

ISSN 0367-3057

ФАРМАЦЕВТИЧНЫЙ
ЖУРНАЛ

2 · 2006

Оксифрал

вінкамін

УНІКАЛЬНЕ ПОЄДНАННЯ

P.C. № UA/0479/0/101

НООТРОПНОЇ
ВАЗОТРОПНОЇ
МЕТАБОЛІЧНОЇ дії

натуральний алкалоїд барвінку
капсули с пролонгованим
вивільненням

Інформація для лікарів та провізорів

За додатковою інформацією звертайтеся до

Представництва компанії ГлаксоСмітКляйн в Україні:
03038, м. Київ, вул. Лінійна, 17 тел. 044 585 51 85, факс 585 51 86



ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ЖУРНАЛ

№ 2

Двомісячний
науково-практичний журнал

ЗАСНОВАНІЙ 1928 р.

БЕРЕЗЕНЬ—КВІТЕНЬ

2006 • Київ

Видавництво «ЗДОРОВ'Я»

ЗМІСТ

МЕНЕДЖМЕНТ, МАРКЕТИНГ ТА ЛОГІСТИКА У ФАРМАЦІЇ

- Євтушенко О.М., Мнушко З.М. Дослідження видів, ступеня загрози, причин
та наслідків ризиків у діяльності посередницьких фармацевтичних фірм 3
Шаповалова В.О., Гуторов О.І., Шаповалов В.В., Сосін І.К. Удосконалення соціального
менеджменту на засадах доказової фармації при забезпеченні пацієнтів лікарським засобом
«Трамадол» з приватної аптечної мережі 12

АВТОМАТИЗОВАНІ СИСТЕМИ УПРАВЛІННЯ

- Євстратьєв Є.Є., Олійник П.В. Комп'ютерна програма для визначення потреби в інфу-
зійних розчинах на період ліквідації наслідків надзвичайних ситуацій 17

СИСТЕМА ПРОФІЛАКТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ ВІЛ/СНІД-ІНФЕКЦІЇ

- Яншинін У.Я. Визначення потреби фармацевтів в інформації з профіластики та ліку-
вання ВІЛ/СНІДу 22

ДО ПИТАННЯ ВИГОТОВЛЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ В АПТЕКАХ

- Коритнюк Р.С., Руденко В.В., Власенко І.О. М'які лікарські форми аптечного виготов-
лення — забезпечення індивідуального підходу в лікуванні населення. Повідомлення III.... 25

НОВІ ТЕХНОЛОГІЇ

- Шаповалов О.В., Чусов В.І., Дикий І.Л., Манський О.А. Напівавтоматичний комплекс
опромінювальної дії для підвищення специфічної активності антибіотиків 29

ПРАВОВЕ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ДІЯЛЬНОСТІ

- Шаповалова В.О., Галаван З.С., Зброжек С.І., Шаповалов В.В., Гуторова Л.О. Фарма-
цевтичне право як базова основа вдосконалення соціальних і морально-етичних правовід-
носин між лікарем, хворим і провізором у фармацевтичному бізнес-середовищі 33

ОГЛЯДИ

- Ясна Н.С., Мартинов А.В., Костіна Т.А., Кисличенко В.С. Високоефективна рідинна
хроматографія лікарських засобів білкової природи в пікомольних кількостях 38
Марчишин С.М., Демидяк О.Л. Історія застосування рослин роду Арніка в народній
та науковій медицині 47

ОРИГІНАЛЬНІ СТАТТІ

- Гаврилюк Д.Я., Лесик Р.Б., Зіменковський Б.С., Пачовський В.Ю. Синтез та вивчення
протиракової активності 4-(2,4-тіазолідиніон-5-ацетокси)бензиліденгідразонів бензазол-2-
тіоацетатних кислот 53
Крупська Т.В., Барвінченко В.М., Касперський В.О., Турів В.В., Чуйко О.О. Адсорбційне
закріплення левоміцептину на поверхні високодисперсного кремнезemu 59
Дикий І.Л., Козелкова Ю.В., Філімонова Н.І., Гейдеріх О.Г. Мікробіологічне обґрунту-
вання технології та складу комплексних мазей на основі антисептиків та нестероїдних про-
тизапальних засобів 64
Безрукавий Є.А., Гладух Є.В. Вивчення осмотичної активності мазевих основ на третій
фазі ранового процесу 70





Куцик Р.В. Вивчення протимікробної активності екстрактів бруньок берези бородавчастої відносно стафілакоків з різними детермінантами антибіотикорезистентності.....	74
Гречана О.В., Мазулін О.В., Сур С.В., Виноградова О.Г., Прокопенко О.В. Фітохімічне вивчення ефірної олії полину гіркого.....	82
Пашк С.С., Зіменковський А.Б., Піняжко О.Р., Ривак Т.Б., Ткачук Л.Й. Фармакоепідеміологічні дослідження профілю безпеки медичного застосування лікарського засобу «Реопірин».....	86

ФАРМАКОТЕРАПІЯ

Фірас Зейдо, Луцик Б.Д., Федоришин Т.М., Лаповець Л.Є., Ястремська О.О. Імунокоригуючий вплив протефлазиду на лейкоцити донорів.....	90
--	----

КОРПОРАТИВНА ІНФОРМАЦІЯ

Россіхін В.В., Мисько С.Я. Урогенітальна хламідійна інфекція: діагностика та лікування з використанням препарату «ЮНІКЕФ».....	94
--	----

Чекман І.С., Геращенко І.І., Соляник О.В., Маркелов Д.А. Порівняльне вивчення фізико-хімічних показників оригінального та генеричного препаратів клопідогрелу.....	100
--	-----

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

О.О. ЦУРКАН, д-р фармац. наук, академік МАІ — головний редактор,
О.М. БІЛОВОЛ, д-р мед. наук, А.Л. БОЙКО, Є.Є. БОРЗУНОВ, д-р фармац. наук, В.О. БОРИЩУК, канд. фармац. наук, академік УАНП (заступник головного редактора), О.П. ВІКТОРОВ, д-р мед. наук, професор (заступник головного редактора), В.П. ГЕОРГІЄВСЬКИЙ, д-р фармац. наук, чл.-кор. НАН України (заступник головного редактора), О.М. ГРИЦЕНКО, д-р фармац. наук, академік МАІ, Б.П. ГРОМОВИК, канд. фармац. наук, Ю.І. ГУБСЬКИЙ, д-р мед. наук, академік УАНП і НАН України, С.І. ДІХТЯРЬОВ, д-р фармац. наук, С.М. ДРОГОВОЗ, д-р мед. наук, В.А. ЗАГОРІЙ, д-р фармац. наук, професор, Б.С. ЗІМЕНКОВСЬКИЙ, д-р фармац. наук, академік АТК України, Р.С. КОРІТNIЮK, д-р фармац. наук, академік МАІ, В.П. КУЖАР, д-р хім. наук, академік НАН України, В.І. ЛІТВІНЕНКО, д-р хім. наук, чл.-кор. ІА України, М.О. ЛОЗИНСЬКИЙ, д-р хім. наук, академік НАН України, Н.П. МАКСЮТИНА, д-р хім. наук, Н.Ф. МАСЛОВА, д-р біол. наук, І.І. МАТИЙЧИН, І.Ф. МЕЩИШЕН, д-р біол. наук, академік АН України, Н.І. М'ЯКУШКО — відповідальний секретар, І.М. ПЕРЦЕВ, д-р фармац. наук, М.С. ПОНОМАРЕНКО, д-р фармац. наук, академік МАІ (заступник головного редактора), В.В. ПОСТОЛЬНИК, В.В. РУДЕНКО, канд. фармац. наук, К.М. СИТНИК, д-р біол. наук, академік НАН України, О.В. СТЕФАНОВ, д-р біол. наук, чл.-кор. АМН України, О.І. ТИХОНОВ, д-р фармац. наук, академік АНТК України, В.Д. ЧЕРЕДНИЧЕНКО, канд. фармац. наук, В.П. ЧЕРНИХ, д-р хім. та д-р фармац. наук, чл.-кор. НАН України (заступник головного редактора)

РЕДАКЦІЙНА РАДА

Н.О. ВЕТЮТНЕВА, д-р фармац. наук, Д.С. ВОЛОХ, д-р фармац. наук, академік МАІ, О.І. ГРИЗОДУБ, д-р фармац. наук, О.П. ГУДЗЕНКО, д-р фармац. наук, М.О. КАЗАРІНОВ, д-р фармац. наук, Т.Г. КАЛИНЮК, д-р фармац. наук, Т.В. КОВАЛЬЧУК, канд. фармац. наук, Ф.А. КОНЄВ, д-р фармац. наук, О.П. ЛАЗАРЄВ, д-р біол. наук, А.П. ЛЕБЕДА, канд. с.-г. наук, М.О. ЛЯПУНОВ, д-р фармац. наук, І.А. МАЗУР, д-р фармац. наук, О.Ю. МАКОВЕЦЬКА, д-р фармац. наук, Ф.І. МАМЧУР, д-р мед. наук, Б.Л. ПАРНОВСЬКИЙ, д-р фармац. наук, В.В. ПЕТРЕНКО, д-р фармац. наук, Ю.В. ПІДПРУЖНИКОВ, д-р фармац. наук, В.І. ПРОКОПІШИН, д-р фармац. наук, О.І. РУДЕНКО, В.П. СОБОЛЕВСЬКИЙ, А.Л. СЯТИНЯ, В.В. ТРОХИМЧУК, д-р фармац. наук, професор, Ф.П. ТРІНУС, д-р мед. наук, І.С. ЧЕКМАН, д-р мед. наук, чл.-кор. НАН і АМН України, В.Т. ЧУМАК, канд. хім. наук

УДК 615.1:330.131.7:339.138

О.М. ЄВТУШЕНКО, канд. фармац. наук, доц.,
З.М. МНУШКО, д-р фармац. наук, проф.

Національний фармацевтичний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ ВИДІВ, СТУПЕНЯ ЗАГРОЗИ, ПРИЧИН ТА НАСЛІДКІВ РИЗИКІВ У ДІЯЛЬНОСТІ ПОСЕРЕДНИЦЬКИХ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ ФІРМ

Ключові слова: ризик, товаропросування, оптові фармацевтичні фірми

Розвиток в Україні підприємництва є закономірним процесом реалізації економічних реформ і формування цивілізованих ринкових відносин. Проте економіка країни має свої особливості — процес становлення йде поволі, нестабільна політична й економічна ситуація, рухоме законодавство. За даних умов перед вітчизняними підприємцями постає питання про те, як зробити свою продукцію конкурентоздатною, підвищити рентабельність своєї діяльності, знизити або уникнути непотрібних втрат. У зв'язку з цим останнім часом в літературі все частіше обговорюється тема, пов'язана з різними напрямами дослідження ризиків, як загрози для стабільного існування фірми. За даними результатів досліджень цієї проблеми, у процес управління ризиком входить: виявлення ризику, його оцінка, вибір методів управління ризиком, застосування вибраних методів та оцінка результатів [2, 4, 7—10].

Підприємництво у фармації характеризується наявністю різноманітних ризиків як загальних, так і специфічних, характерних тільки для фармації. Першими етапами вивчення ризиків є їх виявлення й оцінка. Виявлення ризику може здійснюватися різними способами: від складного аналізу вірогідності до чисто інтуїтивних припущень. Нині підприємці в управлінні ризиками зазвичай спираються на інтуїцію, авторитет фахівців та попередній досвід [4]. Оцінка ризику полягає у визначенні якісним або кількісним способом ступеня ризику. Якісна оцінка може бути простою, її головне завдання — визначити можливі види ризику, а також чинники, що впливають на рівень ризику при виконанні певного виду діяльності. Зустрічаються також різні підходи до кількісного визначення ризику. Аналіз економічної літератури з даної теми, показав, що найпоширенішими методами кількісної оцінки ступеня ризику є:

- статистичний метод;
- метод аналізу доцільності витрат;
- метод експертних оцінок;
- аналітичний метод;
- метод використання аналогів;
- комбінований метод.

Статистичний метод широко застосовується в тих випадках, коли при проведенні кількісного аналізу фірма має в своєму розпорядженні значний обсяг аналітико-статистичної інформації за тривалий період часу. Під час проведення аналізу використовуються показники, що стосуються результативності здійснення фірмою визначених дій. Сутність статистичного методу оцінки ступеня ризику ґрунтуються на теорії вірогідності розподілу випадкових величин. Це положення означає, що, маючи достатню кількість інформації про

реалізацію певних видів ризику в минулих періодах, будь-який суб'єкт господарювання здатний оцінити вірогідність реалізації їх у майбутньому. Дана вірогідність і буде ступенем ризику.

Особливий інтерес являє кількісна оцінка підприємницького ризику за допомогою методів математичної статистики. Головні інструменти даного методу оцінки — дисперсія, стандартне відхилення, коефіцієнт варіації.

Математичне очікування є середньозваженим усіх можливих результатів, де ймовірність кожного з них використовується як частота або вага відповідного значення. Очікуване значення розраховується за формулою

$$E = \sum_{i=1}^n P_i \cdot X_i,$$

де P_i і X_i — відповідно ймовірність і значення i -го результату;

n — кількість можливих результатів [3].

Проте математичне очікування ще не є повною характеристикою випадкової величини. Для більш повної її характеристики необхідно використовувати й інші числові характеристики. Так, для того, щоб оцінити, яким чином будуть розсіяні значення вибраного параметра (наприклад, прибутку) від його середнього прогнозованого значення (тобто від математичного очікування), доцільно використовувати таку характеристику, як дисперсія. Теорія вірогідності визначає дисперсію як середньозважене за ймовірностями квадратів відхилень можливих результатів від очікуваного

$$\sigma = \sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - E)^2 \cdot P_i}.$$

Величина, за допомогою якої можна оцінювати відхилення можливих значень випадкової величини від її середнього значення, називається середньоквадратичним відхиленням [3].

Середньоквадратичне відхилення є квадратним коренем з дисперсії

$$\sigma = \sqrt{\sigma^2}.$$

Економічне значення середньоквадратичного відхилення з погляду теорії ризиків полягає в тому, що воно є характеристикою конкретного ризику, яка показує максимально можливе коливання визначеного параметра від його середньочікуваного значення.

За допомогою коефіцієнта варіації можна порівнювати навіть коливання ознак, вражених в різних одиницях вимірювання. Коефіцієнт варіації може змінюватися в межах від 0 до 100 %. При цьому чим менше його значення, тим більша стабільність прогнозованої ситуації, а отже, і менший ступінь ризику і, навпаки, чим більше його значення, тим вищий ступінь ризику даного заходу або напряму діяльності.

Метод аналізу доцільності витрат ґрунтуються на тому, що в процесі підприємницької діяльності витрати по кожному конкретному напряму, а також по окремих елементах не мають однакового ступеня ризику. Інакше кажучи, ступінь ризику двох різних напрямів діяльності однієї і тієї ж фірми неоднаковий і ступінь ризику по окремих елементах витрат усередині одного і того ж напряму діяльності також різний.

Метод визначення ступеня ризику шляхом експертних оцінок носить більш суб'єктивний характер порівняно з іншими методами. Ця суб'єктивність є наслідком того, що група експертів, яка займається аналізом ризику, виказує власні суб'єктивні думки як про минулу ситуацію, так і про перспективи її розвитку. Часто даний метод застосовується при недостатній кількості інформації.

мації або при визначенні ступеня ризику такого напряму підприємницької діяльності, який не має аналогів, що не дає змоги аналізувати попередні показники.

Аналіз економічної літератури, присвяченої проблемам оцінки ступеня ризику за допомогою аналітичного методу, показав, що його доцільно звести до декількох взаємопов'язаних етапів. На першому етапі здійснюється підготовка до аналітичної обробки інформації. На другому етапі будуються діаграми залежності виділених результативних показників від величини початкових параметрів. Зіставляючи між собою отримані діаграми, можна виділити ті основні показники, які найбільшою мірою впливають на даний вид (або групу видів) підприємницької діяльності. На третьому етапі визначаються критичні значення ключових параметрів. Найбільш просто при цьому може бути розрахована критична точка виробництва або зона беззбитковості, яка показує мінімально допустимі обсяги продажів для покриття витрат фірми. Під час четвертого етапу аналізуються на підставі отриманих значень можливі шляхи підвищення ефективності і стабільності роботи фірми, а отже, і шляхи зниження ступеня ризику.

Метод використання аналогів полягає в тому, що при аналізі ступеня ризику певного напряму підприємницької діяльності доцільно використовувати дані про розвиток таких саме й аналогічних напрямів у минулому.

При проведенні комплексного аналізу важливо не тільки встановити всі джерела ризику, але і виявити, які джерела домінують. При цьому можливі втрати доцільно класифікувати за ознакою впливу на діяльність фірми на об'єктивні та суб'єктивні. До об'єктивних втрат можуть бути віднесені такі втрати, які при своєму виникненні безпосередньо впливають на діяльність підприємства, а до суб'єктивних — ті, вплив яких на фірму здійснюється опосередковано.

Незадоволеність фірми високими показниками ризику в абсолютному і відносному виразі є однією з головних причин усвідомленого прийняття нею ризику, а в ряді випадків її відмови від окремих напрямів діяльності або спонукальним мотивом для внесення змін у стратегію розвитку фірми.

Фармацевтична галузь характеризується великими фінансовими, матеріальними і трудовими вкладеннями. Присутність різних видів ризиків загрожує фірмі відчутними втратами в разі їх реалізації. У зв'язку з цим кожній фармацевтичній фірмі необхідно відстежувати ризики, характерні для роботи в даній галузі, оцінювати вірогідність збитку і вчасно вживати заходів, щоб запобігти цьому.

Для виявлення кількості, видів та ступеня, характерних для діяльності фармацевтичних фірм-посередників ризиків, нами проведено опитування 26 регіональних крупнооптових фірм.

У процесі опитування експертам було запропоновано визначити ризики, які найчастіше зустрічаються, а також оцінити їх за такою схемою:

- ступінь ризику оцінюється від 1 до 10 балів;
- ступінь ризику обмежується за такими критеріями: 0—1 — мінімальний ризик; 1—3 — малий ризик; 3—4 — середній ризик; 4—6 — високий ризик; 6—8 — максимальний ризик; 8—10 — критичний ризик.

Зона від 1 до 4 балів та від 4 до 6 балів оцінювалась, як зона припустимого ризику, коли підприємству може загрожувати втрата прибутку; в межах цієї зони підприємницька діяльність зберігає свою економічну доцільність; тобто втрати є, але вони не перевищують розмір очікуваного прибутку. Зона від 6 до 8 — це зона максимального ризику, коли підприємству загрожує втрата доходу, тобто втрати перевищують очікуваний прибуток і в крайньому разі можуть привести до втрати всіх грошей, укладених підприємством у проект. Зона від

8 до 10 — зона критичного ризику, коли виникає неплатоспроможність підприємства; втрати можуть дорівнювати активам підприємства [4—6].

Результати опитування керівників оптових фірм у галузі фармації відносно основних видів ризиків, пов'язаних з товаропросуванням, та ступеня їх загрози для діяльності фірми наведені в табл. 1.

Таблиця 1

Експертний висновок відносно видів та ступеня загрози ризиків для підприємств-посередників (оптових фірм) у системі товаропросування

Межа ризику	Найменування ризику
Мінімальний ризик 0—1 бал	Ризик зниження знижки за торгову партією Псування або зміна властивостей ЛЗ у процесі зберігання Ризик зменшення прибутку через погане упакування Ризик зниження споживчої привабливості через пакування Ризик зростання собівартості товару через обрану форму постачання
Малий ризик 1—3 бали	Конфлікти усередині фірми Несективне управління складськими процесами Ризик пошкодження вантажу в процесі транспортування Ризик повернення товару Крадіжка, нестача товару
Середній ризик 3—4 бали	Цінова конкуренція Ризик затримки постачання з вини партнера Ризик неефективної рекламної акції Ризик конкуренції з боку препаратів-аналогів Ризик недостатньої кваліфікації персоналу Ризик несумілінного відношення персоналу до роботи Ризик конфліктів з контрагентами-постачальниками Ризик конфліктів з аптеками Транспортні ризики Прорахунки у термінах та засобах постачання Ризик низької конкурентоспроможності товару Зміна якості товару під час транспортування Ризик погіршення фінансового стану партнера Ризик погіршення відносин або розриву контракту з партнером через особисті обставини Ризик затримки постачання з вини партнера
Високий ризик 4—6 балів	Ризик недостатньої сегментації ринків збуту Ризик помилкового вибору цільового сегмента ринку Ризик зростання витрат на освоєння ринку Ризик зародження нових фірм-конкурентів
Максимальний ризик 6—8 балів	Ризик затримки партнером поточних договірних зобов'язань Ризик невірної організації та отримання неадекватних результатів маркетингових досліджень Ризик обману або неіснування фірми-партнера Зовнішньоекономічні ризики
Критичний ризик 8—10 балів	Виникнення форс-мажорних обставин Ризик вступу у договірні відносини з недієздатними або неплатоспроможними партнерами Недосконалість законодавчої бази країни Ризик обману або неіснування фірми-партнера Кримінальні ризики

Слід брати до уваги, що наведену оцінку ризиків було надано фахівцями крупних оптових фармацевтичних фірм, які мають стабільне місце на ринку, фінансову стійкість, постійно займаються аналітичним моделюванням, плануванням та проводять маркетингові дослідження. Відносно результатів експертних оцінок ризиків у роздрібній мережі слід відзначити, що, на погляд фахівців, ризиків менше і ступінь їх впливу на діяльність підприємства значно менший. Аналіз маркетингових ризиків на оптових фірмах фармацевтичної галузі показав, що система товаропросування підвладна впливу різноманітних маркетингових ризиків, домінуючими серед яких є ризик недосконалості законодавчої

бази країни (80 % опитаних), цінова конкуренція (78 % опитаних), ризик затримки партнером поточних договірних зобов'язань (51,3 % опитаних), ризик блокування договірних відносин (34,8 % опитаних), ризик входження в договірні відносини з недієздатними або неплатоспроможними партнерами (33,17 % опитаних), ризик помилкового вибору сегмента ринку або недостатньої сегментації ринків збути (36 % опитаних), ризик зародження нових фірм-конкурентів (26 %), ризик отримання неадекватних результатів маркетингових досліджень (17,4 % опитаних).

Для підвищення ефективності збути фармацевтичної продукції близько 90 % опитаних проводять маркетингові дослідження з використанням фармацевтичної інформації. Серед популярних джерел інформації — комп'ютерна програма «Інфоклієнт», щотижневик «Аптека», журнал «Провізор», медична газета «Ваше здоров'я» та ін. Але респонденти відзначають можливість одержання недостовірної інформації. Крім цього, 65 % респондентів проводять різноманітні рекламні заходи і 20 % з них відзначають виникнення ризиків, пов'язаних з неефективністю реклами.

Відзначається роль транспортної складової у процесі товароруху. Основним видом транспорту залишається автомобіль, але він стає нерентабельним, якщо відстань перевезення дуже велика. Головним недоліком автомобіля залишається його залежність від вартості пального, яка має тенденцію до збільшення і є складовою вартості товару, а також залежність від стану доріг. Крім автомобіля, для перевезення товару використовують автобус та залізничний транспорт, але 48 % респондентів не мають довіри до перевезень автобусом; 32,5 % — до перевезень залізницею і 19 % — до перевезення автомобілем. Основними причинами недовіри є часті поломки автобусів та крадіжки або псування товару на залізниці.

Також окремо було відзначено соціокультурні ризики: це ризики недостатньої кваліфікації персоналу (до 30 % опитаних), ризик несумлінного ставлення персоналу до роботи (до 20 %), виникнення конфліктних ситуацій: у роботі з аптеками — 11,5 % опитаних, у роботі з постачальниками — 15,3 %, міжособисті конфлікти — до 25 % (причому конфлікти трапляються щомісяця).

Для найефективнішого здійснення збутої діяльності необхідно не тільки ідентифікувати ризик, але і знати причини його виникнення та наслідки. У табл. 2 наведено основні види ризиків, їх причини та наслідки. Слід зазначити, що відповіді керівників оптових фірм незначно відрізняються від відповідей керівників роздрібної аптечної мережі, аналіз ризиків якої було проведено нами раніше [6], що свідчить про наявність проблем, загальних для фармацевтичної галузі в цілому.

Виходячи з даних, викладених у табл. 2, можна зробити висновки відносно того, які джерела ризику існують на підприємстві та яких наслідків слід чекати в разі їх реалізації. У зв'язку з цим останнім часом у процесі стратегічного планування велику увагу приділяють системі управління ризиками. Стратегічне і тактичне управління ризиками на підприємстві передбачає постійний аналіз факторів ризику, оцінювання їх рівня, а також розробку заходів, спрямованих на нівелювання ризиків або на запобігання їх виникненню. Процес управління ризиками має бути безупинним і провадитися за допомогою моніторингу, контролю та необхідних коректуючих впливів. Виконання цих дій вимагає наявності у менеджерів як теоретичних знань, так і практичного досвіду управління в умовах ризику, при цьому дуже важливо правильно підібрати досвідчену команду експертів, які повинні обрати техніку аналізу ризиків, створити модель механізму дії та схему зниження або запобігання ризику на основі методів ризик-менеджменту.

Таблиця 2
Матриця ризиків товаропросування оптових фірм

Вид ризику	Причини виникнення ризику	Наслідки ризику
Недосконалість законодавчої бази країни	<ul style="list-style-type: none"> • недостатній розвиток ринкових відносин; • економічна та політична нестабільність; • корупція; • низький рівень активності населення; • низький рівень підприємницької культури тощо 	<ul style="list-style-type: none"> • Різноманітні наслідки, починаючи з проблем з державними органами контролю та закінчуючи банкрутством підприємства
Зовнішньо-економічні ризики	<ul style="list-style-type: none"> • політична та економічна нестабільність, мілівість законодавчої бази; • воєнні дії та цивільні заворушення; • кримінальні дії; • введення обмежень на імпорт-експорт; • можливість неотримання прибутку; • помилковий вибір партнера, недостатня перевірка його надійності, помилковий вибір умов постачання, невірно складений договір, невірно вибрані параметри контракту; • зростання витрат на освоєння ринку; • недоліки в маркетинговій діяльності; • недостовірність інформації; • специфічність ведення справ у країні-партнері; • невідповідна якість товару та пов'язані з цим наслідки; • незнання цінової кон'юнктури ринку; • невірний розрахунок експортної та імпортної ціни; • зміна ціни товару від моменту підписання договору до моменту відвантаження товару; • зменшення знижки за торгову партію; • антидемпінгові переслідування; • невідповідність упакування та маркування; • неможливість обраного виду постачання; • зростання собівартості через обрану форму постачання; • виникнення форс-мажорних обставин; • виникнення судових витрат; • невиконання партнером арбітражних рішень; • помилковий вибір арбітражного органу; • інфляційні процеси; • зміна ціни товару у процесі реалізації; • введення обмежень торговельної націнки; • введення обмежень на торгівлю; • закінчення реєстрації або неможливість продовження реєстрації лікарського препарату; • помилки в процесі митного оформлення тощо 	<ul style="list-style-type: none"> • суттєві фінансові або матеріальні збитки; • морально-психологічні втрати; • втрати часу; • зниження товарообігу; • порушення термінів та комплектності поставок; • отримання товару з невідповідними параметрами; • розрив відносин з контрагентом; • порушення стратегічних та оперативних планів; • зростання витрат; • штрафні санкції; • недоотримання прибутку; • зростання кредиторської та дебіторської заборгованості, нестача оборотних коштів; • погіршення іміджу фірми; • проблеми з судовими органами, митницею, податковою інспекцією та іншими державними органами; • неможливість переведення на відповідний рахунок капіталу та прибутків; • негативне ставлення до підприємців; • знецінення коштів; • погіршення фінансового стану фірми аж до банкрутства тощо
Ризик затримки партнером поточних договірних зобов'язань Ризик блокування договірних відносин	<ul style="list-style-type: none"> • неплатоспроможність партнера; • відсутність повного асортименту товару; • невірно складений договір; • неефективна робота персоналу фірми-партнера; 	<ul style="list-style-type: none"> • зниження товарообігу; • порушення термінів та комплектності поставок; • недоотримання прибутку; • зростання кредиторської заборгованості та нестача оборотних коштів;

Вид ризику	Причини виникнення ризику	Наслідки ризику
Конфлікти з контрагентами	<ul style="list-style-type: none"> відсутність необхідної документації; несвоєчасна оплата; форс-мажорні обставини; непорядність партнера; відповідь на проблемне постачання товару (несвоєчасна поставка, неповний асортимент, неповага з боку менеджерів, інші проблеми) 	<ul style="list-style-type: none"> погіршення іміджу фірми та психологічного клімату в колективі; розрив відносин з контрагентом; проблеми з податковою інспекцією, судовими та іншими державними органами
Ризик входження в договірні відносини з недієздатними або неплатоспроможними партнерами	<ul style="list-style-type: none"> недосконалість законодавчої та виконавчої бази країни; невірно складений договір; пільгові умови договору не відповідають рівню контрагента; неуважно перевірена ліцензія та інші документи; непорядність контрагента, зіткнення з кримінальними особами; не перевірено фінансовий стан та імідж фірми серед суб'єктів ринку 	<ul style="list-style-type: none"> суттєві фінансові збитки; необхідність участі в судовому процесі; збитки моральні та матеріальні у процесі повернення боргу; погіршення психологічного клімату в колективі фірми-кредитора
Ризик зникнення контрагента-боржника		
Ризик погіршення фінансового стану партнера		
Кримінальні ризики		
Ризик неефективної рекламної акції	<ul style="list-style-type: none"> некісно проведенні маркетингові дослідження, зокрема, сегментування ринку; не вивчено споживацькі переваги; невірно вибраний мотив реклами; непрофесійно складено та оформлено рекламне звернення; невірно выбрано місце, час та інтенсивність виходу реклами, вид та носії реклами; реклама носить несумлінний характер – реклами засоби вводять споживача в оману відносно якості, ефективності, кількості побічних явищ, ваги або обсягів товару; принижується якість товарів-конкурентів та ін.; висока ціна товару відносно обраного сегмента ринку; вузький асортимент товару, форм, дозувань, незручність у використанні; несвоєчасне постачання товару в роздрібну мережу; несумлінне ставлення збутового персоналу до своїх обов'язків або недостатня мотивація; контрдії з боку конкурентів тощо 	<ul style="list-style-type: none"> фінансові збитки у вигляді витрат на рекламу; можливе погіршення іміджу фірми; розварування споживача у товарі або товарній марці; зниження обсягів збуту товару; недоотримання прибутку
Ризик помилкового вибору цільового сегмента ринку	<ul style="list-style-type: none"> відсутність або невірна організація маркетингових досліджень; недостатня кількість даних для аналізу; застаріла інформація; приховування та перекручування фактів партнерами; невірні висновки за результатами маркетингових досліджень 	<ul style="list-style-type: none"> помилкова політика в галузі формування попиту та стимулювання збуту, ціноутворення; товарної та збутової політики; провал товару на ринку або зростання витрат на освоєння ринку; прямі збитки від неефективних рекламних акцій; значне ослаблення конкурентних позицій та як наслідок – фінансові збитки аж до банкрутства
Ризик недостатньої сегментації ринків збуту		
Ризик невірної організації або отримання неадекватних результатів маркетингових досліджень		
Ризик низької конкуренто-спроможності препарату	<ul style="list-style-type: none"> неадекватна оцінка цільового ринку; недооцінка конкурентів; невисока якість товару; недосконала маркетингова та комунікативна політика; 	<ul style="list-style-type: none"> недоотримання прибутків; додаткові маркетингові зусилля на підтримку препарату на ринку; зниження обсягів збуту;

Вид ризику	Причини виникнення ризику	Наслідки ризику
	<ul style="list-style-type: none"> недосконалість асортиментної політики підприємства; відсутність стратегічної направленості збутової діяльності; низький ступінь доцільності організаційної структури збуту 	<ul style="list-style-type: none"> значене ослаблення конкурентних позицій
Ризик конкуренції з боку препаратів-аналогів	<ul style="list-style-type: none"> велика кількість препаратів-аналогів в асортименті аптек та в асортименті фірми; препарати-конкуренти мають більш привабливі властивості, меншу ціну, більший проміжок часу знаходяться на ринку, більш відомі, краще позиціонуються, краще проштовхуються на ринок та ін. 	<ul style="list-style-type: none"> падіння попиту та обсягів збуту; зростання витрат на підтримку препарату на ринку: на рекламні заходи, на оплату праці медичних працівників, на інші види стимулювання збуту
Ризик зародження нових фірм-конкурентів	<ul style="list-style-type: none"> привабливість галузі; недосконалість та рухливість законодавчої бази країни; капіталовкладення за обсягами доступні для основної маси фірм; диверсифікація фірм з менш прибуткових галузей у більш прибуткові; попит на товари росте повільно; звільнення з діючої фірми провідного фахівця або групи фахівців, які створюють самостійно нову фірму аналогічної спеціалізації 	<ul style="list-style-type: none"> падіння обсягів збуту; зростання витрат на менеджмент та на маркетинг; «шантажування» фірми клієнтами; психологічна напруга; порушення стабільності цінової, фінансової політики; банкрутство
Ризик цінової конкуренції	<ul style="list-style-type: none"> велика кількість фірм з аналогічним асортиментом продукції; недосконалість взаємовідносин між фірмами-конкурентами; несумлінна конкуренція 	<ul style="list-style-type: none"> падіння обсягів збуту; зростання витрат на менеджмент та на маркетинг; «шантажування» фірми клієнтами; додаткові невигідні для фірми пільги клієнтам; психологічна напруга; порушення стабільності цінової та фінансової політики
Ризик кадрових прорахунків Ризик недостатньої кваліфікації персоналу Ризик несумлінного ставлення персоналу до роботи Конфлікти Несанкціоновані операції персоналу Порушення законодавства про працю Нестача або втрати ключових працівників	<ul style="list-style-type: none"> відсутність кадрового резерву; дефіцит спеціалістів; невміння співробітників додержуватись ієархії ділових відносин; працевлаштування недосвідчених та недостатньо кваліфікованих робітників; неконтрольованість доступу до конфіденційної інформації; зниження чи завищення зарплати; низька або занадто сурова дисципліна; склад робочої групи підібрано невірно: відрізняються підходи до вирішення завдання, характеристи, бізнес-менталітет, бачення проблем; обмеження кар'єрного зростання, неможливість самореалізації; спілкування з ключовими клієнтами замикається на одному співробітнику; низький рівень контролю, відсутність посадових інструкцій; «зіркова хвороба» у співробітників, різниця в рівні освіти, культури, поглядів тощо; відсутність системи мотивації на підприємстві; недотримання законодавства про працю 	<ul style="list-style-type: none"> порушення корпоративних принципів; з боку провідних спеціалістів — вимоги особливого ставлення, підвищення зарплати та надання інших пільг у вигляді індивідуального графіка роботи, заміни «застарілого» устаткування, окремого робочого місця тощо; порушення дисциплінарної рівноваги; зловживання конфіденційною інформацією; «накручування» комісійних; маніпуляції з параметрами фінансових моделей; неправомірні поради клієнтові; виникнення конфліктів, погіршення психологічного клімату в колективі; кадрові перестановки, звільнення; невідповідна якість і терміни виконання завдань; створення стресових ситуацій (аврал, загроза невиконання великого замовлення); додаткові фінансові та часові витрати на навчання персоналу; зниження показників ефективності роботи; морально-психологічні втрати; погіршення іміджу фірми серед клієнтів; порушення прав працівників

Висновки

1. Показано, що підприємництво у фармації характеризується наявністю різноманітних як загальних, так і специфічних ризиків. Першими етапами вивчення ризиків є їх виявлення та оцінка. Оцінка ризику полягає у визначенні якісним або кількісним способом ступеня ризику. Встановлено, що в даний час найпоширенішими методами кількісної оцінки ступеня ризику є статистичний, метод аналізу доцільності витрат, експертних оцінок; аналітичний; метод використання аналогів; комбінований метод.

2. Для виявлення кількості, видів та ступеня характерних для діяльності фармацевтичних фірм-посередників ризиків проведено опитування регіональних крупнооптових фірм та здійснено їх ранжування за критерієм ступеня загрози для діяльності оптової фірми.

3. З урахуванням того, що для найефективнішого здійснення збутою діяльності необхідно не тільки ідентифікувати ризик, але і знати причини його виникнення та наслідки, складено матрицю факторів найбільш загрозливих ризиків у роботі посередницьких фармацевтичних фірм та наслідків їх реалізації.

1. Бушуева И.В., Червоненко Н.М., Заричная Т.П. и др. // Здобутки та перспективы розвитку управління фармацевтичними організаціями в умовах ринкової економіки: Тези доп. Міжнарод. наук.-практ. конф. — Х., 2003. — С. 67–69.
2. Балабанова Л.В., Балабаниць А.В. Маркетинговий аудит системи збуту: Навч. посібник. — К.: ВД «Професіонал», 2004. — 224 с.
3. Ілляшенко С.М. Економічний ризик: Навч. посібник. — 2-е вид., перероб. і доп. — К.: Центр навчальної літератури, 2004. — 220 с.
4. Лапуста М.Г., Шаршукова Л.Г. Риски в предпринимательской деятельности. — М.: ИНФРА-М, 1998. — 224 с.
5. Мнушко З.М., Євтушенко О.М. // Фармац. журн. — 2003. — № 1. — С. 7–12.
6. Мнушко З.М., Євтушенко О.М. // Пріоритети організаційно-економічної науки та освіти у розвитку вітчизняної фармації: Матеріали наук.-практ. конф. (Харків, 3–4 бер. 2005 р.). — Х.: Вид-во НФаУ, 2005. — 192 с.
7. Старостіна А.О., Кравченко В.А. Ризик-менеджмент: теорія та практика: Навч. посібник. — К.: ІВЦ «Вид-во «Політехніка», 2004. — 200 с.
8. Устенко О.Л. Теория экономического риска. — К.: МАУП, 1997. — 164 с.
9. Чернова Г.В. Практика управления рисками на уровне предприятия. — СПб.: Питер, 2000. — 176 с.
10. Чернов В.А. Анализ коммерческого риска / Под ред. М.И.Баканова. — М.: Финансы и статистика, 1998. — 128 с.

Надійшла до редакції 14.10.2005.

E.H. Евтушенко, З.Н. Мнушко

ИССЛЕДОВАНИЕ ВИДОВ, СТЕПЕНИ УГРОЗЫ, ПРИЧИН И ПОСЛЕДСТВИЙ РИСКОВ
В ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ПОСРЕДНИЧЕСКИХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ФИРМ

Ключевые слова: риск, товародвижение, оптовые фармацевтические фирмы

Исследованы виды и степень угрозы рисков, характерных для товародвижения фармацевтических фирм-посредников. Проведено анкетирование ведущих менеджеров фармацевтических фирм Украины с целью качественной оценки рисковых ситуаций. В результате проведенного анкетирования с использованием шкалы рисков определена их степень, а также причины возникновения рисков и их последствия.

O.M. Evtyshenko, Z.M. Mnyshko

RESEARCH OF KINDS, DEGREE OF THREAT, REASONS AND CONSEQUENCES
OF RISKS IN ACTIVITY OF PHARMACEUTICAL DISTRIBUTORS

Key words: risk, distribution, pharmaceutical distributors

SUMMARY

Article is devoted to kinds and degree of threat of risks characteristic for a distribution of pharmaceutical firms. The questioning top managers of Ukrainian pharmaceutical firms conducting managers is carried out with the purpose of quality standard of risks situations. As a result of questioning with use of a scale of risks their degree, the reasons of origin of risks and their consequence are certain.

*В.О.ШАПОВАЛОВА, д-р фармац. наук, проф., О.І.ГУТОРОВ, асистент,
В.В.ШАПОВАЛОВ, канд. фармац. наук, доц.,
І.К.СОСІН, д-р мед. наук, проф.*

*Національний фармацевтичний університет,
Слідче управління УМВС України в Харківській області,
Харківська медична академія післядипломної освіти*

УДОСКОНАЛЕННЯ СОЦІАЛЬНОГО МЕНЕДЖМЕНТУ НА ЗАСАДАХ ДОКАЗОВОЇ ФАРМАЦІЇ ПРИ ЗАБЕЗПЕЧЕННІ ПАЦІЄНТІВ ЛІКАРСЬКИМ ЗАСОБОМ «ТРАМАДОЛ» З ПРИВАТНОЇ АПТЕЧНОЇ МЕРЕЖІ

Ключові слова: соціальний менеджмент адиктивних пацієнтів, лікарський засіб «Трамадол», порядок вилікування, відпуску, обліку, приватна аптечна мережа

Міністерство охорони здоров'я України виступає головним координатором програми соціального розвитку фармацевтичного сектора економіки щодо впровадження замісної терапії для хворих на наркоманію. Оскільки лікарські засоби (ЛЗ) відіграють важливу роль у своєчасності та ефективності медико-фармацевтичного обслуговування населення, доступ пацієнтів із психічними, поведінковими та адиктивними розладами здоров'я до ліків різних номенклатурно-правових груп (рецептурні і безрецептурні) набуває вирішального значення [8, 15]. Наслідками реформування суспільства України стало впровадження основ ринкової системи в медико-фармацевтичне забезпечення населення, що супроводжується скороченням фінансування всієї системи охорони здоров'я та зниженням доступу пацієнтів до ліків. Останнє, у форматі рекомендацій ВООЗ, означає зниження якості медико-фармацевтичного обслуговування населення [11].

У зв'язку з цим особливої актуальності набуває необхідність удосконалення соціального менеджменту у форматі створення прозорої нормативно-правової та фінансово-економічної системи забезпечення населення в цілому і окремого пацієнта зокрема життєво необхідними ЛЗ різних класифікаційно-правових груп на засадах доказової фармації. Термін «доказова фармація» (фармація, яка базується на доказах) був нами запропонований уперше в 2005 р. [14]. Хоч сам термін є новим, ми розглядаємо доказову фармацію не як галузь науки, а як новий підхід, напрямок або технологію збирання, аналізу, узагальнення та інтерпретації наукової інформації щодо обігу ЛЗ різних номенклатурно- та класифікаційно-правових груп. У фармації давно і широко використовуються різні методи аналізу та оцінок, які пов'язані з різними етапами обігу ЛЗ (розробка, реєстрація, застосування, зберігання, відпуск тощо). Доказову фармацію необхідно розглядати як новий підхід до системи правовідносин «розробник ЛЗ—виробник ЛЗ—провізор—лікар—пацієнт—захворювання—ЛЗ—побічні ефекти ЛЗ—зловживання ЛЗ—контролюючі та правоохоронні органи». Доказова медицина (термін «доказова медицина» був запропонований у 1990 р.) і доказова фармація мають широку сферу застосування, а їх принципи використовуються в різних галузях медичної та фармацевтичної науки. Наприклад, одним з напрямків доказової медицини і доказової фармації є аналіз результатів клінічних випробувань. Ефективність, безпечність та показання до застосування в медичній практиці ЛЗ базуються за рівнем достовірності (доказовості) на основі методів доказової медицини і доказової фармації [14].

Лікарська залежність від психоактивних ЛЗ (наркоманія, токсикоманія, ВІЛ/СНІД, туберкульоз, венеричні, психічні, неврологічні, гінекологічні та поведінкові розлади здоров'я) потребує ретельного вивчення з боку фармацевтичного права, судової фармації, судової медицини, судової психіатрії, судової наркології та інших судових дисциплін з метою вивчення, аналізу та узагальнення причин і умов, які спричиняють, з одного боку, зростання захворюваності, а з другого — зростання правопорушень [2, 4, 5].

Останнім часом серед пацієнтів, які страждають адиктивними розладами здоров'я внаслідок зловживання психоактивними речовинами, став застосовуватися препарат «Трамадол», який за класифікаційно-правовою ознакою віднесено до отруйних ЛЗ [14].

Слід зазначити, що на фармацевтичному ринку України в обігу знаходиться ряд ЛЗ, діючою основою яких є трамадол, а саме: трамал, традол, трамадол-штада, маброн, протадон, синтрайон, трамал-ретард, трамундин [12, 19].

Як відомо, трамадол за клініко-фармакологічною ознакою віднесено до групи опіоїдних аналгетиків. Центральний аналгетичний ефект його має змішаний механізм дії. Трамадол здатний бути чистим антагоністом — агоністом відносно мю-, дельта- та капа-опіатних рецепторів, препарат інгібує зворотне захоплення норадреналіну та нейронів і посилює серотонінергічну відповідь. Крім знеболювальної дії, трамадол чинить протикашльову та незначну седативну дію. В разі парентерального використання препарату досягається швидкий і тривалий знеболювальний ефект. Аналогічна дія з'являється через 5—10 хв після введення ЛЗ і триває протягом 3—5 год. У терапевтичних дозах трамадол не пригнічує центр дихання і моторику кишечника [16].

Трамадол призначають для купірування помірного та значно вираженого болювого синдрому в післяопераційний період, при травмах, онкологічним хворим, а також перед хірургічними втручаннями. Препарат застосовується перорально внутрішньовенно (повільно, краплями), внутрішньом'язово або підшкірно. Разова доза для дорослих та дітей віком після 14 років становить 50—100 мг, вища добова доза — 400 мг. Кратність уведення (одноразово, кожні 3—5 год та ін.) залежить від вираженості болювого синдрому та ефективності препарату [17].

При вживанні трамадолу можливі запаморочення, посилення потовиділення, нудота, блювання, відчуття стомленості, заціпеніння, зниження швидкості реакцій. В окремих випадках при внутрішньовенному введенні у великих дозах або при одночасному призначенні нейролептиків можливі напади судом церебрального генезу. Інколи відзначаються побічні явища з боку серцево-судинної системи (більша частота серцевих скорочень, зниження артеріального тиску аж до колапсу, особливо при зміні положення з горизонтального на вертикальне). Також можуть спостерігатися відсутність апетиту, сухість у роті, закреп, метеоризм, біль у животі. У разі тривалого використання трамадолу можливий розвиток привикання та лікарської залежності [1, 6, 18]. У той же час правоохоронними органами фіксуються випадки незаконного обігу трамадолу (відпуск із закладів охорони здоров'я без рецепта лікаря, немедичного вживання, зловживання) [7]. У більшості зареєстрованих випадків показано зловживання трамадолом разом з іншими психоактивними речовинами, серед яких слід відмітити опій, канабіс, бупренорфін (рис. 1).

Лікарська залежність від трамадолу виникає внаслідок тривалого лікування цим ЛЗ або нерационального його вживання (зловживання) разом з іншими психоактивними ре-



човинами (наприклад, наркотичними засобами) [3, 10]. При цьому відносно спеціалістів медицини та фармації службами боротьби з незаконним обігом наркотиків, з організованою злочинністю МВС України збиралися оперативно-розшукові матеріали, а досудовим слідством порушувалися кримінальні справи, які мали ознаки злочинів, передбачених ст. 321 Кримінального кодексу України [13].

З використанням методів доказової фармації нами було проведено моніторинг немедичного вживання трамадолу на прикладі 30 пацієнтів чоловічої статі віком від 20 до 25 років (середній вік $23,3 \pm 1,7$ року), хворих на опійну наркоманію і трамадолову токсикоманію. Стаж немедичного вживання психоактивних речовин становив 4–8 років. Дослідження показали, що для 48 % пацієнтів першим засобом, який вони вживали для досягнення ейфорії, були препарати конопель (для паління), для 12 % — інгалянти (для інгаляції), для 9 % — циклодол (для перорального вживання), для 10 % — трамадол (для перорального та внутрішньовенного вживання), для 9 % — опіати кустарного виготовлення (для внутрішньовенного введення), для 9 % — транквілізатори бензодіазепінового ряду, для 3 % — ефедрин (для внутрішньовенного введення). Наочну картину вживання психоактивних речовин з немедичною метою подано на рис. 2.

Відзначено, що абстинентний синдром у хворих на опійну наркоманію був припинений при застосуванні замісної терапії, в якій як анальгетик використовували трамадол. При цьому всі пацієнти відзначили, що в минулому вони застосовували трамадол без призначення лікаря для зняття різних видів болю. Вік пацієнтів, у яких було діагностовано трамадолову токсикоманію, становив 17–18 років (середній вік — $17,3 \pm 0,67$ року). Стаж вживання психоактивних речовин був понад 2–3 роки. 66 % пацієнтів кращим препаратом для досягнення ейфорії вважали «план» (висушені листя конопель), а 34 % пацієнтів — трамадол. Усі обстежені віддавали перевагу трамадолу в капсулах, проте хворі на опійну наркоманію, а також ті, хто вживав трамадол внутрішньовенно або в комбінації з діазепамом, іноді використовували розчин, який самі виготовляли з капсул трамадолу.

Виходячи з рекомендацій ВООЗ для психоактивних речовин, необхідно уdosконалити нормативно-правове регулювання обігу трамадолу у форматі збалансованого режиму контролю, який передбачає подвійну мету: запобігання незаконному обігу та зловживанню трамадолом одночасно із забезпеченням його соціальної доступності для окремих груп пацієнтів, зокрема для полегшення їх болю та страждань.

Усе це зумовлює необхідність застосування заходів соціального менеджменту при встановленні більш прозорого, об'єктивного та надійного режиму контролю за обігом трамадолу, особливо з приватної аптечної мережі.

В останніх нормативно-правових документах МОЗ України змінено порядок виписування, відпуску та обліку трамадолу, що привело до зниження його доступності для окремих контингентів хворих, які вживають цей препарат для полегшення болю та страждань. Раніше наказом МОЗ України № 344 від 07.07.2004 р. трамадол було віднесено до класифікаційно-правової групи — «Отруйні ЛЗ» [14]. Проте наказом МОЗ України № 360 від 19.07.2005 р. порядок виписування, відпуску та об-

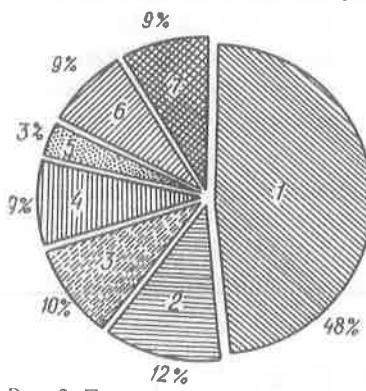


Рис. 2. Питома вага психоактивних речовин, які вживають з немедичною метою:

- 1 — препарати конопель (для паління),
- 2 — інгалянти (для інгаляції),
- 3 — трамадол,
- 4 — циклодол (перорально),
- 5 — ефедрин (внутрішньовенно),
- 6 — опіати кустарного виготовлення (внутрішньовенно),
- 7 — транквілізатори бензодіазепінового ряду (перорально)

ліку трамадолу було змінено. Так, рецепти на трамадол, як і рецепти на наркотичні засоби та психотропні речовини, повинні виписуватися на спеціальних рецептурних бланках Ф-3, і бути додатково підписаними керівником закладу охорони здоров'я або його заступником з лікувальної роботи (а в разі їх відсутності — завідувачем відділення цього закладу, на якого покладена відповідальність за призначення трамадолу) і завірені печаткою суб'єкта господарювання, що провадить діяльність, пов'язану з медичною практикою. Рецепти на ЛЗ «Трамадол» підлягають предметно-кількісному обліку в разі виписування для безоплатного відпуску або відпуску на пільгових умовах. На ЛЗ «Трамадол» поряд з виписуванням рецепта на бланку Ф-3 виписується додатково рецепт на бланку Ф-1. ЛЗ «Трамадол» відпускається тільки з аптек та аптечних складів (баз), які мають ліцензії на види діяльності, пов'язаної з обігом наркотичних засобів та психотропних речовин, і розташовані в одній адміністративно-територіальній одиниці (місті, районі, області) з лікувально-профілактичним закладом, постачання якого вищезазначеними засобами вони здійснюють згідно з наказом управління охорони здоров'я місцевих державних адміністрацій [9].

Отже, треба визнати, по-перше, що такі нормативні заходи унеможливлюють відпуск трамадолу з приватної аптечної мережі. По-друге, відсутність единого уніфікованого підходу до правил обігу тієї або іншої класифікаційно-правової групи ЛЗ з боку державних органів вносить правове безладдя у контрольно-дозвільне регулювання як трамадолу, так і інших ЛЗ, які відносяться до отруйних речовин. По-третє, змінення порядку виписування, відпуску та обліку трамадолу може розцінюватись як новий репресивний захід, що погіршує його доступність окремим верствам населення.

Що ж до наркоманів і токсикоманів, як окремого контингенту хворих, якому потрібне забезпечення трамадолом, то, на наш погляд, на державному рівні необхідно розробити заходи соціального менеджменту забезпечення їх зазначеним препаратом. Ці заходи можуть включати відповідні реєстри хворих на рівні лікувально-профілактичних закладів, аптек районів, міст, областей України. Хворим на наркоманію потрібна державна підтримка, а ЛЗ «Трамадол» може стати для них одним із засобів замісної терапії. Оскільки пацієнти, що страждають адиктивними розладами здоров'я (наркомані, токсикомані), як правило, не мають постійного місця роботи, а відповідно і постійного заробітку, саме держава, громада і суспільство повинні взяти на себе тягар медико-фармацевтичної допомоги та реабілітації таких громадян, що потребує подальшого удосконалення соціального менеджменту на засадах доказової фармації щодо забезпечення адиктивних пацієнтів ЛЗ «Трамадол» із приватної аптечної мережі. Заходи удосконалення соціального менеджменту повинні включати застосування для трамадолу таких же правил виписування, відпуску та обліку, як і для інших отруйних ЛЗ, при встановленні збалансованого режиму контролю, який передбачає запобігання його незаконному обігу та зловживанню ним, що дасть змогу забезпечувати цим ЛЗ всі контингенти хворих з приватної аптечної мережі.

Висновки

1. Удосконалення контрольно-дозвільної системи охорони здоров'я на засадах соціального менеджменту є передумовою попередження злочинності, корупції і наркоманії, тобто причин та умов, які спричинюють злочини.

2. Доказова фармація є базовою основою щодо вивчення причин і умов, які викликають порушення правил обігу ЛЗ (наприклад, трамадол) та розробки законодавчих ініціатив по удосконаленню нормативно-правового регулю-

вання в системі правовідносин «лікар—пациєнт—провізор—рецепт—ліки» та впровадження трамадолу як засобу замісної терапії.

3. Приватна аптечна мережа є основною ланкою в системі охорони здоров'я, що забезпечує хворих лікарськими засобами, які є ефективними, безпечними, якісними та доступними.

4. На державному рівні необхідно розробити і затвердити реєстри хворих на наркоманію, токсикоманію, ВІЛ/СНІД для удосконалення взаємодії хворих з лікувально-профілактичними закладами та аптеками в рамках соціального менеджменту.

1. Бетинский В.С., Херсонский В.Г., Дворяк С.В. и др. Наркомания у подростков. — К., 1989. — 215 с.
2. Грачев Р.А. // Укр. вісн. психоневрології. — 1999. — Т. 7, Вип. 1(19). — С. 12—14.
3. Губський Ю.І., Шаповалова В.О., Кутъко І.І. та ін. Лікарські засоби у психофармакології. — К.: Здоров'я — Х.: Торсінг, 1997. — 288 с.
4. Дмитриева Т.Б. и др. Диагностика и терапия в клинике внутренних болезней. — М.: ООФ «Здоровье человека», 2004. — С. 22—28.
5. Кушаков В. Наркотики, наркоманія, СНІД // СНІД. — 1999. — № 3. — С. 6—7.
6. Личко А.Е., Битенский В.С. Подростковая наркология. — Л., 1991. — 304 с.
7. Лікарські засоби у неврології, психіатрії і наркології / За ред. В.О.Шаповалової, П.В.Волошина, О.В.Степанова та ін. — Х.: Факт, 2003. — 784 с.
8. Марута Н.А., Явдак И.А. // Укр. вісн. психоневрології. — 1999. — Т. 7, Вип. 1(19). — С. 81—83.
9. Наказ МОЗ України № 360 від 19.07.2005 р. «Про затвердження Правил виписування рецептів та вимог-замовлень на лікарські засоби і вироби медичного призначення, порядку відпуску лікарських засобів і виробів медичного призначення з аптек та їх структурних підрозділів, інструкції про порядок зберігання, обліку та знищення рецептурних бланків та вимог замовлень». — Сторінка «Законодавство України» сайту Верховної Ради. — 2005. — 16 с.
10. Пятницкая И.Н. Клиническая наркология. — М., 1975. — 333 с.
11. Спізенко Ю.П. // Ліки України. — 1999. — № 10—11. — С. 4—15.
12. Справочник Видаль. — М.: АстраФармСервис, 1997. — 1504 с.
13. Фармацевтическое право в наркологии / За ред. В.О.Шаповалової, И.К.Сосіна, В.В.Шаповалова. — Х.: Факт, 2004. — 800 с.
14. Фармацевтическое право у беспечному самолікуванні: лікарські засоби, що відпускаються без рецепта лікаря / За ред. В.О.Шаповалової, О.В.Степанова, И.М.Трахтенберга та ін. — Х.: Факт, 2005. — 800 с.
15. Цуцульковская М.Я., Владимирова Т.В., Орлова В.А. и др. Проблемы неврологии, психиатрии и наркологии (клиника, диагностика и лечение основных нервных и психических заболеваний). — Тбилиси, 1987. — С. 524—527.
16. Шаповалова В.А., Шаповалов В.В., Михайлов В.С. // Укр. вісн. психоневрології. — 1998. — Т. 6, Вип. 3(18). — С. 114—116.
17. Jackevic J.E., Korz A.A., Loskutov A.E. et al. // Krka Med. Pharm. — 1997. — № 18. — 29 р.
18. Raffa R.B., Nayak R.K., Liao S. et al. // Rev. Contem. Pharmacother. — 1995. — Vol. 6. — P. 485—497.
19. Shapovalova V.A., Shapovalov V.V., Mikhailov V.S. et al. Remedya «Zdorovye Narodu» / Ed. V.A.Shapovalova. — Kharkov: Rider, 1999. — P. 55.

Надійшла до редакції 14.10.2005.

В.А.Шаповалова, А.И.Гуторов, В.В.Шаповалов, И.К.Сосин

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СОЦИАЛЬНОГО МЕНЕДЖМЕНТА
НА ОСНОВАХ ДОКАЗАТЕЛЬНОЙ ФАРМАЦИИ ПРИ ОБЕСПЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ
ЛЕКАРСТВЕННЫМ СРЕДСТВОМ «ТРАМАДОЛ» ИЗ ЧАСТНОЙ АПТЕЧНОЙ СЕТИ

Ключевые слова: социальный менеджмент, адиктивные пациенты, лекарственное средство «Трамадол», порядок выписывания, отпуска, учета, частная аптечная сеть

Проведено изучение режима контроля лекарственного препарата «Трамадол» с позиции фармацевтического права и доказательной фармации. Показана необходимость изменения порядка выписывания, отпуска и учета трамадола из частных аптек.

Key words: social management, addictive patients, tramadol medicine, receipt giving order, selling, accounting, private drugstore network

SUMMARY

Research of tramadol medicine's control mode from positions of pharmaceutical law and conclusive pharmacy was conducted. Need of changes in receipt giving, selling and accounting orders of tramadol from private drugstores was shown.

АВТОМАТИЗОВАНІ СИСТЕМИ УПРАВЛІННЯ

УДК 615.471.615.2.032

Є.Є.ЄВСТРАТЬЄВ, магістр фармації, П.В.ОЛІЙНИК, канд. фармац. наук, доц.

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

КОМП'ЮТЕРНА ПРОГРАМА ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ПОТРЕБИ В ІНФУЗІЙНИХ РОЗЧИНАХ НА ПЕРІОД ЛІКВІДАЦІЇ НАСЛІДКІВ НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЙ

Ключові слова: надзвичайна ситуація, потреба в лікарських засобах, інфузійні розчини, середньодобова потреба, математичне моделювання, комп'ютерна програма

Надання медичної допомоги і наступне лікування ураженого населення під час ліквідації наслідків надзвичайних ситуацій (НС) потребують повного, своєчасного і безперебійного постачання медичних формувань та лікувальних закладів лікарськими засобами, в т.ч. інфузійними розчинами (ІР). Досвід ліквідації наслідків відомих НС техногенного і природного походження [1, 2] показує, що проблема оперативного визначення потреби в лікарських засобах, у т.ч. ІР, до цього часу не вирішена.

Метою нашої роботи було створення комп'ютерної програми для оперативного визначення потреби в інфузійних розчинах для надання медичної допомоги і наступного лікування ураженого населення на період ліквідації наслідків НС природного, техногенного та соціально-політичного походження.

На першому етапі реалізації поставленого завдання нами були розроблені вимоги до комп'ютерної програми й алгоритм проведення необхідних розрахунків як основи її створення.

Визначення потреби в ІР проводиться в екстремальних умовах НС і гострого дефіциту часу посадовими особами органів управління медичної служби та лікувальних закладів, які ознайомлені з програмним забезпеченням комп'ютера на рівні споживача. Тому програма має бути розрахована на пересічного користувача з мінімальними практичними навичками роботи на ПК. Зважаючи також на рівень програмного забезпечення комп'ютерів, якими оснащена більшість лікувальних закладів і органів управління медичною службою, про-

грама повинна бути розроблена найбільш поширеними та вивченими засобами MS Office, Visual Basic та MS Windows.

Для розробки алгоритму проведення необхідних розрахунків як основи для створення комп’ютерної програми був використаний метод математичного моделювання. У процесі математичного моделювання ми виходили з того, що загальна потреба в IP на період ліквідації наслідків НС (B_k) складатиметься з потреби в IP для надання медичної допомоги ураженому населенню на догоспітальному і госпітальному етапах (Y_{jk}) та потреби в IP для забезпечення безперервності лікування стаціонарних хворих, які знаходитимуться в лікувальних закладах на початок періоду ліквідації наслідків НС (R_{jk}). Крім того, необхідно враховувати кількість IP у перехідних запасах органів управління медичною службою (Z_{jk}). Таким чином, загальна потреба в IP на період ліквідації наслідків НС становитиме:

$$B_k = (Y_{jk} + R_{jk}) - Z_{jk}. \quad (1)$$

Визначення номенклатури IP та їх витрати для надання медичної допомоги та лікування одного ураженого й одного стаціонарного хворого за весь період лікування проводилось шляхом вивчення екстремальної рецептури основних лікарняних та міжлікарняних аптек міста Львова [3, 4] та більше як 1500 історій хвороб Центрального військового клінічного госпіталю Західного оперативного командування Міністерства оборони України [5].

У результаті проведених досліджень були визначені: середньодобова витрата IP k -ої номенклатури для надання медичної допомоги і лікування важкоураженого (Q_{vk}), середньодобова витрата IP k -ої номенклатури для надання медичної допомоги і лікування ураженого середньої важкості (Q_{sk}), середньодобова витрата IP k -ої номенклатури для одного стаціонарного хворого терапевтичного профілю (Q_{tk}) та середньодобова витрата IP k -ої номенклатури для одного стаціонарного хворого хірургічного профілю (Q_{xk}). Результати проведених досліджень стали основою для створення програми. Враховуючи результати визначення середньодобової потреби в IP кожного найменування, математична модель, як основа алгоритму для створення програми, матиме вигляд

$$B_k = [(C_v \cdot Q_{vk} + C_s \cdot Q_{sk} n) + (H_t \cdot Q_{tk} + H_x \cdot Q_{xk}) n] - Z_{jk}, \quad (2)$$

де C_v — передбачувана кількість важкоуражених і важкохворих, які поступлять до лікувального закладу в період ліквідації наслідків НС;

C_s — передбачувана кількість уражених і хворих середньої важкості, які поступлять до лікувального закладу в період ліквідації наслідків НС;

H_t — загальна кількість хворих терапевтичного профілю, які знаходилися на стаціонарному лікуванні в лікувальному закладі на початок планованого періоду;

H_x — загальна кількість хворих хірургічного профілю, які знаходилися на стаціонарному лікуванні в лікувальному закладі на початок планованого періоду;

n — кількість днів, на які розраховується потреба.

Для реалізації комп’ютерної програми згідно з розробленим алгоритмом нами був розроблений доступний та інтуїтивний інтерфейс. Робота з програмою здійснюється за допомогою шести кнопок на головній сторінці (рис. 1). При цьому програма переводить користувача на модуль управління або заповнення даних згідно з назвою на кнопці (рис. 2 і 3). Для визначення кількості інфузійних розчинів необхідно ввести такі постійні величини:

- передбачувану кількість важкоуражених та важкохворих;
- кількість уражених середньої важкості;
- загальні кількості хворих терапевтичного та хірургічного профілів, що знаходяться на стаціонарному лікуванні у певного споживача;
- запас інфузійних розчинів певної номенклатури, що зберігається у певного споживача;

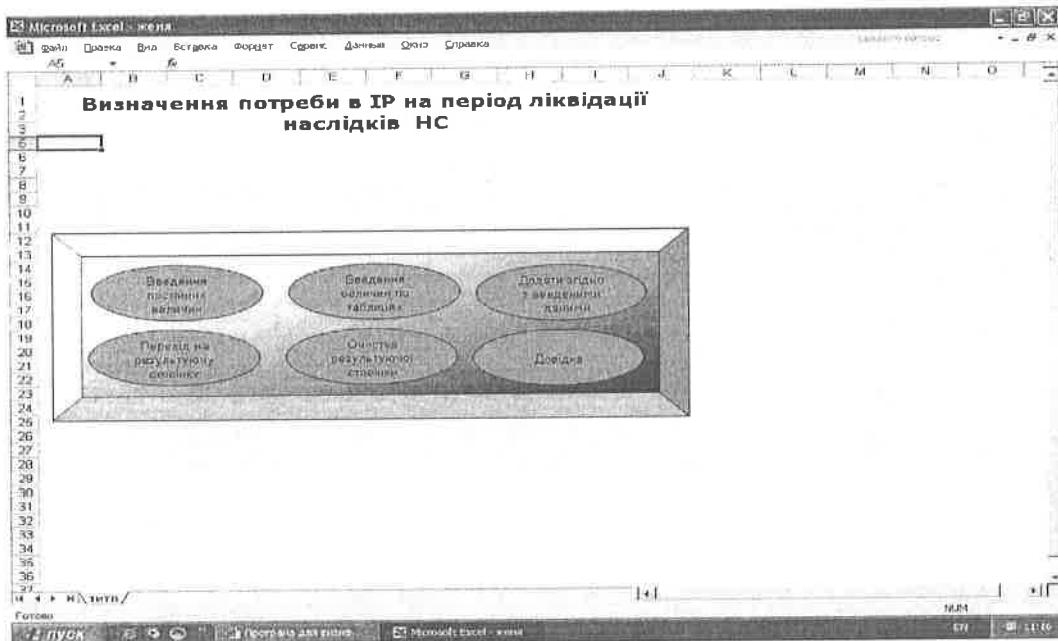


Рис. 1. Головна сторінка програми з кнопками управління

передбачувана кількість вологурижливих і вінкохворток	Cv	5
передбачувана кількість уражених і хворих середньої віковості,	Cs	6
запланована кількість хворих терапевтичного профілю, які знаходиться на стационарному лікуванні в їх споживача на початок планованого періоду	Ht	3
запланована кількість хворих хірургічного профілю, які знаходиться на стационарному лікуванні в їх споживача на початок планованого періоду	Hx	4
запас IP-кіт іменкотатури, який зберігається в їх споживача на початок планованого періоду, підрах	Zjk	5
кількість діб	n	6

Рис. 2. Сторінка для введення вхідних даних для визначення потреби в IP

— порядковий номер інфузійного розчину.

Після введення всіх даних необхідно натиснути на кнопку «Додати згідно з введеними величинами». При переході на результатуючу сторінку дані виводяться у вигляді таблиць із зазначенням назви відповідного розчину та потреби в ньому (рис. 4). Розраховані дані можна одержати також у роздрукованому вигляді на

Середньодобова нітратна IP з її кодом номенклатури для надання медичної допомоги і лікування однією хірургічною або захисною, як правило.

Середньодобова нітратна IP з її кодом номенклатури для надання медичної допомоги і лікування однією хірургічною або захисною.

Середньодобова нітратна IP з її кодом номенклатури для надання медичної допомоги і лікування однією хірургічною або захисною.

Введіть порядковий номер розміну ОМК (номер ОІК підтверджено автоматично)

та IP її код і стационарне і побутове, викоріні

та IP її код і стационарного викоріні в лізарах

Повернення на головну сторінку

Рис. 3. Таблиці для вибору номенклатури IP, для яких визначається потреба

Повернення на головну сторінку

Визначення потреби в Інфузійних розчинах для забезпечення ураженого населення

Номенклатура	Найдешевша інфузійна різниця	Визначення потреби в Інфузійних розчинах для забезпечення ураженого населення												
		Потреба в IP для стационарного харчування та пологих терапевтических відповідачах (OMK)	Потреба в IP для стационарного харчування та пологих терапевтических відповідачах (OIK)	Потреба в IP для стационарного харчування та пологих терапевтических відповідачах (OMK)	Потреба в IP для стационарного харчування та пологих терапевтических відповідачах (OIK)	Потреба в IP для стационарного харчування та пологих терапевтических відповідачах (OMK)	Потреба в IP для стационарного харчування та пологих терапевтических відповідачах (OIK)	Потреба в IP для стационарного харчування та пологих терапевтических відповідачах (OMK)	Потреба в IP для стационарного харчування та пологих терапевтических відповідачах (OIK)	Потреба в IP для стационарного харчування та пологих терапевтических відповідачах (OMK)	Потреба в IP для стационарного харчування та пологих терапевтических відповідачах (OIK)	Потреба в IP для стационарного харчування та пологих терапевтических відповідачах (OMK)	Потреба в IP для стационарного харчування та пологих терапевтических відповідачах (OIK)	
5 Розчин інтоксикації	1,11	6,55	1,6	9,8	2,71	16,28	2,22	13,32	2,4	14,4	15,54	93,24	18,25	104,5
5 хлорид 7,5%	0,03	0,10	0,036	0,216	0,066	0,396	0,05	0,3	0,054	0,324	0,35	2,1	0,416	-2,504
Інфузія 0,9%	0,741	4,466	1,312	7,672	2,053	12,310	1,02	10,82	1,860	11,000	12,74	76,44	14,793	93,758

Рис. 4. Сторінка з результатами визначення потреби в IP за вказаною номенклатурою паперовому носії за допомогою принтера. Після роботи з програмою необхідно натиснути кнопку: «Очистка результиуючої сторінки».

Для кращого сприйняття програми пересічним користувачем в основному файлі програми передбачений пункт «Допомога», в якому у доступній формі пояснюється порядок роботи з комп’ютерною програмою та її можливості.

Для комфортої роботи з програмою кінцевого користувача необхідна мінімальна апаратно-програмна конфігурація: PC Pentium – 233, 32 Mb RAM, дисковод 3,5”, монітор 15”. На комп’ютері повинна бути проінсталювана система не нижче Windows-98 та програмне забезпечення Microsoft Office 98.

Висновок

Впровадження у практику міських, районних і обласних органів управління охороною здоров'я комп'ютерної програми «Визначення потреби в інфузійних розчинах на період ліквідації наслідків НС» дозволить вдосконалити систему планування організації забезпечення ураженого населення лікарськими засобами в період ліквідації наслідків надзвичайних ситуацій природного і техногенного походження, оптимізувати раціональність використання бюджетних коштів для створення місцевих, районних і регіональних резервів інфузійних розчинів, тим самим сприяючи виконанню вимог Указів Президента України, Постанов Кабінету Міністрів України і Наказів Міністерства охорони здоров'я України, які стосуються створення і використання резервів лікарських засобів для запобігання і ліквідації наслідків надзвичайних ситуацій, надання медичної допомоги і наступного лікування ураженого населення.

1. Азаурян А.В., Никогосян Р.В. // Медицина катастроф: Материалы Междунар. конф. (Москва, 22–24 марта 1990 г.). — М., 1990. — С. 48.
2. Гончаров С.Ф. // Уроки и выводы сахалинского землетрясения: Тез. докл. Науч.-практ. конф., (Москва, 23–24 окт. 1995 г.) — М.: МЧС России. — 1995. — С. 8–9.
3. Євстратьєв Є.Є. // Матеріали VII Міжнарод. конгресу студентів і молодих учених. — Тернопіль: Укрмедкнига, 2003. — С. 251.
4. Євстратьєв Є.Є. // Фармац. журн. — 2003. — № 5. — С. 17–21.
5. Олійник П.В., Євстратьєв Є.Є. // Матеріали Першої Міжнародної наук.-практ. конф. «Науковий потенціал світу 2004» — Медицина. — Дніпропетровськ: Наука і освіта, 2004. — Т. 32. — С. 41–42.

Надійшла до редакції 30.01.2006.

E.E.Евстратьев, П.В.Олийник

КОМПЬЮТЕРНАЯ ПРОГРАММА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОТРЕБНОСТИ В ИНФУЗИОННЫХ РАСТВОРАХ НА ПЕРИОД ЛИКВИДАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ ЧРЕЗВЫЧАЙНЫХ СИТУАЦИЙ

Ключевые слова: чрезвычайная ситуация, потребность в лекарственных средствах, инфузионные растворы, среднесуточная потребность, математическое моделирование, компьютерная программа

Разработана компьютерная программа «Определение потребности в инфузионных растворах на период ликвидации последствий ЧС», которая позволит усовершенствовать систему планирования организации обеспечения пострадавшего населения инфузионными растворами в период ликвидации последствий ЧС природного и техногенного происхождения, оптимизировать рациональность использования бюджетных средств для создания городских, районных и региональных резервов инфузионных растворов для оказания медицинской помощи и последующего лечения пострадавшего населения.

J.J.Jevstratyev, P.V.Olijnyk

THE COMPUTER PROGRAMME FOR DETERMINATION OF NEEDS IN INFUSIONS FOR THE PERIOD OF LIQUIDATION OF THE RESULTS OF EXTRAORDINARY SITUATIONS

Key words: extraordinary situation, needs in medical means, infusions, mediumday needs, mathematical models, computer program

SUMMARY

The computer programme «The determination of needs in infusions for the period of liquidation of the results of extraordinary situations» made by us permits to make more perfect the system of planning the organization of supplying the sick population with infusions for the period of liquidation of the results of extraordinary situations of nature and technical origin, to optimize the rationalization of using budget resources for creating town, district and regional reserves of infusions for giving medical help and curing the sick population.

СИСТЕМА ПРОФІЛАКТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ ВІЛ/СНІД-ІНФЕКЦІЇ

УДК 614.271:616-092.19-008.64-022-08-084

У.Я.ЯНИШИН, асистент

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

ВИЗНАЧЕННЯ ПОТРЕБИ ФАРМАЦЕВТІВ В ІНФОРМАЦІЇ З ПРОФІЛАКТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ ВІЛ/СНІДу

Фармацевти, як спеціалісти охорони здоров'я, і аптеки, як заклади охорони здоров'я, не можуть стояти осторонь проблем з боротьби та профілактики ВІЛ-інфекції/СНІДу. Статистичні дані про захворюваність на ВІЛ-інфекцію/СНІД у світі та в Україні, а також актуальні завдання фармацевтів соціального характеру викладені у нашій попередній публікації [5].

Найбільш уражене ВІЛ-інфекцією населення південних та східних областей України, зокрема Дніпропетровської, Донецької, Миколаївської, Одеської, АР Крим та міста Києва. Останнім часом значно погіршується епідситуація в Запорізькій, Луганській, Черкаській, Херсонській, Хмельницькій областях та в Севастополі.

Поширення інфекції було пов'язано з розвитком ін'єкційної наркоманії, проте аналіз ситуації за останні п'ять років свідчить про різку тенденцію росту передачі інфекції статевим шляхом та від матері до дитини. Активізація статевого шляху передачі ВІЛ призвела до зростання кількості ВІЛ-інфікованих жінок, у т.ч. вагітних. Найбільша кількість ВІЛ-інфікованих жінок відноситься до вікової групи 15–24 роки, інша половина — жінки дітородного віку [1].

Епідемія ВІЛ/СНІДу у нашій країні за останній час характеризується стрімким ростом захворюваності на СНІД, який розвивається через 5–8 років після інфікування. За останній рік (до жовтня 2005 р.) порівняно з 2000 роком захворюваність зросла більше ніж у 4 рази, смертність — у 3,8 раза. Тривалість життя хворої на СНІД особи в Україні становить 1–2 роки.

У зв'язку з погіршенням у нашій країні ситуації щодо СНІДу Указом Президента України № 461/2000 від 22 червня 2001 року 2002 рік був оголошений Роком боротьби зі СНІДом і першим кроком у цьому напрямку було створення Центрів профілактики і боротьби зі СНІДом.

Нині в Україні функціонує Головний центр (Київ), а також ряд регіональних центрів з профілактики та боротьби зі СНІДом. Вивчення роботи Волинського, Закарпатського, Львівського, Чернівецького центрів показало, що їх структура включає:

— адміністративну частину з організаційно-методичним відділом, де також знаходиться інформаційно-ресурсний центр, що має за мету надавати інформаційну підтримку з питань ВІЛ/СНІДу всім особам та організаціям, зацікавленим в роботі з даного питання;

— амбулаторно-поліклінічну частину, де лікарями: інфекціоністом, акушером-гінекологом, дерматовенерологом, психотерапевтом — надається консультивна допомога всім, хто вирішив пройти тест на ВІЛ, психосоціальна та юридична допомога ВІЛ-інфікованим та членам їх сімей, представникам вразливих до ВІЛ груп населення, а також створено кабінет довіри, в якому проводить прийом соціальний працівник;

— сучасне лабораторне відділення, де проводиться діагностика на ВІЛ/СНІД, вірусні гепатити, TORCH-інфекції, імунологічний статус.

Завданнями таких Центрів є здійснення організаційно-методичної, консультативно-діагностичної та аналітично-інформаційної діяльності, розробка стратегічних, комплексних спеціалізованих програм з профілактики ВІЛ-інфекції, що неможливо без мобілізації ресурсів лікувально-профілактичних закладів, до яких мають бути задіяні й аптечні заклади.

На базі Центрів з профілактики та боротьби зі СНІДом ведеться підготовка лекторів, тренерів та волонтерів для роботи в середовищі груп підвищеного ризику до зараження на ВІЛ, розташовано підрозділ, де проводяться інформаційно-просвітницькі семінари, тренінги, конференції наукових товариств з питань профілактики ВІЛ/СНІДу. Безумовно, включення фармацевтичних працівників до складу лекторів та волонтерів є актуальним питанням. На нашу думку, важливою функцією в роботі Центрів є контроль виконання питань планування та аналізу використання медичних препаратів, яку за фахом можуть і повинні виконувати провізори [1]. Отже, проблемним питанням було проаналізувати можливість співпраці регіональних центрів, а також обласних управлінь охорони здоров'я з аптечними закладами для широкого застосування фармацевтів до розв'язання соціальних та інших питань щодо боротьби та профілактики ВІЛ/СНІДу.

Аптеки повинні взяти на себе функції з профілактики ВІЛ-інфекції/СНІДу, в т.ч. формування в населення самозберігаючої поведінки щодо можливого ВІЛ-інфікування. В соціальному плані фармацевтам належить брати чинну участь у формуванні раціонального ставлення населення до інфікованих та хворих на СНІД, як до повноправних членів суспільства. Не виключається доцільність доведення до населення можливості практичного використання імуностимулювальних препаратів, засобів народної медицини тощо з профілактичною метою. Крім того, в аптеці, як закладі охорони здоров'я, потенційний хворий при необхідності може отримати інформацію, куди потрібно звернутися для відповідної діагностики. На жаль, усі існуючі на сьогодні тест-системи для діагностики ВІЛ-інфекції базуються на найбільш придатному матеріалі для лабораторного дослідження — сироватці крові [2] і тому застосовувати їх в аптечних закладах на даний момент неможливо. Натомість слід приділяти увагу вивченю питання імуностимуляції осіб з групи ризику за допомогою імуномодуляторів, серед яких розповсюдженні препарати рослинного походження [4]. Слід відмітити, що деякі лікарські засоби для зміцнення імунної системи («Імудон», «Інтерлейкін-2») увійшли до Проекту Національного переліку основних лікарських засобів та виробів медичного призначення України [3]. Тому актуальним є підготовка і видання спеціальних інформаційних листів та методичних рекомендацій для аптечних працівників з профілактичної роботи у плані ВІЛ/СНІДу.

У зв'язку з вищеперечисленним цікаво було вивчити ставлення фармацевтів до проблеми ВІЛ/СНІДу у світі та в Україні, встановити, як вони оцінюють свої теоретичні знання вищезазначених проблем та потребу в інформації.

Нами було проведено анкетування сукупності 116 провізорів за спеціальностями «загальна фармація», «організація та управління фармацею» і «проводів-аналітик», відповідно 62, 51 і 3 спеціалісти.

75,9 % опитаних мали кваліфікаційні категорії (у т.ч. 38,9 % — вищу, 15,5 % — першу, 21,5 % — другу); 24,1 % опитаних мали сертифікати. Таким чином, досліджена сукупність включала висококваліфікованих спеціалістів практичної фармації.

Переважна частина опитаних (75 %) не вважала свої знання про ВІЛ/СНІД достатніми, тоді як 25 % респондентів, навпаки, були переконані у своїй обізнаності з цією проблемою. При відповіді на принципово важливе запитання: «Чи повинні фармацевти брати безпосередню участь у заходах з профілактики ВІЛ/

СНІДу?» 83,6 % опитаних дали позитивну відповідь, а на думку 16,4 % респондентів, такі функції не є компетенцією фармацевтів.

Далі нами вивчалось ставлення опитаних до потреби в інформаційному забезпеченні з окремих аспектів медичного та фармацевтичного характеру, пов'язаних з ВІЛ/СНІДом. Ранжований ряд потреби в зазначеній інформації такий:

- профілактика ВІЛ-інфекції/СНІДу — 74,1 %, тобто 74,1 % опитаних хотіли б одержати інформацію з профілактики ВІЛ-інфекції/СНІДу;
- як розвивається ВІЛ-інфекція в організмі людини — 70,7 %;
- антивірусні препарати — 69,8 %;
- куди звернутися в разі потреби та при необхідності лікування ВІЛ/СНІДу — по 66,4 %;
- методи запобігання зараженню ВІЛ-інфекцією — 63 %;
- поширеність ВІЛ/СНІДу в Україні — 60,3 %;
- діагностика ВІЛ/СНІДу — 56,9 %;
- особливості перебігу супутніх захворювань у ВІЛ-інфікованих та хворих на СНІД — 54,0 %;
- шляхи передачі ВІЛ-інфекції — 52,6 %;
- що таке ВІЛ, ВІЛ-інфекція, СНІД — 48,3 %;
- як виникла хвороба — 43,9 %;
- поширеність ВІЛ/СНІДу у світі — 38,0 %.

Як бачимо з наведених даних, останні три аспекти не викликали особливого інтересу у більшості респондентів.

Далі окрім проаналізовано відповіді на питання анкети, що ставили спеціалісти із «загальної фармації» та «організації і управління фармацією». Виявилось, що спеціалісти із «загальної фармації» (провізори) проявили більшу зацікавленість до проблем ВІЛ-інфекції та СНІДу, ніж завідувачі аптек та їх заступники.

Висновки

1. Проведено аналіз основних напрямків діяльності Центрів з профілактики та боротьби зі СНІДом з обґрунтуванням можливостей їх співпраці з аптечними закладами та фармацевтами.

2. Потреба в інформації провізорів з профілактики та лікування ВІЛ/СНІДу насамперед включає такі питання: як розвивається ВІЛ-інфекція в організмі людини; антивірусні препарати; куди звернутися в разі потреби та при необхідності лікування ВІЛ/СНІДу, методи запобігання зараженню ВІЛ-інфекцією — поширеність ВІЛ/СНІДу в Україні; діагностика ВІЛ/СНІДу; особливості перебігу супутніх захворювань у ВІЛ-інфікованих та хворих на СНІД; шляхи передачі ВІЛ-інфекції.

1. Ваше здоров'я // 2005. — № 45. — С. 11; — № 46. — С. 10.
2. Навчальний посібник з лабораторної діагностики ВІЛ-інфекції/СНІДу. — К., 1999. — С. 33.
3. Юридичні аспекти фармації // Провізор (Додаток). — 2005 — № 23. — С. 33.
4. Янишин У.Я., Крамаренко Г.В. // Фітотерапія. — 2005. — № 2. — С. 61–63.
5. Янишин У.Я. // Фармац. журн. — 2005. — № 5. — С. 27–30.

Надійшла до редакції 30.01.2006.

У.Я.Янишин

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОТРЕБНОСТИ ФАРМАЦЕВТОВ В ИНФОРМАЦИИ О ПРОФИЛАКТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ ВИЛ/СПИДА

Показана необходимость информационного обеспечения фармацевтов в вопросах профилактики и лечения ВИЛ/СПИДа. Актуальным является создание специальных информационных листков и методических рекомендаций для аптечных работников по профилактической работе в плане ВИЛ/СПИДа.

SATISFACTION NEEDNEES IN THE INFORMATION OF PHARMACISTS WITH
PROPHYLAXIS AND TREATMENT HIV/AIDS

SUMMARY

The neednes in the satisfaction from information of pharmacists with prophylaxis and treatment HIV/AIDS are presents in this article. Development special informative providing and methodical recommendation from pharmacists is necessary in preventive of HIV/AIDS is actuality.

ДО ПИТАННЯ ВИГОТОВЛЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ В АПТЕКАХ

УДК 614.27

P.C.КОРИТНЮК, д-р фармац. наук, проф.

В.В.РУДЕНКО, канд. фармац. наук, доц., I.O.ВЛАСЕНКО, старший провізор

*Київська медична академія післядипломної освіти ім. П.Л.Шупика,
Комунальне підприємство «Фармація», Київ*

М'ЯКІ ЛІКАРСЬКІ ФОРМИ АПТЕЧНОГО ВИГОТОВЛЕННЯ – ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ІНДИВІДУАЛЬНОГО ПІДХОДУ В ЛІКУВАННІ НАСЕЛЕНИЯ

П О В І Д О М Л Е Н Я III

Ключові слова: м'які лікарські форми, аптечне виготовлення

Значне збільшення кількості готових лікарських засобів (ЛЗ) привело до стрімкого розвитку фармацевтичного ринку. Так, кількість ЛЗ, зареєстрованих в Україні на початок 2005 р., становила близько 14 тис. торгових назв. Разом з цим, продовжується виготовлення екстреморальних ЛЗ, що забезпечує індивідуальний підхід, доступність та повноту лікарської допомоги населенню. Необхідність ЛЗ аптечного виготовлення обумовлена об'єктивними та суб'єктивними факторами:

- можливістю підбирання лікарем індивідуального складу та потрібного дозування діючої речовини з урахуванням віку, маси, супутніх захворювань пацієнта;
- доступністю та більш низькою вартістю ЛЗ, виготовлених в аптекі, порівняно з промисловими аналогами;
- можливістю швидкого задоволення потреб в ЛЗ при екстремальних ситуаціях;
- національними традиціями слов'янської медицини [7].

Вибір лікарської форми і шляху введення її в організм має суттєве значення для успішної фармакотерапії того або іншого захворювання, оскільки препарат впливає на патологічний процес в організмі не лише за допомогою активної речовини, а і за допомогою сукупності своїх властивостей [2].

Неадекватно вибрана лікарська форма може бути причиною не тільки послабленої ефективності активної речовини, але і повної її відсутності. Це спонукає лікаря розширювати у своїй практиці асортимент лікарських форм і пристосовувати спосіб їх введення до конкретної ситуації [13].

Сьогодні досить розповсюджені дерматологічні захворювання, які займають значне місце у структурі загальної захворюваності населення. Хвороби шкіри характеризуються різноманітністю клінічних проявів і впливають на багато патологічних процесів, терапія і профілактика яких потребує різних лікарських засобів [14]. Основне місце серед лікарських засобів місцевої терапії при лікуванні даної патології займають м'які лікарські засоби (МЛЗ).

Аналіз номенклатури МЛЗ показав, що основне місце на українському фармацевтичному ринку займають закордонні препарати, а на ліки вітчизняного виробництва припадає лише 26 %. Фармацевтичною промисловістю України випускається майже 100 найменувань МЛЗ [14], проте їх номенклатура досить обмежена [13]. До того ж вітчизняні виробники іноді допускають дублювання асортименту МЛЗ [1]. До складу деяких мазей часто входять нестабільні, малоекективні лікарські речовини, які важко стандартизувати: дьоготь, іхтіол, скипидар та ін. [10].

Найбільш вдало дають можливість забезпечити індивідуальний підхід у лікуванні хворих м'які лікарські форми (МЛФ) аптечного виготовлення. До них відносяться мазі, пасти, гелі, лініменти, креми, м'які плівки, оподельдоки [8]. МЛЗ призначенні для нанесення на шкіру, рани, певні слизові оболонки і фізіологічні отвори для терапевтичної та пом'якшувальної або захисної дії. У першому випадку вони діють шляхом проникнення лікарських речовин в організм людини крізь шкіру або слизові оболонки, у другому — шляхом впливу допоміжних речовин [4].

Важливою особливістю м'яких лікарських форм є наявність у них до 90 % допоміжних речовин, тобто основи, консервантів, стабілізаторів, наповнювачів, від яких значною мірою залежить біодоступність і дія препарату. Як показує досвід клінічного застосування, основа не лише виконує функцію формоутворення і забезпечує збереження фізико-хімічних властивостей лікарської форми, але й активно впливає на терапевтичний ефект [15]. Тому забезпечення фармакотерапевтичної ефективності МЛФ неможливе без раціонального підбирання допоміжних речовин. Важливим шляхом удосконалення терапевтичної ефективності цієї групи препаратів є виготовлення лікарських форм комплексної терапевтичної дії з заданими фармакокінетичними властивостями, необхідними для лікування конкретних захворювань. Це можливо забезпечити лише шляхом виготовлення в аптеках багатокомпонентних МЛФ за індивідуальними прописами лікарів.

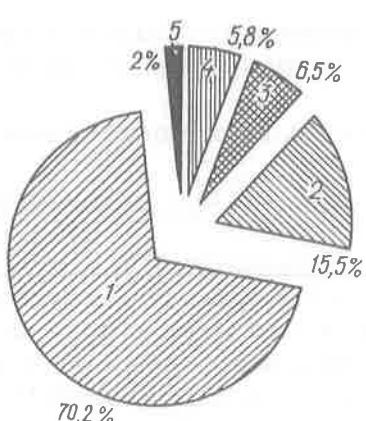


Рис. 1. Структура МЛЗ аптечного виготовлення залежно від захворювань:

1 — запальних захворювань, 2 — ран та бактеріальних інфекцій, 3 — грибкових захворювань, 4 — артритів та захворювань суглобів різного генезу, 5 — інших

Аналіз рецептури МЛЗ в аптеках КП «Фармація» Києва показав, що велика різноманітність лікарських речовин у складі мазей обумовлює їх застосування при багатьох захворюваннях (рис. 1). Проте найбільш широко мазі використовуються при лікуванні запальних захворювань шкіри (70,2 %).

Застосування мазей для ран має свої особливості. При цьому слід враховувати фази перебігу ранового процесу, кожна з яких має свою клінічну картину і вимагає іншого підходу до лікування.

Максимально забезпечити концентрацію лікарських речовин безпосередньо в ділянці ураження, наприклад, в місці порушення цілісності шкіри, про-

лежнів, опіку, ураження слизової оболонки дозволяє зовнішній спосіб застосування МЛЗ. Цей шлях введення МЛЗ вважається найбезпечнішим, оскільки більша частина дози знаходиться на поверхні шкіри і її легко зменшити, для чого мазь слід частково видалити [3].

Методи нанесення мазі на шкіру та слизові оболонки різноманітні. Для МЛЗ аптечного виготовлення характерні такі способи нанесення:

- звичайна аплікація у вигляді тонкого або більш товстого прошарку;
- аплікація у вигляді кількох прошарків;
- аплікація мазі після попередньої обробки проблемної ділянки (наприклад, розчинами перекису водню або антисептиками, видаленням некротичних ділянок);
- активне втирання мазі в шкіру, м'язи, ділянки суглобів;
- аплікація у вигляді попередньо просочених маззю серветок або тампонів;
- аплікація з подальшим застосуванням різних пристрій (електрофорез), які посилюють проникнення лікарських речовин [4].

В аптеках Києва, які виготовляють ЛЗ за індивідуальними рецептами, приготування мазей займає 25 % від усієї рецептури [6]. За класифікацією Державної фармакопеї України в аптеках виготовляють усі види МЛЗ: мазі, креми, гелі, пасти, лініменти [3].

За результатами аналізу рецептури МЛФ, виготовлених в комунальних аптеках Києва протягом одного місяця, визначено 200 прописів МЛФ, у т.ч. 170 МЛФ для зовнішнього застосування і 30 — назальних МЛЗ.

Структура МЛФ різноманітна і складна. На рис. 2 наведена структура МЛФ за компонентністю. Так, однокомпонентні мазі становлять 16 %, дво-, трикомпонентні — 20 %, багатокомпонентні — 64 %.

У магістральних прописах лікарем передбачається раціональне поєднання різних за фармакологічною дією речовин з урахуванням індивідуального підходу до хворого, що забезпечує зменшення небажаного побічного впливу окремих інгредієнтів [12, 13].

У зв'язку з відсутністю багатьох субстанцій і допоміжних речовин в аптеках використовують МЛЗ промислового виробництва.

До складу більше як 60 % дерматологічних мазей аптечного виготовлення входять готові ЛЗ. В основному, це гормональні мазі (40 %), але зустрічаються і нестероїдні протизапальні. Найчастіше у прописах використовуються мазі «Синафлан», «Флуцинар», «Дермовейт», «Фторокорт». Значний відсоток прописів МЛЗ (22 %) містять вітаміни А і Е.

У результаті аналізу прописів назальних мазей встановлено, що всі вони є багатокомпонентними і містять від 3 до 6 діючих речовин. До складу 94 % прописів входить ментол, 74 % — розчин адреналіну. Інколи в прописи входить розчин нафтізину 0,1 % — 1 мл. У зв'язку з обмеженим терміном зберігання багатокомпонентних МЛФ з вищезазначеними речовинами необхідно виготовляти ЛЗ в умовах аптеки, в т.ч. і з готовими ЛЗ промислового виробництва. Використання готових ЛЗ при аптечному виготовленні МЛЗ дозволяється змінами до наказу МОЗ України № 626 від 15.12.2004 р. «Про затвердження Правил виробництва (виготовлення) лікарських засобів в умовах аптеки» [9].

Нами проведений також аналіз рецептури міжлікарняних аптек КП «Фармація». Так, для міжлікарняних аптек відсоток МЛЗ, зокрема мазей, становить 7,8 % до загальної рецептури. Проведений аналіз рецептури міжлікарняних аптек виявив 15 про-

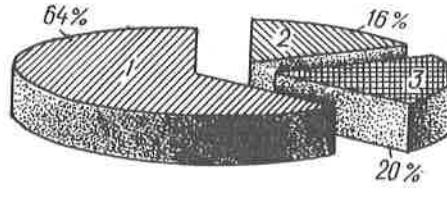


Рис. 2. Структура МЛЗ за компонентністю:
1 — багатокомпонентні мазі, 2 — однокомпонентні мазі,
3 — дво-, трикомпонентні мазі

писів мазей для зовнішнього застосування однокомпонентного складу, зокрема мазі: гідрокортизонова 1 %, стрептоцидова 5 і 10 %, димексидова 20 %, фурацилінова 0,2 %. Ці мазі випускаються і промисловістю, але, враховуючи економічну обґрунтованість та значні обсяги використання їх у лікувальному процесі стаціонарів, для лікувально-профілактичних закладів доцільніше замовляти мазі аптечного виготовлення різноманітної фасовки.

МЛЗ за дисперсологічною класифікацією відносяться до ліків з пластично-пружно-в'язким середовищем і відповідно готуються з урахуванням усіх класичних та сучасних вимог технології. Це дає змогу забезпечити необхідну біологічну доступність і фармакотерапевтичну дію. На сьогодні якість приготування лікарських форм в умовах аптеки нормується Державною фармакопеєю та відповідними наказами МОЗ України і визначається за результатами внутрішньоаптечного контролю: письмового, опитувального, органолептичного, фізичного, хімічного та контролю при відпуску [3, 9]. На провізоря та фармацевта покладена відповідальність за приготування якісного препарату за прописом лікаря з урахуванням теоретичного обґрунтування технології та аналізу фізико-хімічної і фармакологічної сумісності інгредієнтів [11, 16]. Державною інспекцією з контролю якості лікарських засобів в місті Києві не виявлено жодного випадку неякісних МЛЗ, виготовлених в аптеках КП «Фармація».

Висновки

1. Проведено аналіз екстемпоральної рецептури МЛЗ за нозологічними захворюваннями.
2. Проведено аналіз рецептури МЛЗ, які виготовляються в умовах комунальних аптек Києва і становлять 25 % від загальної рецептури. З них на багатокомпонентні прописи припадає 64 %.

1. Батрак А. // www.provisor.com.ua
2. Безуглая Е.П., Белов С.Г., Гунько В.Г. и др. Теория и практика местного лечения гнойных ран / Под ред. Б.М.Даценко. — Кн: Здоров'я, 1995. — 384 с.
3. Губин М.М. // Новая аптека. — 2001. — № 1. — С. 17—19.
4. Державна фармакопея України. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
5. Церимедведь Л.В., Перцев И.М., Загорий Г.В. и др. // www.provisor.com.ua
6. Коритнюк Р.С., Руденко В.В., Власенко Л.О. // Фармац. журн. — 2005. — № 6. — С. 25—30.
7. Левин М.Б., Солонина А.В. // Новая аптека. — 2001. — № 1. — С. 13—16.
8. Наказ МОЗ України № 235 від 26.06.2002 р. «Про затвердження Класифікатора лікарських форм» // Еженедельник «Аптека». — 2002. — № 31(352).
9. Наказ МОЗ України № 626 від 15.12.2004 р. «Про затвердження Правил виробництва (виготовлення) лікарських засобів в умовах аптеки» // Там же. — 2005. — № 31(474). — С. 74—76.
10. Наказ МОЗ України № 360 від 19.07.2005 р. «Про затвердження Правил виписування рецептів та вимог замовлень на лікарські засоби і вироби медичного призначення, порядку відпуску лікарських засобів і виробів медичного призначення з аптек та їх структурних підрозділів, інструкції про порядок зберігання, обліку та знищення рецептурних бланків та вимог-замовлень» // Там же. — 2005. — № 29(500). — С. 90—92.
11. Перцев И.М., Гуторов С.А., Халеева Е.Л. и др. // www.provisor.com.ua
12. Справочник екстемпоральної рецептури / Под ред. А.И.Тихонова. — К.: Морион, 1999. — 496 с.
13. Тихонов О.І., Ярних Т.Г., Котенко О.М. та ін. // Вісн. фармації. — 1999. — № 2(20). — С. 53—58.
14. Тихонов О.І., Ярних Т.Г., Лук'янко О.В. // Фармац. журн. — 2003. — № 4. — С. 85.
15. Цагарешвили Г.В., Головкин В.А., Грошовий Т.А. Биофармацевтические, фармакокинетические и технологические аспекты создания мягких лекарственных форм. — Тбіліси : Мецні-ереба, 1987. — 263 с.
16. Tiroy V.V., Leboda R. // Colloid and Interface Sci. — 1993. — № 79. — Р. 173—211.

Надійшла до редакції 16.12.2005.

P.C. Коритнюк, В.В. Руденко, І.А. Власенко

МЯГКИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ФОРМЫ АПТЕЧНОГО ИЗГОТОВЛЕНИЯ – ОБЕСПЕЧЕНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНОГО ПОДХОДА В ЛЕЧЕНИИ НАСЕЛЕНИЯ

Сообщение III

Ключевые слова: мягкие лекарственные формы, аптечное изготовление

Проведен анализ рецептуры мягких лекарственных средств, изготавляемых в условиях коммунальных аптек города Киева, и установлено, что они составляют 25 % от общей рецептуры. Проанализирована экстемпоральная рецептура мягких лекарственных средств по нозологическим заболеваниям. Показано, что многокомпонентные прописи составляют 64 % от общей рецептуры мягких лекарственных средств. Установлено, что при изготовлении мягких лекарственных средств в аптеках для обеспечения индивидуального подхода в лечении населения при необходимости следует использовать готовые лекарственные средства.

R.S.Koritnjuk, V.V.Rudenko, I.O.Vlasenko

SOFT MEDICINAL FORMS OF CHEMIST'S MANUFACTURE – MAINTENANCE OF AN INDIVIDUAL APPROACH IN TREATMENT

Report III

Key words: soft medical forms, pharmacie manufacture

SUMMARY

The analysis of a compounding of medical products made in city drugstore of Kiev has been lead. The analysis has shown that they make 25 % from the general compounding. Extemporal prescription list of the soft medicinal forms of diseases has been analysed. It is established that multicomponent recipess make 64 % from the general compounds of medical products. It is necessary to use already prepared medicines in fabrication of the soft medicinal forms for a maintenance of an individual approach in treatment.

НОВІ ТЕХНОЛОГІЇ

УДК 615.322:615.451:615.33

*О.В. ШАПОВАЛОВ, канд. техн. наук, В.І. ЧУЄШОВ, д-р фармац. наук, проф.,
І.Л. ДИКІЙ, д-р мед. наук, проф., О.А. МАНСЬКИЙ, здобувач*

Національний фармацевтичний університет

НАПІВАВТОМАТИЧНИЙ КОМПЛЕКС ОПРОМІНЮВАЛЬНОЇ ДІЇ ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ СПЕЦИФІЧНОЇ АКТИВНОСТІ АНТИБІОТИКІВ

У попередніх дослідженнях експериментально доведена спрямована спроможність γ -опромінювання щодо сталого підвищення рівнів специфічної активності антибіотиків і надання їм переважних бактерицидних властивостей. Разом з цим показана здатність γ -опромінювання до відновлення вихідних рівнів антимікробних властивостей у комерційних зразків препаратів, що суттєво перевищили терміни придатності [1]. Викладене, ймовірно, може бути певним обґрунтуванням доцільності використання γ -опромінювання у чинних технологічних схемах промислового виготовлення антибіотиків.

Природно, що для здійснення спрямованого γ -опромінювання антибіотиків необхідне відповідне апаратурне забезпечення. У вирішенні цього питання першочергової значущості набуває аналіз придатності існуючої номенклатури γ -опромінювачів для спрямованого використання відносно дозозалежної обробки антибіотиків.

Виходячи з даних літератури, існуюча номенклатура γ -опромінювачів підрозділяється на дві групи: експериментального і промислового призначення.

γ -Опромінювачі першої групи знаходять зastosування при виконанні експериментальних досліджень, спрямованих на вивчення нових явищ, а також при встановленні механізмів та кінетики радіаційно-хімічних реакцій з метою розробки теорії цього розділу хімії та одночасного вибору процесів, перспективних для практичного використання. Другу групу γ -опромінювачів доцільно використовувати при дослідженні процесів, відібраних у результаті проведення робіт першої групи або визнаних перспективними для реалізації у промислових масштабах. Апарати промислового призначення повинні відповісти таким вимогам:

- бути здатними опромінювати великі об'єми речовин (літри, десятки літрів тощо) при значній потужності дози в межах 1–100 Грей/с із забезпеченням необхідної рівномірності поля доз;

- бути ефективними при проведенні досліджень радіаційно-хімічних процесів у проточних та циркуляційних системах, що ускладнені відповідними фізико-хімічними умовами, які імітують технологічні режими при здійсненні виробничих процесів;

- при експериментальному моделюванні радіаційно-хімічних апаратів різних форм та габаритних розмірів мають бути використані високоефективні джерела γ -випромінювання;

- активність опромінювача та його габаритні розміри можуть змінюватися в достатньо широкому діапазоні у безпечних умовах [2].

Для проведення радіаційно-технологічних досліджень використовують універсальні установки з різними (електромагнітним, механічним, пневматичним, гіdraulічним) способами подачі джерел γ -випромінювання до опромінювача. За визначенням Гольдіна [2], зазначені установки мають ряд недоліків, зокрема:

- в установках з електромагнітним і механічним способами подачі джерел γ -випромінювання простір над опромінювачем обмежений розташуванням вузла підйому, який заважає підведенню комунікацій та зменшує робочий об'єм. У свою чергу, це значно знижує коефіцієнт використання установки. В установках з електромагнітною подачею джерел γ -випромінювання проблематично змінювати розташування опромінювача за висотою, що залежить від особливостей здійснення процесу;

- в γ -установках з пневматичним способом підйому джерел γ -випромінювання існує постійна небезпека виносу радіоактивних речовин разом зі струменем повітря при розгерметизації цих джерел. Пневматичний підйом обумовлює постійно діючі ударні навантаження на оболонки джерел γ -випромінювання, що може привести до їх руйнування. При цьому значно знижується надійність роботи установки та не забезпечується можливість точного регулювання процесу опромінювання;

- небезпека застрявання касет із джерелами γ -випромінювання у вигнутих каналах сховищ цих установок погіршує умови радіаційної безпеки і практично виключає можливість зastosування засобів автоматики для програмування процесу керування установкою;

- обмеження простору в зоні опромінювача істотно знижує можливість методичного забезпечення радіаційно-хімічного експерименту і зменшує об'єми

та габаритні розміри виробів, що піддаються опроміненню, при проведенні технологічних експериментів з випуском дослідних партій кінцевого продукту.

Таким чином, на основі проведеного аналізу встановлено, що іонізуючі γ-опромінювачі експериментального та промислового призначення за конструктивно-механічними характеристиками не відрізняються досконалістю.

У зв'язку з вищевикладеним метою нашого дослідження стала розробка конструкції портативного напівавтоматичного комплексу опромінюваньої дії для специфічної обробки γ -опромінюванням ін'єкційних форм antimікробних препаратів.

Матеріали та методи дослідження

Складовими частинами розробленого комплексу (див. рис.) є:

- стрічковий конвеер завширшки 130 мм, завдовжки 6000 мм;
 - привод стрічкового конвеєра — двигун, зубчаста та пасова передачі, мальтійський механізм;
 - джерело γ -випромінювання (Co^{60}) із захисним свинцевим покриттям завтовшки 20 см;
 - флакони з антибіотиком.

Результати дослідження та їх обговорення

За технічним завданням розроблюваний комплекс має виконувати такі операції:

- витягати флакони з антибіотиком зі стандартної тари і ставити їх на стрічку конвеєра;
 - відтворювати періодичний рух стрічки із заданим часом експозиції;
 - витримувати флакони з антибіотиком протягом заданого часу в зоні γ-опромінювання;
 - пакувати флакони з обробленим антибіотиком у стандартну тару.

Комплекс працює таким чином: флакон з антибіотиком (9) з накопичувального стола (6) встановлюється на транспортерну стрічку конвеєра (7), яка пересувається з керованою швидкістю до свинцевого контейнера з джерелом γ -випромінювання (8). Привод конвеєра складається з двигуна (1), двоступінчастої закритої зубчастої (3) та плоскопасової (4) передач. Перетворення рівномір-

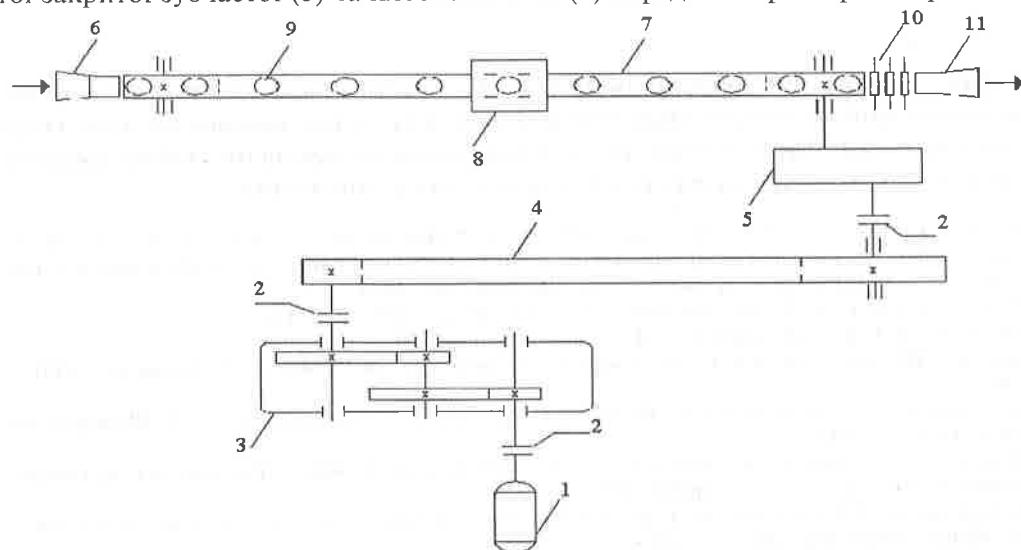


Схема комплексу для обробки антибіотиків γ -випромінюванням:

Схема комплексу для обробки антибіотиків ү-випромінюванням:

ного обертального руху вала на виході з плоскопасової передачі на періодичний із заданим часом зупинки здійснюється малтійським механізмом (5).

Обробка флакона з антибіотиком γ -випромінюванням здійснюється в свинцевому контейнері (8). Як γ -випромінювач використовують Co^{60} . Для досягнення потужності випромінювача 200 Р/с можна застосувати 11 джерел γ -випромінювання потужністю 300 Р/хв, розташованих по кільцю. Тоді для досягнення дози в 10 Грей час обробки зразка становитиме 5 с. Товщина захисної свинцевої оболонки для цих умов — близько 20 см.

Оброблений γ -випромінюванням флакон з антибіотиком через роликовий конвеєр (10) надходить на стіл для відвантажування (11) з наступним пакуванням у стандартну коробку.

Розрахунки складових частин комплексу здійснено на базі стандартних методик [3—10]. Вихідні дані було отримано експериментальним шляхом і на основі літературних джерел. В ході роботи було проведено синтез малтійського механізму й енергокінематичні розрахунки приводу.

У результаті синтезу малтійського механізму визначено частоту обертання його вхідного вала (вихідний вал приводу) — 10 1/хв, крутильний момент на вхідному валу механізму — 323 Н·м; частоту обертання приводного барабана стрічкового конвеєра (частота обертання веденого вала малтійського механізму) — 64,6 1/хв; геометричні параметри механізму.

На основі енергокінематичного розрахунку приводу було вибрано тип і параметри приводного електродвигуна [10]: тип — 4АС80А8У3, потужність — 0,45 кВт, частота обертання — 660 1/хв, синхронна частота обертання — 750 1/хв, розраховано загальне передаточне відношення приводу — 66 і передаточні відношення зубчастої та пасової передач — 22 і 3 відповідно, а також пасової передачі (швидкість паса — 4,4 м/с). На основі швидкості паса було вибрано його тип — гумотканинний, тип В, пас завширшки 58,44 мм, міжосева відстань — 2200 мм.

Результати розрахунку зубчастої передачі:

1 ступінь (бистрохідний) — початкові діаметри колес 28,5 і 142,5 мм, міжосева відстань передачі — 85,5 мм;

2 ступінь (тихохідний) — початкові діаметри колес 57 і 252 мм, міжосева відстань передачі — 154,5 мм.

Орієнтовна вартість комплексу не перевищує 1000 у.о.

Висновок

Для спрямованої обробки антибіотика γ -опромінюванням розроблено напівавтоматичний комплекс опромінювальної дії із застосуванням малтійського механізму, який вигідно відрізняється від існуючих приладів своїми габаритними розмірами, простотою експлуатації та обслуговування.

1. Дикий І.Л., Манський О.А., Філімонова Н.І. та ін. // Фармаком. — 2004. — №4. — С. 74—77.
2. Гольдин В.А. Методы и устройства для радиационно-технологических исследований с изотопными источниками излучения. — М.: Энергоиздат, 1983. — 49 с.
3. Артоболовский И.М. Теория механизмов. — М.: Наука, 1967. — 719 с.
4. Дмитриев В.А. Детали машин. — Л.: Судостроение, 1970. — 792 с.
5. Киркак Н.Ф., Баласанян Р.А. Расчет и проектирование деталей машин. — Х.: Вища шк., 1991. — 200 с.
6. Кохсевников С.Н., Есипенко Я.И., Раскин Я.М. Механизмы: Справочник. — М.: Машиностроение, 1976. — 784 с.
7. Окороков А.С., Зайцев А.И., Власов В.С. и др. Прикладная механика. Расчеты передач вращательного движения. — Х.: УкрФА, 1997. — 47 с.
8. Первіцкий Ю.Д. Расчет и конструирование точных механизмов: Учеб. пособие для вузов. — Л.: Машиностроение, 1976. — 456 с.
9. Сперанский Н.В. Проектирование малтийских механизмов. — М.: Изд-во АН СССР, 1960. — 95 с.
10. Справочник по електрическим машинам: В 2 т. / Под общей редакцией И.П.Копылова и В.К.Клонова. — М.: Энергоатомиздат, 1988. — Т. 1. — 456 с.

A.V.Шаповалов, В.И.Чуешов, И.Л.Дикий, А.А.Манский

ПОЛУАВТОМАТИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС ОБЛУЧАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АНТИБИОТИКОВ

Приведено описание и технические характеристики полуавтоматического комплекса направленного действия, разработанного для облучения образцов антибиотиков для повышения исходной антибактериальной активности.

A.V.Shapovalov, V.I.Chueshov, I.L.Diky, A.A.Manscy

DESCRIPTION OF SEMI-AUTOMATIC COMPLEX OF IRRADIATION ACTION FOR THE INCREASE OF SPECIFIC ACTIVITY OF ANTIBIOTICS

SUMMARY

In the given article the description and technical characteristics of semi-automatic complex of the directed setting developed for the irradiation of samples of antibiotics with the purpose of increase of initial antibacterial activity is resulted.

ПРАВОВЕ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ДІЯЛЬНОСТІ

УДК 615.214

В.О.ШАПОВАЛОВА, д-р фармац. наук, проф., З.С.ГАЛАВАН, заслужений юрист України, С.І.ЗБРОЖЕК, В.В.ШАПОВАЛОВ, канд. фармац. наук, доц., Л.О.ГУТОРОВА, асистент

*Національний фармацевтичний університет,
Слідче управління УМВС України в Харківській області,
Державна служба лікарських засобів і виробів медичного призначення*

ФАРМАЦЕВТИЧНЕ ПРАВО ЯК БАЗОВА ОСНОВА ВДОСКОНАЛЕННЯ СОЦІАЛЬНИХ І МОРАЛЬНО-ЕТИЧНИХ ПРАВОВІДНОСИН МІЖ ЛІКАРЕМ, ХВОРИМ І ПРОВІЗОРОМ У ФАРМАЦЕВТИЧНОМУ БІЗНЕС-СЕРЕДОВИЩІ

Ключові слова: фармацевтичне право, фармацевтичне бізнес-середовище, соціальні, морально-етичні правовідносини, лікар, пацієнт, провізор

Адміністративно-правова реформа, що проводиться в Україні, спрямована на підвищення рівня правосвідомості і правової культури суспільства, в т.ч. провізорів, лікарів, пацієнтів, співробітників контролюючих і правоохоронних органів. Міністерством охорони здоров'я України прийнятий наказ № 360 від 19.07.2005 р. «Про затвердження Правил виписування рецептів та вимог-замовлень на лікарські засоби і вироби медичного призначення, порядку відпуску лікарських засобів і виробів медичного призначення з аптек та їх структурних підрозділів, інструкції про порядок зберігання, обліку та знищення рецептурних бланків та вимог замовлень», у Верховній Раді України пройшов у другому читанні Кримінально-процесуальний кодекс України, також обговорюються проекти Законів України «Про внесення змін у деякі Закони України щодо ліцензування діяльності, пов'язаної з обігом прекурсорів», «Про внесення змін у Закон України «Про обіг в Україні наркотичних засобів, психотропних речовин, їх аналогів і прекурсорів», «Про основи охорони здоров'я в Україні», «Про внесення змін у деякі законодавчі акти України у сфері обігу наркотич-

них засобів, психотропних речовин і прекурсорів» (щодо встановлення кримінальної відповідальності за вирощування грибів, які містять псилоцин, а також кокайнового куща і нарковмісних рослин, обіг яких в Україні заборонено) та ін. [2]. Усі ці заходи спрямовані на вдосконалення державного контролю за контрольно-дозвільною системою, яка регламентує порядок обігу лікарських засобів (ЛЗ) усіх номенклатурно- і класифікаційно-правових груп [2].

Моніторингові дослідження свідчать про те, що, як і раніше, службами МВС (УБОЗ, УБНОН, ДСБЕЗ, СУ, УКР), прокуратурою у бізнес-середовищі фармацевтичного та медичного секторів економіки України виявляються факти корупції, хабарництва, здійснення злочинів організованими групами, зловживання та грубі порушення правил обігу ЛЗ, які мають психоактивні властивості. Наслідком цього є криміналізація системи правовідносин «лікар— пацієнт— провізор», поширення наркоманії, токсикоманії, ВІЛ/СНІДу, психічних, неврологічних та інших розладів здоров'я. Крім того, продовжують мати місце суїциди, дорожньо-транспортні пригоди, а також загибель людей від рук тих злочинців, які перебували у стані наркотичного сп'яніння. Тому визначення критеріїв моралі, соціальних прав громадянина на засадах фармацевтичного права і доказової фармації сприятиме поліпшенню ситуації у системі охорони здоров'я [4].

Так, мораль (від *mores* — звичай, поводження) як духовність, форма суспільної свідомості і вид суспільних відносин (моральні відносини) є одним із способів регулювання поводження людини у суспільстві. Сучасна мораль є втіленням цілісної системи поглядів на соціальне життя громадян, зокрема пацієнтів та споживачів ліків. Норми моралі не тільки підтримуються стабільним громадським порядком, чинністю звичок і цивільної думки, а і фіксуються у формі різних приписів про те, що треба робити в кожному конкретному випадку. Основою моралі є воля людини, соціальна справедливість у суспільних відносинах між лікарем і пацієнтом, провізором і пацієнтом, провізором і контролюючими органами, провізором і правоохоронними органами і т.п. Мораль справляє значний вплив на права, звичаї, традиції тощо. Але фармацевтичне право і мораль — це різні категорії. Вони мають свої особливості. Головна з них полягає в тому, що норми фармацевтичного права фіксуються в письмових нормативно-правових актах і є результатом законотворчості держави. Моральні ж вимоги формуються у практиці аптечного або лікувально-профілактичного закладу, тобто колективного поводження провізорів або лікарів у процесі взаємного спілкування в системі правовідносин між пацієнтом—лікарем—провізором, і є відображенням життєвого досвіду. Норми моралі відтворюються щодня і забезпечуються чинністю звичок і оцінок цивільної думки. Моральні норми характеризуються певною невизначеністю, наявністю деяких відмінностей у моральних переконаннях медичних та фармацевтичних фахівців галузі (проводорів та лікарів) і пацієнтів залежно від рівня їхньої культури, віку, матеріальної забезпеченості, виховання, поінформованості, рівня освіченості та ін. Правові норми мають конкретний зміст, вони однозначні і розмежовують права й обов'язки провізорів та лікарів, мають певні граници дії [5].

Ще однією важливою категорією морально-етичних правовідносин є професійний борг лікаря, медичної сестри, провізора або фармацевта. Борг — це ставлення медичного та фармацевтичного фахівця до суспільства в цілому, а також до кожного окремого пацієнта, що виражається в моральному обов'язку стосовно них у конкретних умовах правовідносин. Борг, як і мораль, являє собою моральне завдання, яке кожний провізор формулює для себе сам на підставі моральних вимог. Це особисте завдання конкретного провізора в конкретній ситуації, що пов'язана з відпуском ЛЗ за рецептот або без рецепта з урахуванням стану пацієнта, морально-етичних факторів у форматі діючих законодавчих і нормативно-правових актів [9].

На наш погляд, фармацевтичне право є базовою основою соціального боргу, який є складовою частиною боргу лікаря, провізора, судді (схема 1).

Схема 1

Визначення соціального боргу лікаря, провізора, судді



Крім того, борг містить у собі два фактори: соціальний (патріотичний, військовий, борг лікаря, провізора, судді, співробітників правоохоронних або контролюючих органів) і особистий (батьківський, синівський, подружній).

Успішно виконувати свої функції провізори, лікарі, фармацевти можуть тільки тоді, коли вони глибоко усвідомили соціальне значення своєї діяльності та мають високе почуття боргу перед пацієнтом і готові до кінця, всупереч усім труднощам, виконувати свої професійні обов'язки [10].

З галузі етичної науки виділяють професійну етику. Професійна етика обумовлена особливостями певних професій. У кожній професії є свої моральні проблеми. Так, професія лікаря, провізора, фармацевта вимагає підвищеної уваги до моральної сторони виконуваних функцій, пов'язаних з обігом ЛЗ, постановою діагнозу та ін. Професійна етика має значення насамперед для професій, об'єктом яких є людина, громадянин, пацієнт. Існування моральних кодексів певних професій є свідоцтвом суспільного прогресу, поступової гуманізації суспільства. Лікарська етика вимагає робити все заради здоров'я пацієнта всупереч труднощам і навіть власній безпеці, зберігати лікарську таємницю, боротися за життя пацієнта при будь-яких розладах його здоров'я, ВІЛ/СНІДі, наркоманії тощо. Професійна етика провізора пов'язана з тим, що він зобов'язаний відповідати за якість ЛЗ, своєчасне забезпечення населення ЛЗ різних класифікаційно-правових і номенклатурно-правових груп, здійснюючи відпуск і зберігання ЛЗ згідно з чинним законодавством [3].

Професійна етика — це сукупність правил поведінки певної соціальної групи, що забезпечує моральний характер взаємин, обумовлених професійною діяльністю провізорів або лікарів, а також галузь науки, що вивчає специфіку проявів моралі в різних видах діяльності [5]. На наш погляд, фармацевтичне право є базовою основою морально-етичних норм поведінки лікаря, пацієнта і провізора в рамках співвідношення їх боргу і відповідальності (схема 2).

Соціальні права людини — це сукупність конституційних прав громадянина (пацієнта, провізора, лікаря), що дають йому можливість претендувати на одержання від держави за певних умов певних моральних благ. Звичайно до соціальних прав людини відносяться право на соціальне забезпечення, право на освіту, право на охорону здоров'я, медичну і фармацевтичну допомогу, право

Схема 2

Співвідношення боргу і відповідальності лікаря, пацієнта і провізора



на житло, особливі права дітей, права інвалідів, права людей, що хворіють хронічними розладами (наркоманія, токсикоманія, ВІЛ/СНІД, туберкульоз, онкологічні, психоневрологічні захворювання та ін.). Соціальні права людини закріплені в Конституції України [8].

Наркологічні захворювання є наслідками «наркобізнесу» і злочинності. Тому зв'язок наркоманії зі злочинністю й організованими її формами можна визначити у трьох формах [1, 11].

1. Підвищується схильність до правопорушень та здійснення злочинів, придбання психоактивних речовин не за призначенням лікаря відбувається злочинним шляхом. Крім того, у хворих, що страждають на наркоманію, токсикоманію, ВІЛ/СНІД, психічні, неврологічні та інші розлади здоров'я, значно послаблюється індивідуально-вольовий контроль за своїм поводженням, правова культура та правосвідомість, що полегшує можливість здійснення ними злочинів.

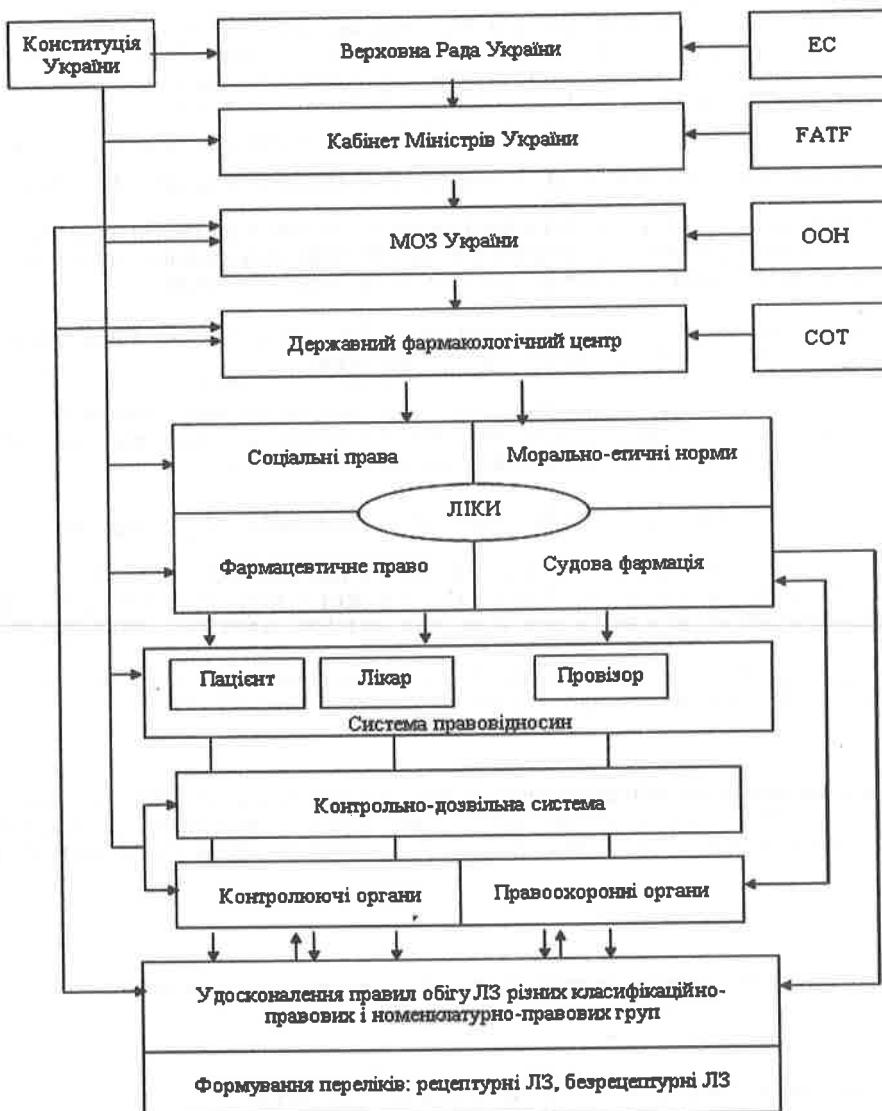
2. Існуючий попит на психоактивні речовини (наркотичні засоби, психотропні речовини, прекурсори і т.п.) породжується відповідною пропозицією, джерелом якої є та або інша злочинна діяльність (це регламентовано ст. 305—323 КК України), тобто незаконний їхній обіг або порушення правил обігу (виготовлення, придбання, збут, перевезення, зберігання, уживання, виписування, облік).

3. Пацієнти (хворі), які вживають контролювані державними органами засоби та речовини, з психоактивними властивостями, мають підвищену вразливість і стають жертвами злочинної діяльності. Крім того, наркобізнес і ріст потреби на психоактивні речовини створюють сприятливі умови для створення організованих груп і злочинних організацій, які займаються скоченням інших злочинів (згвалтування, розбійні напади, крадіжки, грабежі, незаконна міграція, торгівля людьми, протиправний обіг вибухівки, зброй тощо) [7].

За результатами досліджень нами запропоновано комплексний підхід до удосконалення соціально- і морально-етичних правовідносин між лікарем, пацієнтом і провізором у фармацевтичному бізнес-середовищі (схема 3).

Схема 3

Комплексний підхід до удосконалення соціально- і морально-етичних правовідносин між лікарем, пацієнтом і провізором у фармацевтичному бізнес-середовищі



Висновок

Фармацевтичне право виступає базою для втілення в практику основ доказової фармации щодо розробки такої моделі державного лікарського забезпечення пацієнтів, що страждають на наркоманію, токсикоманію, ВІЛ/СНІД, яка б сприяла подальшому та всебічному розвитку у фармацевтичному бізнес-середовищі соціальних та морально-етичних правовідносин між лікарем, хворим і провізором при балансі інтересів держави, правоохоронних і контролюючих органів.

1. Боголюбова Т.А., Толпелкін К.А. // Сов. держава и право. — 1987. — № 1. — С. 79.
2. Галаван З.С., Шаповалов В.В., Шаповалова В.О. // Ліки України. — 2004. — № 9 (додаток). — С. 19—27.
3. Гуторов О.І., Шаповалов В.В., Шаповалова В.О. // Там же. — С. 117—118.
4. Кваша О. // Право України. — 2001. — № 8. — С. 92—95.
5. Кобликов А.С. Юридическая этика: Учебник для вузов. — 2-е изд. — М.: Изд-во «НОРМА», 2003. — 176 с.
6. Коляда В.В., Шаповалов В.В., Шаповалова В.О. // Ліки України. — 2004. — № 9 (додаток). — С. 82—84.

7. Лекарственные средства в неврологии, психиатрии и наркологии / Под ред. В.А.Шаповало-вой, П.В.Волошина, А.В.Стефанова и др. — Х.: Факт, 2003. — С. 439—444.
8. Шаповалов В.В., Шаповалова В.О., Вишар Г.М. та ін. // Вісн. фармакології та фармації. — 2004. — № 6. — С. 62—63.
9. Шаповалов В.В., Шаповалова В.О., Вишар Г.М. // Там же. — 2004. — № 9. — С. 60—61.
10. Шаповалов В.В., Шаповалова В.О., Гуторов О.І. // Там же. — 2004. — № 7. — С. 66—67.
11. Юзікова Н.С. Протидія криміналізації молодіжного середовища в сфері організованого наркобізнесу // 36. наук. робіт. — Х.: Право, 2003. — № 5. — С. 307—331.

Надійшла до редакції 15.11.2005.

В.А.Шаповалова, З.С.Галаван, С.И.Зброжек, В.В.Шаповалов, Л.А.Гуторова

**ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ ПРАВО КАК БАЗОВАЯ ОСНОВА УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ
СОЦИАЛЬНЫХ И МОРАЛЬНО-ЭТИЧЕСКИХ ПРАВООТНОШЕНИЙ МЕЖДУ ВРАЧЕМ,
БОЛЬНЫМ И ПРОВИЗОРОМ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ БИЗНЕС-СРЕДЕ**

Ключевые слова: фармацевтическое право, фармацевтическая бизнес-среда, социальные, морально-этические правоотношения, врач, пациент, провизор

Предложена система правоотношений в фармацевтической бизнес-среде между врачом, пациентом и провизором с учетом социальных и морально-этических факторов в рамках «мораль—долг—ответственность» на принципах фармацевтического права.

V.A.Shapovalova, Z.S.Galavan, S.I.Zbrozhek, V.V.Shapovalov, L.A.Gutorova

**THE PHARMACEUTICAL RIGHT AS THE BASE BASIS OF IMPROVEMENT SOCIAL
AND MORAL-ETHICAL THE RIGHT OF THE ATTITUDE (RELATION) IN PHARMACEUTICAL
BUSINESS-ENVIRONMENT BETWEEN DOCTOR, THE PATIENT AND THE PHARMACIST**

Key words: the pharmaceutical right, pharmaceutical business environment (Wednesday), social, moral-ethical The right of the attitude (relation), the doctor, the patient, and the pharmacist

SUMMARY

The system the right of the attitude (relation) in pharmaceutical business is offered to environment (Wednesday) between the doctor, the patient and the pharmacist in view of social and moral-ethical factors in frameworks «morals—a duty—the responsibility» on principles of the pharmaceutical right.

ОГЛЯДИ

УДК 57.083.2+578.74

**Н.С.ЯСНА, аспірант, А.В.МАРТИНОВ, д-р фармац. наук,
Т.А.КОСТИНА, канд.хім. наук, доц., В.С.КИСЛИЧЕНКО, д-р фармац. наук, проф.**

*Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова АМН України,
Національний фармацевтичний університет*

ВИСОКОЕФЕКТИВНА РІДИННА ХРОМАТОГРАФІЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ БІЛКОВОЇ ПРИРОДИ В ПІКОМОЛЬНИХ КІЛЬКОСТЯХ

Серед сучасних методів розділення, ідентифікації та дослідження білків одне з найважливіших місце займає високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) [23]. Усе більше білкових лікарських засобів — продуктів біотехнології — виходить на ринок світу. Більшість розвинених країн виділяють медичну та харчову біотехнологію, як пріоритетний напрямок розвитку сучасних технологій [39]. При цьому методи аналізу чистоти, ідентичності та домішок отриманих речовин потребують постійного удосконалення [7].

В останні роки метод ВЕРХ все частіше почали модифікувати шляхом комбінації з капілярним електрофорезом та мас-спектрометрією [3, 19, 34]. Розділення та отримання біологічно активних білків — лікарських засобів — стало рутинною процедурою завдяки успіхам ВЕРХ [22]. Фракціонування антигенів гістосумісності з використанням ВЕРХ уже було описано [2]. Розділення стандартних білків з використанням ВЕРХ одними з перших провели Реньє та Ноель [27] на носіях для есклюзивної хроматографії та Менч і Денен [21] на носіях для зворотнофазової ВЕРХ. Однак після того, як Рубінштейн та ін. [30] вперше виділили з лейкоцитів людини 21 мкг активного інтерферону з використанням чотирьох послідовних етапів ВЕРХ, стало ясно, що малу кількість біологічно активних білків можна з успіхом хроматографувати на наявних у продажу ВЕРХ-носіях. ВЕРХ застосовували також для очищення інших інтерферонів [20, 29]. З 1979 р. носії для колонок були значною мірою удосконалені, що докладно викладено Реньє [26]. Крім того, в останні роки з'явилися публікації про вдале розділення та характеристику напівсинтетичних похідних білків — важких ланцюгів ботулінічного токсину [38], який використовується в косметологічній хірургії, та пегильзованих білків [4, 16].

ВЕРХ забезпечує більшу швидкість розділення білків, відтворюваність методики, чутливість і є більш універсальною, ніж традиційні хроматографічні методи. Застосовуючи ВЕРХ, можна проводити мікроаналітичні розділення речовин з молекулярними масами від 100 до 1 000 000 Да на рівні пікомолей [32], аналітичні розділення цих речовин на рівні наномолей [23], а також напівпрепаративне фракціонування на рівні 1—10 мікромолей. У даний час розробляються препаративні варіанти ВЕРХ при розділенні більше як 10 мкмоль білка для використання на експериментальних заводах та для масового виробництва [35].

Метою даного дослідження є:

- порівняння способів виділення та стандартизації пікомольних кількостей біологічно активних білків, отриманих з колонок для мікроаналізу із застосуванням ВЕРХ;
- аналіз переваг і недоліків аналітичних та напівпрепаративних варіантів ВЕРХ, що застосовується для очищення речовин;
- оцінка ефективності використання зазначеного методу для аналізу невеликих кількостей практично неочищеного матеріалу в лікарських формах та для отримання нанограмових кількостей біологічно активних білків при чотирьох варіантах розділення, а також методів кількісного аналізу білків з використанням прямих вимірювань оптичної густини та інших стандартних методів. При цьому враховували чутливість ВЕРХ, застосовували спеціальні прийоми для приготування розчинників та зразків і заходи для збереження біологічної активності білків після хроматографування.

Розділення білків за розміром: гель-проникаюча хроматографія [6]

Перші розділення біополімерів методом ВЕРХ були проведені на гель-проникаючих колонках з використанням різноманітних рухомих фаз, у т.ч. денатуруючих розчинників [39, 36]. Перевірка сімох наявних у продажу носіїв для ВЕРХ показала, що при білкових навантаженнях більше 100 мкг та використанні рухомих фаз з іонною силою 0,1—0,6 М при pH 6—7 вихід білка становив більше 85 % [25].

Умови розділення білків за розмірами

Колонки: спочатку Ultropac Gel 3000 SW, 7,5 · 600 мм, а потім Ultropac TSK Gel 2000 SW, 7,5 · 600 мм (Ultropac — зареєстрована торгова марка LKB, Бромма, Швеція; TSK Gel — зареєстрована торгова марка Toyo Soda Mfg. Co., Японія).

Рухома фаза: 10 мМ трис-гідрохлориду, 0,15 М розчину натрію хлориду, pH 7,0, 0,05 % розчин поліетиленгліколю 6000 (ПЕГ 6000).

Елюція: ізократична.

Швидкість потоку: 1 мл/хв.

Виявлення: за поглинанням при 280 та 205 нм.

Стандарти: тиреоглобулін (молекулярна маса (м.м.) 669 000 Да, виходить у вільному об'ємі); бічачий сироватковий альбумін (БСА) (м.м. 67 000 Да); овальбумін (м.м. 45 000 Да); карбоангідраза Б (м.м. 30 000 Да); апоміоглобін (м.м. 17 200 Да); апротинін (м.м. 6000 Да); $^3\text{H}_2\text{O}$ (повний об'єм колонки). Перед хроматографуванням колонки калібрували шляхом нанесення 10 мкг кожного з цих стандартів.

При послідовному використанні двох колонок можна збільшити навантаження, а точність вимірювань при цьому підвищиться. ПЕГ 6000 додають у рухому фазу для того, щоб уникнути адсорбції білків на поверхнях при розділенні розбавлених розчинів [31]. У концентрації менше 0,1 % ПЕГ 6000 не змінює лінійного співвідношення між логарифмом молекулярної маси та об'ємом елюєнту, в якому виходять з колонок стандартні білки. Рухому фазу готують на дистильованій воді, яку пропускають через патрон Norganic (Millipore). Перед використанням розчин фільтрують через фільтр GSWP (розмір пор 0,22 мкм; Millipore) для відокремлення механічних часток та мінімізації бактерійного забруднення при проведенні біологічних тестів.

При використанні ВЕРХ з розділенням білків за розмірами молекул зниження виходу та невідтворюваність міграції білка внаслідок взаємодії з рідкою фазою — явища досить звичайні. Вони обумовлені залишковим негативним зарядом та гідрофобними властивостями, притаманними всім матрицям, які є у продажу [30]. Проблеми, що виникають при взаємодії розчину з поверхнею наповнювачів колонок, ще більше ускладнюються, якщо враховувати вплив форми макромолекул на встановлення молекулярної маси. У зв'язку з цим досить складно отримати точні значення молекулярної маси при гель-проникаючій хроматографії. Для розділення білків за розмірами можна рекомендувати носій TSK Gel 3000 SW, особливо коли ВЕРХ застосовується тільки для розділення білків [1].

Гель-проникаюча хроматографія часто використовується як для аналітичних, так і для препаративних цілей, однак останній варіант пов'язаний із значними труднощами. На колонці TSK Gel 3000 SW (7,5 · 300 мм) без значної втрати чутливості методу можна розділяти зразки, які в 150—200 мкЛ містять не більше 700 мкг білка [22]. При використанні ж аналітичних колонок для зворотнофазової або іонообмінної ВЕРХ можна розділити в 5—10 разів більшу кількість білка. Розв'язання проблеми щодо кількості нанесеного білка полегшується тим, що більшість носіїв для ВЕРХ за розміром виробляється у вигляді колонок, готових для напівпрепартивного розділення. На колонці TSK Gel 3000 SW діаметром 21,5 мм можна розділити до 100 мг білка.

Розділення білків за зарядом: хроматографія на іонообмінних носіях та гідроксіапатиті [12]

Іонообмінні носії для ВЕРХ білків фактично аналогічні звичайним матрицям: існують як слабкі, так і сильні аніоно- та катіонообмінники; їх зв'язувальні властивості подібні властивостям сорбентів, які використовують у звичайній хроматографії. Найчастіше використовують крупнозернистий (300 Å) слабкий аніонообмінник SynChropak AX300 на основі зв'язаного з поліамінами силікагелю [28]. Аніонообмінники використовують частіше, ніж катіонообмінники [11].

Умови розділення білків за зарядом на іонообмінних носіях

Колонка: SynChropak AX300 (4,1 · 250 мм; SynChropak — зареєстрована торгова марка SynChrom Inc., Лінден, Індіана, США).

Рухома фаза: розчинник А (50 мМ трис-гідрохлориду, pH 7,0); розчинник Б (50 мМ трис-гідрохлориду, pH 7,0, 1M розчин натрію хлориду).

Елюція: ізократична, протягом 25 хв розчинником А, потім 30 хв лінійним градієнтом 0–100 % розчинника Б.

Швидкість потоку: 0,5 мл/хв.

Виявлення: за поглинанням при 280 та 205 нм.

Зразок: перед внесенням у колонку зразок діалізують проти розчинника А.

Після внесення зразка колонку промивають як мінімум трикратним об'ємом буферного розчину доти, поки поглинання не сягне первинного рівня, і тільки після цього починають градієнтну елюцію. Швидкість потоку може бути збільшена до 1,0 мл/хв без побічних наслідків для розділення.

Як і в інших випадках, при розділенні крупних білків критичним фактором є розмір пор іонообмінника. Встановлено, що аніонообмінники з розміром пор до 4000 Å можуть бути використані для хроматографії білків з молекулярними масами 200 000–400 000 [22]. Раніше відавали перевагу слабким іонообмінникам, але згодом було встановлено, що сильний аніонообмінник Mono Q (Pharmacia) та сильний катіонообмінник Mono S (Pharmacia) мають ряд переваг. Вони характеризуються більш високою чутливістю, легким прогнозуванням часу утримання речовин та більш високим виходом білків, ніж матриці на основі силікагелю, які використовувалися раніше [18]. Ці нові аніонообмінники створені на основі гідрофільної поліефірної смоли і мають додаткові переваги: вони стійкі в широкому діапазоні pH (2–12). Силікагелеві матриці використовуються лише при pH < 8. При більших значеннях pH силікагель розчиняється.

Для фракціонування білків за зарядом поряд з іонообмінними носіями використовується і гідроксіапатит [10]. Хоч механізм зв'язування білків з гідроксіапатитом залежить від заряду, він відрізняється від механізму зв'язування з іонообмінними носіями і тому характеризується іншою селективністю при розділенні білків.

Умови розділення білків за зарядом на гідроксіапатиті

Колонка: 7,8 · 100 мм BioGel HPHT (BioRad).

Рухома фаза: розчинник А — 0,01 М розчин фосфату натрію, pH 6,8, 0,3 mM розчину хлориду кальцію; розчинник Б — 0,35 М розчину фосфату натрію, pH 6,8, 0,01 mM розчину хлориду кальцію.

Елюція: лінійний градієнт розчинника Б (0–100 %), 30 хв.

Швидкість потоку: 1,0 мл/хв.

Виявлення: за поглинанням при 280 та 205 нм.

Зразок: перед внесенням проводять діаліз проти розчинника А.

Носій в колонках HPHT менш стійкий, ніж носій на основі силікагелю в колонках для ВЕРХ. Щоб не зруйнувати його при надлишковому тиску, рекомендують чітко виконувати всі інструкції фірми-виробника.

Аналітична колонка з гідроксіапатитом, яку запропонувала фірма BioRad, є високоекспективною для отримання вільного від протеаз препарату імуноглобулінів з асцитичної рідини мишей, причому його виділення включає одну стадію очищення і триває всього 30 хв [14]. Ця колонка також була успішно використана при виділенні біологічно активного інтерлейкіну-1 [17].

Розділення білків за гідрофобними властивостями:

зворотнофазова хроматографія [5]

Хоча при зворотнофазовій ВЕРХ білків необхідно використовувати денатуруючі розчини з низьким pH та органічні розчинники у високих концентраціях, вона набула в останні роки великої популярності. Основні досягнення у цій сфері розглянуті у спеціальних оглядах [22, 23]. При роботі з деякими недавно створеними на основі силікагелю матрицями для ВЕРХ можуть бути використані м'які умови елюції, як для звичайних носіїв [8, 9, 15].

Для розділення білків за гідрофобними властивостями використовують декілька систем (табл. 1).

Таблиця 1

Системи для розділення білкових лікарських засобів за гідрофобними властивостями

Система	Колонка	Рухома фаза	Елюція	Швидкість потоку	Виннення	Стандарт
1	4,6 · 250 мм 10 мкм Vydac TP201 (300 Å, C-18)	Розчинник А — 0,1 % розчин трифтороцтової кислоти (ТФК); розчинник Б — 1-пропанол	Лінійний градієнт розчинника Б (0—40 %), 30 хв	0,8 мл/хв	За поглинанням при 280 та 205 нм	Апротинін, БСА, карбоангідраза Б, апоміоглобін та овальбумін, інсулін вносять у колонку для контролюного розділення в день постановки досліду
2	Те ж	Розчинник А — 10 мМ гептафторбутанової кислоти (ГФБК), розчинник Б — 1-пропанол	Лінійний градієнт розчинника Б (25—55 %), 30 хв	Те ж	Те ж	Те ж
3	4,6 · 100 мкм Aquapore RP300 (300 Å, C-8), патрон СОЗ-МР	Розчинник А — 10 мМ ГФБК; розчинник Б — 10 мМ ГФБК в ацетонітрилі (для УФ-аналізу), розчинник В — 10 мМ ГФБК в 1-пропанолі	Одночасні лінійні градієнти розчинника Б (20—55 %) та розчинника В (10—25 %), 30 хв	—»—	За поглинанням при 280 нм	—»—
4	4,6 · 250 мм 10 мкм Vydac TP201 (300 Å, C-18)	Розчинник А — 12 мМ хлористоводневої кислоти; розчинник Б — 2-пропанол	Лінійний градієнт розчинника Б (29—34 %), 10 хв	—»—	За поглинанням при 280 та 205 нм	Карбоангідраза Б
5	Те ж	Розчинник А — 0,1 % трифтороцтової кислоти (ТФК); розчинник Б — ацетонітрил	Лінійний градієнт розчинника Б (35—60 %), 10 хв	—»—	Те ж	—»—
6	4,6 · 100 мкм Aquapore RP300 (300 Å, C-8), патрон СОЗ-МР	Розчинник А — 0,1 % ТФК; розчинник Б — 0,1 % ТФК в ацетонітрилі	Лінійний градієнт розчинника Б (0—70 %), 30 хв	—»—	—»—	—

Органічні розчинники використовують без додаткового очищення. Якщо при розділенні детектування проводять за оптичним поглинанням, то в системі 3 використовують 1-пропанол. Водні розчини готують шляхом розведення хлористоводневої, трифтороцтової (ТФК) або гептафторбутанової (ГФБК) кислоти дистильованою водою, яку попередньо пропускають через мембраний фільтр (наприклад, Norganic (Millipore), і фільтрують через фільтр GSWP (розмір пор 0,22 мкм; Millipore). Перед нанесенням біологічно активних зразків колонки багаторазово промивають відповідним градієнтним розчином до пов-

ної стабілізації базової лінії. Після кожного розділення їх промивають до досягнення базового рівня і зберігають в 1-пропанолі.

Як сорбенти для зворотнофазової ВЕРХ звичайно використовують гранульовані силікагелі з пришитими боковими алкільними або арильними радикалами. Для надійного зіставлення умов елюції необхідна інформація про такі параметри матриці, як навантаження лігандом, довжина алкільних ланцюгів, тип силікагелю, розмір пор, розмір та форма гранул. Розмір пор, який є важливим параметром при розділенні білків, має бути не менше 300 Å.

Кількісний аналіз білка та межі чутливості

Кількість білка при ВЕРХ на колонках найчастіше встановлюють за площею відповідних піків елюції, отриманих при зміні поглинання при 280 або 205 нм. З цією метою можна використовувати автоматичний інтегратор, однак це необов'язково. Кількісну інформацію можна отримати і з використанням інтегрування профілю елюції. Поглинання білків при довжині хвилі 280 нм обумовлено поглинанням світла в УФ-ділянці амінокислотами триптофаном, тирозином та фенілаланіном. Для більшості білків вагоміший вклад у поглинання світла несе триптофан. Поглинання білків при 205 нм пов'язане, насамперед, з амідними групами, у т.ч. з групами пептидних зв'язків. Хоч у цьому діапазоні поглинає і гістидин, поглинання при 205 нм залежить меншою мірою від амінокислотного складу білків, ніж поглинання при 280 нм. Тому поглинання при 205 нм (а нині найчастіше використовують поглинання при 220 нм) дає надійнішу інформацію про кількість сумарного білка. На жаль, багато органічних розчинників мають значне поглинання в цій УФ-ділянці. Відповідно збільшується фон поглинання, що обмежує можливості вимірювань у ділянці короткохвильового ультрафаілету. В табл. 2 наведені похиби, які мають місце при порівнянні колориметричних та УФ-спектрофотометричних методів встановлення концентрації білка.

Як видно з даних, наведених у табл. 2, похиби вимірювання кількості білка за поглинанням в УФ-ділянці (при встановленні площині піків на профілі елюції) були оцінені для 10 різноманітних білків. Кожний з білків (10 мкг)

Таблиця 2

Порівняльні дані про похиби при кількісному визначення концентрації білка при ВЕРХ за УФ-поглинанням та за даними колориметричних вимірювань

Білок	Визначення концентрації за A_{280}			Визначення білка за A_{205}			Похибка, %		
	$E_{0,1\text{ cm}}^{205,1}$	очікувана похибка, %	реальна похибка, %	$E_{0,1\text{ cm}}^{280,1}$	очікувана похибка, %	реальна похибка, %	для біуретового методу	для методу Лоурі	для методу Бредфорда
Бічачий сироватковий альбумін	29,7	0	-13	0,60	-41	-43	-3	-16	+111
Карбоангідраза Б людини	30,8	+3	+9	1,38	+36	+38	-12	-11	+30
Бічача каталаза	30,3	+2	-15	1,10	+8	-22	-24	-37	-3
Цитохром з коня	29,0	-3	-9	3,30	+71	+87	+157	+13	+153
Лізоцим з курячих яєць	39,5	+32	+22	0,68	+225	+176	+4	+26	-1
Овальбумін з курячих яєць	32,1	+8	-31	0,81	-49	-51	+2	+1	-6
Бічача рибонуклеаза А	27,3	-8	-21	1,20	-20	-58	+18	+59	-47
Бічачий тиреоглобулін	28,1	-6	-23	1,05	+18	-53	-23	-18	-7
Трансфері людини	34,0	+14	+28	0,86	+3	-23	-15	-10	+26
Інгібітор трипсину з сої	31,5	+6	-27	-	-30	-32	-9	+3	-39
Середнє відхилення, %	-	+5	-8	-	+22	+2	+10	+1	+22
Середній модуль відхилення, 1%	-	8	20	-	50	58	27	19	42

хроматографували на колонці 10-мкм Aquapore RP300, встановлювали площу піків, а потім кількість білка за калібрувальними кривими, виходячи з того, що вихід білка становить 100 %. Реально отримані значення похибок відображають в основному втрату білка при хроматографуванні. Оцінки виходу білка, зроблені за кількісною детекцією при обох довжинах хвиль, збігалися для БСА, карбоангідрази Б, каталази та цитохрому С (різниця < 11 %). Для інших білків коливання виходу становили 25—54 %. Незначні розбіжності значень можуть мати місце через незначні неточності при встановленні площини піків. Більш значні невідповідності можна пояснити відмінностями коефіцієнтів екстинкції білків у розчинниках, використаних для елюції (хлористоводнева кислота/2-пропанол або ТФК/ацетонітрил, pH 2,0), та в 12 мМ хлористоводневої кислоти, pH 2. Отримані похибки порівнювали з похибками, які, за опублікованими даними, притаманні трьом найбільш часто застосовуваним методам визначення концентрації білка: біуретовому методу, методу Лоурі та методу Бредфорда. Для цих трьох методів похибки встановлювали шляхом порівняння результатів з даними Інструкції по встановленню концентрації білка фірми Bio-Rad з кількостями білків, визначеними гравіметрично. Як стандарти для визначення концентрації білка за Лоурі та Бредфордом використовували імуноглобулін людини (гамаглобулін), а для визначення за біуретовим методом — БСА. Незважаючи на деякі розбіжності при визначенні за двома довжинами хвиль, діапазон похибок для встановлення за площиною піків при 205 нм вкладався в діапазон похибок для трьох стандартних колориметричних методів. За Петерсоном [24], вимірювання за поглинанням при 205 нм вдвічі чутливіше, ніж за модифікованим фенольним методом Фоліна при визначенні білка за Лоурі. Інтегрування кривих поглинання при 280 нм є певною мірою менш надійним методом кількісного визначення білка через значні варіації коефіцієнтів екстинкції білків при цій довжині хвилі. Якщо виключити з розгляду дані для лізоциму (табл. 2), який має виключно високий коефіцієнт екстинкції при 280 нм, середнє значення відхилень для вимірювань при 280 нм зниζиться до 38 %, що вкладається в середнє значення похибок (у відсотках) для трьох колориметричних тестів. А втім, найбільш точним методом кількісного визначення білків при ВЕРХ слід визнати реєстрацію поглинання при 205 нм. Встановлення площині піків на профілях при 280 нм можна використовувати при великих кількостях білка у пробі в тих випадках, коли розчинники мають великий показник поглинання при 205 нм. Щоб використати переваги, які дає 30-кратно більша чутливість вимірювань при 205 нм (внаслідок різниці в середніх коефіцієнтах екстинкції: $E_{280,1\text{ cm}}^{205,1\text{ cm}} = 1$ та $E_{205,1\text{ cm}}^{280,1\text{ cm}} = 30$), необхідно застосовувати відповідну систему розчинників (наприклад, водні, ізократичні розчинники або градієнт низьких концентрацій ацетонітрилу). Крім того, для підвищення чутливості можна використовувати проточну вимірювальну комірку з кюветою завтовшки понад 1 см. У тих випадках, коли при розділенні йдеється про сигнали, близькі до мінімальної чутливості детектора, для очищення води рекомендується використовувати такі системи, як патрон Norganic або аналогічні засоби. Ще більшого зменшення небажаних ефектів можна досягти шляхом пропускання розчинника перед використанням в основному досліді через матрицю для зворотнофазової хроматографії.

Для встановлення площині піків за поглинанням при 280 нм калібрувальні криві отримували при використанні білків із середнім коефіцієнтом екстинкції $E_{280,1\text{ cm}}^{205,1\text{ cm}} = 1,03$ в 12 мМ хлористоводневої кислоти (для БСА — 0,60, апоміоглобіну — 0,95, апротиніну — 1,27, карбоангідрази Б — 1,38, інсуліну — 0,94). На зворотнофазових колонках при використанні систем розділення білків за гідрофобними властивостями 3, 4 або 6 (табл. 1) можна фракціонувати від 500 до 100 мкг білка.

Для отримання калібрувальних кривих при 205 нм білки в кількості від 50 нг до 10 мкг із середнім коефіцієнтом екстинкції $E_{0,1\%}^{205, \text{nm}} = 29,8$ в 12 мМ хлористоводневої кислоти (для тиреоглобуліну — 28,1, БСА — 29,7, овальбуміну — 32,1, карбоангідрази Б — 30,8 та міоглобіну — 28,3) елюювали із зворотнофазової колонки і тандемно розташованих колонок (60 см) TSK G 3000SW TSK G2000SW, які розділяють їх за розмірами молекул. Умови елюції із зворотнофазових колонок ті ж, що і при отриманні калібрувальної кривої при 280 нм.

Для оцінки кількісного аналізу площу піків для кількості білка у використовуваному зразку встановлювали шляхом помноження висоти піка на його ширину на рівні, який відповідає половині піка. Площи піків, встановлені для різних білків у різних розчинниках, усереднюють, а потім будують калібрувальні криві для цієї довжини хвилі шляхом відкладення по одній осі середніх значень площини піків, а по іншій — кількості нанесеного на колонку білка. Аналіз даних показав, що співвідношення площини піків та кількості нанесеного білка лінійне як при 280 нм, так і при 205 нм.

Використання ВЕРХ для аналізу лікарських препаратів білкової природи

Як і для звичайної хроматографії, гель-проникаючі, іонообмінні та гідроксіапатитні колонки забезпечують найбільш м'які умови при ВЕРХ. Разом з тим, не слід ігнорувати і зворотнофазову хроматографію, для якої характерні більш жорсткі умови елюції. Висока чутливість та універсальність цього методу дозволяють використовувати його в умовах, коли не можуть бути використані звичайні хроматографічні методи.

Схеми очищення активного інтерлейкіну 2 (ІЛ-2, комерційний препарат «Ронколейкін») [33], інтерлейкіну 3 (ІЛ-3) [13], γ -інтерферону [34], інсуліну та овомукоїду [37] складаються як мінімум з одного етапу зворотнофазової хроматографії, причому в різних випадках ці етапи можуть значно відрізнятися за типом використаних розчинників та значень pH. У схему очищення ІЛ-2 входять послідовно три етапи зворотнофазової хроматографії: на носіях C-8, C-18 та дифеніловому носії з елюцією буферним розчином ацетат—піридин—1-пропанол, pH 4. Чистота ІЛ-3 тільки за рахунок одного етапу зворотнофазової хроматографії на колонці C-18 з елюцією ТФК—ацетонітрилом (pH 2,0) збільшувалася в 265 разів.

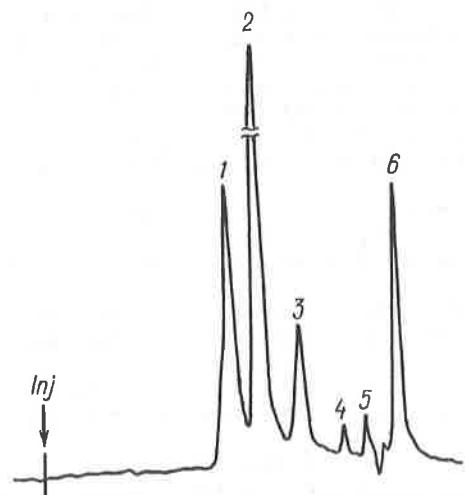


Рис. 1. ВЕРХ-хроматограма розділення інсуліну та домішок з лікарської форми:
колонка 4,6 · 250 Сервахром 100. Поліол, рухома фаза — 0,005 мол/л триє-гідроксіурід, pH 7,5 ± 0,05 мол/л SDS + 0,1 мол/л urea + 0,1 мол/л натрію хлориду, швидкість потоку — 0,4 мл/хв, тиск — 170 бар, детектування — при 260 нм. Як контроль використані блакитний декстран (смуга 1) та п-біс-гідроксиметилбензол (смуга 6)

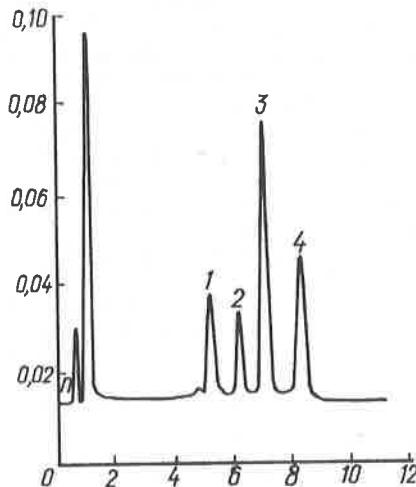


Рис. 2. ВЕРХ-хроматограма розділення суміші пептидних гормонів:
колонка 4 · 250 Силасорб SPHC 18 (5 мкм); рухома фаза: А — вода—ТФК, pH 2,5; Б — MeCN; градієнт — 0 % А — 40 % Б за 12 хв; швидкість потоку — 1,5 мл/хв; об'єм проби — 20 мкл; детектування — 220 нм (0,1AUFS); 1 — соматостатин, 2 — субстанція Р, 3 — інсулін, 4 — глюкагон

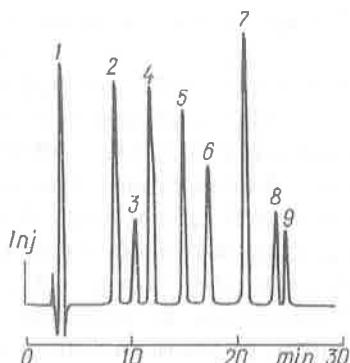


Рис. 3. ВЕРХ-хроматограма розділення суміші гормонів:

колонка TSK ODS-120T, умови, аналогічні умовам розділення пептидних гормонів (рис. 2); 1 — TRH, 2 — LH-RH, 3 — а-ендорфін, 4 — ангіотензин-II, 5 — ангіотензин-I, 6 — субстанція П, 7 — соматостатин, 8 — в-ендорфін, 9 — людський кальцитонін

включити в Державну фармакопею України.

Відсутність уніфікації методу ВЕРХ за апаратурною схемою та протоколами аналізів саме для лікарських засобів вимагає розробки цих питань.

1. Alfredson T.V., Wehr C.T., Tallman L. et al. // J. Liq. Chromatogr. — 1982. — Vol. 5. — P. 489—524.
2. Alvarez V.L., Roitsch C.A., Henriksen O. // Immunological Methods (I. Lefkovits and B. Pernis, eds.). — New-York: Academic Press, 1981. — Vol. 2. — P. 83—103.
3. Ayrton J., Plumb R., Leavens W.J. et al. // Rapid. Commun. Mass. Spectrom. — 1998. — Vol. 12, № 5. — P. 217—224.
4. Bedu-Addo F.K., Johnson C., Jeyarajah S. et al. // Pharm. Res. — 2004. — Vol. 21, № 8. — P. 1353—1361.
5. Byrnes M.E. // Methods Mol Biol. — 1994. — Vol. 36. — P. 37—52.
6. Dudkiewicz-Wilezynska J., Snyderski A., Tautt J. // Acta Pol Pharm. — 2002. — Vol. 59, № 2. — P. 83—86.
7. Farid N.A., Atkins L.M., Becker G.W. et al. // J. Pharm. Biomed. Anal. — 1989. — Vol. 7, № 2. — P. 185—188.
8. Fausnaugh J.L., Pfannkoch E., Gupta S. et al. // Anal. Biochem. — 1984. — Vol. 137. — P. 464—472.
9. Gooding D.L., Schmuck M.N., Gooding K.M. // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 296. — P. 107—114.
10. Gorbunoff M.J., Timasheff S.N. // Anal. Biochem. — 1984. — Vol. 136. — P. 440—445.
11. Gupta S., Pfannkoch E., Regnier F.E. // Ibid. — 1983. — Vol. 128. — P. 196—201.
12. Hagiwara J., Yamaguchi Y., Kunitomo M. // Ibid. — 1995. — Vol. 232, № 2. — P. 163—171.
13. Ihle J.N., Keller J., Henderson L. et al. // J. Immunol. — 1982. — Vol. 129. — P. 2431—2436.
14. Juarez-Salinas H., Engelhorn S.C., Bigbee W.L. et al. // BioTechniques. — 1984, May—June. — P. 164—169.
15. Kato Y., Kitamura T., Hashimoto T. // J. Chromatogr. — 1983. — Vol. 266. — P. 49—54.
16. Kinsler O., Molineux G., Treuheit M. et al. // Adv. Drug. Deliv. Rev. — 2002. — Vol. 54, № 4. — P. 477—485.
17. Kock A., Lunger T.A. // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 296. — P. 293—300.
18. Kopaciec W., Regnier F.E. // Anal. Biochem. — 1983. — Vol. 133. — P. 251—259.
19. Massolini G., De Lorenzi E., Lloyd D.K. et al. // J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl. — 1998. — Vol. 712, № 1—2. — P. 83—94.
20. Menge U., Kula M.R. // Enzyme Microb. Technol. — 1984. — Vol. 6. — P. 101—112.
21. Monch W., Dehnen W. // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 147. — P. 415—418.
22. Nikolic B., Imamovic B., Medanhodzic-Vuk S. et al. // Bosn J. Basic Med. Sci. — 2004. — Vol. 4, № 2. — P. 5—9.
23. Pearlman R., Nguyen T. // J. Pharm. Pharmacol. — 1992. — Vol. 44, Suppl 1. — P. 178—185.
24. Peterson G.L. // Methods in Enzymology (C.H.W. Hirs and Serge N. Timasheff, eds.). — New-York: Acad. Press. — 1983. — Vol. 91. — P. 91—119.
25. Pfannkoch E., Lu K.C., Regnier F.E. et al. // J. Chromatogr. Sci. — 1980. — Vol. 18. — P. 430—441.
26. Regnier F.E. // Methods in Enzymology (C.H.W. Hirs and Serge N. Timasheff, eds.). New-York: Acad. Press. — 1983. — Vol. 91. — P. 1, 137—190.
27. Regnier F.E., Noel R. // J. Chromatogr. Sci. — 1976. — Vol. 14. — P. 316—320.
28. Righetti P.G., Tudor G., Ek K. // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 220. — P. 115—194.
29. Rinderknecht E., O'Connor B.H., Rodriguez H. // J. Biol. Chem. — 1984. — Vol. 259. — P. 6790—6797.
30. Rubinstein M., Rubinstein S., Familietti P.C. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1979. — Vol. 76. — P. 640—644.
31. Stanley E.R., Guilbert L.J. // J. Immunol. Methods. — 1981. — Vol. 42. — P. 253—284.
32. Stein S., Udenfried S. // Anal. Biochem. — 1984. — Vol. 136. — P. 7—23.
33. Stern A.S., Pan Y.-C.E., Urdal D.L. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1984. — Vol. 81. — P. 871—875.
34. Streege M.A., Lagu A.L. // Electrophoresis. — 1997. — Vol. 18, № 12—13. — P. 2343—2352.

Адже при очищенні кислотолабільного γ -інтерферону на останньому етапі використовували зворотнофазову хроматографію з елюючою градієнтом діоксану (0,5 М розчин ацетату амонію, pH 7,0). Зразки зберігають активність тільки після видалення діоксану.

На рис. 1—3 наведені хроматограми білкових лікарських засобів у сумішах з використанням різних сучасних градієнтних систем.

Висновок

Встановлено, що для якісного та кількісного аналізу білкових лікарських засобів перспективним є використання методу ВЕРХ, тому цей метод необхідно

35. Symposium Abstracts / Int. Symp. HPLC Proteins, Peptides, Polynucleotides, 4th, Dec. 10–12, 1984, Baltimore.
36. TSK-Gel Bibliography/ Tokyo Soda Mfg. Co. // Biochemistry. — 1983.
37. Vuppugalla R., Agarwal V., Khan M.A. // Pharmazie. — 2003. — Vol. 58, № 11. — P. 793–795.
38. Weatherly G.T., Bouvier A., Lydiard D.D. et al. // J. Chromatogr. A. — 2002. — Vol. 952, № 1–2. — P. 99–110.
39. Yu W.L., Li P., Zhang R.B. // J. Chromatogr. Sci. — 1989. — Vol. 27, № 11. — P. 626–652.

Надійшла до редакції 15.11.2005.

H.C.Ясная, A.V.Мартынов, T.A.Костина, В.С.Кисличенко

ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ БЕЛКОВОЙ ПРИРОДЫ В ПИКОМОЛЬНЫХ КОЛИЧЕСТВАХ

Представлен обзор литературы по анализу пикомольных количеств белковых веществ с применением метода высокоеффективной жидкостной хроматографии. Приведены основные принципы разделения белков по размерам, зарядам и обратнофазовый метод с постепенной денатурацией, а также сравнительная таблица погрешностей для спектрофотометрической детекции белков при 180 и 205 нм. Показано, что наиболее адекватной и воспроизводимой является детекция белков по поглощению пептидной связи при 205 нм. Приведены наиболее воспроизводимые схемы и колонки для разделения белковых лекарственных препаратов, а также хроматограммы разделения смеси пептидных гормонов и инсулинов. Показано, что использование последовательности колонок для обратнофазовой хроматографии является наиболее приемлемым по чувствительности и наиболее современным методом для качественного и количественного анализа, а также для анализа примесей, что следует использовать при разработке АНД на белковые лекарственные средства.

N.S.Yasnaya, A.V.Martynov, T.A.Kostina, V.S.Kislchenko

HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY OF THE PROTEIN NATURE MEDICINAL DRUGS IN PICOMOLAR AMOUNT

SUMMARY

In the article presented the literature review about analysis of the protein's picomolar quantity with using the high — performance liquid chromatography method. Presented main principles of separate proteins on size, charge and reverse phase method with gradual denaturation. Comparative table of inaccuracy is brought for spectrophotometric detection of proteins under 180 and 205 nm. It is shown that most reproducible is protein detection with 205 nm. The most reproducible schemes and rows are presented for division protein medicinal preparation. Presented chromatograms of peptide hormone and insulin. It is shown that use of the sequences rows for reverse phase chromatography is the most acceptable on sensitivity, most modern HPLC method for qualitative, quantitative analysis and analysis of the admixtures in development of pharmakopea article for protein medicinal drugs.

УДК 582.998.16:615.89(09)

С.М.МАРЧИШИН, канд. фармац. наук, доц., О.Л.ДЕМИДЯК

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я.Горбачевського

ІСТОРІЯ ЗАСТОСУВАННЯ РОСЛИН РОДУ АРНІКА В НАРОДНІЙ ТА НАУКОВІЙ МЕДИЦИНІ

Ключові слова: арніка гірська, арніка листяна, народна медицина, гомеопатія, біологічно активні речовини, сесквітерпенові лактони, арніфолін, арніцин, культывування

Лікарські рослини є одним з основних джерел отримання лікувальних та профілактичних засобів у сучасній медицині. Препарати із сировини лікарських рослин добре переносяться людським організмом і здебільшого не викликають побічних ефектів.

Рослини роду Арніка (*Arnica L.*) відносяться до родини Айстрових або Складноцвітих (*Asteraceae, Compositae*). У світовій флорі рід Арніка нараховує 32 види рослин. Найпоширенішими з них є арніка гірська (*Arnica montana L.*),

яка є офіциальною рослиною, арніка уналашкінська (*A. unalaschcensis* Less.), а. сахалінська (*A. sachalinensis* A. Gray), а. Лессінга (*A. Lessingei* Green), а. альпійська (*A. alpina* Olip et Ladau), а. холодна (*A. frigida* L.), а. середня (*A. intermedia* Turcz.) [21].

Рослини роду Аrnіка найбільш поширені у Північній Америці, менше — в Євразії та Північній Африці. Арніка зустрічається у північній та південній Швеції, Швейцарії, Угорщині, на півночі Індії. Рослини добре розвиваються в Голландії, Бельгії, Франції, Іспанії та окремих районах Португалії. Арніка завезена до Англії, зустрічається у північній Італії, Росії (Західному Сибіру), Молдові, Білорусі. На території України арніка гірська росте у дикому стані в Карпатах, західних областях: Закарпатті, Львівській (Сколівський район), Івано-Франківській (Надвірнянський, Богородчанський, Рожнятівський райони), Чернівецькій, Правобережному Поліссі: Олеському районі Житомирської області [5, 6, 33].

Арніка гірська переважно пошиrena на висоті понад 500 м над рівнем моря. Вона росте на схилах гір, лісових та лугових полянах (полонинах), по чагарниках, іноді на заболочених місцях. Популяції арніки гірської можна побачити на галявинах хвойних, букових і сосново-березових лісів. У межах України рослина розповсюджена на всьому гірському пасмі. У субальпійському поясі вид трапляється вздовж верхньої межі смерекового лісу на прогалинах між заростями. Найбільша рясність спостерігається на післялісowych луках у середньогірській смузі (на висоті 600—1200 м.н.р.м.) як на полонинах, так і по долинах річок. На Прикарпатті місцезростання арніки гірської приурочене до рівнинних ділянок серед зрубів та хвойних і березових рідколіс. Досліджуваний вид зростає переважно на свіжих глинистих, глинисто-щебенистих кислих, а також піщаних і супіщаних ґрунтах. Арніка гірська вважається рослиною вологого клімату, вибагливою до ґрунтів: на бідних і сухих ґрунтах та на заболочених і кам'янистих місцях не росте. Віддає перевагу ґрунтам з кислотністю ґрунту 4,6—6,5 рН. Досить часто досліджуваний вид займає вологі, навіть сирі місця [5, 7, 18, 19, 29].

Арніка гірська — рослина дикоросла. У культуру вона вводиться важко, на відміну від двох інших видів — арніки Шаміссо (*A. chamissonis* Less.), названої в честь німецького поета і ботаніка А.Шаміссо [31], яка зустрічається на Далекому Сході, і арніки листяної (*A. foliosa* Nutt.), що походить зі степових районів Північної Америки [6, 9, 11, 15].

Арніка гірська — багаторічна трав'яниста рослина заввишки до 80 см, з бурим горизонтальним коротким кореневищем діаметром до 1 см. Від кореневища відходять численні нитковидні бурі корені. Стебло прямостояче, опушене короткими залозистими волосками. Прикореневі листки (один—два, рідше три) утворюють розетку. Розеткові листки сидячі, довгасто-ланцетні або довгасто-оберненояйцевидні, цілокраї, з 5—7 паралельними жилками, які виступають на нижньому боці листка. Стеблові листки сидячі, супротивні, еліптичні або ланцетні, верхівкові — ланцетні. Листки цільнокраї, зверху залозистоопушенні, знизу голі. Кошики верхівкові, поодинокі на верхівці стебла, діаметром 2—3 см, оранжево-жовті з одно- або двошаровою обгорткою із зелених волосистих листочків. Кошики розкриваються зі сходом сонця і близько полуздня закриваються. Квітко-ложе війчасте, волосисте. Крайові квітки оранжево-жовті, жіночі, несправжньоязичкові, внутрішні — трубчасті, двостатеві, п'ятизубчасті. Чашечка сформована у вигляді чубчика з тонких жорстких жовтуватих волосків, що залишаються на сім'янках. Плоди — борозенчасті темно-сірі опущені сім'янки 6—10 мм завдовжки з чубчиком із жорстких волосків, дозрівають у липні—серпні [17].

На відміну від арніки гірської у арніки листяної стебло заввишки до 70 см, листяне з численними квітковими кошиками діаметром 5—6 см, усі частини рослини опущені. Арніка Шаміссо — рослина заввишки 45—50 см з прямостоячим, простим або слаборозгалуженим волосистим стеблом, з численними

густо розміщеними листками. На кінцях стебел та гілок розміщені кошики діаметром 2—3 см. Листки супротивні, сидячі, довгасті, довгасто-ланцетні, цілокраї, на верхівці гострі [9].

У народній медицині здавна використовувалась арніка гірська. Перші відомості про цю рослину йдуть ще з Стародавньої Греції. Грецький філософ Діоскорід дав їй назву «*ptarnica*», що означає «трава, яка спричиняє чхання» [31]. Протягом століть назва зазнавала змін і в сучасній науці маємо назву рослини «арніка».

В Україні народ називав арніку баранячою травою через наявність волосків на квітках [7]. Висушене суцвіття нагадує баранячу вовну (баран, ягня, з грецької — «*agnos*»). Звідси походить назва — «трава бараняча» [2, 3, 31]. Відомі й інші назви арніки — ангельське зілля, баранка, скусівник гірський, чарник, купальник гірський. «Ангельським зіллям» рослину називають через її лікувальні властивості [32]. Арніку гірську називають також «купальник гірський», оскільки вона цвіте на Івана Купала [28].

У Північній Америці арніка має назву «гірський тютюн» [33], у Німеччині — «трава падіння», а також «та, що дарує здоров'я», бо в давні часи помітили, що рослина допомагає при ударах і лікує рані, що не загоюються протягом тривалого часу [25, 31].

Видова назва рослини походить від латинського слова «*montanus*» — гірський. Англійська назва арніки гірської звучить як «леопардова смерть» (*leopard's bane* — леопардова отрута) [19].

У Середньовіччі арніку описала Свята Хильдегарда (1098—1179), абатиса з Руперсберга поблизу Бінгена. Вона використовувала рослину при пораненнях і ударах. В епоху Відродження італієць Маттіоле (1500—1577 рр.) — ботанік та лікар королів Карла V і Фердінанда I, вперше науково описав арніку у своїй книзі «*Krauterbuch*», де назвав її «напій ангелів», використовуючи рослину для лікування забитих місць. Маркіза де Совіньє — автор «Листів до своєї доночі», також вказувала на використання «води для забитих місць», до складу якої разом з буквицею і молочаєм входила арніка [6].

За іншими літературними джерелами [23], сучасна назва арніки з'явилась у 1625 р. У переробленому Каспаром Баухіном виданні травника лейбмедика Табернемонтаніса на красивій гравюрі зображена арніка гірська під назвою *Caltha alpina* і названа *Medicina Arnica*. У травниках XVI і XVII ст. ця рослина записана під назвою *Nardus caltica altera* і *Doronicum* [23].

У Середньовіччі арніку наділяли магічними властивостями, вважали, що вона може прогнати погану погоду (звідси одна з назв — «грозова квітка»). Із назвою пов'язано багато народних вірувань у Тюрінгії, Богемії, Франції. Ще з XIX ст. в Австрії зберігся звичай вирощувати арніку в полі, щоб захищати врожай від шкідників, а також від маткових ріжків [28].

Відомості про використання арніки в Європі відносяться до початку XVIII ст. Її називали *Panacea lapsorium* (у перекладі з латини — «трава падіння») і пов'язували з прізвищем доктора медицини Феча. Європейські лікарі використовували арніку як антисептичний і тонізуючий засіб при лихоманці та септицемії.

Найбільше відомостей про лікувальне використання арніки гірської зустрічається у працях німецьких вчених [18]. Так, А.Галлер вважав, що препарати арніки сприяють розсмоктуванню крові. А.Гуфеланд рекомендував рослину «при загальній слабкості внаслідок фізичного і нервового перенапруження, а також як серцеві ліки при паралічах і епілепсії» [16]. Німецький гідротерапевт С.Кнейп використовував арніку гірську як знеболювальний засіб при пораненнях та ударах. Австрійський доктор медицини Колін вважав, що використання арніки в медичній практиці при епідеміях зберегло життя сотень пацієнтів у період з 1771 по 1774 роки [30].

З давніх-давен з лікувальною метою використовували настої і відвари з квітів та коренів арніки гірської і в Україні. Горілчаний настій з квітів та коренів ефективно допомагав при ударах. Арніка гірська широко використовувалась у народній медицині при проносах, захворюванні нервової системи, безсонні, крововиливах, задавненому кашлі, ларингіті, матковій кровотечі, виразці шлунка, ендокардіті та міокардіті, як потогінний засіб, при ударах, судомах, епілепсії та лихоманці [3, 20]. Арніку гірську використовують при лікуванні захворювань щитовидної залози [27].

У великих дозах препарати арніки діють заспокійливо, понижують артеріальний тиск і поліпшують живлення серцевого м'яза, а в малих — проявляють тонізуючі властивості. Препарати арніки усувають закрепи, зумовлені атонією товстої кишki, стимулюють діяльність нервової системи [8].

Настій з рослини використовують при ударах, подряпинах, гематомах, при різноманітних гнійних захворюваннях шкіри (фурункулах, карбункулах, абсцесах), трофічних виразках, при опіках I—II ступеня та свіжих обмороженнях [8, 20]. Настій також використовують для швидкого розсмоктування гематом при струсі мозку та крововиливах у мозок, відновлення функціонального стану центральної нервової системи, при крововиливах у сітківку ока, болях у м'язах після перенапруження, гострих інфекціях, які супроводжуються діапедезними крововиливами (висипний тиф, грип та ін.), геморагічних васкулітах, люмбаго, артритах, ревматизмі [27, 34].

У Болгарії препарати арніки застосовуються для стимулювання центральної нервової системи та як жарознижувальний засіб [4]. У Чехії та Словаччині арніка — ефективний засіб для лікування захворювань системи органів дихання і травлення. У німецькій народній медицині рослину використовують для «укріplення мозку і лікування гіпертрофії серця» [31].

У стоматологічній практиці арніку гірську використовують як крововідновлювальний, протизапальний, протимікробний, знеболювальний та епітелізуючий засіб. Полоскання ротової порожнини і глотки настоянкою арніки призначають при захворюваннях горла (ангінах, тонзилітах, фарингітах, а також при гінгівітах, пародонтозах, стоматитах, зубному болю), невралгії трійчастого нерва [10].

Арніку широко використовують і в косметології. Її екстракт входить до складу засобів для догляду за жирною шкірою обличчя та шкірою, яка схильна до вугрів. Використовують арніку у засобах проти лупи і випаданні волосся. З арніки роблять аплікації на шкіру голови для стимулювання росту волосся. Вона входить до складу гелів для лікування ран, забитих місць та до складу засобів, що знімають набряки і справляють знеболювальну дію [31]. Зазначену рослину використовують у фітотерапії ожиріння, лікуванні та профілактиці целюліту.

Арніка гірська вважається одним з найважливіших ранозагоювальних засобів у гомеопатії. Із сухих коренів рослини виготовляють препарат «Arnica», із свіжих квітучих рослин — «Arnica extērn». Гомеопатичну мазь з рослини застосовують при лікуванні захворювань вен, крововиливів, розтягнень і ударів. Арніка використовується в гомеопатії при лікуванні ревматизму і подагри, для нормалізації серцевої діяльності та кровообігу, особливо при старечій недостатності, атеросклерозі, а також при стенокардії. Препарати з арніки вживають для відновлення сил після важких інфекційних захворювань, при епілепсії, морській хворобі, проти лихоманки, при лікуванні гострих респіраторних захворювань [28].

Гомеопатичний препарат арніки гірської використовується для лікування флегмони щелепно-лицьової ділянки, при гострих запальних процесах різної локалізації, гнійних ранах, їх ускладненнях, а також при станах імунного дисбалансу будь-якої етіології [1, 24].

Лікувальні властивості арніки зумовлені наявністю відповідних біологично активних речовин: сесквітерпенових лактонів, геленаліну, арніфоліну, фла-

воноїдів, ефірної олії, арніцину, фарадіолу, каротиноїдів, дубильних речовин, інуліну, холіну, слизу, органічних (молочної, яблучної, фумарової) та аскорбінової кислоти [8, 14, 22]. Найактивніша терапевтична роль належить фарадіолу, який має місцеву подразнювальну дію і сприяє розсмоктуванню крововиливів [20]. Ефірна олія і смоли збільшують секрецію жовчі і зменшують концентрацію жовчних кислот та білірубіну, тому препарати арніки застосовують при жовчнокам'яній хворобі, холангітах, гепатитах, холециститах та інших захворюваннях печінки та при нічному мимовільному сечовиділенні [7, 11].

Арніцин збільшує амплітуду серцевих скорочень, розширяє коронарні судини, поліпшує трофіку серцевих м'язів, проявляє гемостатичний ефект при діапедезних кровотечах, тому препарати з коренів арніки застосовують при атеросклеротичному кардіосклерозі, серцевих ангіоспазмах, міокардітах [20].

Позитивний вплив арніки на серцево-судинну систему використовував у своїй практиці німецький лікар Стрінадел, який вважав, що: «Лікар, який зумів простежити терапевтичний ефект арніки, ніколи не викреслить її зі свого лікувального арсеналу» [25].

Арніка діє як матковий засіб, сприяє скороченню м'язів матки. Цей ефект пов'язаний з наявністю в рослині сесквітерпенового лактону — арніфоліну. В акушерській та гінекологічній практиці настій арніки використовують при слабкій скорочувальній здатності матки у післяпологовий період, надмірних менструаціях і кровотечах, пов'язаних з ендокринними та запальними захворюваннями статевих органів у жінок (метритах, ендометритах, ерозіях шийки матки), після абортів, викиднів, при порушенні овуляційно-менструального циклу в дітородному віці та клімактеричному періоді, а також при кровотечах у хворих з фіброміомою матки [26, 27, 32]. Наявність в арніці сесквітерпенових лактонів дає можливість використовувати її у фітотерапії раку, а проціанідів — при лікуванні захворювань серця [34].

Одна з основних діючих речовин арніки — геленалін, а також його похідні мають виражені протизапальні властивості [32], тому його використовують при лікуванні подагри. Препарати арніки рекомендують при болях у суглобах і м'язах, при вивидах і переломах кісток, при лікуванні артритів та артрозів.

Сьогодні достатньою мірою вивчений хімічний склад арніки гірської. Даних про хімічний, фармакогностичний та фармакологічний аналізи арніки листяної та арніки Шаміссо недостатньо. З листків та квіток арніки листяної виділені сесквітерпенові лактони — арніфолін та карабон. У квіткових кошиках є полісахариди, моносахариди, склад яких представлений D-глюкозою, D-ксилозою і глюкуроновою кислотою. У квітках міститься значна кількість фенольних сполук, у т.ч. кверцетину, лютеоліну, кемпферолу, лютеолін-глікозиду, і ефірна олія. У квітках арніки Шаміссо є невелика кількість ефірної олії, а також такі біологічно активні речовини, як арніцин, цинарин — тридепсид кавової та хінної кислот, дубильні речовини, органічні кислоти, поліацетилени [9, 11, 13, 14].

Висновок

Огляд літературних джерел свідчить про те, що в народній і науковій медицині та гомеопатії, в основному, використовують арніку гірську. Запаси цього дикорослого виду з кожним роком зменшуються, рослина занесена до «Червоної книги України», потреби ж у такій цінній лікарській рослинній сировині невпинно зростають. У зв'язку з цим виникла необхідність введення арніки гірської в культуру. Дослідження, проведені протягом двадцяти років на Західному Поділлі, показали, що цей вид важко вводиться в культуру. Паралельно проводились роботи з вирощування в культурі арніки листяної. Експериментально доведено, що цей вид успішно культивується на території Західного Поділля (розмножується вегетативним (кореневищем і стебловими живцями) та насіневим шляхом, розсадою) [12, 13].

1. Апімажитова І.Г. Використання гомеопатичного препарату арніка гірська у комплексному лікуванні хворих на флегмони щелепно-лицьової області: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — Полтава, 1993. — 16 с.
2. Блинова К.Ф., Борисова Н.А., Гортинский Г.Б. и др. Ботанико-фармакогностический словарь: Справ. пособие / Под.ред. К.Ф.Блинова, Г.П.Яковлева. — М.: Высшая шк., 1990. — С. 166—167.
3. Болтарович З.Є. Народне лікування українців Карпат кінця XIX — початку ХХ століття. — К.: Наук. думка, 1980. — С. 41.
4. Йорданов Д., Николов П., Бойчинов Асп. Фитотерапия. Лечение лекарственными травами. — София: Медицина и физкультура, 1972. — С. 106—107.
5. Кобів Ю.Й. // Укр. ботан. журн. — 1992. — Вип. 49, № 3. — С. 46—51.
6. Корсун В.Ф., Ройзман С.А., Чуйто Т.В. Фитотерапия кардио-васкулярных заболеваний. — М., 2003. — С. 48—49.
7. Корсун В. Целебный огород. — М.: ОНИКС 21 век. Новая Волна, 2000. — С. 134—136.
8. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А.М.Гродзінський. — К.: Голов. ред. УРЕ, 1990. — С. 52—53.
9. Ловкова М.Я., Рабинович С.М., Пономарева С.М. и др. Почему растения лечат. — М.: Наука, 1990. — С. 164—166.
10. Марченко А.И., Баранюк А.И., Левицкая Е.В. и др. Лекарственные растения в стоматологии. — Кишинев: Штиинца, 1989. — С. 55, 42—43.
11. Марчишин С.М. Способы выделения фенольных соединений арники горной и арники облистенной, их фармакодинамика и эффективность при поражении печени: Автореф. дис. ... канд. фармац. наук. — М., 1983. — 16 с.
12. Марчишин С.М. // IX з'їзд Українського ботанічного товариства: Тези доп. — К.: Наук. думка, 1992. — С. 216—217.
13. Марчишин С.М. // Українська думка: минуле, сучасне, майбутнє: Щорічник. — Тернопіль, 1997. — С. 178—181.
14. Марчишин С.М., Комисаренко Н.Ф. // Химия природ. соединений. — 1981. — № 5. — С. 662.
15. Мацку Я., Креича И. Атлас лекарственных растений. — Братислава: Изд-во Словацкой акад. наук, 1972. — 376 с.
16. Попова Т.Д. Очерки о гомеопатии: Зап. врача-гомеопата. — К.: Наук. думка, 1988. — С. 123—127.
17. Правила сбора и сушки лекарственных растений (сб. инструкций) / Под ред. А.И.Шретера, А.П.Исакина. — М.: Медицина, 1985. — С. 17—19.
18. Рабинович А.М. Лекарственные растения на приусадебном участке. — М.: Росагропромиздат, 1989. — С. 20—22.
19. Соколов С.Я., Замотаев И.И. Справочник по лекарственным растениям (Фитотерапия). — 2-е изд., стереотип. — М.: Медицина, 1988. — С. 219—220.
20. Товстуха Є.С. Фітотерапія. — К.: Здоров'я, 1991. — С. 31—32.
21. Флора СССР. — 1961. — Т. 26. — С. 655—657.
22. Яковлева Э.В., Костеникова З.П., Лавандовский Г.С. // Фармация. — 2001. — № 1. — С. 41—44.
23. Faber K. // Die Pharamsie. — 1953. — № 3. — S. 286—298.
24. Puhmann J., Zenk M. N., Wagner H. // Phytochemistry. — 1991. — № 30:4. — P. 1141—1145.
25. Stirnadel M. // Die medizinische Welt. — 1936. — № 10. — S. 767.
26. <http://apitherapy2005.narod.ru/NTMLS>
27. <http://arnica.com.ru/article/7.htm/>
28. [http://fito.tut.by/beltrosf/arnica_montana.shtml/](http://fito.tut.by/beltrosf/arnica_montana.shtml)
29. <http://home.onego.ru/otsoppe/enciclop/other/arnica/htm/>
30. <http://ollo.norma.ru/>
31. <http://urology.com.ua/encyclopedia.thml>
32. <http://www.amritaclub.com/biblio/fito/html>
33. <http://www.aroma.od.ua/aroma/1/157>
34. <http://www.hospitall.ru/arnica.php>

Надійшла до редакції 01.12.2005.

С.М. Марчишин, О.Л. Демидяк

ИСТОРИЯ ПРИМЕНЕНИЯ РАСТЕНИЙ РОДА АРНИКА В НАРОДНОЙ И НАУЧНОЙ МЕДИЦИНЕ

Ключевые слова: арника горная, арника лиственная, народная медицина, гомеопатия, биологически активные вещества, сесквитерпеновые лактоны, арнифолин, арницин, культивирование

Род Арника в мировой флоре насчитывает 32 вида растений. Одним из наиболее распространенных видов является арника горная (*Arnica montana L.*), которую издавна использовали в народной медицине и гомеопатии при поносах, заболеваниях нервной системы, бессоннице, кровоизлияниях, запущенном кашле, ларингите, маточном кровотечении, язве желудка, эндокардите и миокардите, как потогонное средство, при ушибах, судорогах, эпилепсии и лихорадке.

За последние десятилетия в Украине введен в культуру североамериканский вид — арника лиственная (*A. foliosa* Nutt.), которая по химическому составу и фармакологическим свойствам аналогична арнике горной.

S.M. Marchyshyn, O.L. Demydyak

HISTORY OF APPLICATION OF THE ARNYKA FAMILY PLANTS IN FOLK AND SCIENTIFIC MEDICINE

Key words: Arnyca montana, Arnyca foliosa, folk medicine, homoeopathy, biologically active substances, seskyterpenic laktones, arnyfoline, arnytsine, cultivation

SUMMARY

In a world flora the Arnyka Family consists of 32 types of plants. One of the most widespread plants is *Arnica montana* L., that was used in folk medicine and homoeopathy for a very long time at diarrhoeas, nervous diseases, insomnia, bleedings, cough, laryngitis, uterine bleeding, gastric ulcer, endocarditis and myocarditis, as sudorific mean, at injuries, cramps, epilepsy and fever.

For the last decades in Ukraine a north-american type of *Arnica foliosa* Nutt was presented. By chemical composition and pharmacological properties it is similar to *Arnica montana*.

ОРИГІНАЛЬНІ СТАТТІ

УДК 616.831-005.4-08.039.71:615.27

**Д.Я. ГАВРИЛЮК, аспірант, Р.Б. ЛЕСИК, д-р фармац. наук, проф.,
Б.С. ЗІМЕНКОВСЬКИЙ, д-р фармац. наук, проф.,
В.Ю. ПАЧОВСЬКИЙ, д-р фармації***

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького,
Люблінська медична академія ім. Фелікса Скубішевського, Польща

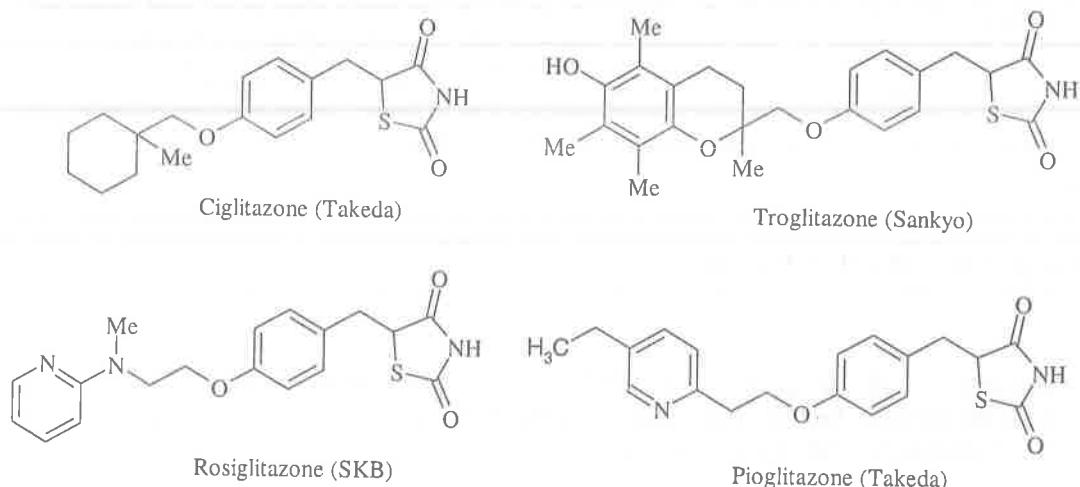
СИНТЕЗ ТА ВИВЧЕННЯ ПРОТИРАКОВОЇ АКТИВНОСТІ 4-(2,4-ТІАЗОЛІДИНДІОН-5-АЦЕТОКСИ)БЕНЗИЛІДЕНГІДРАЗОНІВ БЕНЗАЗОЛ-2-ТІОАЦЕТАТИХ КИСЛОТ

Ключові слова: синтез, тіазолідиндіони, PPAR γ -агоністи, протиракова активність

PPAR γ -рецептори належать до сімейства нуклеарних рецепторів, що діють як фактор транскрипції в різних клітинах. Розрізняють дві ізоформи PPAR γ -рецепторів — PPAR γ 1 та PPAR γ 2. Варто зауважити, що PPAR γ 1 містяться тільки в адipoцитах, тоді як PPAR γ 2 зустрічаються, крім адipoцитів, в інших тканинах. PPAR γ відіграють критичну роль в адипогенезі, метаболізмі глюкози, запальних станах, а також діють як важливі клітинні регулятори затримування росту чи спонукання диференціації та апоптозу звичайних та ракових клітин. Такий широкий спектр активностей виникає внаслідок клітинної специфічності до PPAR γ функції та будови лігандів. Так, ліганд-зв'язуючий домен PPAR γ -рецепторів є досить різностороннім і взаємодіє з багатьма групами речовин, зокрема тіазолідиндіонами, модифікованими похідними тирозину та лейцину, метabolітами арахідонової кислоти (PGJ2), поліненасиченими жирними кислотами та їх продуктами оксидациї та певними алкілфосфоліпідами [12].

*Висловлюємо щиру подяку д-ру В.Л. Нараянану (Dr. V.L.Narayanan, Drug Synthesis and Chemistry, National Cancer Institute, Bethesda, MD, USA) за проведене *in vitro* тестування протиракової активності синтезованих сполук.

Особливий інтерес як PPAR γ -агоністи викликають лікарські засоби, похідні 2,4-тіазолідиндіонів — циглітазон, троглітазон, розиглітазон, піоглітазон (рис.), які, активуючи PPAR γ -рецептори, сприяють їх асоціації з 9-цис-ретиноїд-Х-рецептором (RXR) з утворенням функціонального гетеродимеру, що розпізнає споріднені елементи на рівні цільових генів, або індукуванню переривання клітинного циклу через пригнічення транскрипційної активності комплексу E2F/DP. Тіазолідиндіони індукують диференціацію PPAR γ -вмісних преадипоцитів та клітин первинної ліпосаркоми людини, а також інгібують ріст ряду ракових клітинних ліній, зокрема легень, молочної залози, товстого кишківника, простати, гемopoетичних клітин, тощо в дослідах *in vitro*, а також на моделях раку тварин [7, 11, 13].



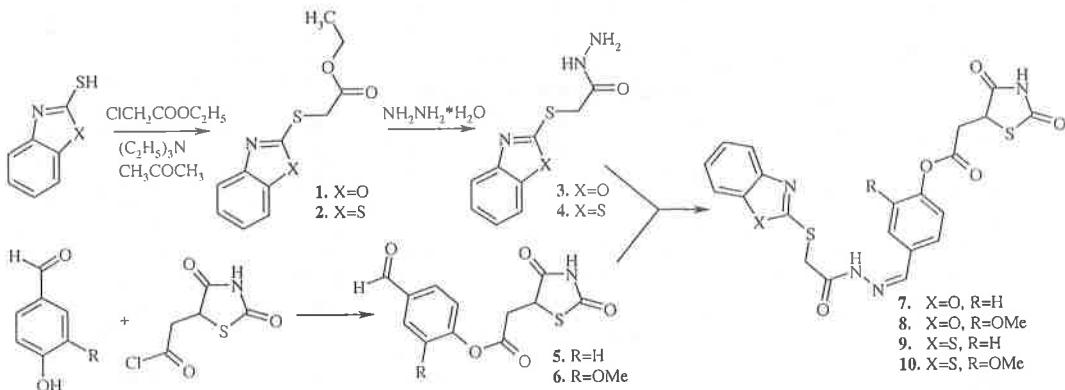
Похідні 2,4-тіазолідиндіонів, впроваджені в медичну практику

Метою даної роботи є пошук нових похідних 2,4-тіазолідиндіону як потенційних PPAR γ -агоністів та вивчення їх протиракової активності.

Результати дослідження та їх обговорення

Відомо, що PPAR γ -агоністи на основі 2,4-тіазолідиндіонів, які впроваджені в медичну практику або знаходяться на різних стадіях клінічних та доклінічних досліджень, вміщують у положенні 5 тіазолідинового циклу різноманітні складні ансамблі аліфатичних, ароматичних та гетероцикліческих замісників. На нашу думку, одним з напрямків успішного розвитку тематики таких сполук є синтез 4-(2,4-тіазолідин-5-ацетокси)бензиліденгідразонів бензазол-2-тіоацетатних кислот, структура яких відповідає вимогам до потенційних лігандів PPAR-рецепторів. Вихідними речовинами були 2-меркаптобензтіазол (каптакс) і 2-меркаптобензоксазол, алкілюванням яких етилхлорацетатом одержано етилові естри бензазол-2-тіоацетатних кислот (1, 2) як проміжні сполуки для синтезу в реакції гідразинолізу гідразидів (3, 4) [10]. Іншим структурним фрагментом для моделювання потенційних агоністів PPAR γ -рецепторів ми обрали 4-(2,4-тіазолідин-5-ацетокси)-бензальдегіди (5, 6), одержані взаємодією хлорангідриду 2,4-тіазолідин-5-оцтової кислоти з *n*-оксибензальдегідом та ваніліном в умовах модифікованої реакції Шоттена—Баумана [3]. Необхідні альдегіди утворюються із задовільними виходами і є перспективними реагентами для дизайну структури потенційних біологічно активних 2,4-тіазолідиндіонів. При взаємодії наведених вище гідразидів бензазол-2-тіоацетатних кислот та оксизаміщених бензальдегідів одержано ряд нових неконденсованих гетероцикліческих систем з тіазолідиновим та бензольними фрагментами (7–10).

Структура синтезованих сполук 7—10 підтверджена методом спектроскопії ПМР. Так, для зазначених похідних характеристичними є дублет дублетів при ~3,30 м.ч. і ~3,45 м.ч. та мультиплет при ~4,75 м.ч. групи CH_2CH , синглет протонів групи SCH_2 при 4,60 м.ч., однопротонний синглет метиліденової групи при ~8,10 м.ч. Ароматичні протони характерні класичним розщепленням сигналів у ділянці 7,00—8,00 м.ч.



Вивчення протиракової активності синтезованих сполук проводилось у Національному Інституті Раку США (NCI – National Cancer Institute, Bethesda, Maryland, USA) у рамках договору між Львівським національним медичним університетом ім. Данила Галицького і зазначененою установою від 05.09.2003 р.

Сполуки 8–10 були відібрані для ґрунтовного *in vitro* скринінгу, який полягав у тестуванні сполук у мінімум п'яти концентраціях при 10-кратному розведенні на 53–57 лініях людських ракових клітин, у т.ч. лейкемії (CCRF-CEM, HL-60(TB), K-562, MOLT-4, RPMI-8226), недрібноклітинного раку легень (A549/ATCC, EKVX, HOP-62, HOP-92, NCI-H226, NCI-H23, NCI-H322M, NCI-H460, NCI-H522), епітеліального раку (COLO 205, HCT-116, HCT-15, HT29, KM12, SW-620), раку ЦНС (SF-268, SF-295, SF-539, SNB-19, SNB-75, U251), меланоми (LOX IMVI, MALME-3M, M14, SK-MEL-2, SK-MEL-28, SK-MEL-5, UACC-257, UACC-62), раку яєчників (IGROV-1, OVCAR-3, OVCAR-4, OVCAR-5, SK-OV-3), нирок (786-0, A498, ACHN, CAKI-1, RXF-393, SN12C, TK-10, UO-31), простати (PC-3) та молочної залози (MCF-7, NCI/ADR-RES, MDA-MB-231/ATCC, HS 578T, MDA-MB-435, BT-549, T-47D) [4, 5, 9]. У результаті експерименту одержано три дозозалежні параметри:

GI₅₀ — концентрація, яка викликає пригнічення росту 50 % клітин лінії; TGI — концентрація сполуки, що створює повне пригнічення росту;

LC_{50} — концентрація речовини, що дає 50 % зменшення забарвлення сульфіт-фородаміну Б після експозиції речовиною відносно початкового стану.

Якщо логарифмічні значення параметрів ($\lg GI_{50}$, $\lg TGI$ та $\lg LC_{50}$) становлять менше — 4,00, сполуки трактуються як активні. При аналізі результатів ґрутовного *in vitro* скринінгу тестовані сполуки, в основному, проявляли помітний цитотоксичний ефект на всій лінії клітин без яскравої вираженості специфічності дії на окремі види раку (табл.).

При аналізі результатів поглибленого *in vitro* скринінгу слід відмітити цитотоксичну дію сполук на лініях лейкемії, особливо сполуки 8, причому для ліній HL-60 (TB), K-562 та MOLT-4 характерні найефективніші показники IgGI₅₀ та IgTGI ($-4,77$, $-4,46$, $-4,73$, $-4,40$ та $-4,75$, $-4,43$ відповідно) порівняно з іншими групами ракових клітин. Достатньо помітною була активність сполук 8—10 на лінії MDA-MB-231/ATCC раку молочної залози, SF-268 раку ЦНС та LOX IMVI раку меланоми, а також варти уваги показники IgGI₅₀ та IgTGI сполуки 8 для лінії PC-3 раку простати ($-4,72$, $-4,26$). Загалом варто відзна-

Результатами поглибленого in vitro скринінгу сполук 8 — 10

Лінії рапових клітин	Сполука 8				Сполука 9				Сполука 10			
	Ig GI ₅₀	Ig TGI	Ig LC ₅₀	Ig GI ₅₀	Ig TGI	Ig LC ₅₀	Ig GI ₅₀	Ig TGI	Ig LC ₅₀	Ig GI ₅₀	Ig TGI	Ig LC ₅₀
Лейкемія												
CCRF-CEM	-4,72	-4,02	> -4,00	-4,42	> -4,00	> -4,00	-4,46	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
HL-60 (TB)	-4,77	-4,46	-4,16	-4,63	-4,08	> -4,00	-4,45	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
K-562	-4,73	-4,40	-4,07	-4,74	> -4,00	> -4,00	-4,51	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
MOLT-4	-4,75	-4,43	-4,10	-4,52	> -4,00	> -4,00	-4,42	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
RPMI-8226	-4,69	-4,17	> -4,00	-4,43	> -4,00	> -4,00	-4,34	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
Недрівно-клітинний рак легень												
EKX	-4,48	> -4,00	> -4,00	-4,48	> -4,00	> -4,00	-4,36	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
HOP-62	-4,54	> -4,00	> -4,00	-4,42	> -4,00	> -4,00	-4,34	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
HOP-92	-4,69	> -4,00	> -4,00	-4,35	> -4,00	> -4,00	-4,37	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
NCI-H226	> -4,00	> -4,00	> -4,00	-4,33	> -4,00	> -4,00	-4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
NCI-H23	-4,67	-4,17	> -4,00	-4,34	> -4,00	> -4,00	-4,24	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
NCI-H322M	-4,13	> -4,00	> -4,00	-4,42	> -4,00	> -4,00	-4,44	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
NCI-H460	-4,13	> -4,00	> -4,00	-4,44	> -4,00	> -4,00	-4,58	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
NCI-H522	-4,44	> -4,00	> -4,00	-4,61	> -4,00	> -4,00	-4,58	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
Епітеліальний рак												
COLO 205	-4,06	> -4,00	> -4,00	-4,20	> -4,00	> -4,00	-4,31	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
HCT-116	-4,50	> -4,00	> -4,00	-4,40	> -4,00	> -4,00	-4,14	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
HCT-15	> -4,00	> -4,00	> -4,00	-4,34	> -4,00	> -4,00	-4,52	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
HT 29	-4,43	> -4,00	> -4,00	-4,28	> -4,00	> -4,00	-4,03	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
KM-12	-4,29	> -4,00	> -4,00	-4,44	> -4,00	> -4,00	-4,43	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
SW 620	-4,14	> -4,00	> -4,00	-4,05	> -4,00	> -4,00	-4,50	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
Рак ЦНС												
SF-268	-4,24	> -4,00	> -4,00	-4,64	> -4,00	> -4,00	-4,85	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
SF-295	> -4,00	> -4,00	> -4,00	-4,27	> -4,00	> -4,00	-4,07	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
SF-539	-4,24	> -4,00	> -4,00	-4,08	> -4,00	> -4,00	-4,43	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
SNB-75	-4,69	-4,05	> -4,00	-4,37	> -4,00	> -4,00	-4,50	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
U251	-4,01	> -4,00	> -4,00	-4,35	> -4,00	> -4,00	-4,50	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
Меланома												
LOX IMVI	-4,41	> -4,00	> -4,00	-4,64	> -4,00	> -4,00	-4,72	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
M14	-4,45	> -4,00	> -4,00	-4,48	> -4,00	> -4,00	-4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
SK-MEL-28	-4,23	> -4,00	> -4,00	-4,18	> -4,00	> -4,00	-4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
SK-MEL-5	-4,57	> -4,00	> -4,00	-4,36	> -4,00	> -4,00	-4,16	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
UACC-62	-4,15	> -4,00	> -4,00	-4,68	> -4,00	> -4,00	-4,57	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
Рак яєчників												
IGROV1	-4,55	> -4,00	> -4,00	-4,58	> -4,00	> -4,00	-4,73	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
OVCAR-3	-4,07	> -4,00	> -4,00	-4,40	> -4,00	> -4,00	-4,38	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
OVCAR-4	-4,44	> -4,00	> -4,00	-4,35	> -4,00	> -4,00	-4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
OVCAR-5	-4,69	-4,12	> -4,00	-4,24	> -4,00	> -4,00	-4,46	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
OVCAR-8	> -4,00	> -4,00	> -4,00	-4,18	> -4,00	> -4,00	-4,21	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
Рак нирок												
786-0	-4,24	> -4,00	> -4,00	-4,23	> -4,00	> -4,00	-4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
A498	-4,16	> -4,00	> -4,00	-4,27	> -4,00	> -4,00	-4,20	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
ACHN	> -4,00	> -4,00	> -4,00	-4,38	> -4,00	> -4,00	-4,57	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
CAKI-1	> -4,00	> -4,00	> -4,00	-4,50	> -4,00	> -4,00	-4,38	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
RXF 393	-4,14	> -4,00	> -4,00	-4,27	> -4,00	> -4,00	-4,06	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
SN12C	> -4,00	> -4,00	> -4,00	-4,23	> -4,00	> -4,00	-4,36	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
TK-10	-4,01	> -4,00	> -4,00	-4,36	> -4,00	> -4,00	-4,31	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
UO-31	-4,04	> -4,00	> -4,00	-4,45	> -4,00	> -4,00	-4,44	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
Рак простати												
PC-3	-4,72	-4,26	> -4,00	-4,37	> -4,00	> -4,00	-4,32	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
Рак молочної залози												
NCI/ADR-RES	-4,26	-4,16	> -4,00	-4,56	> -4,00	> -4,00	-4,92	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
MDA-MB-231/ATCC	-4,88	> -4,00	> -4,00	-4,75	> -4,00	> -4,00	-4,48	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
HS 578T	-4,15	> -4,00	> -4,00	-4,04	> -4,00	> -4,00	-4,44	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
MDA-MB-435	> -4,00	> -4,00	> -4,00	-4,50	> -4,00	> -4,00	-4,44	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
BT-549	-4,38	> -4,00	> -4,00	-4,27	> -4,00	> -4,00	-4,24	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00
T-47 D	> -4,00	> -4,00	> -4,00	-4,36	> -4,00	> -4,00	-4,45	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00	> -4,00

чили, що активність сполук спостерігалась на всіх тестованих лініях (частка «активних ліній» знаходиться в межах 73,2—94,6 %).

Експериментальна частина

Спектри ПМР знімались на приладі «Varian VXR-300», розчинник — DMSO-D₆, стандарт — тетраметилсилан. Дані елементного аналізу на вміст азоту і сірки відповідають вирахуваним ($\pm 0,3\%$).

Етилові естри 1, 2 та гідразиди бензазол-2-тіоацетатних кислот 3, 4 одержані за відомими методиками [10], 2,4-тіазолідиндіон-5-оцтовая кислота та її хлорангідрид синтезовані за методами, описаними нами раніше [1, 2].

Загальна методика синтезу 4-(2,4-тіазолідиндіон-5-ацетокси)бензальдегідів

До 0,0038 моль *n*-оксибензальдегіду або ваніліну в 2 мл піридину додають 0,0038 моль хлорангідриду 2,4-тіазолідиндіон-5-оцтової кислоти в 4 мл діоксану при перемішуванні. Реакційну суміш кип'ятять із зворотним холодильником протягом 2 год і нейтралізують розчином соляної кислоти до pH 2—3. Осад, що утворився, відфільтровують і перекристалізовують з бутанолу.

4-(2,4-Тіазолідиндіон-5-ацетокси)бензальдегід (5). Вихід — 72 %. Т.топл. — 157—158 °C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3,05dd (1H, CH₂, J_{AB} = 16,0 Гц, J_{AX} = 8,0 Гц, J_{BX} = 4,1 Гц), 3,16dd (1H, CH₂), 4,65m (1H, CH), 7,21d, 7,80d, (4H, 4-CHO-C₆H₄, J = 8,0 Гц), 9,80c (1H, CHO), 11,96c (1H, NH).

3-Метокси-4-(2,4-тіазолідиндіон-5-ацетокси)бензальдегід (6). Вихід — 78 %. Т.топл. — 154—155 °C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3,05dd (1H, CH₂, J_{AB} = 17,4 Гц, J_{AX} = 7,5 Гц, J_{BX} = 5,1 Гц), 3,15dd (1H, CH₂), 3,86 c (3H, OCH₃), 4,65m (1H, CH), 6,92d, 7,08d, 7,15c (3H, Ar), 9,50c (1H, CHO), 11,95c (1H, NH).

Загальна методика синтезу

4-(2,4-тіазолідиндіон-5-ацетокси)-бензиліденгідразонів бензазол-2-тіоацетатних кислот

У круглодонну колбу поміщають по 0,0039 моль відповідних гідразиду бензазол-2-тіоацетатної кислоти і 4-(2,4-тіазолідиндіон-5-ацетокси)бензальдегіду у 30 мл ізопропанолу. Реакційну суміш кип'ятять із зворотним холодильником протягом 1 години. Продукт реакції відфільтровують і перекристалізовують з оцтової кислоти.

4-(2,4-Тіазолідиндіон-5-ацетокси)бензиліденгідразон бензоксазол-2-тіоацетатної кислоти (7, X=O, R=H). Вихід — 88 %. Т.топл. — 177—179 °C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3,30dd (1H, CH₂, J_{AB} = 16,9 Гц, J_{AX} = 9,5 Гц, J_{BX} = 3,8 Гц), 3,45dd (1H, CH₂), 4,60c (2H, SCH₂), 4,75m (1H, CH), 7,20d, 7,75d (4H, C₆H₄, J = 8,2 Гц), 7,25m, 7,50m (4H, C₆H₄), 8,10c (1H, =CH), 11,70c (1H, NH), 12,05c (1H, NH).

3-Метокси-4-(2,4-тіазолідиндіон-5-ацетокси)бензиліденгідразон бензоксазол-2-тіоацетатної кислоти (8, X=O, R=OCH₃). Вихід — 95 %. Т.топл. — 202—204 °C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3,25dd (1H, CH₂, J_{AB} = 16,8 Гц, J_{AX} = 8,5 Гц, J_{BX} = 3,9 Гц), 3,40dd (1H, CH₂), 3,90c (3H, OCH₃), 4,60c (2H, SCH₂), 4,75m (1H, CH), 7,10d, 7,25d, 7,45c (3H, C₆H₃), 7,25m, 7,55m (4H, C₆H₄), 8,05c (1H, =CH), 11,70c (1H, NH), 12,00c (1H, NH).

4-(2,4-Тіазолідиндіон-5-ацетокси)бензиліденгідразон бензтіазол-2-тіоацетатної кислоти (9, X=S, R=H). Вихід — 86 %. Т.топл. — 169—171 °C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3,30dd (1H, CH₂, J_{AB} = 16,6 Гц, J_{AX} = 9,0 Гц, J_{BX} = 3,9 Гц), 3,40dd (1H, CH₂), 4,60c (2H, SCH₂), 4,75m (1H, CH), 7,15d, 7,70d (4H, C₆H₄, J = 8,0 Гц), 7,30t, 7,40t, 7,80d, 7,90d (4H, C₆H₄), 8,10c (1H, =CH), 11,65c (1H, NH), 12,05c (1H, NH).

3-Метокси-4-(2,4-тіазолідиндіон-5-ацетокси)бензиліденгідразон бензтіазол-2-тіоацетатної кислоти (10, X=S, R=OCH₃). Вихід — 83 %. Т.топл. — 172—174 °C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3,35dd (1H, CH₂, J_{AB} = 17,6 Гц, J_{AX} = 8,8 Гц, J_{BX} = 3,9 Гц),

3,40дд (1H, CH₂), 3,85с (3H, OCH₃), 4,65с (2H, SCH₂), 4,80м (1H, CH), 7,10д, 7,30д, 7,45с (3H, C₆H₃), 7,30т, 7,40т, 7,80д, 7,95д (4H, C₆H₄), 8,05с (1H, =CH), 11,70с (1H, NH), 12,00с (1H, NH).

Висновки

1. Одержано ряд нових 4-(2,4-тиазолідинон-5-ацетокси)бензиліденгідразонів бензокса(тиа)зол-2-тиоацетатних кислот, структура яких утворена ансамблем з аліфатичних, ароматичних та гетероцикліческих фрагментів і відповідає вимогам до потенційних лігандів PPAR γ -рецепторів.
2. На основі вивчення протиракової активності слід відмітити, що сполуки 8–10 проявляють помітну цитотоксичну активність на різноманітних лініях ракових клітин з незначною селективністю дії щодо лейкемії, меланоми, раку ЦНС, молочної залози та простати.

1. Лесик Р.Б., Зіменковський Б.С. // Фармац. журн. — 2002. — № 4. — С. 64–68.
2. Лесик Р.Б., Зіменковський Б.С., Голота С.М. та ін. // Там же. — 2001. — № 5. — С. 57–62.
3. Тимце Л., Айхер Т. Препартивная органическая химия. — М.: Мир, 1999. — С. 155–156.
4. Alley M.C., Scudiero D.A., Monks P.A. et al. // Cancer Research. — 1988. — Vol. 48. — P. 589–601.
5. Boyd M.R., Paull K.D. // Drug Development Research. — 1995. — Vol. 34. — P. 91–109.
6. Debril M.-B., Renaud J.-P., Fajas L. et al. // J. Mol. Med. — 2001. — Vol. 79. — P. 30–47.
7. Ferruzzi P., Ceni E., Tarocchi M. et al. // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. — 2005. — Vol. 3. — P. 1332–1339.
8. Gelman, L., Fruchart J.-C., Auwerx J. // Cell. Mol. Life Sci. — 1999. — Vol. 55. — P. 932–9381.
9. Grever M.R., Schechter S.A., Chabner B.A. // Seminars in Oncology. — 1992. — Vol. 19, № 6. — P. 622–638.
10. Imtiaz Husain M., Kumar Vinay // Indian J. Chem. B. — 1992. — Vol. 31, № 10. — P. 673–676 // РЖХим. — 1993. — 19Ж277.
11. Palakurti S., Aktas H., Grubissich L. et al. // Cancer Research. — 2001. — Vol. 61. — P. 6213–6218.
12. Lecka-Cernik B., Moerman E.J., Grant D.F. et al. // Endocrinology. — 2002. — Vol. 143(6). — P. 2376–2384.
13. Theocharis S., Margeli A., Kouraklis G. // Curr. Med. Chem.: Anti-Cancer Agents. — 2003. — Vol. 3. — P. 239–251.

Надійшла до редакції 16.01.2006.

Д.Я.Гаврилюк, Р.Б.Леськ, Б.С.Зіменковський, В.Ю.Пачовський

СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОРАКОВОЙ АКТИВНОСТИ 4-(2,4-ТИАЗОЛИДИНОН-5-АЦЕТОКСИ)БЕНЗИЛИДЕНГИДРАЗОНОВ БЕНЗАЗОЛ-2-ТИОАЦЕТАТНЫХ КИСЛОТ

Ключевые слова: синтез, тиазолидиндоны, PPAR γ -агонисты, противораковая активность

Синтезировано ряд новых 4-(2,4-тиазолидинон-5-ацетокси)бензилиденгидразонов бензазол-2-тиоацетатных кислот как потенциальных лигандов PPAR γ -рецепторов. В результате изучения противораковой активности в Национальном Институте Рака США установлено заметное противоопухолевое действие синтезированных соединений, особенно на линиях клеток лейкемии, меланомы, рака ЦНС, молочной железы и простаты.

D.Ya.Havrylyuk, R.B.Lesyk, B.S.Zimenkovsky, V.Yu.Pachovsky

SYNTHESIS AND ANTICANCER ACTIVITY STUDYING OF 4-(2,4-TIAZOLIDINEDIONE-5-ACETOXY)BENZYLIDENEHYDRAZONES OF BENZAZOL-2-THIOACETIC ACIDS

Key words: synthesis, thiazolidinediones, PPAR γ -agonists, anticancer activity

SUMMARY

New 4-(2,4-thiazolidinedione-5-acetoxy)benzylidenehydrazones of benzazol-2-thioacetic acids as potential PPAR γ -ligands were synthesized. As result of anticancer activity studying in National Cancer Institute (Bethesda, USA) significant anti-tumor effect of synthesized compounds, especially on leukemia, melanoma, CNS cancer, breast cancer and prostate was determined.

**T.В. КРУПСЬКА, аспірант, В.М. БАРВІНЧЕНКО, канд. хім. наук,
В.О. КАСПЕРСЬКИЙ, канд. хім. наук, В.В. ТУРОВ, д-р хім. наук, проф.,
О.О. ЧУЙКО, акад. НАН України, д-р хім. наук, проф.**

Інститут хімії поверхні НАН України

АДСОРБЦІЙНЕ ЗАКРІПЛЕННЯ ЛЕВОМІЦЕТИНУ НА ПОВЕРХНІ ВИСОКОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ

Ключові слова: левоміцетин, імпрегнування, сильно- і слабозв'язана вода

Одним з основних завдань практичної хірургії є боротьба з гнійними рановими інфекціями, які виникають внаслідок інвазії в них патогенної мікрофлори, що різко порушує процес заживлення, загрожує розвитком інфекційних ускладнень місцевого та загального характеру. Незважаючи на деякі успіхи в цій галузі, до цього часу залишається багато невирішених питань, пов'язаних з тенденцією росту алергічних і токсичних реакцій організму на існуючу препаратори [1, 12]. У більшості випадків лікування здійснюють за допомогою різних типів антибіотиків. В останні роки для лікування гнійних інфекцій в експериментальній медицині почали застосовувати нанодисперсні форми кремнезему, які є ентеросорбентами широкого спектра дії, мають виражену детоксикаційну здатність і можуть застосовуватись як носії лікарських препаратів [3, 4, 6–8]. У процесі клінічних випробувань було виявлено, що сам по собі високодисперсний кремнезем (ВДК) не тільки має виражену детоксикаційну дію, але і сприяє підвищенню біологічної активності ряду лікарських засобів [4]. Це дало підставу для розробки нових композиційних матеріалів на основі ВДК і адсорбційно закріплених на його поверхні (шляхом імпрегнації) antimікробних фізіологічно активних речовин, що слаборозчинні у воді і завдяки цьому здатні утримуватися на поверхні твердих частинок протягом певного проміжку часу навіть після занурення їх у водні системи.

Метою роботи було вивчення механізму зв'язування антибактеріального препарату — левоміцетину з поверхнею частинок ВДК, дослідження його десорбції у водні середовище та вимірювання параметрів гідратації твердих частинок, що містять різну кількість адсорбованої фази.

Вибір левоміцетину як антибактеріального агента зумовлений тим, що він є антибіотиком широкого спектра дії: ефективний відносно багатьох грампозитивних і грамнегативних бактерій, застосовується для лікування черевного тифу і паратифів, дизентерії, бруцельозу, коклюшу, гонореї, гнійних інфекцій, трахоми, атипової (вірусної) і бактеріальної пневмонії, газової гангрени, при різних хірургічних інфекціях, змішаних бактеріальних інфекціях (вуха, дихальних шляхів, шлунково-кишкового тракту, сечових шляхів) та ряду інших захворювань. Механізм його antimікробної дії полягає в порушенні синтезу білків мікроорганізмів [2, 5, 11]. Молекулярні взаємодії в системі вода—левоміцетин—кремнезем досліджувались методами 1Н ЯМР-, ІЧ- та УФ-спектроскопії.

Експериментальна частина

Для дослідження використовували субстанцію левоміцетину (D-(*–*)-treo-1-(*p*-нітрофеніл)-2-дихлорацетиламінопропан-1,3-діол) фармакопейної чистоти виробництва фірми «Vaishali Pharmaceuticals» (Китай) і ентеросорбент «Сілікс» — синтетичний аморфний високодисперсний кремнезем (аеросил марки А-300 з питомою поверхнею 300 м²/г виробництва Калуського дослідно-експериментального заводу Інституту хімії поверхні НАН України).

Адсорбційне закріплення левоміцептину проводили методом імпрегнування на поверхні ВДК. Наважки антибіотика (0,1611, 0,3211, 0,6473, 0,9734, 1,2897, 1,6162 г) розчиняли в 100 мл 96 % етилового спирту. До 5 г ВДК додавали спиртовий розчин левоміцептину, ретельно перемішували і врівноважували при кімнатній температурі протягом 24 год. Спирт видаляли повільним нагріванням при 333 К протягом 3 год. Отримано щість зразків левоміцептин/кремнезем з вмістом імпрегнованої речовини 0,1—1 ммоль/г (3,1 %—24 % мас.).

Для кожного дослідження десорбції левоміцептину брали наважку зразка 0,1 г з C_{LV} 1 ммоль/г і суспендували його в 50 мл відповідного розчину: води, фізіологічного розчину хлориду натрію 0,9 %, етилового спирту, розчину соляної кислоти з рН 1,5.

Спектри електронного поглинання розчинів і спектри відбиття твердих зразків кремнезему, імпрегнованого левоміцептином, вимірювали на спектрофотометрі Spekord M-40 (Karl Zeiss Iena, Німеччина).

^{13}C -спектри зразків кремнезему з імпрегнованим антибіотиком реєстрували на однопроменевому ^{13}C Фур'є спектрометрі Thermo Nicolet Nexus FT-IR. Для цього зразки змішували з свіжопрокаленим калію бромідом у співвідношенні компонентів 1:5.

Спектри ^1H ЯМР знімали на ЯМР спектрометрі високої розподільчої здатності Bruker WP-100 SY з робочою частотою 100 МГц і максимальною смugoю пропускання 50 кГц. Температуру в датчику регулювали за допомогою термо-приставки Bruker VT-1000 з точністю ± 1 К. Інтенсивність сигналів визначали за допомогою електронного інтегратора з точністю ± 10 %. Для попередження переохолодження суспензій вимірювання концентрації незамерзаючої води (C_{uw}) проводили при нагріванні суспензій, попередньо охолоджених до температури 210 К.

Характеристики міжфазних шарів води визначали за допомогою методу пошарового виморожування об'ємної та адсорбованої води, докладно описаного в ряді публікацій [10, 13—15]. На противагу MAS ЯМР спектроскопії, яка реєструє як сигнали рухливих (тобто незамороженої води), так і нерухливих (твердий лід) компонентів, ^1H ЯМР спектроскопія з пошаровим виморожуванням рідкої фази дозволяє реєструвати лише сигнали молекул незамерзаючої води, яка взаємодіє з поверхнею ВДК та адсорбованими на ній молекулами органічних речовин.

Результати дослідження та їх обговорення

Взаємодію левоміцептину з поверхнею кремнезему вивчали за змінами ^{13}C -спектральних характеристик поверхневих OH-груп ВДК при зміні його концентрації в межах 0,1—1 ммоль/г. У спектрах можуть бути ідентифіковані смуги валентних і деформаційних коливань левоміцептину та валентних коливань вільних гідроксильних груп поверхні кремнезему (3748 cm^{-1}).

На рис. 1 наведено ^{13}C -спектри зразків кремнезему. З рисунка видно, що при збільшенні вмісту імпрегнуючої фази інтенсивність смуги вільних гідроксильних груп зменшується (3748 cm^{-1}). Це свідчить про те, що молекули левоміцептину вступають в адсорбційну взаємодію з поверхневими гідроксильними групами кремнезему, ймовірно, завдяки утворенню водневих зв'язків між електронодонорними групами антибіотика та силанольними групами ВДК. Збурення вільних поверхневих силанольних груп було розраховано на основі ^{13}C -спектральних даних (рис. 2): із зростанням концентрації модифікатора (C_{LV}) ступінь збурення зростає і досягає свого максимального значення (0,48) при концентрації левоміцептину 0,6 ммоль/г. Подальше зростання імпрегнуючої фази (C_{LV}) не приводить до збільшення ступеня збурення вільних силанольних груп. Можливо, це обумовлено формуванням такого адсорбційного шару, в якому час-

тина OH-груп недоступна для утворення водневих зв'язків з молекулами антибіотика.

Про взаємодію молекул левоміцетину з поверхнею кремнезему можна судити за даними аналізу спектрів поглинання водних розчинів антибіотика та їх спектрів відбиття на поверхні ВДК. Інтенсивність спектрів відбиття пропорційно зростає із збільшенням кількості сорбованого антибіотика (рис. 3), а їх максимум (λ_{\max} 278 нм) збігається з максимумом спектра молекулярної форми вихідного левоміцетину та його водного розчину. Таким чином, порівняння спектрів підтверджує, що сорбція відбувається за рахунок утворення водневих зв'язків між молекулярними формами левоміцетину та силанольними групами кремнезему.

Для вимірювання кількості вивільнення левоміцетину, імпрегнованого на поверхні ВДК, було досліджено його десорбцію для зразка з концентрацією імпрегнутої фази 1 ммоль/г в різні середовища: воду, фізіологічний розчин хлориду натрію 0,9 %, етиловий спирт 96 % і розчин соляної кислоти з pH 1,5. Результати, наведені на рис. 4, свідчать, що майже повна десорбція левоміцетину з поверхні кремнезему у воду, як і в розчині соляної кислоти з pH 1,5, що відповідає кислотності шлунка, та фізіологічний розчин, відбувається за 2 години, проте в етиловий спирт левоміцетин десорбується менше як за годину.

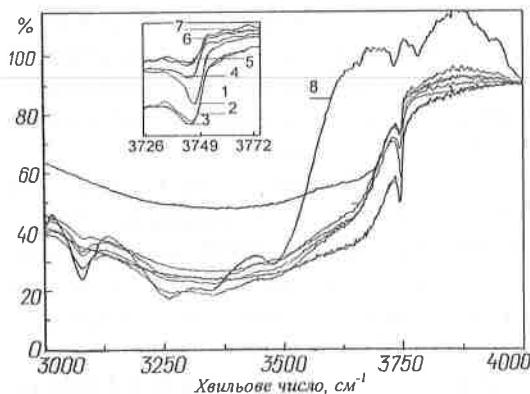


Рис. 1. ІЧ-спектри зразків кремнезему залежно від концентрації левоміцетину на його поверхні:

1 — 0; 2 — 0,1; 3 — 0,2; 4 — 0,4; 5 — 0,6; 6 — 0,8; 7 — 1 ммоль/г;
8 — вихідний левоміцетин

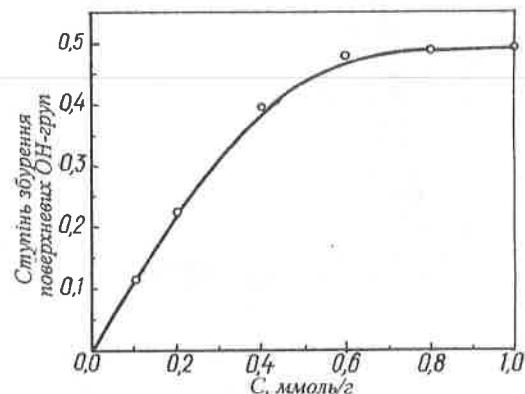


Рис. 2. Крива зміни ступеня збурення поверхневих OH-груп (3748 см⁻¹) залежно від кількості левоміцетину на поверхні кремнезему

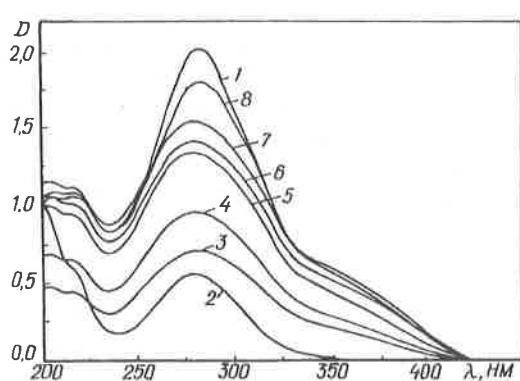


Рис. 3. Електронні спектри чистого левоміцетину, та левоміцетину, імпрегнованого на поверхні ВДК:

1 — левоміцетин—оксид магнію (2,5:1); 2 — розчин левоміцетину $C_{IV}=1,25 \cdot 10^{-5}$ моль/л; 3 — 0,1 ммоль/г; 4 — 0,2 ммоль/г;
5 — 0,4 ммоль/г; 6 — 0,6 ммоль/г; 7 — 0,8 ммоль/г; 8 — 1 ммоль/г

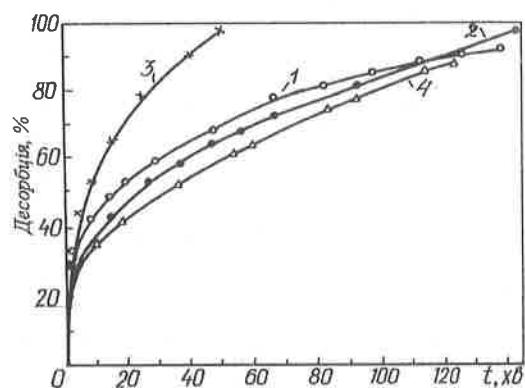


Рис. 4. Десорбція левоміцетину в різні розчинники:

1 — воду (pH 6,43); 2 — фізіологічний розчин хлориду натрію 0,9 % (pH 6,19); 3 — спирт 96 % (pH 8,18); 4 — розчин соляної кислоти (pH 1,5)

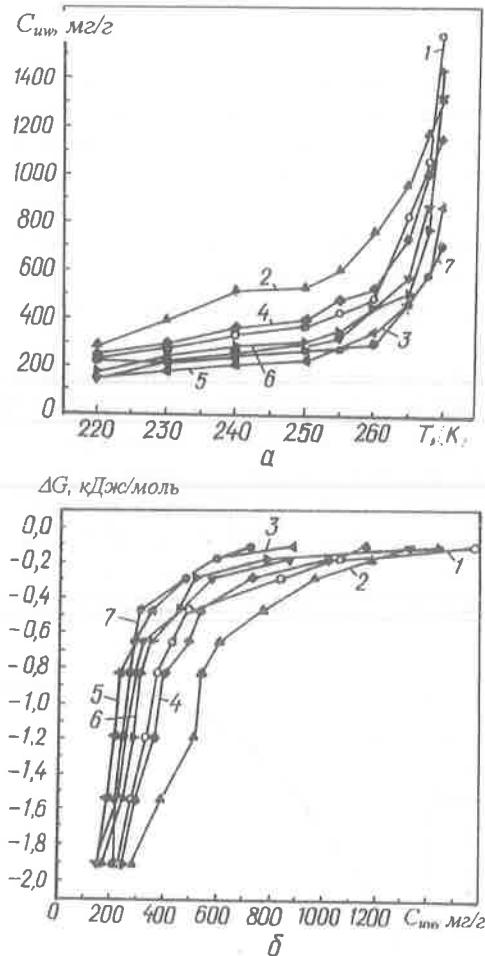


Рис. 5. Незамерзача вода в 9 % сусpenзіях кремнезему, імпрегнованого левоміцетином: а — залежності концентрації незамерзаючої води від температури; б — залежності зміни вільної енергії Гіббса від концентрації незамерзаючої води; 1 — кремнезем (А-300); 2 — 0,1 ммол/г; 3 — 0,2 ммол/г; 4 — 0,4 ммол/г; 5 — 0,6 ммол/г; 6 — 0,8 ммол/г; 7 — 1 ммол/г

Характеристики шарів міжфазної води в заморожених водних сусpenзіях (9 % мас) ВДК з адсорбованим левоміцетином

№	C _{IV}		ΔG ^s , кДж/моль	ΔG ^w , кДж/моль	C _{uw†} , г/г	C _{uw‡} , г/г	γ _s , мДж/м ²
	% мас	ммоль/г					
1	0	—	-3,4	0,35	2,35	0,45	177
2	3,1	0,1	-3	0,35	1,25	0,75	205
3	6,1	0,2	-2,6	0,4	1,35	0,45	126
4	9,1	0,4	-2,8	0,5	1,1	0,4	156
5	16	0,6	-2,8	0,35	1,2	0,3	101
6	20,7	0,8	-2,6	0,35	1,9	0,3	132
7	24	1	-3,5	0,35	0,7	0,3	117

Примітка. C_{uw}^s і C_{uw}^w — концентрації сильно- і слабозв'язаної води відповідно; ΔG_s і ΔG_w — максимальні величини зниження вільної енергії цих видів води; γ_s = K $\int_0^{C_{uw}^{\max}} \Delta G dC_{uw}$ — міжфазна енергія твердої фази у водному середовищі; C_{uw}^{max} — величина незамерзаючої води при T → 273 K; K — константа, яка залежить від типу використаних одиниць у зазначеному рівнянні [10].

Залежності концентрації незамерзаючої води (C_{uw}) від температури та побудовані на їх основі згідно з формулою [9]

$$\Delta G = -0,036(273 - T)$$

криві залежності зміни вільної енергії Гіббса (ΔG) від C_{uw} для 9 % водних сусpenзій кремнезему з різними кількостями адсорбційно закріпленого левоміцетину наведено на рис. 5. На залежностях ΔG(C_{uw}) можуть бути виділені дві ділянки, одна з яких відповідає сильній зміні величини ΔG у відносно вузькому діапазоні зміни C_{uw}. Вона відноситься до тієї частини зв'язаної води, в якій вільна енергія значною мірою зменшена адсорбційними взаємодіями з межею розподілу фаз. Ця ділянка обумовлена сильнозв'язаною водою. Для іншої ділянки величина зміни ΔG не перевищує 0,5 кДж/моль, що відповідає ознакам слабозв'язаної води. Характеристики шарів міжфазної води, отримані для всіх досліджуваних зразків, і величини поверхневої енергії узагальнено в таблиці.

Як видно з даних, наведених у таблиці, із збільшенням концентрації адсорбованого на поверхні ВДК левоміцетину спостерігається тенденція до зменшення концентрації як сильно-, так і слабозв'язаної води. У зміні величини ΔG^s, що відображає зміну вільної енергії Гіббса в найближчому до поверхні шарі адсорбованої води, певних закономірностей не спостерігається. Поверхнева енергія ад-

сорбційно модифікованого кремнезему (γ_s) із збільшенням концентрації модифікатора зменшується майже вдвічі — від 200 до 110 мДж/м², що свідчить про зменшення в процесі модифікування гідрофільних властивостей дисперсних частинок. Імовірно, це обумовлено участю гідрофільних центрів молекул левоміцетину у формуванні водневих зв'язків з поверхнею кремнезему, у той час як з водним середовищем переважно контактиують ліпофільні центри молекули.

Висновки

1. Повне покриття поверхні кремнезему спостерігається при концентрації левоміцетину 0,6 ммоль/г. У процесі імпрегнування левоміцетин взаємодіє з поверхнею кремнезему шляхом утворення водневих зв'язків з поверхневими гідроксилами.

2. Імпрегнуюча речовина вивільнюється за досить великий проміжок часу, що робить досліджуваний матеріал перспективним для застосування як сорбент пролонгованої дії.

3. Максимально модифікований кремнезем менш гідрофільний, ніж вихідний ВДК ($\gamma_s = 110$ Дж/г). У водних суспензіях гідратна оболонка частинок модифікованого ВДК складається з шарів сильно- та слабозв'язаної води. При концентруванні суспензій енергія міжчастинкових взаємодій не перевищує 35 Дж/г.

1. Даценко Б.М., Перецов И.М., Белов С.Г. и др. // Клин. хирургия. — 1984. — № 1. — С. 10–14.
2. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. — М.: Изд-во МГУ, 1994. — 512 с.
3. Кремнеземы в медицине и биологии: Сб. науч. тр. / Под ред. А.А. Чуйко. — К.—Ставрополь, 1993. — 259 с.
4. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / Под ред. А.А. Чуйко. — К.: Наук. думка, 2003. — 415 с.
5. Механизм действия антибиотиков /Под ред. чл.-кор. АМН СССР Г.Ф.Гаузе. — М.: Мир, 1969. — 720 с.
6. Пентюк О.О., Погорелый В.К., Чуйко Н.О. // Мед. хімія. — 2003. — Т. 5, № 1. — С. 95–99.
7. Слишик Н.Ф., Гончарик В.П., Касперський В.О. та ін. // Фармац. журн. — 2003. — № 1. — С. 82–86.
8. Слишик Н.Ф., Гончарик В.П., Касперський В.О. // Хімія, фізика та технологія поверхні. — 2004. — Вип. 10. — С. 175–179.
9. Термодинамические свойства индивидуальных веществ: Справочник. / Под ред. В.П.Глушкова. — М.: Наука, 1978. — Т. 1. — 495 с.
10. Туров В.В. Химия поверхности кремнезема. — К., 2001. — Т. 1, Ч. 1. — С. 510–607.
11. Химия антибиотиков / Под ред. М.М.Шемякина. — М.: Изд-во АН СССР, 1961. — Т. 1. — 616 с.
12. Якущенко В.А., Бирюкова С.В., Дзюбан Н.Ф. и др. // Мікробіол. журн. — 1996. — Т. 58, № 3. — С. 78–82.
13. Turov V.V., Barvinchenko V.N. // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. — 1997. — Vol. 8. — P. 125–132.
14. Turov V.V., Leboda R. // Adv. Colloid Interface. — 1999. — Vol. 79. — P. 173–211.
15. Turov V.V., Leboda R. // Phys. and Chem. of Carbons. — 2000. — Vol. 27. — P. 67–124.

Надійшла до редакції 23.01.2006.

T.B.Крупская, B.H.Барвінченко, B.A.Касперський, B.B.Туров, A.A.Чуйко

АДСОРБЦИОННОЕ ЗАКРЕПЛЕНИЕ ЛЕВОМИЦЕТИНА НА ПОВЕРХНОСТИ ВЫСОКОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМА

Ключевые слова: левомицетин, импрегнация, сильно- и слабосвязанная вода

Методами ¹Н ЯМР-, УФ- и ИК-спектроскопии изучены молекулярные взаимодействия в системе кремнезем/левомицетин/вода в широком диапазоне изменения концентрации компонентов. Показано, что строение слоев межфазной воды и ее термодинамические характеристики сильно зависят от поверхностной концентрации левомицетина. Измерены изотермы адсорбции и десорбции левомицетина в различных средах.

Key words: levomacetin, impregnation, it strong and loosely coupled water

SUMMARY

Molecular interaction in the system of silica/water/levomacetin at wide range of concentration of components by the 1H NMR-, UV- and IR-spectroscopy methods were studied. It is shown, that the structure of the layers of interphase of water and its thermodynamic characteristics strongly depend on surface concentration of levomacetin. Desorption and adsorption of levomacetin isotherms have been measured in various environments.

УДК 615.454.1:615.28:615.276:615.015.21

*І.Л.ДИКІЙ, д-р мед. наук, проф., Ю.В.КОЗЕЛКОВА, аспірант,
Н.І.ФІЛІМОНОВА, д-р мед. наук, проф., О.Г.ГЕЙДЕРІХ, канд. мед. наук, доц.*

Національний фармацевтичний університет

**МІКРОБІОЛОГІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЇ ТА СКЛАДУ
КОМПЛЕКСНИХ МАЗЕЙ НА ОСНОВІ АНТИСЕПТИКІВ
ТА НЕСТЕРОЇДНИХ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ЗАСОБІВ**

Захворювання шкіри та слизових оболонок мають поширене розповсюдження як за абсолютною рівнем, так і різноманіттям етіологічного походження та особливостями клініко-патогенетичного перебігу. Але узагальненим знаменником при цьому служать піогенний вплив збудника та виникнення гнійного запалення з різним пріоритетом ексудації, альтерації або проліферації. У сучасній медичній практиці досить широко застосовують м'які лікарські форми, що містять у своєму складі компоненти з протимікробними та протизапальними властивостями. Однак існуючі лікарські форми на основі комбінованого використання антимікробних сполук і протизапальних засобів нестериодного або гормонального походження не повною мірою відображають номенклатурну потребу в ефективному лікуванні. По-перше, це пов'язано з нездатністю деяких протимікробних компонентів мазей до рівнозначної дії на референтні, антибіотикочутливі та лікарськостійкі варіанти збудників. По-друге, антибіотики, що найчастіше використовуються в комплексних мазях, як правило, відрізняються вираженими селективними властивостями, що в перебігу довготермінового застосування нерідко супроводжується дисбіотичними ефектами та виникненням резистентних варіантів збудників з множинною лікарською стійкістю.

Перспективним напрямком у цій сфері визнано впровадження в медичну практику нових поколінь антисептиків, серед яких пріоритет належить катіоноактивним ПАР [1, 4, 6].

Попередніми дослідженнями [7, 8] доведено, що залежно від особливостей хімічної формули нестериодні протизапальні засоби, які містять у структурі галогени та /або спиртові (особливо метильні) групи, відрізняються відносно вираженими бактеріостатичними та бактерицидними властивостями, а також хіміотерапевтичною здатністю виявляти лікувально-профілактичні ефекти при модельних експериментальних інфекціях. Також встановлено, що катіоноактивні ПАР характеризуються наявністю супутніх протизапальних властивостей. Отже, перспективним напрямком у створенні нового покоління

комплексних мазей може стати фармакологічне обґрунтування використання діючих речовин, які відрізняються синергідною сумісністю за основними і спутніми властивостями.

Метою досліджень було доведення синергідного впливу натрію диклофенаку на активність мірамістину та обґрунтування типу основи м'якого лікарського засобу.

Експериментальна частина

За притаманними властивостями мірамістин відрізняється широким спектром активності стосовно грампозитивної, грамнегативної, аеробної, анаеробної, спороутворювальної та аспорогенної мікрофлори у поєданні з протигрибковою дією на актиноміцети, дріжджові та дріжджеподібні гриби, дерматофіти [1, 11]. Серед нестероїдних протизапальних засобів як активний компонент обрано натрію диклофенак, що знайшов поширене клінічне застосування в базовій терапії локалізованих та системних запальних процесів. Попередньо проведеними дослідженнями встановлено, що натрію диклофенак характеризується широким спектром протимікробної дії, включаючи бактерицидну здатність щодо грампозитивних та грамнегативних піогенних мікроорганізмів незалежно від характеристики притаманних їм антибіотикограм [2].

На першому етапі мікробіологічного скринінгу методом двократних серійних розведень у рідкому поживному середовищі оцінено співвідношення протимікробних властивостей, які притаманні мірамістину та натрію диклофенаку при дії на референтні та полірезистентні до антибіотиків клінічні тест-штами грампозитивних, грамнегативних бактерій та *C. albicans*. У зв'язку з тим, що за мікробіологічними показниками перспективними для клінічного застосування є препарати або сполуки, які позитивно характеризуються вибірковими або переважними мікробоцидними властивостями, при проведенні первинного мікробіологічного скринінгу оцінено співвідношення виразності у порівнюваних препаратах рівня бактеріостатичної та бактерицидної активності. Результати проведених досліджень наведено в табл. 1.

Таблиця 1

Порівняльна характеристика протимікробних властивостей мірамістину та натрію диклофенаку, $n = 6$

Тест-штам	Походження	Протимікробна активність, мкг/мл			
		мірамістин		натрію диклофенак	
		МІК	МБК	МІК	МБК
<i>S. aureus</i>	Референтний	10,3±1,8	12,7±1,3	44,8±2,9	60,5±7,2*
	Клінічний	22,5±4,5	18,3±2,8	56,7±7,2	83,2±6,7
<i>B. subtilis</i>	Референтний	28,6±3,2	44,3±6,2	46,3±5,6	72,8±10,2
	Клінічний	42,8±5,0	63,5±7,8	72,8±6,5	112,4±10,3*
<i>Cl. perfringens</i>	Референтний	36,3±5,5	50,8±7,4	>500	>500
	Клінічний	60,5±6,7	105,2±14,8*	>500	>500
<i>E. coli</i>	Референтний	32,8±7,8	55,4±7,2	105,4±12,6	155,6±20,6
	Клінічний	78,2±8,3	116,5±12,8	118,4±10,2	158,3±13,6
<i>P. aeruginosa</i>	Референтний	43,5±6,2	83,6±14,2*	125,6±12,4	167,8±10,5
	Клінічний	72,8±11,2	126,7±10,5	138,4±14,5	182,5±16,2
<i>Pr. mirabilis</i>	Референтний	32,8±5,5	60,6±9,4	105,8±7,6	148,4±10,2
	Клінічний	50,8±10,3	82,6±14,2	144,7±10,2	186,3±12,5
<i>C. albicans</i>	Референтний	42,5±6,3	67,6±5,7	118,4±8,2	155,4±12,3
	Клінічний	60,3±10,8	128,5±12,6	134,2±11,5	183,5±16,2

*Статистично значущі розбіжності у рівні МІК та МБК.

П р и м і т к а . Як клінічні використані полірезистентні до антибіотиків тест-штами, відповідно вилучені від хворих на гнійно-запальну патологію.

Аналіз отриманих результатів свідчить, що:

— мірамістин, як типовий представник антисептиків з хімічною структурою четвертинних амонієвих сполук, характеризується широким спектром антибактеріальної та антифунгальної активності. Усереднені значення МІК стосовно грампозитивних культур становлять 25 мкг/мл, а грамнегативних — 36,4 мкг/мл. Одночасно усереднений рівень МБК мірамістину для грампозитивних референтних штамів становить 35,9 мкг/мл, а для грамнегативних тест-штамів — 66,5 мкг/мл відповідно;

— наведені в табл. 1 дані свідчать про те, що клінічні, полірезистентні до антибіотиків тест-штами виявилися узагальнено менш чутливими до протимікробної дії мірамістину. На рівні зіставлення референтних та клінічних штамів доведено, що клінічні грампозитивні бактерії характеризуються підвищеною в 1,6 раза стійкістю до бактеріостатичної дії мірамістину, а грамнегативні — відповідно у 1,8 раза. Аналогічні кореляційні залежності визначені у співвідношеннях бактерицидної здатності мірамістину щодо тестованих мікробних культур. Клінічні штами грампозитивних бактерій виявилися менш чутливими до бактерицидної дії мірамістину в 1,7 раза, а грамнегативні — у 1,6 раза. Разом з тим, статистичний аналіз свідчить, що виявлені відмінності у бактеріостатичній та бактерицидній дії мірамістину на референтні та клінічні тест-штами не мають суттєво значущих розбіжностей. Останнє оцінено як свідчення вибіркової бактерицидної дії досліджуваного антисептика незалежно від показників лікарської стійкості тест-штамів до антибіотиків;

— порівняльне зіставлення показників бактеріостатичної та бактерицидної дії мірамістину на використані тест-штами свідчить, що цей антисептик відрізняється вибірковими мікрообоцидними властивостями щодо чутливих і стійких до антибіотиків тест-штамів;

— сучасна інфектологія переконливо свідчить про зростання питомої ваги спорогенних та аспорогенних анаеробних мікроорганізмів у визначені гнійно-запальної патології. У зв'язку з цим підтверджена вибіркова мікрообоцидна дія мірамістину на *Clostridium perfringens* є позитивною мікробіологічною ознакою при прогнозованому створенні м'якої лікарської форми зовнішнього призначення. Означений позитивний потенціал суттєво підкріплюється і даними про те, що досліджуваний антисептик виявляє незалежну від лікарської стійкості вибіркову фунгіцидну активність щодо референтних та клінічних штамів *Candida albicans*. Останнє слід враховувати як покажчик антидисбіотичних властивостей цього антисептика у складі мазі, що розробляється;

— дані, наведені в табл. 1, свідчать і про те, що обраний для включення у рецептуру натрію диклофенак, поряд з відомою протизапальною активністю, відрізняється реєстрованими протимікробними властивостями. При цьому, як і мірамістин, натрію диклофенак виявляє переважну мікрообоцидну здатність стосовно вивчених тест-штамів, виключаючи *C. perfringens*.

За усередненими показниками бактеріостатична дія натрію диклофенаку на грампозитивні референтні штами становить 45,6 мкг/мл, а бактерицидна — 66,7 мкг/мл. Одночасно бактеріостатична дія на грамнегативні мікроорганізми становила 112,3 мкг/мл, а бактерицидна — 157,3 мкг/мл. Для клінічних штамів усереднений ліміт бактеріостатичної дії становить 133,8 мкг/мл, а бактерицидної — 175,7 мкг/мл. При аналізі одержаних результатів слід наголосити на тому, що і для натрію диклофенаку встановлена переважна мікрообоцидна активність щодо грампозитивних і грамнегативних тест-штамів незалежно від показників їх антибіотикограм. Широкий спектр протимікробних властивостей, притаманних вивченим антисептику та протизапальному засобу, є мікробіологічним обґрунтуванням для технології створення на їх поєднаній основі комплексного препарату.

За визнаними мікробіологічними методиками дослідження синергідної сумісності між порівнювальними протимікробними препаратами досягається за рахунок дозових співвідношень діючих та субактивних концентрацій у живому середовищі. У зв'язку з тим, що оптимальний ліміт протизапальної і супутньої протимікробної активності натрію диклофенаку досягається в терапевтичній концентрації 0,25 г, а мірамістин, у свою чергу, характеризується високо вираженими антисептичними властивостями, ми визнали за доцільне використовувати як постійну субактивну концентрацію натрію диклофенак, а наявність синергідної сумісності визначити шляхом кратних серійних розведень мірамістину.

Принциповим висновком з результатів проведених досліджень, узагальнених у табл. 2, стало те, що порівнювані антисептик та протизапальний засіб відрізняються синергідною сумісністю за комплексним виявом антисептичної дії. Встановлено, що під впливом постійної субактивної концентрації натрію диклофенаку мірамістин закономірно підвищує вихідну антистафілококову активність у 4,3 раза, антиантракоїду — у 8,2, антишеріхіальну — у 2,4, антисиньогнійну — у 2,6 та антикандидозну — в 1,6 раза. За узагальненою сумою використаного набору тест-штамів встановлено, що в усередненому значенні натрію диклофенак виявив спроможність до підвищення вихідних протимікробних властивостей мірамістину в 4,7 раза. Однак дані, подані в табл. 2, свідчать про те, що на фоні виразного підвищення протимікробної дії до грампозитивних мікроорганізмів досліджувана композиція взаємопотенціювала комплексну активність стосовно грамнегативних мікроорганізмів лише у 2,4—2,6 раза, а антифунгальну — відповідно в 1,6 раза. Виходячи з цього, визнано доцільним при розробці технології та складу МЛФ використовувати мірамістин вдічі менше, ніж стандартна терапевтична доза.

Таблиця 2

Результати мікробіологічного визначення оптимальної концентраційної сумісності між мірамістином та натрію диклофенаком у синергідному вияві комплексної антисептичної дії

Тест-штам	Протимікробна активність, мкг/мл			Кратність сумісності
	МІК мірамістину	МІК натрію диклофенаку	мірамістин + натрію диклофенак	
S. aureus	10,3±1,8	44,8±2,9	2,4±0,16	4,3
B. subtilis	28,6±3,2	46,3±5,6	3,5±1,07	8,2
E. coli	32,8±7,8	105,4±12,6	13,4±2,23	2,4
P. aeruginosa	43,5±6,2	125,6±12,4	16,7±2,45	2,6
C. albicans	42,5±6,3	118,4±8,2	26,3±3,18	1,6

Основу технологічних розробок, у т.ч. і при створенні МЛФ, принципово визначає збереження або незначуще відхилення у вихідних рівнях відповідних фармакологічних субстанцій. Останнє враховано при виборі мазової основи, максимально відповідальної за збереження сумою його протимікробного потенціалу в композиційному складі мірамістину з натрію диклофенаком. Концентрацію натрію диклофенаку було вибрано на підставі фармакологічних досліджень, а зменшенну кількість мірамістину брали з урахуванням синергідного впливу нестероїдного протизапального засобу.

Як відомо, гідрофільні основи найбільш здатні забезпечувати вивільнення та резорбцію лікарських речовин, тому на них було звернуто найбільше уваги [3, 6, 15]. Протимікробні властивості досліджуваних зразків мазей було визнано методом дифузії в агар [5]. Показником дифузії речовини з досліджуваного зразка мазі був діаметр зони затримки росту тест-мікроорганізмів, яка утворюється в агаровому середовищі на чашках Петрі.

З результатів проведених досліджень, наведених в табл. 3, виходить, що всі досліджувані основи не мали негативного впливу на вихідні протимікробні

Таблиця 3

Результати щодо обґрунтування мазової основи за оптимальним впливом на протимікробні властивості композиції мірамістину з натрію диклофенаком, n = 6

Мазева основа	Протимікробна активність композиції мірамістину з натрієм диклофенаком у складі мазі				
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
Контроль субстанцій	26,7±1,0	25,4±1,2	19,5±1,2	22,3±2,2	19,6±1,3
Карбополу 1,0 ТЕА до pH 6,0 Води дистильованої до 100,0	22,2±2,6 (0,8)	20,8±1,6 (0,8)	20,4±2,8 (1,1)	18,5±1,2 (0,8)	16,8±1,2 (0,9)
Олії вазелінової 10,0 ПЕО 400 10,0 Емульгатора № 1 8,0 Води очищеної 72,0	32,4±1,2 (1,2)	34,2±1,8 (1,3)	27,3±1,3 (1,4)	30,5±2,6 (1,4)	26,2±1,3 (1,3)
Вазеліну 60,0 Емульгатора T2 10,0 Води очищеної 30,0	22,5±2,6 (0,8)	19,3±2,2 (0,8)	16,5±1,8 (0,8)	20,5±1,4 (0,9)	15,8±1,4 (0,8)
ПЕО 400 41,5 ПЕО 1500 41,5 1,2-ПГ 17,0	36,7±2,4 (1,4)	34,2±1,8 (1,3)	28,5±1,7 (1,5)	28,3±1,6 (1,3)	26,3±1,8 (1,3)
1,2-ПГ 35,0 ПЕО 400 45,0 Проксанолу 268 20,0	34,8±1,6 (1,3)	34,4±1,6 (1,4)	32,7±1,5 (1,7)	32,8±1,4 (1,5)	28,6±1,5 (1,5)
1,2-ПГ 35,0 ПЕО 400 40,0 Гліцерину 5,0 Проксанолу 268 20,0	33,5±1,4 (1,3)	30,8±1,5 (1,2)	33,6±1,7 (1,7)	30,5±1,6 (1,4)	32,3±2,2 (1,6)

П р и м і т к а. У дужках наведена кратність впливу основи на вихідну протимікробну активність досліджуваної композиції стосовно контрольних показників.

характеристики мірамістину з натрієм диклофенаком. При цьому встановлено, що гідрофільна гелева основа з використанням карбополу не впливає на відмінність протимікробних властивостей досліджуваних сполук, хоча за окремими показниками простежена несуттєва тенденція щодо зниження протимікробної активності стосовно використаного набору тест-штамів. Аналогічна інтактність визначена також для емульсійної основи типу в/м. Разом з тим, мазеві основи, що в різних комбінаціях відповідно вміщували ПЕО-400, ПЕО-1500 та проксанол, виявили потенціюючий вплив на вихідну активність композиційного складу мірамістину з натрієм диклофенаком. Останнє встановлено для зразків, що як мазеву основу вміщували за рецептурним складом ПЕО-400, ПЕО-1500, проксанол, пропіленгліколь, гліцерин, при цьому підвищення узагальненої протимікробної активності було в межах від 1,3 до 1,7 (табл. 3). Таким чином, досліджувані гідрофільні мазеві основи за мікробіологічними показниками рівноцінно відповідні до композиційного складу мірамістину з натрієм диклофенаком. Вони мають певні переваги над іншими допоміжними речовинами, які використовуються при виготовленні м'яких лікарських форм. Крім того, такі основи добре наносяться на шкіру і рівномірно розподіляються на поверхні, фізіологічно індиферентні, мають слабкі бактерицидні властивості, осмотично активні, але не пересушують шкіру, не перешкоджають газообміну, добре змиваються водою і стабільні при зберіганні.

Висновки

1. Встановлено МПК мірамістину, виявлено синергізм антисептика мірамістину та натрієм диклофенаку стосовно грампозитивних, грамнегативних мікроорганізмів та *C. albicans*.
2. Мікробіологічно обґрунтований вибір основи для мазі, що розробляється для забезпечення оптимального фармакотерапевтичного ефекту.

3. Визначена оптимальна концентрація антисептика широкого спектра дії мірамістину в мазі, яка становить 0,25 %.

4. Результати досліджень показали перспективність роботи зі створення нового ефективного комбінованого препарату з мірамістином та натрію диклофенаком. Запропонована лікарська форма виявляє достатньо сильний протимікробний та протигрибковий ефект.

1. Антисептики у профілактиці і лікуванні інфекцій / За ред. Г.К.Палія. — К.: Здоров'я, 1997. — 201 с.
2. Бобрицька Л.О., Чуєшов В.І., Дикий І.Л. та ін. // Фізіологічно активні речовини. — 2000. — № 2 (30). — С. 83—86.
3. Грецкий В.М., Цагарешвили Г.В. Носители лекарственных веществ в мазях. — Тбілісі: Мецнериба, 1979. — 203 с.
4. Деревянко И.И., Котлярова Г.А., Кондратьева Е.М. и др. // Урология и нефрология. — 1998. — № 5. — С. 14—16.
5. Державна фармакопея України . — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
6. Деримедаєв Л.В., Перцев И.М., Загорий Г.В. и др. // Провизор. — 2002. — № 1. — С. 20—22.
7. Дикий І.Л., Аль Кусур Башар, Філімонова Н.І. // Лекарства — людині. — Х., 1996. — Т. 2. — С. 32—34.
8. Дикий І.Л., Філімонова Н.І., Аль Кусур Башар // Там же. — С. 326—329.
9. Казакова В.С., Грицан Л.Д., Колесникова В.В. // Вісн. фармації. — 1999. — № 2(20). — С. 70—72.
10. Навашин С.М., Фомін С.І. Рациональная антибиотикотерапия: Справочник. — М.: Медицина, 1982. — 495 с.
11. Осолодченко Т.П. Обоснование с бактериологических подходов составов многокомпонентных антибактериальных препаратов для местного лечения гнойных ран: Дис. ... канд. бiol. наук. — Х., 1992. — 103 с.
12. Палий Г.К., Макац Е.В. // Антибиотики и медбиотехнология. — 1986. — № 11. — С. 860—863.
13. Петровская Л.С., Серебрякова Л.М., Киселева Н.П. и др. // Фізіологічно активні речовини. — 1999. — № 2 (28). — С. 122—125.
14. Раны и раневая инфекция / Под ред. М.И.Кузина и Б.М.Костюченко. — М.: Медицина, 1990. — 591 с.
15. Яремчук А.А. Разработка состава и технологии лекарственных форм с декаметоксином для лечения гнойных ран и гнойно-воспалительных заболеваний кожи и слизистой: Автореф. дис. ... канд. фармац. наук. — М., 1991. — 20 с.

Надійшла до редакції 10.11.2005.

І.Л.Дикий, Ю.В.Козелкова, Н.И.Філімонова, О.Г.Гейдерих

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ И СОСТАВА
КОМПЛЕКСНЫХ МАЗЕЙ НА ОСНОВЕ АНТИСЕПТИКОВ
И НЕСТЕРОИДНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ**

Изучена синергидная совместимость мирамистина и натрия диклофенака в проявлениях антисептической активности. Показано, что в терапевтических дозах натрия диклофенака кратно повышает исходную активность мирамистина по отношению к пиогенным бактериям и *C. albicans*. Микробиологически обоснован выбор оптимальной основы для мази. Результаты проведенных исследований были использованы при разработке комбинированного препарата на основе антисептика и нестероидного противовоспалительного средства.

I.L.Dikiy, Yu.V.Kozelkova, N.I. Filimonova, O.G.Geiderih

**MICROBIOLOGICAL BASES FOR COMPOSITION AND TECHNOLOGY
OF COMPLEX OINTMENTS WITH ANTISEPTICS AND NON-STEROIDAL
ANTIINFLAMMATORY DRUGS**

SUMMARY

The synergism of sodium diclofenac and miramistin in the display of antiseptical activity has been researched. It has been shown that in the therapeutic doses sodium diclofenac increases the initial activity of miramistin regarding to piogenic bacterium and *C.albicans*. The choice of optimal ointment's basis has been grounded by microbiologicaly. The results of the conducted researches have been used for creating the complex drug on the bases of antiseptic and non-steroidal antiinflammatory remedy.

Є.А.БЕЗРУКАВИЙ, аспірант, Є.В.ГЛАДУХ, д-р фармац. наук, проф.

Національний фармацевтичний університет

ВИВЧЕННЯ ОСМОТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ МАЗЕВИХ ОСНОВ НА ТРЕТЬІЙ ФАЗІ РАНОВОГО ПРОЦЕСУ

Сучасний рівень теоретичних і практичних досягнень загальнобіологічних, медичних і технічних наук дозволяє з нових позицій підійти до вирішення проблеми підвищення ефективності медикаментозного лікування ран. Теоретичною основою такого роду розробок є доведений факт принципової єдності біологічних законів загоєння ран незалежно від її генезу (опікова, травматична або інфекційна) і локалізації (внутрішніх органів або зовнішніх покривів). Спільність біологічних законів загоєння різного роду ран визначає, у свою чергу, також єдність принципів їх патогенетичного лікування. Незалежно від виду рані і масштабу втрати тканин загоєння будь-якої рані включає певні фази, які перекриваються за часом і не можуть бути різко розмежовані. При поділі на фази слід враховувати основні морфологічні зміни в ході процесу репарації [2].

Сучасний асортимент мазей для лікування третьої фази ранового процесу охоплює переважно препарати закордонного виробництва: Бепантен, Бепантен-плюс, Контратубекс (Німеччина), Куріозин (Угорщина), Актовегін (Австрія), Солкосерил (Швейцарія). Відсутність вітчизняних препаратів для використання на третій фазі ранового процесу, що справляють позитивну дію на утворення грануляційних тканин і прискорюють процеси епітелізації, надає актуальності пошуку і створенню нових комбінованих мазей для лікування ранового процесу.

Як відомо, оптимальна основа м'якої лікарської форми препарату для зовнішньої терапії має відповідати, принаймні, декільком специфічним вимогам. Вона повинна легко віддавати діючу речовину, легко всмоктуватися шкірою (що дає можливість зменшити концентрацію активного інгредієнта), зволожувати і пом'якшувати шкіряний покрив, легко наноситися на великі поверхні тіла, бути дешевою у виробництві (курс лікування часто досить тривалий) і легко змиватися, не залишаючи слідів на шкірі та одязі. Остання вимога досить важлива, враховуючи той факт, що значна частина хворих лікується не амбулаторно, а вдома і веде нормальній, активний спосіб життя. Виходячи з цього, для пацієнтів важливим і необхідним є відчутний косметичний ефект і зручність застосування препарату. Мотивація вибору пацієнтом того або іншого препарату місцевої дії часто базується саме на їх споживчих характеристиках («не залишає плям», «швидко всмоктується», «має приемний вигляд і запах», «легко наноситься і змивається» тощо) [4, 6, 7].

Важливим специфічним показником, який характеризує певні властивості препарату для зовнішнього застосування, є його осмотична активність. Важається, що виявлення помірної осмотичної активності препаратами проти-запальної дії сприяє дегідратації в зоні запалення, що приводить до зменшення набряку і прискорює обмінні процеси в тканинах. Однак висока осмотична активність препарату, призначеної для зовнішнього лікування на третій фазі ранового процесу, буває шкідливою. Нанесення за таких умов осмотично активного препарату може призвести до суттєвого погіршення стану шкіри. Тому в цьому разі більш прийнятними будуть препарати з досить помірними осмотичними властивостями.

Для лікування місцевих інфекційно-запальних захворювань широко застосовуються м'які лікарські форми вітчизняного та закордонного виробниц-

тва [8]. Проте ці препарати за багатьма показниками не відповідають сучасним медико-біологічним вимогам. Так, вони виготовлені в основному на двох типах мазевих основ: водорозчинних (сплави поліетиленоксидів) та емульсійних [13]. Емульсійні основи не здатні адсорбувати достатньою мірою гнійний ексудат рани, а поліетиленоксидні [10, 12] основи через однонаправленість осмотичних процесів призводять до осмотичного шоку клітин грануляційної тканини та слизових оболонок. У клінічній практиці це проявляється загибеллю грануляційної тканини, місцевою подразливою дією, бальзовим синдромом тощо [5].

Метою даної роботи є створення емульсійної основи, позбавленої вищезазначених недоліків, і розробка на цій основі мазі ранозагоювальної та регенерувальної дії.

Експериментальна частина

Об'єктами дослідження були модельні мазеві основи — емульсії 1-го роду, де як масляну фазу використано кукурудзяну олію. Емульгаторами служили препарат ОС-20 (моноалкільні ефири поліетиленгліколю на основі первинних спиртів) — емульгатор 1-го роду або типу м/в, моногліцериди дистильовані (МГД), моностеарат гліцерину (МСГ) — емульгатори 2-го роду, або типу в/м. У серіях модельних систем варіювали співвідношення емульгаторів та їх концентрацію при оптимальному співвідношенні масляної та водної фази.

Для визначення впливу неводних розчинників на осмотичні властивості емульсійних мазевих систем досліджували мазі з вмістом поліетиленоксиду-400 (ПЕО-400), пропіленгліколю і гліцерину в концентраціях до 40 %. Неводні розчинники вводили до готової емульсії при температурі 40 ± 2 °C.

Осмотичну активність вивчали при температурі 34 ± 1 °C у дослідах *in vivo* методом діалізу через напівпроникну мембрانу [3, 9, 11]. Наважка мазевої основи становила 10,0 г, напівпроникна мембра — целофанова плівка виробництва Черкаського заводу хімічного волокна, марка В-8079. Вимірювання маси внутрішнього циліндра діалізатора проводили щогодини. Кількість рідини, яка поглинається мазевою основою, виражали у відсотках до маси досліджуваного зразка (10,0 г). Зразки витримували в термостаті ТС-80М-2, зважування проводили з точністю до 0,01 г.

Попередніми дослідженнями [1] встановлена недоцільність використання як емульгаторів твіну-80 та емульгатора № 1, тому вони були виключені з експерименту.

Відомо, що осмотична активність ПЕО-400, пропіленгліколю та гліцерину реалізується по-різному, що обумовлено різницею їх молекулярних мас. Ці неводні розчинники різняться між собою як за силою, так і за тривалістю осмотичної дії. Найменш активний щодо цього гліцерин, який поглинає протягом 5 годин близько 160 % рідини, в той час як пропіленгліколь за цей же час поглинає близько 200 %, а ПЕО-400 — понад 250 % рідини.

Як видно з рис. 1а, 20 % емульсія олії кукурудзяної на основі ОС-20 і МСГ без додавання осмотично активних добавок здатна поглинати незначну кількість води (до 10 %). Введення до гідрофільної частини емульсії осмотично активних розчинників (рис. 1 а, б, в) значно підвищує дегідратуючу здатність мазевої основи. Найбільшу активність виявили емульсії, що містили поліетиленоксид-400, найменшу — емульсії, що містили гліцерин. Емульсії з пропіленгліколем мали проміжне положення. Осмотична активність модельної емульсії через 8 годин (рис. 2) з включенням неводних розчинників свідчить про незаперечну перевагу ПЕО-400 як дегідратуючого агента. Збільшення поглинання води спостерігається з підвищенням концентрації ПЕО-400 у складі мазевої основи. Так, якщо склади з пропіленгліколем та гліцерином були осмотично активні 5—6 годин, то в основі з ПЕО-400 адсорбція рідини тривала 8 і більше годин.

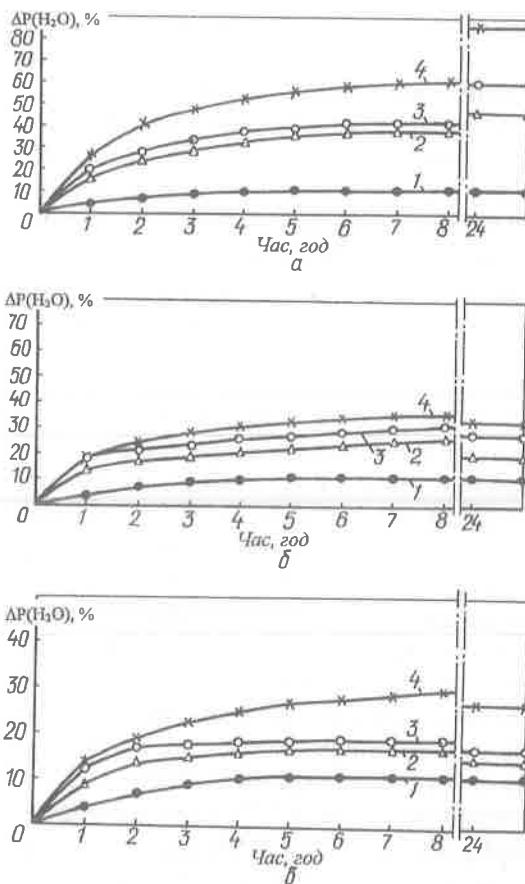


Рис. 1. Графік осмотичної властивості модельної емульсійної основи залежно від концентрації:
а — полістиленоксиду-400, б — пропіленгліколю, в — гліцерину;
1 — основа, 2 — 20 %, 3 — 30 %, 4 — 40 % концентрація

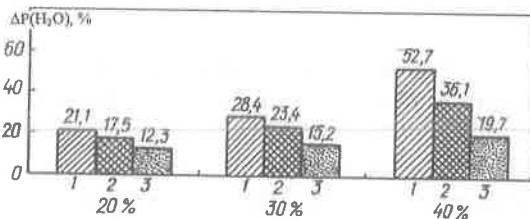


Рис. 2. Діаграма осмотичної активності модельної емульсійної основи через 10 годин залежно від концентрації неводних розчинників:
1 — ПЕО-400, 2 — пропіленгліколю, 3 — гліцерину

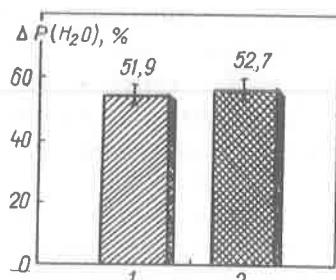


Рис. 3. Діаграма осмотичної активності модельної емульсійної основи через 10 год залежно від типу емульгатора 2-го роду:
1 — МГД, 2 — МСГ

Це можна пояснити тим, що у ПЕО-400 найбільше виражена схильність до міжмолекулярної взаємодії з водою. Тому застосування його при розробці лікарських форм для лікування першої фази ранового процесу виліковдане.

Слід зазначити, що при використанні пропіленгліколю та гліцерину у складі мазової основи після завершення фази активного осмосу настає фаза «зворотного осмосу». Ці розчинники здатні до пінетуючого ефекту, що дозволяє їх молекулам проходити у водне середовище через мембрани. При цьому вони створюють у воді власний осмотичний тиск, який перешкоджає абсорбції неводних розчинників, чим і можна пояснити нетривалість їх осмотичної дії. Зазначені якості гліцерину і пропіленгліколю дозволяють створювати мазеві основи з тривалим, але більш м'яким дегідратуючим ефектом порівняно з ПЕО-400.

При заміні у складі модельної мазової основи емульгатора 2-го роду МСГ на МГД (рис. 3) осмотична активність емульсії практично не змінюється. Це свідчить про неможливість регулювати осмотичні властивості емульсії 1-го роду на основі масла вазелінового лише зміною емульгатора, для цього необхідно варіювати комплекс емульгаторів, а також співвідношенням неводних розчинників.

Одержані результати свідчать, що емульсії типу м/в, які містять осмотично активні неводні розчинники, мають виражену осмотичну активність протягом 8–10 годин. Цю активність можна регулювати як зміною виду та концентрації неводних розчинників, так і зміною співвідношення масляної та водної фаз.

Результати дослідження було покладено в основу розробки м'якої лікарської форми для застосування при лікуванні ран на стадії репарації та епітелізації.

Висновки

- Емульсійна основа без осмотично активних добавок практично не проявляє дегідратуючої дії.

2. За осмотичною активністю неводні розчинники можна розташувати в такий ряд: ПЕО-400>пропіленгліколь>гліцерин. Допоміжні речовини, що вивчалися, різняться як за силою, так і за тривалістю осмотичної дії.

3. На дегідратуючу дію не впливає природа емульгатора 2-го роду.

1. Безрукавий Є.А., Гладух Е.В. // Зб. наук. ст. КМАПО ім. П.Л.Шупика. — 2005. — Вип. 14, Кн. 2. — С. 621—628.
2. Безугла О.П., Бєлов С.Г. Гунько В.Г. та ін. Теорія та практика місцевого лікування гнійних ран / За ред. Б.М.Даценка. — К.: Здоров'я, 1995. — 384 с.
3. Даценко Б.М., Калиниченко Н.Ф., Лепахин і др. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению лекарственных препаратов для местного лечения гнойных ран. — М.: Медицина, 1989. — 45 с.
4. Кутасевич Я.Ф., Маштакова І.О., Савенкова В.В. Сучасні підходи до застосування препаратів зовнішньої дії, що містять глукокортикоїди: Метод. рекомендації. — Х.: Вид-во УкрНДІДВ, 2000. — С. 6—10.
5. Ляпунов Н.А., Безуглая Е.П., Столлер Ю.М. и др. // Фармаком. — 1999. — № 6. — С. 10—16.
6. Монахов К.Н., Панов А.В., Соколовский Е.В. // Журн. дерматовенерологии и косметологии. — 1997. — № 1. — С. 63—68.
7. Петухов А.В., Монахов К.Н. // Там же. — 1998. — № 1. — С. 34—36.
8. Справочник ВІДАЛЬ. Лекарственные препараты в России / Под ред. Н.Б.Николаева, Б.Р.Альперовича, В.Н.Сазинова. — М.: АстраФармСервис, 1998. — 1600 с.
9. Столлер Ю.М., Ляпунов Н.А., Безуглая Е.П. и др. // Фармаком. — 2001. — № 3. — С. 84—81.
10. Attis M.A., Aboutaleb A.E., Habib F.S. // Pharmazie. — 1981. — Bd. 36, № 1. — S. 21—23.
11. Capello Brunella, Del Nobile Matteo Alessandro, La Rotonda Maria Immacolata et al. // Farmaco. — 1994. — Vol. 49, № 12. — P. 809—818.
12. Kaur R., Grant D.J.W., Eaves T. // J. Pharm. Sci. — 1980. — Vol. 69, № 11. — P. 1317—1321.
13. Physicians' Desk Reference. — N.-Y., 1993. — 3080 р.

Надійшла до редакції 28.12.2005.

Е.А. Безрукавый, Е.В. Гладух

ИЗУЧЕНИЕ ОСМОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МАЗЕВЫХ ОСНОВ НА ТРЕТЬЕЙ ФАЗЕ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА

Исследованы осмотические свойства модельной эмульсионной основы, состоящей из масла кукурузного, комплекса эмульгаторов и неводных растворителей, в зависимости от концентрации масляной фазы и типа эмульгатора 2-го рода. На основании проведенных исследований установлена зависимость осмотической активности от количества масляной фазы, используемого неводного растворителя и показано, что, варьируя составом, можно управлять физико-химическими свойствами, исходя из медико-биологических требований, предъявляемых к препаратам.

E.A. Bezrukaviy, E.V. Gladukh

STUDY OF OSMOTIC ACTIVITY OF OINTMENT BASES ON THE THIRD PHASE OF WOUND PROCESS

SUMMARY

Depending on oily phase and type of the 2-range emulsifier the osmotic properties of the model emulsion base containing corn oil and the complex of emulsifiers and non-aqueous solvents have been researched. On the basis of the investigations performed the dependence of osmotic activity from the oily phase amount and the non-aqueous solvent used has been established. It has been shown that varying the composition one can manage physical and chemical properties taking into account medical and biological requirements to drugs.

ВИВЧЕННЯ ПРОТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ЕКСТРАКТІВ БРУНЬОК БЕРЕЗИ БОРОДАВЧАСТОЇ ВІДНОСНО СТАФІЛОКОКІВ З РІЗНИМИ ДЕТЕРМІНАНТАМИ АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТОСТІ

Береза бородавчаста, або береза повисла (*Betula verrucosa Ehrh.*, синонім *Betula pendula Roth.*) з глибокої давнини нерозривно пов'язана з історією і культурою слов'янських народів і має багатовікову історію застосування в медицині [5]. Численні поради щодо лікування захворювань внутрішніх органів і шкіри настоями та відварами бруньок та листя берези, а також березовим соком наводяться в травниках XVI—XVII століття. Лікувальні засоби з берези (настоянка бруньок, відвар кори, березовий дъоготь, березове вугілля) з давніх-давен високо цінувались завдяки їх антисептичним, протизапальним і ранозагоювальним властивостям. У Середньовіччя на Русі настоянку бруньок берези застосовували для лікування холери. І сьогодні народна медицина рекомендує препарати з листя та бруньок берези при бронхітах, туберкульозі, хронічній діареї, для місцевого лікування опіків, абсцесів, інфікованих ран.

Не обділена береза увагою і з боку наукової медицини. Як протимікробний засіб у хірургічній і дерматологічній практиці довгі роки надзвичайною популярністю користувався дъоготь, який одержують шляхом сухої перегонки молодих гілок і кори рослини. Протимікробні властивості березового дъогтю пов'язані з фенольними сполуками — фенолом, гваяколом, пірокатехолом, рододендролом, крезолами, ксиленолами, діоксибензолами, метилсаліцилатом. Березовий дъоготь входить до складу багатьох мазей і лініментів (мазь Вишневського, мазь Вількінсона та ін.), дъогтарної води, сірчано-дъогтарного мила. Правда, сьогодні у зв'язку з появою більш ефективних антисептичних засобів мазь Вишневського в хірургії застосовують рідко. Листя берези входить до складу препарату «Фітолізин», який випускається у вигляді пасти для внутрішнього застосування при піелонефритах, циститах, уrolітіазі.

Проте, незважаючи на багатий досвід народної та наукової медицини, дослідження протимікробних властивостей препаратів берези рідко привертало увагу експериментаторів. Про це свідчить відсутність згадки про рослину у фундаментальних працях з проблеми фітонцидів В.Г.Дроботька [2] і Б.Е.Айзенман [1]. Одними з нечисленних повідомлень про протимікробну активність настоянки бруньок берези бородавчастої є праці В.Г.Ніколаєва і А.А.Хохлова [6, 7], в яких звертається увага на доволі високий її рівень відносно *Staphylococcus aureus* і *Shigella sonnei*. Порівняно резистентними до біологічно активних сполук настоянки бруньок виявилися *E. coli* і *Pseudomonas aeruginosa*. Заслуговує на увагу факт, що антибіотикорезистентні клінічні штами *S. aureus* за рівнем чутливості до вказаного препарату не відрізнялися від антибіотикочутливих штамів [7]. Однак більшість антибіотиків, за якими автори оцінювали профілі резистентності клінічних штамів, на сьогоднішній день мають обмежене застосування у клінічній практиці.

За чверть століття, що минуло з часу проведення цитованого дослідження, під наростиючим селекційним тиском широко застосовуваних у клініці антибіотиків у популяціях мікроорганізмів, у т.ч. стафілококів, відбулися закономірні якісні зміни. Глобальною проблемою стало поширення метицилінорезистентних штамів стафілококів, які характеризуються високим рівнем стійкості не тільки до β-лактамних антибіотиків, але і до аміноглікозидів, тетрациклінів,

макролідів, фторхінолонів [9, 11]. Виконані нами попередні скринінгові дослідження показали, що сучасні госпітальні штами стафілококів, незважаючи на антибіотикорезистентність, зберігають чутливість до протимікробних сполук екстракту бруньок берези [3]. У зв'язку з цим ми поставили собі за мету вивчити вплив різних умов екстрагування бруньок берези на вихід антибіотичних компонентів, а також проаналізувати їх вплив на колекційні та клінічні штами стафілококів з різними детермінантами резистентності до сучасних протимікробних засобів.

Матеріал та методи дослідження

Методи одержання екстрактів. Для дослідження використано бруньки берези бородавчастої, заготовлені в період до розпускання листків на території Івано-Франківської області. Висушену подрібнену сировину екстрагували 90 % водним етанолом (співвідношення сировина/екстрагент 1:10) при кімнатній температурі відповідно до фармакопейних вимог.

Послідовну вичерпну екстракцію точної наважки (100 г) бруньок берези виконували в апараті Соксклета з використанням системи органічних розчинників із зростаючою полярністю: гексану, хлороформу, етилацетату, бутанолу [4]. Вихід сухих екстрактів: гексановий — 25,350 г, хлороформний — 13,140 г, етилацетатний — 4,564 г, бутанольний — 8,430 г.

Для дослідження використано також фракції водно-ацетонового екстракту бруньок берези. Сумарний водно-ацетоновий екстракт отримували шляхом екстрагування 20,0 г сировини протягом трьох годин на водяному огрівнику в колбі зі зворотним холодильником у 200 мл 70 % водного ацетону. З одержаного водно-ацетонового екстракту відганяли ацетон. Концентрований таким чином екстракт змішували у ділильній лійці з хлороформом (1:1). Після інтенсивного струшування суміші протягом 30 хв відділяли хлороформну фракцію від водної фази. Водну фазу змішували у ділильній лійці з етилацетатом для відділення етилацетатної фракції. За допомогою аналогічної процедури сепарування одержували бутанольну і водну фракції. Виділені фракції водно-ацетонового екстракту висушували при кімнатній температурі.

Характеристика використаних мікробних культур. Тестування протимікробної активності екстрактів бруньок берези виконано на 150 штамах золотистих і коагулазо-негативних стафілококів. Серед них було 16 музейних штамів, отриманих з колекції Інституту мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова АМН України, решта — клінічні ізоляти за період 1999—2005 рр. від пацієнтів з фурункульозом, абсцесами, флегмонами, опіками, маститом, сепсисом, уретритами, дизбактеріозом кишечника. Виділені клінічні штами ідентифікували за комплексом культуральних і біохімічних властивостей («STAPHYtest 16», Lachema, Чехія). Дискодифузійним методом встановлено, що клінічні ізоляти стафілококів характеризувалися різними профілями антибіотикорезистентності відносно сучасних протимікробних препаратів. Додатково вивчено чутливість тест-штамів стафілококів до оксациліну, цiproфлоксацину і гентаміцину методом двохкратних серійних розведенів в агарі згідно з рекомендаціями Національного комітету клініко-лабораторних стандартів (NCCLS, США) [12].

Використані в ході дослідження штами *S. aureus* і коагулазо-негативних стафілококів були докладно охарактеризовані за двома найбільш актуальними на даний час детермінантами антибіотикорезистентності. Методом латекс-аглютинації (Slidex® MRSA Detection, bioMerieux, Франція) встановлювали наявність пеніцилін-зв'язуючого білка PBP2', що є продуктом гена *mesA* і визначає метицилінорезистентність. Крім того, проводили оцінку функціональної активності протонної ефлюксної помпи NorA, яка забезпечує резистентність до природних та синтетичних катіонних сполук, у т.ч. фторхінолонів.

З цією метою реєстрували зміну чутливості штамів до цiproфлоксацину в присутності 30 мкг/мл специфічного інгібітора помпи NorA — резерпіну [10].

Вивчення протимікробної активності екстрактів. Дослідження протистафілокової активності екстрактів бруньок берези виконували описаним раніше методом двохкратних серійних розведенів в агарі [3, 8]. Враховуючи макроскопічні ознаки росту культур, а також наявність мікроколоній при дослідженні під лупою, для кожного штаму встановлювали мінімальні бактеріостатичні концентрації — МБсК (після культивування протягом одної доби) і мінімальні бактерицидні концентрації — МБцК (через три доби). Обчислювали також МБцК₉₀ і МБсК₉₀ — концентрації, ефективні відносно 90 % тест-штамів, та середні геометричні діючі концентрації.

Статистичну обробку результатів виконували за допомогою пакетів комп'ютерних програм Excel 7.0 і Statistica 5.0 for Windows.

Результати дослідження та їх обговорення

У табл. 1 наведено результати тестування чутливості *S. aureus* і коагулазо-негативних стафілококів до 90 % водно-етанольного екстракту бруньок берези. При розведенні екстракту 1:64 (концентрація екстрагованих речовин 468,75 мкг/мл) спостерігалося повне пригнічення росту 88,9 % штамів золотистого стафілокока і 82,3 % штамів коагулазо-негативних стафілококів. Виражений бактеріостатичний ефект відносно *S. aureus* (65,6 % штамів) і коагулазо-негативних стафілококів (88,2 % штамів) проявлявся при розведенні 1:128 (концентрація екстрагованих речовин — 234,38 мкг/мл). Серед коагулазо-негативних стафілококів помітну стійкість до екстракту проявляли 25,0 % штамів *S. haemolyticus*, які виявились не чутливими до розведенів $\geq 1:32$.

Колекційні штами *S. aureus* (переважна більшість яких виділена з клінічного матеріалу ще у 40—50 роки ХХ ст.) характеризуються помітно вищою чутливістю до антибіотичних сполук екстракту бруньок берези. Для 9-ти із 16-ти музейних штамів (56,3 %) бактерицидний ефект екстракту спостерігався при розведенні 1:256 (концентрація екстрагованих речовин 117,19 мкг/мл). Аналогічний рівень чутливості був лише у 2,4 % сучасних клінічних ізолятів *S. aureus* і 2,0 % ізолятів коагулазо-негативних стафілококів ($p < 0,001$).

За допомогою фракційного екстрагування різними органічними розчинниками для подальшого тестування було одержано екстракти бруньок берези бородавчастої, збагачені окремими класами органічних речовин. Встановлено, що при послідовній вичерпній екстракції розчинниками із зростаючою полярністю протимікробні компоненти бруньок нагромаджуються виключно у хлороформному й етилацетатному екстрактах — МБсК₉₀ відносно штамів *S. aureus* 500 і 250 мкг/мл відповідно, відносно коагулазо-негативних стафілококів — 1000 і 125 мкг/мл. МБцК₉₀ зазначених екстрактів знаходиться в діапазоні 500—1000 мкг/мл. Гексановий і бутанольний екстракти бруньок берези практично позбавлені помітних протимікробних властивостей ($\text{МБсК}_{90} > 2000 \text{ мкг/мл}$).

Схожа картина спостерігається при аналізі результатів дослідження фракцій 70 % водно-ацетатного екстракту. Його бутанольна і водна фракції не активні ($\text{МБсК}_{90} > 2000 \text{ мкг/мл}$). Проте слід відзначити помітний перерозподіл протимікробних сполук у хлороформній і етилацетатній фракціях порівняно з попереднім способом екстрагування. Протимікробна активність хлороформної фракції 70 % водно-ацетонового екстракту відносно всіх видів стафілококів виявилася вищою ($\text{МБцК}_{90} = 500 \text{ мкг/мл}$, $\text{МБсК}_{90} = 250 \text{ мкг/мл}$), ніж активність етилацетатної фракції ($\text{МБцК}_{90} = 1000—2000 \text{ мкг/мл}$, $\text{МБсК}_{90} = 250—1000 \text{ мкг/мл}$).

Зазначені закономірності ще виразніше проявляються після проведення аналізу середніх геометричних значень ефективних діючих концентрацій екстрактів, обчислених з урахуванням видової належності штамів стафілококів

Таблиця 1

Розподіл штамів стафілококів за чутливістю до 90 % водно-етанольного екстракту бруньок берези бородавчастості

Види стафілококів	Кількість штамів	Розведення екстракту						
		1:8*	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
		3750**	1875	937,5	468,75	234,38	117,19	58,59
МБцК								
<i>S. aureus</i>	99	0	6†/6,1††	5/5,1	67/67,7	10/10,1	8/8,1	3/3,0
Коагулазо-негативні стафілококи:								
<i>S. epidermidis</i>	17	0	1/5,9	2/11,8	12/70,6	2/11,8	0	0
<i>S. haemolyticus</i>	20	1/5,0	1/5,0	3/15,0	13/65,0	2/10,0	0	0
<i>S. intermedius</i>	1	0	0	0	1	0	0	0
<i>S. hominis</i>	6	0	0	1/16,7	4/66,7	1/16,7	0	0
<i>S. cohnii</i> ssp. <i>cohnii</i>	1	0	0	0	0	1	0	0
<i>S. capitis</i>	2	0	0	0	0	1	1	0
<i>S. sciuri</i>	1	0	0	0	0	1	0	0
<i>S. simulans</i>	1	0	0	0	1	0	0	0
<i>S. saprophyticus</i>	2	0	0	0	1	1	0	0
Усього:	51	1/2,0	2/3,9	6/11,8	32/62,7	9/17,6	1/2,0	0
МБсК								
<i>S. aureus</i>	99	0	0	1/1,0	33/33,3	24/24,2	30/30,3	11/11,1
Коагулазо-негативні стафілококи:								
<i>S. epidermidis</i>	17	0	0	0	3/17,6	13/76,5	1/5,9	0
<i>S. haemolyticus</i>	20	0	0	0	2/10,0	3/15,0	14/70,0	1/5,0
<i>S. intermedius</i>	1	0	0	0	0	1	0	0
<i>S. hominis</i>	6	0	0	0	0	2/33,3	4/66,7	0
<i>S. cohnii</i> ssp. <i>cohnii</i>	1	0	0	0	0	0	1	0
<i>S. capitis</i>	2	0	0	0	0	0	0	2
<i>S. sciuri</i>	1	0	0	0	0	0	1	0
<i>S. simulans</i>	1	0	0	0	1	0	0	0
<i>S. saprophyticus</i>	2	0	0	0	0	0	1	1
Усього:	51	0	0	0	6/11,8	19/37,3	22/43,1	4/7,8

*Розведення водно-етанольних екстрактів.

**Концентрація екстрагованих речовин, мкг/мл.

†Кількість штамів з відповідними значеннями МБцК і МБсК.

††Відсоток штамів з відповідними значеннями МБцК і МБсК

(табл. 2). Середня МБцК етилацетатного екстракту бруньок берези для клінічних штамів *S. aureus* становить 500 мкг/мл, а для більшості видів коагулазо-негативних стафілококів — 250—500 мкг/мл (МБцК хлороформного екстракту — >2000 мкг/мл). Середня МБсК етилацетатного екстракту для *S. aureus* — 215,49 мкг/мл, для коагулазо-негативних стафілококів — 62,5—176,8 мкг/мл. Аналіз середніх геометричних значень МБцК і МБсК фракцій 70 % водно-акетонового екстракту свідчить про те, що значна частина протимікробних сполук під час процесу фракціонування цього екстракту переходить у хлороформну фракцію. Можна припустити, що при вказаному способі екстрагування відбувається гідроліз гліказидів з вивільненням агліконів, які мають більшу розчинність у хлороформі.

Важливе практичне значення має порівняння характеру дії протимікробних сполук бруньок берези на стафілококи з різними детермінантами і профілями антибіотикорезистентності. Після створення груп штамів, однорідних за детермінантами антибіотикорезистентності, було визначено середні геометричні значення рівнів чутливості до екстрактів бруньок берези в межах кожної гру-

Таблиця 2

Середні геометричні значення ефективних діючих концентрацій (мкг/мл) екстрактів бруньок берези відносно стафілококів

Види стафілококів	90 % етанольний екстракт	Послідовна екстракція органічними розчинниками із зростаючою поганірністю			Фракції 70 % водно-акетонового екстракту	
		гексан	хлороформ	етилацетат	хлороформ	етилацетат
МБцК						
<i>S. aureus</i>	590,59	—	2828,43	500	371,5	1414,21
<i>S. epidermidis</i>	625,71	2651,7	2000	388,6	353,6	1000
<i>S. haemolyticus</i>	618,52	—	2378,4	420,4	420,4	840,9
<i>S. intermedius</i> *	468,75	—	2000	250	1000	2000
<i>S. hominis</i>	468,75	—	2828,4	500	707,1	2000
<i>S. cohnii</i> ssp. <i>cohnii</i> *	234,38	—	—	250	62,5	1000
<i>S. capitis</i>	234,38	—	2828,4	707,1	500	2000
<i>S. sciuri</i> *	234,38	—	2000	500	500	2000
<i>S. simulans</i> *	468,75	—	2000	250	62,5	1000
<i>S. saprophyticus</i>	331,46	—	2000	500	500	2000
МБсК						
<i>S. aureus</i>	312,86	2438,03	861,97	215,49	250	371,5
<i>S. epidermidis</i>	234,8	234,38	250	88,32	88,39	707,1
<i>S. haemolyticus</i>	177,63	2378,4	840,9	176,8	250	353,6
<i>S. intermedius</i> *	234,38	—	2000	125	500	2000
<i>S. hominis</i>	234,38	—	2000	176,8	500	2000
<i>S. cohnii</i> ssp. <i>cohnii</i> *	117,19	—	2000	62,5	31,25	1000
<i>S. capitis</i>	58,59	2000	2000	171,8	500	2000
<i>S. sciuri</i> *	117,19	15,6	31,25	125	500	2000
<i>S. simulans</i> *	468,75	1000	500	62,5	31,25	62,5
<i>S. saprophyticus</i>	117,18	124,9	250	125	500	2000

*Протимікробні концентрації вказані для індивідуальних штамів.

пи. Для виявлення можливого взаємозв'язку між чутливістю стафілококів до досліджуваних екстрактів і детермінантами антибіотикорезистентності до уваги брали коефіцієнт конкорданності — відношення середнього геометричного значення МБцК (МБсК) антибіотикочутливих штамів до відповідних показників штамів з фенотипом антибіотикорезистентності. Значення коефіцієнта $> 1,0$ вказує на порівняно низьку активність досліджуваного препарату відносно антибіотикорезистентних штамів порівняно з антибіотикочутливими. При значеннях коефіцієнта $\leq 1,0$ слід очікувати, що досліджуваний препарат може бути потенційним інгібітором того або іншого механізму антибіотикорезистентності. Безумовно, такий методологічний підхід значною мірою є спекулятивним, але він допускає можливість попередньої оцінки препарату для визначення доцільності його подальшого тестування. Адже дослідження синергізму протимікробної дії є достатньо трудомістким, на характер одержаних результатів значною мірою впливає взятий до уваги діапазон концентрацій сполук (що вимагає додаткової деталізації експерименту), і це унеможливлює застосування із зазначеною метою традиційного скринінгового підходу. Є всі підстави вважати, що попереднє математичне моделювання ситуації дозволить окреслити коло препаратів, перспективних для пошуку нових інгібіторів детермінант антибіотикорезистентності мікроорганізмів.

Дискримінантний аналіз маркерів антибіотикорезистентності дозволив чітко окреслити дві групи штамів *S. aureus*: MRSA — MecA⁺NorA⁺ з додатковою ознакою резистентності до гентаміцину (Gen^R) і MSSA — MecA⁻NorA⁻ (Gen^S). На рис. 1 графічно зображені значення коефіцієнта конкорданності для екстрактів бруньок берези. Вони вказують на порівняно високу чут-

Таблиця 3

Дисперсійний аналіз (ANOVA) взаємозв'язків між чутливістю до оксациліну і ципрофлоксацину та до екстрактів бруньок берези у клінічних ізолятів стафілококів (значення критерію Фішера при порівнянні МБцК)

Незалежний і залежний фактори	Кофактори				
	Betula	Ch	EtAc	A_Ch	A_EtAc
OXA ¹ :CIP ²	4,053 p=0,06	4,812 p=0,04*	3,485 p=0,08	3,922 p=0,06	4,738 p=0,04*
OXA:Betula	—	0,573 p=0,46	0,706 p=0,41	0,573 p=0,46	0,019 p=0,89
OXA:Ch	0,098 p=0,76	—	0,197 p=0,66	0,063 p=0,80	0,059 p=0,81
OXA:EtAc	0,207 p=0,65	0,176 p=0,68	—	0,637 p=0,43	0,016 p=0,90
OXA:A_Ch	2,542 p=0,13	2,115 p=0,16	2,768 p=0,11	—	0,364 p=0,55
OXA:A_EtAc	2,734 p=0,11	3,315 p=0,08	3,290 p=0,08	1,477 p=0,24	—
CIP:OXA	15,658 p=0,0001*	13,873 p=0,0002*	13,881 p=0,0002*	11,742 p=0,0004*	10,830 p=0,0007*
CIP:Betula	—	0,127 p=0,88	0,111 p=0,90	0,351 p=0,71	0,147 p=0,86
CIP:Ch	2,261 p=0,13	—	1,525 p=0,24	2,260 p=0,13	1,159 p=0,33
CIP:EtAc	0,785 p=0,47	0,391 p=0,68	—	0,997 p=0,39	1,113 p=0,35
CIP:A_Ch	3,039 p=0,07	0,997 p=0,39	2,986 p=0,07	—	0,725 p=0,50
CIP:A_EtAc	2,070 p=0,15	2,756 p=0,09	3,961 p=0,04*	1,409 p=0,27	—

П р и м і т к а . 1 — незалежний фактор, 2 — залежний фактор.

У мовні позначення екстрактів бруньок берези: Betula — 90 % водно-етанольний екстракт; Ch — хлороформний; EtAc — етилацетатний; A_Ch — хлороформна фракція 70 % водно-ацетонового екстракту; A_EtAc — етилацетатна фракція 70 % водно-ацетонового екстракту.

*Взаємозв'язок достовірний ($p < 0,05$).

ливість $\text{MecA}^+ \text{NorA}^+$ *S. aureus* до етилацетатної фракції 70 % водно-ацетонового екстракту.

Для охарактеризованих клінічних ізолятів коагулазо-негативних стафілококів властива значна гетерогенність за фенотипом антибіотикорезистентності. Метициліночутливі коагулазо-негативні стафілококи (MS-CNS) характеризувалися високою чутливістю до ципрофлоксацину і генатміцину (NorA-Gen^s). Метицилінорезистентні штами (MR-CNS), у переважній більшості *S. haemolyticus*, поряд з різко позитивною реакцією на пеніцилін-зв'язуючий білок PBP2' і високими значеннями МБцК оксациліну ($128 \rightarrow 256 \text{ мкг/мл}$) проявляли високу резистентність до ципрофлоксацину (МБцК — 25—200 мкг/мл) і гентаміцину (МБцК — 50—200 мкг/мл). Різке зменшення МБцК ципрофлоксацину для цих штамів у присутності резерпіну (30 мкг/мл) вка-

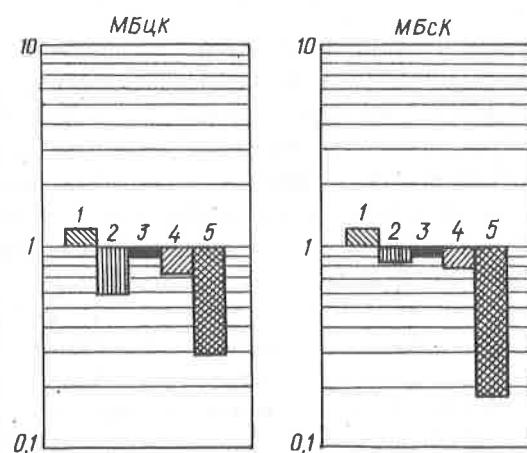


Рис. 1. Співвідношення середніх геометрических значень ефективних протимікробних концентрацій екстрактів бруньок берези (коєфіцієнт конкорданності) відносно штамів *S. aureus* з різними детермінантами антибіотикорезистентності (МБцК_{MecA⁺ NorA⁺}/МБцК_{MecA NorA}): 1 — 90 % етанол, 2 — CHCl₃, 3 — EtAc, 4 — Ac₂CHCl₃, 5 — Ac_EtAc



Рис. 2. Співвідношення середніх геометричних значень ефективних протимікробних концентрацій екстрактів бруньок берези (коєфіцієнт конкорданності) відносно штамів коагулазо-негативних стафілококів з різним рівнем метицилінорезистентності: резистентних — MR-CNS, з пороговою резистентністю — MIR-CNS і чутливих — MS-CNS: А — $MBCN_{MR-CNS}/MBCN_{MS-CNS}$; В — $MBCN_{MIR-CNS}/MBCN_{MS-CNS}$; позначення 1—5 див. рис. 1

місці — 12,5 мкг/мл), так і з фенотипом NorA⁺-Gen^S. Ураховуючи цей факт, аналіз чутливості коагулазо-негативних стафілококів до екстрактів берези було виконано з урахуванням кожної детермінанти антибіотикорезистентності зокрема (рис. 2 і 3). Наведені результати свідчать, що MR-CNS і MIR-CNS мають вищий рівень чутливості до етилацетатної фракції 70 % водно-ацетонового екстракту бруньок берези порівняно з метициліночутливими штамами. Відносно NorA⁺-CNS досить високу активність виявила не лише етилацетатна, але і хлороформна фракції.

Для оцінки достовірності відмінностей значень чутливості до екстрактів бруньок берези у стафілококів з різними детермінантами антибіотикорезистентності нами застосовано кореляційний і багатофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA). Результати кореляційного аналізу свідчать про високодостовірний прямий взаємозв'язок ($r = +0,552$, $p = 0,005$) між чутливістю стафілококів до протимікробних сполук хлороформної та етилацетатної фракцій 70 % водно-ацетонового екстракту. Результати дисперсійного аналізу (табл. 3) підтверджують існування взаємозв'язків між антибіотикорезистентністю стафілококів та їх чутливістю до етилацетатних і хлороформних екстрактів бруньок берези.

Слід відзначити, що в цілому рівень резистентності стафілококів до ципрофлоксацину пов'язаний з чутливістю до екстрактів бруньок берези в більшій

Рис. 3. Співвідношення середніх геометричних значень ефективних протимікробних концентрацій екстрактів бруньок берези (коєфіцієнт конкорданності) відносно NorA⁺ і NorA⁻ штамів коагулазо-негативних стафілококів ($MBCN_{NorA+}/MBCN_{NorA-}$): позначення 1—5 див. рис. 1

зусі на функціонування протонної MDR-помпи NorA.

Разом з тим, частина клінічних ізолятів коагулазо-негативних стафілококів з рівнем MBCN оксациліну в межах 32–64 мкг/мл давали мікроаглютинацію з частинками латексу, навантаженими моноклональними анти-тілами проти PBP2' і були охарактеризовані як штами з пороговою резистентністю (MIR-CNS). Серед них зустрічалися ізоляти як з фенотипом NorA⁺-Gen^{IR} (MBCN ципрофлоксацину — 6,25–12,5 мкг/мл, MBCN гентаміцину — 12,5 мкг/мл), так і з фенотипом NorA⁻-Gen^S.

Ураховуючи цей факт, аналіз чутливості коагулазо-негативних стафілококів до екстрактів берези було виконано з урахуванням кожної детермінанти антибіотикорезистентності зокрема (рис. 2 і 3). Наведені результати свідчать, що MR-CNS і MIR-CNS мають вищий рівень чутливості до етилацетатної фракції 70 % водно-ацетонового екстракту бруньок берези порівняно з метициліночутливими штамами. Відносно NorA⁺-CNS досить високу активність виявила не лише етилацетатна, але і хлороформна фракції.

Для оцінки достовірності відмінностей значень чутливості до екстрактів бруньок берези у стафілококів з різними детермінантами антибіотикорезистентності нами застосовано кореляційний і багатофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA). Результати кореляційного аналізу свідчать про високодостовірний прямий взаємозв'язок ($r = +0,552$, $p = 0,005$) між чутливістю стафілококів до протимікробних сполук хлороформної та етилацетатної фракцій 70 % водно-ацетонового екстракту. Результати дисперсійного аналізу (табл. 3) підтверджують існування взаємозв'язків між антибіотикорезистентністю стафілококів та їх чутливістю до етилацетатних і хлороформних екстрактів бруньок берези.

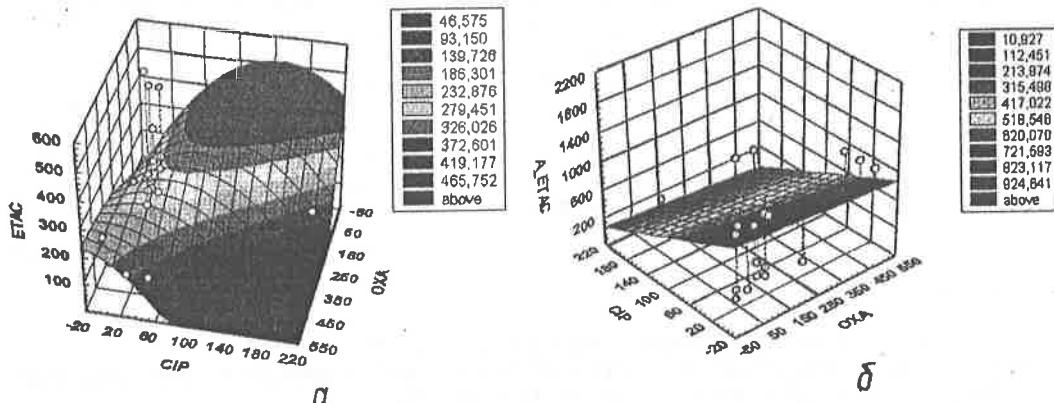


Рис. 4. Демонстрація взаємозв'язків між антибіотикорезистентністю стафілококів та їх чутливістю до етилацетатних екстрактів бруньок берези (аналіз МБцК) за допомогою графіків розсіювання. Методи згладжування:
а — поліномна функція другого порядку, б — лінійна функція

мірі, ніж їх резистентність до оксациліну. Це твердження може бути яскраво проілюстроване за допомогою тривимірних діаграм розсіювання. Кут нахилу площини графіка розсіювання, побудованого з використанням лінійної функції згладжування (рис. 4б), вказує на достовірно вищу чутливість до етилацетатної фракції 70 % водно-ацетонового екстракту бруньок берези ципрофлоксацин-резистентних (NorA^+) стафілококів порівняно з ципрофлоксацин-чутливими (NorA^-) штамами ($p < 0,001$). Орієнтація площини графіка розсіювання, побудованого з використанням для згладжування поліномної функції другого порядку (рис. 4а), вказує на істотне зростання чутливості стафілококів до етилацетатного екстракту в міру наростання їх резистентності як до оксациліну, так і до ципрофлоксацину.

Таким чином виконаний математичний аналіз чутливості стафілококів з різними детермінантами і профілями антибіотикорезистентності до компонентів бруньок берези вказує на перспективність цілеспрямованого пошуку в їх етилацетатному і хлороформному екстрактах сполук, які потенціюють дію класичних антибіотиків, передусім інгібіторів протонних ефлюксних помп.

Висновки

1. Водно-етанольний екстракт бруньок берези бородавчастої має виражену бактерицидну і бактеріостатичну активність відносно стафілококів, включаючи поліантибіотикорезистентні клінічні ізоляти.

2. Оптимальний режим екстрагування бруньок берези для виділення комплексу протимікробних сполук полягає у попередньому очищенні сировини від неактивних ліпофільних речовин гексаном з наступним одержанням антибіотично активних хлороформного й етилацетатного екстрактів.

3. Компоненти хлороформного й етилацетатного екстрактів бруньок берези мають виражену протимікробну активність відносно стафілококів, антибіотикорезистентність яких визначається функціонуванням ефлюксної помпи NorA і продукцією контрольованого геном tescA специфічного пеніцилін-зв'язуючого білка $\text{PBP2}'$ — детермінанти метицилінорезистентності.

1. Айзенман Б.Е., Смирнов В.В., Бондаренко А.С. Фитонциды и антибиотики высших растений. — К.: Наук. думка, 1984. — 279 с.
2. Дроботько В.Г., Айзенман Б.Е., Швайгер М.О. и др. Антимикробные вещества высших растений. — К.: Изд-во АН УССР, 1958. — 336 с.
3. Куцик Р.В. // Галицький лік. вісн. — 2005. — Т. 12, № 3. — С. 52–58.
4. Куцик Р.В. // Фармац. журн. — 2005. — № 1. — С. 81–88.
5. Куцик Р.В., Зузук Б.М. // Провизор. — 2001. — № 10. — С. 17–20; — № 11. — С. 23–27.

6. Николаєва В.Г., Хохлова А.А. // Раст. ресурси. — 1978. — Т. 14, Вып. 2. — С. 234—237.
7. Николаєва В.Г., Хохлова А.А. // Там же. — 1981. — Т. 17, Вып. 3. — С. 410—413.
8. Фрич Н.І., Вівчарук Л.М., Мізюк Р.М. та ін. // Фармац. журн. — 2005. — № 2. — С. 97—104.
9. Chambers H.F. // Clin. Microbiol. Rew. — 1997. — Vol. 10, № 4. — P. 781—791.
10. Gibbons S., Oluwatuyi M., Kaatz G.W. // J. Antimicrob. Chemother. — 2003. — Vol. 51, № 1. — P. 13—17.
11. Lyon B.R., Skurray R. // Microbiol Rev. — 1987. — Vol. 51, № 1. — P. 88—134.
12. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Ninth Informational Supplement // NCCLS M 100-S8; M 100-S9. — January, 1999.

Надійшла до редакції 14.12.2005.

P. B. Куцый

ІЗУЧЕННЯ ПРОТИВОМИКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ЕКСТРАКТОВ ПОЧЕК БЕРЕЗЫ БОРОДАВЧАТОЙ ОТНОСИТЕЛЬНО СТАФИЛОКОККОВ С РАЗЛИЧНИМИ ДЕТЕРМИНАНТАМИ АНТИБІОТИКОРЕЗІСТЕНТНОСТІ

Установлена выраженная бактерицидная активность экстрактов почек березы бородавчатой относительно клинических изолятов стафилококков с различными профилями и детерминантами антибиотикорезистентности. Максимальной противостафилококковой активностью обладают хлороформные и этилацетатные экстракти. С помощью методов математического анализа обосновано присутствие в экстрактах почек березы ингибиторов протонного эфлюксного насоса полирезистентности NorA, обеспечивающего устойчивость стафилококков к фторхинолонам и другим катионным соединениям.

R. V. Kutsyk

INVESTIGATION ON OF BIRCH BUDS ANTIBACTERIAL ACTIVITY AGAINST STAPHYLOCOCCI WITH VARIOUS RESISTANCE DETERMINANTS

SUMMARY

The significant bactericidal activity of birch (*Betula verrucosa Ehrh.*) buds extracts against clinical isolates of staphylococci with various resistance profiles and determinants was revealed. In agar dilution test MBC₉₀ of the raw 90 % ethanolic extract were 468,75 mkg/ml for PBP2'-producing (mecA-positive) staphylococci and 117,19 mkg/ml for methicillin-sensitive *S. aureus* strains. The highest antibiotic activity has been shown by chloroform and ethyl acetate extracts, especially against ciprofloxacin-resistant isolates. The presence of NorA MDR efflux pump inhibitors in birch buds by mathematical analysis was established.

УДК 615.322:582.998.2:581.135.51|.076 (477)

*О. В. ГРЕЧАНА, аспірант, О. В. МАЗУЛІН, д-р фармац. наук,
С. В. СУР, д-р фармац. наук, О. Г. ВИНОГРАДОВА, канд. хім. наук,
О. В. ПРОКОПЕНКО, канд. хім. наук*

Запорізький державний медичний університет

ФІТОХІМІЧНЕ ВИВЧЕННЯ ЕФІРНОЇ ОЛІЇ ПОЛИНУ ГІРКОГО

Ключові слова: полин гіркий, ефірна олія, фази вегетації, вміст ефірних олій

Флора України багата на лікарські рослини. Чимало з них є цінними джерелами біологічно активних речовин: ефірних олій, флавоноїдів, каротиноїдів, вітамінів, амінокислот та ін. [3, 5, 7]. Ефірні олії з рослин широко використовуються в сучасній медицині як у чистому вигляді, так і в складі комплексних фітопрепаратів як високоефективні протизапальні, антимікробні, ранозагоувальні, тонізуючі, імуностимулювальні, спазмолітичні засоби [2, 3, 5, 6, 9, 10]. Великий практичний інтерес викликають ефіроолійні види роду Полин (Arte-

misia L.) родини Айстрових (Asteraceae). Одним з найбільш розповсюдженіх в Україні видів роду Полин є полин гіркий (*Artemisia absinthium* L.), який росте майже по всій території нашої країни і має достатню сировинну базу [1, 5, 7].

У сучасній фітотерапії настій полину гіркого широко використовують при порушеннях травлення, зниженні кислотності, шлункових коліках, гастритах, метеоризмі, при захворюваннях печінки та жовчного міхура, при анемії, бессонні тощо [3, 5, 6, 9, 10].

Відомо, що в траві рослини наявні ефірна олія, яка містить азулени, вітаміни, фенолкарбонові та амінокислоти, кумарини, полісахариди [1, 3, 4, 8]. Однак до теперішнього часу недостатньо вивчено склад, фізико-хімічні властивості накопичення у вегетаційний період та фармакологічну активність ефірної олії з полину гіркого.

Метою даної роботи є проведення фітохімічного вивчення сировини полину гіркого на вміст і склад ефірної олії та оптимізація терміну заготівлі рослини.

Експериментальна частина

Досліджувану лікарську рослинну сировину заготовляли навколо міст Запоріжжя, Донецька, Дніпропетровська, а також у районах цих обласних центрів у різні вегетаційні періоди (червень—серпень 2003—2005 рр.). Ефірну олію отримували методом Клевенджера, визначали її органолептичні властивості та фізико-хімічні константи. Одержані показники наведені в табл. 1.

Таблиця 1

Фізико-хімічні показники якості ефірних олій лікарської рослинної сировини полину гіркого, заготовленого у червні—серпні 2004 р., n = 6

Показник якості	Період заготівлі		
	утворення пуп'янок	цвітіння	плодоношення
Вміст, %	1,12 + 0,07	2,35 + 0,05	2,40 + 0,04
Густина, ρ_{20}	0,78	0,87	0,89
Показник заломлення, n^{20}	1,4460 + 0,0530	1,4910 + 0,0620	1,5200 + 0,0735
Показник обертання, α_D^{20}	- 5,20	- 5,40	- 5,40
Кислотне число	1,15 + 0,16	1,43 + 0,19	1,45 + 0,19
Ефірне число	39,55 + 0,24	55,56 + 0,31	56,65 + 0,33
Ефірне число після ацетилювання	66,21 + 0,66	90,35 + 0,72	93,44 + 0,88

Аналіз компонентного складу ефірної олії проводили методом ГРХ-МС на приладі Carlo Erba Fractovap Ser.4200. Компоненти ідентифікували за індексами утримання Ковача, а також за характерними відомими мас-спектрами з комп’ютерної бібліотеки пошуку.

Для розділення компонентів ефірної олії використовували колонку ULTRA-1 (Hewlett-Packard) завдовжки 25 м, внутрішній діаметр — 20 мм, товщина нерухомої фази — 0,33 мкм, газ-носій — гелій (1 мл/хв). Мас-спектри ідентифікували на мас-спектрометрі Finnigan MAT ITD-700 (удар електронів — 70 еВ, діапазон мас m/z — 50—500), частота сканування — 1 скан/с. Збирання та обробку даних проводили в системі ITDS, версія 4,10 (конвертовано у формат НРСем.). Використовували також газо-рідинний хроматограф «Перкін-Елмер». Колонка кварцева мікрокапілярна завдовжки 30 м, внутрішній діаметр — 0,32 мм, рухома фаза Innovax — 0,25 мм. Температура випаровувача — 220 °C, колонок — від 80 до 200 °C у режимі програмування (5 °C/хв). Газ-носій — гелій, детектор — полуменево-іонізаційний. Швидкість повітря — 300 мл/хв, водню — 30 мл/хв. Отримані дані наведені у табл. 2.

Таблиця 2

Компонентний склад ефірних олій лікарської рослинної сировини полину гіркого, заготовленої у червні—серпні 2004 р., $n = 6$

Компонент	Утримування, с	Кількісний склад, %		
		утворення пуп'янок	шітіння	плодоношення
Кумол	80	0,28	0,23	0,16
α -Пінен	92	0,22	0,10	0,10
α -Фенхен	120	0,56	0,33	0,32
Сабінен	150	0,65	0,55	0,53
β -Мірцен	185	4,11	2,60	2,35
α -Феландрен	220	0,27	0,14	0,13
α -Терпінен	228	0,22	—	—
п-Цимол	259	0,55	0,90	0,90
β -Феландрен	270	0,50	1,00	0,99
1,8-Цинеол	350	—	0,15	0,13
Цис- β -оцимен	370	—	0,33	0,32
γ -Терпінен	420	0,65	0,30	0,29
Транс-сабінен-гідрат	435	0,07	0,05	—
Ліналоол	520	2,08	2,30	2,27
α -Туйон	528	16,15	6,30	6,28
β -Туйон	564	19,45	8,10	8,06
Епокси-оцимен	635	0,03	—	—
Камфора	656	1,23	1,31	1,80
Лавандулол	676	0,08	0,02	—
Терпінеол-4	688	4,32	2,10	1,99
α -Терпінеол	722	3,00	2,56	2,54
Туйловий спирт	730	3,17	2,00	1,98
Борнілацетат	735	6,67	7,10	7,10
Туйлацетат	740	2,33	2,11	2,10
Нерилацетат	746	0,08	—	—
α -Копаен	756	1,33	1,23	1,22
β -Бурбонен	765	2,11	2,10	1,60
β -Елемен	780	1,79	1,80	1,80
Каріофілен	785	—	2,11	2,10
Нерилпропіонат	790	—	0,43	0,69
Гумулен	798	0,22	1,34	1,32
Гермакрен-Д	810	0,77	1,88	1,86
аг-Куркумен	814	2,03	2,05	2,04
β -Селінен	818	1,08	2,03	2,00
Нерил-2-метилпропіонат	820	1,78	2,00	1,99
Біциклогермакрен	824	0,09	0,11	0,14
Ліноліл-2-метилбутират	828	1,23	2,05	2,03
Ліноліл-3-метилбутират	830	1,05	2,07	2,05
Гераніл-2-метилпропіонат	832	0,23	0,25	0,24
δ -Кадинен	837	0,34	0,40	0,40
Транс-неролідол	843	0,26	0,31	0,30
Цитронеліл-2-метилбутират	854	0,36	0,41	0,40
Нерил-2-метилбутират	862	2,56	3,17	3,16
Нерил-3-метилбутират	865	0,98	2,11	2,09
Гераніл-2-метилбутират	868	1,03	2,08	2,35
Гераніл-3-метилбутират	874	0,77	1,84	1,83
γ -Евдесмол	877	0,67	1,23	1,46
Інтермедіол	879	1,06	2,12	2,10
α -Бісаболол	960	0,97	1,06	1,03
Хамазулен	980	0,23	6,16	5,98
Артемазулен	995	0,34	1,59	1,49
Гвайазулен	1050	0,05	2,57	2,39
Кетопеленолід А	1200	—	1,66	1,48
Артабсин	1210	0,09	1,87	1,72
Аустрицин	1215	0,55	1,23	1,19
Артемін	1220	0,56	1,19	0,87
Неідентифіковані компоненти	—	8,80	7,09	8,34

Результати дослідження та їх обговорення

Ефірні олії являють собою рідини брунатно-синього кольору, непрозорі, в'язкі із запашним своєрідним запахом і пряні на смак, легко розчинні в 96 % етиловому спирті, хлороформі, ацетоні, ефірі. Залежно від періоду заготівлі сировини вміст ефірної олії в ній становив від $1,12 \pm 0,07\%$ до $2,40 \pm 0,04\%$ (табл. 1). При цьому слід відзначити, що у фазу утворення пуп'янок ефірної олії в сировині накопичувалось удвічі менше.

Фізико-хімічні константи ефірних олій у різні фази заготівлі сировини істотно відрізнялися. Ефірна олія з сировини, заготовленої у стадію плодоношення, мала найбільше значення кислотного та ефірного чисел, що свідчить про високу насиченість вільними кислотами та складними ефірами. Вищі значення густини і показника заломлення свідчили про накопичення парафінів у кінці періоду вегетації рослини. У складі ефірних олій встановлено наявність до 56 компонентів, основні з яких β -мірцен, α -туйон, β -туйон, терпінеол-4, α -терпінеол, туйловий спирт, хамазулен, артемазулен, гвайазулен, кетопеленолід А, артабсин, аустрицин. З них вперше в полину гіркому на мікрокапілярних колонках ідентифіковано туйловий спирт, артемазулен, гвайазулен, кетопеленолід А, артабсин, аустрицин, артемін. Мінімальний вміст біологічно активного хамазулену, проазуленів та сесквітерпенових лактонів відзначено в період утворення пуп'янок (до 1,82 %), а інтенсивне накопичення цієї групи сесквітерпеноїдів (до 16,21 %) відмічено в період цвітіння зі зниженням у стадії плодоношення (до 15,12 %).

Отримані дані свідчать про раціональну заготівлю лікарської рослинної сировини в середині періоду цвітіння до початку плодоношення.

Висновки

1. Вивчено накопичення, фізико-хімічні властивості та склад ефірної олії трави полину гіркого у різні фази вегетації.
2. Методами газо-рідинної хроматографії на капілярних колонках та хромато-мас-спектрометрії в ефірній олії полину гіркого ідентифіковано до 56 компонентів.
3. Встановлено терміни раціональної заготівлі лікарської рослинної сировини полину гіркого залежно від накопичення біологічно активних азуленів.

1. Гречаная Е.В., Мазулин А.В. // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. — 2003. — Вип. X. — С. 134—137.
2. Запрометов М.Н. // Физиология растений. — 1993. — Т. 40, № 6. — С. 921—931.
3. Кьюсов П.А. Полный справочник лекарственных растений. — М.: Эксмопресс , 2000. — 991 с.
4. Красноборов И.М. // Флора Сибири. — 1997. — Т. 13. — С. 90—141.
5. Лебеда А.Ф., Джуренко Н.И., Исайкина А.П. и др. Лекарственные растения. Полная энциклопедия. — М.: АСТ-ПРЕСС книга, 2004. — 907 с.
6. Машковский М.Д. Лекарственные средства. — 14-е изд., перераб. и доп. — М.: Новая волна, 2002. — Т. 2. — 592 с.
7. Рандушка Д., Шемшак Л., Габерова И. Цветовой атлас растений. — Братислава: Обзор, 1990. — 411 с.
8. Ханина М.А., Серых Е.А., Покровский Л.М. // Химия раст. сырья. — 2000. — № 3. — С. 33—40.

Надійшла до редакції 28.10.2005.

E.B. Гречаная, A.B. Мазулин, C.B. Сур, E.G. Виноградова, O.B. Прокопенко

**ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЭФИРНОГО МАСЛА
ПОЛЫНИ ГОРЬКОЙ**

Ключевые слова: полынь горькая, эфирное масло, содержание эфирных масел, фазы вегетации

Проведено изучение накопления эфирного масла в траве полыни горькой в разные периоды вегетации и его физико-химических показателей. Методами газо-жидкостной хроматографии на микрокапиллярных колонках и хромато-масс-спектрометрии в эфирном масле полыни

горькой установлено наличие до 55 компонентов, основными из которых являются β -мирцен (до 4,11 %), α -туйон (16,15 %), β -туйон (19,45 %), терпинеол-4 (4,32 %), α -терпинеол (3,00 %), туйоловый спирт (3,17 %), хамазулен (6,16 %), артемазулен (1,59 %), гвайазулен (2,57 %), кетопеленолид А (1,66 %), артабсин (1,87 %), аустрицин (1,23 %). Заготовка лекарственного растительного сырья оптимальна при накоплении азуленов.

O.V.Grechana, O.V.Mazulin, S.V.Sur, O.G.Vinogradova, O.V.Procenko

FYTOCHEMICAL STUDY OF ETHERIC OIL ARTEMISIA ABSINTHIUM L.

Key words: Artemisia absinthium L., etheric oil, accumulation o etheric oil, phases of vegetation

SUMMARY

There has been carried out the study of the etheric oil accumulation in the herb Artemisia absinthium L and of its physical and chemical indices. There are established 55 components by means of gas and liquid chromatography on microcapillary tubes and by means of chromato-mass-spectrometry. The main components are β -myrcen (about 4,11 %), α -tuyon (16,15 %), β -tuyon (19,45 %), trpineol — 4 (4,32 %), α -terpineol (3 %), tuyol alcohol (3,17 %), chamazulen (6,16 %), artemazulen (1,59 %), guaiazulen (2,57 %), ketopelenolid A (1,66 %), artabsine (1,87 %), austicine (1,23 %). There is determined the term of the rational stockpiling of the medicinal vegetable raw Artemisia L. depending on the accumulation of biologically active azulens.

УДК 615.276.035

*С.С.ПШИК, д-р мед. наук, проф., А.Б.ЗІМЕНКОВСЬКИЙ, канд. мед. наук, доц.,
О.Р.ПІНЯЖКО, д-р мед. наук, проф., Т.Б.РИВАК, Л.Й.ТКАЧУК*

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

ФАРМАКОЕПІДЕМІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОФІЛЮ БЕЗПЕКИ МЕДИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ «РЕОПІРИН»

Ключові слова: фармакоепідеміологічні дослідження, реопірин, профіль безпеки

Фармакоепідеміологія — напрямок дослідження лікарських засобів (ЛЗ), що зародився на стику епідеміології та клінічної фармакології. Її метою є вивчення не лише споживання різних ліків, а і їх характеру, доз та режимів призначення, цільових результатів фармакотерапії, ефектів (бажаних, небажаних, побічних) при їх вживанні сукупністю пацієнтів для підтвердження терапевтичної оцінки ЛЗ для всієї популяції після його впровадження на фармацевтичний ринок. Насамперед, фармакоепідеміологія доповнює наявну інформацію про ризик фармакотерапії. Основною її методологічною базою є визначення співвідношення між експозицією ЛЗ та результатами лікування, що виникають у популяції [3, 6].

Реопірин («Гедеон Ріхтер», Рт.) є комбінованим ЛЗ, що містить фенілбутазон та амінофеназон. Він виявляє виражену протизапальну та аналгезуючу дію. Виходячи з цього, його рекомендовано застосовувати для фармакотерапії запальних захворювань суглобів, хребта і позасуглобових м'яких тканин, а також при вираженому бульовому синдромі різної етіології, спричиненому ураженням периферичних нервів, захворюваннями органів малого тазу, очей, серозних оболонок [5].

Механізм протизапальної дії реопірину пов'язаний головним чином з гальмуванням синтезу простагландинів та продукції АТФ, а також з пригніченням

© Колектив авторів, 2006

активності медіаторів запалення, протеолітичних ферментів (гіалуронідази, лізосомальних гідролаз). Він пригнічує активність циклооксигенази (ключового ферменту метаболізму арахідонової кислоти) і підкоркові болові центри, знижує енергозабезпечення в осередку запалення та пірогенний вплив простагландинів, підвищує тепловіддачу. Реопірин ослаблює біль у суглобах у спокої та при русі, зменшує ранкову скутість і припухлість суглобів, поліпшує рухливість [1].

Можливими передбачуваними побічними ефектами реопірину є біль та інфільтрат у місці ін'єкції, затримка рідини в організмі, глюкозурія, гематурия, сонливість. З огляду на ймовірні побічні ефекти, а також можливу підвищену індивідуальну чутливість дорослі та діти, старші 7-ми років, застосовують цей ЛЗ за суворими показаннями, виключно у стаціонарі під наглядом лікаря за умови постійного контролю складу периферичної крові, сечі та функцій печінки [5].

Метою даного дослідження було вивчення профілю безпеки медичного застосування ЛЗ «Реопірин» (розчину для ін'єкцій по 5 мл в ампулах № 5) виробництва АТ «Гедеон Ріхтер» (Угорщина) у неврологічних пацієнтів.

Матеріали та методи дослідження

Первинним документом, за яким здійснювалися дослідження, була «Карта вивчення побічної дії» за формою, погодженою з Відділом фармакологічного нагляду Державного фармакологічного центру (ДФЦ) МОЗ України. Фіксування побічних дій (ПД) ЛЗ здійснювалось згідно з Інструкцією щодо його медичного застосування. Оцінку кожного випадку виникнення ПД проводили за шкалою Нараджу.

Критерієм включення пацієнтів у дослідження були показання до застосування ЛЗ згідно з Інструкцією для його медичного застосування.

Хворі на туберкульоз, психічні та наркологічні захворювання, з онколо-гічною патологією, наявністю лейкоцитів менше $4 \cdot 10^{12}$ л, нирковою та/або печінковою недостатністю, пептичною виразкою шлунка та дванадцятипалої кишki у фазі загострення, тобто з протипоказаннями, зазначеними в Інструкції для медичного застосування даного ЛЗ, не брали участі в дослідженнях.

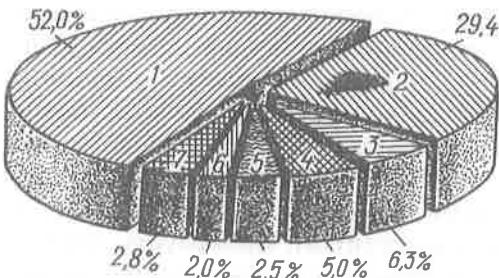
Дослідження проводилося на підставі рішення науково-експертної ради ДФЦ МОЗ України, прийнятого 31.07.2003 р. (протокол № 7), та Наказу ДФЦ МОЗ України № 36 від 05.08.2003 р., кафедрою неврології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького на базі неврологічного відділення Львівської обласної клінічної лікарні у період з 01.11.2003 р. по 25.09.2005 р. і складалося з трьох етапів. У дослідження було включено 600 хворих неврологічного профілю віком від 17 до 81 років (табл.), з них кількість жінок на 2,6 % перевищувала кількість чоловіків.

Кратність введення реопірину визначалась Інструкцією для його медичного застосування. За час виконання досліджень було використано 3500 ампул реопірину. Вивчалась наявність або відсутність ПД даного ЛЗ в клінічних умовах. Випадків виключення пацієнтів з дослідження не було.

Результати дослідження оформлені у вигляді Карт вивчення ПД реопірину. Статистичний аналіз результатів проводився з використанням стандартного пакета статистичних програм Excel Microsoft.

Результати дослідження та їх обговорення

Розподіл пацієнтів за нозологічними одиницями за МКХ-10 представлено на рис. Як видно з рисунка, фармакотерапія реопірином застосовувалась у пацієнтів з остеохондрозом хребта, радикулоневритом, люмбалгією, ішіалгією, ураженням нервів, нервових корінців та сплетінь, розсіяним склерозом, поліневропатіями, а також іншими захворюваннями (у т.ч. ураження нервової си-



Розподіл пацієнтів за МКХ-10:

1 – остеохондроз хребта, 2 – радикулоневрит, 3 – лумбалгія, ішіалгія, інші дорсопатії, 4 – ураження нервів, нервових корінців та сплетінь, 5 – склероз розсійний, 6 – поліневропатія та інші ураження периферичної нервової системи, 7 – інші захворювання

52 % від загальної кількості захворювань:

Найчастішими проявами остеохондрозу є відчуття втоми у спині та біль, що має постійний стискаючий характер з періодичними загостреннями. Його інтенсивність звичайно залежить від положення тіла: біль посилюється при згинанні або розгинанні хребта, а також при різких рухах, підніманні вантажів, застуді, кашлі тощо. Нині, за даними російських дослідників [2], надзвичайно поширеній біль у нижній частині спини («low back pain»), а в розвинутих країнах, за даними експертів ВООЗ, цей симптом досяг розмірів епідемії. Його розповсюдження, в т.ч. серед осіб молодого і середнього віку, обумовлює важливе соціально-економічне значення цієї проблеми. Біль у спині може виникати при низці станів та захворювань опорно-рухового апарату; проте у переважній більшості випадків його безпосередньою причиною є остеохондроз хребта. Отже, основою так званого первинного синдрому болю є саме остеохондроз хребта (спондильоз) у поєднанні з м'язово-зв'язковими порушеннями [4]. Це захворювання обумовлене дегенеративним ураженням хряща міжхребцевого диску (МХД) з реактивними змінами тіл хребців та оточуючих тканин. Залежно від того, які нервові утворення втягнені в патологічний процес ураження структур хребта, розрізняють компресійні, рефлекторні та міоадаптаційні синдроми. Проявом компресійних синдромів є натяг, стиснення та деформація нервового корінця, судини або спинного мозку (відповідно корінцеві, судинні, спінальні синдроми), рефлекторних – рефлекторне напруження інвертуючих м'язів: м'язово-тонічні, судинні, дистрофічні порушення. Патологічний процес найчастіше локалізується у поперековому та шийному відділах хребта. Отже, розрізняють поперекові і шийні синдроми ураження хребта. До поперекових рефлекторних синдромів (біль у спині) належать гострі вертеб-

Контингент хворих неврологічного профілю;
включених у дослідження

Ознака	Показник
Стать: чоловіча, особи	292 (51,3 %)
жіноча, особи	308 (48,7 %)
Середній вік, роки	49
Супутня патологія:	
дисциркуляторна енцефалопатія	10,5 %
гіпертонічна хвороба	0,8 %
вегето-судинна дистонія	0,7 %
хвороба Паркінсона	0,7 %
інші (дифузний зоб, цукровий діабет, холецисто-панкреатит)	0,5 %
Усього пацієнтів:	600

рогенні поперекові болі (люмбаго); підгострі та хронічні вертебробогенні поперекові болі (люмбалгія); більові та рефлекторні прояви, що поширяються з поперекової на сідничну ділянку та нижню кінцівку (люмбоішіалгія); поперекові компресійні синдроми: кила поперекового МХД; шийні компресійні синдроми (синдром компресії спинного мозку та прилеглих судин, спондилогенна шийна міелопатія, синдроми корінцевої компресії); шийні рефлекторні синдроми (цервікобрахіалгії). Основний вертебральний синдром проявляється у формі прострілів — гострих, підгострих та хронічних [2].

Таким чином, більовий синдром є маніфестним проявом зазначененої патології і суттєво погіршує якість життя, виступаючи найголовнішою причиною втрати працездатності хворих. Тому першочерговими завданнями при фармакотерапії неврологічних захворювань, що супроводжуються вираженим більовим синдромом, є сповільнення прогресування основного захворювання, зменшення частоти загострень, зняття болю, запалення, поліпшення якості життя, зменшення інвалідизації пацієнтів. Цим пояснюється раціональний вибір фахівцем певного ЛЗ для адекватної фармакотерапії означеної патології.

Слід зазначити, що вивчення застосування ЛЗ «Реопірин» (роздрібні для ін'єкцій) показало позитивну динаміку зменшення більових проявів та запальних процесів. Випадків виникнення ПД за час фармакотерапії реопірином у формі ін'єкцій виявлено не було.

Висновки

1. Проведення фармацеутичних досліджень вивчення профілю безпеки застосування лікарських засобів дозволяє оцінити ефективність фармакотерапії хворих.

2. Результати дослідження показали, що реопірин є дійсно ефективним та безпечним лікарським засобом, особливо при захворюваннях неврологічного профілю, що супроводжуються більовим синдромом різних ступенів, генезу та локалізації.

3. Перевагою застосування реопірину є те, що він вводиться парентерально, тобто оминаючи шлунково-кишковий тракт, що значно знижує ризик виникнення небажаної передбачуваної побічної дії, вказаної в Інструкції для медичного застосування даного ЛЗ.

1. Дроговоз С.М. Фармакологія на долонях: Навчальний посібник. — Х., 2001. — 128 с.
2. Жарков П.Л. Остеохондроз и другие дистрофические изменения у взрослых и детей. — М.: Медицина, 1994 (www.medi.ru).
3. Зіменковський А.Б., Пономаренко В.М., Піняжко О.Р. та ін. Базовий термінологічний глосарій за програмою з клінічної фармації: Науково-довідкове видання / За ред. В.М.Пономаренка. — Львів, К.: Ліга-Прес, 2004. — 446 с.
4. Зупанец И.А., Черных В.Ф., Москаленко В.Ф. и др. Фармацевтическая опека: Атлас / Под ред. И.А.Зупанца, В.П.Черных. — К.: Фармацевт-практик, 2004. — 192 с.
5. Компендиум 2004 — лекарственные препараты / Под ред. В.И.Коваленко, А.П.Викторова. — К.: МОРИОН, 2004. — 1664 с.
6. McMahon A.D., McDonald T.M. // Br. J. Clin. Pharmacol. — 2000. — Vol. 50. — P. 419—425.

Надійшла до редакції 12.01.2006.

С.С.Пшик, А.Б.Зіменковский, О.Р.Піняжко, Т.Б.Рывак, Л.И.Ткачук

ФАРМАКОЭПІДЕМОЛОГІЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОФІЛЯ БЕЗОПASНОСТИ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА «РЕОПІРИН»

Ключевые слова: фармакоэпидемиологические исследования, реопирин, профиль безопасности

Проведено изучение профиля безопасности применения реопирина (раствора для инъекций) у неврологических пациентов. Результаты, оформленные в виде Карт изучения побочного действия препарата, показали, что реопирин является действительно эффективным и безопасным лекарственным средством, особенно при заболеваниях неврологического профиля, сопровождающихся болевым синдромом разных степеней, происхождения и локализации.

Key words: pharmacoepidemiology researches, Reopirin, profile of safety

SUMMARY

The investigations of Reopirin injection solution safety profile on neurological patients were held. The results were designed as Cards of adverse effect of Reopirin, and described that Reopirin was indeed effective and safety medication, especially for neurological type diseases that were accompanied by the pain syndrome of different degrees, genesis and localizations.

УДК 615:281.1.8.074/076:615.454.2

Зейдо ФІРАС, аспірант, Б.Д.ЛУЦІК, д-р мед. наук, проф.,
Т.М.ФЕДОРИШИН, асистент, Л.Є.ЛАПОВЕЦЬ, канд біол. наук, доц.,
О.О.ЯСТРЕМСЬКА, канд. мед. наук, доц.

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

ІМУНОКОРИГУЮЧИЙ ВПЛИВ ПРОТЕФЛАЗИДУ НА ЛЕЙКОЦИТИ ДОНОРІВ

Ключові слова: протефлазид, бласттрасформація, лімфоцит, інтерферон, 1 β -інтерлейкін

Важливою проблемою імунофармакології є дослідження лікарських засобів (ЛЗ) з імунотропною дією для з'ясування спрямованості їх коригуючого ефекту, а також для розуміння факторів міжклітинної кооперації, що виникають під дією досліджуваних медикаментів. Найбільш інформативним з доступних функціональних тестів є визначення здатності лімфоїдних клітин відповідати проліферацією на дію мітогенних лектинів [3, 13]. Останнім часом стало очевидним існування хелперів двох видів. Хелпери 1-го типу (Tx1) синтезують цитокіни, які сприяють розвитку клітинної імунної відповіді, а хелпери 2-го типу (Tx2) допомагають гуморальній імунній відповіді [9, 11].

ЛЗ «Протефлазид», розроблений НВК «Екофарм», виробляється ВАТ «Фітофарм» і дозволений до медичного застосування наказом Міністерства охорони здоров'я України № 30 від 31.01.2002 р. Доведено відсутність шкідливих ефектів флавоноїдів протефлазиду на тваринах і на культурах клітин Vero (вивчалась токсичність, мутагенність, канцерогенність та інші показники) [2, 6]. Було показано, що флавоноїди протефлазиду, отримані з трави щучника дернисто-го (*Deschampsia caespitosa*) і трави куничника наземного (*Calamagrostis epigeios*), блокують ДНК-полімеразну активність інфікованих клітин, тим самим зупиняючи розмноження вірусів, а також служать індуктором альфа- та гамма-інтерферону. Метою дослідження було вивчення впливу протефлазиду на активовані фітогемаглютиніном (ФГА) лейкоцити донорів. Для порівняння використовували екстракт елеутерокока — адаптогена й імунокоректора з широким полем дії.

Матеріали та методи дослідження

Проводили три серії дослідів. Перша серія передбачала бласттрансформацію лейкоцитів (БТЛ), виділених від донорів, під впливом ФГА. У другу серію дослідів додавали ще протефлазид, а в третю — екстракт елеутерокока (для

порівняння ефекту дії) у відповідно розрахованих дозах. Вважається, що на 1 кг маси тіла приходиться близько 74 мл крові. Тоді кількість крові для донора з масою тіла 76 кг становитиме $74 \times 76 = 5624$ мл крові. Пацієнтovі призначають 10 крапель протефлазиду в середньому одноразово, що приблизно становить 0,8 мл (800 мкл). Для БТЛ беруть 0,5 мл плазми. Отже, для такої кількості необхідно 0,07 мкл протефлазиду, виходячи з розрахунку

$$\frac{800 \text{ мкл} \cdot 0,5 \text{ мл}}{5624 \text{ мл}} = 0,07 \text{ мкл.}$$

Бласттрансформацію лейкоцитів проводили за модифікованим нами методом [10, 15, 17], що передбачає забір 5 мл крові у десятимілілітровий шприц з 0,5 мл гепарину, розведеного 1:10 середовищем 199. У цей же шприц додавали 1 мл 5 % розчину стерильного декстрану T-500 для осадження еритроцитів. Декстран розчиняли в 0,9 % розчині хлориду натрію. Шприц залишали у вертикальному положенні (голкою наверх) на 30—40 хв при кімнатній температурі. Плазму з лейкоцитами витискували із шприца у стерильний вакуум-тейнер (концентрація лейкоцитів — $3,3 - 3,4 \cdot 10^9$). По 0,5 мл виділених лейкоцитів переносили стерильним шприцом у три вакуум-тейнери, які містили ФГА (10 мкг/мл, фірма ПанЕко, Росія) і 2 мл 199 середовища (Росія). Крім того, другий з них містив ще протефлазид (0,07 мкл, розведений 199 середовищем), а третій — елеутерокок (0,18 мкл). Вакуум-тейнери залишали в термостаті при 37°C на 72 години в похиленому стані (під кутом 45°).

Лімфоцити та бласттрансформовані клітини підраховували після третьої доби інкубації. В усіх трьох серіях дослідів близько 70 % клітин були бластами. Для визначення фенотипу лімфоцитів використовували моноклональні антитіла (СД 4, 8, 16, 19, 95) фірми «Сорбент» (Москва) [3, 4, 7]. Підрахунок субпопуляцій лімфоцитів проводили імунофлуоресцентним методом. Культуральну рідину переносили в стерильні мікропробірки і зберігали при -20°C для подальших аналізів. У культуральній рідині визначали білкові фракції електрофорезом на плівках з ацетату целюлози [8], а також імуноглобуліни (Ig A, Ig M, Ig G) методом імунопреципітації [16], використовуючи специфічні антисироватки (Росія). Непрямим імуноферментним методом [5] визначали концентрацію гамма-інтерферону та 1β -інтерлейкіну. Використовували реактиви фірми «Протеїновий контур» (Росія) і сертифікований апарат Stat-Fax 303, чітко дотримуючись вимог конкретних інструкцій до реактивів.

Результати дослідження та їх обговорення

Аналіз численних даних з вивчення імунокоригуючого впливу медикаментів *in vitro* та *in vivo* показав високу варіабельність результатів експериментів, які залежать від якості реактивів, концентрації клітин і досліджуваних речовин та інших факторів [3, 9, 11—13, 15]. Отже, вважаємо за доцільне констатувати отримані результати і з обережністю підходити до їх патогенетичного трактування. Якщо запропонована модель дослідження ЛЗ на культурі клітин людського організму буде підтримана науковою спільнотою, ми зможемо порівнювати отримані результати незалежних лабораторій, які досліджують ту саму речовину одним і тим же методом дослідження. Рецепторна характеристика лімфоцитів після БТЛ наведена в табл. 1. Дослідження показали, що в усіх трьох серіях БТЛ проходить за рахунок Т-хелперів, причому у другій серії дослідів (з протефлазидом) достовірно знижується кількість апоптозозалежніх лімфоцитів (СД 95).

Слід зазначити, що формування імунних синапсів (IC) містить низку етапів: поляризацію клітин, адгезію та утворення зони первинного контакту, початкову сигналізацію й утворення зрілого IC, стабілізовану сигналізацію та активацію Т-клітини [13, 14]. IC — це зона контакту між клітинами, яка забезпечує імунологічне розпізнавання клітин і пов'язану з ним сигналізацію.

Альбумінові та глобулінові фракції, а також імуноглобуліни суттєво не відрізнялися в усіх трьох серіях досліджень.

Важливими факторами міжклітинної кооперації є цитокіни (інтерферони, інтерлейкін-1 β та ін.), які впливають на розвиток клітинної та гуморальної імунної відповіді [9, 11]. Концентрація гамма-інтерферону та інтерлейкіну-1 β подана в табл. 2.

Порівняння концентрації гамма-інтерферону в культуральних рідинах з протефлазидом та елеутерококом (досліди 2 і 3) не показало істотної відмінності між ними: $t = 0,27$, $P > 0,7$. У другій і третій серіях концентрація гамма-інтерферону була достовірно вища, ніж у суспензії лімфоцитів до БТЛ.

В усіх трьох серіях дослідів значно збільшувався гамма-інтерферон порівняно з вихідною концентрацією; концентрація 1 β -інтерлейкіну також значно зростала.

Таблиця 1

Рецепторна характеристика лімфоцитів після реакції бласттрансформації, n = 12

Показник, що вивчається	(a) Клітини з ФГА, $M \pm m$ S	(b) Клітини з ФГА і протефлазидом. $M \pm m$ S $t (a-b)$	(c) Клітини з ФГА і елеутерококом, $M \pm m$ S $t (a-c)$
CD-4	$48,5 \pm 1,9$ S = 6,5	$51,9 \pm 1,8$ S = 6,5 $t (a-b) = 1,1$ $P > 0,2$	$45,6 \pm 1,6$ S = 5,8 $t (a-c) = 0,9$ $P > 0,3$
CD-8	$15,7 \pm 1,6$ S = 5,5	$16,4 \pm 2,1$ S = 7,3 $t (a-b) = -0,45$ $P > 0,6$	$15,6 \pm 1,4$ S = 4,8 $t (a-c) = 0,05$ $P > 0,9$
CD-16	$20,6 \pm 1,9$ S = 6,7	$15,6 \pm 2,1$ S = 7,1 $t (a-b) = 1,87$ $P > 0,08$	$22,5 \pm 1,8$ S = 6,5 $t (a-c) = -0,7$ $P > 0,5$
CD-19	$26,7 \pm 1,6$ S = 5,6	$23,2 \pm 2,6$ S = 9,1 $t (a-b) = 1,2$ $P > 0,2$	$23,8 \pm 2,2$ S = 4,4 $t (a-b) = 0,9$ $P > 0,3$
CD-95	$16,1 \pm 1,7$ S = 5,9	$9,3 \pm 0,5 (***)$ S = 1,8 $t (a-b) = 3,7$ $P < 0,004$	$13,4 \pm 1,2$ S = 4,4 $t (a-c) = 1,54$ $P > 0,1$

Позначення: M — середнє значення, m — помилка середнього, S — середнє квадратичне відхилення, t — критерій Стьюдента (при порівнянні різних показників), P — істотність різниці, n — кількість дослідів.

Таблиця 2

Концентрація гамма-інтерферону та інтерлейкіну-1 β в сироватці крові і в культуральних рідинах після бласттрансформації

Показник, що вивчається	У сироватці крові (a), $M \pm m$ S (n = 12)	У культуральних рідинах		
		1 (b) $M \pm m$ S $t (a-b)$	2 (c) $M \pm m$ S $t (b-c)$	3 (d) $M \pm m$ S $t (b-d)$
Гамма-інтерферон	$57,2 \pm 8,2$ S = 28,4	$2772,6 \pm 23,8$ 82,6 $t = 113,6$ $P < 0,001$	$2446,5 \pm 69,2$ 239,6 $t = 4,8$ $P < 0,001$	$2420,1 \pm 59,6$ 206,4 $t = 5,2$ $P < 0,001$
Інтерлейкін-1 β	$84,0 \pm 4,7$ S = 16,4	$742,3 \pm 10,4$ 65,2 $t = 31,3$ $P < 0,001$	$275,8 \pm 10,4$ 36,1 $t = 19,6$ $P < 0,001$	$332,7 \pm 8,7$ 30,2 $t = 19,5$ $P < 0,001$

Позначення: 1 (b) — бласттрансформація (БТЛ) під впливом фітогемаглютиніну (ФГА); 2 (c) — БТЛ під впливом ФГА з протефлазидом; 3 (d) — БТЛ під впливом ФГА з елеутерококом.

Висновки

1. Запропоновано модель дослідження лікарських засобів з допомогою бласттрансформації лімфоцитів (БТЛ) і культуральної рідини після БТЛ імуноферментним методом.

2. Протефлазид має виражений імунокоригуючий вплив на лімфоцити людини, знижуючи апоптозозалежність лімфоцитів і активуючи продукцію гамма-інтерферону і 1β -інтерлейкіну.

1. Государственная фармакопея СССР. — XI изд. — М.: Медицина 1990. — Вып. 2. — С. 34—35.
2. Інструкція для медичного застосування препарату «Протефлазид». — Реєстраційне посвідчення № Р.02-01/ 02777.
3. Клаус, Дж. Лимфоциты. Методы. — М.: Мир, 1990. — 280 с.
4. Лаповець Л.Є., Луцік Б.Д. Посібник з лабораторної імунології. — Львів, 2002. — 173 с.
5. Нго Т., Ленхахф Т. Иммуноферментный анализ: Пер. с англ. — М.: Мир, 1988. — 446 с.
6. Протефлазид — информационные материалы по свойствам и методикам применения. — К.: НПК «Экофарм», 2002. — 69 с.
7. Сидоренко С.П. // Імунологія та алергологія. — 1998. — № 3. — С. 6—38.
8. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. проф. В.В.Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — С. 177—178.
9. Фрейдлин И.С. // Иммунология. — 2001. — № 5. — С. 4—7.
10. Чернушенко Е.Ф., Когосова Л.С. Иммунологические исследования в клинике. — К.: Здоров'я, 1978. — С. 13—17.
11. Шичкін В.П. // Іммунологія. — 1998. — № 2. — С. 9—13.
12. Ярилин А.А. // Там же. — 1997. — № 5. — С. 7—13.
13. Grakoui A., Bromley S.K., Sumen C. // Sci. — 1999. — Vol. 285. — P. 221—227.
14. Bromley S.K., Burack W.R., Jonson K.G. // Annu. Rev. Immunol. — 2001. — Vol. 19. — P. 375—396.
15. Lazda V., Barum P. // J. of Immunology. — 1974. — Vol. 112. — P. 1705—1717.
16. Mancini I., Carbonare A.O., Nuremans T.T. // Immunochemistry. — 1965. — Vol. 235 (2). — P. 235—239.
17. Stoika R., Lutsik-Kordovsky M., Barska M. // J. Physiol. Pharmacol. — 2002. — Vol. 53 (4). — P. 675—688.

Надійшла до редакції 31.01.2006.

Зейдо Фірас, Б.Д.Луцік, Т.М.Федоришин, Л.Є.Лаповець, О.О.Ястремська

ІММУНОКОРИГИРУЮЩЕ ВЛИЯНИЕ ПРОТЕФЛАЗИДА НА ЛЕЙКОЦИТЫ ДОНОРОВ

Ключевые слова: протефлазид, бласттрансформация, лимфоцит, интерферон, 1β -интерлейкін

С помощью реакции бласттрансформации (БТЛ) изучалось влияние протефлазида на лейкоциты человека. Рецепторную характеристику клеток проводили с помощью моноклональных антител (CD 4, 8, 16, 19, 95). В культуральной жидкости определяли иммуноглобулины (Ig A, M, G), гамма-интерферон, 1β -интерлейкин. Концентрация Т-хелперов преобладала во всех трех сериях БТЛ. Во второй серии (с протефлазидом) достоверно снижалась апоптозо-зависимые клетки. Во всех опытных сериях значительно возрастала концентрация гамма-интерферона и 1β -интерлейкина.

Протефлазид оказывает иммунокоригирующее влияние на лимфоциты человека.

Zeydo Firas, B.D.Lutsyk, T.M.Fedorychin, L.Y.Lapovets, O.O.Yastremska

PROTEFLAZID IMMUNOMODULATION AT HUMAN LEUKOCYTE

Key words: Proteflazid, transformation of the lymphocytes, γ -interferon, 1β -interleikin

SUMMARY

We studied Proteflazid with the help of transformation of the lymphocytes (TL) of a human body. Cells were studied with the help of the monoclonal antibodies to various types of the Lymphocytes (CD 4, 8, 16, 19, 95). Immunoglobulines A, M, G, γ -interferon, 1β -interleikines were also determined. Researches have shown that in all three series transformation occurs for account T-helpers. In the second series (with the Proteflazid) the quantity of the apoptozo-depending cells authentically decreases. In the culture liquids of 2 and 3 series was defined authentically supreme concentration of γ -interferon and 1β -interleikines than in the suspension of the lymphocytes before experiences. Proteflazid have a good immuno-modulate effect.

КОРПОРАТИВНА ІНФОРМАЦІЯ

УДК 616.98:579.882.111-07-085.28

B.B. РОССІХІН, д-р мед. наук, проф., С.Я. МИСЬКО, канд. мед. наук, доц.

Харківська медична академія післядипломної освіти

УРОГЕНІТАЛЬНА ХЛАМІДІЙНА ІНФЕКЦІЯ: ДІАГНОСТИКА ТА ЛІКУВАННЯ З ВИКОРИСТАННЯМ ПРЕПАРАТУ «ЮНІКПЕФ»

Ключові слова: хламідії, біоцикл розвитку, діагностика лабораторна, клініка, лікування, Пефлоксацин (ЮНІКПЕФ)

Урогенітальний хламідіоз розглядається як «захворювання нового покоління», діагностика якого стала можливою у зв'язку із значними можливостями сучасних лабораторних технологій, які дозволяють визначити роль хламідії у патології людини.

Хламідії належать до збудників, які передаються статевим шляхом. Близько 5–10 % молодих сексуально активних людей уражені хламідійною інфекцією [6]. Внаслідок нечисленності симптомів і несвоєчасності виявлення захворювання нерідко набуває хронічного перебігу, поширюючись від генітальних та черевних уражень до кон'юнктивіту, пневмонії та артриту [2, 3, 5]. Через специфічне внутрішньоклітинне розмноження хламідії лікування антибіотиками не завжди може повністю знищити інфекцію.

Урогенітальний хламідіоз є однією з серйозних медико-соціальних проблем. Зазначена інфекція широко розповсюджена в різних країнах світу, а показники захворюваності постійно зростають. У Великобританії при обстеженні з допомогою імуноферментного аналізу було встановлено, що частота урогенітальної інфекції, викликаної хламідіями, серед пацієнтів, які звернулися в дерматовенерологічні клініки, становила 10 %, в акушерсько-гінекологічній клініці — 3 %, серед повій ця інфекція була встановлена у 20 % випадків, а серед сексуально активних чоловіків — в 1,3 %. У США при гінекологічному обстеженні студенток крупних університетів частота хламідіозу коливалася в межах 8,7–10,7 %. У Німеччині серед пацієнтів гінекологічних стаціонарів хламідії виявились у 5–18 % випадків. У Пакистані при обстеженні вагітних з допомогою прямої імунофлуоресценції (ПІФ) хламідії виявили у 16 % жінок. За даними зарубіжних авторів, хламідійна інфекція встановлена у 15 % жінок із запальними захворюваннями малого таза, безплідністю та ектопічною вагітністю.

Збудник

Хламідії — це облігатні внутрішньоклітинні бактерії розмірами 250–300 нм. При первинній інфекції вони уражають переважно клітини циліндричного епітелію сечостатевих органів. Хламідії мають РНК, ДНК, клітинну стінку і рибосоми, подібні рибосомам грамнегативних бактерій. Раніше їх називали гальпровіями або бедсоніями, а з 1980 року ці мікроорганізми одержали родову назву *Chlamydia* [3].

Збудники хламідійних інфекцій відносяться до родини *Chlamydaceae* роду *Chlamydia*. В межах цього роду розрізняють чотири види хламідій: *C. trachomatis*, *C. psittaci*, *C. pneumoniae* і *C. pecorum*. Серед *C. trachomatis* — збудника урогенітальних інфекцій — виділяють три групи сероварів: збудники трахоми — А, В, Ва, С; збудники урогенітального хламідіозу — D, E, F, G, H, I, J, K та групу венеричної лімфогранульоми — L1, L2, L3 [7, 8].

Хламідії є бактеріями з характерною для прокаріотів структурою. Вони мають вигляд дрібних грамнегативних коків. Це облігатні внутрішньоклітинні паразити з особливим циклом розвитку, що включає дві різні за морфологією та біологічними властивостями форми існування мікроорганізму, які мають назви «елементарне» і «ретикулярне» («ініціальне») тільце.

Елементарне тільце — це високоінфекційна форма збудника, пристосована до позаклітинного існування. Ретикулярне тільце — форма внутрішньоклітинного існу-

вання мікроорганізму, малостійка поза клітин хазяїна, метаболічно активна, є формою, яка відповідає за репродукцію хламідії. Елементарне тільце прикріплюється до поверхні клітини-мішені і входить в неї за допомогою фагоцитозу. На початковій стадії інфікування елементарне тільце стає ретикулярним, збільшується в розмірі і починає ділитися. Всі ці процеси проходять всередині вакуолі клітини хазяїна, де йде накопичення ретикулярних тілець. Одне елементарне тільце може давати до 1000 інфекційних одиниць. Початкова фаза циклу розвитку триває протягом 18–24 год, після чого ретикулярні тільця реорганізуються в елементарні тільця, а потім виволяються з фагосом і інфікують інші клітини. Час, необхідний для повного циклу розвитку, коливається в межах від 24 до 48 год.

Через унікальний цикл розвитку ці мікроорганізми були виділені у самостійний порядок *Chlamydiales*, що включає одну родину *Chlamydaceae*, яка містить один рід *Chlamydia*, об'єднуючий два види — *Chl. trachomatis* та *Chl. psittaci*. Всі хламідії мають спільний антиген, який являє собою полісахаридний комплекс. За допомогою імунофлуоресценції патогенні для людини *Chl. trachomatis* диференційовані на 15 серотипів. Серотипи L1, L2, L3 зв'язані з венеричною лімфогранульмою, серотипи A, B, Ba і C — з гіперендемічною трахомою, серотипи D, E, F, G, H, I, J, K обумовлюють запальні процеси уrogenітального тракту і захворювання очей.

Хламідії, за винятком штамів, що викликають венеричну лімфогранульому, уражають епітелій слизових оболонок; особливо чутливий до них циліндричний епітелій. Штами хламідії, які викликають класичну трахому, передаються побутовим шляхом, спостерігаються в місцях із жарким та сухим кліматом, серед населення з низьким рівнем гігієни. Генітальні штами хламідії передаються статевим шляхом і спричиняють захворювання уrogenітального тракту. Інфекційне ураження очей, що викликається генітальними штамами, у дорослих може виникати у результаті випадкового занесення інфекційного матеріалу в очі, а у новонароджених — під час проходження плоду родових шляхів при родах.

Наявність тривалоперебігаючої хламідійної інфекції може привести до різних ускладнень. Найбільш серйозними і соціально значущими ускладненнями є безплідність і різні захворювання новонароджених.

Результати досліджень американських учених показали, що серед безплідних подружніх пар в третині випадків у чоловіків була прихована хламідійна інфекція. Своєчасно не діагностована і не вилікована інфекція у вагітних призводить до зараження новонароджених: у 20–30 % новонароджених розвивається кон'юнктивіт, а у 10–20 % — пневмонія.

Залишена без уваги хламідійна інфекція у жінок викликає висхідні запальні процеси органів малого таза, у чоловіків вона призводить до ураження передміхурової залози, везикуліту, орхіопідідиміту і т.п. Усе це свідчить про актуальність досліджень з проблеми хламідіозу.

Діагностика хламідіозу

Важливу роль у боротьбі з уrogenітальним хламідіозом відіграє якісна і своєчасна діагностика цього захворювання. Однак лабораторна діагностика хламідіозу і сьогодні ще залишається складною. Найчастіше застосовуються такі способи: мікроскопічні (цитологічне забарвлення, методи прямої і непрямої імунофлуоресценції) та культуральний (ізоляція збудника в культурі клітин). Запропоновані більш складні молекулярно-біологічні та імунохроматографічні методи, однак вони трудомісткі у виконанні і вимагають не тільки складного спеціального обладнання, але і високої кваліфікації лабораторних працівників [1–4].

До цитологічних методів відноситься забарвлення фіксованих препаратів з клінічного матеріалу за Романовським—Гімзе, яке дозволяє виявити включення в епітеліальніх клітинах. Однак цей метод має низьку чутливість, оскільки вимагає значних часових затрат для виявлення збудника і високої кваліфікації лабораторних працівників.

Із серологічних методів діагностики хламідіозу однією з перших стали використовувати реакцію зв'язування комплемента (РЗК). Однак цей тест має низьку чутливість і дає значний процент псевдопозитивних результатів. На думку різних авторів, РЗК доцільно використовувати лише як відбірний тест.

У даний час в усіх країнах широко застосовуваним для діагностики хламідіозу є метод ПІФ з використанням моноклональних антитіл. Цей метод має достатньо високу чутливість та специфічність і найбільш часто застосовується в нашій країні як діагностичний тест на хламідіоз. Недоліком ПІФ є те, що її не можна використовувати при оцінці результатів лікування, оскільки ця методика не дозволяє визначити життєздатність мікроорганізму. Крім того, постановка ПІФ вимагає наявності люмінесцентного мікроскопа, тобто дорогого обладнання.

Згідно з рекомендаціями Всесвітньої організації охорони здоров'я *кращим методом діагностики хламідійних уражень уrogenітального тракту є виділення збудника на культурі клітин, оброблених метаболітами*. Цей метод є найбільш специфічним і достовірним. Його можна застосовувати як тест, що визначає ступінь ефективності проведеного лікування. Однак є низка факторів, які знижують імовірність виявлення хламідій у культурі клітин. До них відноситься приймання антибіотиків, отже, необхідно виключити з обстеження осіб, що вживали антимікробні засоби протягом останнього місяця. Ступінь виявлення хламідій зростає пропорційно тривалості існування запального процесу. Важливу роль відіграють спосіб і якість забору клінічного матеріалу у хворого, а також час, що минає між взяттям зразків і вміщенням їх у культуру клітин. Зазначений тест, будучи найбільш достовірним, повинен займати основне місце в діагностиці хламідійних інфекцій, проте його використання обмежено у практиці, оскільки він дорогий і відрізняється значною трудомісткістю.

Таким чином, у практичних умовах для діагностики хламідіозу доцільно є постановка ПІФ з моноклональними антитілами і метод виділення збудника в культурі клітин.

Забір матеріалу

Одним з відповідальних етапів діагностики хламідійної інфекції є правильний забір матеріалу. При взятті клінічних проб на хламідії слід пам'ятати, що збудник вибірково вражає циліндричний епітелій сечостатевих шляхів, тому на відміну від принципів забору матеріалу при інших інфекціях, які передаються статевим шляхом, *хворому не слід рекомендувати тривалу затримку сечовипускання*. Навпаки, при сильних гнійних виділеннях, супутніх, зокрема, гонореї, гнійна відокремлюваність може значно утруднити діагностику хламідійної інфекції, і в цих випадках забір матеріалу рекомендується проводити відразу після сечовипускання. У чоловіків голівку статевого члена в ділянці зовнішнього отвору уретри обробляють ватним тампоном, змоченим у фізіологічному розчині. При наявності відокремлюваності перша крапля вільно стікаючих видіlenь, що з'являється при надавлюванні, видаляється. При мізерних виділеннях або їх відсутності проводять масаж уретри, а потім роблять зішкрабок (безкровно) зі слизової стінки уретри.

У жінок матеріали беруть з уретри і каналу шийки матки. Перед взяттям матеріалу обробка зовнішніх статевих органів проводиться стерильним ватним тампоном, змоченим фізіологічним розчином. Шийку матки обробляють сухим ватним тампоном для виділення слизової пробки з її каналу. Патологічний матеріал з уретри слід брати після попереднього масажу. Матеріал з каналу шийки матки береться безкровно при візуальному контролі з використанням піхвових дзеркал.

Сучасні методи діагностики дозволяють виявити хламідії у кожного третього чоловіка з хронічними уретритами, простатитами, епідидимітами та іншими захворюваннями [8]. Частота хламідійного інфікування при чоловічій бесплідності становить 41–54 % [2, 5].

Хламідії часто зустрічаються в асоціації з іншими збудниками статової інфекції. При проведенні обстеження чоловіків із запальними захворюваннями сечостатевих органів гонорейно-хламідійну інфекцію виявлено у 33 % хворих, хламідійно-уреаплазмову — у 21 %, хламідійно-гарднерелезну — у 14 %. Крім того, у 11 % хворих спостерігається поєднання трьох інфекцій і у 6 % — чотирьох—п'яти інфекцій [2, 4].

Частота виділення хламідій зростає при наявності проявів інфекції і суб'єктивних скарг. Так, наприклад, при відсутності яких-небудь виділень із статевих шляхів хламідій виявили у 20 % чоловіків, а при наявності слизисто-гнійних виділень з уретри — у 48 % [3].

Широке розповсюдження хламідійної інфекції (35 % випадків сімейного розповсюдження у дружин і чоловіків) значною мірою пов'язано з лібералізацією статевого життя, його раннім початком і частою зміною статевих партнерів [2].

Клінічна картина

В даний час у вітчизняних спеціалістів немає єдиної думки про класифікацію хламідіозу. Частина з них користується класифікацією, аналогічною тій, яка прийнята для гонореї, інші — довільною, відповідно до локалізації осередків уражень або характеру перебігу інфекції. Доцільно при постановці діагнозу використовувати термін «урогенітальний хламідіоз», що дозволяє ідентифікувати хламідіоз серед захворювань, які передаються статевим шляхом. Після того, як визначена інфекція і встановлений діагноз, спеціаліст повинен в кожному окремому випадку залежно від локалізації осередків ураження, тривалості перебігу інфекції та наявності ускладнень підібрати індивідуальний і оптимальний для хворого курс терапії.

У 80 % випадків інфекція *C. trachomatis* перебігає безсимптомно. За певних умов, зокрема при декомпенсації імунологічних функцій, захворювання може переходити у глибокі системні ураження багатьох органів і тканин, а також провокувати аутоімунні реакції. При захворюваннях, які викликаються хламідіями, часто спостерігається гематогенний тип розповсюдження інфекції, який супроводжується ураженням ЦНС і внутрішніх органів: печінки, селезінки, легень [7].

C. trachomatis локально вражає слизові очей і урогенітального тракту. *C. trachomatis* також інфікує макрофаги і розповсюджується через лімфатичну систему. Хламідії можуть викликатиувеїти, отити, синусити, тиреоїдити, менінгоенцефаліти, васкуліти, міоперикардити. Є дані про їх роль в таких захворюваннях, як перинефрити, перигейатити, периспленіти, гідраденіти, олігоартрити, спондилоартрити [7, 8].

Хламідіоз — одна з основних причин патології вагітних і новонароджених. Останнім часом певна частка в передачі цієї інфекції належить побутовому шляху. У родинах, в яких батьки страждають на хламідіоз, приблизно 40 % дітей заражаються при тісному побутовому контакті, при недодержанні елементарних правил гігієни. При вертикальній передачі ураження плоду відбувається при проходженні ним родових шляхів [7, 8].

Таким чином, у чоловіків при хламідійній інфекції розвиваються запальні зміни у простаті і придатку яечка, що може призводити до порушення генеративної функції і безплідності. У жінок хламідійна інфекція може викликати *первинну і вторинну безплідність* як результат сальпінгоофоритів хламідійної етіології. Одне із серйозних ускладнень генітального хламідіозу — оклюзійні процеси в маткових трубах, які ведуть до *трубної безплідності*. Хламідіоз обумовлює значний процент ускладнень у вагітних: передчасні роди, вагітність, що не розвивається, спонтанний викидень.

Можливе зараження хламідіозом новонароджених. Звичайно інфікування проходить під час проходження плоду через родові шляхи, однак якщо хламідії потрапляють в навколоплідні води, відбувається внутрішньоутробне зараження плоду. У новонароджених розвиваються кон'юнктивіти, ураження носоглотки, середньо-го вуха, легень та інших органів.

Лікування

Методи лікування урогенітального хламідіозу ґрунтуються на застосуванні антибіотиків різних груп. Слід брати до уваги і біологічні особливості цього збудника. Хламідії мають не тільки високий тропізм до епітеліальних клітин осередків ураження, але і здатні персистувати в мембрanoобмежених зонах клітин епітелію, що дозволяє мікроорганізмам залишатися неушкодженими під час антибіотикотерапії і може призводити до невдач лікування. У зв'язку з цим доцільно використовувати не тільки етіотропні, але і патогенетичні засоби. Всі особи, в яких виявлені хламідії, незалежно від вираженості клінічної картини підлягають лікуванню; доцільно лікувати і їх статевих партнерів.

Виражену етіотропну дію стосовно хламідії мають препарати тетрациклінового ряду, макроліди, рифампіцин, фторхінолони. Важливим моментом тактики лікування є врахування того, що під дією антибіотикотерапії, проведеної без урахування

етіологічного агента або мікробної асоціації, у значної кількості хворих відмічається зникнення клінічної симптоматики, що веде до помилкової їх реабілітації.

При неускладненій інфекції лікування треба розпочинати із застосування антибіотика. При неуспішній терапії слід змінити антибіотик і провести комплексну терапію в поєднанні з патогенетичними засобами і місцевим лікуванням. При лікуванні хворих у стаціонарі призначенню антибіотика передує імунотерапія і місцеве лікування, а в амбулаторних умовах для запобігання розповсюдження інфекції антибіотик призначають одночасно з імунотерапією з наступним призначенням місцевого лікування.

Найбільш часто і широко призначають *тетрацикліни*, *макроліди* (наприклад, *кларітроміцин*), *фторхінолони*. При хламідіозі часто призначають препарати тетрациклінового ряду: *тетрациклін*, *метациклін*, *доксициклін*. Тривалість курсу лікування коливається в межах 7—14 днів залежно від перебігу захворювання і наявності ускладнень.

В окремих випадках ефективний *ерітроміцин*, причому для лікування вагітних препаратом вибору є саме цей антибіотик.

У даний час для лікування вищезазначененої інфекції рекомендовані нові антибактеріальні засоби — *фторхінолони*. До цієї групи лікарських засобів відносяться *пефлоксацин* (ЮНІКПЕФ), *ломефлоксацин*, *ципрофлоксацин*, *офлоксацин*.

Мета цього повідомлення — вивчення ефективності лікування пацієнтів з уrogenітальним хламідіозом пефлоксацином (ЮНІКПЕФ, розчин для внутрішньовенного введення 400 мг/100 мл виробництва компанії «Юнік Фармасьютікал Лабораторіз»).

Механізм дії препарату на бактеріальну клітину

Під час фази розмноження бактерій проходить сегментна деспіралізація і спіралізація хромосоми. У цьому процесі вирішальну роль відіграє фермент ДНК-гіраза. Пефлоксацин пригнічує ДНК-гіразу, порушуючи при цьому обмін речовин бактерії. Хромосома бактерії уже не може подвоюватися, і розмноження мікроба зупиняється. Пефлоксацин справляє бактерицидну дію, тобто діє не тільки у фазі розмноження, але і у фазі спокою бактерій.

ЮНІКПЕФ виявляє високу ефективність проти майже всіх грамнегативних збудників, включаючи *Chlamydia trachomatis*. Дещо менш активний цей препарат стосовно *Ureaplasma urealyticum*.

Пефлоксацин не пригнічує імунну систему людини. Навпаки, відбувається активація фагоцитарно-макрофагальної системи і ряду ферментів, які беруть участь у зруйнуванні патогенних бактерій.

Разом з тим, фактори токсичності і переносності обмежують застосування кінолонів. Їх не рекомендується призначати вагітним, дітям, підліткам, за винятком окремих випадків, коли є вагомі показання. Під час лікування протипоказано ультрафіолетове опромінення, у т.ч. під прямими променями сонця.

Нами вивчалась клінічна ефективність препарату «ЮНІКПЕФ» (виробництва компанії «Юнік Фармасьютікал Лабораторіз») у флаконах для внутрішньовенного введення по 100 мл (4 мг пефлоксацину/мл). Один флакон вводився внутрішньовенно краплинно протягом однієї години в дозі 800 мг у перший день, а потім по 400 мг кожні 12 годин.

У клініці в період 2000—2005 рр. під спостереженням перебувало 124 хворих з уrogenітальним хламідіозом. Вік хворих — від 21 до 54 років (у середньому 37+4,1 року). Тривалість захворювання — від 6 місяців до 10 років. Клінічними проявами хламідіозу були: дизурія — у 102 (82,2 %) хворих, болюві відчуття — у 92 (74 %), слизові виділення з уретри — у 78 (62,8 %), відчуття печії або свербежу — у 54 (43,4 %), гіперемія губок уретри — у 62 (49,8 %) хворих. Хламідійна інфекція діагностована на основі анамнестичних та клінічних даних, підтверджена методом ПІФ та імуноферментним аналізом з визначенням IgG у всіх пацієнтів.

Для корекції імунного статусу і поліпшення проникнення антибіотика в зону запалення призначали імуномодулятори (фітомакс- α , фітомакс- γ), індуктори інтерферону (флараксин). Пацієнти також одержували симптоматичне лікування, фізіотерапію (лазеро-, магнітотерапію), протигрибкові препарати, вітаміни.

Клінічну ефективність лікування оцінювали як хорошу при зникненні симптомів захворювання. При їх частковому зникненні ефективність лікування вважали задовільною.

Протягом усього курсу лікування препарат відрізнявся хорошою переносністю. У 6 (4,8 %) із 124 пацієнтів відмічались незначні побічні явища у вигляді нудоти і головного болю, а в однієї пацієнтки — фотодерматит. Зазначені явища спостерігались у незначній кількості випадків і відносилися до очікуваних.

ЮНІКПЕФ забезпечував швидкий клінічний ефект. Так, бальзові відчуття зменшилися у 56 (60,9 %) обстежених на 6-ту—7-му добу лікування, дизуричні явища зникли у 52 (54,9 %) хворих, уретральні виділення до 9-го дня лікування були ліквідовані у 64 (82 %) із 78 пацієнтів. З 54 чоловіків, у яких до лікування спостерігалась печія або свербіж в уретрі, до 5-го—7-го дня після інфузій препарату «ЮНІКПЕФ» ці симптоми зникли у 44 (81,4 %). Із 41 жінки печія або свербіж в уретрі до 5-го—7-го дня не турбували 32 (77,9 %). Гіперемія зовнішнього отвору уретри різного ступеня вираженості через три дні зникала у 16 (25,7 %), а через 10 днів у 42 (67,8 %) хворих.

При встановленні виліковування уrogenітального хламідіозу слід враховувати особливості застосованого методу діагностики. Дослідження клінічного матеріалу за допомогою методу прямої імунофлуоресценції з моноклональними антитілами, виконане раніше 3—4 тижнів після закінчення лікування, може дати псевдопозитивний результат у зв'язку з можливим збереженням нежиттездатних мікроорганізмів. Дослідження за допомогою культури клітин, здійснене раніше 10—14 днів, може дати псевдонегативний результат через мінімальну кількість хламідій у досліджуваному матеріалі. Виявлення хламідій у зазначені терміни є підставою для повторного призначення протиходамідійної етиотропної та патогенетичної терапії з використанням антибактеріальних препаратів інших груп.

Критеріями виліковування уrogenітального хламідіозу є негативні лабораторні дані і відсутність клінічних симптомів захворювання.

Згідно з одержаними нами даними контрольне обстеження на хламідії через місяць методом полімеразної ланцюгової реакції у 104 (83,7 %) пацієнтів інфекції не виявило; 11 чоловік обстеження не пройшли. Методом ІФА у 68 (59,5 %) чоловіків відмічалось значне зниження антитіл, у 44 (38,4 %) — відсутність, а у 3 пацієнтів зберігся високий титр антитіл до хламідій.

Висновок

На підставі одержаних даних можна вважати, що препарат «ЮНІКПЕФ» (розчин для внутрішньовенного введення 400 мг/100 мл виробництва компанії «Юнік Фармасьютікал Лабораторіз») є високоефективним лікарським засобом при лікуванні хламідійної інфекції. Установлена його висока клінічна (81,4 %) і бактеріологічна (83,7 %) ефективність. Антибіотик добре переноситься і має мінімальні побічні ефекти.

1. Акунц Е.Б., Погосян Г.К., Абрамян Ю.С. и др. // Материалы Всесоюз. совещания. — М., 1990. — С. 21—23.
2. Горпинченко И.И., Гибнер С.М. Хламидиоз в урологической и андрологической практике: Метод. рекомендации. — К., 2000. — 30 с.
3. Гурженко Ю.Н. // Здоровье мужчины. — 2003. — № 3. — С. 45—49.
4. Мавров И.И., Бухарович В.Т., Глухенький Б.Т. и др. Контактные инфекции, передающиеся половым путем / Под ред. И.И.Маврова. — К.: Здоров'я, 1989. — 230 с.
5. Мавров Г.И. Урогенитальные инфекции и бесплодие: Метод. указания для врачей-интернов. — Х., 1994. — 12 с.
6. Мавров Г.И. Организация медицинской помощи больным урогенитальными венерическими заболеваниями и бесплодием: Метод. рекомендации для врачей. — Х., 1994. — 8 с.
7. Ориел Дж.Д., Риджуэй Дж.Л. Хламидиоз: Пер. с англ. / Под ред. В.В.Делекторского. — М.: Медицина, 1984. — 190 с.
8. Шаткин А.А., Мавров И.И. Урогенитальные хламидиозы. — К.: Здоров'я, 1993. — 200 с.

Надійшла до редакції 08.02.2006.

B.B. Россихин, С.Я. Мысько

УРОГЕНИТАЛЬНАЯ ХЛАМИДИЙНАЯ ИНФЕКЦИЯ: ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРЕПАРАТА «ЮНИКПЕФ»

Ключевые слова: хламидии, биоцикл развития, диагностика лабораторная, клиника, лечение, Пефлоксацин (ЮНИКПЕФ)

Показан положительный опыт использования антибиотика группы фторхинолонов «ЮНИКПЕФ» (раствора для инфузий для внутривенного введения 400 мг/100 мл) — пефлоксацина производства компании «Юник Фармасьютикал Лабораториз» у 124 больных с урогенитальным хламидиозом. Установлена его высокая клиническая (81,4 %) и бактериологическая (83,7 %) эффективность при лечении хламидийной инфекции, а также хорошая переносимость.

V.V. Rossihin, C.Ja. Misko

UROGENITAL CHLAMYDIA INFECTION: DIAGNOSTICS AND TREATMENT WITH THE USE OF «UNIKPEF»

Key word: clamidia, development biocycle, laboratory diagnostic, clinic, treatment, Pefloxacinum (UNIKPEF)

SUMMARY

It has been shown a positive experience in using «Unikpef» antibiotic from fluoroquinolones group (solution for infusion for intravenous injection 400 mg/100 ml) — pefloxacinum produced by «Unique Pharmaceutical Laboratories». There were 124 patients enrolled in the experience with condition of urogenital clamidiosis. High clinical (81,4 %) and bacteriological (83,7 %) efficacy has been determined as well as good bearableness during the treatment of chlamidia infection.

УДК 615.11+615.453.6

*I.C. ЧЕКМАН, чл.-кор. НАН України, д-р мед. наук, проф.,
I.I. ГЕРАЩЕНКО, д-р фармац. наук, О.В. СОЛЯНИК, Д.А. МАРКЕЛОВ*

Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця

ПОРІВНЯЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ОРИГІНАЛЬНОГО ТА ГЕНЕРИЧНОГО ПРЕПАРАТІВ КЛОПІДОГРЕЛУ

На світовому фармацевтичному ринку з'явився новий антиагрегантний препарат «Плавікс®» (I) (в деяких країнах — «Ісковер®»), який містить клопідогрелу бісульфат (надалі — клопідогрел). Клінічний успіх клопідогрелу спричинив появу препаратів-аналогів. Наприклад, відомою індійською фірмою «ЮСВ Лімітед» випущений на ринок препарат «Клопігрел» (II), який фірма зареєструвала в Україні. У зв'язку з цим постає закономірне питання про еквівалентність I і II за показниками: фізико-хімічними, у т.ч. аналітичними, фармакологічними в експерименті, терапевтичними у клініці.

Клопідогрел (Метил-(+)-(S)-a-(o-хлорфеніл)-6,7-дигідротіено[3,2-с]піридин-5(4Н)-ацетату бісульфат) є оптично активною речовиною. Фірмою-розробником оригінального препарату, показано, що фармакологічну активність має лише S-енантіомер, тому в лікарських препаратах слід контролювати вміст неактивного R-енантіомеру. Аналіз чистоти 18 аналогів (I) [2], показав, що за вмістом активної субстанції і домішок (продуктів гідролізу, R-енантіомеру) більшість досліджуваних препаратів суттєво поступається показникам брендового препарату. Так, зокрема, для препарату (II) вміст домішок становив 6,65 %, що абсолютно не відповідає вимогам U.S.P. [3] до препаратів клопідогрелу. Для стереоспецифічного аналізу на вміст R-енантіомеру авторами роботи [2] застосовано метод хіральної рідинної хроматографії.

Метою даного дослідження стало вирішення питання про еквівалентність препаратів (I) і (II) за фізико-хімічними показниками та відповідність останнього вимогам U.S.P. [3] до препаратів клопідогрелу.

Матеріали та методи дослідження

Досліджували препарати (І) виробництва «Санофі Вінтроп Індастрія», Франція (таблетки по 75 мг клопідогрелу № 14, серія 1260, термін зберігання на час випробувань — 9 місяців) і (ІІ) виробництва «ЮСВ Лімітед», Індія (таблетки по 75 мг № 28, серія 02002975, термін зберігання — 8 місяців). По 10 таблеток кожного препарату розтирали в ступці до однорідного порошку. Як стандарт використовували субстанцію клопідогрелу бісульфату виробництва «ЮСВ Лімітед», згідно внутрішньої специфікації та відповідно до вимог U.S.P. [3]. Як розчинники використовували ацетонітрил хроматографічної чистоти, метанол (х.ч.), Brenntag Export, Голландія.

Дослідження препаратів проводили за нижчепереліканими методами.

1. Метод pH-метрії був застосований для оцінки еквівалентності препаратів за ступенем іонізації у водному середовищі. Наважки порошків препаратів із вмістом субстанції 150 мг диспергували у 50 мл кип'яченої дистильованої води (0,3 %) і визначали pH потенціометричним методом.

2. Метод УФ-спектрофотометрії був використаний для ідентифікації та кількісного визначення субстанції клопідогрелу у складі препаратів. Наважки порошків із вмістом субстанції близько 50 мг диспергували у 50 мл метанолу, центрифугували і розводили водою у співвідношенні 1:50 (0,002 %). Спектри поглинання реєстрували в діапазоні довжин хвиль від 200 до 260 нм на спектрофотометрі «Specord 40M», Німеччина. Паралельно реєстрували спектр 0,002 % розчину стандартної субстанції. Для розрахунку кількісного вмісту використовували значення оптичних густин досліджуваних розчинів при 225 нм.

3. Тест на швидкість розчинення виконували в умовах, наблизених до умов, описаних у роботі [2]. Середовище розчинення (375 мл на 1 таблетку) — фізіологічний розчин, доведений 0,1 М розчином хлористоводневої кислоти до pH 2. Під час перемішування підтримували температуру близько 37 °C. Через 10, 20, 30 і 40 хв відбирали по 5 мл розчину, розводили водою до 50 мл, центрифугували і спектрофотометрично визначали вміст клопідогрелу при довжині хвилі 225 нм. Як стандартний розчин використовували 0,002 % розчин субстанції. Паралельно виконували по три випробування для кожного препарату.

4. Метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) був застосований для кількісного визначення активної субстанції і загальних домішок. Аналіз виконували на хроматографі «Waters» з УФ-детектором (США) і колонкою Zorbax (2,1 мм x 150 мм), заповненою сорбентом Eclipse XDB-C8 з розміром часток 3 мкм. Аналізу піддавали розчини препаратів і стандартної субстанції в ацетонітрилі з концентрацією клопідогрелу 0,2 мг/мл. Рухома фаза — суміш ацетонітрилу і фосфатного буфера, pH — 3,0 (50:50), об'єм проби — 5 мкл, швидкість потоку — 0,3 мл/хв, оптичне поглинання вимірювали при довжині хвилі 225 нм. Для кожного розчину одержували по п'ять хроматограм. Розрахунок вмісту клопідогрелу та домішок і статистичну обробку результатів виконували за методом найменших квадратів, використовуючи програмне забезпечення Millenium-2.15.

5. Метод поляриметрії був застосований як тест на еквівалентність розчинів препаратів за оптичною активністю. Наважки порошків з одинаковим вмістом клопідогрелу екстрагували рівними об'ємами метанолу протягом години і центрифугували (3000 об/хв) 20 хв. Кут обертання одержаних розчинів вимірювали на поляриметрі СУ-3, шкалу якого калібрували за розчином брендового препарату, умовно припускаючи, що R-енантіомер у ньому відсутній, тобто питоме оптичне обертання становить +54,0° (за сертифікатом на субстанцію «ЮСВ Лімітед»). Використовували кювету завдовжки 1 дм, для одержання середнього значення кута обертання кожний розчин випробовували чотири рази.

Результати дослідження та їх обговорення

Результати досліджень наведено в таблиці.

Узагальнені дані фізико-хімічних випробувань

Показник	(I)	(II)	Норма за документацією фірми для (II)
pH Суспензії, потенціометрія	2,20	2,20	Не нормується
Розчинення через 30 хв, %	100	100	Не менше 70
Вміст клопідогрелу, мг, спектрофотометрія	71,7	71,6	
Вміст клопідогрелу, мг, ВЕРХ	71,8	71,6	67,5 — 82,5
Вміст домішок загальний, %, ВЕРХ	—	0,34	Не більше 1,0*
Питоме оптичне обертання	+54,0°	+54,1°	Не нормується**

*Не більше 1,5 % згідно з U.S.P. [3].

**Від +50° до +58° за сертифікатом на субстанцію «ЮСВ Лімітед».

Результати рН-метрії. Однакове значення pH 2,20 (іонізація бісульфату) є непрямим доказом однакового вмісту клопідогрелу в обох препаратах.

Результати УФ-спектрофотометрії. Майже повний збіг спектрів поглинання (рис. 1) із спектром стандарта свідчить про високу чистоту клопідогрелу у складі обох досліджуваних препаратів. За розрахунком через A_{225} вміст клопідогрелу на одну таблетку у (I) становить 71,7 мг, у (II) — 71,6 мг.

Тест на розчинення показав, що на 10-й хвилині з таблеток (I) вивільняється 100 % субстанції, з таблеток (II) — близько 90 %. Повне вивільнення субстанції з (II) відбувається на 20-й хв, що повністю відповідає заявленим у реєстраційних документах вимогам. Таким чином, в умовах, наблизених до фізіологічних, обидва препарати характеризуються високою швидкістю розчинення. Незважаючи на рекомендації CPMP/EWP/QWT/1410/98 EMA 2001 та Настанову МОЗ України № 427.1:2005 щодо можливості висновку про еквівалентність лікарських засобів на основі вивчення розчинення, ми вирішили не зупинятись лише на даних показниках і продовжили співставлення (I) та (II) на основі розгорнутих фізико-хімічних досліджень, метою яких було визначити чистоту препаратів.

Результати хроматографічного аналізу. Перед проведенням аналізу було виконано тест на придатність хроматографічної системи. Встановлено, що відносне стандартне відхилення для площин піка кожного з трьох препаратів (стандарт, (I) та (II))

не перевищує 2 %, а кількість теоретичних тарілок становить 5500—6000, що відповідає документації фірми на (II). Результати аналізу представлено на рис. 2, 3. Як видно з рисунків, хроматограмами розчинів (I) і стандарту ідентичні і, крім піка субстанції, не містять сторонніх піків, тобто чистота обох препаратів практично становить 100 % (без урахування домішки R-енантіомуру, яку неможливо виявити даним методом). На хроматограмі (II) присутні піки домішок, сумарна кількість яких становить 0,34 %, що згідно зі специфікацією фірми є достатнім показником чистоти препарату. Крім того, кількість домішок є істотно меншою за вимоги U.S.P. (<1,5 %), що підтверджує якість препарату (II) та його право на клінічне використання. З урахуванням середньої маси таблетки вміст субстанції на одну таблетку у (I) становить 70,6 мг, у (II) — 70,6 мг, що практично збіга-

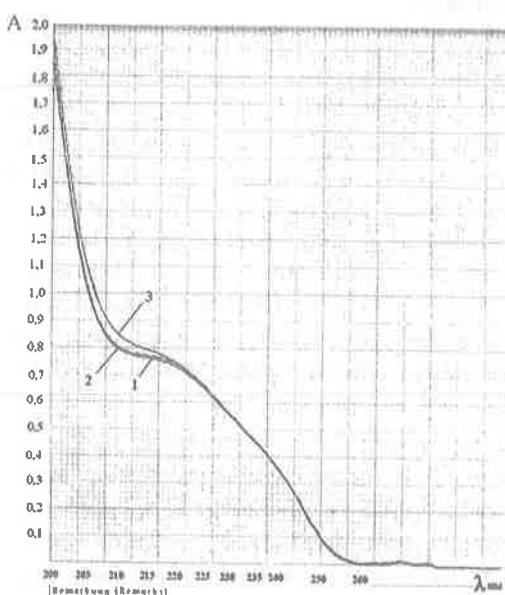


Рис. 1. Криві поглинання 0,002 % розчинів у ділянці 200—260 нм:
1 — стандартна субстанція; 2 — (I); 3 — (II)

ється з результатами спектрофотометричного визначення.

Результати поляриметрії. Оскільки домішка R-енантіомеру має позначитися на куті обертання розчину препарату, для встановлення еквівалентності препаратів за показником оптичної активності був використаний метод поляриметрії. За допомогою поляриметра, похибка вимірювання якого становить $\pm 0,1$ поділки шкали, для розчинів (I) і (II) з однаковою концентрацією субстанції одержано такі результати: (I) — $n = 3,75 \pm 0,38$; (II) — $n = 3,80 \pm 0,22$, де n — кількість поділок шкали поляриметра. Перерахунок на середнє значення питомого обертання відповідно дає для (I) $+54^\circ$, для (II) $+54,1^\circ$, тобто можна стверджувати, що за вмістом R-енантіомера обидва препарати практично еквівалентні.

Таким чином, результати дослідження свідчать про фармацевтичну еквівалентність препаратів (I) і (II) у серіях з одинаковим терміном зберігання. Привертає увагу дещо знижений, хоча і задовільний за документацією фірми, вміст субстанції на одну таблетку для обох препаратів, що підтверджується даними двох фізико-хімічних методів. Ідентичність кривих поглинання і відсутність сторонніх піків на хроматограмах (I) та стандартної субстанції виробництва «ЮСВ Лімітед» свідчить про їхню високу чистоту. Оскільки саме ця субстанція була використана при виробництві (II), це підтверджує високу якість даного препарату. Домішки ж у цьому препараті, вміст яких у три рази менший за норму в документації фірми ($< 1,0\%$) та U.S.P. ($< 1,5\%$), можна, очевидно, віднести до неактивних речовин, що екстрагуються з наповнювача таблетки. Отримані результати щодо їх вмісту у (II) суперечать літературним даним [2, 3]. Автори роботи не беруть на себе право давати пояснення отриманим розбіжностям, а несуть відповідальність лише за свої дані. Для порівняльного вивчення оптичної активності препаратів нами використаний доступний, але і достатньо точний метод поляриметрії, результати якого свідчать про еквівалентність препаратів і за цим показником.

Висновок

Встановлено, що препарат (II) виробництва «ЮСВ Лімітед», серії 02002975 за фізико-хімічними показниками не поступається препарату (I) виробництва «Санофе Вінтроп Індастрія» серії 1260. Хроматограма клопідогрелу бісульфату виробництва «ЮСВ Лімітед» свідчить про високу чистоту цієї субстанції. окремі незначні відхилення у фізико-хімічних показниках не можуть бути причиною для

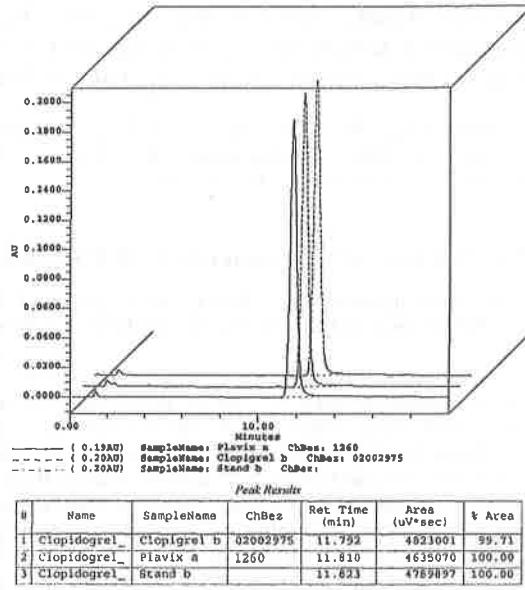


Рис. 2. Результати аналізу на вміст активної субстанції:

1 — хроматограма (I); 2 — хроматограма (II) (проба № 5);
3 — хроматограма стандарту (умови хроматографування див. у тексті)

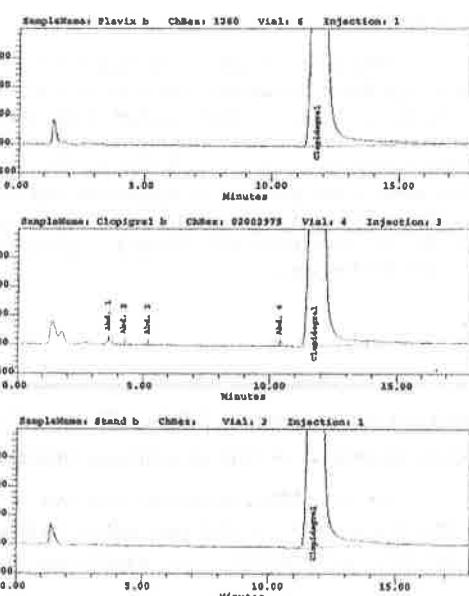


Рис. 3. Результати аналізу на вміст домішок:

1 — хроматограма (I); 2 — хроматограма (II) (проба № 3);

3 — хроматограма стандарту

сумнівів у еквівалентності препаратів. Препарат (II) відповідає вимогам U.S.P. до препаратів клопідогрелу бісульфату і може використовуватись в клінічній практиці згідно затверджених показань та протипоказань.

1. Нетяженко В.З., Мальчевська Т.Й. // Мистецтво лікування. — 2005. — № 1. — С. 64—70.
2. Gomez Y., Adams E., Hoogmartens J. // J. Pharm. Biomed. Analysis. — 2004. — Vol. 34. — P. 341—348.
3. U.S.P. — XXVIII. — Р. 516—517.

Надійшла до редакції 26.10.2005.

И.С.Чекман, И.И.Геращенко, О.В.Соляник, Д.А.Маркелов

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОРИГИНАЛЬНОГО И ГЕНЕРИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТОВ КЛОПИДОГРЕЛА

Методами pH-метрии, УФ-спектрофотометрии, высокоеффективной жидкостной хроматографии, поляриметрии, а также с использованием теста на растворимость, были проведены сравнительные исследования оригинального препарата клопидогрела бисульфата — «Плавикс», производства «Санофи Винтроп Индастрия» и генерического — «Клопигрел», производства «ЮСВ Лимитед». Результаты исследований свидетельствуют о том, что генерический препарат по своим физико-химическим показателям не уступает оригинальному. Отдельные незначительные отклонения не могут быть причиной сомнений в фармацевтической эквивалентности препаратов. Клопигрел соответствует требованиям спецификации фирмы и может использоваться в клинической практике согласно инструкции о медицинском применении.

I.S.Chekman, I.I.Gerashchenko, O.V.Solyanik, D.A.Markelov

COMPARATIVE STUDY OF PHYSICO-CHEMICAL PARAMETERS OF ORIGINAL AND GENERIC BRANDS OF CLOPIDOGREL

SUMMARY

A comparative study of the original brand of Clopidogrel bisulphate — Plavix, manufactured by Sanofi Winthrop Industries and a generic brand — Clopigrel, manufactured by USV Limited, India, was carried out using various analytical methods like pH-metry, UV-Spectrophotometry, HPLC (High Performance Liquid Chromatography), Polarimetry and test for Dissolution. Results of this study provide evidence that the generic brand with its physico-chemical properties is equivalent to the original brand. There were some minor non-significant differences, which cannot be a valid reason for doubting the equivalence of the two formulations. Clopigrel conforms to all the standards as mentioned in the Company Specification and hence can be used in clinical practice according to the instructions for medicinal use provided for the drug.

Свідоцтво про реєстрацію КВ № 1004 від 17 жовтня 1994 р.

Журнал включено до переліку видань, визнаних ВАК України

Засновник: Міністерство охорони здоров'я України, Державна служба лікарських засобів та виробів медичного призначення, Національний фармацевтичний університет, Державний науковий центр лікарських засобів

Розрахунковий рахунок журналу: Державне спеціалізоване видавництво «Здоров'я», ЗКПО 02473139 Печерське відділення Київської міської філії АКБ «Укрсоцбанк», р/р 26000026432131, МФО 322012. На видання журналу «Фармацевтичний журнал».

01054, Київ-54, вул. Воровського, 32Б. Тел. 486-18-29.

Фармацевтичний журнал № 2, березень—квітень, 2006. Двомісячний науково-практичний журнал. Заснований у 1928 р. Головний редактор О.О.Цуркан. Київ, Державне спеціалізоване видавництво «Здоров'я». 01054, Київ-54, вул. Воровського, 32Б. Тел. 486-18-29.

Редактор відділу Т.К.Семенюк. Коректор В.С.Дубок

Здано до набору 30.03.2006. Підписано до друку 27.04.2006. Формат 70x108 1/16. Папір офсет. № 1. Ум.-друк. арк. 9,1. Обл.-вид. арк. 9,91. Зам. 6-649.

Адреса редакції: 04112, Київ-112, вул. Дорогожицька, 9, кім. 47. Тел./факс 205-49-19. ЗАТ «ВІПОЛ», ДК № 15, 03151, Київ-151, вул. Волинська, 60.