки, в основу сучасних класифікацій покладено клінічну ефективність і переносимість протитуберкульозних препаратів. Усі препарати поділяються на три групи (Табл. 1) [8, 15, 23].

Більшість цих препаратів має бактериостатичну дію на МБТ, і тільки чотири з них — ізо-

ніазид, рифампіцин, стрептоміцин і піразинамід виявляють бактерицидну дію.

Особливості фармакодинаміки та побічні ефекти основних протитуберкульозних препаратів представлено в Табл. 2.

Найбільш ефективними є препарати групи А.

Спектр дії препаратів групи В більш обмежений: деякі з них впливають виключно на позаклітинну популяцію, а деякі діють тільки на «дрімаючі» бактерії.

Препарати групи С мають слабкий бактериостатичний ефект і впливають виключно на позаклітинно розташовані МБТ.

Головною проблемою в лікуванні туберкульозу є швидкий розвиток стійкості збудника до протитуберкульозних препаратів при монотерапії. У кожному конкретному випадку необхідно визначати чутливість мікобактерій до протитуберкульозних препаратів. У разі виявлення резистентності до одних препаратів застосовують альтернативні препарати, до яких зберігається чутливість. Найбільшу проблему хіміотерапії туберкульозу сьогодні представляють полірезистентні штами, тобто штами, стійкі до двох або більше протитуберкульозних препаратів [8, 24, 25, 26]. Для підвищення ефективності лікування туберкульозу, викликаного полірезистентними МБТ, розроблено спеціальні режими лікування, що передбачають застосування комбінації декількох препаратів та швидке діагностування з метою виявлення стійких до ліків МБТ [2, 21, 10]. Вірно підібраний режим хіміотерапії призводить до пригнічення, а, іноді — до загибелі всієї популяції бактерій.

Ефективність хіміотерапії залежить від супутніх захворювань ШКТ, нирок, легенів, цукрового діабету та ін. [8, 15].

Слід також підкреслити, що застосування комбінованих протитуберкульозних препаратів характеризується синергізмом не тільки лікувальної дії, а й побічних ефектів. Побічна дія протитуберкульозних препаратів обмежує можливість проведення повноцінної хіміотерапії. Алергічні та токсичні побічні реакції майже у три рази частіше виникають за наявності супутніх захворювань, що також слід враховувати при виборі комбінації препаратів. Разом із цим не спостерігається залежності істотного підвищення частоти побічних реакцій від збільшення числа призначених препаратів. При застосуванні одночасно трьох препаратів побічні реакції спостерігалися у 17.5 %, чотирьох — у 18.2 %, п'яти — у 22.7 % хворих [24].

Таблиця 1
Класифікація протитуберкульозних препаратів

Назва препарату	Група			Антибіотики	Інші препарати
	А	В	С		
тіоацетозон			+		+
ізоніазид	+				+
рифампіцин	+			+	
стрептоміцин		+		+	
канаміцин		+		+	
флориміцин		+		+	
циклосерин		+		+	
етамбутол		+			+
етіонамід		+			+
протіонамід		+			+
піразинамід		+			+
ПАСК			+		+

Таблиця 2
Основні характеристики протитуберкульозних препаратів

Назва препарату	Ефективність	Фармакодинаміка	Токсичність	Побічні ефекти
ізоніазид	висока	бактерицидна дія в стадії розмноження бактерій, бактериостатична	середня	нейротоксичний
рифампіцин	висока	бактерицидна дія	середня	гепатотоксичний
рифабутин	висока	бактерицидна дія	середня	гепатотоксичний
піразинамід	середня	слабка бактерицидна дія, але виражена бактериостатична	низька	порушення з боку ШКТ
етамбутол	середня	бактеріостатична дія	низька	порушення зору та з боку ШКТ
циклосерин	середня	бактеріостатична або бактерицидна дія	висока	нейротоксичний, порушення з боку ШКТ
етіонамід, протіонамід	середня	бактеріостатична дія	середня	порушення з боку ШКТ, гепатотоксичний
ломефлоксацин	низька	бактерицидна дія	середня	порушення з боку ШКТ, нефротоксичний, ототоксичний, фотосенсибілізуючий
ПАСК	низька	бактеріостатична дія	середня	порушення з боку ШКТ
капреоміцин	низька	бактеріостатична дія	середня	нефротоксичний, ототоксичний
віоміцин	низька	бактеріостатична дія	середня	ототоксичний, нефротоксичний

Примітка.

Усі протитуберкульозні препарати можуть спричиняти дисбактеріоз та алергічні реакції.

Тому разом із проведенням хіміотерапії слід проводити супутню терапію, що може попередити або ліквідувати побічну дію протитуберкульозних препаратів.

Переваги впровадження стратегії DOTS для боротьби з туберкульозом. Як протиепідемічний захід у боротьбі з розповсюдженням туберкульозу ВООЗ розробила програму заходів, названу стратегією DOTS (Directly Observed Treatment, Short-course), що рекомендує проведення прискореної амбулаторної

хіміотерапії оптимальними препаратами під безпосереднім контролем. Програма DOTS передбачає обов'язкову ранню діагностику та розподіл усіх хворих для стандартного лікування на 4 категорії в залежності від форми захворювання [27, 28, 29, 30, 31, 32].

Основним принципом програми є своєчасне призначення протитуберкульозних препаратів. Крім того, лікування має бути індивідуальним, комбінованим, адекватним, регулярним і контрольованим.

Невід'ємною частиною програми DOTS є створення надійної системи постачання високоякісних протитуберкульозних лікарських препаратів для закладів охорони здоров'я.

Першою умовою успішного здійснення програми є перехід від флюорографічної діагностики хворих на туберкульоз до клінічно-лабораторної, так як флюорографія - метод дуже коштовний, через що масові флюорографічні огляди населення своєчасно не проводяться, а більшість хворих на туберкульоз виявляється тільки при звертанні до лікаря. Із цієї причини у багатьох країнах, у тому числі й Україні, гостро стоїть питання про інтеграцію роботи фтизіатрів та лікарів першої медичної допомоги в області діагностики туберкульозу.

Система терапії DOTS дозволяє значно знизити витрати на діагностику та лікування туберкульозу.

Іншою необхідною умовою є організація мережі лабораторій, що могли б якісно здійснювати мікроскопію мокроти та централізоване бактеріоскопічне дослідження матеріалу від хворих.

Однією з основних умов успішної боротьби з туберкульозом є проведення контрольованого лікування за допомогою короткострокових стандартних схем хіміотерапії. Через різний стан бактерійної популяції на різних етапах перебігу хвороби для лікування та профілактики як первинного, так і полірезистентного туберкульозу, запропоновано застосування двоетапного, ефективного короткострокового курсу хіміотерапії з використанням чотирьох найбільш ефективних препаратів: ізоніазиду, рифампіцину, піразинаміду та етамбутолу [29].

Перший етап лікування включає проведення інтенсивної насиченої хіміотерапії чотирма-п'ятьма основними туберкулостатиками протягом 2-3 місяців, що сприяє пригніченню мікобактеріальної популяції, що розмножується, зменшенню її кількості та запобіганню розвиткові лікарської резистентності.

Другий етап - проведення менш інтенсивної терапії із застосуванням, як правило, 2-3 туберкулостатиків (ізоніазид, рифампіцин, етамбутол) із метою впливу на бактерійну популяцію, що залишилася, у своїй більшості внутрішньоклітинно у вигляді персистувальних типів МБТ. Головна задача даного етапу терапії - запобігання розмноженню МБТ, що залишилися, а також стимуляція репаративних процесів в уражених органах за допомогою різних патогенетичних засобів і методів лікування [33, 34, 35, 36].

Стратегія DOTS дозволяє припинити поширення МБТ. За сприятливих умов розсіювання МБТ можуть виникати ендемічні сполохи із зараженням одним хворим до 100 людей на рік [37].

Курс лікування, передбачений стратегією DOTS, значно знижує можливість розвитку у пацієнта резистентних форм туберкульозу, продовжує життя хворих на СНІД, забезпечує захист людей, які потрапили до неблагополучних туберкульозних зон.

При застосуванні стратегії DOTS немає необхідності у госпіталізації хворих, широкому впровадженню нових технологій або ресурсів, не вимагається створення нових структур у системі охорони здоров'я.

Крім того, програма DOTS рентабельна, економічно вигідна. Всесвітній банк охарактеризував стратегію DOTS як одну із «найрентабельніших програм у галузі охорони здоров'я». Курс лікування інфекційних хворих за цією програмою складає за вартістю до 5 дол. на один збережений рік життя без хвороби. Проведення стратегії DOTS сприяє швидкому економічному зростанню слаборозвинених країн, зберігаючи майже 80 % хворих на туберкульоз у працездатній групі населення.

Досвід впровадження DOTS-терапії майже у 100 країнах світу показує, що позитивних результатів можливо досягти у (80-90) % випадків у той час, як кількістьвилікуваних пацієнтів у результаті проведення інших програм боротьби з туберкульозом складає лише 40 %. У 2000 році більше мільйона хворих на туберкульоз проходили курс лікування за цією програмою [30, 31].

В основі успіху стратегії DOTS лежить головний принцип: за досягнення позитивних результатів лікування відповідає не пацієнт, а система охорони здоров'я. Це має велике значення, оскільки більшість хворих, які почали відчувати себе краще після декількох тижнів лікування, припиняють лікування.

Міністерство охорони здоров'я України також планує кардинально змінити політику відносно діагностики, терапії та моніторингу туберкульозу за допомогою впровадження програми DOTS через серію пілотних проектів із подальшим поширенням її на всю територію України [3].

Шляхи розвитку ринку протитуберкульозних препаратів. У зв'язку із загостренням проблеми туберкульозу в Україні та світі, створенням національних і міжнародних програм боротьби з цим захворюванням слід очікувати збільшення споживання відповідних лікарських засобів.

Зараз в світі існує 42 міжнародні назви (INN) протитуберкульозних препаратів, на основі яких виробляється більше 210 торгових марок лікарських засобів.

В Україні у 2000 році було зареєстровано 55 торгових марок препаратів для лікування туберкульозу. За міжнародними назвами активної речовини вони розподілилися нерівномірно (Табл. 3) [23, 38].

Таким чином, частка антибіотиків складає 27.27 %, гідразидів — 10.91 %, похідних тіокарбаміду — 5.45 %, інших протитуберкульозних препаратів — 34.55 %, комбінованих препаратів — 21.82 % всієї номенклатури.

Вітчизняною промисловістю виробляються такі протитуберкульозні препарати: ізоніазид, рифампіцин, піразинамід, етамбутол, флуоренізид, фтивазид, стрептоміцин. Їх виробництво розташовано на НВЦ «Борщагівський ХФЗ» (м. Київ); ЗАТ «ФФ «Дарниця» (м. Київ); ВХФП «Біостимулятор» (м. Одеса); Луганський ХФЗ; АТ «Стома» (м. Харків); «Львівтехнофарм» [15, 23]. Решта препаратів на фармацевтичний ринок України імпортується з Білорусі та Росії. Ці препарати майже повністю дублюють вітчизняну номенклатуру. 80 % номенклатури протитуберкульозних засобів складають препарати, імпортовані із країн далекого зарубіжжя. Найбільшу частку вітчизняного фармацевтичного ринку (за кількістю торгових назв) займають фармацевтичні компанії Індії (38.17 %), України (12.72 %), Швейцарії (7.27 %), Росії (5.44 %). У рівній частці (по 3.6 %) представлено препарати виробництва Угорщини, Бельгії, Італії, Македонії, Швеції. По 1.82 % — препарати виробництва Білорусі, Болгарії, Німеччини, Польщі, Словачії, Хорватії, Пакистану та США [23].

Протитуберкульозні препарати виготовляються переважно у вигляді таблеток та капсул.

Меншу частку таких препаратів складають розчини та порошки для ін'єкцій і драже. Супозиторні лікарські форми для лікування туберкульозу в Україні не вироблялися. Інформаційний пошук не виявив супозиторних протитуберкульозних лікарських засобів і закордонного виробництва.

Незважаючи на те, що за останні 5 років група препаратів для лікування туберкульозу поповнилася майже на 25 %, очевидно, що необхідно подальше розширення їх асортименту.

Важливою задачею вчених є створення нових високоактивних малотоксичних препаратів, до яких знижена резистентність МБТ, для використання у фтизіатрії. У цьому напрямку проводяться дослідження як за кордоном, так і в Україні.

Найважливішим шляхом розвитку ринку протитуберкульозних препаратів є синтез оригінальних субстанцій та створення на їх основі нових препаратів.

В останні роки в Росії розроблено два оригінальні протитуберкульозні препарати — феназид та глутоксим. Феназид має бактеріцидну та бактеріостатичну дію, яка рівна дії ізоніазиду. Феназид, у залежності від дози, навіть має деякі переваги: дія препарату виявляється по відношенню до МБТ, стійких до ізоніазиду [8]. Глутоксим — представник нового класу лікарських речовин — тіопоетинів. Препарат з успіхом зарекомендував себе у комплексному лікуванні туберкульозу [8, 39].

В Україні синтезована оригінальна субстанція — флуоренізид, що виявляє виражену протитуберкульозну дію. Клінічні випробування показали, що флуоренізид за ефективністю наближається до ізоніазиду, має незначну побічну дію та впливає на резистентні до ізоніазиду МБТ. На основі цієї субстанції розробле-

Таблиця 3

Розподіл зареєстрованих в Україні препаратів за міжнародними назвами

Міжнародна назва (INN) активної речовини	Кількість торгових назв	
	імпортних	вітчизняних
рифампіцин	12	1
рифаміцин	1	-
рифабутин	1	-
ізоніазид	1	4
фтивазид	1	-
протіонамід	1	-
етіонамід	2	-
піразинамід	6	1
етамбутол	11	1
рифампіцин (комбінації)	12	-

но таблетки, що виробляються ВАТ «Київський вітамінний завод» [8, 40].

Вивчення антимікробної активності сучасного препарату у вигляді настойки, одержаного на основі продуктів бджільництва, показало його протитуберкульозну активність та перспективність використання для лікування туберкульозу у поєднанні з базовою хіміотерапією [41, 42].

Крім створення та вивчення нових протитуберкульозних субстанцій проводиться розробка лікарських форм, що передбачають зменшення токсичності лікарських речовин та подовження їх дії. Цим умовам відповідає ректальний шлях введення лікарських речовин в організм людини, а також внесення різноманітних допоміжних речовин до складу інших лікарських форм. Молдовер Б.Л. зі співавторами розробили супозиторії для лікування туберкульозу на основі рифампіцину із додаванням кальцію або магнію стеарату. У порівнянні з відомими лікарськими формами для перорального та внутрішньовенного введення ця композиція має кращу біодоступність активної речовини, та, головне, дозволяє знизити побічну дію антибіотика і запобігти розвитку вираженого дисбактеріозу [43].

Доведено, що введення в лікарську форму ізоніазиду суміші пектину із сахарозою дозволяє зменшити його гепатотоксичність при збереженні рівня протитуберкульозної активності [44].

Для хіміотерапії туберкульозу розроблено оригінальні супозиторії з комбінацією ізоніазиду та етіонаміду зі зниженою побічною дією [45].

В ДП ДНЦЛЗ також проводяться роботи зі створення препаратів протитуберкульозної дії у вигляді супозиторіїв. На основі проведеного комплексу експериментальних досліджень розроблено технологію виготовлення супозиторіїв з етамбутолу гідрохлоридом. Результати доклінічних досліджень, проведених на базі ДП ДНЦЛЗ під керівництвом д.б.н, професора Маслової Н.Ф., та клінічного вивчення, виконаного на кафедрі фтизіатрії та пульмонології медичного інституту Української асоціації народної медицини (м. Київ), визначили високу ефективність та нешкідливість нового розробленого протитуберкульозного препарату — «Етамбутолу гідрохлорид, супозиторії ректальні по 0.4 г». Супозиторії з етамбутолу гідрохлоридом впроваджені у промислове виробництво на ВАТ «Монфарм» (м. Монастирище) [48].

При розробці складу комбінованих супозиторіїв «Піризид-М» як діючу речовину було використано комбінацію трьох основних протитуберкульозних препаратів — рифампіцину, ізоніазиду та піразинаміду. Клінічні дослідження супозиторіїв «Піризид-М», що проводилися в умовах відділення діагностики, терапії та клінічної фармакології захворювань легенів Інституту фтизіатрії та пульмонології ім Ф.Г. Яновського АМН України (м. Київ) свідчать про те, що досліджувані супозиторії представляють собою вискоелективний безпечний протитуберкульозний препарат. Технологія виробництва супозиторіїв «Піризид-М» апробована у промислових умовах на ВАТ «Монфарм». Препарат рекомендовано до реєстрації [49].

Аналізуючи дослідження провідних закордонних фірм зі створення лікарських засобів, можна зробити висновок, що їх успіхи пояснюються не тільки використанням оригінальних субстанцій, а й, у значній мірі, розробкою принципово нових лікарських форм на базі відомих діючих речовин. Створення таких лікарських препаратів економічно доцільне тому, що ці діючі речовини вже одержали клінічне визнання.

Зважаючи на рекомендації ВООЗ, необхідно створювати комбіновані лікарські засоби для лікування туберкульозу на основі Модельного переліку життєво необхідних ліків із рекомендованим дозуванням.

Розроблені багатокомпонентні препарати з відомими туберкулостатиками знайшли широке застосування для ефективного лікування туберкульозу. Перш за все це значна кількість протитуберкульозних препаратів, що містять комбінації рифампіцину, ізоніазиду, піразинаміду, етамбутолу, у вигляді таблеток та капсул: «Рифатер», «Р-цинекс», «Ринізид-форте», «Кок-сайд-ізо», «Рифінах», «Фтізоетам», «Фтізопірам», «Майрин-П», «Рукокс-4» та ін. Ці лікарські засоби виробляються провідними фармацевтичними фірмами США, Англії, Індії. Однією із значних переваг багатокомпонентних препаратів є науково обґрунтований вибір ефективних протитуберкульозних засобів, що дозволяє спростити схему лікування та проводити контрольовану хіміотерапію [4, 46].

Комбіновані препарати необхідні для впровадження у практику перспективної системи лікування туберкульозу - стратегії DOTS. На сьогоднішній день комбіновані протитуберкульозні препарати українськими підприємствами не виробляються.

При розробці нових протитуберкульозних препаратів слід передбачити дослідження їх фармакокінетики та біоеквівалентності. Виробництво препаратів для лікування туберкульозу має здійснюватися відповідно до вимог GMP [27, 47].

Висновки

1. Проблема боротьби з туберкульозом, що в Україні є загрозливою соціально-економічною та медичною проблемою, дійшла рівня першочергових загальнодержавних задач, внаслідок чого був прийнятий Закон України «Про боротьбу із захворюванням на туберкульоз» та інші державні настанови.

2. Одним із основних напрямків боротьби з туберкульозом є проведення хіміотерапії специфічними препаратами, що призводить до зниження або знищення бактерійної популяції в організмі хворого.

3. Для боротьби з епідемією туберкульозу ВООЗ запропоновано стратегію DOTS, що рекомендує проведення прискореної контрольованої амбулаторної хіміотерапії комбінованими туберкулостатиками із фіксованими дозами. Впровадження цієї програми у багатьох країнах світу показало її ефективність та рентабельність.

4. Аналіз ринку протитуберкульозних препаратів в Україні показав необхідність його розвитку за рахунок створення нових високоактивних малотоксичних препаратів зі зниженою резистентністю для використання у фтизіатрії. Тому створення сучасних протитуберкульозних лікарських препаратів у вигляді супозиторіїв, що сприяють зменшенню побічних ефектів туберкулостатиків та гарантують ефективне лікування, є необхідним та обґрунтованим.

ЛІТЕРАТУРА

1. Москаленко В.Ф., Феценко Ю.І. Актуальні проблеми туберкульозу в Україні за 10 років // Український пульмонологічний журнал. - 2001. - № 1. - С. 5-8.
2. Феценко Ю.І., Мельник В.М. Медико-соціальні та організаційні аспекти фтизіопульмонології // Матеріали II з'їзду фтизіатрів і пульмонологів України (Київ, 20-23 жовтня 1998 р.). - Київ, 1998. - С. 19-22.
3. Феценко Ю.І., Мельник В.М. Туберкульоз легень в період епідемії: епідеміологічні, клініко-діагностичні, лікувально-профілактичні та організаційні аспекти. - Київ: Логос, 1998. - 284 с.
4. Кольцова Э., Проница Е. Рынок противотуберкулезных препаратов // Ремедиум. - 2000. - № 7-8. - С. 28-32.
5. Аксенова В.А., Ваганов Н.Н., Приймак А.А. Состояние и перспективы противотуберкулезной помощи детям в Российской Федерации // Материнство и детство. - 1992. - № 10-11. - С. 5-7.
6. Haas W., Bremer H.J. Tuberkulose bei Kinder und Jugendlichen // Monatsschrift Kinderheilkunde. - 1995. - Bd. 143, No 1. - S. 69-83.

7. Феценко Ю.І. Особливості туберкульозу в Україні: аналіз ситуації та прогноз // Здоров'я України. - 2001. - № 12. - С. 19.
8. Маньковский В.В., Щекина Е.Г., Чернова Т.М. Туберкулостатики — сегодня и завтра // Провизор. - 2002. - № 10. - С. 44-46.
9. Куфакова Г.А., Овсянкина Е.С. Факторы риска развития заболевания туберкулезом у детей и подростков из социально-дезадаптированных групп населения // Большой целевой журнал о туберкулезе. - 1998. - № 1. - С. 37.
10. Мельник В.М. Туберкульоз в Україні на сучасному етапі й прогнозні оцінки // Український пульмонологічний журнал. - 1999. - № 3. - С. 61-63.
11. Пухлик Б.М. Епідемія туберкульозу в Україні — причини і шляхи її зупинення // Ліки України. - 1999. - № 7-8. - С. 10-12.
12. Хоменко А.Г. Туберкулез вчера, сегодня, завтра // Проблемы туберкулеза. - 1999. - № 1. - С. 9-11.
13. Иманова Н.И. Съезд фтизиатров и пульмонологов // Провизор. - 2003. - № 13. - С. 9-10.
14. Маркарян Е. Оценка контроля туберкулеза в Украине // Там же. - 2000. - № 1. - С. 48.
15. Львова Л.В. Глобальная угроза для человечества // Там же. - С. 45-47.
16. Браженко Н.А. Составные элементы современной профилактики туберкулеза // Большой целевой журнал о туберкулезе. - 1999. - № 4. - С. 98.
17. Аржанов Н.П.. Туберкулез: воспоминание о будущем // Провизор. - 2003. - № 1. - С. 40-44.
18. О концепции национальной российской программы борьбы с туберкулезом // Проблемы туберкулеза. - 2000. - № 3. - С. 51-55.
19. Лечение туберкулеза // Туберкулез / Под ред. А.Г. Хоменко. - М.: Медицина, 1996. - 496 с.
20. Volmink J., Matchaba P., Garner P. Directly observed therapy and treatment adherence // Lancet. - 2000. - No 355. - P. 1345-1350.
21. Ефективність терапевтичного і хірургічного лікування хворих на туберкульоз легень з полірезистентними мікобактеріями туберкульозу / Петренко В.М., Черенько С.О. та ін. // Український пульмонологічний журнал. - 1999. - № 4. - С. 11-13.
22. Про боротьбу із захворюванням на туберкульоз: Закон України від 5 липня 2001 року // Провизор. - 2001. - № 16. - С. 2-6.
23. Листопад А. Рынок противотуберкулезных препаратов в Украине // Там же. - 2000. - № 1. - С. 15-19.
24. Чужанов В.И. Основные принципы лечения больных туберкулезом // Русский медицинский журнал. - 1998. - № 17. - С. 1138-1142.
25. Химиотерапия туберкулеза легких / Под. ред. А.Г. Хоменко. - М., 1980. - 278 с.
26. Zumla A., Grange O. Science, medicine and the future. Tuberculosis // BMJ. - 1998. - No. 316. - P. 1962-1964.
27. Комбіновані таблетки з фіксованими дозуванням для лікування туберкульозу // Фармаком. - 2002. - № 3. - С. 84-102.
28. Хоменко А.Г. Стратегия DOTS и ее распространение в России // Проблемы туберкулеза. - 1999. - № 1. - С. 48-55.
29. Крутько В.С. Актуальные проблемы туберкулеза // Международный медицинский журнал. - 2000. - № 1. - С. 98-99.
30. Стратегия DOTS (Directly Observe Treatment Short-course) с позиции управления: Пер. с англ. - Женева, 1997. - С. 77.
31. Петренко В.М. Дискусійні питання DOTS-стратегії // Український пульмонологічний журн. - 2000. - № 4. - С. 59-61.

32. Moulding T.S. A Supplement to Directly Observed Therapy // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. — 1999. — Vol. 159, No. 3. — P. 989-991.
33. Хуан Альбина, Ли Райхман. Лечение туберкулеза // Большой целевой журнал о туберкулезе. — 2000. — № 7-8. — С. 35.
34. Мишин В.Ю. Современная стратегия лечения лекарственно устойчивого туберкулеза легких // *Лечащий врач*. — 2000. — № 3. — С. 4-9.
35. Бойерс М., Цвишенбергер Дж. Консервативное и хирургическое лечение туберкулеза и других микобактериозов // *Проблемы туберкулеза*. — 1998. — № 2. — С. 47-50.
36. Диагностика, клиника и тактика лечения остро прогрессирующих форм туберкулеза легких в современных эпидемиологических условиях / Хоменко А.Г., Мишин В.Ю., Чуканов В.И. и др. // Там же. — 1999. — № 1. — С. 22-27.
37. Хоменко А.Г. Туберкулез в России // *Врачебная практика*. — 1999. — № 1. — С. 4-10.
38. Анализ фармацевтического рынка противотуберкулезных препаратов в Украине / Дроговоз С.М., Щеклина Е.Г., Штрыгол С.Ю. и др. // Тез. докл. III Междунар. науч.-практ. конф. «Наука і соціальні проблеми суспільства: медицина, фармація, біотехнологія». — Харків: НФаУ, 2003. — Ч. 1. — С. 114.
39. Глутоксим в комплексной терапии туберкулеза / Соколова Г.Б., Синицин М.В., Кожемякин Л.А. и др. // *Антибиотики и химиотерапия*. — 2002. — № 2. — С. 20-23.
40. Флуренид — новый отечественный противотуберкулезный препарат / Л.И. Петрух, Е.А. Ткач, М.Н. Коваленко и др. // *Провизор*. — 2000. — № 10. — С. 40-43.
41. Шпичак О.С., Тихонов О.І. Проблема лікування хворих на туберкульоз та застосування препаратів на основі природної сировини // Тез. докл. III Междунар. науч.-практ. конф. «Наука і соціальні проблеми суспільства: медицина, фармація, біотехнологія». — Харків: НФаУ, 2003. — Ч. 1. — С. 346.
42. Вивчення антимікробної активності нового протитуберкулезного препарату, отриманого на основі продуктів бджільництва / Тихонов О.І., Дикий І.Л., Гейдеріх О.Г. та ін. // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики: Зб. наук. ст. — Вип. X. — Запоріжжя, 2003. — С. 102.
43. Пат. 2185168 Российская Федерация, МПК А 61 К 31/496, 9/02, А 61, Р 31/06. Композиция для лечения туберкулеза / Молдовер Б.Л., Борисова О.А., Александрова А.Е. (РФ). — Оpubл. 2002, Бюл. № 20. — С. 24.
44. Пат. 2153878 Российская Федерация, МКИ А 51 К 31/732, 9/16, А 61 р 31/06. Способ получения лекарственных форм изониазида, обладающих пониженной гепатотоксичностью / Саджая Л.А., Василенко Ю.К., Компанцева Е.В. (РФ). — Оpubл. 1999, Бюл. № 8. — С. 17.
45. Степанова Э.Ф., Куль А.Ю. Разработка ректальной лекарственной формы с туберкулостатиками // Тез. докл. VIII Рос. нац. конгр. «Человек и лекарство». — М., 2001. — С. 143.
46. Хоменко А.Г., Мишин В.Ю. Эффективность комбинированных таблеток рифатер и рифанг при лечении больных с впервые выявленным туберкулезом легких // Новые лекарственные препараты. — 1997. — № 12. — С. 14-21.
47. Надлежащая производственная практика лекарственных средств / Под ред. Ляпунова Н.А., Загория В.А., Георгиевского В.П., Безуглой Е.П. — Киев: МОРИОН, 1999. — 896 с.
48. Романова Я.Ю. Розробка та стандартизація складу та технології комбінованого протитуберкулезного препарату // *Запорізький медичний журнал*. — 2004. — № 5. — С. 150-152.
49. Противотуберкулезные средства в форме суппозиторий / Козлова Н.Г., Носальская Т.Н., Замараева Е.Е., Пяткоп А.Б., Романова Я.Ю. и др. // *Вісник фармації*. — 2002. — № 2. — С. 107-108.

Резюме

Романова Я.Ю., Козлова Н.Г., Долгая И.Н., Замараева Е.Е.

Современные аспекты лечения туберкулеза

Проанализированы направления борьбы с туберкулезом, заключающиеся во внедрении современных стратегий лечения и развитии рынка противотуберкулезных препаратов. Приведен аналитический обзор рынка противотуберкулезных препаратов. Показана целесообразность создания комбинированных препаратов для лечения туберкулеза.

Summary

Romanova Ya.Yu., Kozlova N.G., Dolgaya I.N., Zamaraeva E.E.

Modern aspects of tuberculosis treatment

Directions of fight against tuberculosis, consisting in introduction of modern strategy of treatment and development of the market of antituberculous preparations were analyzed. Analytic review of the market of antituberculous preparations was conducted. The expediency of creation of combined antituberculous preparations was shown.

Романова Яна Юріївна. Закінчила Українську фармацевтичну академію (1996), магістратуру УкрФА (1998). К.фарм.н. (2004). Наук. співр. сектора супозиторних лікарських форм ДП ДНЦЛЗ (2005).

Козлова Неллі Георгіївна. Закінчила Харківський державний університет (1968). К.фарм.н. (1983). Зав. сектором супозиторних лікарських форм ДП ДНЦЛЗ (1999).

Довга Інна Миколаївна. Закінчила Харківський державний університет (1982). К.фарм.н. (2005). Наук. співр. сектора супозиторних лікарських форм ДП ДНЦЛЗ (1999).

Замараєва Олена Євгеніївна. Закінчила Харківський державний університет (1983). Наук. співр. сектора супозиторних лікарських форм ДП ДНЦЛЗ (1999).

Аналiтичний огляд

УДК 547.79

Георгиевский Г.В.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Биологическая активность производных 1,2,4-триазола

Приведен анализ литературных данных по биологической активности производных 1,2,4-триазола. Отмечено создание украинскими учеными оригинального отечественного синтетического препарата - производного 1,2,4-триазола — тиотриазолина, обладающего гепато-, кардиопротекторным и противовоспалительным действием. Его производство освоено заводами Украины в форме таблеток, инъекционных растворов, глазных капель, мази, суппозиторий и комбинированного лекарственного средства с парацетамом.

Производные 1,2,4-триазола обладают широким спектром биологического действия и находят применение в качестве лекарственных средств [3]. В настоящее время применяются:

- активный химиотерапевтик - 4-(5-нитрофурилиденамино)-ан-1,2,4-триазол (фуракрилин);
- аналептик - 3-этил-4-циклогексил-1,2,4-триазол (азоман);
- коронарорасширяющее средство - 7-н-диэтил-5-метил-1,2,4-триазоло-(1,5-а) пиридин (рокорнал);
- цитостатик — 5-О-3,5-диамино-1,2,4-триазол (гуанозол);
- антидепрессант - 2-[3(а-м-хлорфенил-1-пиперазинил)]-пропил-1,2,4-триазол-(4,3а)пиридин-3(2н)-он (триазодона гидрохлорид).

В последнее время среди производных 1,2,4-триазолил-5-тионов найдены вещества, обладающие *противовирусным, противомикробным, фунгицидным, цитостатическим, противовоспалительным, нейролептическим, гипогликемическим, противосудорожным, диуретическим, жаропонижающим* и другими видами действия.

Антитуберкулезную активность проявляют, в основном, гидразиды и илиденгидразиды 1,2,4-триазолил-5-тиоуксусных кислот [4], а также комплексные соединения меди с 1,2,4-триазолил-5-тионом [4].

Запатентован ряд цефалоспориновых антибиотиков, в состав которых входит остаток 1,2,4-триазолил-5-тиона.

Противомикробным действием обладают сами 1,2,4-триазолин-5-тионы и их 5-алкилтио- и 5-алкилсульфотиопроизводные [5-16].

В [17-19] содержатся сведения о *бактерицидном* и *фунгицидном* действии некоторых производных триазоло(3,2в)-1,2,4-триазола.

Противогрибковая [17-19] активность выявлена среди замещенных 1,2,4-триазолов,

1,2,4-триазоло(3,4в)-1,3,4-тиадиазолов, триазоло(3,4в) - 1,2,4-триазолов, триазолопиридазинов.

Производные 1-(1,3-диоксоланил-2)-метил-1Н-1,2,4-триазола активны в отношении простейших, они обладают *противомикробным* и *противогрибковым* действием и могут применяться для лечения высших и системных микозов.

Установлено, что *противовирусную* активность проявляют ацилированные производные 1,2,4-триазола, 1,2,4-триазолкарбоксамиды, 5-замещенные 1,2,4-триазол-3-карбоксамиднуклеотиды, производные симм-триазоло(1,5в)-пиридин-С-нуклеотидов [22].

3,4-дизамещенные 5-карбоксиметилтио-1,2,4-триазолов [20-21] и некоторые 3-пиримидил- и 3,4-диарил-триазолин-5-тионы [22] также проявляют *противовирусную* активность, а наиболее активным противовирусным препаратом является рибавирин (рибанидил) — 1-β-D-рибофуранозил-1,2,4-триазол-3-карбоксамид.

Анальгетическая и *противовирусная* активность обнаружена у производных 1,2,4-триазола и 5-амино-1,2,4-триазолов, меркапто-4Н-1,2,4-триазолов, 1,2,4-триазоло-1,5а-пиримидинов, 1,2,4-триазоло-2,3-диазофенотиазина, 1,2,4-триазоло-1,2-е хиназолина, 1,2,4-триазоло(3,4а)изохинолина, 1,2,4-триазоло(4,3-в)1,2,4-триазинов [28, 29, 30].

Противоопухолевую активность обнаруживают некоторые 1,2,4-триазолил-тиоуксусные кислоты и их производные [22], N-оксиметильные производные 1,2,4-триазолил-5-тионов [2], а также некоторые дигетерил сульфиды [23].

Гипогликемической активностью в различной степени обладают как сами 1,2,4-триазолил-5-тионы [26,27], так и их производные, содержащие в положении 3 бензолсульфамидные группы [24, 25] и 5 алкилсульфо-1,2,4- триазолы.

В основе противоишемического действия тиотриазолина лежит его способность усиливать компенсаторную активацию анаэробного гликолиза, снижать степень угнетения окислительных процессов в цикле Кребса с сохранением внутриклеточного фонда АТФ, стабилизировать метаболизм кардиомиоцитов [48]. Тиотриазолин активирует антиоксидантную систему ферментов и тормозит процессы перекисного окисления липидов в ишемизированных участках миокарда. Тиотриазолин активирует антирадикальные ферменты - супероксиддисмутазу и каталазу, антиперекисный фермент глутатионпероксидазу, способствует более экономному расходу эндогенного антиоксиданта - токоферола. Препарат тормозит образование начальных и конечных продуктов реакции перекисного окисления липидов в патологически измененных тканях, тем самым защищает структурно-функциональную целостность мембран кардиомиоцитов. Тиотриазолин снижает чувствительность миокарда к адренергическим кардиостимулирующим воздействиям катехоламинов и препятствует прогрессивному угнетению сократительной функции сердца, развитию нарушений ритма сердечных сокращений, стабилизирует зону некроза и уменьшает зону ишемии миокарда. Тиотриазолин повышает устойчивость кардиомиоцитов к гипоксической, циркуляторной и гемической гипоксии. Противовоспалительное действие тиотриазолина обусловлено уменьшением явлений отека в измененных тканях и улучшением процессов микроциркуляции за счет снижения вязкости крови.

Большой интерес представляют фундаментальные работы по изучению эффективности и механизмов действия ряда метаболических средств на различные функции организма стареющего человека, в том числе сердечно-сосудистую систему. Отмечено, что их применение положительно сказывается на состоянии организма пожилых и старых людей: улучшается функциональное состояние сердечно-сосудистой системы, повышается сократительная способность миокарда, нормализуется реактивность и расширяется диапазон приспособительных механизмов, повышается устойчивость к стрессорным воздействиям. Эти наблюдения открывают большие перспективы в отношении применения тиотриазолина при лечении ишемической болезни сердца у лиц пожилого и старческого возраста.

Исследование параметров свободнорадикального перекисного окисления липидов по-

казало, что в результате проведенного лечения тиотриазолином у больных с патологией сердца значительно снизилась активность перекисного окисления липидов. Это проявилось в выраженном снижении концентрации диеновых конъюгантов, малонового диальдегида и в увеличении пула эндогенного α -токоферола по сравнению с другими группами наблюдения. Тиотриазолин, обладая выраженным мембранопротекторным действием, снижал уровень аланинаминотрансаминаз до нормальных показателей через 3-4 дня у больных гепатитом. После применения тиотриазолина улучшается дезинтоксикационная функция печени, о чем свидетельствует нормализация уровня белков, мочевины и глюкозы крови. Одновременно с устранением воспалительного процесса после назначения тиотриазолина уменьшались явления холестаза. Достоверно увеличивалось или нормализовалось содержание общих липидов, свободного и связанного холестерина, триглицеридов, даже у больных с циррозом печени. У больных с алкогольной гепатопатией после курса лечения тиотриазолином отмечена тенденция к снижению содержания в сыворотке холевых кислот. Тиотриазолин оказал выраженное противовоспалительное и дезинтоксикационное действие при купировании болей и устранении признаков деструкции поджелудочной железы. Тиотриазолин обладает иммуномоделирующим действием. У больных под действием тиотриазолина отмечено снижение или нормализация количества больших, средних, малых лимфоцитов и циркулирующих иммунных комплексов. При остром холецистите, травматических поражениях печени и в послеоперационном периоде наблюдалась нормализация общего количества Т-лимфоцитов и активных Т-лимфоцитов, а также увеличивалось содержание гаммаглобулина. Препарат начинают широко применять при заболеваниях разных органов и систем органов.

В настоящее время в Украине выпускаются препараты, разработанные НПО «ФАРМАТРОН» в содружестве с учеными ГП ГНЦЛС и других институтов Украины:

- таблетки тиотриазолина 0.1 г — АО «Галычфарм»;
- раствор тиотриазолина 1 % — АО «Галычфарм»;
- раствор тиотриазолина 2.5 % — АО «Галычфарм»;
- глазные капли тиотриазолина — ОЗ ГНЦЛС, г. Харьков;
- мазь тиотриазолина — АО «Красная Звезда»;

- суппозитории с тиотриазолином — ЗАО «Лекхим-Харьков»;
- тиоцетам, таблетки (тиотриазолин + пирарцетам) — АО «Галычфарм»;
- тиоцетам, раствор для инъекций (тиотриазолин + пирарцетам) — АО «Галычфарм».

Выводы

Анализ литературных данных по биологической активности производных 1,2,4-триазола подтвердил целесообразность создания украинскими учеными лекарственных препаратов различной направленности действия на их основе. Показана перспективность создания комбинированных лекарственных средств и различных лекарственных форм тиотриазолина — эффективного кардио- и гепатопротектора.

ЛИТЕРАТУРА

1. Pat. 3769411 US, IPC, a 01 n9/00, 424-269. Fungicidal 1,2,4-4H-triazole derivatives / M. Seidel, W. Meyer, S. Greefield (US) // РЖХ. - 1974. - № 19. - 19Н656П.
2. Gasco A., Merturini V., Reynand E. Synthesis of 7a-0-15(3-methyl-sulfarazan-4-yl) - 1,2,4 - triazol-3-yl-thio / acegydrazides // Farmaco. Ed. Sci. - 1973. - Vol. 28, No. 8. - P. 620-630.
3. Negwer M. Organischen chemische Arzneimittel und ihre Synonyma. - Berlin: Acad. Verl., 1971. - Bd. 1-2. - 1215 S.
4. Transformations of the thiosemicarbazides II. Tuberculostatic activity in vitro / A. Porebska, K. Lemburowa, D. Maria et al. // Dis. Pharm. - 1962. - Vol. 14, No. 3. - P. 289-296.
5. Липанова Б.Д., Буров Е.В., Куликова Л.К. О некоторых производных 1,2,4-триазола // Исследования в области синтеза и катализа органических соединений. - Саратов, 1975. - С. 29.
6. Синтез и противомикробная активность 3-винилтио-1,2,4-триазолов / Б.В. Тржежинока, Г.Г. Скворцова, Ю.А. Мансуров и др. // Хим.-фармац. журн. - 1982. - Т. 6, № 12. - С. 56-60.
7. Mazzone G., Bonina F., Blandino G. 3-Metilthio-, 3-(aminosostituti)etilthio-3-carbos-simetiltio-3,3-(ditiobis)-5-aril-4H(R)-1,2,4-triazoli, derivate 2-aminometil-/v-sostituiti di 5-aril-4H(R)-1,2,4-triazolin-3-tioni: attivita Biologica // Farmaco. Ed. Sci. - 1981. - Vol. 36, No. 12. - P. 1004-1008.
8. Пат. 21420 Япония, МКИ, с07d. 16e391. Способ получения производных 1,2,4-триазола / Масао Х., Хирош Т. (Япония) // РЖХ. - 1968. - № 14. - 14Н381П.
9. Пат. 34819 Япония, МКИ, с07d. 16e31. Способ получения алкилсульфонил производных гетероциклических соединений / Хирухиса К., Атэноо С. (Япония) // Там же. - 1971. - № 18. - 18Н384П.
10. Pat. 2928 768 BRD, IPC, a 01k 43/64, c07d 249/08. 1-(2,4-Dichlor-phenyl)-1-(2,6-dihalogenbenzylmercapto)-2-(1,2,4-triazolyl)-ethane, verfahren zec ihren Herstellung und ihre verwendung oils Fungizide / W.Kramer, H.Cimmer (BRD) // Там же. - 1981. - № 24. - 240439П.
11. Pat. 3019 029 DE. IPC, a61r 31/41. Antimikrobiehe Mittel / H.L. Elbe, K.H. Buchel, M. Plempel (DE) // Там же. - 1982. - № 13. - 130113П.
12. Sen Gupta A.K., Mishra H.K. Synthesis Biological Activity of N'-Aryloxyacetyl-N' aryl(cyclohexyl)-3-thiosemicarbazides-1,2,4-triazoles // Indian J.Chem. - 1979. - Vol. 17B, No. 2. - P. 185-187.
13. Silbery A., Cosma N. Asupra unor aditii la senevoli.II: Aditia unor aril-hidrazide la fenilsenevoli si comportanea pridusilor asttl obtinuti // Studii si cercetari de chimie (Cluj.). - 1959. - Vol. 10, No. 1. - P. 151-162.
14. Sinteza si actiunca antimicrobiana a unor 5-mercapto-1,2,4-triazol / C. Budeanu, T. Torga, C. Cingureanu, J. Targa // Rev. Chim. - 1979. - Vol. 30, No. 7. - P. 633-635.
15. Synthesis of 3,4-disubstituted-5-carboxyc carbetoxymethylthyo-1,2,4-(4H7)-triazolen as potential antimicrobial agents / S.M. Knowass, A.A. Hozzas, E. Shams et al. // Sci. Pharm. - 1979. - Vol. 47, No. 4. - P. 314-319.
16. Goswami B.N., Kutaku J.C., Sarmah B.J. Synthesis and antibacterall activity of 1-(2,4-dichlorobenzoyl)-4-substituted thiosemicarbazides 1,2,4-triazoles and their methyl derivatives // J. Heterocycl. Chem. - 1984. - Vol. 21, No. 1. - P. 1225-1229.
17. Пат. 26498 Япония, МКИ, с07d. 16e61. Способ получения производных 6-бромтриазоло-3,2,3-синм-триазола / Сабуро К., Тарумисе (Япония) // РЖХ. - 1982. - № 4. - 4Н661П.
18. Pat. 2126410 FR, IPC, a61k 9/22. Compositions fongieiodis a base de 1,2,4-triazolidin-3-ones et - thiones / F. Gozzo, S. Lorusso, C. Garavaglia (FR) // Там же. - 1980. - № 23. - 330352П.
19. Potts K.T., Huseby R.M. S-Triazolo (3,4-b)-1,3,4-thiadiazoles // Chem. Ind. London. - 1969. - Vol. 46. - P.1919.
20. 3,4-Disubstituted-5-carboxymethylmercapto-1,2,4-(H)-Triazoles as possible antiviral agents / M. Shah, M. Mhasalkar, N. Varaya et al. // Indian J. Chem. - 1967. - Vol. 5. - P. 391-393.
21. Synthesis of some S-Tiazoles with potential analgetic and antiinflammatory activities / T. George, D.V. Menta, R. Tahitrama et al. // J. Med. Chem. - 1971. - Vol. 14, No. 4. - P. 335-338.
22. Nitrogen five-member heterocycles. VII: N-(5-R-4-phenyl-1,2,4-triazole)-3-mercaptoacetyl-N'-R-acetylhydrazine with potential antitumor activity / Z. Cojocary, C. Nistor, C. Chinidis et al. // Farmaco. Bd. Sci. - 1973. - Vol. 28, No. 9. - P. 691-700.
23. Guglielmi H. Cytostatic thimine derivatives of imidazole-2-thione // J. Physiol. Chem. - 1968. - Vol. 349, No. 12. - P. 1733-1738.
24. Синтез и биологические свойства 1,4-замещенных тиосемикарбазидов и 1,2,4-триазолов / А.Х. Аветисян, Т.Р. Овнесян, И.Д. Джагацпаян и др. // Хим.-фармац. журн. - 1978. - Т.12, № 11. - С. 40.
25. Synthesis of pyrazine derivatiures as potential hypoglycemic agents / V. Ambrad, K. Bloch, S. Daturi et al. // J. Pharm. Sci. - 1972. - Vol. 61, No. 9. - P. 1482-1486.
26. Further Studies in Substituted 4H-1,2,4-triazoles for possible hypoglycemia activity / M.J. Mhashalkur, M.H. Shah, J.T. Nikam et al. // J. Med. Chem. - 1971. - Vol. 14, No. 3. - P. 260-262.
27. Synthesis and hypoglycemic activity of 3-aryl(or pyridyl)-5-alkyl(or aryl)-amino-1,3,4-thiodiazoles and some sulfonilurea derivatives of 4H-1,2,4-triazoles / M.Y. Mhasalkar, M.H. Shah, P.O. Lankar et al. // J. Med. Chem. - 1971. - Vol. 14, No. 10. - P. 1000-1003.
28. Pat. 939162 US, IPC, a61k, 31/41. Method of treating inflammatory and psynosis conditions wits 1,2,4-triazole derivatives and compositions containing some / P.C. Wade, R. Vogt (US) // РЖХ. - 1980. - № 3. - 8085П.
29. Synthesis antiinflammatory activity of some new 3-(o-substituted-phenyl)-4-substituted-phenyl-5-alkyl)alkenylmercapto-1-n-1,3,4-triazoles / M. Tandon, J.P. Barthwal, T.N. Bhalla et al. // Indian J. Chem. - 1981. - Vol. 20B, No. 11. - P. 1017-1018.
30. Pat. 833103 US, IPC, c07d 187/14, a61k 31/505. Mesoi-onic didehydro derivatives of 1,2-dihydro-1-substituted-3H-pyrazolo-(4,3-e)-1,2,4-triazolo (4,3-c) pyrimidine-3-B-thiones and 3-ones / U.D. Treuner, H. Breuer (US) // РЖХ. - 1979. - № 14. - 140180П.

31. Joshi K.S., Menta D.S. Synthesis of some 3-fluorinated-aryl-4-alkyl-(aryl)-5-mercapto-1,2,4-triazoles and related compounds as possible CNS depressants // J. Indian Chem. Soc. - 1974. - Vol. 51, No. 6. - P. 613-615.
32. Benzimidazolyl-1,2,4-(H)-triazoles an central newus system Depressant / S. Parmar, A. Gupta, H. Singh et al. // J. Med. Chem. - 1972. - Vol. 15, No. 9. - P. 999-1000.
33. Pat. 1559M FR, IPC, c07d, a61k. Hydroxy-3-amino-disubstitue-5-triazoles-1,2,4 et mercapto-3-amino disubstitue-5-triazoles-1,2,4 / Pesson M. (FR) // РЖХ. - 1961. - № 16. - 16Н182П.
34. Pat. 1563734 GB, IPC, c07d513104, a61r 31/54. Fused Triazoles / S. Claude, P. Stenri (GB) // Там же. - 1980. - № 22. - 220159П.
35. Pat. 4230715 US, IPC, c07d 249/12, a61k 31/41. 1,2,4-Triazole-3-thiols as antisecretory agents / W. Albrecht, D. Winton (US) // Там же. - 1981. - № 11. - 11079П.
36. Pat. 4411905 US, IPC, c07 d249/12 424/269 a61r 31/41. Antisecretory 1,2,4-triazole-3-thiols / W.V. Albrecht, W.D. Jones (US) // Там же. - 1984. - № 12. - 120104П.
37. Pesson M., Antoine M. 1,2,4-Triazoles. V. N,N-Dialkylamides derived from 1,2,4-triazole-5-carboxylic Acid // Bull. Soc. Chim. Fr. - 1970. - No. 4. - P. 1590-1599.
38. Pat. 2032173 DE, IPC, c07d, a01n. Insecticidal 5-methylthya-zolo (3,2-b)-3-triazol-2-yl dimethylcarbanate / Hoffmmam, Hellmut, Hammann, Ingeborg (DE) // Chem. Abstr. - 1972. - Vol. 76, No. 13.
39. Pat. 3719686 US, IPC, c07 f9/16, 260-308C. Thiophosphate derivatives of triazolone thiones / T. Cebalo (US) // РЖХ. - 1974. - № 5. - 5Н514П.
40. Pat. 3780052 US, IPC, a01n, c07 f9/08, 260 308L. Triazolone Phosphates / T. Cebalo, J.L. Meise (US) // Там же. - № 20. - 20Н587П.
41. Пат. 9580 Япония, МКИ, c07d, 16e 391.3. c07d. S-3(1,2,4-триазолил-п-П-диалкилкарбонат) / Иогети Х., Масахару Д. (Япония) // Там же. - 1973. - № 7. - 7Н203П.
42. Pat. 3767666 US, IPC, c 07 f9/16 a 01h 9/36. 3-Mercapto-1,2,4-triazol-2-ine-5-thione containing phosphates / J. Lielinski (US) // Там же. - 1974. - № 19. - 11616П.
43. Synthesis of bis (4-arylthiosemicarbazide)-bis(2-arylami-no-1,3,4-thiadiazol-5-yl)-alkanes-alkenes / V.J. Ram, L. Mishra, H.N. Randey et al. // Indian J. Chem. - 1979. - Vol.18B, No. 2. - P. 203-204.
44. Pat. 1472772 DE, IPC, 57b 5/24 c03 c5/24, c03 c5/26. Verfabren zuv Herstellung photographisher Billllder / E. Wegde, A. Konig, H. Metz (DE) // РЖХ. - 1974. - 20Н755П.
45. Визир А.Д., Дунаев В.В., Мазур И.А., Волошин Н.А., Стец В.Р. Тиотриазолин. - Запорожье: НПО «Фарма-трон». - 27 с.
46. Дрогозов С.М., Сальникова С.І. Механізм гепатопротекторної дії тиотриазоліну // Вісник фармації. - № 1-2. - С. 16-21.
47. Дрогозов С.М., Бородіна Т.В., Деримедвідь Л.В. Екстремальне обґрунтування альтернативи вибору гепатопротекторів // Ліки. - 1998. - № 5 - С. 32-35.
48. Влияние тиотриазолина на динамику изменения свертывающей системы крови при гиперболической оксигенации / Дунаев В.В., Филимонов В.И., Мазур И.А., Белничев И.Ф., Краснов Е.И., Филимонов Р.В. // Актуальні питання фармацевтичної науки та практики. Матеріали Межрегіональної науково-практичної конференції. - Запоріжжя, 1995. - С. 58-59.

Резюме

Георгієвський Г.В.

Біологічна активність похідних 1,2,4-триазолу

Наведено аналіз літературних даних із біологічної активності похідних 1,2,4-триазолу. Відзначено створення українськими вченими оригінального вітчизняного препарату — похідного 1,2,4-триазолу — тиотриазоліну, що виявляє гепато-, кардіопротекторну та протизапальну дію. Його виробництво освоєно заводами України у формі таблеток, розчинів для ін'єкцій, очних крапель, мазі, супозиторіїв і комбінованого лікарського засобу із пірацетамом.

Summary

Georgiyevskiy G.V.

Biological activity of 1,2,4-triazole derivatives

The analysis of literary data under biological activity of 1,2,4-triazole derivatives was given. It was noticed the creation by Ukrainian scientists of original domestically produced synthetic preparation - 1,2,4-triazole derivative — thiatriazolone, which had hepato-, cardioprotective and antiphlogogenic effect. Its production was adjusted by Ukrainian producers in the form of tablets, solution for injection, eye drops, ointment, suppositories and composed drug with pyracetam.

Георгієвський Геннадій Вікторович (р. 1969).

Окончил Харьковский фармацевтический институт (1992). К.фарм.н. (1995). Ст. науч. сотр. отдела Государственной Фармакопеи Украины ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр». Руководитель группы «Монографии на лекарственные субстанции» отдела ГФУ. Зав. лабораторией физико-химических процессов ГП ГНЦЛС (2001).

Фітохімічні дослідження

УДК 615.32:582.883.4:581.45

Кошовий О.М., Осолодченко Т.П., Мудрик І.М., Ковальова А.М., Комісаренко А.М.
Національний фармацевтичний університет

Перспективи створення нового лікарського засобу шляхом комплексної переробки листа евкаліпта

Проведено порівняльне якісне та кількісне вивчення гідрофільних біологічно активних речовин (БАР) листа евкаліпта та його шроту після одержання хлорофіліпту. Встановлено, що в листі евкаліпта та його шроті гідроксикоричні кислоти, відповідно, складають (0.338 ± 0.022) % та (0.32 ± 0.02) %; флавоноїди — (0.469 ± 0.019) % та (0.456 ± 0.01) %; поліфенольні сполуки — (2.167 ± 0.026) % та (2.103 ± 0.01) %; полісахариди — (1.29 ± 0.03) та (1.17 ± 0.02) %; амінокислоти — (0.019 ± 0.0005) % та (0.016 ± 0.001) %. Порівняльний аналіз засвідчив, що основна частина БАР гідрофільної природи, які містяться в листі евкаліпта, залишається у його шроті після одержання хлорофіліпту, що свідчить про можливість комплексної переробки даної сировини. Досліджено антимікробну та протизапальну активність екстракту зі шроту листа евкаліпта.

Підвищення ефективності та якості фармацевтичного забезпечення населення є актуальною задачею сучасної фармації. У сучасних умовах обмеженості природних ресурсів спостерігається тенденція створення нових лікарських препаратів шляхом комплексної переробки рослинної сировини. Такий підхід дозволяє забезпечити розширення номенклатури вітчизняних препаратів, раціонально використовувати природні ресурси, підвищити рентабельність виробництва та зменшити його негативний вплив на навколишнє середовище. На наш погляд, перспективним є вивчення листа евкаліпта з метою розробки технології його комплексної переробки для створення нових лікарських препаратів.

Як відомо, промисловою лікарською сировиною є листя евкаліпта, із якого одержують настойку, ефірну олію та хлорофіліпту густий екстракт, які використовують для виробництва різних лікарських форм [1, 8, 10]. Проте, із усього комплексу біологічно активних речовин (БАР) листа евкаліпта використовують лише субстанції гідрофобної природи.

Щорічно відходами виробництва хлорофіліпту стають близько 25 т шроту листа евкаліпта, який містить значну кількість БАР із гідрофільними властивостями. Тому доцільно було дослідити у порівнянні БАР як листа евкаліпта, так і його шроту.

Раніше [3, 4, 5, 6] повідомлялося про якісне та кількісне хімічне визначення в листі евкаліпта деяких груп БАР: похідних гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, поліфенольних сполук, амінокислот та полісахаридів. Нами встановлено, що в листі евкаліпта гідроксикоричні кислоти складають (0.338 ± 0.022) %, флавоноїди — (0.469 ± 0.019) %, поліфенольні спо-

луки — (2.167 ± 0.026) %, полісахариди — (1.29 ± 0.03) %, амінокислоти — (0.019 ± 0.0005) %.

Метою даної статті є порівняльне визначення кількісного вмісту гідрофільних БАР листа евкаліпта та його шроту після одержання хлорофіліпту та встановлення можливості комплексної переробки даної сировини.

Експериментальна частина

Об'єктами нашого дослідження стало листя евкаліпта (*Folia E. viminalis* Labill.) з Грузії та його шрот після отримання хлорофіліпту [8], надані ДП «ДЗ ДНЦЛЗ» ДАК «Укрмедпром».

Екстрагування суми БАР із листа евкаліпта та його шроту проводили водою очищеною [5, 6]. Для цього 50.0 г подрібненої сировини (листя або шроту) поміщали в колбу зі шліфом, додавали 150 мл води та проводили екстракцію на киплячій водяній бані протягом 10 год. Екстракцію проводили п'ятикратно. Одержані витяги поєднували, випарювали до об'єму 200-250 мл, після охолодження до кімнатної температури фільтрували крізь паперовий фільтр у мірну колбу місткістю 250 мл, доводили об'єм розчину водою очищеною до позначки (екстракт із листа евкаліпту — розчин А, зі шроту — розчин В).

У результаті попереднього хімічного та хроматографічного дослідження одержаних екстрактів встановлено наявність таких груп БАР, як похідні гідроксикоричних кислот, флавоноїди, поліфенольні сполуки, амінокислоти та цукри [4, 5].

Для виділення цих сполук зі шроту листа евкаліпта та встановлення їх структури використовували фракціонування у системі рідина-рідина, методи паперової хроматографії (ПХ) та хроматографії в тонкому шарі сорбенту (ТШХ). Рідинне фракціонування проводили,

послідовно обробляючи екстракт *V* розчинниками зі зростанням значення полярності (гексан, хлороформ, хлористий метилен, діетиловий ефір, етилацетат, *n*-бутанол, *n*-пропанол, ацетон, спирт етиловий).

Раніше [5, 6] з листя евкаліпта нами було виділено галову, елагову, *n*-кумарову, кавову, ферулову, хлорогенову кислоти, кемпферол, кверцетин, цукри: D-галактозу, D-глюкозу, D-ксилозу і L-рамнозу та ідентифіковано 28 вільних амінокислот. У шроті листя евкаліпта за такими ж методиками було підтверджено наявність вищезазначених сполук, було їх виділено та визначено кількісний вміст.

Кількісне визначення БАР у листі евкаліпта та його шроті

Кількісне визначення БАР проводили спектрофотометричним методом. Похідні гідроксикоричних кислот, у перерахунку на кислоту хлорогенову, визначали за довжини хвилі 327 нм; флавоноїди, у перерахунку на рутин, після утворення комплексу з алюмінію хлоридом — за довжини хвилі 417 нм; поліфенольні сполуки, у перерахунку на кислоту галову — за довжини хвилі 270 нм та методом комплексометрії; полісахариди, у перерахунку на глюкозу — за довжини хвилі 463 нм, амінокислоти, у перерахунку на лейцин — за довжини хвилі 573 нм в [3, 4, 5, 6]. Оптичну густину вимірювали у кюветі з товщиною шару 10 мм на спектрофотометрі Hewlett Packerd 8453 (США). Статистично оброблені результати порівняльного кількісного визначення БАР у шроті та листі евкаліпту наведені в Табл. 1.

За результатами кількісного визначення можна зробити висновок, що основна частина досліджуваних БАР залишається у шроті листя евкаліпта після одержання густого екстракту хлорофіліпту. Це вказує на перспективність та можливість комплексного використання даної сировини. Подальше дослідження шроту листя евкаліпта дозволить створити

новий лікарський засіб на основі гідрофільних БАР листя евкаліпта.

Виходячи із цього, нами було розроблено технологію одержання водного екстракту з листя евкаліпта на основі його комплексної переробки. На спосіб отримання екстракту подана Заявка на патент.

Екстракт може бути використаний для виробництва різноманітних лікарських форм (таблеток, водних розчинів та ін.). Розроблена технологія комплексної переробки дозволить виробляти із листя евкаліпта хлорофіліпт та новий лікарський засіб на основі гідрофільних БАР листя евкаліпта, що підвищить рентабельність виробництва. Крім того, імпортна сировина буде використовуватися більш раціонально.

Фармакологічні дослідження

Для встановлення перспективності подальшого дослідження у цьому напрямку нами було проведено дослідження одержаного екстракту на протизапальну та антибактеріальну активність.

Протизапальну активність вивчали у дослідках на білих мишах масою (17-22) г на моделі формалінового набряку [2, 10]. Препаратом порівняння обрали вольтарен. Дослідні тварини поділили на три групи: контрольна група; група тварин, лікованих екстрактом евкаліпта; група тварин, лікованих препаратом порівняння.

Ступінь протизапальної активності екстракту оцінювали за антиексудативним ефектом. Для відтворення гострого асептичного ексудативного запалення використовували як флоген 2 % розчин формаліну, який вводили субплантарно в кількості 0.05 мл через 1 год після перорального введення досліджуваного екстракту евкаліпта, препарату порівняння (вольтарен) і води (контрольна група). Активність досліджуваних засобів вивчали за їх здатністю зменшувати розвиток набряку в по-

Таблиця 1

Кількісний вміст біологічно активних речовин у листі та шроті листя евкаліпта

Група БАР	Кількісний вміст, %	
	листя евкаліпта	шрот листя евкаліпта
поліфенольні сполуки, у перерахунку на кислоту галову	2.167 ± 0.026	2.103 ± 0.01
дубильні речовин	0.42 ± 0.009	0.39 ± 0.008
похідні гідроксикоричних кислот, у перерахунку на кислоту хлорогенову	0.338 ± 0.022	0.32 ± 0.02
флавоноїди, у перерахунку на рутин	0.469 ± 0.019	0.456 ± 0.01
полісахариди, у перерахунку на глюкозу	1.29 ± 0.03	1.17 ± 0.02
амінокислоти, у перерахунку на лейцин	0.019 ± 0.0005	0.016 ± 0.001

Таблиця 2

Оцінка протизапальної активності екстракту евкаліпта за ступенем антиексудативного ефекту

Препарат	Доза, мг/кг	Середнє значення величини набряку, г	Антиексудативний ефект, %
екстракт евкаліпта	20	0.378 ± 0.031	61.51
вольтарен	2.3	0.358 ± 0.061	63.54
контроль	0	0.982 ± 0.111	0

рівнянні з контролем. Результати дослідження наведені в Табл. 2.

Отримані на моделі формалінового набряку у мишей результати свідчать про виражену протизапальну активність нового екстракту зі шроту листя евкаліпта. Максимальний антиексудативний ефект екстракту (61.51 %) спостерігався у дозі 20 мг/кг. Ступінь протизапальної активності досліджуваного засобу та препарату порівняння у вивчених дозах майже однакова.

Вивчення *антибактеріальної активності* екстракту евкаліпта проводили методом послідовних розведень у рідкому живильному середовищі [2, 7].

Відповідно до рекомендацій ВООЗ для оцінки активності препаратів використовували референс-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* NCTC 4636, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 885/653. Крім цього, вивчення проводили на музейних штаммах, що наявні в лабораторії: *Salmonella typhimurium* 144, *Salmonella paratyphi A-290*, *Shigella flexneri* 170, *Corynebacterium diphtheria gravis* 14 tox +, *C.d.mitis* 6 tox +. Використовували поживний бульйон для культивування мікроорганізмів (НПО «Живильні середовища», Російська Федерація) із додаванням глюкози у розрахунку 3 мл на 100 мл бульйону.

Метод серійних розведень, що використовувався, дозволив дати кількісну оцінку антимікробної активності досліджуваних препаратів. М'ясо-пептонне живильне середовище розливали у 10 пробірок по 2 мл. В першу пробірку додавали 2 мл приготованого розчину екстракту евкаліпта, перемішували; 2 мл одержаного розчину переносили у наступну пробірку і т.д. Із останньої пробірки зливали 2 мл суміші. У кожену пробірку, включаючи контрольну, вносили по 0.2 мл приготованої культури із розрахунку 10^7 - 10^8 КОЕ/мл. Стандарт посівної культури встановлювали за оптичним стандартом каламутності ДІКС ім. Л.О. Тарасевича. Посіви витримували у термостаті при

температурі 37 °С протягом 18-24 год. Результати відмічали за наявністю або відсутністю помутніння середовища у пробірках, що містять різні розведення досліджуваного екстракту. Концентрація препарату в останній пробірці із прозорим середовищем (відсутність росту тест-мікроба) відповідає мінімальній пригнічувальній концентрації препарату (МПК).

Для визначення бактерицидної концентрації із 2-3 останніх пробірок із прозорим середовищем (відсутність видимого росту) проводили висівання 0.1 мл вмісту на чашки з густим живильним середовищем або у пробірки із бульйоном. Інкубування проводили при температурі 37 °С протягом 18-24 год і відзначали ту мінімальну концентрацію препарату, посів із якої не давав росту на агарі або в бульйоні. Ця кількість препарату відповідає його мінімальній бактерицидній концентрації.

У досліді використовували 13 стандартних (музейних) штамів мікроорганізмів і 8 клінічних штамів, одержаних від хворих на запальні захворювання. Результати дослідження наведені в Табл. 3.

Як видно із наведених результатів дослідження, екстракт зі шроту листя евкаліпта виявляє антибактеріальну дію по відношенню до різних таксономічних груп мікроорганізмів.

Проведенні фармакологічні дослідження вказали на перспективність використання екстракту з листя евкаліпта, одержаного шляхом комплексної переробки, як антибактеріально-го та протизапального засобу.

Висновки

Проведено порівняльне якісне та кількісне вивчення гідрофільних БАР листя евкаліпта та його шроту після одержання хлорофіліпту. Встановлено, що основна частина гідрофільних БАР, які містяться в листі евкаліпта, залишається у його шроті після одержання хлорофіліпту, що свідчить про можливість комплексного використання даної сировини. Розроблена технологія комплексної переробки екстракту з листя евкаліпта, що дозволить більш раціонально використовувати імпортовану сировину. Проведено вивчення його протизапальної та антибактеріальної активності.

Таблиця 3

Дослідження антибактеріальної активності екстракту з шроту листя евкаліпту методом серійних розведень в рідкому живильному середовищі

Мікроорганізм	МПК екстракту евкаліпта, мг/мл
S.aureus ATCC 25923	25-35
S.aureus ATCC 6538	25-35
E.coli ATCC 25922	35-45
P.vulgaris NCTC 4636	45-50
P.aeruginosa ATCC 27853	50-55
P.aeruginosa ATCC 9027	50-60
B.subtilis ATCC 6633	25-35
C.albicans ATCC 885/653	45-65
S.typhimurium 144	45-50
S.paratyphi A 290	45-50
S.flexneri 170	45-50
C.d. gravis 14 tox+	45-50
C.d. mitis 6 tox +	35-45
S.aureus (ангіна)	50-70
S.aureus (бронхіт)	50-70
Streptococcus pyogenes (бронхіт)	45-55
E.coli (гнійна рана)	60-80
P.aeruginosa (гнійна рана)	60-80
P.aeruginosa (опік)	100-150
Candida albicans (вагініт)	45-60
Klebsiella pneumoniae (запалення легенів)	100-120

ЛІТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1989. — С. 257.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод, рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. — К.: Здоров'я, 2001. — С. 292-306.
3. Кошевой О.Н., Комиссаренко А.Н., Ковалева А.М. Разработка методов стандартизации экстрактов из листа эвкалипта // Запорожский медицинский журнал. — 2004. — Т. 2. — Вып. 1. — С. 103-106.
4. Кошовий О.М., Комісаренко А.М., Ковальова А.М., Малоштан Л.М., Мудрик І.М. Спектрофотометричне визначення вільних амінокислот в листі евкаліпта // Матеріали Міжнародної конференції «Дні науки, 2005». — Дніпропетровськ: Наука і освіта, 2005. - Т. 1. — 2005. - С. 74-75.
5. Дослідження фенольних сполук листя евкаліпта / Кошовий О.М., Комісаренко А.М., Ковальова А.М., Малоштан Л.М., Мудрик І.М. // Фармаком. — № 2/3. — 2005. — С. 151 — 161.
6. Мікроелементний, амінокислотний та полісахаридний склад листя евкаліпта / Кошовий О.М., Комісаренко А.М., Ковальова А.М., Мудрик І.М. // Фітотерапія. Часопис. — 2005. - № 3. — С. 59 — 62.
7. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению лекарственных препаратов для местного лечения гнойных ран. — М., 1989. — 44 с.
8. Пат. № 5242 Україна, МПК А61К35/78. Спосіб одержання хлорофіліпту / Надтока В.Л., Божко Н.Г., Грижко А.О. - № 2753048/SU; Заявл. 25.04.79; Опубл. 28.12.94, Бюл. № 7-1.
9. European Pharmacopoeia. - 5th ed. — Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2005. - 2781 p.
10. McCallum R.W. Therapeutic-Pharmacologic Approach to Delayed Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics / Edited by G. Fridman, E.D. Jacobson,

R.W. McCallum. — Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997. — P. 127 — 131.

Резюме

Кошевой О.Н., Осолодченко Т.П., Мудрик И.М., Ковалева А.М., Комиссаренко А.Н.

Перспективы создания нового лекарственного средства путем комплексной переработки листьев эвкалипта

Проведено сравнительное качественное и количественное изучение гидрофильных биологически активных веществ (БАВ) листьев эвкалипта и его шрота после получения хлорофиллипта. Установлено, что в листьях эвкалипта и его шроте гидроксикоричные кислоты, соответственно, составляют (0.338±0.022) % и (0.32±0.02) %; флавоноиды — (0.469±0.019) % и (0.456±0.01) %; полифенольные соединения — (2.167±0.026) % и (2.103±0.01) %; полисахариды — (1.29±0.03) % и (1.17±0.02) %; аминокислоты — (0.019±0.0005) % и (0.016±0.001) %. Сравнительный анализ показал, что основная часть БАВ гидрофильной природы, содержащихся в листьях эвкалипта, остается в его шроте после получения хлорофиллипта, что свидетельствует о возможности комплексной переработки данного сырья. Исследованы антимикробная и противовоспалительная активность экстракта из шрота листьев эвкалипта.

Summary

Koshevoy O.N., Osolodchenko T.P., Mudrik I.M., Kovalyova A.M., Komissarenko A.N.

Prospects of the creation of new drug by complex processing of eucalyptus leaves

Comparative qualitative and quantitative study of hydrophilic biologically active substance (BAS) from eucalyptus leaves and its extracted meal after chlorophyllipte ob-

taining was conducted. It was established that at eucalyptus leaves and its extracted meal hydroxycinnamonic acids accordingly make (0.338±0.022) % and (0.32±0.02) %; flavonoids — (0.469±0.019) % and (0.456±0.01) %; polyphenol compounds — (2.167±0.026) % and (2.103±0.01) %; polysaccharides — (1.29±0.03) % and (1.17±0.02) %; amino acids — (0.019±0.0005) % and (0.016±0.001) %. Comparative analysis has confirmed, that basic part of hydrophilic nature BAS, which contains in eucalyptus leaves, remained in extracted meal after chlorophyllite obtaining, what testifies to possibility of complex processing the given herbal drug. Antimicrobial and anti-inflammatory effects of the extract from eucalyptus leaves extracted meal were studied.

Кошовий Олег Миколайович (н. 1981). Закінчив Національний фармацевтичний університет (НФаУ) (2003). Аспірант кафедри «Хімія природних сполук» НФаУ.

Комісаренко Андрій Миколайович (н. 1962). Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1984). Д.фарм.н. (2000). Професор кафедри «Хімія природних сполук» НФаУ.

Ковальова Алла Михайлівна. Закінчила Харківський фармацевтичний інститут. Д.фарм.н. Професор кафедри фармакогнозії НФаУ.

Мудрик Ірина Михайлівна. Закінчила Національний фармацевтичний університет (2003). Аспірант кафедри фізіології НФаУ.

Осолодченко Тетяна Павлівна. К.б.н. Ст. наук. співр. Зав. лабораторії біохімії мікроорганізмів та живильних середовищ Інституту мікробіології та імунології ім. І.І. Мечнікова.

УДК 615.711.5

Комиссаренко С.Н.

Национальный фармацевтический университет

Карденолидные гликозиды семян *Ornithogalum magnum* Krasch. et Schischk. локундъезид и 19-гидрокси-сарментогенин-рамнозид

Идентифицированы два карденолидных гликозида семян *Ornithogalum magnum* Krasch. et Schischk., которые представляют собой локундъезид (3β-(O-α-L-рамнопиранозил)-5,11α,14β-тригидрокси-5β-кард-20(22)-енолид) и 19-гидрокси-сарментогенин-рамнозид (3β-(O-α-L-рамнопиранозил)-11α,14β,19-тригидрокси-5β-кард-20(22)-енолид).

Из хлороформно-спиртовой (3:1) фракции, полученной из экстракта семян *Ornithogalum magnum* Krasch. et Schischk., было выделено шесть веществ карденолидной природы (1-6), четыре (1-4) из них идентифицированы с орнитогалином (1), родексином (2), орнитогалозидом (3) и орнитоксином (4) [1, 2].

Целью данной статьи является обобщение результатов изучения ещё двух гликозидов, выделенных из *Ornithogalum magnum*: вещества (5) 3β-(O-α-L-рамнопиранозил)-5,11α,14β-тригидрокси-5β-кард-20(22)-енолида (локундъезида) и вещества (6) - 3β-(O-α-L-рамнопиранозил)-11α,14β,19-тригидрокси-5β-кард-20(22)-енолида (19-гидрокси-сарментогенин-рамнозида).

Експериментальна частина

Объектом настоящего исследования были семена *Ornithogalum magnum* Krasch. et Schischk. (сем. Liliaceae), собранные в Предкавказье в пойме реки Белой.

Температуру плавления определяли на блоке Кофлера. Силикагель для хроматографии готовили, как описано в [1]. Вещества для анализа высушивали в вакууме над P₂O₅ при температуре (110-115) °С в течение 5 ч. УФ-спектры снимали на спектрофотометре СФ-16.

Вещество 5 (локундъезид). Вещество (5) кристаллизуется из смеси метанол - эфир в форме призм (267 мг), хорошо растворимых в спирте, воде и нерастворимых в хлороформе и диэтиловом эфире.

С 84 % раствором кислоты серной вещество образует переходящие во времени окраски, мин: 0 — красная, 5 — оранжевая с розовой каймой, 15 — фиолетово-оранжевая, 30 — малиново-коричневая, 45 — малиновая, фиолетово-малиновая, 70-90 — синяя.

Температура плавления полученных кристаллов (185-188)/(276-277) °С, [α]_D²⁰ -12.3° (с. 0.7; метанол). После высушивания в вакууме в течение 12 ч над фосфорным ангидридом вещество 5 плавится при температуре (258-260) °С. Общая формула C₂₉H₄₄O₁₀·3H₂O.

Спиртовой раствор вещества в УФ-области спектра поглощения дает один максимум при длине волны 218 нм (Lg ε 4.1).

Тетра-О-ацетильное производное вещества 5. 80 мг вещества 5 растворяли в 1 мл пиридина, добавляли 1 мл уксусного ангидрида и выдерживали в течение 1 сут. Затем смесь выливали в ледяную воду и выпавший осадок промывали холодной водой. Высушенный осадок кристаллизовали из смеси ацетон - эфир. Полученные кристаллы (89 мг) хорошо ра-

створимы в спирте, ацетоне; плохо растворимы в эфире. Т.пл. (198-201) °С, $[\alpha]_D^{20} -23^\circ$ (с. = 1.0; хлороформ), $C_{37}H_{52}O_4$.

Кислотный гидролиз вещества 5. 100 мг вещества 5 растворяли в 10 мл ацетона безводного, затем прибавляли 0.1 мл кислоты хлористоводородной, перемешивали и выдерживали при комнатной температуре. Контроль за полнотой гидролиза проводили с помощью хроматографии на бумаге, импрегнированной формамидом. В качестве подвижной фазы использовали хлороформ. На седьмые сутки исходное вещество на хроматограмме не обнаруживалось. В дальнейшем гидролизат обрабатывали способом, указанным в [4].

Сахарный компонент вещества 5. Из водного остатка после отделения агликона хлороформом хлор-ион удаляли 2.0 г анионита АВ-17. Затем анионит отфильтровывали, фильтрат упаривали до сиропообразного остатка, который кристаллизовали из ацетона, увлажненного несколькими каплями воды. Полученные кристаллы (15 мг) плавятся при температуре (74-77) °С. Хроматографией на бумаге вещество идентифицировано с L-рамнозой.

Агликон вещества 5. Хлороформное извлечение кислотного гидролизата вещества 5 упаривали до сухого остатка, который кристаллизовали из смеси метанол - эфир.

Получено 41 мг кристаллов, плавящихся при температуре (265-271) °С, $[\alpha]_D^{20} + 30.0$ (с. = 0.35; метанол). Общая формула $C_{23}H_{34}O_6$.

С 84 % раствором кислоты серной вещество образует переходящие во времени окраски, мин: 0 — желтая, переходящая в красную, 5 — коричневая, 15 — коричнево-фиолетовая, 30-60 — фиолетово-синяя, 90-120 — желто-фиолетовая.

Физико-химические свойства, цветные реакции с 84 % раствором кислоты серной, хроматографирование на бумаге и проба смешения свидетельствуют об идентичности исследуемого агликона бипиндогенину (3β,5,11α,14β-тетрагидрокси-5β-кард-20(22)-енолиду).

Вещество 6 (19-гидрокси-сарментогенин-рамнозид). Выделенное вещество 6 (235 мг) представляет собой 3β-(O-α-L-рамнопиранозил)-11α,14β,19-тригидрокси-5β-кард-20(22)-енолид. Оно кристаллизуется из смеси ацетон - вода с последующей перекристаллизацией из метанола. Т. пл. (164-167) °С, $[\alpha]_D^{20} -22.5^\circ$ (с. 0,5; метанол). Общая формула $C_{29}H_{44}O_{10}$.

С 84 % раствором кислоты серной образует переходящие во времени окраски, мин.:

0 — бесцветная, 1-2 — зелено-коричневая, 45 — светло-коричневая, 75 — грязно-зеленая, 120 — светло-черная. Вещество дает положительные реакции Легала и Раймонда [8].

Кислотный гидролиз вещества 6. 125 мг вещества 6 растворяли в 30 мл ацетона безводного, добавляли 0.3 мл кислоты хлористоводородной концентрированной и выдерживали при комнатной температуре. Полноту гидролиза контролировали с помощью хроматографии на бумаге, импрегнированной формамидом. В качестве подвижной фазы использовали хлороформ. Исходное вещество в гидролизате на седьмые сутки отсутствовало. Дальнейшую обработку гидролизата проводили обычным способом, как описано для вещества 5. Сахарный компонент хроматографически в ряде систем растворителей был идентифицирован с L-рамнозой [5].

Агликон исследуемого гликозида закристаллизован из смеси ацетон - эфир в виде белых игольчатых кристаллов. Т. пл. (150-153) °С, $[\alpha]_D^{20} + 33.0^\circ$ (с. 0.1; метанол). Общая формула $C_{23}H_{34}O_6$.

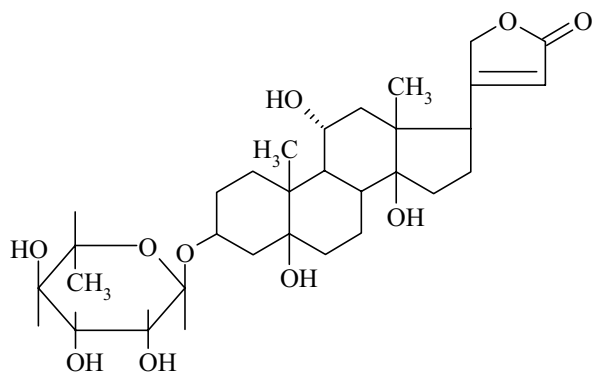
Ацетат вещества 6. 60 мг агликона растворяли в 1.5 мл пиридина, к полученному раствору добавляли столько же свежеперегнанного уксусного ангидрида. Полученную смесь выдерживали в течение суток. Полноту ацетилирования контролировали хроматографией на бумаге, импрегнированной формамидом в системе растворителей бензол - хлороформ (1:1). После обычной обработки и кристаллизации из смеси ацетон - эфир (на испарение) получено 23 мг кристаллов, которые плавилась при температуре (157-160) °С, $[\alpha]_D^{20} + 11.0^\circ$ (с. 0.1; этанол). Общая формула $C_{37}H_{52}O_{18}$.

Результаты и их обсуждение

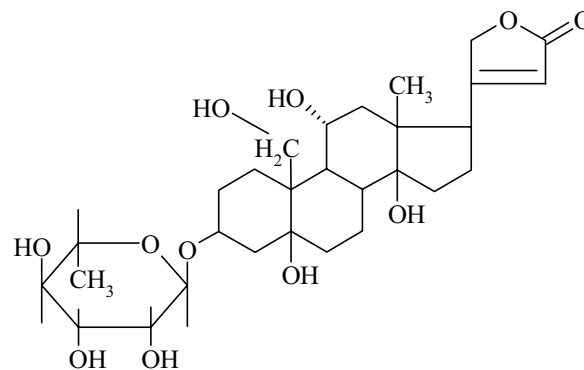
Вещество 5 (локундъезид). Вещество 5 — $C_{29}H_{44}O_{10} \cdot 4H_2O$ в ультрафиолетовой области имеет один максимум при длине волны 219 нм ($Lg \epsilon 4.10$), что свидетельствует об отсутствии карбоксильной группы в молекуле. При ацетилировании исследуемое вещество образует тетра-О-ацетильное производное с общей формулой $C_{37}H_{52}O_{14}$.

В результате гидролиза вещество 5 расщепляется на агликон с общей формулой $C_{23}H_{34}O_6$, образующий диацетильное производное.

На основании элементного состава гликозида и агликона, а также анализа их производных установлено, что генин содержит четыре гидроксильные группы, две из которых способны ацетилироваться, остальные две являются третичными. Наибольшая вероятность



Локундъезид (5)



19-гидрокси-сарментогенин-рамнозид (6)

их нахождения у C-5 и C-14. Один из ацетилирующих гидроксильных групп обычно находится у C-3 агликона и является вторичным, а второй может быть как первичным, так и вторичным.

Сравнивая физико-химические свойства вещества 5, его агликона и сахарного компонента L-рамнозы, а также принимая во внимание результаты цветных реакций с 84 % раствором кислоты серной, величины R_f в различных системах растворителей сделан вывод, что исследуемый гликозид идентичен локундъезиду (3 β -(O- α -L-рамнопиранозил)-5,11 α ,14 β -тригидрокси-5 β -кард-20(22)-енолиду [6, 7], ранее выделенному из растений рода ландыш *Convallaria* L.

Вещество 6 (19-гидрокси-сарментогенин-рамнозид). Исследуемое вещество имеет общую формулу $C_{29}H_{44}O_{10}$, не восстанавливается натрием боргидридом, что свидетельствует об отсутствии карбонильных групп в молекуле гликозида. В УФ-спектре имеется один максимум при длине волны 218 нм ($Lg \epsilon$ 4.25), характерный для бутенолидного кольца.

При ацетилировании вещество 6 образует пентаацетат. Кислотный гидролиз исследуемого вещества приводит к образованию L-рамнозы и агликона с общей формулой $C_{23}H_{34}O_6$ [6].

В ацетильном производном агликона установлено наличие трех ацетилируемых гидроксильных групп.

Агликон имеет цис-сочленение А/В колец и ОН-группы в 3 β , 11 α , 14 β , 19-положениях стероидного скелета. Подобный агликон был получен из этой же фракции [1], который гликозидирован D-гулометилозой (орнитоксин).

Таким образом, вещество 6 представляет собой 3 β -(O- α -L-рамнопиранозил)-11 α ,14 β ,19-тригидрокси-5 β -кард-20(22)-енолид [8].

Выводы

В результате проведенных исследований из семян *Ornithogalum magnum* Krasch. et

Schischk выделены и идентифицированы следующие два карденолидных гликозида: вещество 5 - 3 β -(O- α -L-рамнопиранозил)-5,11 α ,14 β -тригидрокси-5 β -кард-20(22)-енолид (локундъезид) и вещество 6 - 3 β -(O- α -L-рамнопиранозил)-11 α ,14 β ,19-тригидрокси-5 β -кард-20(22)-енолид (19-гидрокси-сарментогенин-рамнозид).

ЛИТЕРАТУРА

1. Комиссаренко С.Н. Карденолидные гликозиды семян *Ornithogalum magnum* Krasch. et Schischk. орнитогалозид и орнитоксин // Фармаком. — 2005. - № 2. - С. 119-121.
2. Комиссаренко С.Н. Карденолидные гликозиды семян *Ornithogalum magnum* Krasch. et Schischk. орнитогаллин и родексин А. // Фармаком. — 2005. - № 4. - С. 53-56.
3. Ахрем А.Н., Кузнецова А.И. Тонкослойная хроматография. - М., 1964. - С. 16-17.
4. Комиссаренко Н.Ф. Орнитогалозид - карденолидный гликозид *Ornithogalum magnum* // Химия природных соединений. — 1969. - № 3. - С. 142.
5. Paech K., Tracey M. Moderne Methoden der Pflanzenanalyse. Bd. 3. - Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1955. - S. 218-219.
6. Комиссаренко Н.Ф., Чернобай В.Т., Колесников Д.Г. Новый сердечный гликозид ландыша дальневосточного *Convallaria keiskei* Miq. // Мед. пром-сть СССР. — 1963. - № 9. - С. 7-9.
7. Комиссаренко Н.Ф. Выделение и химическое исследование сердечных гликозидов ландышей СССР: Автореф. дис. ... к. фарм.н. — Харьков, 1963. — 14 с.
8. Kopp V., Kubelka W. Neue Cardenolide aus *Convallaria majalis*. 15 Mitteilung über *Convallaria*-Glycoside: strophanthidin, 19-Hydroxy-sarmentogenin und Sarmentogenin-Glycoside // Planta medica. - 1982. - Vol. 45, No. 4. - P. 195-202.

Резюме

Комиссаренко С.М.

Карденолідні глікозиди насіння *Ornithogalum magnum* Krasch. et Schischk. локундъезид і 19-гідрокси-сарментогенін-рамнозид

Ідентифіковано два карденолідні глікозиди насіння *Ornithogalum magnum* Krasch. et Schischk., що являють собою локундъезид - (3 β -(O- α -L-рамнопіранозил)-5,11 α ,14 β -тригідрокси-5 β -кард-20(22)-енолід) і 19-гідрокси-сарментогенін-рамнозид (3 β -(O- α -L-рамнопіранозил)-11 α ,14 β ,19-тригідрокси-5 β -кард-20(22)-енолід).

Summary

Komissarenko S.N.

Cardenolid glycosides of *Ornitogalum magnum* Krasch. et Schischk. seeds lokundeside and 19-hydroxy-sarmentogenine-ramnoside

Two cardenolid glycosides of *Ornitogalum magnum* Krasch. et Schischk. seeds, which corresponded to lokundeside (3 β -(O- α -L-ramnopyranosyl)-5,11 α ,14 β -trihydroxy-5 β -card-

20(22)-enolide) and 19-hydroxy-sarmentogenine-ramnoside (3 β -(O- α -L-ramnopyranosyl)-11 α ,14 β ,19-tridihydroxy-5 β -card-20(22)-enolide), were identified.

Комиссаренко Сергей Николаевич. Окончил Харьковский фармацевтический институт (1989). К.фарм.н. (2002). Ассистент кафедры фармакогнозии НФаУ.

Рослинні препарати та їх фармакологічна дія

УДК 615.214.24

Левицкий А.П., Макаренко О.А., Ходаков И.В., Россаханова Л.Н.,

Зеленина Ю.В., Попова Н.В., Литвиненко В.И.

Институт стоматологии АМН Украины (г. Одесса)

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Влияние изофлавоноидов на обмен кальция у крыс после овариэктомии

Исследовано влияние изофлавоноидов софоры японской и сои на экскрецию ионов кальция у животных при овариэктомии. Показано, что эти вещества значительно уменьшают экскрецию кальция за счет снижения диуреза. В костной ткани софорикозид снижает активность протеаз и повышает плотность кости.

Изофлавоноиды (ИФ), в частности генистеин, обладают, наряду с фитоэстрогенными, хорошо выраженными остеотропными свойствами [1-3]. Благодаря этому свойству изофлавоноиды нашли свое применение в качестве лечебно-профилактических средств при переломах костей [4], остеопорозе [5], пародонтите [6], для профилактики кариеса зубов [7].

Наиболее часто используемым источником ИФ являются соевые бобы [1], однако концентрация в них ИФ невелика — менее 2 мг/г. Богатым источником ИФ являются плоды софоры японской (*Sophora japonica* L), в которой содержание генистеин-4'-глюкозида превышает 40 мг/г (более 4 %) [8, 9].

Целью настоящей статьи является обобщение исследований остеотропных свойств генистеина в форме гликозида (софорикозида), полученного из плодов софоры [9].

Материалы и методы

Полученный софорикозид имеет следующие характеристики: C₂₁H₂₀O₁₀, т. пл. (267-270) °С, $[\alpha]_D^{20}$ -32.0°, 4'-O- β -D-глюкопиранозид 5,7,4' — тригидроксиизофлавоноид или генистеина [9].

В качестве образца сравнения была использована смесь изофлавоноидов из сои (генистеин и дайдзеин) [10].

Все исследования были проведены на 23 белых крысах-самках в возрасте 12 мес., 18 из

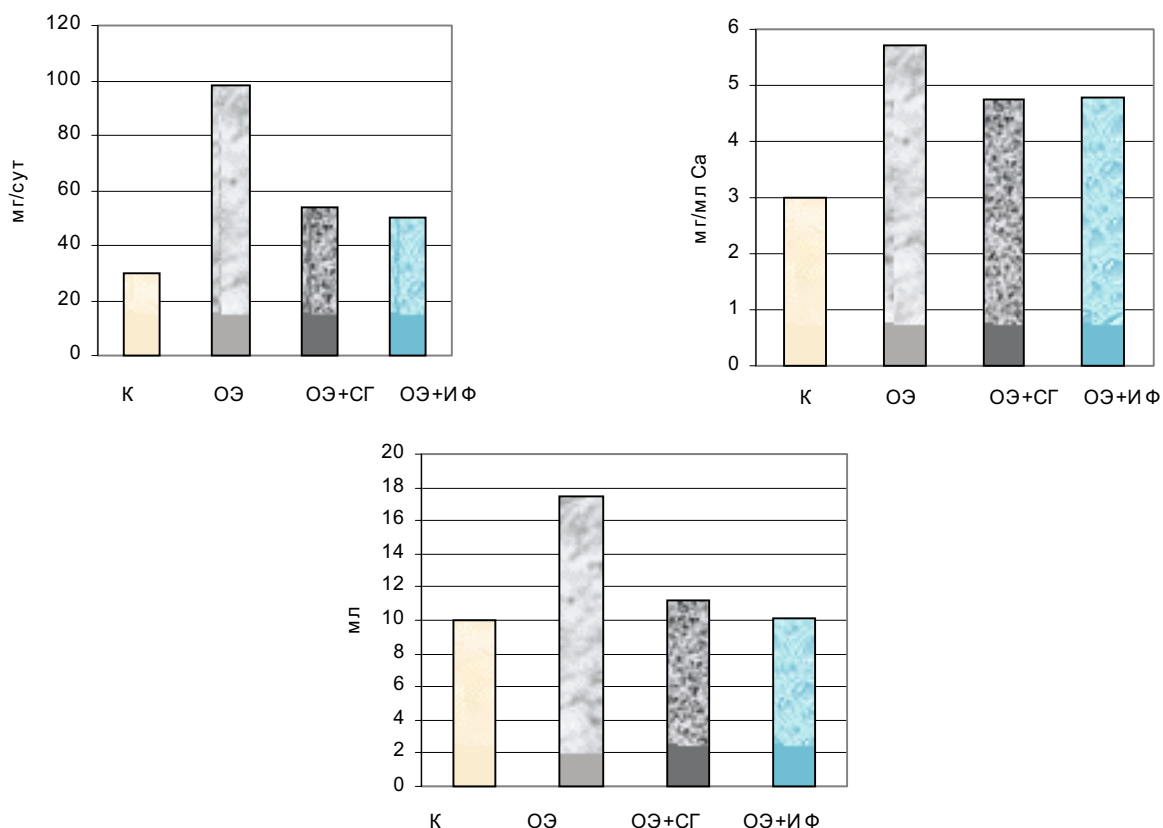
них подвергнуты овариэктомии (ОЭ). Прооперированные животные разделены на 3 группы: животные первой группы (контроль) не получали изофлавоноидов, животные второй группы (опыт) получали гликозид генистеина (софорикозид) в дозе 1 мг/кг, животные третьей группы (группа сравнения) получали изофлавоноиды сои в дозе 0.5 мг/кг. Крысы получали препараты внутривентрикулярно, начиная со вторых суток после операции, суточная доза вводилась в 0.5 мл водно-спиртового раствора. Через 55 сут. после начала опыта крысы помещались в метаболические клетки, 2 сут. отводились на адаптацию, и следующие 3 сут. собирали мочу, кал, учитывали массу съеденного корма. После этого животных выводили из эксперимента, вычленили их бедренные кости для определения плотности [11] и большеберцовые кости для определения активности ферментов.

Содержание кальция определяли в моче, кале, корме по методу [12]. В гомогенате большеберцовой кости определяли активность эластазы [13], общую протеолитическую активность (ОПА) [14], активность щелочной фосфатазы (ЩФ) и кислой фосфатазы (КФ) [15].

Результаты и их обсуждение

Из Рисунка видно, что овариэктомия вызывает резкое увеличение экскреции кальция, которое существенно снижается после введе-

Рисунок



Влияние софоригозида генистеина (СГ) и изофлавонов сои (ИФ) на экскрецию кальция с мочой у крыс с овариэктомией (ОЭ)
(К - контрольные животные)

ния изофлавонов. При этом следует отметить, что концентрация кальция в моче также возрастает, хотя и в меньшей степени. В еще меньшей степени влияют на концентрацию кальция исследуемые препараты. Важным фактором увеличения экскреции кальция с мочой после овариэктомии является увеличение диуреза, который практически возвращается к норме после введения изофлавонов.

В Табл. 1 представлены данные по определению минеральной плотности кости. Из Табл. 1 видно, что четко прослеживается тенденция к нормализации плотности кости пос-

ле введения изофлавонов, хотя наблюдаемые изменения статистически недостоверны.

В Табл. 2 приведены данные по активности ферментов в большеберцовой кости крыс с овариэктомией, получавших изофлавоны. Обращает на себя внимание увеличение активности всех изученных гидролаз у животных с удаленными яичниками. В особой мере это касается протеаз. Введение изофлавонов мало сказывается на активности фосфатаз, однако существенно снижает уровень протеаз. Антипротеолитическое действие более выражено для софоригозида.

Таблица 1

Влияние софоригозида и изофлавонов сои на показатели плотности бедренной кости овариэктомированных (ОЭ) самок белых крыс
(возраст в начале эксперимента — 12 мес., экспозиция — 2 мес.)

Объект исследования	Ложнооперированные животные	Овариэктомированные животные (ОЭ)	ОЭ + софоригозид	ОЭ + изофлавоны
целая бедренная кость	$1.600 \pm 2.311 \cdot 10^{-2}$	$1.530 \pm 3.024 \cdot 10^{-2}$	$1.573 \pm 6.531 \cdot 10^{-3}$	$1.580 \pm 2.558 \cdot 10^{-2}$
дистальный эпифиз	$1.551 \pm 1.208 \cdot 10^{-2}$	$1.479 \pm 9.782 \cdot 10^{-2}$	$1.499 \pm 1.157 \cdot 10^{-2}$	$1.561 \pm 3.848 \cdot 10^{-2}$
стенка диафиза	$2.105 \pm 3.962 \cdot 10^{-3}$	$2.109 \pm 1.052 \cdot 10^{-2}$	$2.084 \pm 2.520 \cdot 10^{-2}$	$2.107 \pm 6.414 \cdot 10^{-3}$

Примечание.

Все отличия недостоверны.

Таблица 2

Влияние софорикозида и изофлавонов сои на активность ферментов в гомогенате большеберцовой кости крыс на фоне остеопороза, вызванного овариэктомией

Группа животных	Активность ферментов				ЩФ/КФ	О/Э
	Эластаза (Э), нкат/г	КФ, нкат/г	ЩФ, нкат/г	ОПА, нкат/г		
Контроль	3.76 ± 0.74	9.11 ± 0.76	156.81 ± 25.62	586.12 ± 83.72	17.2	0.16
овариэктомия (ОЭ)	6.16 ± 0.49 p ₁ < 0.05	12.54 ± 1.20 p ₁ < 0.05	233.57 ± 28.58 p ₁ > 0.05	905.79 ± 30.91 p ₁ < 0.01	18.6	0.15
ОЭ+софорикозид	3.30 ± 0.49 p ₁ > 0.05 p ₂ < 0.01	12,19 ± 1.85 p ₁ > 0.05 p ₂ > 0.05	176.82 ± 22.71 p ₁ > 0.05 p ₂ > 0.05	500.18 ± 57.65 p ₁ > 0.05 p ₂ < 0.001	14.5	0.15
ОЭ+изофлавоны сои	5.02 ± 0.79 p ₁ > 0.05 p ₂ > 0.05	10.21 ± 0.96 p ₁ > 0.05 p ₂ > 0.05	215.05 ± 22.48 p ₁ > 0.05 p ₂ > 0.05	623.88 ± 102.34 p ₁ > 0.05 p ₂ < 0.05	21.1	0.12

Анализируя полученные данные, можно констатировать, что овариэктомия вызывает увеличение диуреза, а это, при одновременном существенном росте концентрации в моче кальция, приводит к весьма значительной потере организмом этого элемента. Потеря кальция сказывается на минеральной плотности кости. Можно предполагать, что этому способствует активация остеокластов, о чем свидетельствует увеличение активности кислой фосфатазы, являющейся маркером этих клеток [16].

Следует отметить, что при овариэктомии наблюдается и активация остеобластов, о чем свидетельствует увеличение активности щелочной фосфатазы, являющейся маркером этих клеток [17]. Введение изофлавонов возвращает диурез практически к норме, несколько снижает концентрацию кальция в моче, что в конечном итоге существенно понижает выведение этого элемента из организма. Различие в действии софорикозида и образца сравнения проявляется в их разном влиянии на остеобласты и остеокласты: соевые изофлавоны угнетают активность остеокластов и не подавляют активность остеобластов, тогда как софорикозид снижает активность остеобластов и не подавляет активность остеокластов. Это различие сказывается и на минеральной плотности кости: она выше при действии соевых изофлавонов.

Особого рассмотрения требует состояние протеолиза в кости при овариэктомии. ОПА, представленная протеазами, действующими в щелочной среде, имеет двойственное происхождение: из остеобластов и из нейтрофилов. ОПА остеобластного происхождения имеет важную остеогенную функцию, принимая участие в превращении проколлагена в коллаген [18-19].

Что же касается эластазы, то она, по-видимому, практически полностью имеет лейкоцитарное происхождение и выполняет деструктивную функцию, осуществляя остеолизис [20].

При овариэктомии наблюдается и активация остеобластов и иммиграция в костную ткань лейкоцитов. Как нам представляется, софорикозид в сильной степени подавляет иммиграцию лейкоцитов и поэтому так значительно снижает протеолитическую и, в первую очередь, эластазную активность костной ткани.

Соевые изофлавоны подавляют иммиграцию лейкоцитов в меньшей степени, и поэтому активность протеолиза при их введении снижается не так сильно.

Высказанные нами предположения о способности софорикозида подавлять иммиграцию лейкоцитов еще требуют более тщательного экспериментального подтверждения. Если этот факт найдет подтверждение, софорикозиды могут найти достойное место в арсенале средств, направленных на профилактику деструктивных воздействий, осуществляемых лейкоцитами.

Это, в первую очередь, касается таких процессов как кавернообразование при легочном туберкулезе, атрофия пародонта при пародонтите, остеомалация при остеомиелите.

Выводы

1. При овариэктомии увеличивается экскреция кальция с мочой за счет увеличения концентрации кальция в моче и увеличения диуреза.
2. Софорикозид, как и соевые изофлавоны, значительно уменьшает экскрецию кальция с мочой, главным образом за счет снижения диуреза.
3. В костной ткани софорикозид существенно снижает повышенную после овари-

эктомии активность протеаз и несколько увеличивает минеральную плотность кости, сниженную после овариэктомии.

4. Соевые изофлавоны в меньшей степени снижают активность протеаз, однако, в большей мере повышают минеральную плотность кости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Левицкий А.П., Макаренко О.А., Сукманский О.И. Фитоэстрогены (биохимия, фармакология, применение в медицине). - Одесса, 2002. - 95 с.
2. Остеотропная активность соевого препарата «ЭКСО» / Левицкий А.П., Макаренко О.А., Россаханова Л.Н., Лерфина Н.Ю. // Вісник стоматології. - 2000. - № 4. - С. 5-9.
3. Левицкий А.П. Биофлавоноиды как модуляторы эстрогенной и остеогенной активности // Вісник фармакології та фармацевції. - 2004. - № 2. - С. 2-4.
4. Левицкий А.П., Гулюк А.Г., Малек Джафар. Синергизм остеогенного действия кальция и цинка при переломе нижней челюсти крыс // Вісник стоматології. - 2004. - № 2. - С. 15-17.
5. Предупреждение нарушений минерального обмена у крыс после овариэктомии препаратом из сои «ЭКСО» / Левицкий А.П., Макаренко О.А., Россаханова Л.Н., Лерфина Н.Ю. // Проблеми остеології. - 2001. - Т. 4, № 3. - С. 34-37.
6. Влияние препарата «ЭКСО» на состояние тканей пародонта крыс / Левицкий А.П., Чумакова Ю.Г., Макаренко О.А., Россаханова Л.Н., Лерфина Н.Ю. // Вісник стоматології. - 2000. - № 1. - С. 15-17.
7. Кариеспрофилактический и противовоспалительный эффект препарата «ЭКСО» / Левицкий А.П., Денга О.В., Макаренко О.А., Гороховский В.Н., Софронов И.В., Россаханова Л.Н. // Вісник стоматології. - 2000. - № 2. - С. 6-8.
8. Ingham J.L. Naturally occurring isoflavonoids (1855-1981) // Progress in the chemistry of organic products. - Wien, New-York: Springer Verlag, 1983. - 266 p.
9. Саилова Д.Д., Попова Т.П., Литвиненко В.И. Флавоноиды надземной части софоры японской флоры Азербайджана // Фармаком. - 1996. - №1/2. - С. 36-38.
10. Патент 58471 Украина, МКИ А61К 35/78, А61 Р19/00 1/02. Спосіб одержання біологічно активного засобу і біологічно активний засіб, який має остеотропну активність / Левицкий А.П., Макаренко О.А., Денга О.В., Чумакова Ю.Г. / № 2000020574; Заявл. 02.02.2000; Опубл. 15.08.2003, Бюл. № 8.
11. Ходаков И.В. Спосіб визначення щільності кісток лабораторних тварин // Досягнення біології та медицини. - 2004. - № 2(4). - С. 38-41.
12. Горячковский А.М. Клиническая биохимия: Справочное пособие. - 2-ое изд. - Одесса: Астропринт, 1998. - С. 397-398.
13. Visser L., Blouf E.R. The use of p-nitrophenyl-N-tret-butyl-oxycarbonyl-L-alanine as substrate for elastase // Biochem. of Biophys. Acta. - 1972. - Vol. 268, No. 1. - P. 275-280.
14. Барабаш Р.Д., Левицкий А.П. Казеинолитическая и БАЭЭ-эстеразная активность слюны и слюнных желез у крыс в постнатальном онтогенезе // Бюлл. эксперим. биологии. - 1973. - № 8. - С.65-67.
15. Левицкий А.П., Марченко А.И., Рыбак Т.Л. Сравнительная оценка трех методов определения активности фосфатаз слюны // Лабораторное дело. - 1973. - № 10. - С. 624-625.
16. Serum tartrate-resistant acid phosphatase 5-bes is specific and sensitive marker of bone resorption / Hallcen J.M., Alatalo S.L., Janckila A.J., Woitge H.W., Seibel M.J., Vaananen H.K. // Clin. Chem. - 2001. - Vol. 47, No. 3. - P. 597-600.
17. Поворознюк В.В. Остеопороз и биохимические маркеры метаболизма костной ткани // Лабораторная диагностика. - 2002. - № 1. - С. 53-61.
18. Григоровский В.В., Магомедов С. Биохимические показатели метаболизма межклеточного вещества соединительной ткани, коррелирующие с морфометрическими признаками поражения длинной кости при открытом асептическом переломе // Украинский биохимический журнал. - 1999. - Т. 71, № 1. - С. 67-72.
19. Влияние соевых изофлавонов на протеолиз в костной ткани при экспериментальном остеопорозе / Левицкий А.П., Макаренко О.А., Дюдина И.А., Зеленина Ю.В. // Труды Всероссийской конференции «Проблемы медицинской энзимологии: Современные технологии лабораторной диагностики нового столетия». - М.: Мо-раг «Экспо», 2002. - С. 139-140.
20. Эластаза нейтрофилов и α_1 -протеазный ингибитор в десневой жидкости у больных с воспалительными заболеваниями пародонта / Боровский Е.В., Пасхина Т.С., Пустовойт Е.В., Платонова Л.В., Кочержинский В.В. // Стоматология. - 1988. - Т. 67, № 3. - С. 25-27.

Резюме

Левицкий А.П., Макаренко О.А., Ходаков И.В., Россаханова Л.М., Зеленина Ю.В., Попова Н.В., Литвиненко В.И.

Вплив ізофлавоноїдів на обмін кальцію у щурів після овариэктомії

Досліджено вплив ізофлавоноїдів софори японської та сої на екскрецію іонів кальцію у тварин при овариэктомії. Показано, що ці речовини значно зменшують екскрецію кальцію через зниження діурезу. У кістковій тканині софоригозид знижує активність протеаз і підвищує щільність кістки.

Summary

Levitskiy A.P., Makarenko O.A., Khodakov I.V., Rossakhanova L.N., Zelenina Yu.V., Popova N.V., Litvinenko V.I.

Influence of isoflavonoids on calcium metabolism in rats after ovariectomy

The influence of *Sophora japonica* L. and soy isoflavonoids on calcium ion excretion in animals at ovariectomy was studied. It was shown that these substances considerably decrease calcium excretion due to diuresis decrease. In bone tissue sophoricoside protease activity decreased and bones density increased.

Левицкий Анатолий Павлович (р. 1938). Окончил Одесский медицинский институт (1962). Д.б.н. (1974). Профессор (1978), Член-корр. УААН Украины (1990). Заместитель директора по науке Института стоматологии АМН Украины (1993). Зав. отделом биотехнологии Института стоматологии АМН Украины (1996).

Макаренко Ольга Анатольевна. Окончила Одесский государственный университет им. И.М. Мечникова (1982). К.б.н. (1994). Ст. науч. сотр. (2003). Зав. лабораторией биохимии Института стоматологии АМН Украины (1996).

Ходаков Игорь Владимирович (р. 1967). Окончил Одесский государственный университет им.

И.М. Мечникова (1990). Науч. сотр. отдела биотехнологии Института биотехнологии АМН Украины (1999).

Россаханова Лариса Николаевна. Окончила Одесский государственный университет им. И.М. Мечникова (1996). К.б.н. (2005). Ст. науч. сотр. лаборатории биохимии Института стоматологии АМН Украины (1993).

Зеленина Юлия Викторовна. Окончила Одесский государственный университет им. И.М. Мечникова (2001). Мл. науч. сотр. лаборатории биохимии Института стоматологии АМН Украины (2001).

Попова Наталья Вячеславовна. Окончила Харьковский фармацевтический институт (1981). К.фарм.н. (1986). Доцент кафедры фармакогнозии Национального фармацевтического университета (1991).

Литвиненко Василий Иванович (р. 1932). Окончил Харьковский фармацевтический институт (1959). Д.х.н. (1990). Профессор (1991). Академик Инженерной академии Украины (2000). Зав. сектором химии и технологии фенольных препаратов ГП ГНЦЛС.

Біотехнологічні дослідження

УДК 573.6.086.83:577.15

Соколов Ю.В., Краснопольский Ю.М.
Закрытое акционерное общество «Биолек»

Изучение зависимости продуцирования гиалуронидазы штаммом *S.aureus* от условий культивирования

В статье приведены результаты исследований по выбору оптимальных условий культивирования штамма-продуцента гиалуронидазы. Определены оптимальные значения pH, температуры и продолжительности культивирования микроорганизмов, исследовано влияние компонентов питательных сред (пептона, аминокислот, гемоглобина) на продуцирование фермента.

В 1934 году К. Мейер и Палмер, сотрудники лаборатории Meuer, обнаружили, что экстракт из двух типов пневмококков (*Streptococcus pneumoniae*) снижает вязкость мукополисахаридов и деполимеризует их до мономеров [1]. Фермент назван Мейером гиалуронидазой, что соответствует «фактору проницаемости». После этих ранних исследований множество экспериментаторов отметило присутствие гиалуронан-разрушающих энзимов в микроорганизмах. Повышенный интерес к ферментам патогенных бактерий в значительной мере обусловлен их возможным применением в определении факторов патогенеза инфекционных заболеваний. С другой стороны, эти энзимы используются как реагенты в определении роли гиалуроновой кислоты в процессах клеточной дифференциации, миграции, лечения ран, морфогенезе тканей и др.

Гиалуронидаза встречается в коже, селезенке, яичках и сперме млекопитающих, яде пчел и змей, соединительных тканях головастиков. Кожа — наибольшее «хранилище» этого фермента в организме (50 % от общего количества в организме). Гиалуронидаза, большей частью в неактивной форме, регулирует скорость воды и метаболизма в тканях путем

изменения вязкости межклеточной матрицы. Разрушая полимерную структуру гиалуроновой кислоты, фермент тем самым способствует разжижению соединительной ткани и увеличению ее проницаемости для сопутствующих гиалуронидазе веществ. Это обуславливает важность фермента в физиологическом и патологическом отношении и использование его в клинике для ускорения процессов диффузии и абсорбции. Противовоспалительное действие различных лекарственных средств (салицилатов, производных пиразолона, АКГГ, глюкокортикоидов, стероидов и др.) частично связано с их способностью уменьшать активность гиалуронидазы. Наоборот, действие некоторых веществ, вызывающих повышение проницаемости (например, пчелиного и змеиного яда), связано отчасти с наличием в них гиалуронидазы.

Препараты, содержащие гиалуронидазу (Лидаза, Ронидаза, за рубежом — Alidase, Hyalase, Hyalidase, Hyaluronidasum, Hyasa, Hyason, Hylase, Invasinum, Spredine, Widase и др.), получают на сегодняшний день из семенников крупного рогатого скота. Лидаза представляет собой специально очищенный препарат, пригодный для парентерального (подкожного, внутримышечного) и ингаляционного

применения. Его применяют для лечения рубцов (ожоговых, послеоперационных, келоидных и др. - преимущественно недавнего происхождения), контрактур Дюпюитрена (начальных стадий), контрактур и тугоподвижности суставов после воспалительных процессов и травм с кровоизлияниями в мягкие ткани, при подготовке к кожнопластическим операциям по поводу рубцовых стяжений, при хронических тендовагинитах, длительно незаживающих ранах.

В последнее время вопрос производства гиалуронидазы путем биосинтеза становится все более актуальным. Это связано с тем, что получение фермента традиционным способом из тканей животных имеет ряд существенных недостатков (невозможность стандартизации исходного сырья, возможность заражения готового продукта прионными инфекциями крупного рогатого скота, большое количество балластных белков, ограниченность производства в источниках сырья). Кроме того, гиалуронидазы микроорганизмов имеют ряд преимуществ перед своими аналогами животного происхождения: большую субстратную селективность, стабильность в более широком диапазоне pH и температур, повышенную устойчивость к ингибиторам — солям тяжелых металлов и др.

Целью данной статьи является обобщение результатов исследований по определению зависимости интенсивности выделения гиалуронидазы от следующих параметров питательной среды: pH; температуры и длительности культивирования; содержания пептона и аминного азота; наличия в питательной среде крови или гемоглобина.

Материалы и методы

В качестве штамма-продуцента использован *Staphylococcus aureus*, штамм № 328.

Для культивирования микроорганизмов использовалась среда для получения стафилококкового токсина [2] и среда Хоттингера [8].

В качестве источников аминного азота в средах использовались ферментативный гидролизат казеина [3] и перевар Хоттингера [4].

Корректировка питательной среды по pH производилась добавлением 17 % раствора кислоты хлористоводородной или 20 % раствора натрия гидроксида. Был получен ряд образцов с pH от 6.2 до 7.85.

Корректировка сред по аминному азоту производилась путем добавления перевара Хоттингера или ферментативного гидролизата казеина. Лиофилизированный гемоглобин добавлялся в питательную среду перед термической стерилизацией.

Состав компонентов питательных сред определялся по методикам, изложенным в [5], [6], [7].

За условную единицу действия (ЕД) принято разведение фермента, полностью разрушающее рабочую дозу субстрата в течение 20 мин при температуре 37 °С [9].

При статистической обработке результатов анализа использовались методы, приведенные в [10].

Экспериментальная часть

С целью получения суточной культуры штамм *S.aureus* культивировался в течение 1 сут. на скошенном мясоептонном агаре при температуре (36.0±0.2) °С. Полученная суточная культура выращивалась на среде для получения стафилококкового токсина в течение 1 сут. - маточная культура, которая добавлялась в количестве 5 % от объема питательной среды во флаконы вместимостью 250 мл со средой для получения стафилококкового токсина.

Для изучения влияния состава питательной среды на токсинообразование было приготовлено 2 серии сред с известным содержанием пептона — 0.5 % и 1.0 %. Культивирование проводили в течение 1 сут. (Табл. 1, 2).

Для определения оптимальной температуры роста флаконы с засеянной питательной

Таблица 1

Активность гиалуронидазы стафилококкового токсина, полученного на питательной среде Хоттингера (n=5)

Показатель	1	2	3	4	5	6	7	8
pH	6.35 ± 0.03	6.9 ± 0.04	7.45 ± 0.05	7.9 ± 0.05	6.5 ± 0.03	6.85 ± 0.02	7.4 ± 0.05	7.85 ± 0.03
аминный азот, мг%	218.6 ± 0.4	291.8 ± 0.9	246.3 ± 0.7	232.3 ± 0.4	137.2 ± 0.2	140.1 ± 0.2	137.2 ± 0.2	134.3 ± 0.2
пептон, %	1.0 ± 0.1				0.5 ± 0.1			
гиалуронидазная активность, ЕД	35.2 ± 7.8*	64.0 ± 10.1*	64.0 ± 10.1*	64.0 ± 10.1*	96 ± 101	96 ± 10.1	64 ± 10.1*	64 ± 10.1*

Примечание.

* — достоверно отличается от образцов 5 и 6 (p ≤ 0.05).

Таблица 2

Активность гиалуронидазы стафилококкового токсина, полученного на питательной среде для выделения стафилококкового токсина (n=5)

Показатель	1	2	3	4	5	6	7	8
pH	6.2 ± 0.02	6.7 ± 0.04	7.1 ± 0.02	7.45 ± 0.03	6.3 ± 0.02	6.8 ± 0.04	7.1 ± 0.03	7.4 ± 0.02
аминный азот, мг%	151.2 ± 0.3	145.7 ± 0.4	148.3 ± 0.3	141.9 ± 0.45	123.2 ± 0.3	137.2 ± 0.4	131.2 ± 0.4	134.2 ± 0.5
пептон, %	1.0 ± 0.1				0.5 ± 0.1			
гиалуронидазная активность, ЕД	35.2 ± 7.8*	96 ± 10.1*	134.4 ± 15.7	134.4 ± 15.7	16 ± 2.5*	35.2 ± 7.8*	64 ± 10.1*	96 ± 10.1*

Примечание.

* — достоверно отличается от образцов 3 и 4 (p ≤ 0.05).

Таблица 3

Зависимость активности гиалуронидазы стафилококкового токсина от температуры культивирования (n=5)

Показатель	1	2	3	4	5	6
температура, °C	35 ± 0.2	36 ± 0.2	37 ± 0.2	38 ± 0.2	39 ± 0.2	40 ± 0.2
гиалуронидазная активность, ЕД	64 ± 10.1*	192 ± 20.2	96 ± 10.1*	96 ± 10.1*	64 ± 10.1*	64 ± 10.1*

Примечание.

* — достоверно отличается от образца 2 (p ≤ 0.05).

Таблица 4

Зависимость активности гиалуронидазы стафилококкового токсина от продолжительности культивирования (n=5)

Показатель	1	2	3	4
время, ч	24	48	72	96
содержание белка в питательной среде, мг/мл	1.45	1.93	3.03	3.80
гиалуронидазная активность, ЕД	384 ± 40.5*	537.6 ± 62.7	537.6 ± 62.7	537.6 ± 62.7

Примечание.

* — достоверно отличается от образцов 2 — 4 (p ≤ 0.05).

Таблица 5

Зависимость активности гиалуронидазы стафилококкового токсина от содержания гемоглобина в питательной среде (n=5)

Показатель	1	2	3	4	5
гемоглобин, %	0	0.1	0.5	1.0	2.0
гиалуронидазная активность, ЕД	1075.2 ± 125.4	537.6 ± 62.7*	384 ± 40.5*	384 ± 40.5*	268.8 ± 31.3*

Примечание.

* — достоверно отличается от образца 1 (p ≤ 0.05).

Таблица 6

Зависимость активности гиалуронидазы стафилококкового токсина от содержания крови в питательной среде (n=5)

Показатель	1	2	3	4	5	6	7
кровь, мл	0	0.05	0.1	0.25	0.5	1.0	2.0
гиалуронидазная активность, ЕД	384 ± 40.5*	384 ± 40.5*	537.6 ± 62.7*	537.6 ± 62.7*	768 ± 80.9*	1075.2 ± 125.4	768.0 ± 80.9*

Примечание.

* — достоверно отличается от образца 6 (p ≤ 0.05).

средой помещались в термостат с температурой от +35 °C до +40 °C на 1 сут. (Табл. 3).

При определении оптимального времени культивирования флаконы с культурой выдерживались в термостате при температуре (36.0 ± 0.2) °C в течение 1-4 сут. (Табл. 4).

С целью выяснения влияния содержания гемоглобина и свежей крови на токсинообразование был приготовлен ряд проб с различным содержанием гемоглобина (0.1 %, 0.5 %, 1 %, 2 %) и крови (0.05 мл, 0.1 мл, 0.25 мл, 0.5 мл, 1.0 мл, 2.0 мл на 200 мл среды). Культивирова-

ние производилось в течение 1 сут. (Табл. 5, 6).

По окончании культивирования во всех пробах определялась активность гиалуронидазы.

Результаты и их обсуждение

Результаты экспериментов изложены в Табл. 1-6.

Сравнительный анализ данных приведенных в Табл. 1 и 2, показывает, что оптимальной питательной средой для штамма-продуцента является среда для выделения стафилококкового токсина с содержанием пептона 1 % и рН 7.1 – 7.45.

Как видно из Табл. 3, оптимальной для продуцирования стафилококкового токсина с максимальной гиалуронидазной активностью является температура (36±0.2) °С.

Как видно, гиалуронидазная активность достигает максимума на вторые сутки культивирования и затем остается постоянной. Количество же других примесей, в т.ч. балластных белков, продолжает возрастать, что затрудняет дальнейшую очистку гиалуронидазы. Таким образом, оптимальное время токсинообразования — 48 ч.

Как известно, добавление крови в питательную среду может стимулировать рост многих видов патогенных микроорганизмов, в частности кокков [8]. С целью выяснения влияния наличия крови или гемоглобина в питательной среде на продуцирование гиалуронидазы были приготовлены 2 партии среды — с добавлением гемоглобина (Табл. 5) и свежей человеческой крови (Табл. 6). Сравнительный анализ данных Табл. 5 и 6 свидетельствует, что добавление крови в питательную среду стимулирует выделение штаммом *S. aureus* гиалуронидазы, тогда как с ростом концентрации лиофилизированного гемоглобина в питательной среде гиалуронидазная активность уменьшается. Следует отметить, что наибольшее содержание свежей крови (2.0 мл на 200 мл питательной среды) соответствует содержанию лиофилизированного гемоглобина около 0.1 %. По-видимому, при добавлении сухого гемоглобина имеет место угнетение роста микроорганизмов и/или активности фермента избыточным количеством ионов железа, которые попадают в питательную среду как продукты метаболизма стафилококков, в то время как при добавлении свежей крови микроорганизмы получают гемоглобин и различные питательные вещества (белки и др.) в количествах, стимулирующих выработку стафилококкового токсина с высокой гиалуронидазной активностью.

Выводы

Исследуемый штамм-продуцент гиалуронидазы продуцирует фермент наиболее активно (1024 ЕД/мл) на среде для выделения стафилококкового токсина при следующих параметрах:

- рН: 7.1 – 7.45;
- содержание пептона: (1.0±0.1) %;
- содержание аминного азота: (120-140) мг %;
- содержание свежей человеческой крови: 1.0 мл на 200 мл питательной среды;
- температура культивирования: (36±0.2) °С;
- продолжительность культивирования: 48 ч.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kreil G. Hyaluronidases — a group of neglected enzymes // Protein Sci. — 1995. — No. 4. — P. 1666-1669.
2. Выгодчиков Г.В., Алымов А.Я. Руководство по сыровоточному и вакцинному делу. — М., 1943. — 252 с.
3. Виноградова И.Н., Власова Е.В., Палкина Н.А. Казеиновая среда для производства токсина *B.oedematiens* // Материалы по обмену опытом Главного управления институтов вакцин и сыровоток Минздрава СССР. — 1956. - № 2/52. — С. 61-65.
4. Многотомное руководство по микробиологии, клинике и эпидемиологии инфекционных болезней. — М.: Медгиз, 1962-1968. — Т. 1-10.
5. ГОСТ 13805—76. Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей. — М.: Из-во стандартов, 1976.
6. Dunn M.S., Loshakoff A. // J. Biol. Chem. — 1937. - Vol. 117. — P. 381.
7. Кантор Ч., Шиммель П. Биофизическая химия: Пер. с англ. — М., 1984. — 198 с.
8. Мельникова В.А. Ингибирование и стимуляция жизнедеятельности микроорганизмов в процессе культивирования // ЖМЭИ. — № 10. — С. 3-7.
9. Лидаза: АНД к РУ 12.01/04094.
10. Гланц С. Медико-биологическая статистика. - М.: Практика, 1999. - С. 81-108.

Резюме

Соколов Ю.В., Краснопольский Ю.М.

Вивчення залежності продукування гіалуронідази штамом *S.aureus* від умов культивування

У статті наведено результати досліджень із вибору оптимальних умов культивування штаму-продуцента гіалуронідази. Визначено оптимальні показники рН, температури та тривалості росту мікроорганізмів, досліджено вплив компонентів живильних середовищ (пептону, амінного азоту, гемоглобіну) на продукування ферменту.

Summary

Sokolov Yu.V., Krasnopolskiy Yu.M.

Study of correlation of hyaluronidase production by *S.aureus* strain from cultivation conditions

In the article results of studies at the choice of optimum conditions of the cultivation of *S. aureus* strain were given. Optimum values of pH, temperature and time of microorganisms cultivation were determined, an influence of components of nutrient mediums (peptone, amine nitrogen, hemoglobin) on enzyme production was studied.

Соколов Юрий Викентьевич (р. 1979). Окончил Национальный фармацевтический университет

(2001). Сотрудник ЦЗЛ ЗАО «Биолек». Соискатель при ГП ГНЦЛС.

Краснопольский Юрий Михайлович (р. 1951).
Окончил биологический факультет Харьковского

университета (1975). Д.фарм.н. (1988). Вице-президент ЗАО «Биолек» по науке и качеству (1998).

Готові лікарські засоби

УДК 615.324.012

Сичкарь Л.А., Дихтярев С.И., Денисенко Н.В.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр»

Исследование природы осадка в экстрактах селезенки крупного рогатого скота

Проведены предварительные исследования по идентификации осадка, образующегося в жидких лекарственных формах препаратов селезенки крупного рогатого скота. Методами УФ-, ИК- и масс-спектрологии установлено, что в состав осадка входит мочевиная кислота, присутствующая в тканях этих животных в повышенных концентрациях и попадающая в препарат на стадии экстрагирования сырья.

При создании жидкой инъекционной лекарственной формы на основе низкомолекулярной гидрофильной фракции селезенки (НГФС) крупного рогатого скота возникла проблема нестабильности образцов препарата в процессе хранения, что выражалось в снижении прозрачности раствора с последующим образованием аморфного осадка на дне ампул (в условиях консервации продукта). По своей природе препарат представляет собой комплекс различных физиологически активных веществ (ФАВ), таких как аминокислоты, пептиды, пуриновые и пиримидиновые основания и их производные, липидные компоненты, микро- и макроэлементы, органические кислоты, углеводы, витамины. Учитывая такой сложный состав, особенно наличие высокореакционных групп в молекулах вышеперечисленных соединений (амино-, гидроксигруппы и др.), можно предположить, что в водной среде в присутствии кислорода будут проходить окислительно-восстановительные процессы, приводящие к образованию нерастворимых продуктов реакции. Ранее нами проведены исследования по стабилизации экстракта селезенки антиоксидантами [1]. Однако дальнейшие наблюдения за сроками годности лекарственной формы не дали положительных результатов. Добавление антиоксидантов только несколько замедлило во времени процесс выпадения осадка, при этом последний имел кристаллическую структуру. Данный факт дал основание полагать, что в экстракт в процессе наработки препарата переходит

индивидуальное соединение, плохо растворимое в воде.

Общеизвестно, что в физиологических условиях за счет буферного действия белков и солей, присутствующих в клетках и межклеточном пространстве, низкомолекулярные ФАВ находятся в растворенном либо солюбилизированном состоянии. Многие из них связаны с белками водородными или другими нековалентными связями. В процессе экстрагирования вещества лишаются «защитной оболочки» и со временем осаждаются в экстрактах. Особенно это касается водных растворов, так как вязкость воды намного меньше вязкости растворов белков. А именно очистка от высокомолекулярных соединений в нашем случае приводила к артефактам.

Целью данной работы является установление природы осадка, образующегося в препарате НГФС, для получения стабильной в процессе хранения жидкой лекарственной формы препарата.

Материалы и методы

В работе использовалась селезенка убойного скота, забор которой производился на Харьковском и Киевском мясокомбинатах в разное время года.

Осадок в экстрактах и в ампулах с препаратом наблюдали визуально на черном фоне в проходящем свете.

Для получения исследуемого материала экстракты с наличием кристаллического осадка объединяли, кристаллы отфильтровывали через бумажный фильтр «синяя лента», промы-

вали дистиллированной водой до отрицательной реакции на ион хлора (проба с раствором серебра нитрата), а затем высушивали в вакуум-сушильном шкафу до постоянной массы по методике [2].

Размер и форму частиц определяли с использованием микроскопа «Microphot D 16B» при общем увеличении в 140 раз по методике [3].

Наличие нуклеиновых кислот определяли методом Дише [4], содержание аминокислот и пептидов — методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) [2]. В качестве подвижной фазы использовали смесь изопропанол - аммиак - вода (7:2:1). Проявление пятен производили 0.1 % раствором нингидрина в ацетоне. Хроматограммы высушивали в сушильном шкафу при температуре 70 °С в течение 10 мин и просматривали при дневном свете.

УФ-спектры снимали на спектрофотометре UV-VIS HP 8453 фирмы «Hewlett Packard», Германия, в 1 М растворе натрия гидроксида.

Регистрацию масс-спектров осуществляли на приборе МИ120Э при ионизации бомбардировкой «быстрыми» атомами аргона, в глицериновой матрице.

Измерения ИК-спектров выполнены на ИК-спектрометре AVATAR 360 FT-IR («Thermo Nicolet», США) в дисках с калия бромидом, содержащих по 1 мг образцов. Для идентификации спектров использована программа сравнительного анализа ИК-спектров.

Отмывку кристаллов осадка от липидного материала проводили в кислоте хлористоводородной в течение 1 ч. После этого осадок промывали водой до слабокислой реакции надосадочной жидкости, которую декантировали, а затем спиртом этиловым 96 %. Кристаллы высушивали в сушильном шкафу при температуре 100 °С в течение 1 ч.

Идентификацию выделенных соединений проводили также методом ТСХ в системе растворителей изопропанол - толуол - аммиак (25 %) (6:3:1) [5]. Хроматограммы просматривали в УФ-свете.

В качестве стандартного образца мочевой кислоты использовали препарат фирмы «Serva».

Результаты и их обсуждение

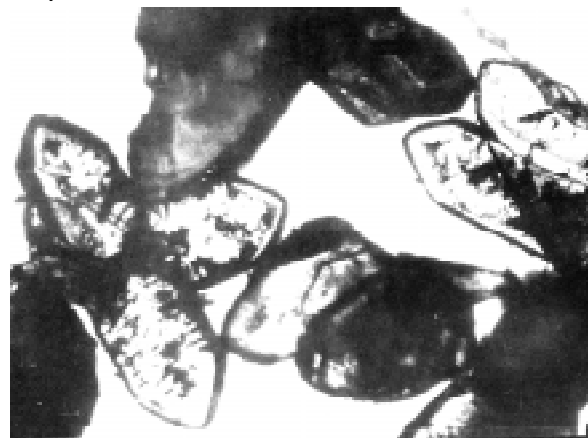
Проблеме стандартизации животного сырья посвящено большое количество исследований. Зачастую она трудно решается и в основном сводится к определению органолептических показателей [6]. Так как образование осадка наблюдалось не во всех наработы-

ваемых сериях препарата, необходимо было выяснить, зависит ли наличие осадка в экстрактах от пола животных и сезонности забора сырья. Оказалось, что эти критерии никак не сказывались на присутствии кристаллов в препарате. В связи с этим наши дальнейшие исследования были направлены на установление химической природы осадка.

Было выделено два образца осадка с различной формой кристаллов. Первый представлял собой полидисперсный кристаллический порошок светло-оранжевого цвета с частицами анизометрической формы в виде гексагональных призм и их осколков (Рис. 1). Линейные размеры частиц основной фракции составили: длина — (300-900) мкм, ширина — (150-180) мкм.

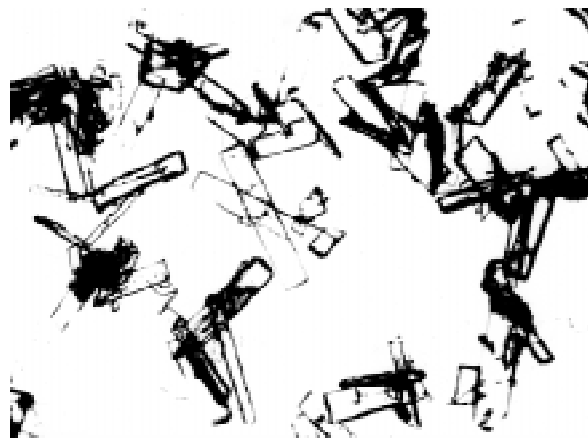
Второй образец осадка состоял из бесцветных частиц анизометрической формы в виде прямоугольных призм и их бесформенных осколков со средними линейными размерами: длина — (100-220) мкм, ширина — (15-75) мкм (Рис. 2).

Рисунок 1



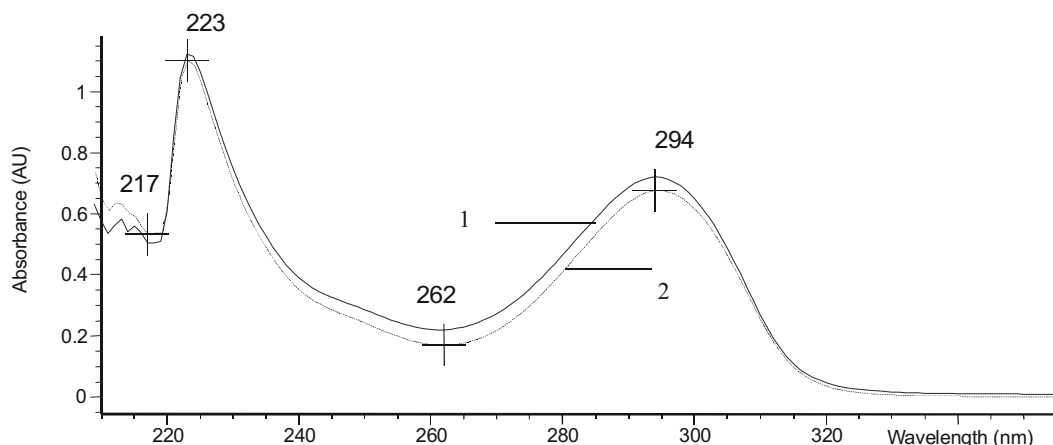
Кристаллы, выделенные из НГФС (образец 1)

Рисунок 2



Кристаллы, выделенные из НГФС (образец 2)

Рисунок 3



УФ-спектры осадков (1) и мочевой кислоты (2)

Рисунок 4



Различные формы мочевой кислоты

Исследование растворимости осадков показало, что последние практически нерастворимы в воде, разбавленных минеральных кислотах, этаноле, метаноле, хлороформе, ацетоне, мало растворимы в диметилсульфоксиде и растворимы в 1 М растворе натрия гидроксида (концентрация раствора подобрана экспериментально). Оранжевый осадок частично растворялся в воде с нагреванием при температуре 80 °С и концентрированной хлороводородной кислоте. При этом раствор окрашивался в желтый цвет, а кристаллы обесцвечивались.

В растворимой части оранжевого осадка обнаружены нуклеиновые кислоты (менее 1 %) и липиды (около 10 %), во фракционном составе которых присутствовали жирные кислоты, фосфолипиды, триглицериды. Аминокислоты и пептиды обнаружены не были.

УФ-спектры растворов осадков в 1 М растворе натрия гидроксида имели два максимума: при длинах волн 223 нм и 294 нм (Рис. 3 (1)). Мощное поглощение в УФ-области спектра при длине волны 294 нм свидетельствует о наличии сопряженной ароматической системы. Подобные спектры характерны для соедине-

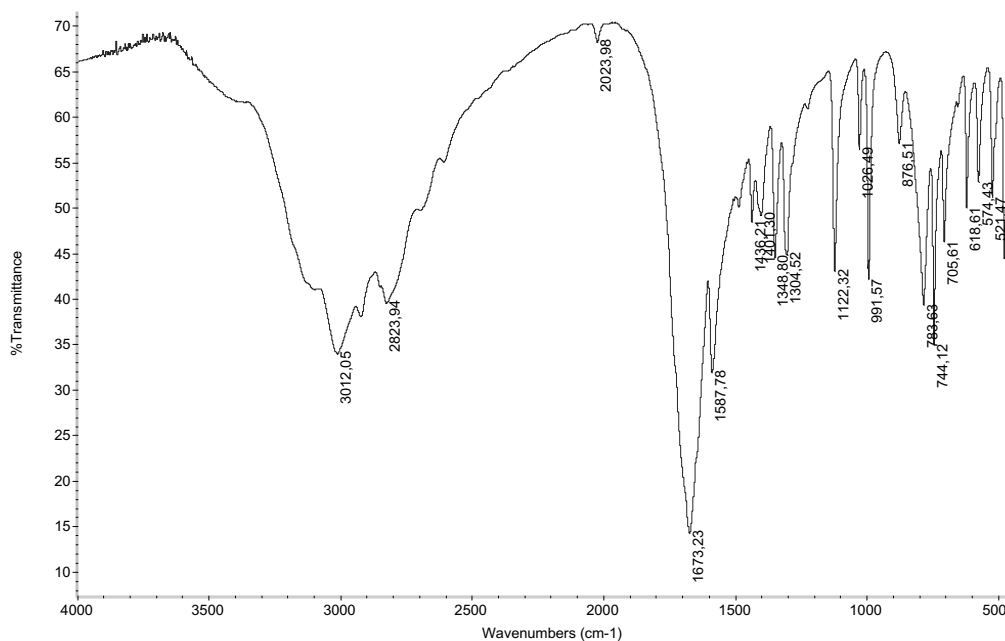
ний с индольным или пуриновым ядром в молекуле [7].

Проведенные выше исследования позволили сделать вывод, что выделенные кристаллические вещества могут относиться к природным гетероциклическим соединениям, в частности производным нуклеиновых кислот, наличие которых обнаружено в исследуемых экстрактах селезенки.

Таким образом, учитывая происхождение препарата, мы предположили присутствие в составе осадков мочевой кислоты — пуринового производного катаболизма нуклеиновых кислот. Она очень мало растворима в воде, практически нерастворима в органических растворителях и растворах минеральных кислот, растворяется в глицерине и растворах щелочей с образованием двуметаллической соли. При температуре выше 400 °С разлагается, не плавясь.

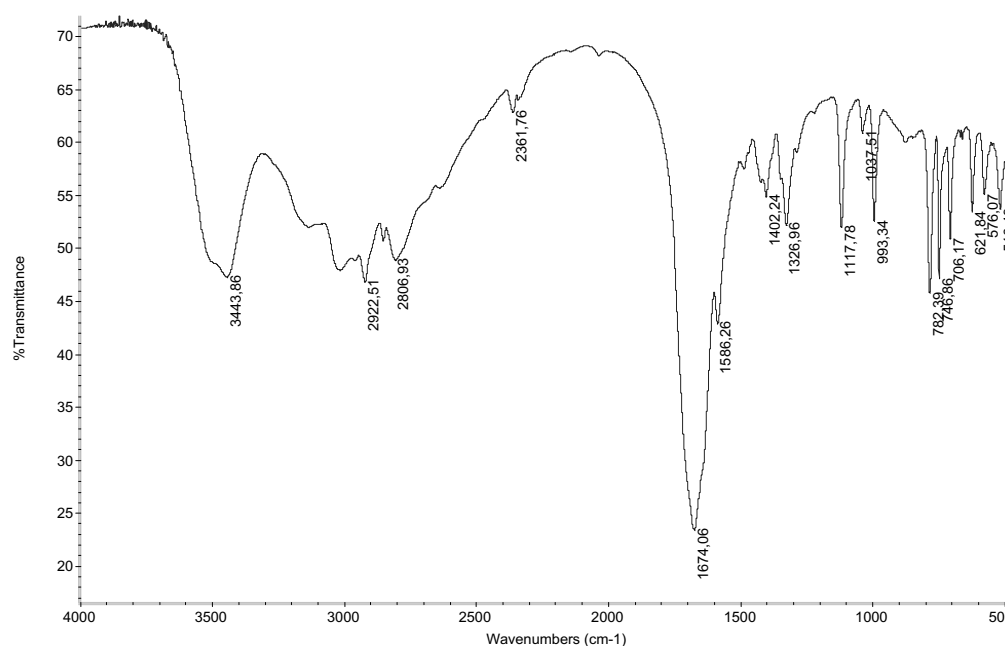
Мочевая кислота или 2,6,8-триоксипурин является естественным продуктом азотистого обмена и содержится в крови и тканях человека и животных, в том числе крупного рогатого скота. У последних ее содержание выше, чем у других животных, что обусловлено вы-

Рисунок 5



ИК-спектр мочевой кислоты

Рисунок 6



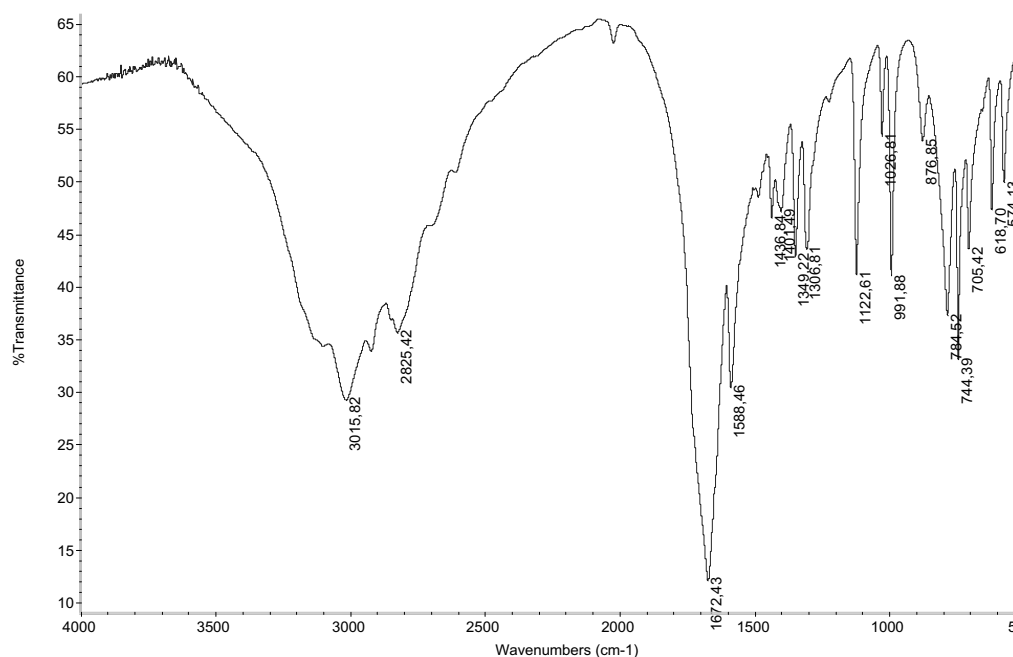
ИК-спектр осадка, выделенного из препарата НГФС (образец 1)

сокой активностью ксантиноксидазы — фермента, участвующего в катаболизме нуклеиновых кислот [9].

Чистая мочевая кислота представляет собой легкий белый порошок, кристаллизующийся в виде микроскристаллических таблеток ромбической или призматической формы. Интенсивность цвета зависит от толщины кристалла, таким образом, очень тонкие пла-

стины кажутся бесцветными. Осаждается из растворов различными кислотами (хлороводородной, пикриновой, фосфовольфрамовой и др.), солями серебра, оксидом меди. Может быть представлена в двух формах: лактамной, характерной для свободной кислоты (Рис. 4 (а)), и лактимной, являющейся результатом енолизации, происходящей при образовании солей (Рис. 4 (б)). В водных растворах

Рисунок 7



ИК-спектр осадка, выделенного из препарата НГФС, обработанного кислотой хлористоводородной

образует гидраты с одной или двумя молекулами воды [10].

Был проведен предварительный анализ УФ-, масс- и ИК-спектров образцов осадков, а также данных ТСХ и элементного анализа. На основании этого установлено, что оба образца осадка представляют собой одно и то же соединение. На образование кристаллов различной формы, вероятно, повлияли условия хранения экстрактов и препарата НГФС.

Так, УФ-спектр мочевой кислоты в 1 М растворе натрия гидроксида оказался полностью идентичным спектру осадков (Рис. 3).

На масс-спектрах регистрируется пик молекулярного иона $[MGIH]^+$ с $m/z = 261$ (GI – глицерин) и базовый пик $[MH]^+$ с $m/z = 169$, соответствующий молекулярной массе мочевой кислоты (168).

ИК-спектр мочевой кислоты (Рис. 5) характеризуется широкой полосой поглощения в области $(3600-3400) \text{ см}^{-1}$, относящейся к валентным колебаниям NH-группы, интенсивными полосами 1673 см^{-1} ($\nu_{C=O}$) и 1587 см^{-1} ($\nu_{\text{кольца}}$), а также множеством более слабых узких полос в области $(1200-400) \text{ см}^{-1}$, соответствующих колебаниям связей пуринового кольца.

Этот характер спектра сохраняется и у образцов осадков, но частоты несколько отличаются (Рис. 6). Увеличение интенсивности в области $(3600-3400) \text{ см}^{-1}$, а также наблюдающийся сдвиг полос поглощения в области $(1500-1000) \text{ см}^{-1}$ в сторону длинных волн может сви-

детельствовать о присутствии кристаллизационной воды в осадках. На спектрограмме обнаруживаются полосы валентных колебаний молекул воды 3510 см^{-1} и 3443 см^{-1} , перекрывающие полосы ν_{N-H} в этой части спектра. Полученные данные дают основание полагать, что мочевая кислота, входящая в состав осадка, возможно, находится в виде гидрата. В пользу этого свидетельствуют данные литературы [11], а также элементный анализ образцов.

Найдено для образца 2 (не загрязненного липидным материалом) (в процентах): С 29.91; Н 4.11; N 26.64.

Вычислено для $C_5H_8N_4O_5$ (в процентах): С 29.41; Н 3.92; N 27.45.

У образца 1 оказалось почти 2 раза завышенным содержание углерода (59 %) и водорода (6.2 %), что, вероятно, связано с наличием в нем липидов, нуклеиновых кислот и других соединений неуставленной природы.

Необходимо отметить, что после отмывки образцов от липидного материала сравнительный анализ спектров осадков и мочевой кислоты показал их совпадение на 98 % (Рис. 5 и 7).

При ТСХ было обнаружено пятно на уровне пятна стандартного образца мочевой кислоты, интенсивность которого была выше у отмываемого образца осадка.

Таким образом, полученные результаты позволяют предположить следующее. Образцы осадков представляют собой кристаллы моче-

вой кислоти (возможно, с кристаллизационной водой), образовавшиеся в различных условиях кристаллизации. Осаждаясь вместе с липидами и пигментами, присутствующими в препарате, кристаллы приобретали оранжевую окраску.

Выводы

1. Проведены предварительные исследования по идентификации природы осадка, образующегося в процессе хранения препарата, полученного из селезенки крупного рогатого скота.

2. Методами УФ-, ИК- и масс-спектро스코пии установлено, что в состав осадка входит мочевая кислота.

ЛИТЕРАТУРА

1. Технологічні аспекти виробництва лікарських препаратів на основі рідкого екстракту селезінки / Січкарь Л.А., Діхтярьов С.І., Фаст Л.Г., Сухінін В.М. // Вісник фармації. – 2001. - № 3 (27). – С. 52.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
3. Искрицкий Г.В., Бугрин Н.А., Сафиулин Р.М. Изучение линейных размеров и формы частиц порошков // Фармация. – 1977. – № 5. – С. 16-20.
4. Биохимия: Практикум / Кучеренко Н.Е., Бабенюк Ю.Д., Васильев А.Н. и др. – К.: Вища школа, 1988. – 128 с.
5. Spangenberg B., Klein K.-F. Fibre optical scanning with high resolution in thin layer chromatography // J. Chromatogr. A. – 2000. – Vol. 898. – P. 265-269.
6. Эндокринно-ферментное и специальное сырье и перспективы его использования для медицинских препаратов: Обз. инф. ВИНТИ – М., 1990. – 37 с.
7. Браун Д., Флорид А., Сейнзбери М. Спектроскопия органических веществ: Пер. с англ. – М.: Мир, 1992. – 300 с.
8. Калинин Ф.А., Лобов В.П., Жидков В.А. Справочник по биохимии. – К.: Наукова думка, 1971. – 607 с.
9. Urinary excretion of purine derivatives and tissue xanthine oxidase activity in buffaloes, with special reference to differences between buffaloes and *Bos taurus* cattle / Chen X.B. Samaraweera L., Kyle D.J. et al. // Brit. J. Nutr. – 1996. – Vol. 75. – P. 397-407.

10. Uric acid monohydrate – a new urinary calculus phase / Schubert G., Reck G., Jancke H. et al. // Urological Research. – 2005. - Vol. 33, No. 3. – P. 231-238.

11. Козловский Ю.Г., Шокарев М.М., Вершинина Ф.И. Анализ мочевых камней по инфракрасным спектрам // Лабораторное дело. – 1977. - № 11. – С. 102-106.

Резюме

Січкарь Л.А., Діхтярьов С.І., Денисенко Н.В.

Дослідження природи осаду в екстрактах селезінки великої рогатої худоби

Проведено попередні дослідження з ідентифікації осаду, що утворюється в рідких лікарських формах препаратів селезінки великої рогатої худоби. Методами УФ-, ІЧ- та мас-спектроскопії встановлено, що до складу осаду входить сечова кислота, що наявна у тканинах цих тварин у підвищених концентраціях і потрапляє до препарату на стадії екстрагування сировини.

Summary

Sichkar L.A., Dichtyarev S.I., Denisenko N.V.

Study of the precipitate nature in cattle spleen extracts

Explorations on identification of the precipitate, which was resulting in liquid drug forms of preparations of cattle spleen, were conducted. It was established by UV-, IR- and mass-spectroscopy methods that uric acid, which is presented at tissues of these animals in high concentrations and got to the preparation on the stage of raw extracting, was included in the precipitate composition.

Січкарь Лилия Анатолієвна. Окончила Харківський державний політехнічний університет (1996). І.о. ст. науч. сотр. лабораторії хімії і технології біополімерів ГП ГНЦЛС. К.фарм.н. (2003).

Діхтярьов Сергій Іванович (р. 1951). Окончил Харьковский фармацевтический институт (1973). Зам. директора ГП ГНЦЛС по научной работе (1990). Зав. лабораторией химии и технологии биополімерів ГП ГНЦЛС. Д.фарм.н. (1992). Професор.

Денисенко Наталія Васильєвна. Окончила Харьковский государственный университет. Мл. н. сотр. отдела ГФУ ГП «Науково-експертний фармакопейний центр».

УДК 615.07:535.379:541.124:543

Блажеєвський М.Є., Миронюк П.Л.
Національний фармацевтичний університет

Хемілюмінесцентне визначення ізоніазиду в таблетках ізоніазиду по 0.3 г

Досліджена хемілюмінесценція нітрату 9-ціано-10-метилакридидіну в сильнолужному середовищі у присутності ізоніазиду. Розроблена методика та показана можливість кількісного визначення ізоніазиду в таблетках по 0.3 г. Відносно стандартне відхилення не перевищує 3.5%. Нижня межа визначуваних концентрацій складає 0.3 мкг/мл.

Важливою задачею сучасного фармацевтичного аналізу є вдосконалення відомих та опрацювання нових методик кількісного визначення лікарських речовин із використан-

ням високочутливих, нетоксичних і відносно дешевих реагентів. На наш погляд, таким вибогам відповідають акридидінієві солі, зокрема, 9-ціано-10-метилакридидіну нітрат (ЦМА). Цей

реагент характеризується високою реакційною здатністю щодо нуклеofilів-відновників, зокрема гідразидів карбонових кислот [1, 2].

Як об'єкт даного дослідження обраний гідразид ізонікотинової кислоти — широко відомий протитуберкульозний засіб [3]. Згідно аналітично-нормативної документації (АНД) вміст основної речовини в препараті знаходять методом окисно-відновного титрування [4, 5], в таблетках — спектрофотометрично [6], або іншими методами [7], у складних сумішах — за допомогою різноманітних варіантів хроматографії [8, 9], вольтамперометрії [10], хемілюмінесценції з люмінолом [11].

Метою даної роботи є опрацювання нової експресної методики хемілюмінесцентного визначення ізоніазиду в таблетках по 0.3 г за реакцією із ЦМА.

Об'єкти та методи

Використовували субстанцію ізоніазиду (вміст основної речовини 99.54 %), що відповідає вимогам чинної АНД «Ізоніазид-Дарниця», таблетки по 0.3 г.

Приготування розчину робочого стандартного зразка (РСЗ) ізоніазиду 13.715 мкг/мл (1.00·10⁻⁴ моль/л).

Наважку РСЗ, що містить 0.2743 г ізоніазиду (C₅H₇N₃O), розчиняють у 1000.00 мл двічі дистильованої води при температурі 20 °С. Розчин РСЗ одержують розбавленням двічі дистильованою водою вихідного розчину точно у 20 разів.

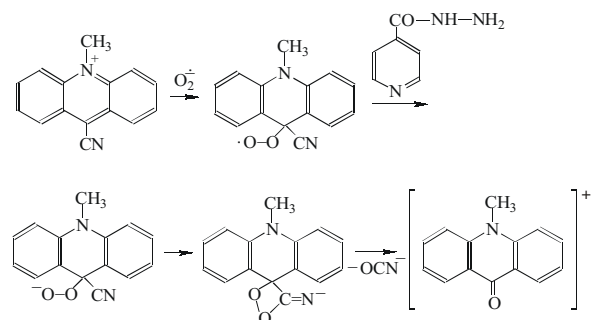
Нітрат 9-ціано-10-метилакридинію синтезували за методикою [12]. Його розчини виготовляли об'ємно-ваговим способом на 10⁻³ М розчині кислоти азотної. У роботі використовували концентровані розчини калію гідроксиду, вільного від карбонатів.

Інтенсивність хемілюмінесценції вимірювали у кварцовій кюветі циліндричної форми діаметром 30 мм із робочим об'ємом 10 мл на хемілюмінометрі з чутливістю 0.43·10⁷ (фот)/(4π)/погілка із фотоелектронним множувачем ФЭУ-84-А, вимірювачем малих струмів ИМТ-0.5 та швидкодіючим потенціометром, у відносних одиницях (відн. од.).

Результати досліджень та їх обговорення

Відомо, що ЦМА, аналогічно іншим похідним акридинію, специфічно реагує із нуклеофилами-відновниками у присутності в розчині кисню з утворенням проміжної сполуки — діоксетану ЦМА, що розпадається з утворенням молекули метилакридону, що перебуває у збудженому стані. Релаксація збудженої молекули N-метилакридону в основний

стан супроводжується вилученням кванту світла [1]. Схема перетворень, що призводять до утворення емітера хемілюмінесценції (ХЛ), має такий вигляд (надоксидний аніон-радикал кисню утворюється у первинній стадії процесу відновлення кисню ізоніазидом і/або гідразином — продуктом його гідролізу в умовах сильнолужного середовища):



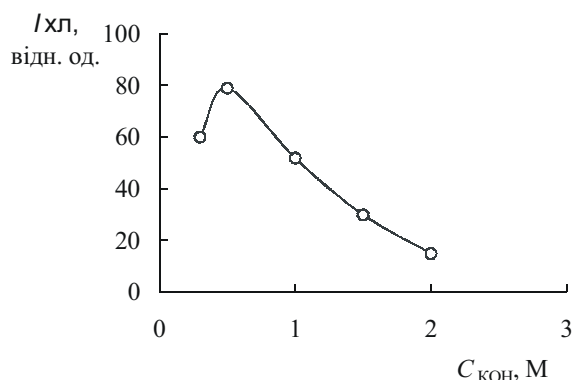
Експериментально встановлена залежність різниці максимальних значень інтенсивностей хемілюмінесценції в досліді із розчином РСЗ та двічі дистильованою водою (холостий дослід) (I_{хл}) від концентрації калію гідроксиду в реакції гідразиду ізонікотинової кислоти із ЦМА наведена на Рис. 1. Як видно, максимальне світіння спостерігається при концентрації лугу 0.5 моль/л.

Побудова градууювального графіка

У кварцову кювету хемілюмінометра вносять послідовно 0.50 мл 10 М розчину калію гідроксиду і (9.50 — x) мл двічі дистильованої води (де x — сумарний об'єм калію гідроксиду та розчину робочого стандартного зразка, у мілілітрах), від 0.20 мл до 5.00 мл 1·10⁻⁴ М розчину робочого стандартного зразка, ретельно перемішують і переносять у світлонепроникну камеру фотометра, відкривають шторку та вливають за допомогою піпеткового дозатора 0.50 мл 5·10⁻⁴ М розчину ЦМА. Реєструють максимальну інтенсивність світіння. Паралельно проводять дослід, в якому замість розчину робочого стандартного зразка використовують двічі дистильовану воду. Будують градууювальний графік і методом найменших квадратів розраховують рівняння залежності різниці максимальних інтенсивностей хемілюмінесценції в досліді із розчином РСЗ та таким із двічі дистильованою водою від концентрації ізоніазиду.

Градууювальний графік кількісного визначення ізоніазиду методом хемілюмінесценції за реакцією з ЦМА наведений на Рис. 2. Він свідчить про збереження лінійного характеру залежності I_{хл} від концентрації ізоніазиду в межах від 2·10⁻⁶ моль/л до 5·10⁻⁵ моль/л (0.3-

Рисунок 1



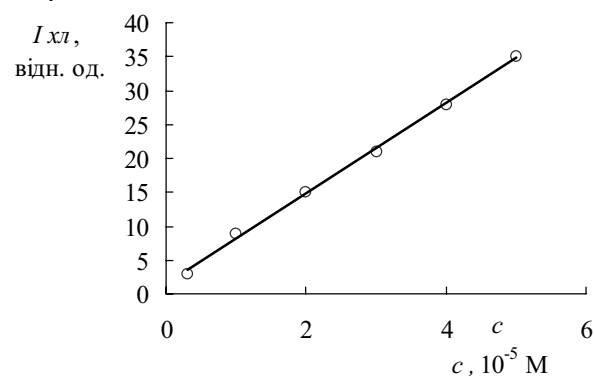
Залежність $I_{\text{хл}}$ від концентрації калію гідроксиду в реакції гідразиду ізоніазида з ЦМА

6.9 мкг/мл кінцевого об'єму). Рівняння градувального графіка має вигляд $I_{\text{хл}} = 6.65 \cdot 10^5 \cdot c + 1.55$ (коефіцієнт кореляції $r = 0.999$).

Методика кількісного визначення ізоніазида в таблетках «Ізоніазид-Дарниця»

Близько 0.3 г (точна наважка) порошку ретельно розтертих таблеток розчиняють у мірній колбі місткістю 1000 мл у 500-600 мл двічі дистильованої води і доводять об'єм розчину двічі дистильованою водою до позначки при температурі 20 °С. 5.00 мл одержаного розчину за допомогою піпетки переносять у мірну колбу місткістю 100 мл і доводять об'єм розчину двічі дистильованою водою до позначки. Далі виконують аналіз як при побудові градувального графіка. Уводять 4.00 мл розчину проби. Вміст ізоніазида знаходять методом стандарту.

Рисунок 2



Градувальний графік кількісного визначення ізоніазида методом хемілюмінесценції за реакцією із ЦМА (0.5 М розчину КОН)

Вміст $\text{C}_5\text{H}_7\text{N}_3\text{O}$ (ізоніазида) в одній таблетці, у грамах, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{\Delta I \times C_{\text{см}} \times \bar{a}}{\Delta I_{\text{см}} \times a}$$

де:

$C_{\text{см}}$ — концентрація розчину РСЗ ізоніазида, г/1000 мл;

DI — різниця максимальних інтенсивностей хемілюмінесценції у дослідів із випробовуваним і холостим розчинами, відн. од.;

$DI_{\text{см}}$ — різниця максимальних інтенсивностей хемілюмінесценції у дослідів із розчином РСЗ і холостим розчином, відн. од.;

a — наважка порошку таблеток, у грамах;

\bar{a} — середня маса однієї таблетки, у грамах;

Таблиця

Результати кількісного визначення ізоніазида в таблетках «Ізоніазид-Дарниця» по 0.3 г методом хемілюмінесценції ($n = 5$; $P = 0.95$)

Вміст ізоніазида в одній таблетці (X , г)	$I_{\text{хл}}, \text{відн. од.}$	Знайдено, ізоніазида в одній таблетці (г) $\bar{X} \pm \Delta \bar{X}$	s_r	$\frac{\Delta \bar{X}}{\bar{X}} \times 100\%$ $(\delta = \frac{\bar{X} - X}{X} \times 100\%)$
0.2984*	35	0.2926	0.0354	4.38% (+1.4%)
	36	0.3012		
	35	0.2926		
	37	0.3099		
	38	0.3168		
		0.3025±0.0133		

Примітка.

* вміст ізоніазида, знайдений за методикою [6]

В Таблиці наведені результати кількісного визначення ізоніазиду в таблетках «Ізоніазид-Дарниця» методом хемілюмінесценції за реакцією із ЦМА. Вони свідчать про можливість виконання кількісного визначення ізоніазиду в готовій лікарській формі методом хемілюмінесценції за новою аналітичною реакцією, а саме із ЦМА у сильнолужному середовищі. Відносна помилка визначення ізоніазиду в таблетках при його вмісті 100.8 % становить 4.4 %. Правильність визначення середнього $\delta = +1.4\%$.

Висновки

Оптимізовані умови досягнення максимальної активності гідразиду ізонікотинової кислоти у хемілюмінесцентній реакції з нітратом 9-ціано-10-метилакридинію в сильнолужному середовищі.

Запропонована схема процесу виникнення хемілюмінесценції в системі ЦМА-кисень-гідрозид ізонікотинолу. Опрацьована методика кількісного визначення гідрозиду ізонікотинової кислоти в таблетках «Ізоніазид-Дарниця» методом хемілюмінесценції за реакцією із ЦМА.

ЛІТЕРАТУРА

1. Пацай І.О. Хемілюмінесцентні реакції нітрату 9-ціано-10-метилакридинію з нуклеофільними реагентами та застосування їх в аналізі: Автореф. дис. ... к.х.н. — Київ, 2003. — 19 с.
2. Mc. Capta F., Richardson D.G., Chang Y.C. Chemiluminescence involving peroxide decompositions // Photochem. And Photobiol. — 1965. — Vol. 4, No. 6. — P. 1111-1121.
3. Крыжановский С.А., Вититнова М.В. Полный современный справочник лекарственных препаратов: Практическое руководство. - 2-е изд., перераб. и доп. — М.: РИПОЛ КЛАССИК, 2002. — 1216 с.
4. European Pharmacopoeia. — 5th ed. - Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines, 2005.
5. Туркевич М., Владзімірська О., Лесик Р. Фармацевтична хімія (стероїдні гормони, їх синтетичні замінники і гетероциклічні сполуки як лікарські засоби): Підручник. - Вінниця: НОВА КНИГА, 2003. — 464 с.
6. Пиняжко Р.М., Каленюк Т.Г. Методы УФ-спектрофотометрии в фармацевтическом анализе. — К.: Здоров'я, 1976. — 88 с.
7. Свинчук В.С., Ревяцкая С.С., Росоха Н.Н. Количественное определение изониазида // Фармация. — 1990. — Т. 39, № 2. — С. 87-90.
8. Guermouche S., Guermouche M.H. Solid-phase extraction and HPTLC determination of isoniazid and acetylisoniazid in serum. Comparison with HPLC // J. Chromatogr. Sci. — 2004. — Vol. 42, No. 5. — P. 250-253.
9. Calleri E., De Lorenzi E., Furlanetto S., Massolini G., Caccialanza G. // J. Pharm. and Biomed. Anal. — 2002. — Vol. 29, No. 6. — P. 1089-1096.
10. Ghoneim M.M., El-Baradie K.Y., Tawfik A. Electrochemical behavior of the antituberculosis drug isoniazid and its square-wave adsorptive stripping voltammetric estimation in bulk form, tablets and biological fluids at a mercury electrode // J. Pharm. and Biomed. Anal. — 2003. — Vol. 33, No. 4. — P. 673-685.
11. Safavi Afsaneh, Karimi Mohammad Ali, Nezhad Mohammad Reza Hormozi. Flow injection determination of isoniazid using N-bromosuccinimide- and N-chlorosuccinimide-luminol chemiluminescence systems // J. Pharm. and Biomed. Anal. — 2003. — Vol. 30, No. 6. — P. 1499-1506.
12. Kaufmann A., Albertini A. Über Cyan-Cyclaminane // Berichte. — 1909. — B. 42. — S. 2002-2005.

Резюме

Блажеевский Н.Е, Миронюк П.Л.

Хемілюмінесцентное определение изониазида в таблетках изониазида по 0.3 г

Исследована хемілюмінесценция нитрата 9-ціано-10-метилакридинію в сильнощелочной среде в присутствии изониазида. Разработана методика и показана возможность количественного определения изониазида в таблетках по 0.3 г. Относительное стандартное отклонение не превышает 3.5 %. Нижняя граница определения составляет 0.3 мкг/мл.

Summary

Blazejevskiy N.E., Mironuk P.L.

Chemiluminescent determination of isoniazid in isoniazid tablet on 0.3 g

The chemiluminescence of 9-cyano-10-methylacridinii nitrate in strong alkaline medium over a isoniazid was studied. The method was developed and the possibility of quantitative determination of isoniazid in tablets on 0.3 g was shown. Relative standard deviation was not more 3.5 %. Lower limit of determination was 0.3 $\mu\text{g/ml}$.

Блажеєвський Микола Євстахійович. К.х.н. (1991). Доцент (1998). Доцент кафедри фізичної та колоїдної хімії Національного фармацевтичного університету.

Миронюк Петро Лук'янович. Аспірант очної форми навчання кафедри фізичної та колоїдної хімії Національного фармацевтичного університету.

Стандартизація лікарських засобів

УДК 615.244:615.322:615.453.4

Демьяненко В.Г., Жехжах Самер, Демьяненко Д.В.
Национальный фармацевтический университет

Разработка методик контроля качества липофильного экстракта плодов шиповника

Проведено исследование качественного и количественного состава плодов шиповника и липофильного комплекса, выделенного из сырья экстракцией хладонами. С помощью тонкослойной хроматографии в различных системах растворителей выявлены основные группы БАВ. Разработаны методики стандартизации сырья и липофильного экстракта шиповника по основным действующим веществам — галактолипиду и каротину. Изучена стабильность хладонного экстракта при хранении. Показано, что его показатели качества не изменяются в течение 9 месяцев.

В настоящее время разработка методик стандартизации лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе является актуальной задачей фитохимического производства. Это связано со сложностью качественного и количественного состава БАВ растений, субстанций и экстрактов на их основе, а также с недостаточной нормативно-технической базой.

Плоды различных видов шиповника широко применяются в официальной и народной медицине [1, 8, 9, 12, 16]. Сотрудниками Государственного научного центра лекарственных средств (ГНЦЛС) были разработаны препараты «Липохромин», «Каротолин», «Масло шиповника», обладающие ранозаживляющей, антиоксидантной, противовоспалительной активностью [2, 10, 11]. В работе [2] для экстракции семян и мякоти шиповника предлагалось использовать дифтордихлорметан (хладон-12), который в настоящее время запрещен к промышленному применению Монреальской конвенцией 1997 года.

Вышеуказанные фармакологические эффекты объясняются, в основном, высоким содержанием витаминного комплекса, в частности каротиноидов и токоферолов в липофильных извлечениях и аскорбиновой кислоты — в водных или водно-спиртовых извлечениях [7, 10, 13].

В то же время анализ литературных данных о качественном и количественном составе плодов шиповника и препаратов из него свидетельствовал о значительных (в несколько раз) расхождениях в содержании отдельных витаминов. Так, по данным различных источников, количество каротиноидов в сырье составляет от 2 мг% до 70 мг%, токоферолов — от 9 мг% до 170 мг%, аскорбиновой кислоты — от 100 мг% до 1250 мг% [10, 13, 17, 20]. Кроме того, выход липидной фракции (в основном

жирного масла) из семян колеблется в пределах 0.82-11.81 % [4, 14, 21].

Государственная фармакопея СССР 11-го изд. требует стандартизовать плоды шиповника по содержанию витамина С (не менее 0.2 % или 200 мг%) и суммы органических кислот, что, очевидно, не является приемлемым при производстве липофильных экстрактов или субстанций [3].

В последнее время внимание исследователей продолжает привлекать высокая противовоспалительная и анальгезирующая активность липофильных фракций плодов шиповника. В зарубежных источниках и сети Интернет появились публикации о фармакологических и даже клинических испытаниях нативных препаратов из измельченного сырья, указывающих на перспективность создания лекарств, альтернативных существующим синтетическим НПВС [19].

Очевидно, что такая эффективность экстрактов не может быть объяснена только присутствием витаминов А, Е и каротинов, т.к. они не являются уникальными для данного сырья.

Авторы [18] показали, что противовоспалительная активность шиповника обусловлена присутствием в липофильных извлечениях моногалактолипида, содержание которого составляет в среднем 250 мг в 1 кг воздушно-сухого сырья. Было также установлено, что наиболее селективным экстрагентом для данного вещества является метилхлорид.

Учитывая схожесть растворяющей и экстрагирующей способности метилхлорида и дифторхлорметана (хладона-22), предполагалось наличие активного вещества в липофильной фракции, полученной нами экстракцией сжиженным газом, и в суппозиториях, приготовленных на ее основе.

Предварительный фармакологический скрининг субстанции и суппозиторий, проведенный нами совместно с сотрудниками кафедры фармакологии и фармакотерапии НФаУ, подтвердил вышеизложенное.

Целью настоящей статьи является обобщение результатов качественного и количественного анализа липофильного комплекса плодов шиповника собачьего и разработки методик его стандартизации по биологически активным веществам.

Объекты и методы исследований

В качестве сырья использовались плоды шиповника собачьего (*Rosa canina* L.), заготовленные в сентябре 2004 года и в сентябре 2005 года на территории Харьковской, Донецкой, Киевской и Крымской областей (по 4 серии из каждого региона). Размер серий составлял 4,5-5,0 кг. Плоды измельчали без разделения на семена и мякоть до размера частиц около 0,5 мм.

Липофильный комплекс получали экстракцией сырья на лабораторной установке под давлением 8-10 атм сжиженным дифторхлорметаном (хладоном-22) (фирма «Elf», Италия), так как при этом достигался наибольший выход действующего вещества (т.е. моногалактолипида) и отсутствовали остаточные количества растворителя в готовом продукте.

Плотность экстракта измеряли с помощью пикнометра в соответствии с [5]. Кислотное, перекисное, йодное числа и число омыления в исследуемых образцах определяли согласно [5].

С целью разработки методик анализа основного действующего вещества (2S)-1,2-ди-О-[(9Z,12Z,15Z)-октадека-9,12,15-триеноил]-3-О-β-D- галактопиранозил-глицерола (далее в тексте — ДОТГГ) нами исследовалась пригодность различных хроматографических систем, используемых обычно для анализа полярных липидов [15]:

А: хлороформ - метанол - вода (75:25:2,5);

Б: хлороформ - метанол - кислота уксусная - вода (170:25:25:6);

В: бензол - ацетон - вода (91:30:8).

Тонкослойное хроматографирование проводили следующим образом.

Для разделения липидов на основные классы навеску 0,05 г липофильного комплекса растворяли в 2 мл метилхлорида, 10 мкл раствора наносили на ТСХ-пластинки «Sorbfil UV-254» и хроматографировали в системе гексан - диэтиловый эфир - кислота муравьиная (80:20:2) на высоту 8 см, после чего пластины

высушивали. Затем их помещали в камеру с одной из вышеуказанных систем растворителей (А, Б, В) и хроматографировали в направлении, перпендикулярном предыдущему, на высоту 12 см.

Проявляли 20 % спиртовым раствором кислоты фосфорномолибденовой при нагревании до температуры (130-140) °С в течение 3-5 мин.

Количественный анализ сырья осуществлялся следующим образом. Около 50,0 г (точная навеска) плодов шиповника, измельченных до размера частиц не более 0,5 мм и высушенных до постоянной массы под вакуумом, загружали в перколятор лабораторной установки и проводили исчерпывающую экстракцию 2 л сжиженного хладоном-22 в течение 4 ч. Затем вакуумировали сборник в течение 1 ч, взвешивали полученный продукт и использовали его для дальнейших определений. При анализе сырья в расчетные формулы вводили дополнительный коэффициент $K = M_3/M_a$, где M_3 — масса полученного экстракта, в граммах; M_a — масса экстракта, взятого для анализа, в граммах.

Неомыляемую фракцию определяли в навесках липофильного комплекса по 1,0 г, которые гидролизуют 2М спиртовым раствором калия гидроксида, после чего экстрагировали эфиром (согласно [5]). Эфирные извлечения осторожно упаривали досуха, остаток взвешивали, затем растворяли в 0,2 мл хлороформа, 5 мкл полученного раствора наносили на пластинку «Sorbfil UV-254», хроматографировали с использованием в качестве растворителя бензол на высоту 12 см. Пятна проявляли 22 % раствором сурьмы трихлорида в хлороформе. Идентифицировали отдельные соединения как по различию в окраске (стеролы — сине-фиолетовые оттенки; токоферолы — оранжево-коричневые; каротин, ретинол — синие), так и с помощью растворов рабочих стандартных образцов. Пятна снимали на уровне РСО.

С целью количественного определения фитостеролов с необработанных хроматограмм снимали зону с R_f около 0,1-0,2 на уровне пятен, окрашенных в сине-фиолетовый цвет, элюировали стеринны тремя порциями по 15 мл каждая метилхлорида, затем проводили анализ элюата методом газовой хроматографии в сравнении с раствором стандарта согласно [5].

Для определения токоферолов омыление проводили с добавлением 0,1 г кислоты аскорбиновой, хроматографирование — в присутствии вещества-свидетеля α-токоферола. За-

тем снимали слой сорбента на уровне пятна (R_f около 0.45-0.50), окрашенного в желто-коричневый цвет, элюировали токоферол метанолом безводным, остаток упаривали досуха, прибавляли 4.0 мл этанола безводного, 1.0 мл 0.1 % раствора железа трихлорида и 1.0 мл 0.25 % раствора дипиридила. Через 3 мин измеряли оптическую плотность полученной смеси на спектрофотометре при длине волны 520 нм. Параллельно проводили аналогичный опыт с точной навеской стандартного образца α -токоферола [6].

Содержание суммы токоферолов (ΣE), в процентах, вычисляли по формуле:

$$\Sigma E = \frac{D \cdot m_0 \cdot 100}{D_0 \cdot m_H},$$

где:

D — оптическая плотность испытуемого раствора;

D_0 — оптическая плотность раствора СО α -токоферола;

m_0 — навеска СО α -токоферола, в граммах;

m_H — масса навески испытуемого препарата или сырья, в граммах.

Анализ каротиноидов осуществляли на основе [10].

Около 0.1 г (точная навеска) липофильного экстракта растворяли в 40 мл гексана, переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объем раствора гексаном до метки. 2.00 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем раствора гексаном до метки.

Оптическую плотность полученного раствора измеряли на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 455 нм, используя гексан в качестве раствора сравнения.

Содержание β -каротина (K), в мг%, вычисляли по формуле:

$$K = \frac{D \cdot 10 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{2592 \cdot 2 \cdot m_H} = \frac{D \cdot 241}{m_H},$$

где:

D — оптическая плотность испытуемого раствора;

2592 — удельный коэффициент поглощения β -каротина;

m_H — масса навески липофильного комплекса или сырья, в граммах.

Выделение и очистка галактолипида осуществлялась с помощью колоночной хроматографии. Стеклообразную колонку размером 3.5 × 100 см заполняли 300 г силикагеля, пред-

варительно прокаленного при температуре 110 °С, и герметизировали тефлоновой пробкой. Около 10 г липофильного комплекса, полученного экстракцией шиповника хладоном-22, растворяли в 50 мл ацетона и вводили в верхнюю часть колонки. Элюирование проводили ацетоном со скоростью 10 мл/мин, собирая и анализируя на ТСХ-пластинах каждые 50 мл элюата. Фракции, содержащие галактолипид, что подтверждалось наличием единственного пятна на ТСХ в различных системах растворителей, объединяли и отгоняли растворитель. Фракции, в которых обнаруживалось два и более веществ, разделяли повторно, используя в качестве элюента смесь ацетон - метанол (9:1). В результате было получено 47.2 мг хроматографически чистого галактолипида.

Приготовление раствора рабочего стандартного образца (PCO) галактолипида. Около 0.025 г (точная навеска) галактолипида растворяли в 40 мл метилхлорида, количественно переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили объем раствора метилхлоридом до метки. 2.5 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем раствора метилхлоридом до метки. Данный раствор PCO содержал 50 мкг действующего вещества в 1 мл.

Количественный анализ ДОТГГ в липофильном комплексе проводился следующим образом.

Около 0.05 г и 0.5 г (точные навески) хладонового экстракта растворяли в 4 мл метилхлорида, переносили в мерные пробирки и доводили объем раствора метилхлоридом до 5 мл (растворы 1 и 2, соответственно). На ТСХ-пластинки наносили по 2 мкл; 5 мкл; 10 мкл; 15 мкл; 20 мкл растворов 1 и 2 и хроматографировали в системе растворителей ацетон - бензол - вода (91:30:8) на высоту 12 см.

Количественный анализ галактолипида осуществлялся непосредственно на хроматограмме путем сравнения площади пятен испытуемого образца и растворов PCO, нанесенных на пластину в различных разведениях.

Содержание ДОТГГ (X), в мг%, в сырье или липофильном экстракте вычисляли по формуле:

$$X = \frac{m_{gl} \cdot 5 \cdot 100}{V \cdot m_H},$$

где:

m_{gl} — масса ДОТГГ в пробе, найденная по калибровочному графику, в микрограммах;

V — объем раствора, наносимого на хроматограмму, в микролитрах;
 m_н — масса навески сырья или экстракта, в граммах.

Результаты и их обсуждение

Количественный анализ плодов шиповника и липофильных извлечений показал, что содержание основных групп биологически активных веществ в значительной степени зависит от года заготовки, что, видимо, связано с крайне неблагоприятными метеорологическими условиями летне-осеннего периода 2004 года. Несколько меньшее влияние оказывало место сбора сырья (Табл. 1).

Как видно из полученных данных, содержание БАВ в сырье, собранном в восточных и центральных областях нашей страны в 2004 году, было в 3.5-4 раза ниже, чем в сырье, собранном в 2005 году, для крымского сырья — в 2-2.5 раза ниже. В то же время шиповник, заготовленный в Киевской области, в среднем на 10-15 % беднее действующими веществами, а в Крыму — на 20-25 % богаче, чем в Харьковской области, что особенно резко проявилось в неблагоприятном 2004 году. Следовательно, заготавливать сырье экономически целесообразно на востоке и юге Украины, а в случае прохладного и/или дождливого лета — только в Крыму.

При этом следует заметить, что изменения в содержании различных БАВ практически линейно коррелируют с выходом липофильной фракции. Поэтому отклонения в количестве действующих веществ хладонового экстракта не столь заметны.

В результате проведенных исследований нами предлагается использовать плоды шиповника со следующими количественными характеристиками: содержание липофильной фракции — не менее 3 %; β-каротина — не менее 15 мг%; галактолипида (как основного БАВ) — не менее 20 мг%.

Тонкослойное хроматографирование липофильного экстракта выявило основные классы липидов (Рис. 1): моно-, диглицериды (R_f=0.14), стерины (R_f=0.27-0.32), свободные жирные кислоты (R_f=0.59), триглицериды (наиболее интенсивное пятно с R_f=0.79), каротин (R_f=0.91).

При анализе неомыляемой фракции хладонового экстракта в сравнении с веществом-свидетелем препаратом «Аевит» было установлено наличие ретинола (темно-синее пятно с R_f=0.09), токоферола (коричневое пятно с R_f=0.45) и каротина (синее пятно с R_f=0.85) (Рис. 1).

Двумерное хроматографирование полярных липидов шиповника в различных системах показало, что наиболее оптимальной является подвижная фаза ацетон - бензол - вода (91:30:8) (Рис. 2).

Как видно из Рис. 2, на уровне действующего вещества (R_f=0.71) не проявляется никаких других соединений, поэтому в дальнейшем разделение липидных компонентов осуществлялось в одной системе.

В результате одномерного хроматографирования различных объемов растворов 1 и 2 в системе ацетон - бензол - вода (91:30:80) было установлено, что наилучшее разрешение и от-

Таблица 1

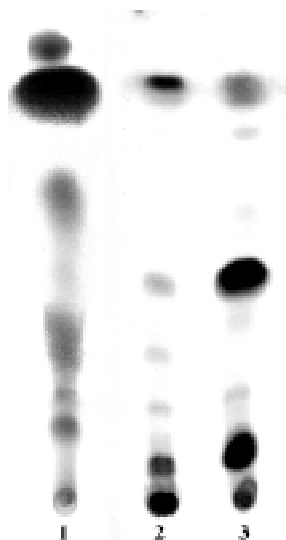
Содержание основных групп БАВ в плодах шиповника в зависимости от времени и места заготовки

Показатель	Место, время сбора, номер серии					
	Харьковская обл.*		Киевская обл.		АР Крым	
	2004	2005	2004	2005	2004	2005
	010904	010905	020904	020905	030904	030905
<i>Сырье (в пересчете на абсолютно сухое сырье)</i>						
выход липофильной фракции, %	2.8	9.45	2.17	7.9	4.45	9.8
сумма токоферолов, мг%	12	44.6	10.2	35	21.1	51.2
сумма фитостеринов, мг%	22.2	77.8	19.4	70.8	41.2	101.4
содержание β-каротина, мг%	13.4	52	12.1	40.9	24.8	65.5
содержание ДОТГГ, мг%	11.4	44.5	10.1	35.8	20.4	52.4
<i>Липофильная фракция</i>						
сумма токоферолов, мг%	407	448	447	421	450	496
сумма фитостеринов, мг%	753	782	849	851	880	983
содержание β-каротина, мг%	453	523	530	492	529	635
содержание ДОТГГ, мг%	387	447	442	431	436	508

Примечание.

* — сырье, заготовленное в Донецкой области, по своим показателям практически не отличалось от сырья, заготовленного в Харьковской области.

Рисунок 1

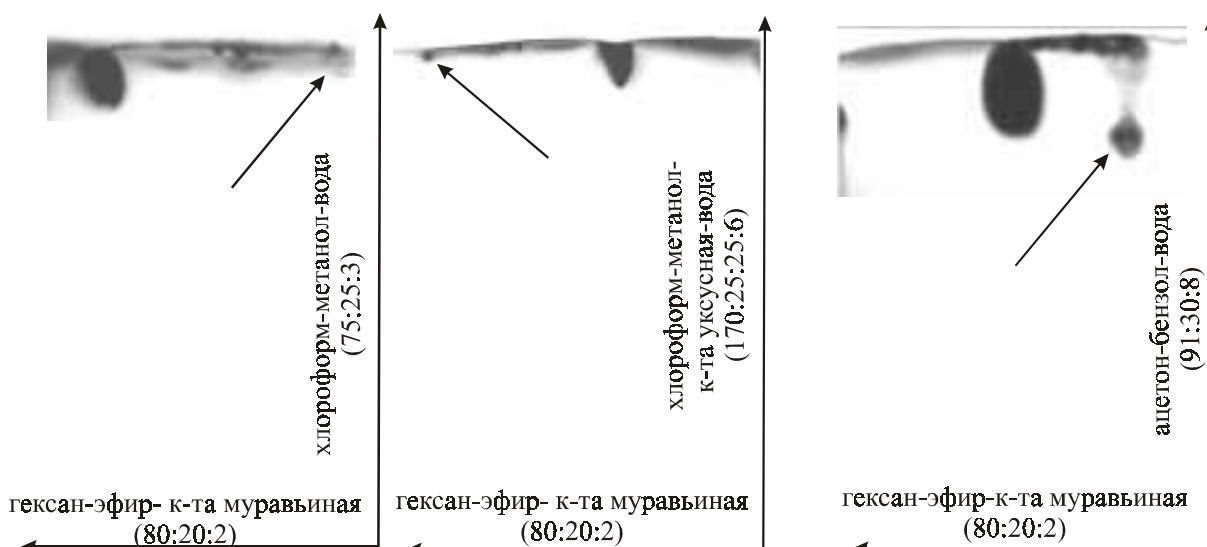


Хроматограмма основных классов БАВ экстракта шиповника

- 1 — липофильный экстракт (система растворителей гексан - диэтиловый эфир - кислота муравьиная (80:20:2);
 2 — неомыляемая фракция экстракта шиповника (растворитель бензол);
 3 — неомыляемая фракция препарата «Аевит» (растворитель бензол).

четливое проявление пятна действующего вещества достигается для 5-20 мкл раствора 1. Дальнейшее увеличение количества галактолипида в пробе и объема наносимой на пластину пробы приводит к появлению «хвостов» и резкому изменению значений R_f пятен (Рис. 3).

Рисунок 2



Хроматограммы полярных липидов шиповника (стрелкой указано действующее вещество)

В результате проведенных исследований был построен калибровочный график зависимости площади пятна от количества галактолипида в пробе, на котором четко прослеживается линейность в диапазоне содержания ДОТГГ от 0.25 мкг до 1.0 мкг (Рис. 4).

Таким образом, разработанные в настоящей работе методики могут быть использованы для стандартизации плодов шиповника и липофильных препаратов на его основе.

Нами была также исследована стабильность хладонового экстракта (серия 011005П), полученного из шиповника урожая 2005 года (Харьковская обл., серия 010905) в течение 9 мес.

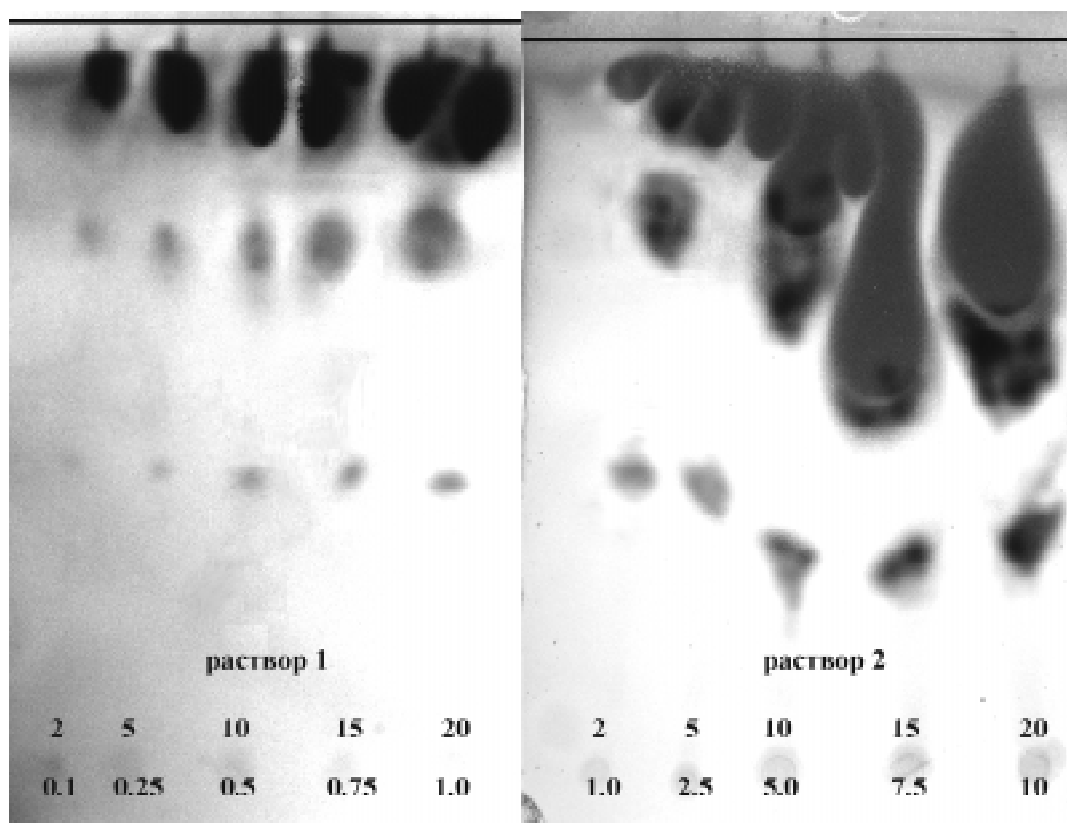
Полученные данные (Табл. 2) свидетельствуют о незначительных изменениях некоторых количественных показателей липофильного экстракта, что указывает на его достаточную стабильность при хранения даже в условиях комнатной температуры.

Выводы

Разработаны методики контроля качества плодов шиповника и липофильного комплекса, полученного экстракцией данного сырья сжиженным хладоном-22.

Показано, что выход хладонового экстракта и количество основных БАВ в сырье разного урожая могут различаться в 3.5-4 раза. Предлагается использовать в производстве плоды шиповника с содержанием липофильной фракции не менее 3 %; β -каротина — не менее 15 мг%; галактолипида (как действующего вещества) — не менее 20 мг%.

Рисунок 3



Хроматографирование различных количеств ДОТГГ липофильного комплекса плодов шиповника (цифры вверху — объем наносимой пробы, в микролитрах; цифры внизу — количество вещества, в микрограммах)

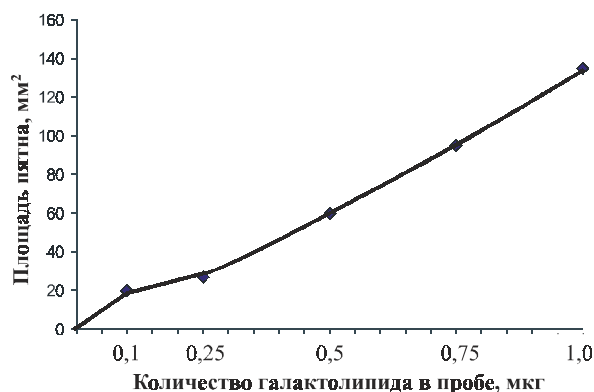
Тонкослойной хроматографией липофильного комплекса в системах растворителей гексан - диэтиловый эфир - кислота муравьиная (80:20:2) и бензол выявлены фитостерины, токоферол, каротин и ретинол.

Установлено, что количественный анализ галактолипида можно проводить путем измерения площади пятен с $R_f = 0.7-0.72$ после хроматографирования в системе растворителей

ацетон - бензол - вода (91:30:80). Количество вещества в наносимой пробе должно составлять 0.25 - 1.0 мкг.

Исследования стабильности экстракта шиповника показали, что его основные показатели качества практически не изменялись при наблюдении в течение 9 мес., хотя при хранении прослеживается определенная тенденция к увеличению кислотного и перекисного чисел. В настоящее время наблюдения продолжают.

Рисунок 4



Зависимость площади пятна от количества ДОТГГ

ЛИТЕРАТУРА

1. Бела́й І.М. Оцінка антиоксидантної дії лікарських рослин, які містять вітаміни // Фармацевтичний журнал. - 1998. - № 1. - С. 94-97.
2. Ветров П.П. Экстрагирование природных веществ из растительного сырья сжиженными газами // Технология и стандартизация лекарств: Сб. науч. тр. - Харьков: ООО «РИРЕГ», 1996. - С. 220-232.
3. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. - 11-е изд., доп. - М.: Медицина, 1987. - 400 с.
4. Демьяненко В.Г., Жехжах Самер, Демьяненко Д.В. Разработка технологии липофильной фракции из плодов шиповника и ее фитохимическое исследование // Материалы VI Нац. съезда фармацевтов Украины - Харьков: Изд-во НФаУ, 2005. - С. 697.

Таблиця 2

Качественные и количественные показатели липофильного экстракта плодов шиповника (серия 011005П)

Показатели качества	Срок хранения, мес.			
	0	3	6	9
описание	густая маслянистая масса темно-красного цвета		густая маслянистая масса красного цвета, на поверхности – тонкая пленка	
плотность, г/см ³	0.927	0.925	0.930	0.929
сумма токоферолов, мг%	448	422	417	405
фитостерины, мг%	782	778	785	757
содержание β-каротина, мг%	523	515	491	480
содержание ДОТГГ, мг%	447	440	442	446
кислотное число	1.18	1.57	2.01	2.25
перекисное число	0.02	0.04	0.14	0.21
число омыления	180.5	181.5	174.9	182.4
йодное число	168.1	138.6	132.7	119.0
микробиологическая чистота:				
- бактерий, КОЕ/г	90	70	80	80
- грибов, КОЕ/г	40	20	30	20
- Enterobacteriaceae	нет	нет	нет	нет

Примечание.

n = 5

5. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: PIPEГ, 2001. - 556 с.

6. Лагазидзе Л.С., Муравьева Д.А., Бостоганашвили В.С. // Хим.-фарм. журн. - 1984. - № 6. - С. 713-717.

7. Матасова С.А., Рыжова Г.Л., Дычко К.А. Химический состав сухого водного экстракта из шрота шиповника // Химия растительного сырья. - 1997. - № 2. - С. 28-31.

8. Москаленко С.В., Житарь Б.Н., Писарев Д.И. Изучение желчегонного действия фитокомплекса корневищ с корнями *Rosa pulverulenta* Vieb. // Материалы 55 региональной конференции по фармации, фармакологии и подготовке кадров. - Пятигорск, 2000. - С. 211.

9. Перспективы создания лекарственной формы на основе плодов шиповника / Мухамеджанова Д.М., Киселева Г.С., Юсупова С.Д., Толстокулаков А.Н. // Тез. докл. 4 Рос. нац. конгр. «Человек и лекарство». - М., 1997. - С. 278.

10. Никитюк В.Г., Привалова Э.Г., Кудрицкая С.Е. Исследование каротиноидного комплекса препарата «Липохромин» // Физиологично активні речовини. - 1999. - № 2. - С. 70-74.

11. Пат. 42300 України, МКВ А61К35/78. Протизапальний, репаративний та протирадіаційний засіб «Ліпохромін» у формі супозиторіїв / Георгієвський В.П., Козлова Н.Г., Довга І.М. та ін.; Державний науковий центр лікарських засобів. - Заявл. 27.12.2000; Опубл. 15.12.03, Бюл. №12. - 4 с.

12. Самылина И.А., Мухамеджанова Д.М., Шашкина М.Я. Иммуномодулирующая активность каротин-токоферольного комплекса из плодов шиповника // 2-й Международный съезд «Актвал. пробл. создания нов. лекарств. препаратов природы. происхождения», Санкт-Петербург-Валаам, 29 июня - 2 июля, 1998. - СПб, 1998. - С. 180-181.

13. Широко Т.С. Химический состав плодов видов *Rosa* L., выращиваемых в Белоруссии // Растельные ресурсы. - 1991. - Т. 27. - Выпуск 2. - С. 59.

14. Chouda1 M., Jankowski W. The occurrence of polyphenols in seeds and leaves of woody plants // Acta Biochim. Pol. - 2005. - Vol. 52, No. 1. - P. 243 - 253.

15. Christie W.W., Dobson G. Thin-layer chromatography-revisited // Lipid Technology. - 1999. - No. 11. - P. 64-66.

16. Effects of *Rosa canina* fruit extract on neutrophil respiratory burst / Daels-Rakotoarison D.A., Gressier B., Trotin F. et al. // Phytotherapy Research. - 2002. - Vol. 16. - P. 157 - 161.

17. Carotenoid composition of *Rosa canina* fruits determined by thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography / Hodisana T., Socaciub C., Ropanb I., Neamtub G. // J. of Pharmaceutical and Biomed. Analysis. - 1997. - Vol. 16, No. 3. - P. 521-528.

18. Larsen E., Kharazmi A., Christensen L.P., Christensen S.B. // Journal of Natural Products. - 2003. - Vol. 66. - P. 994-995.

19. Rein E., Kharazmi A., Winther K. // Phytomed. - 2004. - No. 11. - P. 383-391.

20. Rose hip (*Rosa canina* L.) oil obtained from waste hip seeds by different extraction methods / Szentmihalyi K., Vinkler P., Lakatos B., Illes V., Then M. // Bioresour. Technol. - 2002. - Vol. 82, No. 2. - P. 195-201.

21. Zlatanov Magdalen D. Lipid composition of Bulgarian chokeberry, black currant and rose hip seed oils // Journal of the Science of Food and Agriculture. - 1997. - Vol. 79, No. 12. - P. 1620 - 1624.

Резюме

Дем'яненко В.Г., Жехжах Самер, Дем'яненко Д.В.

Розробка методик контролю якості ліпофільного екстракту плодів шипшини

Проведено дослідження якісного та кількісного складу плодів шипшини та ліпофільного комплексу, виділеного із сировини екстракцією хладоном. За допомогою тонкошарової хроматографії в різних системах розчинників було виявлено основні групи БАР. Розроблено методики стандартизації сировини й ліпофільного екстракту шипшини за основними діючими речовинами – галактоліпідом і каротином. Вивчено стабільність хладонового екстракту при зберіганні. Показано, що його показники якості не змінюються протягом 9 місяців.

Summary

Demyanenko V.G., Zekhzakh Samer, Demyanenko D.V.

Development of methods of quality control of dog rose hips lipophilic extract

The study of qualitative and quantitative analysis of dog rose hips and lipophilic complex, isolated by chladones extraction from herbal drug, was given. By thin-layer chromatography in different solvent systems main groups of biologically active substances were revealed. Methods of herbal drug and lipophilic extract standardization by basic active substances — galactolipid and carotene were developed. The stability of chladone extract at the storage was studied. It was shown that its quality indices did not changed at the storage during 9 months.

Демьяненко Виктор Григорьевич. Профессор (1992). Д.фарм.н. (1991). Зав. кафедрой товароведения Национального фармацевтического университета (НФаУ).

Жехжах Самер. Аспирант кафедры товароведения НФаУ.

Демьяненко Дмитрий Викторович. Доцент кафедры заводской технологии лекарств НФаУ. К.фарм.н. (2004).

Технологія лікарських засобів

УДК 615.453.3:616.33-002.44:549.67

Рибачук Д.В., Рибачук В.Д., Пашнев П.П.
Національний фармацевтичний університет

Розробка складу та технології таблеток природного цеоліту

Експериментально обґрунтовано застосування методу вологої грануляції для одержання таблеток природного цеоліту. Проведено дослідження процесу грануляції порошку природного цеоліту. Вивчено вплив виду та концентрації зв'язувальних та інших допоміжних речовин на фізико-хімічні, технологічні властивості таблеткових мас і показники якості таблеток. Розроблено склад і запропоновано раціональну технологію виготовлення таблеток.

Хімізація багатьох сторін діяльності людства спричиняє передумови для виникнення тяжких та смертельних інтоксикацій. Найбільш часто отруєння викликаються кількома групами хімічних речовин: спиртом етиловим і його замінниками, лікарськими препаратами та іншими сполуками [1, 2].

Актуальною проблемою є стрімке зростання отруєнь індивідуальними лікарськими препаратами, а також при їх комбінуванні, що обумовлено доступністю лікарських засобів, поширенням самолікування, передозуванням препаратами, зростанням кримінальних отруєнь [3-5].

У зв'язку зі складною токсикологічною ситуацією надзвичайно важливим є забезпечення невідкладних заходів із попередження та лікування гострих інтоксикацій.

На нашу думку, природні цеоліти, що мають сорбційні, радіопротекторні, іонообмінні та інші властивості, мають поповнити перелік ентеросорбентів, використовуваних практичною медициною.

Метою даної статті є узагальнення результатів досліджень із розробки складу та технології таблетованої форми природного цеоліту.

Об'єкти та методи

Об'єктом досліджень обрано попередньо подрібнений порошок природного цеоліту

(містить близько 87 % алюмосилікатів (Сокірянське родовище, Закарпатська обл.)). Як допоміжні речовини застосовували аеросил, кальцію стеарат, крохмаль картопляний, цукор, натрій карбоксиметилцелюлозу (NaКМЦ), полівінілпіролідон (ПВП).

Вивчення форми та розмірів часток природного цеоліту, а також характеру їх поверхні проводили із використанням мікроскопа «Mikrohot-D16B», спорядженого мікрометричною сіткою, при збільшенні у 200 разів. Вологовміст порошоків визначали експрес-воломіром ВТ-500 [6]. Технологічні властивості визначали за методикою [7].

Результати досліджень та їх обговорення

Із метою теоретичного обґрунтування складу та технології таблеток природного цеоліту вивчено фізико-хімічні та фармако-технологічні властивості природного цеоліту: форму та розмір часток, фракційний склад, вологовміст, плинність, пресуємість, насипний об'єм та ін.

Визначено, що природний цеоліт — дуже дрібний порошок, що складається із часток ізометричної форми (у вигляді безформних рівновісних пористих включень) і анізометричних часток (у вигляді коротких пластин, голок).

Таблиця 1

Вивчення впливу рН на обмінну ємність та втрату цеоліту (вихідна наважка 5 г)

Показник	рН травного соку			
	1.2	2.0	5.0	7.0
обмінна ємність, мг/г	1.98-2.0	1.99-2.0	1.99-2.00	1.99-2.00
визначено цеоліту, г	4.98-5.05	4.95-5.06	4.95-5.05	4.97-5.05

Лінійні розміри часток порошку природного цеоліту:

- частки ізометричної форми мають розміри від 4 мкм до 80 мкм;
- частки анізодіаметричної форми завдовжки від 40 мкм до 100 мкм, завширшки від 8 мкм до 30 мкм, коефіцієнт лінійних розмірів $K=0.3$.

Поверхня часток грубо-шорсткувата, пориста, губкоподібна. У міру випаровування води формуються кристали у вигляді довгастих призм і голок. Частки порошку легко агрегують, утворюючи компактні конгломерати, що можуть сприйматися як окрема оптично щільна частинка.

Результати досліджень показали, що субстанції властиві низькі значення плинності та пресуємості. Тому, враховуючи дозу природного цеоліту, є очевидною неможливість одержання таблеток методом прямого пресування без додавання допоміжних речовин. Це зумовило пошук допоміжних речовин, що збільшують міцність таблеток (зв'язувальних речовин) та покращують плинність таблеткової маси (ковзних речовин).

Оскільки таблетована лікарська форма по-свідовно проходить крізь шлунково-кишковий тракт (ШКТ), за доцільне вважали дослідити вплив реакції середовища на обмінну ємність субстанції, а також визначити можливі втрати цеоліту в умовах ШКТ. Для моделювання середовища ШКТ (норма та патологія) використано штучний травний сік із різним значенням рН. Результати визначення наведено в Табл. 1.

Дані, наведені в Табл. 1, свідчать, що рН середовища не впливає на втрату цеоліту та на обмінну ємність як основний показник його сорбційної якості. Природний цеоліт не реагує з кислотами та лугами. Тобто, при вживанні природного цеоліту як ентеросорбента не існує загрози зміни природного значення рН в шлунку та кишечнику. Таким чином, нами зроблено висновок, що природний цеоліт не викликає при лікуванні побічної дії на стан шлунка та кишечника.

Відповідно до [7] до складу таблеток доцільно включати допоміжні речовини, що поліпшують пресуємість, наприклад, цукор, крохмаль і ковзні та змащувальні речовини —

Таблиця 2

Склад і технологічні показники таблеткових мас

№ складу	Склад на 1 таблетку, г	Показник				
		плинність, с/100 г зразка або г/с	насіпна густина, г/см ³	кут природного укусу, градус	пресуємість, Н	вологівміст, %
1.	цеоліт 0.5	40.0 ± 1.28 2.5 ± 0.04	0.75 ± 0.03	41.0 ± 1.0	21 ± 1.0	0.6 ± 0.04
	цукор 0.085					
	аеросил 0.015					
2.	цеоліт 0.5	37.7 ± 0.67 2.65 ± 0.02	0.67 ± 0.04	41.0 ± 1.0	20.0 ± 1.0	0.55 ± 0.05
	крохмаль 0.085					
	аеросил 0.015					
3.	цеоліт 0.5	37 ± 1.37 2.7 ± 0.05	0.69 ± 0.03	41.0 ± 1.0	19.5 ± 1.0	0.65 ± 0.08
	крохмаль 0.095					
	кальцію стеарат 0.005					
4.	цеоліт 0.5	35.7 ± 0.28 2.8 ± 0.05	0.68 ± 0.05	41.0 ± 1.0	20.0 ± 1.0	0.64 ± 0.05
	крохмаль 0.08					
	кальцію стеарат 0.005					
	аеросил 0.015					

Примітка.

n = 5; P = 95 %

аеросил, кальцію стеарат. Було виготовлено суміші з різним співвідношенням допоміжних речовин. Таблетки одержували методом прямого пресування. Склад і технологічні показники таблеткових мас наведено у Табл. 2.

Як свідчать дані Табл. 2, введення до складу ковзних речовин дещо підвищило плинність маси. Аналіз даних також показав, що введення до складу лікарської форми зазначених допоміжних речовин не призвело до суттєвого покращення пресуємості. Таким чином, для одержання таблеток із природним цеолітом і зазначеними допоміжними речовинами неможливе застосування методу прямого пресування. Тому подальші дослідження

було направлено на вибір оптимальної зв'язувальної речовини.

У виробництві таблеток зв'язувальні речовини мають велике значення, тому що вони, поряд з іншими факторами, визначають технологічні властивості матеріалу (його поведінку під час пресування) та мають вплив на міцність, розпадання, зовнішній вигляд таблетки [8].

Було проведено порівняльні дослідження впливу ряду зв'язувальних речовин на основні технологічні властивості грануляту та показники якості одержаних таблеток. Як зволожувач таблеткової маси використовувалися: 5 % і 10 % крохмальний клейстер; 1 %, 2 %, 3 % роз-

Таблиця 3

Залежність основних технологічних властивостей гранулятів від концентрації зволожувача

Зволожувач	Показник				
	плинність, с/100 г зразка або г/с	насіпна густина, г/см ³	кут природного укусу, градус	пресуємість, Н	вологвміст, %
5 % крохмальний клейстер	24.69 ± 0.49 4.05 ± 0.04	1.25 ± 0.03	36.0 ± 1.0	64.5 ± 0.02	0.65 ± 0.03
10 % крохмальний клейстер	24.1 ± 0.23 4.15 ± 0.02	1.37 ± 0.04	34.0 ± 1.0	65.0 ± 0.03	0.70 ± 0.02
1 % розчин NaКМЦ	26.0 ± 0.67 3.85 ± 0.05	1.12 ± 0.03	38.0 ± 1.0	59.0 ± 0.04	0.68 ± 0.04
2 % розчин NaКМЦ	26.0 ± 0.67 3.85 ± 0.05	1.21 ± 0.05	37.0 ± 1.0	60.0 ± 0.02	0.75 ± 0.05
3 % розчин NaКМЦ	25.3 ± 0.51 3.95 ± 0.04	1.28 ± 0.03	36.0 ± 1.0	61.0 ± 0.03	0.73 ± 0.03
1 % розчин ПВП	26.0 ± 0.67 3.85 ± 0.05	1.25 ± 0.04	37.0 ± 1.0	60.0 ± 0.02	0.68 ± 0.05
2 % розчин ПВП	25.3 ± 0.51 3.95 ± 0.03	1.30 ± 0.03	36.0 ± 1.0	61.0 ± 0.03	0.65 ± 0.02
3 % розчин ПВП	22.2 ± 0.1 4.50 ± 0.01	1.35 ± 0.05	35.0 ± 1.0	63.0 ± 0.01	0.73 ± 0.03

Примітка.

n = 5; P = 95 %.

Таблиця 4

Показники якості таблеток, виготовлених із використанням різних зволожувачів

Зволожувач	Показник			
	розпадання, с	стійкість до роздавлювання, Н	стираність, %	обмінна ємність, мг екв/г
5 % крохмальний клейстер	320 ± 10	45.05 ± 0.05	0.42 ± 0.05	1.90
10 % крохмальний клейстер	495 ± 12	50.15 ± 0.08	0.33 ± 0.03	1.85
1 % розчин NaКМЦ	800 ± 15	44.65 ± 0.04	0.45 ± 0.04	1.50
2 % розчин NaКМЦ	900 ± 10	48.25 ± 0.05	0.35 ± 0.05	1.40
3 % розчин NaКМЦ	1150 ± 10	51.05 ± 0.05	0.30 ± 0.05	1.30
1 % розчин ПВП	900 ± 12	33.55 ± 0.05	0.38 ± 0.02	1.60
2 % розчин ПВП	950 ± 18	37.25 ± 0.03	0.30 ± 0.03	1.58
3 % розчин ПВП	1050 ± 15	39.15 ± 0.05	0.25 ± 0.05	1.50

Примітка.

n = 5; P = 95 %.

чини NaКМЦ; 1 %, 2 %, 3 % розчини ПВП. Гранулювання проводили шляхом протирання достатньо зволоженої маси через гранулятор із діаметром отворів 1.5 мм. Сушіння вологих гранул проводили у сушильній шафі при температурі (45-50) °С. Висушені до залишкового вологовмісту (1.0 ± 0.5 %) гранули обпудрювали кальцієм стеаратом і досліджували. Масу таблетували пуансонами з глибиною сфери ($R = 0.75D$) і діаметром 10 мм.

Через те, що препарат планується використовувати як адсорбент, крім основних технологічних параметрів одержаних гранул, вивчався вплив виду та концентрації зволожувача на обмінну ємність природного цеоліту. Визначення обмінної ємності проводили за методикою [11]. Результати аналізу наведено в Табл. 3, 4.

Як показали результати досліджень (Табл. 3), зі зростанням концентрації зв'язувальної речовини збільшується плинність та пресуємість одержаного грануляту. Із даних, представлених у Табл. 4, видно, що таблетки, одержані при зволоженні 5 % крохмальним клейстером, мають найбільшу обмінну ємність. При використанні інших допоміжних речовин спостерігалось значне зниження активності (обмінної ємності) природного цеоліту. Тому, оптимальним слід вважати склад, зволожений 5 % крохмальним клейстером. Одержані таблетки мають достатню стійкість до роздавлювання — 45.05 Н, стиранність не перевищує 1 %, час розпадання — 15 хв.

Таким чином, на основі проведених досліджень встановлено, що якість таблеток зі складом: порошок природного цеоліту — 0.4 г; крохмаль картопляний — 0.094 г; кальцієм стеарат — 0.006 г (із розрахунку на одну таблетку середньою масою 0.5 г) відповідає вимогам ДФУ.

Висновки

1. Експериментально обгрунтовано застосування методу вологої грануляції для одержання таблеток із природного цеоліту.

2. Проведено дослідження процесу грануляції порошку природного цеоліту та впливу виду і концентрації зв'язувальної речовини на технологічні властивості грануляту та показники якості таблеток. Для одержання якісних таблеток рекомендовано застосовувати 5 % крохмальний клейстер.

3. На основі вивчення фізико-хімічних, фармако-технологічних властивостей таблеткових мас та одержаних таблеток встановлено оптимальний склад таблетованої лікарської форми та технологію її одержання.

ЛІТЕРАТУРА

1. Круть М.И., Зарафьянц Г.Н. Острые несмертельные отравления лекарственными препаратами // Судебно-медицинская экспертиза. — 1991. - № 3. — С. 36-38.
2. Современное состояние и перспективы развития судебно-медицинской токсикологии / Томинин В.В., Лужников Е.А., Рубцов А.Ф. и др. // Там же. - 1989. - № 3. - С. 17-22.
3. Лужников Е.А. Клиническая токсикология. — М.: Медицина, 1982. — 368 с.
4. Могош Г. Острые отравления. — Бухарест: Мед. изд-во, 1984. — 580 с.
5. Лудевич Р., Лос К. Острые отравления. — М.: Медицина, 1983. — 560 с.
6. Борзунов Е.Е. Исследование в области физико-химической технологии таблетирования порошкообразных веществ: Авториф. дис. ... д.фарм.н. — Львов, 1972. - 24 с.
7. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEG, 2001. — 556 с.
8. Башура О.Г., Пересацько І.Г., Половко Н.П. Розробка складу і технології таблетованої форми з листя каштану кінського / Вісник фармації. — 2005. - № 3. — С. 9-12.
9. Kornchankul W., Paric N., Sacr A. // Drags made Germ. — 2001. — Vol. 44, No. 3. — P. 78-87.
10. Silva G.D., Publio M.C., Olivera W.P. // Drug Dev. and Ind. Pharm. — 2001. — Vol. 27, No. 3. — P. 213-219.
11. ТУ 21 УРСР 485-90. Цеоліт природний для використання в сільському господарстві, будівництві та інших галузях народного господарства. — Київ, 1991. — 17 с.

Резюме

Рыбачук Д.В., Рыбачук В.Д., Пашнев П.П.

Разработка состава и технологии таблеток природного цеолита

Експериментально обосновано применение метода влажной грануляции для получения таблеток природного цеолита. Проведено исследование процесса грануляции порошка природного цеолита. Изучено влияние вида и концентрации связующих и других вспомогательных веществ на физико-химические, технологические свойства таблеточных масс и показатели качества таблеток. Разработан состав и предложена рациональная технология получения таблеток.

Summary

Rybachuk D.V., Rybachuk V.D., Pashnev P.P.

Development of composition and technology of natural zeolite tablets

Use of damp granulation method for the obtaining of natural zeolite tablets was experimentally grounded. Study of the granulation of natural zeolite powder was conducted. The influence of type and concentration of binders and other excipients to physico-chemical and technological properties of tableting mass and tablets quality indices was studied. It was developed the composition and efficient technology of tablets obtaining was suggested.

Рибачук Дмитро Васильович (н. 1944). Закінчив Харківський фармацевтичний інститут. К.фарм.н. Доцент кафедри заводської технології ліків НФаУ.

Рибачук Василь Дмитрович (н. 1980). Закінчив Національну фармацевтичну академію України. Асистент кафедри заводської технології ліків НФаУ.

Пашнів Павло Петрович (н. 1977). Закінчив Українську фармацевтичну академію. К.фарм.н. Асистент кафедри заводської технології ліків НФаУ.

УДК 615.453.4:615

Загорій В.А., Стромко С.Б., Буцька В.Є., Перемот З.П., Загорій Г.В.
Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика
Закрите акціонерне товариство «Фармацевтична фірма «Дарниця»

Дослідження пресуємості лактози моногідрату в технології препарату «Бромгексин-Дарниця», таблетки по 8 мг, одержаного методом прямого пресування

Технологія виробництва препарату «Бромгексин-Дарниця», таблетки по 8 мг, оновлена: замість методу вологої грануляції використано метод прямого пресування. Це дозволило покращити якість таблеток згідно вимог Державної Фармакопеї України (ДФУ). Збережено біофармацевтичні показники та забезпечено економічний ефект від впровадження науково-експериментальної розробки препарату.

Дотепер на вітчизняних заводах у таблетковому виробництві переважає метод вологої грануляції. Процес вологої грануляції складається з ряду технологічних операцій: змішування компонентів, зволоження, грануляції, сушіння гранулятів, сухого гранулювання, опудрювання гранулята. На ці операції витрачається не менш 50-70 % загального часу виробництва таблеток. За літературними даними, перехід технологічного потоку на метод прямого пресування дає економію 80 % виробничої площі, 60 % витрат на устаткування, 95 % витрат енергії та 75 % витрат робочої сили [1].

Метою даної статті є узагальнення результатів роботи із удосконалення технології таблеток «Бромгексин-Дарниця» та переведення виробництва цього лікарського засобу на пряме пресування.

Одним із препаратів, що потребує перегляду технології, є лікарський засіб «Бромгексин-Дарниця», таблетки по 8 мг. Його виробництво проводилося за технологією вологої грануляції. До складу препарату входили: бромгексину гідрохлорид (4.0 %), лактоза моногідрат (ЛМ) (75.0 %), цукор-рафінад (3.0 %), крохмаль картопляний (17.10 %), кальцію стеарат (0.9 %). Середня маса таблетки 0.2 г. Як зволожувач використовувався 5 % крохмальний клейстер. У зв'язку із жорсткістю вимог до якості лікарських препаратів, згідно Доповнення 1 до ДФУ, перед нами постала задача оптимізувати склад препарату та перевести технологію його виробництва з вологої грануляції на пряме пресування при збереженні біофармацевтичних властивостей препарату [2, 3].

Робота була проведена на базі дослідницької лабораторії та цеху твердих і м'яких лікарських засобів «ЗАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця»». В експерименті використовувалися методики, описані в [1, 4, 5].

Результати та їх обговорення

Результати досліджень фізико-хімічних і технологічних характеристик компонентів

складу таблеток показали, що порошкоподібна субстанція бромгексину гідрохлориду практично не впливає на пресуємість таблеткової маси.

Аналізуючи раніше затверджений склад препарату, виявили недоцільність застосування цукру-рафінаду як додаткового наповнювача. Як єдиний наповнювач було обрано ЛМ. Як змащувальну речовину та дезінтегрант було залишено зі «старого» складу кальцію стеарат та крохмаль картопляний.

Підбір необхідної марки ЛМ, що відповідає вимогам плинності та пресуємісті, здійснювався з найбільш популярних на українському ринку марок ЛМ, що рекомендуються фірмами-виробниками для проведення таблетування методом прямого пресування.

Для дослідження відібрано зразки ЛМ (умовно 1, 2, 3) (Рис. 1, 2, 3), що згідно технічним даним виготовляються шляхом розпилювального сушіння та відсівання потрібних фракцій із суміші, отриманої грануляцією.

Результати ситового аналізу показали, що, хоча зразки порошоків відрізняються формою і розмірами часток, фракційними складами, характеристики плинності та пресуємісті у деяких із них практично однакові.

Дані з вивчення фізико-хімічних і технологічних характеристик цих порошоків представлено в Табл. 1.

Дані з вивчення фізико-хімічних і технологічних властивостей інших марок ЛМ (зразки 4, 5, 6) (Рис. 4, 5, 6) наведено в Табл. 2. Зразки порошоків ЛМ 4, 5, отримані методом розпилювального сушіння, мають високі показники пресуємісті. Зразок 6, одержаний методом грануляції, має показник пресуємісті вдвічі менший за аналогічний показник зразків 4, 5.

Зразки ЛМ 7, 8 (Рис. 7, 8) одержані методом розпилювального сушіння. Дані з вивчення фізико-хімічних і технологічних властивостей цих зразків ЛМ наведено в Табл. 3.

Таблиця 1

Фізико-хімічні та технологічні властивості порошків ЛМ (зразки 1, 2, 3)

Показник	Значення показника		
	зразок 1	зразок 2	зразок 3
<u>фракційний склад, %</u>			
< 63 мкм	2.0	9.0	6.0
63 мкм – 100 мкм	4.0	5.0	26.0
100 мкм – 150 мкм	11.0	10.0	32.0
150 мкм – 200 мкм	14.0	33.0	26.0
200 мкм – 250 мкм	30.0	32.0	9.0
250 мкм – 400 мкм	36.0	6.0	1.0
400 мкм – 500 мкм	3.0	5.0	-
вологівміст, %	0.2	0.4	0.4
насіпна густина, г/мл	0.52	0.55	0.60
густина після усадки, г/мл	0.635	0.63	0.705
кут природного укусу, градус	31.9	32.2	32.2
плинність, с/100 г зразка	13.21	12.59	16.50
пресуємість, Н	65	65	80
розпадання модельного запресування, хв	1	1.5	2

Примітка.

n = 3.

Таблиця 2

Фізико-хімічні та технологічні властивості ЛМ (зразки 4, 5, 6)

Показник	Значення показника		
	зразок 4	зразок 5	зразок 6
<u>фракційний склад, %</u>			
63 мкм - 100 мкм	14.0	10.0	13.0
100 мкм - 150 мкм	39.2	33.0	19.0
150 мкм - 200 мкм	11.8	31.0	30.5
200 мкм - 250 мкм	15.0	16.0	9.0
250 мкм - 400 мкм	20.0	10.0	18.0
400 мкм - 500 мкм	-	-	10.0
вологівміст, %	0.4	0.6	0.1
насіпна густина, г/мл	0.61	0.62	0.53
густина після усадки, г/мл	0.68	0.67	0.61
кут природного укусу, градус	32.2	32.2	31.7
плинність, с/100 г зразка	16.00	16.31	13.51
пресуємість, Н	210	250	100
розпадання модельного запресування, хв	12	12	2.5

Примітка.

n=3.

Зразки 7, 8 характеризуються середніми показниками пресуємістості.

Як видно із наведених даних, усі марки ЛМ характеризуються належною плинністю, трохи кращою у марок, виготовлених методом розпилювального сушіння (ЛМ цих марок складається із часток сферичної форми). Однак, пресуємість варіює у широких межах. Через відсутність у складі зв'язувальних речовин, для препарату «Бромгексин-Дарниця», таблетки по 8 мг, належну плинність необхідно поєднати з належною пресуємістю. Виходячи із зазначеного, дослідження продовжили

зі зразками 4, 5, одержаними методом розпилювального сушіння.

Запресування цих порошків характеризується високою міцністю, але гіршим розпаданням. Тому до складу препарату «Бромгексин-Дарниця», таблетки по 8 мг, необхідно ввести достатню кількість крохмалю картопляного як дезінтегранта [5]. За рівних співвідношень компонентів, таблетки, приготовані на основі зразка ЛМ 5, мали кращі фізико-технологічні показники.

За літературними даними та результатами фармацевтичної розробки в лабораторних

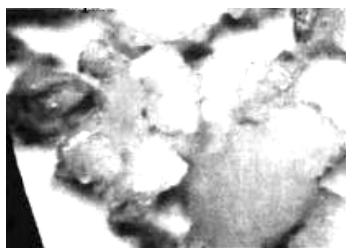
Таблиця 3

Фізико-хімічні та технологічні властивості порошків ЛМ (зразки 7, 8)

Показник	Значення показника	
	зразок 7	зразок 8
фракційний склад, %		
< 63 мкм	14.5	15.0
63 мкм - 100 мкм	36.5	38.0
100 мкм - 150 мкм	18.0	29.0
150 мкм - 200 мкм	19.0	10.0
200 мкм - 250 мкм	-	7.0
250 мкм - 300 мкм	-	1.0
вологівміст, %	0.4	0.06
насіпна густина, г/мл	0.52	0.52
густина після усадки, г/мл	0.56	0.56
кут природного укосу, градус	32,0	32,0
плинність, с/ 100 г зразка	16.31	16.50
пресуємість, Н	135	115
розпадання модельного запресування, хв	3	3

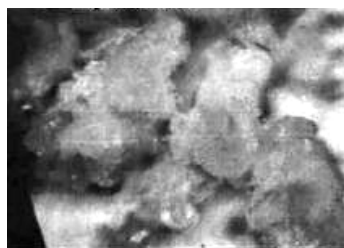
Примітка.
n=3.

Рисунок 1



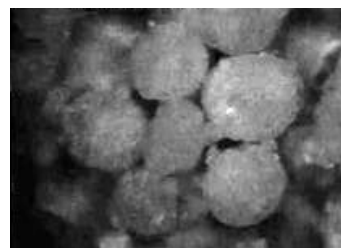
Зразок 1

Рисунок 2



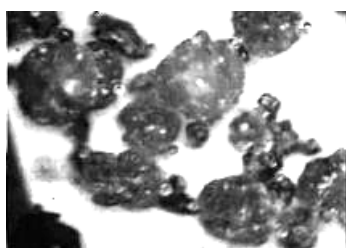
Зразок 2

Рисунок 3



Зразок 3

Рисунок 4



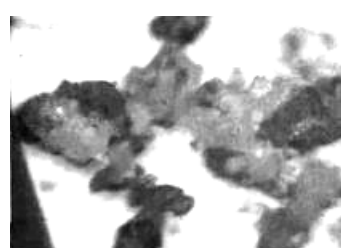
Зразок 4

Рисунок 5



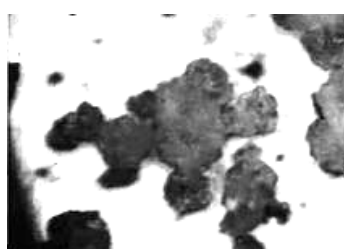
Зразок 5

Рисунок 6



Зразок 6

Рисунок 7



Зразок 7

Рисунок 8



Зразок 8

Таблиця 4

Характеристики таблеткової маси

Показник	Значення показника
вологоміст, %	1.22
насіпна густина, г/мл	0.52
густина після усадки, г/мл	0.61
кут природного укосу, градус	38.0
плинність, с/100 г зразка	13.29
фракційний склад, %	більше 65 % – від 50 мкм до 250 мкм менше 35 % – від 5 мкм до 50 мкм
зовнішній вигляд	таблеткова маса білого кольору
кількісне визначення, г	0.00808 у наважці 0.1200 г

умовах підбрано оптимальний кількісний склад обраних компонентів, що забезпечує якість таблеток відповідно до вимог ДФУ. Середня маса таблетки зменшилася до 0.12 г, діаметр таблетки становить 7 мм. Таблеткова маса обраного складу, одержана за технологією прямого пресування, має характеристики, зазначені у Табл. 4.

Таблетування одержаної маси проводили на таблетковому пресі Kilian, (тип S-250) у комплекті зі знепилювачем Kramer C810. Після установавання відповідної середньої маси таблетки досліджували оптимальний основний тиск пресування в інтервалі (6-25) кН при настановній продуктивності преса 30 тис.табл./год. За основного тиску 10 кН на пуансон, що відповідає питомому тискові 390 Н/мм², був одержаний оптимальний результат зі стійкості до роздавлювання та розпадання таблеток без їх схильності до розшарування. Далі здійснювався пошук оптимальної продуктивності преса в інтервалі (30-180) тис.табл./год. Збільшення продуктивності преса значно не вплинуло на характеристики готового продукту, що свідчить про належні технологічні властивості запропонованого складу.

Результати фармако-технологічних випробувань препарату «Бромгексин-Дарниця», таблетки по 8 мг, запропонованої фармацевтичної розробки:

зовнішній вигляд — таблетки білого кольору, із плоскою поверхнею, фаскою та рискою, середня маса таблетки — 0.12 г,

однорідність маси таблетки — відхилення від середньої маси становить не більше $\pm 5\%$, висота таблетки — 2.4 мм, діаметр таблетки — 7.0 мм,

стійкість таблетки до роздавлювання — не менше 65 Н,

стираність — 0.15 %,

час розпадання — 2 хв.

Напрацьовані у достатній кількості в цехових умовах зразки препарату «Бромгексин-

Дарниця», таблетки по 8 мг, закладено в архів для вивчення стабільності та можливості збільшення терміну придатності.

Зміна складу та технології виробництва препарату «Бромгексин-Дарниця», таблетки по 8 мг, не спричинили змін методик контролю якості. Аналіз ГЛЗ проводився за оновленим проектом АНД.

Результати аналізу:

зовнішній вигляд — таблетки майже білого кольору, із плоскою поверхнею, фаскою та рискою. За зовнішнім виглядом відповідають вимогам ДФУ,

ідентифікація — препарат відповідає вимогам проекту АНД,

сторонні домішки — препарат відповідає вимогам проекту АНД,

середня маса таблетки — 0.121 г,

кількісний вміст бромгексину гідрохлориду, у перерахунку на середню масу однієї таблетки — 0.0081 г,

кількість бромгексину гідрохлориду, що перейшов у середовище розчинення через 45 хв, складає (90 - 102) % від зазначеного в розділі «Склад на одну таблетку»,

час розпадання — не більше 2 хв,

стираність — не більше 0.15 %,

мікробіологічна чистота — препарат відповідає вимогам проекту АНД.

Зразки препарату «Бромгексин-Дарниця», таблетки по 8 мг, запропонованого складу пройшли аналітичний контроль. Результати відповідають вимогам усіх аналітичних тестів, зазначених у проекті АНД, і співпадають із результатами аналітичних випробувань препарату існуючого складу.

Переведення технології виробництва препарату на пряме пресування дозволило знизити витрати на виробництво на 4.22 %.

Висновки

1. У результаті внесення змін до складу препарату підбрано оптимальне співвідношення

допоміжних речовин з урахуванням позитивного впливу на фізико-механічні властивості таблеткової маси та таблеток «Бромгексин-Дарниця», по 8 мг, стабільності препарату при зберіганні.

2. Вивчено фізико-хімічні та технологічні характеристики зразків лактози моногідрату для методу прямого пресування таблеток, визначено зразки лактози моногідрату, що мають високі показники пресуємості та плинності, що дозволить у подальшому удосконалити технологію виробництва ряду таблетованих лікарських засобів ЗАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» (де це можливо) та перевести їх на пряме пресування.

ЛІТЕРАТУРА

1. Белоусов В.А., Вальтер М.Б. Основы дозирования и таблетирования лекарственных порошков. - М., 1980. - С. 11-48, 175-211.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. - Харків: РІРЕГ, 2001. - С. 160-161.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. Харків: РІРЕГ, 2001. — Доповнення 1. - 2004. - С. 73-74.
4. Таблеточные машины в медицинской промышленности / Под ред. д.т.н. Кольман-Иванова Э.Э. - М., 1975. - С. 7-68.
5. Технология и стандартизация лекарств: Сб. науч. тр. / Под ред. академика ИА Украины В.П. Георгиевского и профессора Ф.А. Конева - ООО «РИРЕГ», 1996. — 784 с.

Резюме

Загорій В.А., Стромко С.Б., Буцкая В.Е., Перемот З.П., Загорій Г.В.

Исследование прессуемости лактозы моногидрата в технологии препарата «Бромгексин-Дарниця», таблетки по 8 мг, полученного методом прямого прессования

Технология производства препарата «Бромгексин-Дарниця», таблетки по 8 мг, обновлена: вместо метода влажной грануляции использован метод прямого прессования. Это позволило улучшить качество таблеток со-

гласно требованиям Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ). Сохранены биофармацевтические показатели и обеспечен экономический эффект от внедрения научно-экспериментальной разработки препарата.

Summary

Zagoriy V.A., Stromko S.B., Butskaya V.E., Peremot Z.P., Zagoriy V.A.

Study of lactose monohydrate compressibility in the technology of preparation «Bromhexine-Darnitsa», tablet on 8 mg, obtained by direct compressing

The technology of the production of preparation «Bromhexine-Darnitsa», tablet on 8 mg, was renewed: instead of dump granulation was used the method of direct compressing. It allowed to improve tablets quality according to the State Pharmacopoeia of Ukraine (SPU) requirements. Biopharmaceutical indices were retained and economic effect from introduction of scientific and exploratory development of preparation was provided.

Загорій Володимир Антонович (н. 1951). Закінчив Ленінградський хіміко-фармацевтичний інститут. Генеральний директор ЗАТ «ФФ «Дарниця». Зав. кафедри промислової фармації Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. Д.фарм.н. Професор.

Стромко Сергій Борисович (н. 1975). Закінчив промисловий факультет Української фармацевтичної академії (1992). Провідний інженер-технолог дослідницької лабораторії ЗАО «ФФ «Дарниця».

Буцкая Вікторія Євгенівна. Закінчила Вітебський фармацевтичний інститут (1987). Доцент кафедри промислової фармації Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. К.фарм.н.

Перемот Зоя Павлівна. Закінчила Київський технічний інститут харчової промисловості (1978) і Національну фармацевтичну академію України (2001). Працює на ЗАО «ФФ «Дарниця» (від 1984).

Загорій Глеб Володимирович. Закінчив Київський інститут народного господарства і Національну фармацевтичну академію України (2001). Працює на ЗАО «ФФ «Дарниця». К.фарм.н.

Організація діяльності фармацевтичних підприємств

УДК 614.27:615.014.8(477)

Толочко В.М., Зарічкова М.В.
Національний фармацевтичний університет

Дослідження зовнішньоторговельної діяльності вітчизняних фармацевтичних оптових та оптово-роздрібних підприємств (організацій)

Досліджено зовнішньоторговельну діяльність вітчизняних фармацевтичних оптових і оптово-роздрібних підприємств (організацій) та визначено напрямки її оптимізації шляхом створення узагальнюючої схеми прийняття рішень по здійсненню найважливіших етапів: державних заходів регулювання, алгоритму державної реєстрації, блок-схеми акредитації на митниці.

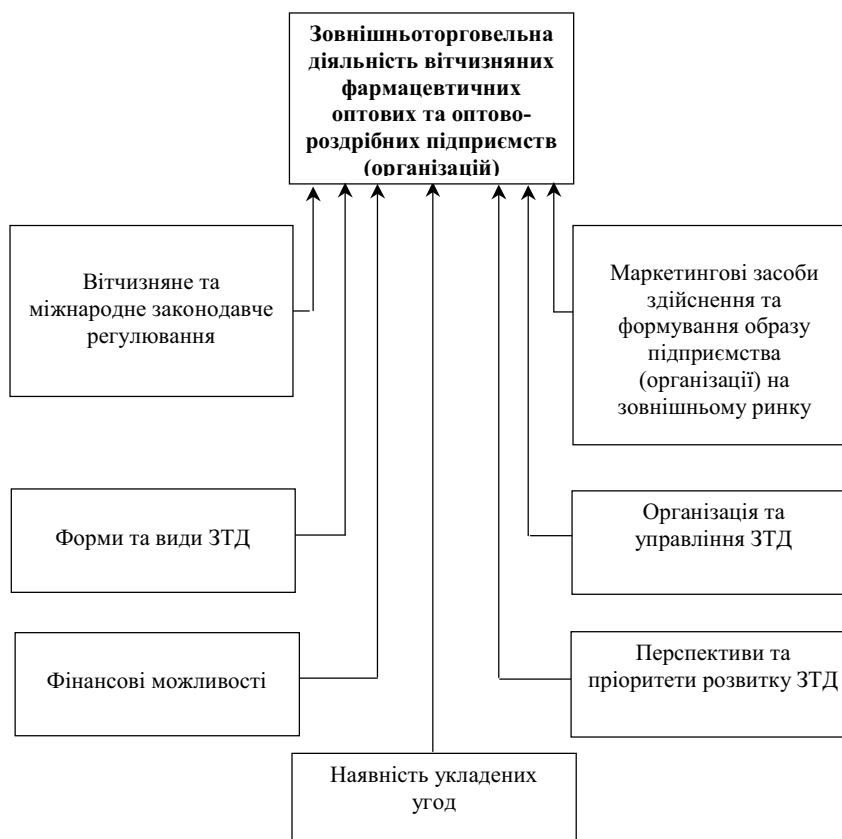
Фармацевтичні підприємства (організації) мають у своєму розпорядженні достатні стимули до саморозвитку в умовах ринку: можливість зростання прибутку, наявність фінансів, вимоги до якості лікарського забезпечення населення, ємність регіонального та в цілому фармацевтичного ринку тощо. Зовнішньоторговельна діяльність (ЗТД) добре активізує ці напрямки. Практика здійснення зовнішньоекономічної діяльності у сучасних умовах відтворюється через зовнішньоекономічні

зв'язки суб'єктів господарювання, важливою складовою яких є різноманітні зовнішньоторговельні операції у напрямках: товари, послуги, інтелектуальна власність [1, 2, 6].

Метою даної статі є вивчення ЗТД оптових та оптово-роздрібних фармацевтичних підприємств (організацій) різних форм власності в межах здійснення ними експортних та імпорتنних операцій.

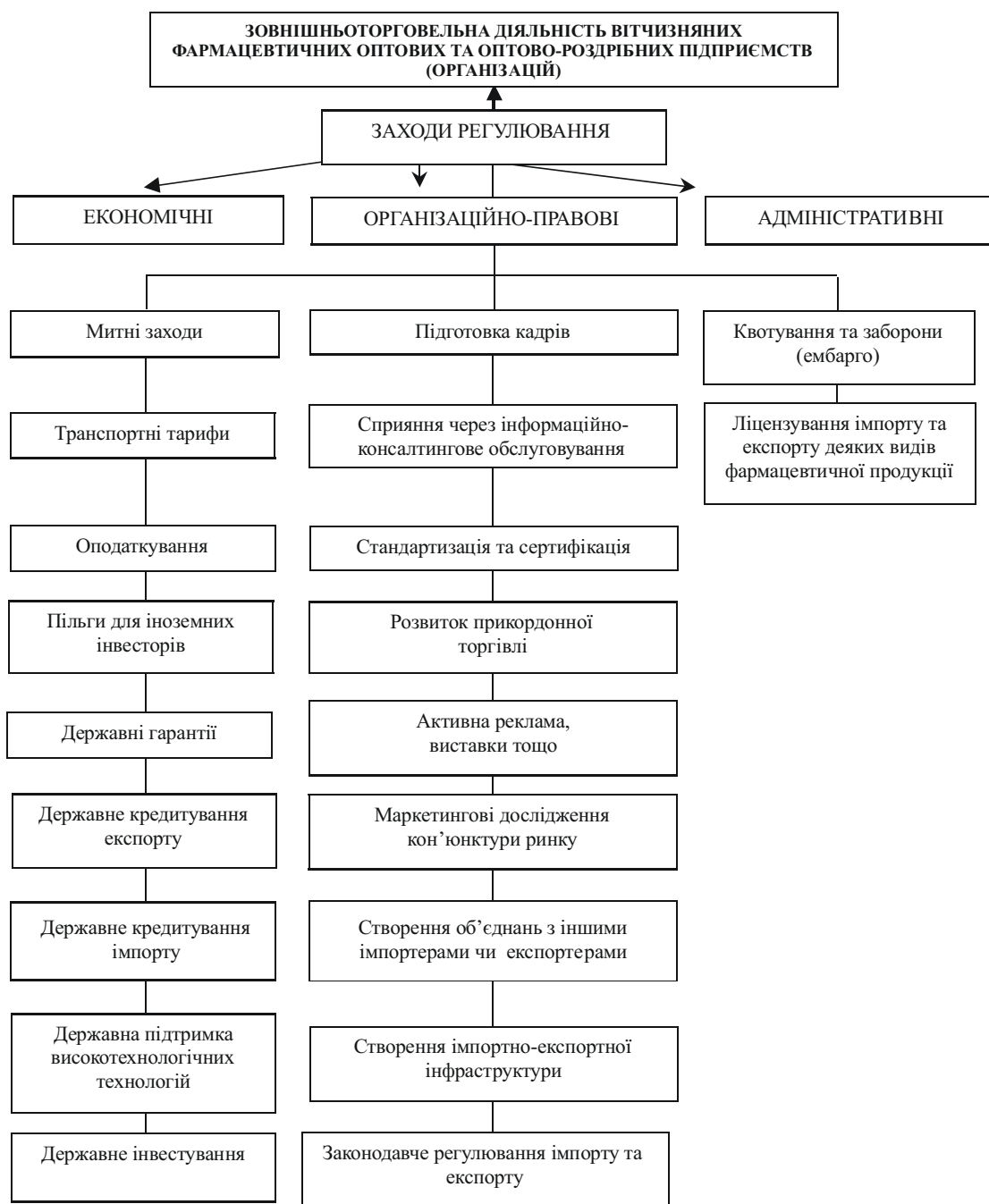
Об'єкт дослідження - ЗТД оптових та оптово-роздрібних фармацевтичних підприємств

Рисунок 1



Чинники впливу на зовнішньоторговельну діяльність вітчизняних фармацевтичних оптових та оптово-роздрібних підприємств (організацій)

Рисунок 2



Державні заходи регулювання зовнішньоторговельної діяльності вітчизняних фармацевтичних оптових та оптово-роздрібних підприємств (організацій)

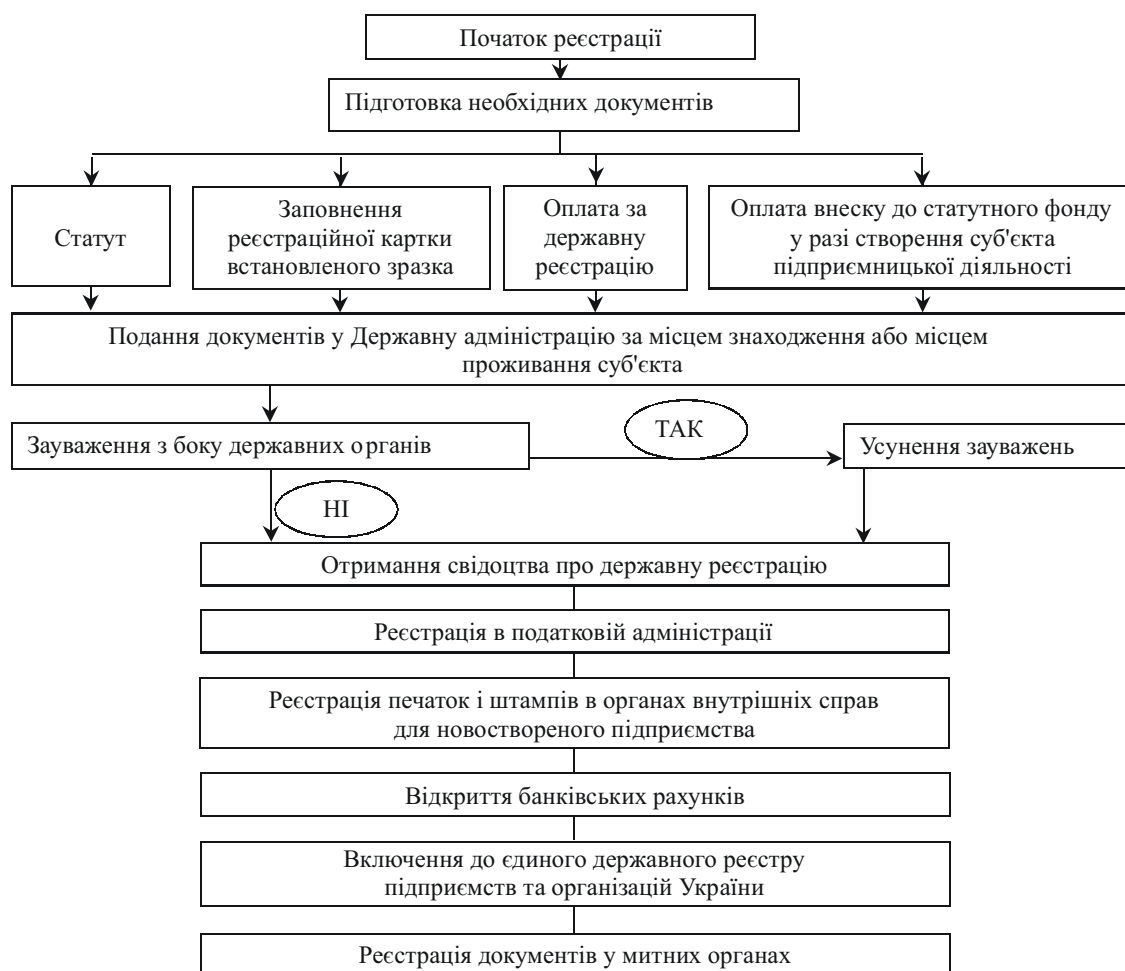
(організацій) різних форм власності в областях України: Дніпропетровській, Донецькій, Луганській, Харківській, Республіці Крим та м. Києві. При проведенні досліджень використані наукові методи: аналітико-дискрептивний, математико-статистичний, аналітичний, безпосереднього вивчення та наглядів.

Встановлено, що на ЗТД українських фармацевтичних оптових та оптово-роздрібних

підприємств (організацій) впливає багато чинників: законодавче регулювання, форми та види здійснення діяльності, фінансові можливості, маркетингові засоби, організація управління та ін. (Рис. 1).

У свою чергу, державне регулювання ЗТД вітчизняних фармацевтичних оптових та оптово-роздрібних підприємств (організацій) здійснюється за допомогою широкого кола

Рисунок 3



Алгоритм державної реєстрації вітчизняного фармацевтичного оптового та оптово-роздрібного підприємства (організації) для здійснення зовнішньоторговельної діяльності

заходів, у тому числі законодавчого, науково-правового, митно-тарифного та нетарифного характеру (Рис. 2) [3, 5, 7].

Відповідно до Порядку ведення обліку суб'єктів у митних органах, затвердженому наказом Державного митного комітету України від 31.05.96 року № 237, для здійснення ЗТД, зокрема митного оформлення лікарських засобів і виробів медичного призначення, вітчизняному фармацевтичному оптовому та оптово-роздрібному підприємству (організації) необхідно встати на облік за місцем своєї державної реєстрації. На основі проведених досліджень нами пропонується алгоритм проведення такої реєстрації (Рис. 3) [8, 10].

Після завершення реєстрації доцільно дотримуватися блок-схеми акредитації вітчизняних фармацевтичних оптових та оптово-роздрібних підприємств (організацій) на митниці щодо здійснення ЗТД, що передбачає певну послідовність дій: від надання необхідних до-

кументів до видачі картки про акредитацію (Рис. 4).

На наступному етапі досліджень встановлено, що вітчизняні фармацевтичні оптові та оптово-роздрібні підприємства (організації) не мають єдиних підходів до організації та здійснення ЗТД. У зв'язку з цим, нами запропоновано уніфіковану схему, що може розглядатися як варіант подальшої оптимізації ЗТД вітчизняних фармацевтичних оптових та оптово-роздрібних підприємств (організацій). За структурою схема включає чотири головні етапи, кожний з яких регулює прийняття рішень на конкретних ланцюгах здійснення ЗТД. Припускається, що зазначеними діями має займатися відповідальна особа (виконавець): провізор відділу маркетингу, провізор відділу збуту, логістик або уповноважена особа по ЗТД (Рис. 5).

Перший етап розглядається як підготовчий у межах вітчизняного фармацевтичного оп-

Рисунок 4



Блок-схема акредитації вітчизняних фармацевтичних оптових та оптово-роздрібних підприємств (організацій) на митниці

тового та оптово-роздрібного підприємства (організації). Його головною складовою є формування замовлення від відділу маркетингу (збуту) про потребу в певному асортименті лікарських засобів і виробів медичного призначення від виробників та постачальників за існуючими контрактами, або від виробників та постачальників, з якими такі контракти ще не укладені. Договір, контракт — головний комерційний документ ЗТД, який свідчить про досягнуту угоду між сторонами [4, 9].

Після укладання угоди (контракту) на здійснення ЗТД узгоджуються термін і умови поставки, умови розрахунків відповідно до асортименту та об'єму поставок (ухвалення рахунку-фактури).

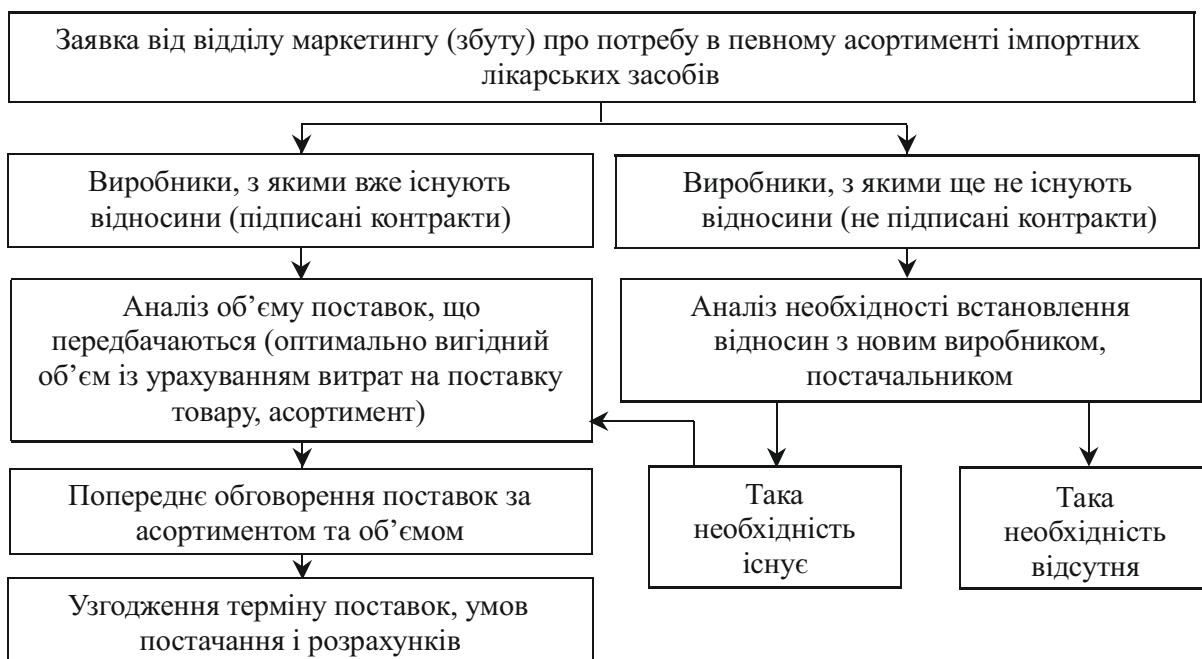
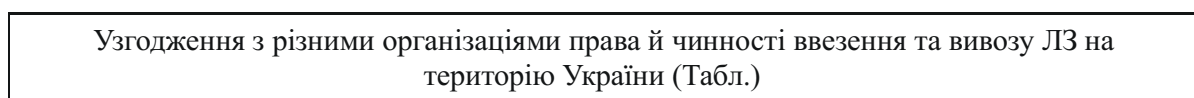
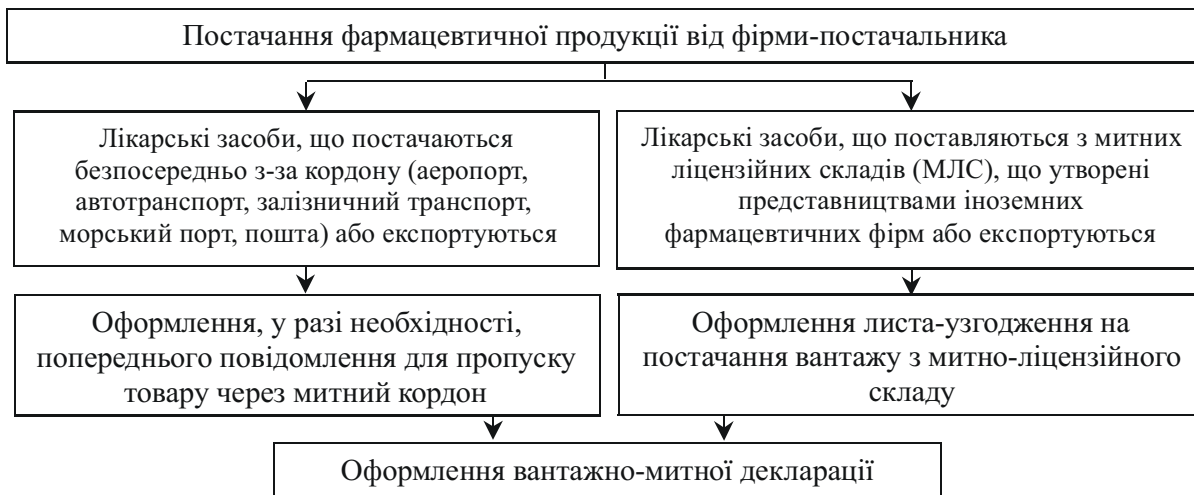
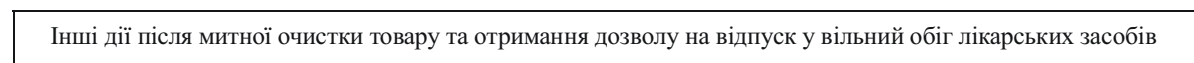
Таким чином, першим етапом запропонованої схеми здійснення ЗТД є укладання (подо-

вження) зовнішньоторговельної угоди (контракту) та отримання від виробника, постачальника остаточного рахунку-фактури на надходження лікарських засобів та виробів медичного призначення.

Наступний, другий етап, розглядали як узгоджувальний. Він включає дії за межами вітчизняного фармацевтичного оптово-роздрібного підприємства (організації), що пов'язані з узгодженням із різними організаціями права та чинності ввезення фармацевтичних товарів на територію України. Нами встановлений перелік узгоджувальних організацій, а також усереднені витрати часу на розгляд певних документів (Табл. 1).

Таким чином, результатом другого етапу є одержання необхідних документів для здійснення митного оформлення імпорту фар-

Рисунок 5

ПЕРШИЙ ЕТАП. Підготовчий. Дії в межах підприємства (організації)**ДРУГИЙ ЕТАП. Узгоджувальний. Дії за межами підприємства (організації)****ТРЕТІЙ ЕТАП. Митний. Дії на митниці****ЧЕТВЕРТИЙ ЕТАП. Заключний. Дії за межами підприємства (організації)**

Узагальнена схема прийняття рішень по здійсненню ЗТД вітчизняними фармацевтичними оптовими та оптово-роздрібними підприємствами (організаціями)

Таблиця

Перелік організацій, дозвіл яких необхідно отримати на ввезення на територію України фармацевтичної продукції згідно діючого законодавства

Організація	Вид документа	Усереднені витрати часу на узгодження
Банк	Довідка про декларування валютних цінностей	1-2 доби
Державна податкова інспекція	Довідка платника податку на додану вартість. Довідка про відсутність за межами України валютних цінностей та майна	1-2 доби
Державна служба ветеринарного контролю	Сертифікат	від 2 діб до 1 тижня
Державне управління екології та природних ресурсів (при Міністерстві екології та природних ресурсів України)	Дозвіл служби екологічного контролю. Погодження на ввезення (вивезення) озоноруйнівних речовин, продукції, що їх містить, антибіотиків тощо	від 1 тижня до 2 місяців
Комітет по контролю за наркотиками	Сертифікат	до 1 місяця
Державна митна служба України	Свідоцтво про допущення транспортного засобу до перевезення вантажів під митним контролем. Лист-узгодження для проведення митного оформлення не за місцем акредитації суб'єкта ЗТД тощо	від 1 доби до 1 тижня
Міністерство економіки України	Ліцензія на товари, що підлягають ліцензуванню	від 1 тижня до 1 місяця
Державна інспекція з карантину рослин (при Міністерстві аграрної політики України)	Сертифікат	від 1 доби до 1 тижня
Державна санітарна епідеміологічна служба (при Міністерстві охорони здоров'я України)	Висновок	від 1 доби до 1 тижня
Державна служба лікарських засобів і виробів медичного призначення	Одноразовий дозвіл на ввезення харчових добавок, спеціальних харчових добавок, виробів медичного призначення, медичної техніки та лікарських засобів, що не мають державної реєстрації, тощо	від 1 до 2 тижнів
Державна служба енергозбереження України	Висновок	від 1 доби до 1 тижня
Державний центр стандартизації, метрології та сертифікації (при Державному комітеті стандартизації, метрології та сертифікації)	Висновок	від 1 доби до 1 тижня
Державна служба експертного контролю	Дозвіл	від 1 до 2 тижнів

мацевтичної продукції на територію України, тривалість якого може скласти більше 1 місяця.

Третій етап, названий нами як «Митний», полягає в діях, щодо митного оформлення фармацевтичної продукції безпосередньо на митниці. За його результатами необхідно оформити певні документи на експортні та імпорتنі операції з імпортними лікарськими засобами і виробами медичного призначення. Четвертий, заключний етап, названий нами як «Інші дії», передбачає дії після отримання дозволу на вільний обіг (митна очистка товару) лікарських засобів і виробів медичного призначення, тобто по забезпеченню ними населення, лікувально-профілактичних установ та інших організацій.

Зазначена схема апробована у ряді вітчизняних фармацевтичних оптових та оптово-

роздрібних підприємств (організацій); результати апробації засвідчили її актуальність і доцільність для оптимізації та подальшого удосконалення прийняття рішень по здійсненню ЗТД.

Таким чином, дослідження ЗТД вітчизняних фармацевтичних оптових та оптово-роздрібних підприємств (організацій) дозволили окреслити напрямки її покращення, серед яких удосконалення системи документального контролю, оптимізація окремих процедур, систематизація прийняття рішень.

Висновки

У результаті дослідження ЗТД вітчизняних фармацевтичних оптових та оптово-роздрібних підприємств (організацій) запропоновано й практично апробовано уніфіковану схему

прийняття рішень по її здійсненню, до якої увійшли найважливіші етапи: державні заходи регулювання, алгоритм державної реєстрації вітчизняних фармацевтичних оптових та оптово-роздрібних підприємств (організацій) для здійснення ЗТД, блок-схема акредитації вітчизняних фармацевтичних оптових та оптово-роздрібних підприємств (організацій) на митниці, перелік організацій для отримання дозволу на виконання ЗТД.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андреев В., Тяпышев О. Оценка ближайших перспектив экономического развития стран мира // Внешняя торговля. — 1998. — № 7-9. — С. 54-55.
2. Бодди Д., Пэйтон Р. Основы менеджмента: Пер. с англ. / Под ред. Ю.Н. Каптуревского. — С. — Пб.: Изд-во «Питер», 1999. — 230 с.
3. Ващенко В.В. Митно-тарифне регулювання зовнішньоекономічної діяльності // Фінанси України. — 2000. — № 3. — С.40-47.
4. Гребельник О.П., Романовський О.О. Основи зовнішньоторговельної діяльності: Навч. посіб. - К.: Деміур, 2003. - 296 с.
5. Довбня А. Правове регулювання зовнішньоекономічних відносин // Бюлетень законодавства і юридичної практики України. — 2001. — № 7. — 416 с.
6. Энциклопедический словарь бизнесмена: менеджмент, маркетинг, информатика / За загальною ред. М.І. Молодованова. — К.: Техніка, 1993. — 856 с.
7. Закон України від 16.04.1991 року № 959 — XII «Про зовнішню економічну діяльність» // Відомості Верховної Ради України. — 1991. — № 29. — 377 с.
8. Зовнішньоекономічна діяльність підприємств: Підручник для вузів / І.В. Багрова, Н.І. Редіна, В.С. Власюк, О.О. Гетьман / За ред. д-ра екон. наук, проф. І.В. Багрової. — К.: Центр навчальної літератури, 2004. — 580 с.
9. Зовнішньоекономічні операції і контракти: Навч. посіб. — 2-е вид., перероб. і доп. / В.В.Козик, Л.А.Пайкова, Я.С.Карп'як та ін. — К.: Центр навчальної літератури, 2004. — 608 с.
10. Пашков В. Договори у сфері зовнішньоекономічної діяльності // Еженедельник «АПТЕКА». — 2004. — №28 (449) - С. 8-9.

Резюме

Толочко В.М., Заричкова М.В.

Исследование внешнеторговой деятельности отечественных фармацевтических оптовых и оптово-розничных предприятий (организаций)

Исследована внешнеторговая деятельность отечественных фармацевтических предприятий (организаций) и определены направления ее оптимизации путем создания обобщающей схемы принятия решений по осуществлению наиболее важных этапов: государственных мер регулирования, алгоритма государственной регистрации, блок-схемы аккредитации на таможене.

Summary

Tolochko V.M., Zarichkovaya M.V.

Study of foreign trade activity of native pharmaceutical wholesale and wholesale and retail enterprises (organizations)

Foreign trade activity of native pharmaceutical wholesale and wholesale and retail enterprises (organizations) was studied and it was specified the directions of its optimization by means of the creation of summarized scheme of decision-making on the realization of most essential stages: state measures of the regulation, an algorithm of state registration, flow-chart of the accreditation at the customhouse.

Толочко Валентин Михайлович (н. 1950). Зав. кафедри управління та економіки фармації ІПКСФ (1984). Д.фарм.н. (1988). Професор (1989).

Зарічкова Марія Володимирівна. Провізор адміністративного управління персоналу Державного ОРП «Обласний аптечний склад» (1999). Здобувач кафедри управління та економіки фармації ІПКСФ (2003).

УДК 614.27:615.2.07

Толочко В.М., Хмельницька О.А
Національний фармацевтичний університет

Вивчення діяльності регіональних державних інспекцій з контролю якості лікарських засобів з метою її регулювання

Встановлено відсутність єдиних підходів до регулювання діяльності регіональних державних інспекцій з контролю якості лікарських засобів з урахуванням діючих на неї чинників. Обґрунтовано витрати часу на виконання окремих видів діяльності та запропоновано методіку їх використання у плануванні на певний період (місяць, квартал, рік).

Державний контроль в умовах розвитку нашої держави продовжує відігравати одну із важливих ролей, за допомогою нього безпосередньо у життя втілюються різноманітні суспільні потреби та інтереси, у тому числі направлені на забезпечення якості та безпеки лікарських засобів. Це пояснюється не тільки загальнодержавними масштабами здійснення контрольних функцій і значним переліком державних контролюючих органів, наділених

відповідними владними повноваженнями у сфері контролю якості лікарських засобів, а й, передусім, змістом тих соціальних завдань, виконання яких покладається на цей вид державної діяльності [3, 6, 7, 11].

Згідно закону України «Про лікарські засоби» спеціальним органом державного контролю якості лікарських засобів є Державна інспекція з контролю якості лікарських засобів МОЗ України та відповідні регіональні державні інспекції [4, 10, 11].

Контроль за обігом та якістю лікарських засобів здійснюється переважно у формі перевірок. Виконавцями виступають державні інспектори, які у своїй роботі дотримуються принципів застосування адміністративно-примусових заходів.

Діяльність державних інспекторів має базуватися на раціональному розподілі функціональних обов'язків у межах об'єму і характеру діяльності кожної регіональної державної інспекції, що залежить від кількості суб'єктів фармацевтичної діяльності в регіоні, їх типу та розміщення, особливостей обігу лікарських засобів та товарів медичного призначення тощо.

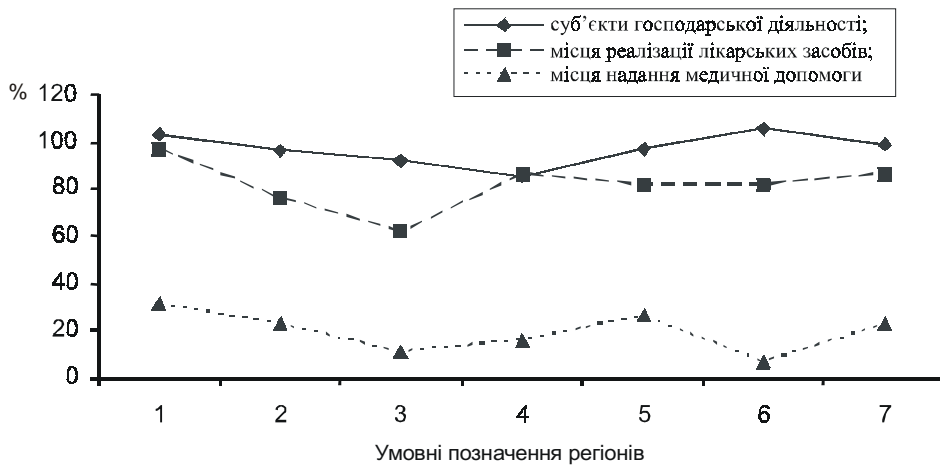
Метою даної статті є вивчення діяльності територіальних державних інспекцій і на цій основі створення методичних підходів до її регулювання.

Об'єктом дослідження була діяльність регіональних державних інспекцій з контролю

якості (надалі — державні інспекції) в Донецькій, Запорізькій, Миколаївській, Полтавській, Сумській, Тернопільській і Черкаській областях протягом 2002-2005 років (28 % від загальної кількості регіональних державних інспекцій). Відібрані регіони надають необхідні загальні відомості про мережу суб'єктів господарської діяльності, місця реалізації лікарських засобів, що підлягають контролю, показники діяльності регіональних інспекцій. Тобто, витримана репрезентативність вибірки за кількістю об'єктів і якістю необхідної інформаційної бази. У дослідженнях використані математично-статистичні методи та методи експертних оцінок, хронометражних та миттєвих наглядів, безпосереднього вивчення із подальшою обробкою матеріалів на базі ЕОМ за допомогою діючих програмних систем [2, 12, 13].

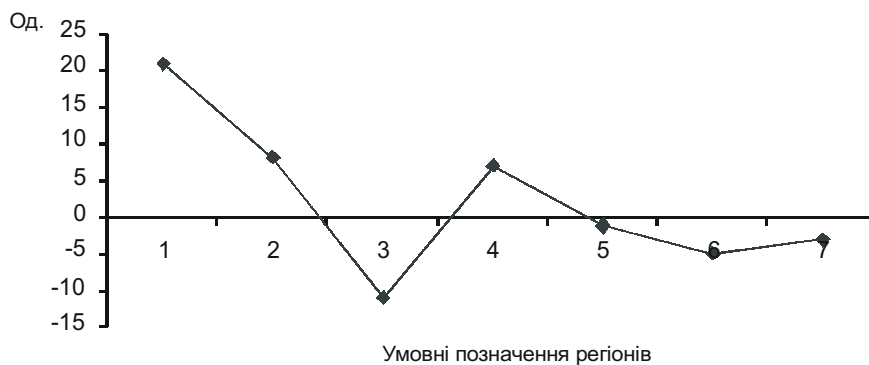
Кількість необхідних наглядів (N) обчислювали за формулою [1, 5, 8]:

Рисунок 1



Охоплення перевірок територіальних державних інспекцій з контролю якості лікарських засобів суб'єктів господарської діяльності, місць реалізації лікарських засобів і надання медичної допомоги в регіонах (областях)

Рисунок 2



Відхилення показника співвідношення між штатним розписом державних інспекторів і кількістю суб'єктів господарської діяльності в регіонах (областях)

Таблиця 1

Найпоширеніші види окремих робіт у діяльності регіональних державних інспекцій з контролю якості лікарських засобів

№	Вид робіт	Питома вага, %
1.	опрацювання відповідей суб'єктів господарської діяльності на приписи	9.14
2.	підготовка листів до Державної інспекції МОЗ України	8.70
3.	щотижневе звітування	8.05
4.	повідомлення до органів ліцензування (Держслужби)	7.23
5.	повідомлення до територіальних держінспекцій	7.11
6.	резерв часу для Державної інспекції МОЗ України	6.99
7.	підготовка приписів з усунення порушень законодавства	6.32
8.	підготовка приписів із заборони обігу лікарських засобів	5.86
9.	ведення реєстру суб'єктів господарської діяльності	4.50
10.	самопідготовка, ознайомлення з наказами, інструкціями	3.97
Всього:		67.87

Таблиця 2

Інші види окремих робіт у діяльності регіональних державних інспекцій з контролю якості лікарських засобів

№	Вид робіт	Питома вага, %
1.	листування із правоохоронними органами виконавчої влади	3.56
2.	прийняття постанов	3.49
3.	щоквартальне узагальнення причин виявлених порушень	3.35
4.	підготовка доповідних із приводу причин виявлених порушень	2.96
5.	складання протоколів	2.77
6.	загальноорганізаційні заходи (семінари, атестація, розробка СОП та ін.).	2.62
7.	опрацювання повідомлень уповноважених осіб	2.54
8.	підготовка наказів, розпоряджень на перевірку	2.08
9.	направлення до лабораторії зразків лікарських засобів	1.99
10.	виробничі наради інспекторського відділу	1.82
11.	опрацювання звернень громадян	1.70
12.	проведення тематичних занять	1.43
13.	квартальне звітування	1.12
14.	повідомлення до ЗМІ	0.36
15.	ведення журналів обліку роботи	0.34
Всього:		32.13

$$N = \frac{4(1-K)}{S_2 \cdot K}, \quad (I)$$

де:

K — припустима питома вага кожного окремого виду робіт;

S — бажана ступінь точності наглядів (соті долі одиниці).

Встановлено, що регіони (області) різняться між собою за загальними показниками: площею, кількістю населення, кількістю суб'єктів господарської діяльності, місць реалізації лікарських засобів і надання медичної допомоги тощо. Але зазначені показники не завжди однаково впливають на об'єм діяльності територіальних державних інспекцій, що підтверджено розрахунками показників відносно середньостатистичного значення однієї пере-

вірки. До того ж відсутні єдині підходи до планування об'єму діяльності державних інспекцій, тобто існують розбіжності в охопленні перевітками суб'єктів господарської діяльності, місць реалізації лікарських засобів і надання медичної допомоги (Рис. 1).

Висновок був підтверджений також порівняльним аналізом кількості посад безпосереднього виконавця перевірок — державного інспектора з кількістю в регіоні одиниць суб'єктів господарської діяльності. Цей відносний показник також коливається у широких межах (Рис. 2).

За таких умов потребує поглибленого вивчення діяльність територіальних державних інспекцій з метою виявлення її особливостей, об'єму і наявності окремих видів робіт.

Встановлено, що діяльність територіальних державних інспекцій поділяється на дві частини: внутрішню (робота інспекторів на робочих місцях) і зовнішню (робота інспекторів під час відряджень для здійснення перевірок). У свою чергу кожна частина базується на виконанні окремих видів робіт. Так, внутрішня частина діяльності територіальних державних інспекцій охоплює виконання окремих робіт, що нами згруповано у 25 видів. Окремо виділено 10 видів робіт, на які припадає 67.87 % усієї діяльності державних інспекцій (Табл. 1).

Із Табл. 1 видно, що значний об'єм серед окремих робіт посідає опрацювання відповідей суб'єктів господарської діяльності (9.14 %), підготовка листів до Державної інспекції МОЗ України (8.70 %), щотижневе звітування (8.05 %).

На всі інші види робіт припадає 32.13 % діяльності територіальних державних інспекцій (Табл. 2).

Таким чином, представлені за питомою вагою види робіт (Табл. 1, 2) свідчать про доцільність їх регулювання як складової частини внутрішньої діяльності регіональних державних інспекцій, що і стало предметом подальших досліджень. Для цього методом хронометражу встановлено усереднені витрати часу на одиницю кожної із виконуваних робіт. При обробці результатів відхилення окремих значень контролювали за допомогою коефіцієнта стійкості.

Коефіцієнт стійкості (K_y) обчислювали за формулою [8]:

$$K_y = \frac{t_{max}}{t_{min}} \quad (II)$$

де:

t_{max} — максимальне значення часу кожного хроноряду;

t_{min} — мінімальне значення часу кожного хроноряду.

Розрахунковий показник (K_p) мав не перевищувати нормоване його значення, яке для організацій типу державних інспекцій дорівнює $K_y = 3$. При $K_p > K_y$ хронометражні нагляди за одиницею виконуваної роботи проводилися повторно.

Середнє значення витрат часу на одиницю виконуваної роботи (\bar{X}_t) обчислювали за формулою [5]:

$$\bar{X}_t = \frac{\sum x \cdot n}{\sum n}, \quad (III)$$

де:

x — витрати часу на окрему одиницю виконуваної роботи, у хвилинали;

n — кількість окремих одиниць виконуваної роботи.

Одержані результати представлено у Табл. 3, із якої видно, що витрати часу на виконання одиниці різних робіт коливаються від 4800 хв (резерв часу для Державної інспекції МОЗ України) до 5 хв (самопідготовка, ознайомлення з наказами, інструкціями).

На підставі зведених у Табл. 3 витрат часу на одиницю виконуваної роботи (\bar{X}_t) у

Таблиця 3

Витрати часу на виконання окремих видів робіт у діяльності регіональних інспекцій (один документ, один запис тощо)

Порядковий номер виду виконуваних робіт (Табл. 1)	Кількість наглядів	\bar{X}_t , хв	Порядковий номер виду виконуваних робіт (Табл. 2)	Кількість наглядів	\bar{X}_t , хв
1	1395	45	1	271	90
2	996	60	2	319	75
3	1844	30	3	12	1920
4	414	120	4	339	60
5	407	120	5	319	60
6	10	4800	6	300	60
7	724	60	7	581	30
8	671	60	8	315	45
9	147	210	9	228	60
10	5575	5	10	208	60
			11	78	150
			12	82	120
			13	16	480
			14	40	60
			15	230	10

внутрішній діяльності регіональних державних інспекцій показник витрат часу на кожний із 25 видів робіт (T_n), у хвиликах, обчислюється за формулою [1]:

$$T_n = P_n \cdot \overline{X}_t \quad (\text{IV})$$

де:

P_n — частота виконання окремої одиниці виконуваної роботи.

Таким чином, можуть бути обчислені загальні витрати часу на внутрішню частину діяльності територіальних державних інспекцій (T_3), у хвиликах, за 25 видами робіт за формулою:

$$T_3 = (T_n^1 + T_n^2 + \dots + T_n^{25}), \quad (\text{V})$$

де:

$T_n^1, T_n^2, \dots, T_n^{25}$ — витрати часу на певний вид роботи, у хвиликах.

Одержані результати використовуються для регулювання діяльності територіальних державних інспекцій шляхом раціонального планування загальних витрат часу на здійснення окремих видів робіт протягом певного періоду (місяць, квартал, рік, кілька років) з урахуванням витрат часу на зовнішню частину діяльності (відрядження для перевірок і виконання розпоряджень), що за результатами особистих досліджень займають 60 % загального її об'єму.

Загальні витрати часу на діяльність територіальних державних інспекцій (T_p), у хвиликах, обчислюють за формулою:

$$T_p = T_3 + (T_3 \cdot K_1) : K_2 \quad (\text{VI})$$

де:

T_3 — витрати часу на внутрішню частину діяльності, у хвиликах;

K_1 — коефіцієнт витрат часу на зовнішню частину діяльності, що дорівнює 0.6;

K_2 — коефіцієнт витрат часу на внутрішню частину діяльності, що дорівнює 0.4.

Результати досліджень покладено в основу проекту методичних рекомендацій із регулювання діяльності територіальних державних інспекцій.

Висновки

Результати вивчення діяльності регіональних державних інспекцій з контролю якості лікарських засобів свідчать про відсутність єдиних підходів до регулювання її об'єму. Встановлено витрати часу на виконання окремих видів діяльності державних інспекцій та запропоновано методику їх розрахунків.

ЛІТЕРАТУРА

1. Берг Л.В., Ефимченко Ю.В., Ефимченко М.Ю. Научная организация труда в фармацевтическом производстве. — М.: Медицина, 1981. — 224 с.

2. Васечко О.О., Жуйкова Є.М. Підходи до оцінки якості статистичних спостережень за підприємствами // Статистика України. — 2005. — № 4. — С. 58-62.

3. Законодавство України про охорону здоров'я. — К.: Юрінком Інтер, 2000. — 526 с.

4. Збірник нормативних актів при здійсненні діяльності з виробництва, оптової та роздрібною торгівлі лікарськими засобами / Під ред. Варченка В.Г. — К., 2001. — 416 с.

5. Канен В.В., Липовецькая Л.Л. Научная организация труда в учреждениях здравоохранения. — 2-е изд. — М.: Медицина, 1981. — 272 с.

6. Коментар до Конституції України // Інститут законодавства Верховної Ради України. — К., 1996. — 376 с.

7. Про затвердження Державної програми забезпечення населення лікарськими засобами на 2004–2010 роки // Юридичні аспекти фармації. — 2003. — № 15. — С. 3-4.

8. Тенцова А.И., Слуцкова Р.С. Основы научной организации труда в аптеках. — М.: Медицина, 1980. — С. 44-48.

9. Кабінет Міністрів України. Про затвердження Концепції державної політики у сфері управління якістю продукції (товарів, робіт, послуг). Розпорядження від 17.08.2002 р. № 447 // Юридичні аспекти фармації. — 2002. — № 17. — С. 7-13.

10. Кабінет Міністрів України. Про затвердження Положення про Державну інспекцію з контролю якості лікарських засобів Міністерства охорони здоров'я. Постанова від 16.02.1998 р. № 179 // Провізор. — 1998. — № 2. — С. 2-3.

11. Про затвердження Програми боротьби з виробництвом та розповсюдженням фальсифікованих лікарських засобів на 2003–2008 роки. Постанова Кабінету Міністрів України від 17.17.2003 р. № 1075 // Юридичні аспекти фармації. — 2003. — № 15. — С. 2-3.

12. Riviere P. Quality et statistique // Couzrier des statistiques. — Paris: INSEE, 1999. — No. 90. — P. 47-58.

13. Thomas R. Statistics as Organizational Products // Social Reseach Online. — 1996. — Vol. 1, No. 3. — 13 p.

Резюме

Толочко В.М., Хмельницькая О.А.

Изучение деятельности региональных государственных инспекций по контролю качества лекарственных средств с целью ее регулирования

Установлено отсутствие единых подходов к регулированию деятельности региональных государственных инспекций по контролю качества лекарственных средств с учетом влияющих на нее факторов. Обоснованы затраты времени на выполнение отдельных видов деятельности и приведена методика их использования в планировании на определенный период (месяц, квартал, год).

Summary

Tolochko V.M., Khmel'nitskaya O.A.

Study of the work of Regional State Inspections on drug quality control with the purpose of its regulation

Absence of uniform approaches to regulation of the work of regional state inspections on drug quality control was established in the view of factors influencing in it. Expenses of the time for performance of separate kinds of activity were proved and the method of their use in planning for the certain period (month, quarter, year) was given.

Толочко Валентин Михайлович (н. 1950). Зав. кафедри управління та економіки фармації ІПКСФ (1984). Д.фарм.н. (1988). Професор (1989).

Хмельницька Ольга Андріївна. Начальник Державної інспекції з контролю якості лікарських засобів у Полтавській області (1997). Здобувач кафедри управління та економіки фармації ІПКСФ (2002).

Маркетингові дослідження

УДК.659.1:661.12

Півень О.П., Котляр В.О., Тихомирова О.В., Хренова О.О.
Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів»

Маркетингове обґрунтування програми розробки протитуберкульозних лікарських засобів для дітей

Проведено маркетингове обґрунтування розробки дво- і трикомпонентних FDC-таблеток у відповідності з рекомендаціями ВООЗ відносно доз діючих речовин для лікування туберкульозу у дітей. Запропоновані до розробки препарати є конкурентноздатними на українському ринку за ціною та вартістю курсу лікування (дві фази протягом 6 місяців).

Початок ХХІ сторіччя характеризується значним поширенням туберкульозної інфекції у більшості країн світу. За даними ВООЗ, щорічно у світі на туберкульоз захворює 7-10 млн. людей, а загальне число хворих у світі сягає 50-60 млн. людей. Обсяг світового ринку протитуберкульозних лікарських засобів (ЛЗ) оцінюється близько 470.0 млн. доларів. Дослідження, проведені Всесвітнім союзом із розробки нових лікарських препаратів для лікування туберкульозу, дозволили оцінити фактичний обсяг ринку протитуберкульозних препаратів і його перспективи та прогнозувати значне зростання обсягу ринку (до 700 млн. дол. у 2010 році) [9].

Щодня в Україні реєструється 82 нових випадків захворювання на туберкульоз і 32 людини щодня вмирає від цієї хвороби (понад 9 тис. людей на рік). За оцінками експертів, у дійсності число хворих в Україні набагато вище і складає 1.5-2 млн. людей. Значно зросла кількість хворих серед дітей і підлітків. Так, за останні 10 років захворюваність на туберкульоз зросла удвічі. Якщо ще у 1995 році епідеміологічний показник складав 4.5 на 100 тис. дітей, то вже у 2005 році цей показник зріс до 9.5 на 100 тис. Серед підлітків захворюваність взагалі дуже висока і становить 31.4 на 100 тис. підліткового населення. Водночас епідеміологічний показник у дорослих становить 77.5 на 100 тис. дорослого населення України, у той же час у США він становить лише 3 на 100 тис. населення. У даний час кількість дітей, хворих на туберкульоз, зареєстрованих в Україні, становить близько 250 тис. Вважається, що останнім часом спостерігається прояв стійких до ліків бактерій туберкульозу. Це насамперед пов'язано з тим, що протитуберкульозні препарати давно ніхто не вдосконалює. Тому розробка нових протитуберкульозних ліків просто необхідна [1].

Таким чином, зростаюча динаміка захворюваності на туберкульоз протягом останніх років як у усьому світі, так і в Україні, а також інтенсивний розвиток первинної стійкості та мультирезистентності збудників цього захворювання до існуючих протитуберкульозних препаратів роблять актуальною проблему пошуку нових ефективних препаратів для боротьби з цією хворобою, зокрема, для застосування в педіатрії. Крім того, високі показники захворюваності дітей, особливо в країнах, що розвиваються, і ряді країн із перехідною економікою, обумовлюють необхідність створення і виведення на ринок нових лікарських форм, у тому числі відомих препаратів, для лікування туберкульозу і, особливо, дитячих лікарських форм для перорального застосування.

Метою даної роботи є обґрунтування та розробка на основі комплексних маркетингових досліджень інноваційної програми створення й організації виробництва конкурентноздатних протитуберкульозних препаратів для застосування у педіатрії.

Матеріали та методи

Для проведення маркетингових досліджень як об'єкти були обрані провідні фірми-виробники протитуберкульозних ЛЗ в педіатричних лікарських формах, ринок Індії, що займає провідне положення на світовому ринку даної групи ліків, а також ринок України.

На основі історичного, документального, логічного аналізу визначено тенденції у створенні та споживанні протитуберкульозних ЛЗ для застосування в педіатрії за кордоном і в Україні. При розробці інноваційної програми створення й організації виробництва перспективних протитуберкульозних ЛЗ використано методи маркетингових досліджень (дослідження товарної, фірмової, цінової структури ринку, рівня потреби в ЛЗ) і принципи бенч-

маркетингу. Для розрахунку оптових цін на ЛЗ в умовах вітчизняного виробництва, рівня критичного випуску ліків, вартості курсу лікування монопрепаратами і FDC-таблетками використано методи економічного аналізу.

Результати та їх обговорення

У даний час світовий ринок педіатричних протитуберкульозних препаратів представлений, в основному, давно відомими ЛЗ, що добре себе зарекомендували. До таких ЛЗ відносяться: Ethambutol (Myambutol), Ethionamide (Trecalor-SC), Isoniazid (Nydrasid, Laniazid), Pyrazinamide, Rifabutin (Mycobutin), Rifampicin (Rifampin), Rifadin, Rimactane, Cycloserine (Seromicin), що застосовуються, в основному, у формі таблеток, капсул і рідин для пиття, а також у формі розчинів для ін'єкцій.

Основною особливістю лікування туберкульозу є комплексна терапія, що передбачає одночасне застосування декількох ЛЗ. Будь-які відхилення від схеми лікування значно підвищують ризик виникнення резистентних штамів бактерій туберкульозу. Відповідно до рекомендацій ВООЗ, для успішного лікування туберкульозу необхідно застосовувати такі схеми [2, 11, 12]:

- рифампіцин, ізоніазид, піразинамід і етамбутол щодня протягом 2-3 місяців;
- рифампіцин та ізоніазид протягом наступних 4 місяців щодня або 3 рази на тиждень, або піразинамід і етамбутол щодня протягом 6 місяців.

Як показали проведені нами дослідження, надзвичайно перспективним напрямком є застосування комбінованих ЛЗ, що містять необхідні компоненти в одній дозованій одиниці лікарської форми. Цей напрямок представлений, зокрема, таблетованими ЛЗ із фіксованим дозуванням (FDC-таблетками), в яких два або кілька компонентів знаходяться у фіксо-

ваних співвідношеннях. Важливою перевагою застосування FDC-таблеток у педіатрії є можливість проведення повного курсу лікування без необхідності розрахунку дози, що особливо важливо для дитячих лікарських форм. При цьому ціни дво- або трикомпонентних FDC-таблеток відповідають вартості суми однокомпонентних препаратів. Експерти компанії «Lupin Industries» (Індія) повідомляють, що їхній чотирикомпонентний ЛЗ у формі FDC-таблеток коштує менше, ніж сумарна вартість окремих однокомпонентних таблеток [2]. ВООЗ і Міжнародний союз боротьби з туберкульозом і захворюваннями легень (International Union Against Tuberculosis and Lung Disease – IUATLD) настійно рекомендують при первинному лікуванні туберкульозу замінити ЛЗ з однією активною речовиною FDC-таблетками.

Лікарські засоби для лікування туберкульозу представлені на світовому ринку як багатокомпонентними ЛЗ у різних лікарських формах, так і комбінованими препаратами, що поєднують активні речовини в одній дозованій одиниці лікарської форми. Проведені дослідження показали, що в даний час для лікування туберкульозу використовують досить широкий ряд FDC-таблеток із 2 і 3 компонентами. В останні роки на ринок випущені чотирикомпонентні педіатричні FDC-таблетки. З'явилися також комбіновані препарати з фіксованим дозуванням у формі капсул [2, 5, 11, 16, 25].

Дво- або трикомпонентні FDC-таблетки успішно використовують в усьому світі вже з кінця 80-х років ХХ сторіччя, вони зареєстровані більш ніж у 40 країнах світу й в 1997 році внесені до Переліку життєво необхідних лікарських засобів ВООЗ. Однак, слід відзначити, що маркетингові дослідження, проведені компанією «Vetol Arzneimittel GmbH», показали відсутність реального ринку для три- або

Таблиця 1

FDC-таблетки для застосування в педіатрії, включені до Переліку життєво необхідних лікарських засобів ВООЗ

Діючі речовини	Лікарська форма	Вміст діючих речовин
рифампіцин, ізоніазид	таблетки*	рифампіцин 60 мг + ізоніазид 35 мг** рифампіцин 60 мг + ізоніазид 60 мг***
рифампіцин, ізоніазид, піразинамід	таблетки*	рифампіцин 60 мг + ізоніазид 35 мг + піразинамід 150 мг**

Примітки:

* перевага надається диспергованим лікарським формам;

** для щоденного застосування;

*** для застосування 3 рази на тиждень.

чотирикомпонентних FDC-таблеток в Європі. Це зумовлено тим, що для реєстрації комбінованих лікарських препаратів, що містять більше двох активних компонентів, в Європі потрібні дані клінічних випробувань [7, 8, 9]. В 1998 році ВООЗ і IUATLD погодили рекомендації щодо вмісту інгредієнтів у дво- та трикомпонентних FDC-таблетках для дітей. Перелік життєво необхідних лікарських засобів ВООЗ для лікування туберкульозу у дітей представлено в Табл. 1.

У світі провідними фірмами-виробниками протитуберкульозних ЛЗ, у тому числі в педіатричних лікарських формах, є «Aventis» (США), «Novartis» (США), «Lupin Industries» (Індія) і «Pharmacia» (США). На їхню частку припадає 59 % ринку. Близько 12 % ринку займають індійські виробники препаратів-генериків. Інші 29 % ринку розподілено між дрібнішими незалежними виробниками [3, 14, 17, 22, 23].

Провідними компаніями Південної Африканської Республіки (ПАР) «Novartis», «Hoechst Marion Roussel» зареєстрований ряд педіатричних FDC-препаратів у формі розчинних таблеток і пакетиків із гранулами відповідно до рекомендацій ВООЗ/IUATLD щодо дозування діючих речовин для дітей. Відомо, що ряд компаній розробляють чотирикомпонентні FDC-таблетки, які, хоча і відрізняються дозуванням від рекомендованих ВООЗ, але вже використовуються в таких країнах як Індія, Пакистан і ПАР. Такі чотирикомпонентні FDC-таблетки виробляють компанії «Lupin Industries» (Індія), «Wyeth-Lederle» (Пакистан) і «Hoechst Marion Roussel» (ПАР) [14, 16, 26].

За оцінкою ВООЗ, протитуберкульозні FDC-препарати в 2000 році використовували близько 50 % країн світу. У той час, коли невеликі економічно розвинені країни широко використовують FDC-таблетки, країни з високою чисельністю населення та великими територіями, із високим рівнем захворюваності на туберкульоз використовують однокомпонентні таблетки. Однак, в Індії у вигляді FDC-таблеток використовується 62 % рифампіцину, застосовуваного в секторі приватної медицини. За даними ВООЗ, за 2000 рік близько 24 % випадків туберкульозу у світі лікувалося FDC-таблетками, до складу яких входить рифампіцин. Однак більшість пацієнтів приймають тільки двокомпонентні препарати, а три- або чотирикомпонентні FDC-таблетки в даний час використовуються менше, ніж у 5 % випадків [2, 5, 8, 11, 22].

У даний час Індія займає перше місце у світі за захворюваністю на туберкульоз і має значний обсяг ринку протитуберкульозних ЛЗ. Провідне положення Індії на світовому ринку протитуберкульозних ЛЗ дозволяє з достатньою вірогідністю судити про стан світового ринку препаратів для лікування туберкульозу, призначених для застосування в педіатрії [6, 10, 11, 13, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 24]. Проведені нами дослідження індійського ринку показали, що перспективними дитячими лікарськими формами для застосування при лікуванні туберкульозу, крім таблеток із фіксованим дозуванням, є рідкі форми для пиття (зокрема, суспензії, сиропи), пакети із гранулами, а також дисперговані та розчинні таблетки, що легко можуть бути переведені в рідку лікарську форму. Рідкі лікарські форми випускаються на основі рифампіцину (і ряду його похідних), піразинаміду й ізоніазиду. Препарати етамбутолу представлені на світовому ринку тільки у твердих лікарських формах. У формі диспергованих таблеток випускають препарати ізоніазиду та двокомпонентні FDC-таблетки, що містять ізоніазид у поєднанні з рифампіцином. У формі розчинних таблеток і пакетів із гранулами випускають дво- і трикомпонентні препарати на основі рифампіцину, ізоніазиду та піразинаміду.

Як показали наші дослідження, у даний час в Україні зареєстровано 73 протитуберкульозних препарати для педіатрії. Серед них 59 монопрепаратів і 14 комбінованих, що складає 80 % і 20 % від загального числа зареєстрованих в Україні протитуберкульозних ЛЗ, відповідно. Асортимент протитуберкульозних ЛЗ на українському ринку охоплює більшість основних субстанцій, використовуваних у світовій практиці при лікуванні туберкульозу: рифампіцин, рифабутин, етамбутол, ізоніазид, флуоренізид, фтивазид, піразинамід, етіонамід, протіонамід. Однак, на ринку відсутні найбільше перспективні на сьогоднішній день пролонговані ЛЗ на основі рифапентину. Оскільки лікування туберкульозу засноване на комбінованій терапії, застосування комбінованих препаратів, що містять необхідні компоненти в одній дозованій одиниці, є надзвичайно перспективним. На українському ринку представлені дво-, три- і чотирикомпонентні FDC-таблетки. Однак, на ринку відсутні комбіновані препарати (FDC-таблетки) протитуберкульозної дії для застосування в педіатрії відповідно до рекомендацій ВООЗ щодо дозування діючих речовин на одну таблетку.

Проведені нами дослідження свідчать про те, що протитуберкульозні ЛЗ представлені на українському ринку у формі таблеток, капсул, ліофілізованого порошку для ін'єкцій, ін'єкційних розчинів в ампулах, ректальних супозиторіїв, а також комплектів (наборів таблеток № 15, що містять таблетки рифампіцину, ізоніазиду, піразинаміду й етамбутолу). Найбільш розповсюдженою лікарською формою препаратів для лікування туберкульозу є таблетки (67 %); препарати у формі капсул складають 25 %; препарати у формі супозиторіїв, розчинів для ін'єкцій і комплекти — 8 % від загального числа зареєстрованих в Україні препаратів. На фармацевтичний ринок України протитуберкульозні ЛЗ поставляються 32 фірмами із 18 країн. Вітчизняна фармацевтична промисловість представлена 10 підприємствами, що випускають 22 протитуберкульозні засоби. Це складає 30 % від зареєстрованих в Україні. Комбіновані препарати і ЛЗ на основі рифабутину, рифапентину, протіонаміду, етіонаміду в даний час вітчизняною промисловістю не випускаються. Ціни протитуберкульозних ЛЗ вітчизняного виробництва в 1.1-1.5 рази нижче цін на імпортовані препарати.

У зв'язку із загостренням проблеми туберкульозу в Україні й у світі та створенням національних і міжнародних програм з боротьби з туберкульозом можна чекати підвищення споживання відповідних лікарських засобів у нашій країні, країнах СНД, Африки й Азії.

Грунтуючися на рекомендаціях ВООЗ щодо лікування туберкульозу у дітей і з огляду на тенденції світового ринку протитуберкульозних ЛЗ, а також враховуючи кон'юнктуру українського ринку, нами запропоновано до розробки дво- та трикомпонентні FDC-препарати у формі розчинних таблеток. Проведені розрахунки показали, що рівень оптових цін одного упакування таблеток № 50 у 2005 році та рівень критичного випуску протитуберкульозних ЛЗ на основі комбінації рифампіцину, ізоніазиду та піразинаміду в дозах, рекомендованих ВООЗ для застосування в педіатрії, в умовах виробництва на одному із вітчизняних підприємств при рентабельності 50 % складають:

- рифампіцину (60 мг), ізоніазиду (35 мг), піразинаміду (150 мг) — 4.51 грн. і 83.8 тис. уп. (для лікування туберкульозу в початковій фазі — 2 міс.);
- рифампіцину (60 мг), ізоніазиду (35 мг) — 1.6 грн. і 341.5 тис. уп. (для прийому щодня у фазі продовження лікування — 4 міс.);

— рифампіцину (60 мг), ізоніазиду (60 мг) — 1.85 грн. і 157 тис. уп. (для прийому 3 рази на тиждень у фазі продовження лікування — 4 міс.).

Таким чином, із огляду на рівень цін на українському ринку, прогнозовані ціни на запропоновані нами до розробки протитуберкульозні ЛЗ у формі FDC-таблеток в умовах вітчизняного виробництва є конкурентноздатними. Проведені дослідження показали, що курс лікування туберкульозу у дітей (дві фази протягом 6 міс.) комбінованими FDC-таблетками вітчизняного виробництва з рекомендованою ВООЗ для застосування в педіатрії дозою діючих речовин складає 37.01 грн. (при щоденному прийомі у фазі продовження лікування) і 29.24 грн. (при прийомі 3 рази на тиждень у фазі продовження лікування). Це, відповідно, у 1.9 і 1.6 рази дешевше лікування монопрепаратами (Табл. 2). Викладене свідчить про доцільність створення й організації виробництва на одному з вітчизняних підприємств розробленої нами програми FDC-препаратів для лікування туберкульозу у дітей.

Висновки

1. Дослідження світового ринку показали, що найбільш використовуваними дитячими лікарськими формами для застосування при лікуванні туберкульозу є таблетки із фіксованим дозуванням, рідкі форми для пиття (зокрема, суспензії, сиропи), пакети із гранулами, а також дисперговані та розчинні таблетки, що легко можуть бути переведені у рідку лікарську форму.

2. Через те, що лікування туберкульозу засноване на комбінованій терапії, застосування комбінованих препаратів, що містять необхідні компоненти в одній дозованій одиниці, є перспективним. Однак на ринку України відсутні комбіновані препарати (FDC-таблетки) протитуберкульозної дії для застосування в педіатрії.

3. Обґрунтована економічна доцільність виробництва в Україні дво- та трикомпонентних FDC-препаратів (на основі рифампіцину, ізоніазиду та на основі рифампіцину, ізоніазиду, піразинаміду) у формі розчинних таблеток в дозах, рекомендованих ВООЗ для застосування в педіатрії.

4. Запропоновані до розробки для промислового виробництва FDC-таблетки за рівнем цін, що прогножуються, є конкурентноздатними на українському ринку.

5. Вартість курсу лікування туберкульозу у дітей запропонованими FDC-таблетками

Таблиця 2

Вартість курсу лікування туберкульозу у дітей (маса 20 кг) при використанні FDC-таблеток і монопрепаратів

Показники	Рекомендоване ВООЗ дозування FDC-таблеток для дітей, мг	Оптова ціна (прогноз), грн.		Вартість лікування, грн.	Монопрепарати	Оптова ціна, грн.		Вартість лікування, грн.
		упаковка № 50	1 таблетка			упаковка № 50	1 таблетка	
початкова фаза (60 діб)	FDC-таблетки: р – 60 мг і – 35 мг п – 150 мг *	4.51	0.09	21.65	і –табл. 0.1 г № 100; р – капс. 0.15 г № 20; п – табл. 0.5 г № 10	і –1.92 р – 4.82 п – 1.34	і –0.0192 р – 0.241 п – 0.134	і –1.15 р – 19.28 <u>п – 8.04</u> Усього: 28.47
фаза продовження лікування при щоденному застосуванні (120 діб)	FDC-таблетки: р – 60 мг і – 35 мг	1.6	0.032	15.36	і –табл. 0.1 г № 100; р – капс. 0.15 г № 20	і –1.92 р – 4.82	і –0.0192 р – 0.241	і –2.30 <u>р – 38.56</u> Усього: 40.86
загальна вартість		-	-	37.01				69,33
фаза продов- ження лікування при прийомі 3 рази на тиждень (120 діб)	FDC-таблетки: р – 60 мг і – 60 мг	1.85	0.037	7.59	і –табл. 0.1 г № 100; р – капс. 0.15 г № 20	і –1.92 р – 4.82	і –0.0192 р – 0.241	і –1.98 <u>р – 16.63</u> Усього: 18.61
загальна вартість		-	-	29.24				47.08

Примітка.

* р – рифампіцин; і – ізоніазид; п - піразинамід.

вітчизняного виробництва з рекомендованою ВООЗ для застосування в педіатрії дозою діючих речовин в 1.9 рази (при щоденному прийомі у фазі продовження лікування) і в 1.6 рази (при прийомі 3 рази на тиждень у фазі продовження лікування) дешевше лікування монопрепаратами.

ЛІТЕРАТУРА

1. Зулинемо туберкульоз разом // Здоров'я України. - 2005. - № 19 (128).
2. Комбіновані таблетки з фіксованим дозуванням для лікування туберкульозу // Фармаком. – 2002. – № 3. – С. 84-102.
3. Рынок противотуберкулезных препаратов // Ремедиум. – 2000. – № 7-8. – С. 28-32.
4. FDC-препараты для лечения туберкулеза / Пивень Е.П., Гранина Т.В., Котляр В.А., Тихомирова Е.В. // Тези доповідей VI Національного з'їзду фармацевтів України. - Харків: Вид-во НФаУ, 2005. - С. 893.
5. Chaulet P. Implementation of fixed dose combinations in tuberculosis control: outline of responsibilities // Int. J. Tuberc. Lung Dis. – 1999. – Supplement. – P. 18-26.
6. Elizabeth K.E. Fundamentals of Pediatrics. - 1st ed. – Hyderabad: Paras Publications, 2000. – P. 165-169.
7. Farmer P, Kim J. Community based approaches to the control of multidrug resistant tuberculosis: introducing «DOTS-plus» // BMJ. – 1998. – Vol. 317. – P. 671-674.
8. Fourie P.B. Registration requirements for fixed dose combination anti-tuberculosis formulations // Int. J. Tuberc. Lung. Dis. – 1999. – Supplement. – P. 8-12.
9. Global Alliance at full steam for new TB drugs // Bulletin of the World Health Organization. – 2002. – Vol. 80, No. 6. – P. 517-522.

10. Gulati C.M. Infections and infestations // Pharmacological Index. – Delhi: A.E. Morgan Publications, 2000. – P. 169-173.
11. Kitler M.E. The fixed dose combination project. – Geneva: World Health Organization, 1998. – 10 p.
12. Maher D., Chaulet P., Spinaci S. Treatment of tuberculosis. Guidelines for National Programs. – Geneva: World Health Organization, 1997. – P. 25-31.
13. Mishra L. Antibiotics // Pharmacological Index. Drug Today. – Delhi: Lorina Publications, 1999. – P. 134-143.
14. Murray C.J., Styblo K., Rouillon A. Tuberculosis in developing countries: burden, intervention and cost // Bull. Int. Union Tuberc. Lung Dis. – 1990. – Vol. 65. – P. 6-24.
15. Nies A.S. Principles of therapeutics // The pharmacological Basis of Therapeutics. – 9th ed. – New York: Mc Graw-Hills, 1996. – P. 53.
16. Estimate of the global market for fixed dose combination (FDC) tablets / Norval P., Blomberg B., Kitler M., Dye C., Spinaci S. // Int. J. Tuberc. Lung Dis. - 1999. – Supplement. – P. 16-24.
17. Antitubercular Drug Formulations for children / Ruchi R., Faridi M.A., Agarwal K.N., Gupta P. // Indian Pediatrics. – 2001. – Vol. 38. – P. 400-406.
18. Seth V. Essentials of Tuberculosis in Children. - 2nd ed. – Delhi: Jaypee Brothers, 1997. – P. 312-333.
19. Shrivastava S.P. Management of tuberculosis with special reference to dose of INH // Indian Practitioner. – 1998. – Vol. 51. – P. 401-408.
20. Singh V. Tuberculosis in children // Pediatrics and Neonatology. - 1st ed. - New Delhi: Modern Publishers, 2000. – P. 239.
21. Starke JR. Tuberculosis // Textbook of Pediatrics. - 15th ed. – Bangalore: Prism Saundrs, 1996. – P. 834-847.
22. Symposium on combination products for the treatment of tuberculosis. – Geneva, Switzerland: International

Federation of Pharmaceutical Manufacturers Association, 1994. — December. — 78 p.
 23. The Worldwide Market for Pediatric Drugs. — New York: Kalorama Information, 2002. — 25 p.
 24. Treatment of childhood tuberculosis: Consensus of IAP Working Group // Indian Pediatr. — 1997. — Vol. 34. — P. 1093-1096.
 25. Treatment of tuberculosis: guidelines, for national programs. — Geneva: WHO, 1993. — 49 p.
 26. World Health Organization. Managing Tuberculosis at National Level. Plan Supplies (WHO training modules for TB managers). Global Tuberculosis Program. — Geneva: World Health Organization, 1996. — P. 24-25.

Резюме

Пивень Е.П., Котляр В.А.,
 Тихомирова Е.В., Хренова О.А.

Маркетинговое обоснование программы разработки противотуберкулезных лекарственных средств для детей

Проведено маркетинговое обоснование разработки двух- и трехкомпонентных FDC-таблеток в соответствии с рекомендациями ВОЗ относительно доз действующих веществ для лечения туберкулеза у детей. Предлагаемые к разработке препараты являются конкурентоспособными на украинском рынке по цене и стоимости курса лечения (две фазы в течение 6 месяцев).

Summary

Piven E.P., Kotlyar V.A., Tikhomirova E.V., Khrenova O.A.

Marketing basis of the development of the program of antituberculous drugs in children's dosage forms

Marketing basis of the development of two- and three-component FDC-tablets according to WHO recommenda-

tions concerning doses of active substances for the tuberculosis treatment at children was conducted. Suggested to the development drugs are competitive at price and cost of the course of treatment (two phases in the course of 6 months) in Ukrainian market.

Пивень Олена Петрівна. Закінчила Харківський інженерно-економічний інститут (1977). Працює в ДП ДНЦЛЗ. Зав. лабораторії маркетингових і техніко-економічних досліджень (1999). Д.фарм.н. (2005).

Котляр Валентина Олександрівна. Закінчила Харківський державний університет (1983). Мол. наук. співр. лабораторії лікарської та промислової токсикології ДП ДНЦЛЗ.

Тихомирова Олена Вікторівна. Закінчила Харківський автомобільно-дорожний інститут (1986). Працює в ДП ДНЦЛЗ. Провідний інженер лабораторії маркетингових і техніко-економічних досліджень.

Хренова Ольга Олександрівна. Закінчила Харківську Національну академію міського господарства (2006). Асистент кафедри «Економіка промисловості» Харківської Національної академії міського господарства.

УДК: 65.012.7:339.138:001.8

Мнушко З.М., Дорохова Л.П., Пестун І.В., Ларіонова Н.В.
 Національний фармацевтичний університет

Система та методи контролю маркетингової діяльності фармацевтичних підприємств

Наведено основні напрямки контролю маркетингової діяльності фармацевтичного підприємства. Із метою коригування стану підприємства щодо асортименту, прибутковості (ABC-аналіз, маржинальний аналіз, портфоліо-аналіз), визначення маркетингових цілей, стратегій і конкретних заходів для пристосування потенціалу підприємства до зовнішніх ринкових умов (SWOT-аналіз), ліквідації стратегічних та тактичних відхилень (GAP-аналіз) використано методи стратегічного та оперативного аналізу.

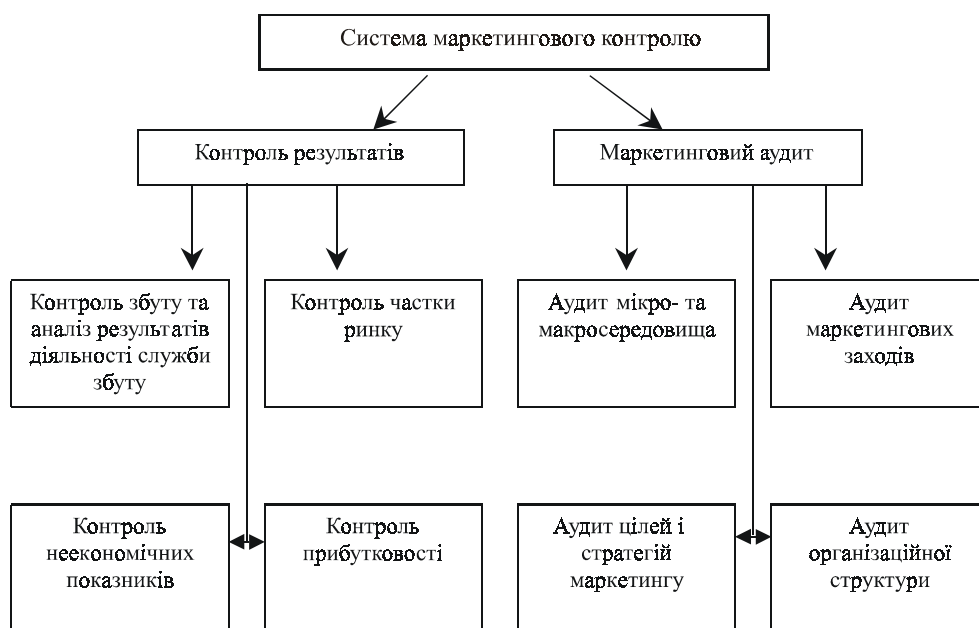
Підприємство, зорієнтоване у своїй виробничо-комерційній діяльності на довгостроковий успіх, через відповідний відрізок часу має здійснювати критичну оцінку ефективності всієї маркетингової діяльності для суттєвого коригування раніше прийнятих планів, стратегій і програм. Підприємству важливо знати, чи дійсно та достатньо ефективно воно використовує всі маркетингові можливості, які є у нього. У рамках управління маркетингом на підприємстві для створення найбільш сприятливих умов виробництва та досягнення комерційних цілей необхідно здійснювати контроль маркетингової діяльності.

Контроль маркетингу є складовою частиною маркетинг-менеджменту та здійснюється за п'ять етапів: визначення планових показників (норм), вимірювання фактичних даних, порівняння їх із плановими, аналіз можливих відхилень та розробка коригуючих дій.

Контроль дає можливість не тільки виявляти, але й запобігати різноманітним відхиленням та недолікам, знаходити можливості розвитку, пристосування до умов зовнішнього та внутрішнього середовища.

Значення контролю маркетингу зростає зі збільшенням динамічності середовища, розміру підприємства, рівня розподілу праці.

Рисунок 1



Напрямки контролю маркетингу на підприємстві

Основними об'єктами контролю є обсяг продаж, розміри прибутків та збитків, реакція покупців на товари та послуги, що пропонує підприємство, відповідність запланованих та реальних (фактичних) результатів виробничо-комерційної діяльності.

Предметом контролю є контроль результатів або оперативний контроль та стратегічний контроль, основний елемент якого — маркетинговий аудит (Рис. 1) [2, 4, 12].

Використанню методів стратегічного та оперативного аналізу маркетингової діяльності, що вкдючає SWOT-аналіз, ABC-аналіз, GAP-аналіз, портфоліо-аналіз та маржинальний аналіз, присвячені праці багатьох авторів [1, 3, 5].

Метою даної статті є комплексні дослідження системи та методів контролю маркетингової діяльності фармацевтичних підприємств.

Для аналізу маркетингової діяльності нами використані методи стратегічного та оперативного аналізу: SWOT-аналіз, ABC-аналіз, GAP-аналіз, портфоліо- та маржинальний аналіз (Табл.) [11].

Найважливішим початком удосконалення діяльності та процесу управління стратегічним маркетингом підприємства є аналіз його діяльності. Тут може бути порекомендований SWOT-аналіз діяльності підприємства. При оцінці переваг та недоліків головна увага приділяється внутрішнім факторам фірми, а в складі аналізу можливостей та загроз — в ос-

новному факторам, що визначають зовнішнє середовище. Внутрішні проблеми підприємства звичайно піддаються виявленню легше, ніж ті, що виникають за її межами та пов'язані з клієнтами, споживачами, постачальниками, конкурентами, контактними аудиторіями та громадською думкою.

Проведений SWOT-аналіз діяльності одного з підприємств м. Харкова дав можливість виявити переваги, недоліки, можливості та загрози його функціонування. Він є базою для подальшого удосконалення діяльності підприємства, тому що можливості та переваги необхідно нарощувати та посилювати, а вплив загроз і недоліків знижувати, виключати їх негативний вплив або перетворювати у свої переваги [1, 3, 5, 6].

ABC-аналіз використаний нами для дослідження важливості окремих препаратів із точки зору результату (збуту) для оптимізації структури збутової програми та вилучення з виробничої програми некорисних продуктів. Асортимент заводу розподілили на три групи (А, В, С) у залежності від обсягу реалізації. Група А складає 21 % від загального переліку лікарських засобів, що випускає завод, та 57.2 % від річного обсягу продаж продукції. До групи В входять 36 % від асортименту лікарських засобів, що забезпечують 29.7 % у річному обсязі продаж. Препарати, що потрапили до групи С, складають 43 % асортиментних позицій і 13.1 % обсягу продаж. Таким чином, одержаний результат відрізняється від опти-

Таблиця
Методи стратегічного та оперативного аналізу

Назва методу	Зміст методу	Мета дослідження
SWOT-аналіз	аналіз сильних та слабких сторін підприємства, можливостей і загроз ринку	визначення маркетингових цілей, стратегій і конкретних заходів, що дають можливість пристосувати потенціал підприємства до тенденцій та умов ринку
ABC-аналіз	розподіл сукупності об'єктів (продуктів, клієнтів, постачальників) згідно обраним критеріям (прибуток, товарообіг, витрати) на три групи – А, В, С	концентрація ресурсів на критичній меншості, залишаючи без уваги тривіальну більшість
GAP-аналіз	встановлення відхилень очікуваних показників від бажаних, що відповідають пріоритетним та контрольним завданням підприємства	усунення розриву між очікуваним та бажаним показниками шляхом ліквідації стратегічних та тактичних відхилень
маржинальний аналіз	метод мікроекономічного аналізу, який передбачає розподіл загальної суми витрат на виробництво та збут продукції відповідно їх залежності від обсягу випуску продукції на постійні (які не залежать від обсягу виробництва продукції) та змінні (прямо пропорційні обсягам виробництва продукції) витрати	збільшення прибутковості асортиментних позицій, що є нерентабельними для підприємства
портфоліо-аналіз (портфельний аналіз)	дає можливість визначити можливості та ризики стратегічних бізнес-одиниць, які входять до складу підприємства та стратегії розвитку кожної з них	аналіз існуючого становища та розробка стратегічних рішень

мального, згідно з яким на групу А має припадати (70-80) % обсягу продаж. Отже, постійному контролю підлягає реалізація асортиментних груп А та В, а також необхідне спрямування маркетингових заходів на стимулювання збуту виділених груп [8].

Для встановлення відхилень очікуваних показників від бажаних, що відповідають пріоритетним та контрольним завданням підприємства, нами використаний GAP-аналіз. Метод передбачає порівняння бажаних та очікуваних показників. Очікувані показники отримали модифікацією цільових величин або екстраполяцією тренду на основі гіпотези, стосовно якої тенденції розвитку збуту товарів та ринків зберігаються в майбутньому. Бажані результати визначаються стратегічними намірами фірми, баченням того, що вона має досягти у своєму розвитку. Відхилення бажаних показників від очікуваних розподіляють на стратегічні та тактичні, шляхи ліквідації яких відрізняються.

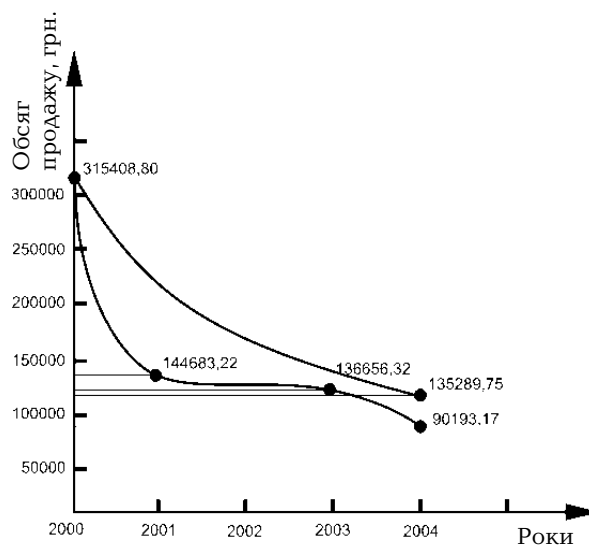
Нами GAP-аналіз проведений на прикладі препарату Y (умовне позначення). Його очікуваний обсяг продаж склав у 2004 році 90193.17 грн., а бажаний — 135289.75 грн. Таким чином, стратегічний люк (щілина) склав 45096.58 грн. Графічно GAP-аналіз відображений на Рис. 2.

Усунути розрив між очікуваним і бажаним показниками можна шляхом ліквідації стратегічних і тактичних відхилень. Тактичне відхи-

лення може бути ліквідоване за рахунок підвищення результативності маркетингової діяльності заводу по відношенню до існуючих товарів і ринків. Стратегічне відхилення може бути ліквідоване завдяки виходу на нові ринки збуту.

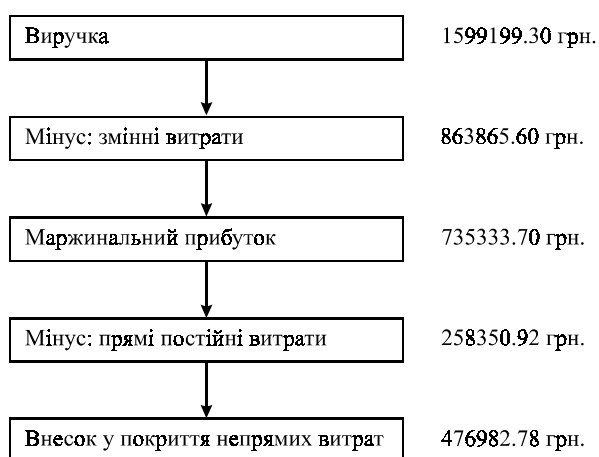
Далі нами здійснено маржинальний аналіз, що ґрунтується на використанні принципу додаткової вартості, яка визначається як різниця між виручкою від реалізації продукції та прямими витратами на її виробництво. Додаткова вартість йде на покриття постійних на-

Рисунок 2



Результати GAP-аналізу

Рисунок 3



Алгоритм розрахунку внеску у покриття непрямих витрат

кладних витрат, а різниця, яка залишається, є прибутком компанії.

Постійні витрати поділяються на прямі та непрямі. Прямі витрати пов'язані безпосередньо з виробництвом товару, решта витрат — це непрямі постійні витрати, що розподіляються пропорційно обраній базі розподілу.

Маржинальний аналіз передбачає розподілення всієї суми витрат на виробництво та збут продукції відповідно залежності витрат від обсягу продукції на постійні та змінні витрати [10].

Підприємство, що аналізується, здійснює випуск лікарських препаратів різних фармакотерапевтичних груп у формі гелів, мазей, настоек, таблеток і капсул.

Із метою виконання маржинального аналізу нами здійснено калькуляцію прибутку в цілому по заводу та окремо по м'яким та твердим лікарським формам. Прибуток до оподаткування в цілому по заводу склав 593855.8 грн, по м'яким лікарським формам — 120760.77 грн., по твердим — 473095 грн. При цьому кількість асортиментних позицій капсул та таблеток дорівнює кількості асортиментних позицій м'яких лікарських форм.

Необхідно було вирішити, чи вигідно підприємству виробництво мазей, гелів та настоек. Для цього, використовуючи метод прямого віднесення витрат на собівартість лікарських засобів, перевіримо, чи перевищує вартість мазей, гелів, настоек прямі витрати, що можуть бути безпосередньо віднесені до конкретного лікарському препарату. Такими є змінні витрати (863865.60 грн.) та частина постійних витрат (258350.92 грн.). При цьому різниця між вартістю мазей, гелів, настоек і

змінними та прямими постійними витратами є внеском у покриття непрямих витрат. Наведимо алгоритм його розрахунку (Рис. 3).

Моделювання прибутку у разі виключення мазей, гелів і настоек з асортименту заводу показує можливе його зменшення на 120760.47 грн. Таким чином, продовження виробництва м'яких лікарських форм економічно виправдане.

Із метою збільшення прибутку від реалізації м'яких лікарських форм нами запропоновано провести перерозподіл непрямих постійних витрат пропорційно надходженням від реалізації твердих і м'яких лікарських форм. Однак, перерозподіл непрямих постійних витрат спричинив збільшення прибутку від виробництва та зменшення прибутку по твердим лікарським формам. Загальний прибуток при цьому не змінився. Тому для підвищення прибутку слід прагнути до зниження непрямих постійних витрат, які у цьому разі перебільшують прямі постійні витрати [7].

Для аналізу існуючого становища та розробки стратегічних рішень нами використано портфоліо-аналіз. На основі цього методу вся діяльність підприємства розглядається як портфель, що складається з різноманітних стратегічних бізнес-одиниць.

Для всіх різноманітностей портфоліо-аналізу характерна побудова двовимірного поля оцінки, в якому розміщуються об'єкти дослідження. Найбільш відомі моделі портфоліо-аналізу: матриця «доля ринку — зростання ринку» Boston Consulting Group та матриця «привабливість ринку — конкурентні переваги» МакКінсі. Побудова моделі портфоліо-аналізу базується на трьох основних параметрах: оцінка характеристик, розподіл характеристик та об'єкти дослідження.

Для різних портфельних моделей характерне різноманіття ключових осей — характеристик. У більшості випадків виділяють одну «внутрішню» та одну «зовнішню» характеристики. «Внутрішня» характеристика відображає оцінку існуючого положення об'єкту дослідження (рівень потенціалу результативності, наприклад, відносна частка ринку). «Зовнішня» характеристика відображає можливості розвитку об'єкту дослідження, які є у зовнішньому середовищі (можливості об'єкту дослідження, наприклад, зростання ринку). Після вибору характеристик треба розподілити осі моделі портфоліо-аналізу з метою побудови типових для цього методу кластерів, зон аналізу та обґрунтування рішень. Вісь моделі

при цьому розподіляється на дві або три зони інтенсивності.

Портфоліо-аналіз має підтримувати стратегічне планування, а не заміщати його. При проведенні портфоліо-аналізу нами розроблено модель портфоліо-аналізу — матриця «частка ринку — зростання ринку» відповідно до якої розподілені лікарські препарати. Із 15 проаналізованих препаратів до групи «важкі діти», для яких характерні високі темпи зростання обсягів продаж та мала частка ринку, потрапили 12. Ці препарати для просування потребують значних інвестицій. Група «дійні корови» складається з одного препарату, положення якого на ринку характеризується значною часткою ринку та низькими темпами зростання. До групи «зірки» віднесено два препарати, що приносять значний прибуток підприємству та у міру зниження темпів розширення ринку переходять до групи «дійні корови».

Таким чином, проведене дослідження та розрахунки свідчать про необхідність, практичну значущість та ефективність системного маркетингового контролю діяльності фармацевтичного підприємства. Із урахуванням його актуальності, обмеженого використання у практичній роботі маркетингових служб та вищого керівництва підприємств існує потреба подальшого опрацювання методичних підходів до маркетингового контролю у сфері виробництва та збуту фармацевтичної продукції.

Висновки

1. Наведено характеристику системи контролю маркетингової діяльності фармацевтичного підприємства та найбільш прийнятних методів економічного аналізу показників його роботи.

2. На прикладі показників роботи одного із фармацевтичних підприємств проведений SWOT-аналіз, ABC-аналіз, GAP-аналіз, маржинальний аналіз та портфоліо-аналіз. На основі одержаних результатів сформульовано пропозиції щодо коригування стану підприємства на ринку, стратегічних та тактичних відхилень фактичних показників від бажаних, а також із контролю структури асортименту продукції.

ЛІТЕРАТУРА

1. Абалонин С. SWOT-аналіз діяльності підприємства // Маркетинг. — 1999. - №6. - С. 47-49.
2. Ачеев Е.Я. Маркетинг на підприємстві: теорія і практика // Маркетинг і реклама. — 1998. - № 9-10 (25-26). — С. 15-17.
3. Громовик Б.П., Гасюк А.Д., Ярмо Н.Б. SWOT-аналіз діяльності оптової фармацевтичної фірми // Провизор. — 2000. - № 15. — С. 23-24.

4. Кандинская О. Стратегический маркетинг и финансовое планирование // Маркетинг. — 2001. - № 2. — С. 34-36.
5. Кудайкова А.А. SWOT-анализ сбытовой деятельности фирм — импортеров наркотических лекарственных средств в Кыргызстане // Провизор. - 2001. - № 15. - С. 6-7.
6. Пасечник В. К вопросу о методических подходах определения эффективности рекламы и паблисити // Маркетинг и реклама. — 2001. - № 9 (61). — С. 38-41.
7. Слабковский Ю. Развитие маркетинга и его роль в экономическом росте // Экономика Украины. - 1999. - № 5. - С. 74-81.
8. Страшний В.В. Контролінг у системі збуту фармацевтичної фірми — продуцента // Ліки. - 1999. - № 3-4. - С. 146-149.
9. Сухачев Ю., Спиридонова Е. Бухгалтерский анализ системы маркетинговых исследований // Маркетинг. — 1999. - № 3. — С. 68-75.
10. Харченко Т. Системный анализ и концепция маркетинга // Маркетинг. — 2002. - № 3. — С. 22-30.
11. Fifield P., Gilligan C. Strategik Marketing Management. Planning and Control, Analysis and Decisions. — Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1995. — 420 p.
12. Malcom McDonald. Marketing Plans: How to Prepare them. How to Use them. — England: CIM, 1995. — 310 p.

Резюме

Мнушко З.Н., Дорохова Л.П., Пестун И.В., Ларионова Н.В.

Система и методы контроля маркетинговой деятельности фармацевтических предприятий

Приведены основные направления контроля маркетинговой деятельности фармацевтического предприятия. С целью корректировки состояния предприятия относительно ассортимента, прибыльности (ABC-анализ, маржинальный анализ, портфоліо-анализ), определения маркетинговых целей, стратегий и конкретных мероприятий для приспособления потенциала предприятия к внешним рыночным условиям (SWOT-анализ), ликвидации стратегических и тактических отклонений (GAP-анализ) использованы методы стратегического и оперативного анализа.

Summary

Mnushko Z.N., Dorokhova L.P., Pestun I.V., Larionova N.V.

System and methods of the control of marketing activity of pharmaceutical enterprises

Basic directions of the control of marketing activity of pharmaceutical enterprises were given. Methods of strategic and operational analysis for the purpose of the correction of enterprise state relative to assortment, profitability (ABC-analysis, marginal analysis, portfolio-analysis), determination of marketing purposes, strategies and specific measure for the adaptation of enterprise potential to external market conditions (SWOT-analysis), liquidation of strategic and tactical deviations (GAP-analysis) were given.

Мнушко Зоя Миколаївна. Д.фарм.н. Професор. Зав. кафедри менеджменту та маркетингу у фармацевції Національного фармацевтичного університету.

Дорохова Людмила Петрівна. К.фарм.н. Доцент кафедри менеджменту та маркетингу у фармацевції Національного фармацевтичного університету.

Пестун Ірина Володимирівна. К.фарм.н. Доцент кафедри менеджменту та маркетингу у фармацевції Національного фармацевтичного університету.

Ларионова Наталія Вікторівна. Асистент кафедри менеджменту та маркетингу у фармацевції Національного фармацевтичного університету.