

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Головей О.П.

КОНСПЕКТ ЛЕКЦІЙ

з дисципліни

«Технологія антибіотиків та лікарських препаратів»

для здобувачів вищої освіти

за освітньо-професійною програмою «Біотехнології та біоінженерія»
зі спеціальності: 162 Біотехнології та біоінженерія
в галузі знань 16 Хімічна та біоінженерія
першого (бакалаврського) рівня

Затверджено редакційно-видавничою секцією
науково-методичної ради ДДТУ
18. 05. 2017 р. протокол № 5

Кам'янське

2017

Розповсюдження і тиражування без офіційного дозволу Дніпродзержинського державного технічного університету забороняється

Конспект лекцій з дисципліни «Технологія антибіотиків та лікарських препаратів» освітньо-професійної програми першого (бакалаврського) рівня вищої освіти зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» усіх форм навчання / Укладач: Головей О.П. – Кам'янське: ДДТУ, 2017. – 121 с.

Укладач: к.х.н., доцент Головей О.П.

Відповідальний за випуск: зав. кафедри ПБЗХ,
к.т.н., доцент Корнієнко І.М.

Рецензент: к.т.н., доцент кафедри ПБЗХ Корнієнко І.М.

Затверджено на засіданні кафедри
Промислової біотехнології та загальної хімії
протокол № 1 від 04.01.2017.

Коротка анотація видання. Конспект лекцій з дисципліни «Технологія антибіотиків та лікарських препаратів» для студентів денної та заочної форм навчання містить теоретичний матеріал, необхідний для вивчення дисципліни, та контрольні питання для самопідготовки.

Зміст

Вступ	4
Тема 1. Значення біологічно активних лікарських речовин для народного господарства	5
Тема 2. Сучасні мікробіологічні виробництва біологічно активних речовин	12
Тема 3. Фармацевтична технологія.....	22
Тема 4. Класифікація антибіотиків.....	53
Тема 5. Загальна характеристика основних груп антибіотиків.....	56
Тема 6. Традиційні технології отримання препаратів антибіотиків	68
Тема 7. Технологія виробництва антибіотиків.....	72
Тема 8. Виробництво ферментних препаратів.....	82
Тема 9. Технологія отримання вітамінів.....	108
Тема 10. Технологія виробництва бактеріальних препаратів для сільського господарства.....	115
Рекомендована література.....	119

Вступ

Метою викладання дисципліни є ознайомлення з основними закономірностями синтезу біологічно активних речовин (БАР), особливостями використання їх у фармації, принципами організації лабораторій біотехнологічного підприємства, що виготовляє лікарські препарати, методами підготовки продуцентів та сировини, що використовується для виробництва антибіотиків та інших БАР, особливостями мікробіологічної технології, апаратурно-технологічного та інженерного оформлення біотехнологічних процесів, вивчення принципів біофармації, що враховуються при виготовленні лікарських препаратів, технологій виробництва окремих біологічно активних речовин (антибіотиків та інших лікарських речовин), методів контролю мікробіологічних та фізико-хімічних стадій виробництва.

Освоєння дисципліни надає майбутнім інженерам-біотехнологам базові знання з технологічного втілення процесів біологічного синтезу на виробництві та в лабораторіях при розробці нових та удосконаленні існуючих технологій, організації сучасного біотехнологічного виробництва згідно нормативно-технічної документації.

Завданням дисципліни є забезпечення можливості розробки сучасної технології виробництва певного продукту біологічного синтезу – антибіотику та іншої лікарської речовини, а також виконання мікробіологічного та фізико-хімічного контролю основних стадій технологічного процесу.

Тема 1. Значення біологічно активних лікарських речовин для народного господарства.

Мета дисципліни – ознайомлення з основними закономірностями синтезу біологічно активних речовин (БАР), особливостями використання їх у фармації, вивчення принципів і особливостей мікробіологічної технології, апаратурно-технологічного та інженерного оформлення біотехнологічних процесів, технологій виробництва окремих біологічно активних речовин (антибіотиків та інших лікарських речовин), методів контролю мікробіологічних та фізико-хімічних стадій виробництва. Освоєння дисципліни надає майбутнім інженерам-біотехнологам базові знання з технологічного втілення процесів біологічного синтезу на виробництві та в лабораторіях при розробці нових та удосконаленні існуючих технологій.

Завдання дисципліни – забезпечення можливості розробки сучасної технології виробництва певного продукту біологічного синтезу – антибіотику та іншої лікарської речовини, а також виконання мікробіологічного та фізико-хімічного контролю основних стадій технологічного процесу.

Значення фармацевтичної технології ліків в охороні здоров'я надзвичайно велике, тому що при наданні медичної допомоги хворим у 90 % випадків фахівці цієї служби використовують ліки. Підкреслюючи значення фармакотерапії, І. П. Павлов відзначав, що ліки є універсальним знаряддям медика, і ніякі втручання, будь-то хірургічні, акушерські або інші, не обходяться без використання лікарських препаратів.

Перспективи розвитку фармацевтичної технології тісно пов'язані із науково-технічним прогресом. На підставі новітніх наукових відкриттів створюються принципово нові, більш досконалі технологічні процеси, що різко підвищують продуктивність праці та поліпшують якість готової продукції. Технології впливають на майбутні економічні показники виробництва, вимагають розробки малоопераційних, ресурсозберігаючих і безвідхідних

процесів, їх автоматизації, максимальної механізації та комп'ютеризації. Для прогнозування й оптимізації технологічних процесів успішно застосовується математичне планування експерименту, що надійно увійшло в технологічну науку та практику. Цей метод дозволяє одержувати математичні моделі, що пов'язують параметр оптимізації з чинниками впливу на нього і дає можливість заздалегідь виявляти оптимальні технологічні режими. Технологія одержала сучасні методи моделювання оптимальних кінцевих результатів із найменшими витратами, що є прикладом того, як наука перетворюється на безпосередню продуктивну силу.

Завдяки зростанню ролі та можливостей нових технологій скорочуються терміни від виникнення ідей, перших результатів наукових досліджень до їх реалізації у промисловому виробництві. Розвиток фармацевтичної технології визначається вимогами сучасної фармакотерапії, що передбачає створення таких лікарських препаратів, які були б максимально ефективними з лікувальної точки зору при мінімальному вмісті лікарської субстанції і відсутності побічної дії. В основу вирішення цього завдання покладено принципи біофармації, що ґрунтуються на оптимальному доборі складу і виду лікарської форми та використанні оптимальних технологічних процесів. Цим пояснюється значне поширення і поглиблення біофармацевтичних досліджень у багатьох країнах. Однак вивчення біофармацевтичних аспектів одержання і призначення лікарських препаратів, визначення «шляху» лікарських засобів в організмі — це лише перший крок сформульованого завдання. Подальші зусилля мають бути спрямовані на реалізацію отриманих результатів у процесі виробництва й застосування лікарських препаратів з метою ліквідації певних вад — короткого терміну дії; нерівномірного надходження лікарських речовин у патологічний осередок; відсутності вибіркової дії; недостатньої стабільності тощо. До першорядних проблем фармацевтичної технології варто віднести підвищення розчинності важкорозчинних речовин у воді та ліпідах; збільшення стабільності гомогенних і гетерогенних лікарських систем; продовження часу

дії лікарських препаратів; створення ліків спрямованої дії із заданими фармакокінетичними властивостями.

Фахівцями відзначається необхідність вивчення і використання у фармацевтичній технології останніх досягнень колоїдної хімії та хімічної технології: нові способи диспергування, успіхи фізико-хімічної механіки, колоїдної хімії та хімії полімерів, застосування нестехіометричних сполук, мікрокапсулювання, нові способи сушіння, екстракції та багато іншого. Цілком очевидно, що вирішення цих та інших завдань, які стоять перед фармацевтичною технологією, вимагає розробки нових способів виробництва та аналізу ефективності лікарських препаратів, використання нових критеріїв її оцінки, а також вивчення можливостей запровадження отриманих результатів у практичну фармацію та медицину. Промислове виробництво передбачає серійний масовий випуск готових лікарських препаратів за стандартними прописами.

В основу фармацевтичного виробництва покладено широке використання машин, апаратів, потокових механізованих і автоматизованих ліній. Особливістю виробництва ліків є профілізація його в межах галузі, тобто створення спеціалізованих підприємств з випуску обмеженої кількості типів продукції. Так, ФК «Здоров'я» (Харків) спеціалізується на таблетованих та ін'єкційних препаратах; «Галичфарм» (Львів) випускає мазі, таблетки; на інших хіміко-фармацевтичних підприємствах виготовляють м'які лікарські форми. Спеціалізація підприємств дозволяє сконцентрувати увагу на розробці і впровадженні у виробництво новітніх досягнень науки і практики та удосконалювати якість продукції. Виробництво готових лікарських засобів у всьому світі постійно розвивається і щорічно зростає більш як на 10 %. Щороку на світовий ринок надходить від 35 до 61 нових препаратів. Це забезпечується великими витратами на науково-дослідні й дослідно-конструкторські роботи — у середньому вони складають 12,6—19,2 % від вартості продукції, що випускається. Розвиток фармацевтичної промисловості стимулюється такими

заходами держави та фірм:

- державним фінансуванням адміністративних заходів з надання медичної допомоги населенню (у США вони дорівнюють 12 % валового національного продукту);
- створенням великих фірм, які поєднують виробництво і наукові дослідження;
- організацією спільних підприємств з іншими фірмами різних країн;
- випуском високоефективних препаратів, необхідних для лікування захворювань, що існують на даний момент;
- створенням значного асортименту суворо стандартизованих допоміжних речовин;
- наявністю мобільної машинобудівної промисловості, що випускає сучасне високопродуктивне устаткування;
- проведенням соціальних досліджень та інформуванням про нові препарати лікарів і споживачів.

Технологія — це сукупність методів опрацювання, готування, зміни стану, властивостей, форми сировини, матеріалу або напівфабрикату, здійснюваних у процесі виробництва продукції. Технологія як наука про способи і методи переробки сировини виникла у зв'язку з розвитком великої машинної промисловості наприкінці XVIII століття і, сформувавшись, швидко перетворилася з прикладної на велику фундаментальну науку. Розвиток технології постійно перебуває під впливом економічних та інших інститутів суспільства. У свою чергу, вплив технічного прогресу на суспільство відбувається насамперед через підвищення продуктивності праці, через спеціалізацію засобів праці, що служать технічною основою її розподілу, і, нарешті, шляхом заміщення технічними засобами трудових функцій людини. Усі сфери життєдіяльності суспільства розвиваються комплексно, з урахуванням соціальних, економічних і технічних чинників. Оптимальними є лише ті технологічні рішення, що сприяють найбільш повному задоволенню

матеріальних і духовних потреб людства. Це можна віднести й до хімічної та фармацевтичної технології. У сучасне поняття «технологія» вкладають сукупність прийомів і способів одержання, обробки або переробки сировини, матеріалів, напівфабрикатів, виробів, що здійснюються з метою одержання готової фармацевтичної продукції.

Необхідно зауважити, що в поняття «технологія» включають операції видобування, переробки, дозування (фасування), транспортування, складування та зберігання вихідної сировини і готової продукції (тому що вони є складовою частиною виробничого процесу), а також технологічний контроль і науково обґрунтовану стандартизацію виробництва у вигляді технологічних регламентів, методів, правил, графіків тощо.

Основні завдання фармацевтичної технології:

- розробка технологічних основ і методів виробництва нових лікарських субстанцій і препаратів;
- удосконалення існуючих лікарських препаратів;
- пошук, вивчення і використання у виробництві нових допоміжних речовин;
- вивчення стабільності і встановлення термінів придатності лікарських речовин, препаратів, напівфабрикатів та іншої продукції;
- вивчення ефективності технологічного процесу, основними показниками якого є: питома витрата сировини, енерго- і працевтрати на одиницю продукції; вихід і якість готової продукції; інтенсивність процесу; собівартість продукції.

Завдання фармацевтичної технології як науки полягає у виявленні фізичних, хімічних, механічних та інших закономірностей, а також найбільш ефективних економічних процесів із метою застосування їх у виробництві ліків.

Перші відомості про виготовлення ліків згадувалися в різних пам'ятках культури стародавніх народів (єгиптян, китайців, індусів), що дійшли до наших часів. За первіснообщинного ладу ліки застосовували в тому вигляді, в якому вони зустрічалися в природі,— переважно це були рослини і речовини мінерального або тваринного походження. Готування ліків полягало у

здрібнюванні, просіюванні або змішуванні речовин.

У період рабовласництва з'явилися лікарські форми і певний досвід використання ліків при різних захворюваннях. Незважаючи на примітивні знаряддя виробництва, фармація досягла значного розвитку в Єгипті, Китаї, Індії. Грецька фармацевтична техніка перевершувала єгипетську. Наприклад, греки застосовували перегонку води з метою її очищення. Кожний, хто займався виготовленням ліків, мав запаси сировини, що зберігалися в окремому приміщенні. Від назви «аротесе» (комора) і походить сучасна назва «аптека».

Значного розвитку досягло готування ліків у Стародавньому Римі. Знаменитий лікар і фармацевт того часу Клавдій Гален (131—201 рр. н. е.) систематизував способи приготування відомих на той час ліків. Він описав виробництво порошків, пілюль, мил, мазей, пластирів, гірчичників, зборів, настоїв, відварів, розчинів, мікстур, соків із рослин, жирних рослинних олій та масел, вин, мастил, примочок, припарок. Гален мав свою аптеку з лабораторією, заводом, тобто приміщенням, де виготовлялися різні лікарські форми, а також косметичні засоби: зубні порошки, засоби для волосся тощо. Препарати, описані Галеном, та інші, аналогічні їм, запропоновані вже пізніше, у XVI столітті, одержали назву «галенові». Ця назва зберігається дотепер.

На Сході широку популярність здобув видатний таджицький філософ, лікар і фармацевт Авіцена (Абу Алі Ібн Сіна), який жив десь у 980—1037 рр., автор праці «Канон лікарської науки», що складається з п'яти книг. Дві з них присвячені лікознавству і містять описи багатьох лікарських засобів та удосконалених прописів лікарських форм. Праці Авіцени служили керівництвом для лікарів і фармацевтів протягом кількох століть.

В епоху феодалізму значний вплив на розвиток фармації справила алхімія. Алхіміками були відкриті нові речовини, удосконалені такі технологічні операції, як перегонка, фільтрація і кристалізація. Значні зміни були внесені в номенклатуру лікарських засобів і способів їх готування ятрохімією, або лікувальною хімією, засновником і прихильником якої був

Теофраст Парацельс Гогенгейм (1493—1541). Він і його послідовники розвинули вчення про дозування ліків, запропонували обладнання для їх виготовлення, упровадили в лікувальну практику багато хімічних препаратів і витяжок з рослинної сировини.

У Стародавній Русі розвиток народної медицини відбувався самотнім шляхом. Лікувальні засоби, отримані із сировини рослинного або тваринного походження, застосовували в сирому вигляді або піддавали примітивній обробці. Професії лікаря і фармацевта не були розмежовані. Так, продавець ліків обов'язково давав лікарські поради, а лікар завжди мав при собі ліки. І тих і інших називали «лікувальниками», причому від них не вимагалось спеціальних знань. Лікуванням і продажем ліків могла займатися будь-яка людина. «Лікувальники» також займалися обробкою лікарської сировини і виготовленням складних медикаментів. Знаряддя виробництва і методи роботи були примітивними і дрібнокустарними. Поступово в народній медицині з'являються такі ліки, як «зілля», «цілющі ліки», «водиця», «напої», «мазуни» (мазі), «порохи» (порошки). В XI столітті вже готують соки, настої, відвари та духмяні води, а пізніше з'являються такі лікарські форми, як пластирі, горошки (пілюлі), лаваші (коржі). Їх готували в москательних, трав'яних і «зіллевих» лавках, що були прообразом сучасних аптек.

За Іоанна Грозного була заснована Аптекарська палата, перетворена 1631 року в Аптекарський приказ, а в 1654 — відкрита перша школа для підготовки лікарів. У 1681 році з'явилася Царська аптека, яка купувала сировину в зіллевому ряду і обслуговувала тільки царську родину і двір. До кінця XVI століття в Москві було відкрито ще декілька аптек з лабораторіями для виготовлення галунових та інших препаратів.

У XIX столітті технологія виробництва ліків у Росії зробила новий крок. До цього часу розроблялися методи виготовлення витяжок із рослинної сировини, удосконалювалися способи приготування емульсій, супозиторіїв, пілюль та інших лікарських форм. Тепер з'явилося більш досконале

обладнання: прилади для вимірювання маси, машинка для виготовлення пілюль і супозиторіїв, таблеткові преси, стерилізатори.

Наприкінці XIX століття почали виготовляти лікарські форми для ін'єкцій. Після революції 1917 року всі аптеки та прилеглі до них лабораторії, а також галенові заводи були націоналізовані. Дрібні підприємства з виробництва ліків були закриті, а великі — перебудовані й переоснащені для механізації та автоматизації хіміко-фармацевтичних процесів.

Контрольні питання

1. Як впливають новітні наукові відкриття на технологічні виробництва?
2. Оцінити актуальність виробництва біологічно активних лікарських речовин.
3. Основні завдання фармацевтичної технології.
4. Розвиток виробництва лікарських засобів. Історичні дані.

Тема 2. Сучасні мікробіологічні виробництва біологічно активних речовин

Організація виробництва біологічно активних лікарських речовин на сучасних мікробіологічних та хіміко-фармацевтичних підприємствах має свої специфічні особливості. Виробництво ліків на фармацевтичних підприємствах організовується за цеховим принципом і складається зі спеціалізованих цехів, пов'язаних між собою. Цех — основний виробничий підрозділ, призначений для виконання однорідних процесів (екстракційний, фасувальний та інші цехи) або випуску однотипної продукції (таблетковий, аерозольний, ампульний). У свою чергу, кожний цех має декілька дільниць, де здійснюються однотипні операції, що складають технологічний процес. Наприклад, таблетковий цех може мати дільниці для змішування інгредієнтів, гранулювання, сушіння грануляту, пресування та ін. Залежно від характеру виконуваної роботи цехи

поділяються на основні, допоміжні й підсобні. В основних цехах займаються виготовленням основної продукції заводу (таблетковий, фітохімічний, мазевий). Допоміжні цехи беруть участь у виробничій програмі підприємства і обслуговують основні цехи (ремонтні майстерні, паросиловий цех, лабораторії). Підсобні цехи (підприємства) не мають прямого зв'язку з виробництвом, але їх продукція цілком або частково використовується виробництвом (картонажно-друкарський цех). Види розташування машин і апаратів у цеху:

- цехове розташування;
- розміщення за технологічним процесом;
- змішане розташування.

Машини та апарати необхідно розташовувати таким чином, щоб за мінімальних витрат випуск готових лікарських препаратів був максимальним і здійснювався в короткі терміни. Для цього необхідно дотримувати певних умов:

- сировина, допоміжні матеріали, готові вироби мають рухатися найкоротшим шляхом і в одному напрямі (зустрічні потоки у технологічному процесі неприпустимі);

- виробничі потоки не повинні заважати один одному.

За цеховою організацією виробництва однорідне обладнання розміщується в одному цеху. Наприклад, усі дробильні машини розташовуються в дробильному цеху, фасувальні машини — у фасувальному тощо. Таке розташування апаратури дуже незручне під час перевезень продукції з одного цеху в інший, що уповільнює виробничий цикл та призводить до збільшення вартості готового продукту. Розташування машин і апаратів за технологічним процесом є найбільш вигідним і зручним. Відстань між ними така, що робота одного апарата не заважає іншому, шлях руху продукції організований, продукція випускається стандартною, якісною та в короткі терміни.

У виробництві хіміко-фармацевтичної продукції змішаний тип

розташування машин і апаратів зустрічається найчастіше. Останнім часом широкої популярності набули потокові автоматизовані лінії. Це сполучені одна з одною групи машин і апаратів, які виконують послідовно технологічні операції. Наприклад, потокова лінія в ампульному цеху передбачає миття ампул, наповнення їх розчином, запаювання ампул, оцінку якості запаювання і чистоту розчину в ампулах тощо.

На стадії очищення витяжки культуральні рідини піддають послідовній обробці, метою якої є виділення комплексу діючих речовин у нативному стані або індивідуальних БАР, вільних від супутніх речовин. Прийоми та способи очищення БАР дуже різноманітні й індивідуальні. Необхідність застосування конкретного методу залежить від початкових властивостей витяжки або культуральної рідини (в'язкості, концентрації продукту, наявності домішок і небажаних нерозчинних речовин), а також від необхідного ступеня чистоти і кінцевої форми продукту (кристалічна речовина, його концентрований розчин, висушений порошок і т. д.). Неочищений продукт можна виділити, наприклад, упарюванням витяжки або культуральної рідини після екстрагування.

Послідовність стадій очищення при одержанні високоочищених БАР має такий порядок:

1. Відділення нерозчинних речовин. Для цього, як правило, застосовують фільтрування, центрифугування, відстоювання, седиментацію і декантацію.

2. Очистка БАР. На стадії очищення БАР зазвичай відбувається відділення домішок, а також подальше концентрування продукту. Для цього найчастіше застосовують фракційне осадження, екстракцію в системах рідина — рідина, розділення за допомогою мембран, різні сорбційно-хроматографічні методи.

3. Остаточне очищення БАР. У межах такої технології зазвичай застосовують центрифугування, кристалізацію, висушування розпиленням, ліофілізацію (виморожування) або відгін органічного розчинника.

МЕТОДИ ОСАДЖЕННЯ БАР ІЗ РОЗЧИНІВ

Осадження білків, камедей, слизів, пектинів з водних розчинів ґрунтується на зміні їх розчинності при додаванні значних кількостей певних речовин. Так, при додаванні у витяжку розчину електроліту утворені іони електроліту гідратуються, зневоднюючи молекули біополімеру. При цьому зникає захисний гідратний шар молекул, спостерігається злипання частинок і осадження біополімеру. Висолювання дуже широко застосовується для очищення білкових гормонів (підшлункової, щитовидної і паращитовидних залоз та гіпофіза), стероїдних гормонів, ферментів слизової оболонки шлунка і підшлункової залози, продуктів біосинтезу, простагландинів (ПГЕ1) із плазми крові людини. Серед реагентів, здатних специфічно зв'язувати та осаджувати, наприклад ферменти, значну роль відіграють розчинні синтетичні або природні полімери і поліелектроліти. При одержанні ферментів (зокрема гідролази) із культуральних рідин рекомендовано використовувати танін і білкові добавки: желатин, казеїн, сироватку, пектин або желатозу з додаванням таніну. Осадження біополімерів здійснюють і органічними розчинниками (спиртом, ацетоном), яке проводиться при охолодженні — це один з поширених способів концентрування розчинів, що містять білки, слизи, пектини. Він має низку переваг перед висолюванням, зокрема можливість регенерації, що позитивно позначається на економічних показниках технологічного процесу. Однак органічні розчинники не мають здатності осаджувати білки та інші біополімери. При виборі конкретного методу осадження необхідно враховувати не тільки ступінь збагачення і витрати на осадження, але і необхідний ступінь чистоти біополімеру. Відомо, що осадження білка залежить від низки чинників, що впливають на їх розчинність, в основному від величини рН і концентрації розчину. Найменша розчинність спостерігається при рН, рівному рІ, величині, специфічній для кожного індивідуального білка. Через те що при рІ результуючий заряд молекули білка дорівнює нулю, а при інших значеннях рН молекули білка мають той або інший заряд, то сили електростатичного

відштовхування між молекулами розчиненої речовини мінімальні при рІ. Такий механізм припускає можливість розділення білків з різними ізоелектричними точками шляхом фракційного осадження; при даному рН будуть осаджуватися білки, рІ яких найбільш близький цьому рН (якщо інші характеристики білків, наприклад молекулярна маса, близькі). Зміною рН складну суміш білків розділяють на фракції, які містять різні білки. У той же час багато білків при занадто високих або занадто низьких значеннях рН можуть денатуруватися. З цієї причини найчастіше застосовують інший метод осадження — висолювання.

РОЗДІЛЕННЯ БАР ЗА ДОПОМОГОЮ МЕМБРАН

Останнім часом в хіміко-фармацевтичній і мікробіологічній промисловості все в більшій мірі здобувають складні термічно і хімічно лабільні органічні сполуки. Для цього потрібні «м'які» умови виробництва, яким значною мірою відповідають мембранні процеси. Запровадження мембранних процесів дозволяє інтенсифікувати технологію концентрування біологічно активних речовин, скорочуючи при цьому втрати їх активності. Мембранні методи розділення сумішей, які містять біополімери, значно підвищують якість продукції. Базою для розробки сучасних економічних мембранних процесів стало одержання і подальше удосконалення високо селективних ацетатцелюлозних і синтетичних мембран. Так, проникність мембран з ацетату целюлози удалося збільшити приблизно в 100 разів. У країнах СНД набули поширення ацетатцелюлозні мембрани «Владипор», «Міфіл» і синтетичні напівпроникні мембрани з кополімеру вінілпіролідону з метилметакрилатом. За кордоном широко застосовують мембрани фірм «Абкор», «Міліпор» (США); «Шляйхер Шуель», «Сарторіус» (Німеччина); «Амікон» (Голландія); «Нуклеопор» (Великобританія); комплексні системи ДДС-РО (Данія) для ультрафільтрації і концентрування (зворотний осмос), виготовлені на основі нейлону, полівінілхлориду, тefлону, ацетату нітроцелюлози. Вони мають високу пористість (84 %), хімічно стійкі і

біологічно нейтральні. Нині розробляються установки періодичної і безперервної дії з використанням апаратів плоскорамного, рулонного, трубчастого типів, а також із застосуванням порожнистих волокон. Також розширюється промислове виробництво мембранних фільтрів із можливістю виділення досить малих частинок: 10...0,2 мкм — при мікрофільтрації; 0,02...0,001 мкм — при ультрафільтрації; до 0,0001 мкм — при гіперфільтрації (зворотний осмос). Усі мембранні фільтри мають працювати в умовах широкого інтервалу температур (0—60 °С), рН середовища (3,0—11,0). При проведенні мембранної фільтрації слід враховувати градієнт електричного потенціалу, концентрацію або тиск. Серед рідкофазних мембранних процесів розрізняють діаліз, електродіаліз, ультрафільтрацію, зворотний осмос.

ДІАЛІЗ ТА ЕЛЕКТРОДІАЛІЗ

Явища діалізу і електродіалізу знаходять застосування при очищенні рослинних витяжок. Діаліз базується на властивостях молекул біополімерів, що мають великі розміри, не проходить через напівпроникні мембрани, у той час як речовини з меншими розмірами молекул проходять через них досить вільно. Для діалізу використовують плівки желатину, целофану, колодію, нітроцелюлози. Процес діалізу проходить зазвичай досить повільно, він прискорюється при підвищенні температури, збільшенні площі діалізу і прикладанні електричного струму. В останньому випадку спостерігається явище електродіалізу, до якого схильні здебільшого речовини, що розпадаються на іони. Найпростіша установка для електродіалізу складається з ванни, розділеної двома напівпроникними перегородками на три відсіки. У крайній відсік опущені катод і анод, у середній — наливається витяжка, що піддається діалізу. Катіони під дією електричного струму рухаються через напівпроникні перегородки до анода, аніони — до катода. У середньому відсіку залишаються речовини, що не проходять через напівпроникні перегородки. У процесі роботи періодично або безперервно проводять відведення витяжки, розчинів продіалізованої речовини. Електродіаліз із іонообмінними

мембранами до сих пір не знайшов широкого застосування. Є лише дослідження, які доводять можливість очищення технічних напівпродуктів, що містять алкалоїди гіосціамін і сальсолін від високомолекулярних неіонізованих речовин методом електродіалізу з гетерогенними мембранами МК-40 і гомогенними мембранами МК-1СС. Дослідження також показали, що перетворення катіонітових мембран, яке відбувається в процесі електродіалізу, у форму органічного іона супроводжується стисненням іонообмінних частинок гетерогенних мембран, порушенням їх зв'язку з ненабухлою основою мембран і рівномірним стисненням всієї гомогенної мембрани. У першому випадку це призводить до мікродеструкції мембрани і до значного збільшення переносу розчинника разом із недисоційованими сполуками, що обмежує можливості очищення. При застосуванні гомогенних мембран мікродеструкції при переході у форму органічного іона не відбуваються, тому гомогенні мембрани більш перспективні для застосування в процесі розділення природних полярних і неполярних органічних речовин.

УЛЬТРАФІЛЬТРАЦІЯ

Метод ультрафільтрації полягає в розділенні високомолекулярних і низькомолекулярних сполук на селективних мембранах, здатних пропускати низькомолекулярні сполуки під дією тиску 98-490 кПа. Ультрафільтрація в 50-20 разів ефективніша за гель-фільтрацію та у 1000 разів ефективніша від очищення з використанням фракціонування етанолом. Застосування ультрафільтрації має ще низку переваг: виключається денатурація білка, тому що процес іде без фазових перетворень при будь-якій температурі; можливі одночасне концентрування і очищення від мінеральних і низькомолекулярних органічних речовин; незначні витрати енергії. Ультрафільтраційні установки відрізняються простою конструкцією та експлуатацією. Вадю ультрафільтрації є емпіричний підхід до підбору мембрана певній стадії виділення БАР. Теоретично прогнозувати ультрафільтраційні властивості розчинів складного складу неможливо, тому що мембрани, як правило, стандартизують кислими

речовинами з певною молекулярною масою. У нашій країні випускають ультрафільтраційні ацетатцелюлозні мембрани: УАМ 50м, УАМ 100м, УАМ 150м, УАМ 200м, УАМ 300м, УАМ 500м. Технологія ультрафільтрації така: суспензію під тиском пропускають через напівпроникну мембрану з великою кількістю пор дрібного діаметра (0,02—0,001 мкм), у результаті чого колоїдні частинки затримуються мембраною, а вода і молекули, що містяться в ній, проходять крізь стінки ниток і накопичуються в корпусі патрона. Навіть при низькому тискові забезпечується інтенсивний потік фільтрату. Активна частина мембрани — це поверхня, по якій проходить суспензія. Розділення фракцій відбувається саме на цій тонкій поверхні. Мембрана неоднорідна по товщині, унаслідок чого опір протіканню рідини по всій її поверхні мінімальний. Основні виробники ультрафільтраційних установок — фірми «Альфа-Лаваль» (Швеція); «Міліпор» (США), ДДС-РО (Данія); «Амікон» (Нідерланди), АІ-ОУВ, АІ-ОУП, УЛС-3, УКТ-40, УКФ-80 (Росія).

ЗВОРОТНИЙ ОСМОС

Зворотний осмос (гіперфільтрація) — перехід розчинника (води) із розчину через напівпроникну мембрану під дією зовнішнього тиску. Надлишковий робочий тиск розчину ($P_{p-ну}$) при цьому набагато більший від осмотичного ($P_{ос}$). Рушійною силою зворотного осмосу є різниця тисків:

$$P = P_{p-ну} - P_{ос}$$

Для розділення речовин застосовують мембрани двох типів:

1. Пористі з розміром пор $10^{-4} — 10^{-3}$ мкм (1—10 А°). Селективна проникність базується на адсорбції молекул води поверхнею мембрани і її порами. У нашій країні випускають ацетатцелюлозні мембрани: УАМ-50м, УАМ-500м.

2. Непористі дифузійні мембрани утворюють водневі зв'язки з молекулами води на поверхні контакту. Під дією надлишкового тиску ці зв'язки руйнуються, молекули води дифундують у протилежну сторону мембрани, а на утворені вільні місця проникають наступні. Таким чином, вода

неначе розчиняється на поверхні і дифундує усередину шару мембрани. Майже всі БАР, крім газів, не можуть проникати через таку мембрану. У нашій країні і країнах СНД випускають гіперфільтраційні ацетатцелюлозні мембрани МГА-80, МГА-90, МГА-100. Цифра в марці означає відсоток селективності S. На цьому принципі працюють промислові вітчизняні установки типу «Роса», УГ-1, УГ-10, продуктивністю відповідно від 0,1 до 1 і від 1 до 10 м³/доба, і закордонні фірми «Абкор» (США), ДДС-РО (Данія). Зазвичай установки зворотного осмосу призначені для однорідних високов'язких рідин; випускають установки двох типів: трубчасті і рулонні, застосовуючи не менше п'яťох марок фільтраційного матеріалу, який має високу стійкість до рН (1 – 13), селективність і робочу температуру до 80°C.

СОРБЦІЯ

Методи очищення БАР сорбцією в наш час набули широкого застосування в хіміко-фармацевтичній і мікробіологічній промисловості. Сорбцією називають процес поглинання газів, парів, розчинених речовин твердими і рідкими сорбентами. Розрізняють декілька видів сорбції.

Адсорбція — поглинання речовини на поверхні сорбенту. Поверхня сорбенту, як правило, дуже велика, тому що на ній є величезна кількість пор. Так, поверхня 1 г активованого вугілля має площу, яка дорівнює 600 – 1000 м². Процес адсорбції має селективність і дозволяє адсорбувати певні БАР із розчину.

Абсорбція — поглинання речовини всім об'ємом твердої або рідкої фази. Абсорбцію використовують, наприклад, для отримання ефірних масел. При одержанні ефірних масел анфлеражем квітки поміщають у закриту посудину над жиром, який усією своєю масою абсорбує ефірне масло.

Хемосорбція — поглинання речовин з утворенням хімічних сполук. До хемосорбції належать іонний обмін, афінна і гідрофобна хроматографія. У виробництві БАР рослинного і тваринного походження і на основі біосинтезу, як правило, використовують адсорбцію.

СОРБЦІЙНІ ПРОЦЕСИ

Сорбційний процес виділення речовин із розчину суміші речовин – це поєднання процесів сорбції і десорбції. Процес десорбції розділений на два етапи: власне десорбцію, тобто одержання елюату, який містить цільовий продукт, і регенерацію, тобто видалення із сорбенту всіх просорбованих речовин, які дозволяють повернути сорбент знову на стадію адсорбції. Раціональний вибір адсорбентів, розчинників і умов їх застосування для одержання речовин із розчинів має базуватися на таких положеннях.

1. Адсорбент і умови адсорбції мають бути обрані так, щоб вони забезпечували переважну і максимальну сорбцію екстрагованої речовини і її мінімальну залишкову концентрацію в розчинів умовах рівноваги.

2. Десорбувальний розчинник і умови десорбції повинні бути обрані так, щоб в умовах рівноваги елюат з відносно високою концентрацією речовини знаходився б у рівновазі з адсорбентом з малим вмістом речовини, тобто щоб адсорбція з десорбувального розчинника була б мінімальною.

Слід зазначити, що обидві ці умови невіддільні одна від одної і, отже, обраний адсорбент має забезпечувати їх виконання. У разі сорбції на молекулярних сорбентах здійснення перших двох умов ведення адсорбційних процесів при виділенні речовин із розчинів зводиться до добору адсорбенту та умов його використання, які забезпечили б значну різницю в адсорбційних потенціалах з водного розчину і десорбувального розчинника. При виборі молекулярного сорбенту для виділення речовин із розчинів важливу роль відіграє так зване правило «зрівнювання» полярностей, установлене Ребіндером. Відповідно до цього правила адсорбція неполярних речовин на неполярних поверхнях буде успішно відбуватися з полярних розчинників, адсорбція полярних речовин на полярних адсорбентах – із неполярних розчинників. Як адсорбент у технології ліків застосовують пористі тверді речовини з великою питомою поверхнею, з яких найбільш поширені: алюмінію оксид, силікагель (гель кислоти силікатної), вугілля активоване, кізельгур,

поліаміди, поліакриламід, сефадекси, целюлози та ін.

Адсорбцію проводять у спеціальних апаратах – адсорберах, найпростішим із них є вертикальний циліндричний апарат періодичної дії, заповнений адсорбентом. Спочатку через адсорбент пропускають розчин і насичують його поглинальною речовиною, потім фільтрують десорбент-розчинник або суміш розчинників, який витискує поглинену речовину. Для проведення безперервної адсорбції використовують установки з декількох адсорберів періодичної дії, в яких поперемінно відбуваються адсорбція і десорбція.

Контрольні питання

1. Які специфічні особливості має організація виробництва біологічно активних лікарських речовин на сучасних мікробіологічних та хіміко-фармацевтичних підприємствах?
2. Яка послідовність стадій очищення при одержанні високоочищених БАР?
3. Які методи використовуються для осадження БАР із розчинів?
4. Охарактеризувати методи виділення і очищення кінцевого продукту: ультрафільтрація, діаліз та електродіаліз, зворотній осмос, осадження, кристалізація, екстракція, мембранні методи.
5. Охарактеризувати сорбційний процес виділення речовин із розчину суміші речовин.

Тема 3. Фармацевтична технологія

БІОФАРМАЦІЯ ЯК НОВИЙ ТЕОРЕТИЧНИЙ НАПРЯМ

У другій половині ХХ століття в комплексі лікувальних заходів зростає роль лікарського забезпечення хворих. У спеціальній медичній літературі з'явилися відомості про значні відмінності в біологічній активності лікарських

препаратів залежно від технології виготовлення, використаних допоміжних речовин та їх фізичного стану. За даними клінік США, при призначенні таблеток бісгідроксикумарину (антикоагулянту, що діє на процеси згортання крові), які були придбані у двох різних фармацевтичних фірмах і містили однакові дози, було встановлено, що таблетки однієї фірми удвічі активніші за інші. При аналізі складу біологічно активного бісгідроксикумарину в таблетках обох фірм відхилень не виявили. Це був перший оприлюднений випадок терапевтичної нееквівалентності того ж самого лікарського препарату, виготовленого різними підприємствами. Пізніше подібну властивість виявили в антибіотиках (еритроміцин, тетрациклін), стероїдних гормонах, сульфаніламидах. Оскільки фармація тривалий час спиралася на товарознавчий підхід до характеристики лікарських препаратів (визначалися маса, колір, зовнішній вигляд, кількісний вміст діючої речовини), вона не могла обґрунтувати таку терапевтичну нееквівалентність. Пояснення цьому дала нова галузь — **біофармація**, що ознаменувала народження біологічного етапу фармації.

Біофармація — це наука, яка вивчає біологічну дію лікарських препаратів залежно від їхніх фізичних властивостей, лікарської форми та технології виготовлення. Остаточне виділення її як самостійного напрямку фармацевтичної науки відбулося на початку 60-х років ХХ століття. У Росії перші роботи з біофармації опубліковані професорами П. Л. Сеновим, А. І. Тенцовою, І. С. Ажгихіним. В Україні біофармацевтичними дослідженнями займалися професори Д. П. Сало, Г. С. Башура, І. М. Перцев, Д. І. Дмитрієвський, В. І. Чуєшов, М. О. Ляпунов. Головним у біофармації є визнання біологічного значення фармацевтичних процесів, які відбуваються при одержанні лікарських препаратів, що як складні фізико-хімічні сполуки здатні вступати у взаємодію з біологічними системами організму. Тому головне завдання полягає у вивченні чинників впливу на терапевтичну ефективність лікарських засобів, а також у створенні раціональних, терапевтично адекватних препаратів, які мають

мінімум побічних ефектів. Біофармація як теоретична основа лікознавства має кілька напрямів: вивчення ролі фармацевтичних чинників, умов виготовлення, транспортування, біотрансформації, розподілу і виділення лікарських речовин; дослідження біологічної доступності препаратів і методів їх визначення; розробка методів визначення лікарських речовин у біологічних рідинах; вивчення фармакокінетики препаратів залежно від вмісту діючої речовини в крові та в інших біологічних рідинах. Зазначені напрями не вичерпують увесь загальний біофармацевтичний інтерес. Термін і поняття «фармацевтичні чинники» поширюються на ті процеси, що впливають на терапевтичну активність лікарських речовин. Їх поділяють на п'ять груп:

- хімічна модифікація препарату (сіль, кислота, наявність ефірних зв'язків, комплексні сполуки);
- фізико-хімічний стан лікарської речовини (форма кристалів, розмір частинок, наявність або відсутність заряду на їх поверхні);
- допоміжні речовини, їх природа, кількість;
- вид лікарської форми і шлях уведення;
- фармацевтична технологія.

Дослідження показали, що хімічна модифікація препарату значно впливає на кінетику його всмоктування і вивільнення з організму. Фізико-хімічний стан лікарської речовини позначається на біологічній активності. Доведено, що характер розчинника, швидкість кристалізації, температура процесу, рівень тиску та інші чинники, що змінюються, впливають як на геометричну форму кристалів, що утворюються, так і на їхній склад. Теоретично доведені і практикою підтверджені поліморфні перетворення для сульфаніламідів, стероїдів, барбітуратів і антибіотиків, що значно впливають на біологічну доступність лікарських речовин. Наприклад, 30-60 % сульфаніламідів, 70 % барбітуратів — поліморфні, третя частина всіх органічних сполук має не менше двох кристалічних форм: для хлорамфеніколу пальмітату встановлено чотири поліморфні форми — А, В, С і аморфна. Численними дослідженнями доведено, що

ступінь дисперсності лікарських речовин позначається на швидкості їх всмоктування. Установлено точні кількісні характеристики залежності між швидкістю і повнотою всмоктування. Так, таблетки грізеофульвіну з розміром частинок 5 мкм і менше у 2-3 рази ефективніші від звичайних із розміром частинок 100 мкм.

Значний вплив на активність ліків справляють допоміжні речовини, їх природа і кількість. Вони не тільки є матрицею для біологічно активних речовин, але й мають певні фізико-хімічні властивості. Допоміжні і діючі речовини взаємодіють між собою і впливають на систему лікарська речовина — організм. Наприклад, магнію стеарат і кислота стеаринова затримують швидкість розчинення кислоти саліцилової з таблеток, а натрію лаурилсульфат прискорює її. Багато допоміжних речовин розкладають кислоту ацетилсаліцилову з виділенням кислоти саліцилової, що виявляє сильну подразнювальну дію на слизову оболонку шлунка.

Призначаючи препарат хворому, лікар у своїй повсякденній роботі має справу з лікарською формою, від якої залежить доза діючої речовини. У результаті численних досліджень отримано дані, які вказують на залежність швидкості всмоктування інгредієнтів, що входять до складу ліків, їхньої концентрації в біоречовинах, характеру розподілу в тканинах і органах та біотрансформування, від виду лікарської форми і шляху її введення. Досі існувала думка, що лікарська форма має формальний характер і повинна відповідати обумовленим технічним параметрам, масі, розміру, консистенції, виду поверхні тощо. Але цього не досить для визначення поняття «лікарська форма», бо не розкривається її внутрішній зміст. У процесі виробництва ліків відбуваються всілякі зміни, що призводять до появи терапевтичної нееквівалентності препаратів. Тому фармацевтична технологія обумовлює якість препарату і його терапевтичну ефективність. Так, при виробництві таблеток застосовують найрізноманітніші технологічні прийоми, допоміжні речовини та апарати, що можуть впливати на біологічну активність препарату.

Тому при виробництві лікарських препаратів необхідно добирати фармацевтичні чинники з урахуванням всебічного впливу їх на біологічну активність діючих речовин.

ПРИНЦИПИ КЛАСИФІКАЦІЇ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМ

Лікарські форми як один із необхідних елементів лікування пройшли складний і тривалий шлях розвитку, при цьому одні зникали або видозмінювалися, інші — з'являлися. Раціонально підібрані фармакологами лікарські форми дозволяють максимально використовувати лікувальну дію препаратів при мінімальних побічних ефектах. Існує кілька загальноприйнятих класифікацій лікарських форм, в основу яких покладено різні принципи: агрегатний стан речовин, шляхи введення, способи застосування та ін. Наприклад, беручи до уваги шляхи введення, розрізняють лікарські форми:

— пероральні — розчини, суспензії, сиропи, емульсії, еліксири, настої, настойки, відвари, порошки, таблетки, драже, пілюлі, желе, гранули, капсули, мікрокапсули;

— ін'єкційні — розчини, суспензії, емульсії, порошки і таблетки для розчинення, таблетки і капсули для імплантації;

— інгаляційні — гази, пари, аерозолі;

— сублінгвальні — порошки, драже, таблетки, капсули, розчини, таблетки для жування;

— перкутанні — мазі, розчини, креми, пластири, лініменти, пасти, гелі, аерозолі звичайні, пінні та піноутворюючі;

— ректальні — супозиторії, мазі, капсули, аерозолі, піни, розчини, суспензії, емульсії, мікроклізми;

— вагінальні — супозиторії, кульки, таблетки, розчини, емульсії, суспензії;

— очні — розчини, мазі, плівки, гелі.

У практичній діяльності дуже поширений поділ лікарських форм: на загальної дії (пероральні, сублінгвальні, ін'єкційні та деякі види аерозолей,

перкутанних і ректальних форм) і місцевої дії (нашкірні, деякі види ректальних форм та аерозолей). Однак віднесення лікарської форми до тієї або іншої групи тільки за класифікаційною ознакою не дає повної уяви про всі її особливості чи терапевтичні можливості. Розвиток біофармацевтичних досліджень та прогрес у галузі фармацевтичної технології, особливо в другій половині ХХ століття, а також вимоги медицини до підвищення ефективності ліків уносять свої корективи в розподіл їх на класифікаційні групи. Найбільш прийнятна сучасна класифікація лікарських форм має враховувати три основні чинники: фізико-хімічні властивості, особливості методів виготовлення та біологічну функцію (призначення) лікарських форм. Призначення лікарських форм має вирішальне значення, оскільки оптимальний вибір і відповідний шлях уведення ліків в організм хворого здебільшого визначають хімічну ефективність лікування. Тому з медичної, споживчої точки зору розподіл лікарських форм на групи залежно від шляху введення є найкращим. Я. І. Хаджай запропонував класифікацію вітчизняних лікарських форм, що об'єднує шлях уведення і належність до класів лікарських форм. У класифікації автор визначив п'ять шляхів уведення лікарських форм:

- 1) у шлунок (усередину);
- 2) ін'єкції, вливання, імплантації;
- 3) інгаляції;
- 4) уведення в порожнини тіла, що сполучаються із зовнішнім середовищем (порожнини рота, носа, вуха, прямої кишки, уретри);
- 5) нанесення на шкіру та слизову оболонку, у тому числі в око.

Також зазначено шість класів лікарських форм:

- 1) порошки та збори;
- 2) таблетки, драже, гранули;
- 3) капсули;
- 4) рідини;
- 5) системи з пластичним або твердим дисперсійним середовищем;

б) макромолекулярні терапевтичні системи.

ОСНОВНІ ВИЗНАЧЕННЯ І ТЕРМІНИ, ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ У ФАРМАЦЕВТИЧНІЙ ТЕХНОЛОГІЇ.

Для успішного виробництва ліків необхідно правильно вживати і розуміти терміни, які повинні точно відбивати зміст і не припускати подвійного тлумачення. Далі подано основні (базові) терміни, якими найбільш широко користуються в навчальній, довідковій та спеціальній літературі, а також у виробничій діяльності (при впорядкуванні нормативно-технічної документації).

Наведені визначення можуть відрізнятися в інших документах або терміни можуть мати інше значення. Наприклад, Настанова 42-01–2001 «Лікарські засоби. Належна виробнича практика» наводить таке визначення серії: Серія — певна кількість вихідної сировини, пакувальних матеріалів або продукції, що піддається обробці в одному або в низці послідовних технологічних процесів таким чином, що можна розраховувати на однорідність продукції. Настанова 42-02–2002 «Лікарські засоби. Належна виробнича практика активних фармацевтичних інгредієнтів» визначає серію як конкретну кількість речовини, отриманої внаслідок технологічного процесу або серії процесів таким чином, що можна розраховувати на її однорідність у встановлених межах. У разі безперервного виробництва серія може відповідати певній частині продукції. Розмір серії може визначатися або фіксованою кількістю, або кількістю, виробленою за певний проміжок часу. Методичні рекомендації МВ 64У-1–97 «Виробництво лікарських засобів. Належні правила та контроль якості» використовують термін серія, як визначену кількість готової продукції (лікарського засобу), що одержана в одному технологічному процесі або в ряді послідовних технологічних процесів при обробці певної кількості вихідної сировини, пакувальних матеріалів або напівпродуктів, яка характеризується однаковими показниками якості (однорідністю), закладеними у відповідній нормативній документації.

Міністерство охорони здоров'я України — головний (провідний) орган у

системі центральних органів виконавчої влади із забезпечення реалізації державної політики у сферах охорони здоров'я, санітарного та епідемічного благополуччя населення, створення, виробництва, контролю якості та реалізації лікарських засобів і виробів медичного призначення (Положення про Міністерство охорони здоров'я України / Указ Президента України № 918/2000 від 24 липня 2000 року).

Державна фармакопея України (ДФУ) — правовий акт, який містить загальні вимоги до лікарських засобів, фармакопейні статті, а також методики контролю якості лікарських засобів (Закон України «Про лікарські засоби»).

Державний реєстр лікарських засобів України — нормативний документ, який містить відомості про лікарські засоби, дозволені для виробництва й застосування в медичній практиці (Закон України «Про лікарські засоби»).

Активний фармацевтичний інгредієнт (лікарська речовина, діюча речовина) — будь-яка речовина (чи суміш речовин), що призначена для використання у виробництві лікарського препарату і яка при використанні у виробництві лікарського засобу стає його активним інгредієнтом. Такі речовини виявляють фармакологічну чи іншу безпосередню дію; їх застосовують для лікування, діагностики чи профілактики захворювання, для зміни стану, структур або фізіологічних функцій організму, для догляду, обробки, а також для полегшення симптомів (Настанова 42-02–2002).

Вироби медичного призначення — вироби медичної техніки, матеріали, медичні вироби, обладнання тощо, які застосовуються в медичній практиці для попередження і діагностики захворювань, моніторингу, контролю та дослідження морфофункціонального стану організму, анатомічного чи фізіологічного стану ушкодженого органу або його функцій тощо (Порядок державної реєстрації виробів медичного призначення в Україні / Наказ МОЗ України № 229 від 26 вересня 2000 року).

Вихідна сировина — будь-яка сировина, що використовується при виготовленні лікарського засобу, за винятком пакувальних матеріалів

(Настанова 42-01–2001).

Готова продукція — лікарський засіб, що пройшов усі стадії виготовлення, включаючи остаточне пакування (Настанова 42-01–2001).

Готові лікарські засоби (лікарські препарати, ліки, медикаменти) — дозовані лікарські засоби в тому вигляді й стані, в якому їх застосовують (Закон України «Про лікарські засоби»).

Допоміжні речовини — додаткові речовини, необхідні для виготовлення готових лікарських засобів (Закон України «Про лікарські засоби»).

Лікарська форма — зручна для вживання хворими форма готового лікарського засобу, яка забезпечує раціональну фармакокінетику готового лікарського засобу та оптимальну його терапевтичну дію (Вимоги до інформації про застосування лікарського засобу / Наказ МОЗ України № 163 від 3 травня 2001 року).

Лікарський препарат — лікарський засіб у вигляді певної лікарської форми. Це готовий продукт, розфасований, упакований, маркований, який має певне медичне призначення і встановлений термін придатності (Термінологічний словник, 1982 р.).

Лікарські засоби — речовини або їх суміші природного, синтетичного чи біотехнологічного походження, які застосовуються для запобігання вагітності, профілактики, діагностики та лікування захворювань людей або зміни стану і функцій організму. До лікарських засобів належать: діючі речовини (субстанції); готові лікарські засоби (лікарські препарати, ліки, медикаменти); гомеопатичні засоби; засоби, які використовуються для виявлення збудників хвороб, а також боротьби із збудниками хвороб або паразитами; лікарські косметичні засоби; лікарські домішки до харчових продуктів (Закон України «Про лікарські засоби»).

Лікарські засоби-дженерики — лікарські засоби, здатні замінити новий лікарських засіб після закінчення терміну дії патенту (Порядок проведення експертизи матеріалів на лікарські засоби.../ Наказ МОЗ України № 220 від 19

вересня 2000 року).

Лікарська рослинна сировина — свіжі чи висушені лікарські рослини та їхні частини (Настанова 42-01–2001).

Аналітична нормативна документація (АНД) — матеріали щодо методів аналізу якості лікарського засобу, а також інша документація (фармакопейні статті), що дає змогу контролювати його якість (Порядок проведення експертизи матеріалів на лікарські засоби... / Наказ МОЗ України № 220 від 19 вересня 2000 р.).

Біодоступність — рівень та ступінь усмоктування субстанції з готової лікарської форми, що визначається графіком «концентрація — час» при його системній циркуляції чи виділенні із сечею (Порядок проведення експертизи матеріалів на лікарські засоби... / Наказ МОЗ України № 220 від 19 вересня 2000 року).

Біоеквівалентність — порівняльна характеристика двох лікарських засобів за однакових умов, яка підтверджує їх фармацевтичну та біологічну еквівалентність щодо ефективності та безпечності після використання в однакових молярних дозах (Порядок проведення експертизи матеріалів на лікарські засоби... / Наказ МОЗ України № 220 від 19 вересня 2000 року).

Біологічно активна добавка — речовини або їх суміші, що використовуються для надання раціону харчування спеціальних дієтичних чи лікувально-профілактичних властивостей, вміст яких не перевищує рекомендовану дозу активної речовини. Для вітамінів та мінеральних елементів допускається перевищення фізіологічної потреби не більше ніж у три рази (ГН 4.4.8.073–2001).

Блок технологічний — апарат або група (з мінімальним числом) апаратів, які в заданий час можуть бути відключені (ізолювані) від технологічної системи без небезпечних змін режиму, що призводять до розвитку аварії в суміжному апараті або системі (НАОП 1.3.00-1.01–88).

Валідація — дії, які відповідно до принципів належної виробничої

практики доводять, що певна методика, процес, обладнання, сировина, діяльність або система дійсно дають очікувані результати (Настанова 42-01–2001).

Вентиляційне повітря — повітря з відповідним ступенем очищення, що надходить до приміщення через вентиляційну систему (МВ 64У-1–97).

Виробнича інструкція — нормативний документ, що має статус стандарту підприємства, який регламентує певну частину виробничого процесу (МВ 64У-1–97).

Виробнича санітарія — система організаційних і технічних заходів для запобігання або зменшення впливу на працівників небезпечних виробничих чинників (ГОСТ 12.1.005–76).

Виробнича технологічна нормативна документація — документи, що регламентують вимоги до технологічного процесу, у тому числі до допоміжних робіт і виробничого контролю. Вони включають виробничу рецептуру і технологічні інструкції (допускається їх об'єднувати в один документ — технологічний регламент або в основну виробничу інструкцію), інструкції з пакування та відповідні методики (стандартні робочі методики) (Настанова 42-01–2003).

Виробниче приміщення — замкнутий простір у спеціально призначених будинках і спорудах, в яких постійно (по змінах) або періодично (протягом робочого дня) здійснюється трудова діяльність людей (ДСТ У 2293–93).

Вихід очікуваний — кількість речовини (чи відсоток від теоретичного виходу), очікувана на будь-якій відповідній стадії технологічного процесу і ґрунтується на даних, отриманих раніше в лабораторії при дослідно-промисловому або промисловому виробництві (Настанова 42-02–2002).

Вихід теоретичний — кількість, яка визначена на підставі кількості речовини, що використовується, і могла бути вироблена на будь-якій відповідній стадії технологічного процесу за відсутності будь-яких втрат або відхилень в умовах реального технологічного процесу (Настанова 42-02–2002).

Відходи виробництва — залишки сировини, матеріалів, напівпродуктів та їх похідні, що утворюються в енергетиці, промисловості, сільському господарстві, на транспорті, будівництві та інших галузях в процесах виробництва продукції, переробки сировини та проведення інших робіт, які втратили повністю або частково вихідні споживчі характеристики, а також готова продукція, не використана за основним призначенням (ДСТ У 2195–93).

Відділ якості — організаційна одиниця, що є незалежною від виробництва і виконує обов'язки як із забезпечення якості, так і з контролю якості. Це можуть бути або окремі служби забезпечення та контролю якості, або одна особа чи група осіб залежно від масштабу та структури організації (Настанова 42-02–2002).

Вторинна (зовнішня) упаковка — контейнер чи інша форма упаковки, в яку вміщують лікарський засіб у первинній упаковці (Вимоги до інформації про застосування лікарського засобу / Наказ МОЗ України № 163 від 3 рання 2001 року).

Доклінічне вивчення лікарського засобу — хімічні, фізичні, біологічні, мікробіологічні, фармакологічні, токсикологічні та інші експериментальні наукові дослідження з метою вивчення специфічної дії та безпечності лікарського засобу (Порядок проведення експертизи матеріалів на лікарські засоби... / Наказ МОЗ України № 220 від 19 вересня 2000 року).

Досьє виробничої дільниці (Site Master File) — документ, що підготовлений виробником і містить спеціальну та фактичну інформацію про дотримання вимог GMP при виробництві і(або) контролі фармацевтичної продукції на даній дільниці, а також про будь-які тісно взаємопов'язані роботи в сусідніх спорудах і тих, що примикають (ГНД 09.001–98).

Еубіотики — бактеріальні препарати, що регулюють діяльність мікрофлори шлунково-кишкового тракту (ГН 4.4.8.073–2001).

Загальноприйнята назва лікарського засобу — міжнародна непатентована

назва, рекомендована або запропонована Всесвітньою організацією охорони здоров'я (Вимоги до інформації про застосування лікарського засобу / Наказ МОЗ України № 163 від 3 травня 2001 року).

Карантин — статус вихідної сировини, пакувальних матеріалів, проміжної, нерозфасованої чи готової продукції, ізольованої фізично або іншими ефективними засобами, поки очікується рішення про видачу дозволу на їхній випуск або про відмову в ньому (Настанова 42-01–2001).

Клас чистоти повітря — ступінь чистоти повітря, який визначається кількістю частинок і життєздатних мікроорганізмів в одиниці об'єму повітря (ГНД 07.006–98).

Клінічні випробування — це встановлення або підтвердження ефективності та безпеки лікарського засобу, яке проводиться у лікувально-профілактичних закладах, уповноважених на це Міністерством охорони здоров'я України за направленням Державного фармакологічного центру (Порядок проведення експертизи матеріалів на лікарські засоби... / Наказ МОЗ України № 220 від 19 вересня 2000 року).

Контамінація (забруднення) — небажане внесення домішок хімічної чи мікробіологічної природи або чужорідних речовин у (на) вихідну сировину, проміжну продукцію чи готову продукцію під час технологічного процесу, відбору проб, пакування або перепаккування, зберігання або транспортування (Настанова 42-02–2002).

Ламінарний потік повітря — паралельні потоки повітря, які рухаються із однаковою заданою швидкістю всередині обмеженого простору (МВ 64У-1–97).

Листок-вкладиш в упаковці — стисла інформація, призначена для пацієнта. Розміщується на паперовому носії і вкладається в упаковку (Вимоги до інформації про застосування лікарського засобу / Наказ МОЗ України № 163 від 3 травня 2001 року).

Маркування — інформація на первинній (внутрішній) або вторинній

(зовнішній) упаковці (Вимоги до інформації про застосування лікарського засобу / Наказ МОЗ України № 163 від 3 травня 2001 року).

Матеріали — будь-який вид продукції, яка використовується у виробництві лікарського засобу, за винятком сировини, напівпродуктів і проміжних продуктів (МВ 64У-1-97).

Матеріальний баланс — співвідношення між кількістю вихідної сировини, матеріалів, напівпродуктів і проміжних продуктів, що використовуються у виробництві, та кількістю фактично одержаної готової продукції, відходів і втрат (МВ 64У-1-97).

Мікробне забруднення — кількість життєздатних мікроорганізмів, які містяться в одиниці об'єму повітря (ГОСТ Р 50766-95).

Назва лікарського засобу — визначається назвою, присвоєною лікарському засобу, і може бути придумана виробником, загальноприйнятою або науковою поряд з назвою торговельної марки або фірми-виробника (Вимоги до інформації про застосування лікарського засобу / Наказ МОЗ України № 163 від 3 травня 2001 року).

Належна виробнича практика (НВП, GMP) — частина системи забезпечення якості, яка гарантує, що лікарські засоби виробляються та контролюються у відповідності до обов'язкових принципів, норм і правил, а також реєстраційної та ліцензійної нормативної документації (МВ 64У-1-97).

Напівпродукт — продукція, яка одержана підприємством-виробником від постачальника і пройшла одну або декілька стадій обробки (у постачальника), необхідних для виробництва готової продукції (у споживача). Напівпродукт для постачальника є готовою продукцією (МВ 64У-1-97).

Наркотичні засоби — включені до Переліку речовини природного чи синтетичного походження, препарати, рослини, що становлять небезпеку для здоров'я населення в разі зловживання ними (Закон України «Про обіг в Україні наркотичних засобів, психотропних речовин, їх аналогів і прекурсорів»).

Наркотичні лікарські засоби — лікарські засоби, віднесені до наркотичних відповідно до законодавства (Закон України «Про лікарські засоби»).

Номер серії — характерна комбінація цифр і(або) букв, яка специфічно ідентифікує серію (Настанова 42-01–2001).

Нормативний документ — документ, який встановлює правила, загальні принципи або характеристики, що стосуються різних видів діяльності або їх результатів (ДСТ У 1.03–93).

Нутрицевтики — біологічно активні добавки, що призначені для профілактики дефіциту есенціальних речовин (незамінних чинників харчування) в організмі і поділяються на дві групи — ті, що призначені для раціоналізації харчування та ті, що призначені для поповнення нутрієнтів, синтез яких в організмі послаблений з тих чи інших причин (ферментопатії, хронічні захворювання тощо) (ГН 4.4.8.073–2001).

Оснащена чиста кімната (приміщення) — «чиста» кімната, будівництво якої завершено, і яка має робочі комунікації, обладнання, але не має обслуговуючого персоналу (ГНД 07.006–98).

Отруйні лікарські засоби — лікарські засоби, віднесені до отруйних Міністерством охорони здоров'я України (Закон України «Про лікарські засоби»).

Пакувальний матеріал — всякий матеріал, що використовують при пакуванні лікарського засобу, крім будь-якої транспортної тари для транспортування або відвантаження (Настанова 42-01–2001).

Пакування — усі операції, включаючи фасування і маркування, які необхідно пройти нерозфасованій продукції, щоб стати готовою продукцією (Настанова 42-01–2001).

Парафармацевтики — біологічно активні добавки, де вміст біологічно активних речовин не перевищує їх терапевтичних доз, ефект дії яких при тривалому вживанні впливає на структуру та функції ушкоджених органів (ГН

4.4.8.073–2001).

Первинна (внутрішня) упаковка — емність або інша форма упаковки, що безпосередньо контактує з лікарським засобом (Вимоги до інформації про застосування лікарського засобу / Наказ МОЗ України № 163 від 3 травня 2001 року).

Перелік наркотичний засобів, психотропних речовин і прекурсорів (Перелік) — згруповані в списки наркотичні засоби, психотропні речовини і прекурсори (Перелік наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів / Постанова Кабінету Міністрів України № 770 від 6 травня 2000 року) згідно з законодавством України та міжнародними договорами, згода на обов'язковість яких надана Верховною Радою України. Перелік затверджується Кабінетом Міністрів України за поданням спеціально уповноваженого органу виконавчої влади в галузі охорони здоров'я і публікується в офіційних друкованих виданнях (Закон України «Про обіг в Україні наркотичних засобів, психотропних речовин, їх аналогів і прекурсорів»).

Переробка — повторна обробка всієї або частини серії продукції неприйнятної якості на певній стадії технологічного процесу для того щоб її якість могла стати прийнятною за допомогою однієї або декількох додаткових операцій (Настанова 42-01–2001).

Перехресна контамінація — забруднення речовини або продукції іншою сировиною або продукцією (Настанова 42-02–2002).

Повітряний шлюз — це обмежений простір з двома або декількома дверима між двома або декількома приміщеннями, наприклад різних класів чистоти, який призначений для контрольованого керування потоком повітря між цими приміщеннями при відкриванні дверей. Повітряні шлюзи призначені і використовуються для переміщення персоналу, обладнання і продукції між приміщеннями (МВ 64У-1–97).

Прекурсори — речовини та їх солі, що використовуються при виробництві наркотичних засобів і психотропних речовин, включених до

Переліку (Закон України «Про обіг в Україні наркотичних засобів, психотропних речовин, їх аналогів і прекурсорів»).

Проміжна продукція — частково оброблена сировина, яка має пройти наступні виробничі етапи до того, як вона стане нерозфасованою продукцією (Настанова 42-01–2001).

Протокол серії — усі документи, які послідовно висвітлюють історію кожної серії готової продукції (виробництво, контроль і реалізацію), а також усі інші обставини, що можуть мати значення для її якості (МВ 64У-1–97).

Психотропні речовини — включені до Переліку речовини природного чи синтетичного походження, препарати, природні матеріали, здатні викликати стан залежності та справляти депресивний або стимулювальний вплив на центральну нервову систему або викликати порушення сприйняття, або емоцій, або мислення, або поведінки і становлять небезпеку для здоров'я населення в разі зловживання ними (Закон України «Про обіг в Україні наркотичних засобів, психотропних речовин, їх аналогів і прекурсорів»).

Радіоактивні лікарські засоби — лікарські засоби, які застосовуються в медичній практиці завдяки їх спроможності до іонізуючого випромінювання (Закон України «Про лікарські засоби»).

Реєстраційна технологічна нормативна документація — документи, що є частиною реєстраційного досьє та описують технологічний процес, включаючи виробничий контроль і за необхідності (на вимогу відповідних уповноважених органів) допоміжні роботи (Настанова 42-01–2003).

Реєстраційне посвідчення — документ, який видається замовнику, як дозвіл для медичного застосування лікарського засобу в Україні (Порядок проведення експертизи матеріалів на лікарські засоби... / Наказ МОЗ України № 220 від 19 вересня 2000 року).

Реєстраційний номер — кодова позначка, яка присвоюється лікарському засобові при державній реєстрації і зберігається за лікарським засобом незмінною на весь період перебування лікарського засобу на фармацевтичному

ринку України (Порядок проведення експертизи матеріалів на лікарські засоби... / Наказ МОЗ України № 220 від 19 вересня 2000 року).

Серія — визначена кількість вихідної сировини, пакувальних матеріалів або продукції, яка піддається обробці в одному або в низці послідовних технологічних процесів таким чином, що може розраховувати на однорідність продукції (Настанова 42-01–2001).

Сильнодіючі лікарські засоби — лікарські засоби, віднесені до сильнодіючих Міністерством охорони здоров'я України (Закон України «Про лікарські засоби»).

Стадія технологічного процесу — сукупність технологічних операцій, що приводить до одержання проміжної або готової продукції (на кінцевій стадії), яка може бути охарактеризована кількісно і якісно (МВ 64У-1–97).

Стерильність — відсутність життєздатних мікроорганізмів (МВ 64У-1–97).

Термін придатності лікарських засобів — час, протягом якого лікарський засіб не втрачає своєї якості за умови зберігання відповідно до вимог нормативно-технічної документації (Закон України «Про лікарські засоби»).

Технічний регламент — нормативний документ, в якому визначено характеристики продукції або пов'язані з нею процеси і методи виробництва (МВ 64У-1–97).

Технологічна інструкція — документ, що належить до категорії виробничих інструкцій і містить відомості про порядок проведення технологічного процесу (МВ 64У-1–97).

Технологічна операція — операція з виконання певного виду робіт і(або) обслуговування окремих видів обладнання, яка є частиною стадії технологічного процесу (МВ 64У–97).

Технологічний процес (виготовлення) — усі операції, пов'язані з виготовленням лікарського засобу, які починаються з одержання сировини, продовжуються обробкою та пакуванням і завершуються одержанням готової

продукції (Настанова 42-01–2003).

Технологічний регламент виробництва лікарського засобу — нормативний документ, в якому визначено технологічні методи, технічні засоби, норми та нормативи виготовлення лікарського засобу (Закон України «Про лікарські засоби»).

Умови зберігання лікарського засобу — умови, відповідно до яких повинен зберігатися лікарський засіб. Додатково вказують умови та термін зберігання після початку застосування лікарського засобу, що може змінювати свої властивості після порушення первинної упаковки (Вимоги до інформації про застосування лікарського засобу / Наказ МОЗ України № 163 від 3 травня 2001 року).

Упаковка “in bulk” — будь-який лікарських засіб, який пройшов усі стадії виробництва, за винятком остаточного пакування (Порядок проведення експертизи матеріалів на лікарські засоби... / Наказ МОЗ України № 220 від 19 вересня 2000 року).

Функціонуюча чиста кімната (приміщення) — «чиста» кімната в режимі нормальної роботи, яка має робочі комунікації, обладнання і персонал, який виконує звичайні робочі операції в чистій кімнаті (приміщенні) (ГНД 07.006–98).

Чиста зона — зона, в якій контролюється навколишнє середовище на наявність частинок і мікроорганізмів, що контамінують, побудована й експлуатується таким чином, щоб зменшити проникнення, утворення і зберігання контамінантів усередині зони (Настанова 42-01–2001).

Чиста кімната (приміщення) — приміщення, в якому контролюється концентрація частинок і яке має одну або декілька «чистих» зон (ГНД 07.006–98).

Штриховий код EAN — числовий код, представлений комбінацією послідовно розташованих паралельних штрихів та проміжків між ними, розміри та розташування яких встановлені певними правилами, і присвоюється

одиницям обліку (товару) відповідно до нормативних документів національної нумерувальної організації (ДСТ У 3147–95. Коди та кодування інформації. Штрихове кодування. Маркування об'єктів ідентифікації. Форма та розташування штрихових позначок EAN на тарі та товарній продукції. Загальні вимоги).

Якість лікарського засобу — сукупність властивостей, які надають лікарському засобові здатності задовольняти споживачів відповідно до свого призначення і відповідають вимогам, установленим законодавством (Закон України «Про лікарські засоби»).

НОРМАТИВНО-ТЕХНІЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ У ПРОМИСЛОВОМУ ВИРОБНИЦТВІ ЛІКІВ

Промислове виробництво ліків регламентується відповідною нормативно-технічною документацією (НТД), затвердженою за встановленим порядком. НТД має забезпечувати підвищення якості та ефективності лікарських препаратів, постійно удосконалюватися на основі досягнень науки і техніки і вчасно переглядатися з метою заміни застарілих показників відповідно до потреб охорони здоров'я населення, оборони країни та експорту.

В Україні існують однакові вимоги до змісту, порядку розробки, погодження і затвердження НТД на хіміко-фармацевтичну продукцію медичного призначення, а також продукцію ветеринарного призначення і харчові добавки, вироблені хіміко-фармацевтичними підприємствами й фармацевтичними фабриками.

Нормативна документація — це документи, що встановлюють правила, загальні принципи або характеристики, що стосуються різних видів діяльності або її результатів. НТД на лікарські препарати, лікарську рослинну сировину і виробу медичної техніки поділяють на такі категорії:

1. Технологічні і технічні регламенти.
2. Державна фармакопея (ДФ).
3. Аналітична нормативна документація.

4. Державні стандарти (ГОСТ, ДСТ У).

5. Галузеві стандарти (ОСТ), Галузевий стандарт України (ГСТ У).

6. Технічні умови (ТУ У).

7. Керівний нормативний документ (КД) — інструкції, методичні вказівки тощо.

8. Виробничі технологічні інструкції.

Аналітична нормативна документація (АНД) — фармакопейні статті, документи про методи аналізу, а також інша аналітична документація, яка дозволяє контролювати якість лікарського засобу. АНД є невід'ємною частиною реєстраційних документів — комплекту матеріалів на лікарський засіб, спеціалізована оцінка яких надає змогу зробити висновки про можливість його державної реєстрації, потребу проведення передреєстраційних досліджень або контролю якості зразків лікарського засобу. Проведення експертизи та затвердження АНД регламентує Постанова Кабінету Міністрів України від 13 вересня 2000 року за № 1422 «Порядок державної реєстрації (перереєстрації) лікарського засобу».

АНД повинна містити такі відомості:

— склад препарату із зазначенням точної кількості усіх інгредієнтів на одиницю лікарського засобу з посиланням на монографії з фармакопей, яким вони відповідають за якістю. Якщо діючу або допоміжну речовину не описано в фармакопєях, то потрібно надавати на них інші категорії АНД (ДСТ У, ТУ У);

— для органопрепаратів, отриманих за допомогою генної інженерії або іншим оригінальним способом, необхідно вказати назву сировини, з якої виготовляють препарат, спосіб його одержання, а також АНД на сировину;

— специфікацію у вигляді таблиці, в якій у першій колонці перераховані всі показники якості препарату, у другій — наведена регламентація за цими показниками, а в третій колонці вказані посилання на методи контролю за цими показниками;

— методики контролю якості препарату фірми-виробника за порядком,

наведеним в специфікації;

— упаковку, маркування, транспортування, зберігання, термін придатності.

В кінці АНД наводять відомості про основну фармакологічну дію лікарського засобу. Затверджується АНД Наказом Міністерства охорони здоров'я України зі зазначенням номера реєстраційного посвідчення лікарського засобу і підписується директором Фармакологічного центру МОЗ України. На підставі рішення про державну реєстрацію лікарський засіб вноситься до Державного реєстру лікарських засобів, що ведеться Міністерством охорони здоров'я України. Матеріали щодо методів контролю (АНД) за якістю лікарського засобу надсилаються до Державного департаменту з контролю за якістю, безпекою та виробництвом лікарських засобів і виробів медичного призначення та Державної інспекції з контролю за якістю лікарських засобів. Чинність АНД (в часі) визначається терміном дії реєстраційного посвідчення на лікарський засіб.

Стандарт — нормативний документ, в якому встановлено для загального і багаторазового використання правила, вимоги, загальні принципи або характеристики, що стосуються різних видів діяльності або їх результатів для досягнення оптимального ступеня упорядкованості в зазначеній галузі.

Державний і галузевий стандарти (ДСТ У, ГСТ У) установлюють на додаткові технічні вимоги та групові характеристики, необхідні для виготовлення і постачання лікарських препаратів (технічні терміни і позначення, загальнотехнічна документація, технологічні норми тощо). Державні стандарти затверджуються Міністерством охорони здоров'я України або Міністерством медичної і мікробіологічної промисловості України за погодженням із МОЗ України.

Деякі види сировини, допоміжні речовини, тара та упаковка нормуються технічними умовами (ТУ У). Подібно до статей у фармакопеї ТУ У мають характер державного стандарту.

Технічні умови — нормативний документ, що встановлює вимоги до конкретної продукції чи послуг і регулює відносини між постачальником та споживачем продукції.

Уся робота фармацевтичних підприємств відзначається суворою регламентацією і плануванням виробництва. Технологічний процес виробництва лікарських препаратів здійснюється на підставі нормативно-технічної документації, наданої у вигляді двох регламентів: технологічного, що має відношення до виробництва конкретного найменування продукції, та технічного, що містить вимоги до комплексу обладнання і його безпечної експлуатації на певній виробничій ділянці певного цеху. Вимоги цих регламентів гарантують якість продукції, що випускається, раціональне й безпечно здійснення технічних процесів, збереження обладнання, виключення причин виникнення аварій і забруднення навколишнього середовища.

Технологічний регламент — це нормативний документ, в якому викладено технологічні методи, технічні засоби, норми і нормативи виготовлення лікарського засобу.

Технічний регламент — це нормативний документ, в якому для конкретного комплексу технологічного устаткування викладено умови, що забезпечують випуск напівпродуктів або лікарських засобів окремої лікарської форми заданої якості.

Технологічний регламент поширюється на виробництво конкретного лікарського препарату в умовах, продиктованих технічним регламентом. Дія технічного регламенту охоплює підготовку виробничих (лабораторних, дослідно-промислових та промислових) приміщень і персоналу до роботи; створення необхідних санітарно-гігієнічних умов виробництва; виконання вимог, пов'язаних з охороною праці, технікою безпеки, пожежною безпекою, охороною навколишнього середовища; кваліфіковану ефективну експлуатацію устаткування, що гарантує одержання лікарських засобів відповідно до вимог НТД. Регламент виробництва хіміко-фармацевтичної продукції

використовують як основний технологічний документ:

- при підготовці розроблюваної хіміко-фармацевтичної продукції для доклінічного і клінічного вивчення й постановки нової продукції на виробництво;

- серійному виробництві хіміко-фармацевтичної продукції та напівпродуктів для неї;

- складанні виробничих інструкцій з техніки безпеки, промислової санітарії та протипожежних заходів;

- розробці та здійсненні заходів утилізації відходів виробництва, знешкодження та очищення промислових стоків та викидів в атмосферу;

- встановленні техніко-економічних нормативів, у тому числі норм витрачання сировини та матеріалів;

- проектуванні промислового виробництва.

Залежно від стадії розробки продукції, ступеня освоєння технології виробництва або мети здійснюваних робіт регламенти бувають двох категорій:

- технологічні тимчасові регламенти (ТТР);

- технологічні промислові регламенти (ТПР).

За тимчасовими технологічними регламентами виконують лабораторні й дослідно-промислові роботи, виготовляють пробні партії лікарських засобів для проведення доклінічних і клінічних досліджень. ТТР є документом на право одержання дозволу до медичного застосування лікарських препаратів і затвердження тимчасової фармакопейної статті. За ТТР дозволяється реєструвати і робити разові та промислові серії лікарських препаратів для оптової реалізації при невеликих обсягах виготовлення продукції, що встановлюються окремим рішенням Технологічної комісії Держкоммедбіопрому. Термін дії ТТР — до трьох років. У відповідності з технологічними промисловими регламентами здійснюється серійне виробництво хіміко-фармацевтичної продукції; ТПР є основним документом для реєстрації лікарського препарату в Україні. Термін дії ТПР — не більше

п'яти років.

Технологічний регламент незалежно від типу має містити розділи, а саме:

1. Характеристика готової продукції.
2. Схеми виробництва і технологічного процесу:
 - блок-схема виробництва;
 - характеристика сировини, матеріалів і напівфабрикатів;
 - опис стадій технологічного процесу;
 - матеріальний баланс.
3. Контроль виробництва.
4. Додатки:
 - перелік технологічних інструкцій виготовлення;
 - перелік форм протоколів.

Технічний регламент має такі розділи:

1. Загальна характеристика виробництва.
 2. Апаратурна схема, специфікація устаткування і контрольно-вимірювальних приладів.
 3. Експлуатація технологічного обладнання і контрольно-вимірювальних приладів.
 4. Загальна схема системи контролю якості.
 5. Безпечна експлуатація виробництва та охорона навколишнього середовища.
 6. Загальний перелік виробничих інструкцій.
 7. Інформаційні матеріали:
 - додаток про технічний стан виробництва;
 - інформаційний додаток про лікарський засіб;
 - протоколи валідації виробництва.
- Дотримання всіх вимог технологічного регламенту обов'язкове.
- Регламент є законом виробництва і відступати від нього неприпустимо.

ОСНОВНІ ПОЛОЖЕННЯ GMP

Третя ланка системи забезпечення якості пов'язана з гарантуванням якості лікарських препаратів за рахунок виробництва у відповідності з правилами GMP. Ця ланка ще не дуже розвинута. Закон України «Про лікарські засоби» (ст. 11) передбачає виробництво лікарських засобів з урахуванням міжнародних норм. За ДСТ У 1.0—93 одним з основних завдань міжнародного науково-технічного співробітництва України в галузі стандартизації є зближення і гармонізація української державної системи стандартизації з міжнародними і регіональними системами, а також із прогресивними національними системами стандартизації інших країн. З огляду на це виникла нагальна потреба в розробці документа «Виробництво лікарських засобів. Належні правила і контроль якості», який мав би відповідати принципам і вимогам GMP ВООЗ і ЄС, а також враховувати законодавство і умови нашої країни. Тепер в Україні прийнято до виконання варіант GMP ЄС, в якому викладено принципи і правила виробництва й контролю якості лікарських препаратів. У 1991 році Комісією ЄС були прийняті дві директиви, які містять принципи і вказівки щодо належного виробництва лікарських препаратів, призначених для застосування в медицині (директива 91/356/ЄЕС) і у ветеринарії (директива 91/412/ЄЕС). У цих директивах належна виробнича практика (GMP) була ратифікована як невід'ємна частина національних систем забезпечення якості лікарських препаратів у країнах — членах ЄС.

Директивами встановлено основні принципи GMP щодо виробництва лікарських засобів, а саме таких його сторін:

1. Управління якістю.
2. Персоналу.
3. Приміщень та обладнання.
4. Документації.
5. Виробництва.
6. Контролю якості.

7. Робіт за контрактом.
8. Рекламацій та відкликання продукції.
9. Самоінспекції.

Принципи і правила GMP ЄС і ВООЗ практично ідентичні. Документи відрізняються тільки порядком викладу принципів і правил. GMP ЄС складається з таких розділів:

- Вступ.
- Галузь застосування.
- Нормативні посилання.
- Визначення.
- Позначення і скорочення.
- Вимоги до управління якістю.
- Вимоги до персоналу.
- Вимоги до приміщень та обладнання.
- Вимоги до документації.
- Вимоги до виробництва.
- Вимоги до контролю якості.
- Вимоги до виробництва та іспитів, що виконуються за контрактом.
- Рекламації та відкликання продукції.
- Вимоги до самоінспекції.

Крім того, у цьому документі є додатки:

Додаток 1. Виробництво стерильної медичної продукції.

Додаток 2. Виробництво біологічної медичної продукції для людей.

Додаток 3. Виробництво радіоактивних фармацевтичних препаратів.

Додаток 4. Виробництво ветеринарної медичної продукції, крім імунологічної ветеринарної медичної продукції.

Додаток 5. Виробництво імунологічної ветеринарної медичної продукції.

Додаток 6. Виробництво медичних газів.

Додаток 7. Виробництво рослинної медичної продукції.

Додаток 8. Відбір проб вихідних і пакувальних матеріалів.

Додаток 9. Виробництво рідин, кремів і мазей.

Додаток 10. Виробництво аерозолей для інгаляцій.

Додаток 11. Комп'ютерні системи.

Додаток 12. Застосування іонізуючого випромінювання у виробництві медичної продукції.

Додаток 13. Практика якісного виробництва медичної продукції для клінічних випробувань.

Додаток 14. Виробництво продукції з крові або плазми людини.

Основні принципи GMP.

Головний принцип GMP полягає в тому, що виробник лікарських засобів повинен створити і впровадити ефективну систему забезпечення якості, включаючи активну участь дирекції та всього персоналу.

Система якості — це сукупність організаційної структури, методик, процесів і ресурсів, необхідних для здійснення процесу управління якістю.

Стандарт GMP призначений для побудови систем якості на підприємствах, які виробляють лікарські засоби. У розділі 1 «Управління якістю» викладено фундаментальну концепцію системи забезпечення якості під час виробництва лікарських засобів. У наступних розділах її принципи і правила розглядаються детальніше, щоб їх можна було адекватно трактувати, а також успішно застосовувати при розробці і впровадженні на підприємствах-виробниках систем якості.

Основний принцип стосовно персоналу такий: оскільки система якості і виробництво залежать від людей, то штат має бути укомплектований достатньою кількістю кваліфікованого персоналу, який здатний на належному рівні вирішувати всі завдання, що знаходяться у сфері відповідальності підприємства. Кожний співробітник повинен чітко знати свої повноваження і обов'язки, а також усвідомлювати індивідуальну відповідальність (їх слід відобразити в посадових інструкціях), знати і суворо дотримувати правил GMP

при виконанні посадових обов'язків. Усі співробітники при вступі на посаду зобов'язані пройти докладний інструктаж про принципи і правила GMP, включаючи правила особистої гігієни; потім у процесі діяльності вони мають регулярно підвищувати кваліфікацію.

Наступний принцип стосується приміщень і обладнання, які необхідно проектувати, розміщувати, конструювати, оснащувати, пристосовувати, а також утримувати й обслуговувати таким чином, щоб вони відповідали своєму призначенню і були придатні для передбачених робіт. Їхні розмір, конструкція і розташування мають зводити до мінімуму ризик помилок на виробництві і забезпечувати ефективне прибирання та експлуатацію з метою уникнення перехресної контамінації, накопичення пилу та інших забруднень, що можуть негативно вплинути на якість продукції. Якщо розташування приміщень і технічний рівень обладнання не забезпечують якість продукції, то потрібна їх модифікація.

Важливою частиною системи забезпечення якості є документація. Вона має регламентувати всі аспекти виробництва і контролю якості лікарських препаратів. Виробництво лікарських засобів повинне здійснюватися за технологічним регламентом, з урахуванням принципів і правил належної виробничої практики (GMP). Це необхідно для одержання готової продукції потрібної якості, що відповідає б вимогам реєстраційної та ліцензійної документації. Відповідність реєстраційної та ліцензійної документації і санкціонування істотних змін уповноваженими державними органами є найважливішим положенням усіх стандартів GMP і директив ЄС. Необхідними ланками виробництва є виробничий контроль і валідація. Валідація — це експертна оцінка та надання документально оформлених об'єктивних доказів у відповідності з принципами GMP, які підтверджують, що будь-які об'єкти дійсно відповідають своєму призначенню і встановленим вимогам, а їх використання веде до очікуваних результатів.

Наступний принцип GMP належить до контролю якості. Контроль якості

включає роботи, пов'язані з відбором проб, нормативною документацією (специфікаціями) та випробуваннями, а також із методиками організації цих робіт, їх документуванням і видачею у встановленому порядку дозволів, які гарантують, що всі необхідні випробування дійсно проведено. Вихідна сировина, матеріали, напівпродукти і проміжна продукція не дозволяються для використання, а готова продукція не допускається до реалізації доти, доки їх якість не буде визнана задовільною. Основною вимогою до контролю якості є його незалежність від виробництва.

Окремий розділ GMP присвячений роботам, які виконуються за контрактом. У ньому йдеться про те, що при аналізі контракту всі умови виробництва і/або випробувань повинні бути чітко і всебічно визначені, узгоджені і проконтрольовані, щоб уникнути непорозумінь і невідповідностей, які можуть стати причиною незадовільної якості продукції, виконуваних робіт або випробувань. Важлива також наявність письмового контракту (договору), оформленого за встановленим порядком між двома юридичними особами, що іменуються відповідно Замовником і Виконавцем. Договір повинен мати юридичну силу, і в ньому треба чітко визначати права та обов'язки кожної із сторін, зокрема дотримання правил GMP. У контракті необхідно визначати й порядок видачі уповноваженою особою дозволу на реалізацію кожної серії продукції або сертифіката якості. Правила GMP розмежовують відповідальність між Виконавцем і Замовником перед уповноваженими державними органами, що здійснюють реєстрацію і ліцензування, але вони не стосуються обопільної відповідальності Замовника і Виконавця за якість продукції (послуг) перед споживачем, яку вони несуть згідно із законодавством України.

Наступний принцип проголошує, що всі рекламації та інша інформація про невідповідність якості потенційно бракованої продукції повинні ретельно перевірятися за стандартною робочою методикою. На підприємстві-виробнику має бути організована система, що дозволяє в разі необхідності швидко та

ефективно відкликати реалізовану продукцію, якщо в ній встановлені або можливі дефекти якості.

Останній непорушний принцип: на підприємстві повинні діяти самоінспекція та аудит якості, призначення яких полягає у всебічному нагляді за виконанням правил GMP і, якщо необхідно, укладанні рекомендацій щодо проведення запобіжних та коригувальних дій.

Якщо узагальнити правила GMP як єдиного документа, що регламентує систему якості підприємства, то суть їх така. Кожне окреме правило GMP цілком зрозуміле, але виконувати їх треба всі в комплексі, створюючи систему якості. Саме через порушення цього принципу не вдалося запровадити РД 64-125—91, що був позбавлений низки правил GMP, і тому припускав існування на підприємствах окремих елементів GMP, а не сучасних систем якості. Друга особливість полягає в тому, що правила GMP висувають вимоги, але не дають конкретних технічних рішень. Яскравим прикладом є вимоги до приміщень і обладнання. Наприклад: «Приміщення мають бути розташовані таким чином, щоб звести до мінімуму ризик контамінації» або: «Устаткування має відповідати своєму призначенню і передбаченому технологічному процесові». Технічне рішення залишається за підприємством, тобто керівництву і всьому колективу треба не просто виконувати «волю» стандарту, а виявляти творчий підхід, оскільки в стандартах GMP регламентовано, що саме потрібно зробити, але не зазначено, яким чином. Часто засоби реалізації технічних рішень виявляються дуже складними і дорогими. Складність зростає ще й тому, що ці засоби не повинні суперечити законодавству України, а також правовим нормативним актам. У зв'язку з цим виникла необхідність СНіПи 80-х років привести у відповідність із сучасним рівнем техніки. Тому з 01.01.1997 року проектування та будівництво нових, розширення діючих підприємств і виробничих об'єктів почали здійснювати тільки у відповідності з правилами GMP. Реконструкцію і технічне переоснащення підприємств з урахуванням правил GMP запроваджено з 01.06.1998 року. З 01.01.2002 року правила GMP

стають в Україні обов'язковими. Перехід на виробництво лікарських засобів за новими принципами і правилами здійснюватиметься поетапно, за графіками, які будуть розроблені для кожного підприємства.

Контрольні питання

1. Що вивчає біофармація?
2. Які фармацевтичні фактори враховуються при виготовленні лікарських препаратів?
3. Принципи класифікації лікарських форм.
4. Основні визначення, що використовуються у фармацевтичній технології.
5. Які категорії нормативно-технічної документації (НТД) використовуються у фармацевтичному виробництві?
6. Основні положення і принципи стандарту GMP.

Тема 4. Класифікація антибіотиків

Уперше термін антибіотик («проти життя») ввів у 1942 р. Ваксман. Антибіотики – це специфічні продукти життєдіяльності або їх модифікації, що володіють високою фізіологічною активністю стосовно певних груп мікроорганізмів (віруси, бактерії, гриби, водорості, протозоа) або до злоякісних пухлин, вибірково затримуючи їх ріст або повністю пригнічуючи розвиток.

Антибіотики на відміну від інших продуктів життєдіяльності характеризуються двома основними ознаками:

1. Антибіотики, на відміну від органічних кислот, спиртів і їм подібних сполук, мають високу біологічну активність стосовно чутливих до них організмів. Навіть у дуже низьких концентраціях виявляють високий фізіологічний ефект. Наприклад, пеніцилін у концентрації 0,000001 г/мл виявляє чітко виражену бактерицидну дію на чутливі до нього бактерії.

2. Вибірковість дії антибіотиків. Кожний антибіотик виявляє свою біологічну дію лише стосовно окремих, цілком визначених організмів або груп організмів, не роблячи при цьому помітного ефекту на інші форми живих істот. Наприклад, бензилпеніцилін затримує розвиток представників тільки деяких Γ^+ бактерій (коків, стрептококів) і не спричинює дії на Γ^- бактерії, гриби або інші групи організмів.

Антибіотики – не проміжні продукти обміну речовин організмів (метаболіти), а кінцеві продукти обміну, які накопичуються всередині клітини або виділяються у навколишнє середовище. Із загально біологічної точки зору, біосинтез антибіотиків принципово не відрізняється від утворення інших продуктів обміну (органічні кислоти, спирти, амінокислоти). Але шляхи біосинтезу антибіотиків, продуцентами котрих є мікроорганізми, можуть докорінно відрізнитися від шляхів утворення продуктів метаболізму.

ПРИНЦИПИ КЛАСИФІКАЦІЇ АНТИБІОТИКІВ

У теперішній час існує декілька класифікацій, які визначаються в основному професійними інтересами вчених.

За біологічним походженням:

1. Антибіотики, утворені мікроорганізмами, які належать до еубактерій: низин, дипломіцин, граміцидини, поліміксини, субтилін.
2. Антибіотики, утворені мікроорганізмами, що належать до роду *Streptomyces*: стрептоміцин, тетрацикліни, новобіоцин, актиноміцини.
3. Антибіотики, утворені недосконалими грибами: пеніцилін, грізофульвін, трихоцетин.
4. Антибіотики, утворені грибами, що відносяться до класів базидіоміцетів і аскоміцетів: термофілін, лензитин, хетомін.
5. Антибіотики, утворені лишайниками, водоростями та нижчими рослинами: уснінова кислота, хлорелін.
6. Антибіотики, утворені вищими рослинами: аліцин, рафанін, фітоалексини: пізатин (у горосі), фазеолін (у квасолі).

7. Антибіотики тваринного походження: лізоцим, екмолін, інтерферон.

За механізмом біологічної дії:

1. Антибіотики – інгібітори синтезу клітинної стінки: пеніциліни, бацитрацин, цефалоспорин.

2. Антибіотики, що порушують функції мембран: альбоміцин, граміцидини, ністатин, ендоміцин, трихоміцин.

3. Антибіотики, що вибірково пригнічують синтез (обмін) нуклеїнових кислот:

– пригнічують синтез РНК: актиноміцин, неоміцин, новобіоцин, грізеофульвін;

– пригнічують синтез ДНК: саркоміцин, брунеоміцин, мітоміцин.

4. Антибіотики – інгібітори синтезу пуринів і піримідинів: саркоміцин, азасерин, декоїнін.

5. Антибіотики, що пригнічують синтез білка: тетрацикліни, еритроміцин, неоміцин, хлорамфенікол.

6. Антибіотики – інгібітори дихання: антиміцини, олігоміцини, уснінова кислота.

7. Антибіотики – інгібітори окисного фосфорилування: валіноміцин, граміцидини, коліцини.

8. Антибіотики, що мають антиметаболітні властивості. Утворюються деякими актиноміцетами та цвілевими грибами, є антиметаболітами амінокислот, вітамінів, нуклеїнових кислот: фураноміцин (антиметаболіт лейцину).

9. Антибіотики – імунодепресанти: актиноміцини С і D, бруноміцин, рубоміцин.

За спектром біологічної дії:

1. Протибактеріальні антибіотики вузького спектру дії, активні переважно у відношенні Γ^+ організмів:

група пеніциліну:

- біосинтетичні пеніциліни (бензилпеніцилін, його К, Na солі);
- напівсинтетичні пеніциліни (пропіцилін, фенетицилін, оксацилін);
- напівсинтетичні цефалоспорини (цефалоридин, цефалогліцин);

група макролідів: (еритроміцин, олеандоміцин, карбоміцин, лейкоміцин.

2. Протибактеріальні антибіотики широкого спектру дії: тетрацикліни біосинтетичні, напівсинтетичні, хлорамфенікол (левоміцетин), поліміксини, напівсинтетичні пеніциліни (ампіцилін).

3. Протитуберкульозні антибіотики: стрептоміцин, канаміцин, циклосерин.

4. Протигрибкові антибіотики: ністатин, гризеофульвін, трихотецин.

5. Протипухлинні антибіотики: актиноміцин С, мітоміцин С, дауноміцин, брунеоміцин, рубоміцини.

6. Протиамебні антибіотики: фумагілін.

Контрольні питання

1. Які основні ознаки антибіотиків?
2. На яких принципах базуються класифікації антибіотиків?
3. Які групи антибіотиків визначає класифікація за біологічним походженням? Навести приклади.
4. Які групи антибіотиків визначає класифікація за механізмом біологічної дії? Навести приклади.
5. Які групи антибіотиків визначає класифікація за спектром біологічної дії? Навести приклади.

Тема 5. Загальна характеристика основних груп антибіотиків

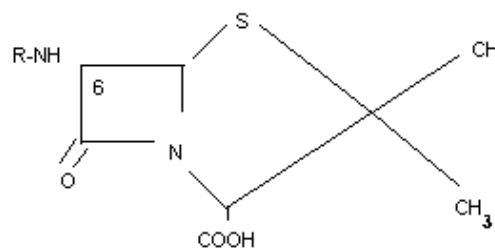
Хімічна класифікація антибіотиків заснована на об'єднанні сполук у групи за характерним головуючим структурним фрагментом, що визначає при

цьому характер його біологічної активності, тобто механізм і спектр дії.

Основні групи (класи) антибіотиків.

β-ЛАКТАМНІ АНТИБІОТИКИ

Характеризуються наявністю загального для всіх представників β-лактамного структурного фрагменту, що являє собою чотиричленний азотистий гетероцикл із карбонильною групою в α - положенні до атому Нітрогену:



Головними представниками (точніше, типами) є пеніциліни та цефалоспорини.

Пеніциліни продукуються пліснявими (цвілевими) грибами роду *Penicillium*, а також деякими представниками роду *Aspergillus*. У відсутності специфічних попередників бічного ланцюга, у культуральній рідині ці гриби синтезують велику кількість пеніцилінів, де R представлені різними природними карбоновими кислотами.

Усього було синтезовано більше 20 тисяч, включаючи напівсинтетичні, але в медицині знайшли застосування тільки кілька десятків (ампіцилін, амоксицилін, бензилпеніцилін, ленампіцилін, оксацилін).

Причини великої розмаїтості антибіотиків однієї групи:

1. Легкість виникнення резистентних патогенних мікроорганізмів.
2. Пошук більш селективних препаратів.
3. Нестійкість багатьох пеніцилінів до дії ферментів.

Властивості пеніцилінів визначаються набором функціональних груп і функціями замісників, які вводяться при одержанні напівсинтетичних похідних.

Загальні властивості антибіотиків групи пеніцилінів. Гідролітичне розщеплення їх β -лактамного фрагменту до відповідних пеніцилінових кислот і гідроліз амідного зв'язку під дією ферментів. Більшість із них мають вільну (неетерифіковану) карбоксильну групу, тому виявляють кислі властивості, що використовується для одержання більш водорозчинних форм цих антибіотиків шляхом переведення їх у натрієві або калієві солі.

За біологічною активністю пеніциліни являють собою антибактеріальні засоби. За невеликим винятком всі вони активні стосовно Γ^+ бактерій. Головна перевага пеніцилінів – їх відносно низька токсичність. Пеніцилін N (карбеніцилін) і амоксицилін активні також проти Γ^- бактерій. Ампіцилін має широкий спектр дії й може бути використаний пероральним способом, тому що не гідролізується шлунковими ферментами.

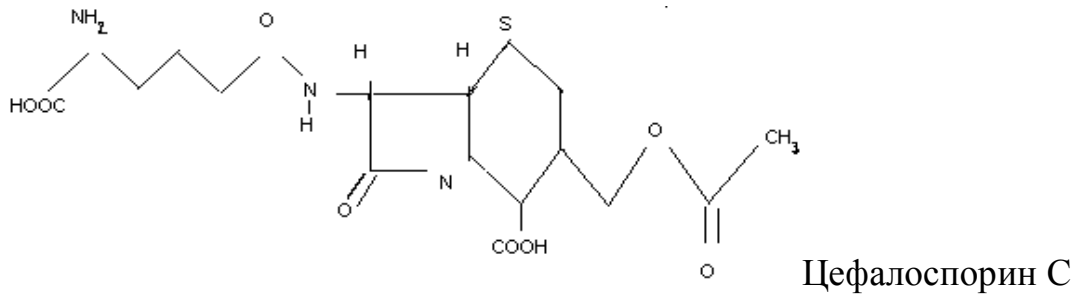
Складні ефіри ампіциліну (декампіцилін, ленампіцилін) мають ще й ту перевагу, що вони легше засвоюються кишковими стінками, а потрапивши в кров'яний потік – гідролізуються, вивільняючи вихідний антибіотик, тобто ці складні ефіри є свого роду проліками (проантибіотиками).

Механізм антибактеріальної дії пеніцилінів заснований на блокуванні кінцевої стадії синтезу бактеріальної стінки.

Цефалоспори́ни. Перший цефалоспорин С був виявлений разом із пеніциліном N при дослідженні антибактеріальної активності гриба *Cephalosporium acremonium*.

Порівняно з пеніциліном, цефалоспорин виявився менш активним, тому лікувальне лідерство перейшло до пеніцилінів. Але цефалоспори́ни мають важливі переваги: вони виявилися стійкими до ферментативного розщеплення пеніциліназами й практично всі вони виявляють активність проти Γ^+ і Γ^- бактерій (широкого спектру дії).

В структурі молекули природного цефалоспорину С β -лактамний фрагмент сконденсований з шостичленним тіазиновим циклом (на відміну від пеніцилінів).

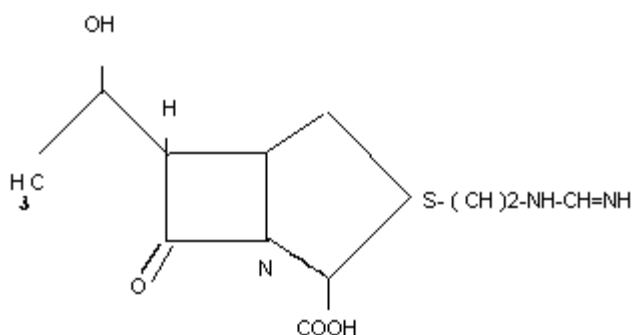


Мікробіологічно доступним є тільки цефалоспорин С, який продукується на натуральному та штучному середовищах грибами роду *Cephalosporium*. Отримано більше 30 тисяч сполук цефалоспоринового ряду, з яких тільки 30 знайшли застосування в медицині. Всі цефалоспорини представлені препаратами декількох поколінь, у яких поступово збільшується широта спектру їхньої дії, особливо стосовно Γ - Γ^- бактерій, включаючи синьогнійну паличку. Найбільш активні із цієї групи: цефтазидим, цефоперазон, цефенім, цефелідін.

Карбапенеми. Найближчі аналоги пеніцилінів, у структурі яких відсутній гетероциклічний атом сірки. Мають широкий спектр антибактеріальної активності й ефективно інгібують β -лактамази.

Продуцентами є різні мікроорганізми роду *Streptomyces*. Найбільш висока активність проти Γ^+ і Γ - Γ^- бактерій у представника цієї групи за назвою меропенем.

Імепенем – стабільний до впливу дегідропептидази-1. Стабільність до дії розщеплюючих ферментів забезпечується введенням в організм інгібітору цих ферментів (стабілізаторів). Введення циластатину сильно збільшує ефективність антибіотику.



Структурна формула імепенема.

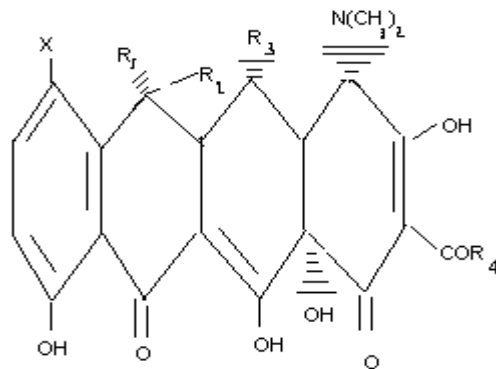
Пеніциліни та цефалоспорици мають свої аналоги – кисневі похідні – оксапенами й оксацефалоспорици: моксалактам, клавуланова кислота.

Існує також група моноциклічних β -лактамічних антибіотиків. У їх структурі присутній тільки 4-х членний азетициновий цикл (мазтреонам, сульфазецин, тігемонам). Продуцентами цих антибіотиків є мікроорганізми роду: *Acetobacterium*, *Gluconobacterium*, *Chromobacterium* і деякими видами *Pseudomonas*. Ряд антибіотиків цієї групи одержують хімічним синтезом.

ТЕТРАЦЕНОВІ АНТИБІОТИКИ

У цю групу об'єднані антибіотики, що мають тетрациклічний вуглеводневий скелет: тетрацикліни та антрацикліни.

Хімічні структури можуть бути представлені як похідні ароматичного конденсованого вуглеводню тетрацену.



За типом й спектром біологічної дії ці дві групи кардинально відрізняються.

Тетрацикліни – антибактеріальні препарати. Продуцентами є мікроорганізми *Str. aureofaciens*, *Str. Rimosus*, *Nocardia sulfurea*. Відомо близько 40 природних і 3000 синтетичних тетрациклінів. Найбільшу практичну значимість мають природні сполуки, які добре утворюються при культивуванні на штучних середовищах. При наявності в культуральній рідині хлориду амонію, продукується хлортетрациклін, при наявності KBr – бромтетрациклін. Окситетрациклін утворюється в стандартному рідкому середовищі в умовах

підсиленої аерації. Тетрацикліни – антибіотики широкого спектру дії, активні у відношенні Γ^+ і $\Gamma-\Gamma^-$ бактерій, великих вірусів, риккетсій, найпростіших. Стійкі до дії різного роду гідролаз, по відношенню до них повільніше розвивається ризестентність мікроорганізмів. Недолік - різні побічні ефекти. Механізм антимікробної дії тетрациклінів заснований на інгібуванні ними біосинтезу білка мікробної клітини.

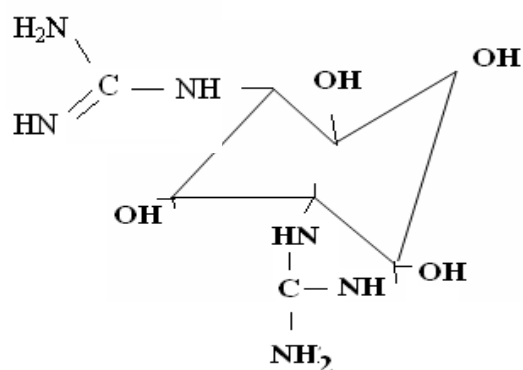
Антрацикліни. Продуцентами є актиноміцети *Str.coeruleorubidus*, *Str.Peuceticus*, *Actionomadura carminata*. Крім антибактеріальної активності, мають властивості антинеопластиків (володіють протипухлинною активністю) і тому використовуються у хіміотерапії ракових захворювань (лімфосаркома, саркома м'яких тканин, гострі лейкози, рак молочної залози). Найбільш важливі представники: рубоміцин (дауноміцин), карміноміцин.

Особливість структури антрациклінових антибіотиків дозволяє їм утворювати комплекси з парами Уотсона-Крика в структурах ДНК, тобто вони інгібують їхній біосинтез. На цьому заснована їх протипухлинна дія. Незважаючи на чисельні спроби одержувати їх хімічним синтезом, природні представники залишилися більш ефективними.

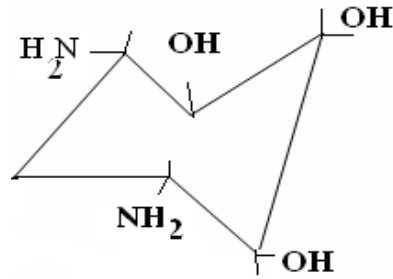
АМІНОГЛІКОЗИДНІ АНТИБІОТИКИ

Характеризуються присутністю в молекулі залишків аміноцукрів, а ключовими фрагментами є поліфункціональні аміноциклогексаноли (стрептидин, 2-дезоксистрептамін).

Так як стрептидин містить два гуанідинових угруповання, то він є більш сильною основою, ніж 2-дезоксистрептамін.



Стрептидин

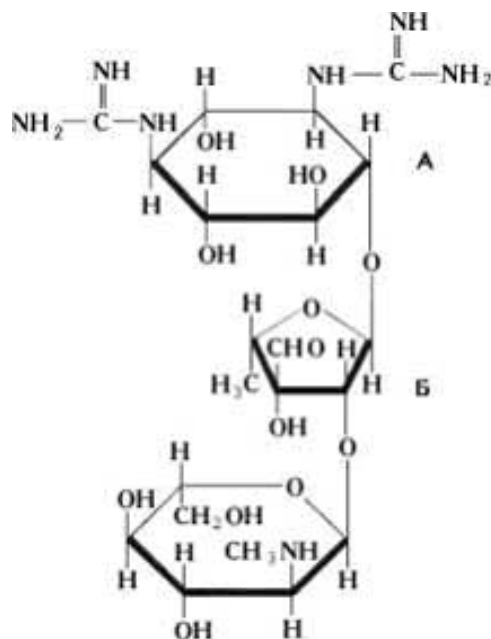


2-дезоксистрептамин

Ці речовини є агліконами о-глікозидів різних аміноцукрів, які утворюють α -глікозидний зв'язок. Часто в їхні молекули вбудовані фрагменти аміноцукрів L-конфігурації (L-глюкоза, L-арабіноза). Це пов'язано з необхідністю забезпечити цим антибіотикам певного ступеня стабільності в середовищі перебування. У випадку використання людиною такі ліки досить тривалий час перебувають у крові (продовжена дія).

Історія цієї групи антибіотиків почалася в 1944 р, з відкриття стрептоміцину. Свою назву він одержав за родовою назвою актиноміцетів *Streptomyces*, з яких був вперше виділений. У загальному випадку, продуцентами антибіотиків цієї групи є актиноміцети й деякі види бактерій роду *Bacillus*. Вони мають бактерицидну активність стосовно стафілококів, великої кількості Г-Г⁻ мікроорганізмів і мікобактерій туберкульозу.

Головний представник групи **стрептидину** – стрептоміцин.



Стрептоміцин

Продуцентами є бактерії роду *Streptomyces griseus*. Застосовується для лікування туберкульозу. Механізм дії пов'язаний з пригніченням синтезу білків мікроорганізмами. Основний недолік – нефро- і ототоксичність.

Інший представник цієї групи – дегідрострептоміцин, у структурі якого альдегідна група відновлена до спиртової ($-\text{CH}_2\text{OH}$). Продуцентом є культура *Streptomyces Humidus*, а також його одержують хімічним відновленням стрептоміцину. Використовується для лікування туберкульозу.

Представники групи **2-дезоксистрептамін** більше розповсюджені у природі і мають різну структуру. Приклади:

Канаміцини. Продуцентами є *Streptomyces Kanamyceticus*. Більш активний і менш токсичний, ніж стрептоміцин. Використовується при лікуванні туберкульозу, сибірської виразки, гонореї.

Амікацини. Напівсинтетичні похідні канаміцина А. Пригнічують ріст патогенних бактерій, резистентних до канаміцину.

Гентаміцини. Утворюються культурою *Micromonospora purpurea*. Пригнічують розвиток Γ^+ і $\Gamma-\Gamma^-$ бактерій, у тому числі *Proteus* і *Pseudomonas*.

Неоміцини. Продукуються *Streptomyces Fradiae* у вигляді комплексу антибіотичних субстанцій. Відрізняються високою стійкістю при зберіганні (2 роки, як у розчині, так і у твердому стані). Більш активні при лікуванні туберкульозу, ніж стрептоміцин.

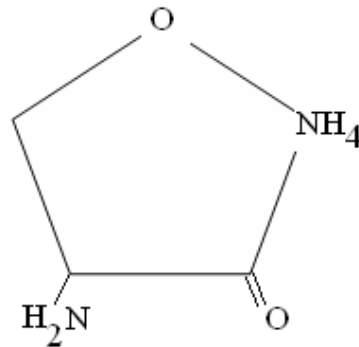
Гігроміцини. Продуцентом є *Streptomyces Hydroscopicus*. Володіє антигельмінтною активністю. Використовується у ветеринарії.

ПЕПТИДНІ АНТИБІОТИКИ

Антибіотики цієї групи широко поширені у природі, продукуються різними видами актиноміцетів, бактерій, грибів, дуже різноманітні за своєю хімічною будовою. Обов'язково містять амінокислоти. Кількість амінокислотних залишків може варіюватися від декількох одиниць (циклосерин утворений тільки однією амінокислотою) до декількох сотень (неокарциностадин містить 109 амінокислот). Амінокислоти, що приймають

участь в утворенні пептидних антибіотиків, можуть бути: протеїногенні та непротеїногенні α -L-амінокислоти, α -D-амінокислоти, оксикислоти.

Циклосерин – пептидний антибіотик мінімальної структури. Не має класичних пептидних зв'язків, але він утворений із серину D-конфігурації.



Виявляє протитуберкульозну активність, продукується *Streptomyces gariphalus*, *Streptomyces Orchidaceus*. Тепер отримують синтетичним шляхом.

Представники досить простих поліпептидних антибіотиків: граміцидини А, В, С, D (лінійні), S (циклічний). Продукуються *Bacillus brevis*. Всі вони утворені протеїногенними амінокислотами, деякі з них мають D-конфігурацію. Їх біологічний ефект пов'язаний з порушенням іонного транспорту через мембрани бактерій. Активні проти багатьох Γ^+ бактерій, деяких кислотостійких бактерій, у тому числі спороутворюючих. Використовується як харчовий консервант сиру, овочів, фруктів.

Біологічно активні депсипептиди – валіноміцин, енніатини. Валіноміцин більш специфічний агент стосовно іонів калію, на чому і заснована його активність. У його присутності проникність мембран чутливих бактеріальних клітин збільшується в 1000 разів, що неминуче призводить до їхньої загибелі.

МАКРОЛІДНІ АНТИБІОТИКИ

Антибіотики цієї групи являють собою природні сполуки, що мають структуру макроциклу з обов'язковим складноетерним фрагментом. Їх можна вважати макроциклічними лактонами. Крім цього зустрічаються макроцикли з амідним зв'язком – макроциклічні лактами. Розмір циклу може коливатися для різних представників цієї групи в досить широкому інтервалі, з числом атомів

від 8 до 38. Характерним для них є наявність олефінових зв'язків, а також залишків моно- і дисахаридів у боковому ланцюзі.

Продукцентами в основному є актиноміцети й стрептоміцети. Виділяють із культуральних фільтратів екстракцією органічними розчинниками і очищують хроматографічними методами. Синтетично їх практично не одержують (складна структура), але природні субстанції піддають хімічним модифікаціям. Макролідні антибіотики пригнічують ріст G^+ бактерій, у тому числі пеніцилін-резистентних штамів стафілококів і мікоплазм, G^- коків, спірохет, великих вірусів і найпростіших.

Антибіотики підгрупи полієнових макролідів володіють антифунгіцидною активністю та інертні стосовно бактерій.

Активність цих антибіотиків визначається механізмом інгібування білкового синтезу в мікроорганізмах. Ці антибіотики характеризуються досить низькою токсичністю.

Антибіотики цієї групи можна класифікувати за розміром циклу. Порівняно невеликий розмір циклу в еритроміцинів – 14 атомів вуглецю. Із природних джерел *Streptomyces erythreus* виділені еритроміцини А, В, С, а також одержаний ряд напівсинтетичних похідних – кларитроміцин, диритроміцин. З морських безхребетних асцидій був виділений хлорований 14-атомний макролід з потужною цитотоксичною активністю (ефективний у концентрації 0,01 мг/мл) – гатерумалід.

Численна група макролідів з 16 атомами вуглецю в циклі із сполученої дієнковою системою, з альдегідною групою й аміносахаридними залишками у боковому ланцюзі. До них відносяться лейкоміцини, спіраміцини, мідекаміцини.

Інша група макролідних антибіотиків такого ж розміру циклу представлена мільбеміцинами, в молекулі яких 3 подвійних зв'язки й декілька кисневих гетероциклів. Відмінна особливість у характері їх біологічної активності – акарицидна та антипаразитарна. Представник – елаїолід, що

виділений з культури *Str. melanosporus*. Активний проти гельмінтів, інгібує активність калійзалежної аденозинтрифосфатази.

Рифаміцини. Продукуються на натуральному середовищі *Str. mediterranei*. Одночасно продукується кілька антибіотиків: А, В, С, D та Е. В умовах аерації рифаміцин В перетворюється в рифаміцин S, що має більшу біологічну активність відносно більшості G^+ бактерій (пригнічує розвиток стафілококів, починаючи з концентрації 0,0025 мкг/мл). Рифаміцини дуже активні відносно мікобактерій, збудників туберкульозу й лепри. Представники: напівсинтетичний рифаміцин – рифампін; теданолід (виділений з морської губки); віценістатин (дуже активний проти лейкемії та карциноми кишечника людини); форбоксазол А (інгібує ріст пухлинних клітин у дуже низькій ($10^{-9}M$) концентрації).

Виділені нові перспективні антибіотики з розміром циклу від 18 до 26 атомів і різноманітною структурою – макролактони, макролактами; всі вони мають дуже високу цитотоксичність

Макролактони з 38 атомами в циклі і сполученою полієновою системою – остання група макролідів. Типові представники: периміцин, патріцин, ністатин. Для них характерна антифунгіцидна активність та інертність стосовно бактерій. Таку селективність їхньої дії пов'язують із гідрофобною селективною взаємодією макролідів зі стеринами мембран грибкових клітин і наступним порушенням транспорту низькомолекулярних активних речовин у клітину.

ПОЛІЕФІРНІ АНТИБІОТИКИ

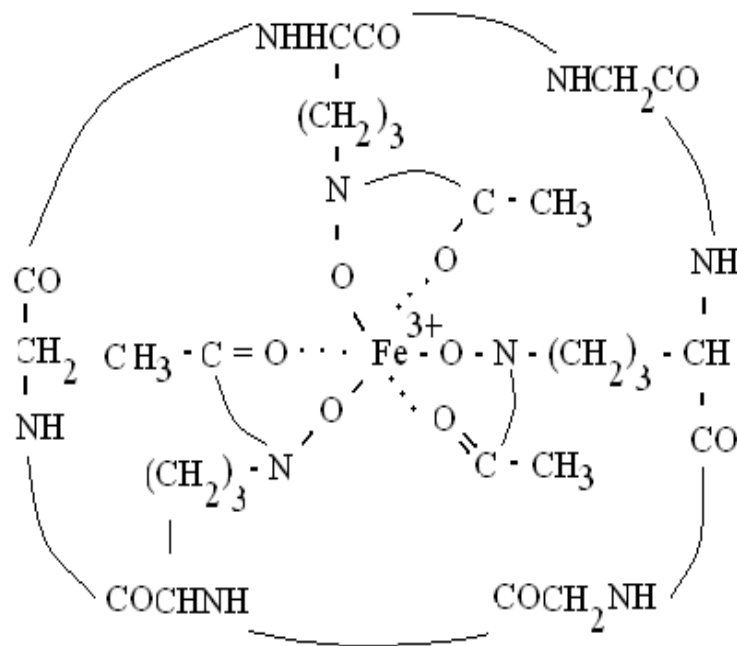
Досить нова група антибіотиків, молекула яких містить ланцюжок з декількох фрагментів циклічних простих ефірів, тетрагідрофуранів, тетрагідропіранів, зв'язаних між собою або $\alpha-\alpha$ зв'язком, або спірсполученням. Їх застосовують в основному у ветеринарії як препарати, що стимулюють ріст і як кокцидіостатики (лікування кокцидіозу – захворювання, що викликається паразитами кокцидіями, які мешкають у кишковому епітелії багатьох тварин). Представники: ревероміцин А, лономіцин А, наразин.

МЕТАЛОВМІСНІ АНТИБІОТИКИ

Серед антибіотиків цієї групи – сполуки, що містять Fe і Cu.

До перших належать гризеїн і альбоміцин, що містить Fe (III), зв'язаний з органічною частиною молекули (поліпептидом).

При обробці цих антибіотиків HCl або KBr, Fe можна видалити з молекули, але біологічна активність їх зменшується в 12-14 разів. Будова схематично може бути представлена таким чином:



Представником Cu-вмісних антибіотиків є флеоміцин. Мідь може бути видалена з молекули при обробці речовини 8-оксихіноліном. Біологічна активність при цьому не втрачається. Молекула основи флеоміцина, що продукується актиноміцетом, складається з вуглеводної та пептидної частин. Ці антибіотики досить стійкі й не інактивуються в інтервалі рН від 2 до 7, навіть при нагріванні (за межами інактивуються навіть при кімнатній температурі), не піддаються дії протеаз - пепсину, трипсину, панкреатину.

Контрольні питання

1. Які ознаки антибіотиків враховує хімічна класифікація?
2. Навести групи антибіотиків за хімічною класифікацією?

3. Дати загальну характеристику кожного класу антибіотиків.
4. Навести приклади представників антибіотиків кожної групи.

Тема 6. Традиційні технології отримання препаратів антибіотиків

МЕТОДИ КУЛЬТИВУВАННЯ ПРОДУЦЕНТІВ АНТИБІОТИКІВ

У сучасних умовах найбільш перспективним був визнаний метод глибинного культивування. Він ґрунтується на тому, що мікроорганізми розвиваються в товщі рідкого поживного середовища, через яке безперервно проходить стерильне повітря й середовище переміщується.

Існує 4 основних модифікацій глибинного способу:

I. Періодичне культивування.

При цьому способі весь процес розвитку мікроорганізмів повністю завершується в одному ферментері, після чого ферментер звільняють від культуральної рідини, ретельно промивають, стерилізують і знову заповнюють свіжим поживним середовищем. Середовище засівається необхідними мікроорганізмами й процес відновлюється.

II. Відокремлений метод.

Культивування мікроорганізмів здійснюється у ферментері з періодичним відбором частини об'єму культуральної рідини (30-60% загального об'єму). При цьому об'єм культуральної рідини доводять свіжим поживним середовищем до вихідного рівня;

III. Батарейний спосіб.

Розвиток мікроорганізмів відбувається в ряді послідовних з'єднаних ферментерів. Культуральна рідина на певній стадії розвитку мікроорганізмів перекачується з першого ферментера в другий, а з другого - в третій і т.д. Ферментер, що звільняється, негайно заповнюється свіжим поживним середовищем, засіяним мікроорганізмами. При цьому способі відбувається

більш раціональне використання ємностей;

IV. Безперервне культивування.

Цей метод принципово відрізняється від попередніх модифікацій глибинного культивування. В основі його лежить те, що розвиток мікроорганізмів відбувається в умовах безперервного потоку поживного середовища, що дозволяє підтримувати розвиток мікроорганізмів на певній стадії його росту. Стадія розвитку мікроорганізмів визначається, виходячи з найбільш вигідного для максимального біосинтезу антибіотика.

СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА

Для кожного продуцента антибіотику розробляється оптимальне поживне середовище, яке повинне відповідати наступним вимогам:

- забезпечувати максимальне утворення антибіотика;
- складатися з відносно дешевих компонентів;
- мати достатню фільтруючу здатність;
- забезпечувати використання найбільш економічних прийомів виділення й очищення.

Стерилізація поживного середовища в промислових умовах здійснюється 2 способами - періодичним і безперервним.

ПІДГОТОВКА ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ

Одна з найбільш відповідальних стадій. Від кількості і якості посівного матеріалу залежить як розвиток культури у ферментері, так і біосинтез антибіотика.

Звичайно продуцент антибіотика вирощують на багатих за складом натуральних середовищах. Цей процес багатоступеневий.

РОЗВИТОК ПРОДУЦЕНТА АНТИБІОТИКУ У ФЕРМЕНТЕРАХ

Процес розвитку мікроорганізму у ферментерах відбувається при строгому контролі всіх його стадій, точно виконується розроблений регламент умов розвитку продуцента. Велика увага приділяється підтриманню необхідної температури культивування, активної кислотності середовища (рН), ступеню

аерації і швидкості роботи мішалки. У процесі розвитку організму здійснюється біологічний контроль, враховується споживання організмом основних поживних компонентів середовища (джерел Вуглецю, Нітрогену, Фосфору). Останнім часом контроль проводиться за допомогою ЕОМ.

ВИДІЛЕННЯ Й ХІМІЧНЕ ОЧИЩЕННЯ АНТИБІОТИКІВ

Залежно від того, де накопичується антибіотична речовина, використовують відповідні методи її вилучення. Відділення нативного розчину від біомаси й завислих (суспендованих) часток проводиться методами фільтрації або центрифугування. Для фільтрації використовуються: фільтр-прес, нутч-фільтр, друк-фільтр, центрифуги, сепаратори. Фільтр-преси використовуються для обробки великих об'ємів культуральної рідини; процес фільтрації здійснюється під тиском. Для фільтрації невеликого об'єму культуральної рідини використовують нутч-фільтри або друк-фільтри. Перший апарат працює під вакуумом, а в другому фільтрація здійснюється завдяки створенню тиску над фільтруючою рідиною. Широко застосовуються для відділення міцелію або інших суспендованих часток центрифугування і сепарація.

Основні методи очищення:

- екстракція;
- іонообмінна сорбція;
- осадження.

СУШІННЯ, КОНТРОЛЬ, РОЗФАСОВКА ПРЕПАРАТІВ

Відомо, що до БАР біотехнологічного походження, що використовуються у медичній практиці, висувають дуже високі вимоги:

- високий ступінь очищення;
- фармакологічна активність;
- стерильність.

Тому на цій стадії роботи, а також під час хімічного очищення препарату необхідно дотримуватися високого ступеня чистоти: підтримувати у

надзвичайній чистоті не тільки використане обладнання, але й приміщення, де проходить біосинтез. Після виділення і хімічного очищення БАР її необхідно висушити — видалити з препарату вільну і зв'язану воду.

Більшість антибіотиків в тому чи іншому ступені термолабільні, тому для їх висушування необхідно використовувати методи, що не призводять до втрати біологічної активності і не змінюють колір препарату. Крім звичайних методів сушіння, широкого поширення набуло ліофільне висушування препарату.

Ліофільне сушіння – широко розповсюджений прийом, що проводиться при порівняно низьких температурах (від -8 до -12 °C).

Висушування з використанням розпилюючої сушарки – прогресивний метод при роботі з великими кількостями антибіотику; розчин антибіотику пневматично розпилюється до дрібних крапель у камері зі струмом нагрітого повітря. Процес висушування антибіотику відбувається протягом декількох секунд. При цьому навіть термолабільні препарати не змінюють свої властивості.

Метод завислого шару (сушіння у вакуум-сушильних шафах) застосовується для висушування зернистих та пастоподібних препаратів.

Фасування порошків проводять в основному в посудини, виготовлені із оранжевого скла. Готовий порошок піддається ретельному аналітичному, біологічному і фармакологічному контролю.

Контрольні питання

1. Які основні методи культивування продуцентів антибіотиків?
2. Які основні модифікації глибинного способу культивування?
3. Охарактеризувати стадію підготовки поживного середовища для культивування. Вимоги до поживного середовища.
4. Як проводиться підготовка посівного матеріалу?
5. Дати характеристику стадії розвитку мікроорганізму у ферментерах.
6. Які використовуються методи для виділення і очищення антибіотиків.

7. Які існують способи висушування антибіотичних препаратів?
8. Дати загальну характеристику технології виробництва препаратів антибіотиків. Навести приклади.

Тема 7. Технологія виробництва антибіотиків

БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ АНТИБІОТИКІВ

Вираження величин біологічної активності антибіотиків звичайно здійснюється в умовних одиницях, що містяться в 1 моль розчину (од/моль) або в 1 мг препарату (од/мг).

За одиницю біологічної активності приймають мінімальну кількість антибіотика, здатну пригнітити розвиток або затримати ріст певного числа клітин стандартного штаму тест-мікробів в одиниці об'єму живильного середовища. Наприклад, для пеніциліну одиницею біологічної активності вважають мінімальну кількість препарату, здатну затримувати ріст золотавого стафілокока штам 209 в 50 моль живильного бульйону.

АНТИБІОТИЧНА ПРОДУКТИВНІСТЬ ОРГАНІЗМУ

Антибіотична продуктивність організму – це кількість антибіотика в мкг або одиницях, утворене в 1 мг сухих клітин (міцелію) досліджуваного організму за певний період часу (1 година). Виражається в мкг або од/мг/год.

Продуктивність визначається за формулою:

$$\frac{A_{t_2} - A_{t_1}}{\frac{M_{t_2} - M_{t_1}}{2} \cdot (t_2 - t_1)}, \text{ де}$$

A_{t_1}, A_{t_2} – кількість антибіотику за час t_1 і t_2 (моль, од/кг/год).

M_{t_1}, M_{t_2} – кількість біомаси (сухої), що утворилася в результаті розвитку за час t_1 і t_2 .

t_1 і t_2 – час зняття проб (год).

ОСНОВНІ СТАДІЇ ПРОМИСЛОВОГО ОТРИМАННЯ АНТИБІОТИКІВ

Сучасне промислове отримання антибіотиків - складна багатоступенева біотехнологічна система, що складається з ряду послідовних стадій.

1. Стадія біосинтезу (утворення) антибіотику.

Головне завдання на цій стадії - створення оптимальних умов для розвитку продуцента й максимально можливого біосинтеза антибіотику. Висока результативність цієї стадії залежить від рівня біосинтетичної активності продуцента антибіотику, часу його максимального накопичення, вартості середовищ для культивування, в тому числі вартості застосовуваних попередників, загальних енергетичних витрат на процеси, пов'язані з розвитком продуцента антибіотику.

2. Стадія попередньої обробки культуральної рідини, клітин (міцелію) мікроорганізму і фільтрації (відділення культуральної рідини від біомаси продуцента).

Ефективність цієї стадії визначається складом середовища для вирощування продуцента, характером його росту, місцем основного накопичення біологічно активної речовини (у культуральній рідині або всередині клітин).

3. Стадія виділення й очищення.

На цій стадії залежно від властивостей антибіотика, його хімічної будови і основного місця накопичення антибіотичної речовини використовуються різні методи виділення і очищення. Основні методи – екстракція, осадження, сорбція на іонообмінних матеріалах, випарювання, сушіння. Особливість цієї технологічної стадії визначається тим, що на першому етапі роботи використовуються невеликі концентрації (не більше 1%) антибіотику, а на подальших етапах вона збільшується до 20-30%.

4. Стадія одержання готової продукції, виготовлення лікарських форм,

розфасовка.

Особливість цієї стадії – дуже високі вимоги до якості кінцевого продукту. При хімічному очищенні антибіотичних речовин необхідно дотримуватись високої чистоти приміщень, устаткування, проводити систематичну їх дезінфекцію. Упакування й фасування (дозування), особливо для речовин, призначених для ін'єкцій, повинна здійснюватися в асептичних умовах.

У сучасних умовах виробництва антибіотиків необхідно уживати заходи для максимального зниження собівартості препаратів. Насамперед - це підвищення ефективності першої стадії. Для цього необхідно:

- 1) впровадження у виробництво найбільш високопродуктивних штамів мікроорганізмів (продуцентів антибіотиків);
- 2) створення й забезпечення самих сприятливих умов розвитку продуцента на відносно дешевих середовищах;
- 3) широке використання математичних методів планування процесу розвитку організму й електронно-обчислювальної техніки з метою оптимізації й моделювання умов його культивування, що забезпечує максимальний вихід антибіотику;
- 4) застосування сучасного обладнання на всіх стадіях технологічного процесу й використання автоматизованих контролюючих пристроїв основних параметрів розвитку організмів.

Наведені фактори разом з науковою організацією праці можуть забезпечити зниження собівартості антибіотиків, що випускаються. Також необхідні підвищення якості антибіотиків, що випускаються, і їх стандартизація.

КОНТРОЛЬ ПРЕПАРАТУ

На кожному підприємстві, що виготовляє фармацевтичну продукцію, повинна бути незалежна служба контролю якості і контрольна (дослідна) лабораторія, штат і оснащення якої дозволяють проводити всі необхідні

дослідження. Така лабораторія має бути відокремленою від виробничих приміщень та інших лабораторій (біологічної, мікробіологічної). Під час технологічного процесу виробництва лікарського засобу обов'язково проводять проміжний (постадійний) контроль якості, тобто після кожної технологічної стадії (операції) проводиться бракераж ампул, флаконів, гнучких контейнерів тощо, що не відповідають зазначеним вимогам. Так, після розчинення (ізотонізації, стабілізації) лікарської речовини контролюється якісний і кількісний склад, рН розчину, густина; після операції наповнення перевіряється вибірково об'єм наповнення посудин тощо. Сировина, що надійшла, матеріали, напівпродукти, а також виготовлена проміжна або готова продукція відразу ж після надходження або закінчення технологічного процесу до ухвалення рішення про можливе подальше використання повинні перебувати в карантині. Готова продукція не допускається до реалізації доти, доки її якість не буде визнана задовільною. Рідкі лікарські засоби для парентерального застосування зазвичай контролюються за такими показниками якості: опис, ідентифікація, прозорість, забарвленість, рН, супутні домішки, об'єм, стерильність, пірогени, аномальна токсичність, механічні включення, кількісне визначення діючих речовин, антимікробних консервантів і органічних розчинників. Методи оцінки якості парентеральних лікарських засобів за перерахованими параметрами подані в Державній Фармакопеї України (ДФУ). Таким чином, важливими питаннями для всіх видів лікарських засобів парентерального призначення є якнайшвидше впровадження і точне дотримання належних правил виробництва, які забезпечують захист стерильної продукції від різного роду забруднень, що гарантує високу якість вітчизняної фармацевтичної продукції.

Виробництво стерильних лікарських засобів здійснюється за методиками, чітко викладеними у технологічних регламентах і виробничих інструкціях, з урахуванням принципів і правил належної виробничої практики, як необхідна умова для отримання готової продукції потрібної якості відповідно до реєстраційної та ліцензійної документації. Не допускається виготовляти різні

лікарські засоби одночасно або послідовно в тому самому приміщенні за винятком тих випадків, коли відсутні ризик перехресної контамінації, а також можливість змішування та переплутування різних видів вихідної сировини, напівпродуктів, матеріалів, проміжної і готової продукції. Контроль у процесі виробництва, що здійснюється у виробничих приміщеннях, не повинен впливати негативно на технологічний процес і якість продукції. На всіх стадіях технологічного процесу, включаючи стадії, що передують стерилізації, необхідно проводити заходи, які зводять до мінімуму мікробну контамінацію. Проміжки часу між початком приготування розчинів і їх стерилізацією або стерилізаційною фільтрацією повинні бути мінімальними і мати обмеження (ліміти) у часі, установлені в процесі валідації. Препарати, що містять живі мікроорганізми, забороняється виготовляти і фасувати в приміщеннях, призначених для виробництва інших лікарських засобів. Джерела води, устаткування для обробки води й оброблену воду потрібно регулярно контролювати на хімічну й мікробіологічну контамінацію, а також за необхідності на контамінацію ендотоксинами, щоб якість води відповідала вимогам нормативно-технічної документації. Будь-який газ, що контактує під час технологічного процесу з розчинами або іншою проміжною продукцією, має пройти стерилізаційне фільтрування. Матеріали, яким властиве утворення волокон з їхнім можливим викидом у навколишнє середовище, як правило, не повинні застосовуватися в «чистих» приміщеннях; а при здійсненні технологічного процесу в асептичних умовах їх використання повністю забороняється. Після стадій (операцій) остаточного очищення первинної упаковки й обладнання при подальшому проведенні технологічного процесу вони мають використовуватися таким чином, щоб не відбувалася їхня повторна контамінація. Ефективність будь-яких нових методик, заміни обладнання та способів проведення технологічного процесу повинна підтверджуватися при валідації, яку регулярно повторюють за розробленими графіками. При виробництві продукції, що стерилізується в первинній упаковці, підготовку

вихідної сировини і первинної упаковки, а також готування багатьох видів лікарських засобів необхідно проводити в «чистих» зонах з класом чистоти не нижче D, щоб забезпечити досить низький рівень ризику контамінації частинками і мікроорганізмами, який вимагається для фільтрації і стерилізації. Якщо мікробна контамінація становить особливий ризик для продукції (наприклад, коли вона є прекрасним живильним середовищем для росту мікроорганізмів, або до стерилізації проходить досить тривалий період часу), то її виробництво має відбуватися в зоні з класом чистоти C. Фасування продукції в первинну упаковку перед остаточною стерилізацією повинна здійснюватися в зоні з класом чистоти не менше C. Якщо існує підвищений ризик контамінації продукції з навколишнього середовища (наприклад, наповнення первинної упаковки відбувається повільно або первинна упаковка має широке горло, або заповнена первинна упаковка знаходиться відкритою більше декількох секунд перед герметизацією), фасування проводять в зоні з класом чистоти A і навколишнім середовищем не менше класу C. Суспензії, емульсії та мазі необхідно виготовляти і фасувати перед остаточною стерилізацією в приміщеннях з якістю повітря, що відповідає класу чистоти C. У виробництві продукції, отримуваної в асептичних умовах, вимита первинна упаковка повинна знаходитися в «чистій» зоні з навколишнім середовищем не менше класу чистоти D. Обробка стерильної вихідної сировини і первинної упаковки, якщо в подальшому не передбачена стерилізація або стерилізаційна фільтрація, мають здійснюватися в робочій зоні з класом чистоти A і навколишнім середовищем класу чистоти B. Приготування розчинів, що під час технологічного процесу підлягають стерилізаційній фільтрації, проводять в навколишньому середовищі з класом чистоти C. Якщо стерилізаційна фільтрація розчинів не передбачена, обробку вихідної сировини і продукції проводять в зоні з класом чистоти A при класі чистоти B навколишнього середовища. Технологічні операції з приготування і фасування продукції в асептичних умовах повинні здійснюватися на робочому місці з класом чистоти

А при класі чистоти В навколишнього середовища. Передача (транспортування) не повністю закупорених первинних упаковок із продукцією, наприклад ліофілізованою, повинна до завершення процесу закупорювання проводитись або в зоні з класом чистоти А, або в герметичних передавальних пристроях у навколишньому середовищі з класом чистоти В. Приготування і фасування стерильних суспензій, емульсій, мазей і кремів мають проводитися в робочій зоні з класом чистоти А, коли їх приготування відбувається у відкритих ємкостях і не передбачена подальша стерилізаційна фільтрація. Останнім часом намітилася тенденція до створення локальних «чистих» зон завдяки використанню новітніх технологій і обладнання, що зводять до мінімуму або виключають присутність персоналу у виробничих приміщеннях (наприклад, повністю замкнуті й автоматизовані системи). Використання ізолюючих технологій зменшує потребу в присутності людини у виробничих зонах, у результаті чого значно знижується ризик мікробної контамінації продукції, виробленої в асептичних умовах, із навколишнього середовища. Ізолюючі технології передбачають використання різних типів герметизованих систем, модулів, ізоляторів тощо, що включають спеціальні передавальні пристрої і навіть устаткування для стерилізації. Ізолятор і навколишнє його середовище мають бути спроектовані таким чином, щоб у відповідних робочих зонах досягалася необхідна якість повітря.

Готовий лікарський препарат піддається ретельному контролю – бактеріологічному, біологічному й фармакологічному.

БАКТЕРІОЛОГІЧНІ показники якості – контамінація таблеток мікроорганізмами, спорами і бактеріями непатогенного характеру з вмістом не більше встановленої кількості. Контроль якості готових препаратів проводять згідно з вимогами відповідної фармакопейної статті, а також окремими фармакопейними статтями за такими показниками:

- органолептичні властивості — ДФУ (с. 527);
- розпадання — ДФУ (вид. 1, п. 2.9.1);

- розчинність — ДФУ (вид. 1, п. 2.9.3);
- середня маса таблеток і відхилення в масі окремих таблеток — ДФУ (с. 527);
- однорідність вмісту діючої речовини ДФУ (вид. 1, п. 2.9.6);
- однорідність маси — ДФУ (вид. 1, п. 2.9.5);
- визначення тальку, аеросилу — ДФУ (с. 527);
- стираність — ДФУ (вид. 1, п. 2.9.7);
- стійкість до роздавлювання — ДФУ (вид. 1, п. 2.9.8).

Деякі додаткові вимоги до якості відповідних лікарських форм викладені в окремих нормативних документах.

БІОЛОГІЧНИЙ КОНТРОЛЬ ставить завданням з'ясування стерильності готового препарату. Для цього використовують два методи:

1) Пов'язаний з інактивацією антибіотика й висівом його у відповідне поживне середовище. Наприклад, біологічний контроль бензилпеніциліну й напівсинтетичних препаратів, отриманих на його основі, проводиться таким чином. У пробірки, що містять тіогліколеве середовище, вносять фермент пеніциліназу у кількості, здатній повністю інактивувати пеніцилін. Пробірки з пеніциліназою витримують 2-3 доби при температурі 37⁰С для контролю стерильності ферменту, а потім у них вносять розчин пеніциліну. Пробірки розділяють на 2 групи. Одну витримують при 37⁰С, а іншу - при 24⁰С протягом 5 діб. Ведуть щоденне спостереження за можливим розвитком мікроорганізмів.

2) Визначається тим, що для більшості антибіотиків немає біологічних ін активаторів їх біоактивності. Тому у досліджуваних препаратів виявляють наявність стійких до них форм мікроорганізмів, а також визначають можливу присутність чутливої мікрофлори. Для визначення можливої присутності чутливої мікрофлори розчин антибіотику пропускають через мембранні фільтри з діаметром пор не більше 0,75 мкм.

ФАРМАКОЛОГІЧНИЙ КОНТРОЛЬ. Кожний новий лікарський препарат, перш ніж він буде дозволений до практичного застосування, повинен пройти

фундаментальні випробування на токсичність, пірогенність та інші життєво важливі функції організму. Препарат вивчають на різних видах тварин у відношенні його гострої й хронічної токсичності (вплив на кров, центральну нервову систему, дихання, ін.). Показники гострої токсичності є одним із критеріїв якості антибіотичних препаратів. Встановлюють максимально стерпну дозу антибіотика (МСД) - дозу, що викликає загибель 50% піддослідних тварин (LD_{50}) і смертельну (летальну) дозу (LD_{100}). Тільки після всебічного й ретельного вивчення препарат може бути рекомендований до практичного застосування.

Розфасовка й упакування є самим останнім етапом. Розфасований і упакований антибіотик із зазначенням показника біологічної активності, дати випуску та терміну придатності поступає у продаж.

АКТИНОФАГІЯ І ЇЇ ЗНАЧЕННЯ У ВИРОБНИЦТВІ АНТИБІОТИКІВ

У природі широко поширені фаги, що викликають лізис актиноміцетів (актинофаги). Найбільша кількість актинофагів виділяється із чорноземного, перегнійного й підзолистого ґрунтів. Уперше явище лізису актиноміцетів під дією фагів було виявлено в 1934р. При подальшому вивченні цього явища було встановлено, що лізис у культурах актиноміцетів можуть викликати й інші причини. Наприклад, автоліз (самоперетравлювання) клітин. При вивченні актинофагів, було показано, що фаг, виділений з культури *Str. griseus*, має високу специфічність і вражає тільки продуцент стрептоміцину, не викликаючи лізис інших його штамів. Фаг, що викликає лізис культури актиноміцету, продуцента стрептоміцину, не інактивується при утриманні його протягом години при 75°C , але повністю втрачає активність при нагріванні до 100°C протягом 10 хвилин.

Актинофаги, як і бактеріофаги, здатні викликати лізис тільки молодій культури мікроорганізму, що активно розвивається. При зараженні культури актинофагом відбувається майже повний лізис міцелію актиноміцету й різке зниження біосинтезу стрептоміцину. Фаголізис актиноміцетів спостерігається

також при промисловому виробництві тетрациклінів, еритроміцину, новобіоцину. Активність фага залежить від особливостей культури, складу середовища культивування актиноміцету і стадії процесу розвитку організму.

Джерела інфікування фагом:

1 Шляхом внесення фага одночасно з культурою актиноміцету (при наявності лізогенних форм);

2 На певних етапах виробничого процесу одержання антибіотиків (необхідна стерильність).

Комплекс заходів щодо боротьби з фаговою інфекцією:

а) виведення високоактивних селекційних фагостійких культур актиноміцетів;

б) боротьба з поширенням фага у виробничих цехах і лабораторіях;

с) захист виробничої культури від фагової інфекції.

Одержання фагостійкої культури актиноміцетів ґрунтується на тому, що під впливом фагів у актиноміцетів виникають варіанти, що володіють різними властивостями, у тому числі й фагостійкістю.

Метод одержання фагостійких культур. На поверхню агарової пластинки, що містить фаг, висівають актиноміцет. У цих умовах виростуть лише окремі фагостійкі колонії актиноміцету. При відборі фагостійких варіантів необхідно мати на увазі, що окремі форми можуть бути лізогенними, тобто містити фаг. Такі варіанти не можуть рекомендуватися для виробничих цілей. Актиноміцети, стійкі до одного фагу, часто здобувають стійкість і до інших. Більшість фагів, виділених із ґрунту, є поліфагами, тобто, здатні лізувати від 45 до 90% культур актиноміцетів різних видів.

Для боротьби з поширенням фагів у виробничих приміщеннях рекомендується систематична обробка стін, устаткування й підлоги дезінфікуючими засобами. Лізис культури *Str. griseus* під дією фага при вирощуванні актиноміцету у ферментерах можна запобігти додаванням до середовища цитратів та оксалатів.

Контрольні питання

1. Як визначаються одиниці біологічної активності антибіотиків?
2. Як визначається антибіотична продуктивність?
3. Загальна процесуальна схема виробництва антибіотиків.
4. Охарактеризувати основні стадії промислового отримання антибіотиків.
5. Основні шляхи підвищення ефективності процесу біосинтезу антибіотиків.
6. Яким видам контролю піддається готовий антибіотичний препарат?
7. Які бактеріологічні показники свідчать про якість антибіотика?
8. Як проводиться біохімічний та фармакологічний контроль якості антибіотика?
9. Актинофагія і її значення у виробництві антибіотиків.
10. Які заходи використовуються для боротьби з фаговою інфекцією?

Тема 8. Виробництво ферментних препаратів

Ферменти входять до складу всіх клітин і тканин живих організмів і регулюють хід процесів, що лежать в основі життєдіяльності організму. Різноманітність цих процесів свідчить про існування великої кількості ферментів. Нині відомо близько 2000 ферментів, біля 100 із них отримано в кристалічному стані. Як і всі білки, ферменти є високомолекулярними сполуками з молекулярною масою від 10 000 до 1 000 000. Вони мають нестійку структуру, дуже чутливі до змін рН середовища і температури. Для кожного ферменту існує оптимум значення рН, при якому швидкість реакції, яку вони каталізують, максимальна. Так активність трипсину має оптимум при рН = 7,8, панкреатичної амілази — при рН = 6,7...7,2. Відхилення значення рН у той чи інший бік призводить до зниження швидкості ферментативної реакції.

Ферменти, оптимальна дія яких знаходиться в нейтральному або лужному середовищі, цілком інактивуються кислим вмістом шлунка. Оптимальне значення температури для більшості ферментів — 20—40 °С. Підвищена температура до 40—50 °С, як правило, призводить до падіння ферментативної активності, а іноді й до цілковитої денатурації білків. Згідно із сучасною класифікацією всі ферменти поділяють на шість основних класів за типом реакції, яку вони каталізують:

1. Оксидоредуктази.
2. Трансферази.
3. Гідролази.
4. Ліази.
5. Ізомерази.
6. Лігази (синтетази).

Більшість ферментів, які випускає промисловість, у тому числі й для охорони здоров'я, належить до класу гідролаз. Розрізняють ферменти:

- прості білки, які при гідролізі утворюють тільки амінокислоти;
- ферменти-протеїни, що використовуються як лікарська і діагностична сировина (пепсин, трипсин, папаїн, уреаза та ін.).

Складні ферменти, як правило, мають простетичну групу (кофермент) небілкової природи, зв'язану білком різним ступенем міцності. Роль коферментів у загальному механізмі біокаталізу настільки важлива, що їх слід розглядати як окрему групу БАР із різними механізмами дії. Оскільки дуже важко одержати ферменти в гомогенному стані, а існуючі препарати містять, крім основної, і супутні ензиматичні активності, склалася практика класифікувати промислові ферменти за основним, переважаючим компонентом:

- амілотичні;
- ліполітичні;
- целюлозолітичні;

— протеолітичні та ін.

Найбільш розвинута ферментативна промисловість у США, Японії, Великій Британії, Німеччині, Данії, Нідерландах і Франції. Щорічний приріст обсягів виробництва ферментів за останні 25 років складав від 5 до 15 %. У вітчизняній біотехнологічній практиці існує певна система найменування ферментативних препаратів, яка відображає основний фермент, джерело його одержання і ступінь очищення. Найменування конкретного препарату складається зі скороченої назви мікроорганізму-продуцента і закінчення -ін. Наприклад, амілолітичні ферментативні препарати, одержувані з культур мікроорганізмів *Aspergillus oryzae* і *Bacillus subtilis*, називають відповідно: амілориз-ін (амілоризін) і аміл-о-субтил-ін (амілосубтилін). Далі йде індекс, який позначає спосіб вирощування мікроорганізму і ступінь очищення ферментів від супутніх речовин. У разі поверхневого способу культивування за назвою ставлять — П, а в разі глибинного — Г. Для промислового виробництва лікарських препаратів становлять інтерес доступні сировинні джерела, що містять ферменти в таких кількостях, які забезпечують високий вихід і значну активність препарату. В основному одержують ферменти із сировини тваринного і рослинного походження, а також за допомогою мікроорганізмів.

ВИРОБНИЦТВО ФЕРМЕНТІВ ІЗ СИРОВИНИ ТВАРИННОГО ПОХОДЖЕННЯ

Органи та тканини тваринного походження і дотепер є важливим джерелом сировини для виробництва ферментів. При цьому використовують відходи м'ясопереробної промисловості (підшлункова залоза, слизові оболонки кишечника свиней, сичуги великої рогатої худоби, молочних телят, сім'яники статевозрілих тварин). Накопичено значний досвід з їх переробки, розроблені раціональні технологічні схеми одержання декількох препаратів з одного сировинного джерела. Однак використання тваринної сировини поєднано з багатьма труднощами, обумовленими переробкою великої кількості тканинних матеріалів забійної худоби для одержання необхідної кількості ферментів,

створення спеціальних умов для їх зберігання.

ПРЕПАРАТИ ФЕРМЕНТІВ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА

Пепсин (Pepsinum) — препарат, що містить протеолітичний фермент. Сировиною для одержання пепсину служить слизова оболонка шлунка свиней, де він утворюється у вигляді проферменту — пепсиногену. Пепсиноген активується кислотою хлороводневою, а також автокаталітично, тобто за допомогою молекул пепсину, які утворилися. При цьому від пепсиногену (М. м. = 40 000) спочатку відщеплюється залишковий поліпептид, а потім інгібітор пепсину. Утворюється активний пепсин (М. м. = 34 000). Пепсин належить до карбопротеїназ, які містять залишки дикарбонових амінокислот в активному центрі, з оптимумом значення рН = 1,5...2,5. При виділенні протеолітичного ферменту основне завдання — отримати його в активній формі. Тому екстракцію поєднують з автолізом. Здрібнені тканини заливають водою, підкисленою кислотою хлороводневою до значення рН = 1,9...2,3. Співвідношення сировини і екстрагента 10 : 1. Настоювання проводять при температурі близько 40 °С, перемішуючи протягом 8 год і повторно — 24 год. Лізати зливають, відокремлюють від верхнього шару жиру, об'єднують, проціджують. Ферментну масу виділяють висолюванням, для чого до лізату (значення рН = 1,9...2,3) при постійному перемішуванні додають 20—25 %-вий розчин натрію хлориду. Пепсин, який виділився з розчину, спливає на поверхню. Його відокремлюють, сушать у вакуум-сушильній шафі при температурі 35—40 °С, здрібнюють у фарфоровому кульовому млині і просівають. Стандартизують препарат за протеолітичною активністю (перетравлення білка курячого яйця): 10 г протертого білка в присутності 0,1 г препарату в стандартних умовах повинні цілком розчинятися через 3—4 год, створюючи опалесцентний розчин. Після визначення біологічної активності препарат змішують із цукровою пудрою. Він являє собою жовтуватий порошок, солодкий на смак зі слабким своєрідним запахом. Застосовують при розладах травлення (гіпо- і анацидний гастрит, диспепсія). Призначають усередину у

вигляді розчину в поєднанні з ацидином (бетаїну гідрохлорид). Зберігають у добре укупорених банках у прохолодному (2—15 °С), захищеному від світла місці.

Ацидин-пепсин (*Acidin-pepsinum*). Випускають у таблетках по 0,5 і 0,25 г, які містять одну частину пепсину і 4 частини бетаїну гідрохлориду. При введенні в шлунок бетаїн гідрохлорид легко гідролізується з виділенням вільної кислоти хлороводневої.

Абомін (*Abominum*) — препарат, який містить суму протеолітичних ферментів, одержують із слизової оболонки шлунка телят і ягнят молочного віку. Він являє собою аморфний порошок із специфічним запахом, солоний на смак (містить домішки натрію хлориду). Випускають у вигляді таблеток по 0,2 г, із вмістом в одній таблетці 50 000 ОД.

Сік шлунковий натуральний (*Succus gastricus naturalis*). Одержують за методом, запропонованим І. П. Павловим, через фістулу шлунка при удаваному годуванні собак або інших тварин (коней). Препарат являє собою безбарвну прозору рідину, кислу на смак, консервовану кислотою саліциловою (0,03-0,04 %). Він містить усі ферменти шлункового соку, 0,45-0,51 % вільної кислоти хлороводневої, значення рН = 0,8...1,2. Застосовують при недостатній функції залоз шлунка. Випускають у флаконах по 100 мл. Зберігають у захищеному від світла місці, при температурі від 2 до 10 °С.

ПРЕПАРАТИ ФЕРМЕНТІВ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ

Панкреатин (*Pancreatinum*) — препарат містить ферменти підшлункової залози, головним чином трипсин і амілазу і в незначній кількості ліпазу. Сировиною для одержання панкреатину служить підшлункова залоза свиней або великої рогатої худоби. У підшлунковій залозі протеолітичні ферменти утворюються у вигляді проферментів: трипсиногену, хімотрипсиногену. Активування цих ферментів відбувається гідролізом того фрагмента їх поліпептидного ланцюга, який маскує активний центр протеїназ. При одержанні панкреатину активування проферментів підшлункової залози

здійснюють в екстракті в лужному середовищі, в присутності іонів кальцію і з приманкою (панкреатин). Тканини підшлункової залози забійних тварин здрібнюють на машинах-вовчках і заливають водою, підкисленою льодяною кислотою оцтовою 5 мл на 1 л води. Настояють у реакторі з мішалкою протягом 4 год при температурі 10 °С. Екстракт відокремлюють центрифугуванням або проціджуванням із наступним пресуванням залишку. Для активування проферментів в екстракті створюють середовище зі значенням рН = 8,1; додають кальцію хлорид, щоб приготувати 0,05 г/моль розчин, і приманку — панкреатин. Настояють 24 год при температурі 5 °С. Потім екстракт підкислюють до значення рН = 6,0, і в ізоелектричній точці осаджують супутні речовини. Осад відокремлюють, знежирюють ацетоном і висушують у вакуум-сушильній шафі при температурі не вище 40 °С. Здрібнюють у кульовому млині. Стандартизують панкреатин за протеолітичною активністю — здатністю перетравлювати білок казеїн у слабколужному середовищі. Панкреатин повинний містити в 1 г 25—33 ОД. Застосовують при хронічних панкреатитах із недостатньою функцією підшлункової залози. Препарат випускають у вигляді порошку і таблеток, вкритих оболонками, розчинними в кишечнику. Зберігають у добре укупорованих банках, у сухому, прохолодному місці.

ПРЕПАРАТИ ФЕРМЕНТІВ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

До препаратів ферментів підшлункової залози великої рогатої худоби належать:

- дезоксирибонуклеази (ДНКазі);
- рибонуклеази (РНКазі);
- трипсин;
- хімотрипсин;
- інгібітор нуклеаз — пантрипсину та інсуліну.

Технологія одержання цих препаратів розроблена лабораторією

органопрепаратів Російського науково-дослідного інституту м'ясної промисловості. Принцип виробництва полягає в тому, що здрібнену підшлункову залозу піддають автолізу, для чого змішують її з половинною кількістю води і залишають на 18 год при температурі 12 °С. Потім у реакторі з мішалкою проводять екстракцію методом бісмацерації водою, підкисленою кислотою ортофосфатною до значення рН = 2,0...2,5, при температурі не вище 5 °С. Перша мацерація проводиться з подвійною кількістю води протягом 16 год, друга — з одноразовою, 1 год. Екстракти відокремлюють від жмиху центрифугуванням і об'єднують. Жмих використовують для одержання інсуліну, а з екстракту висолюють ферменти різними концентраціями амонію сульфату (ДНКазу і РНКазу), додаючи кристалічний амонію сульфат до визначення ступеня насичення при перемішуванні та охолодженні. Фільтрат використовують для одержання хімотрипсину, трипсину і пантрипіну. Висол розчиняють у воді й у водному розчині осаджують супутні речовини додаванням амонію сульфату. Осад відкидають, а до фільтрату додають розчин 5 моль/л натрію гідроксиду до значення рН = 4,5 і висолюють ДНКазу, повільно додаючи насичений розчин амонію сульфату до ступеня насичення 0,4. Осад ДНКазу відокремлюють і піддають подальшому очищенню. З фільтрату осаджують РНКазу висолюванням амонію сульфатом до ступеня насичення 0,8. Висол, який містить аморфну РНКазу, відстоюють при 4—5 °С протягом 40—48 год, рідину сифонують, а осад відокремлюють на нутч-фільтрі або центрифугуванням. Отриману РНКазу очищують. З фільтрату, який містить комплекс ферментів, амонію сульфатом при ступені насичення 0,7 висолюють хімотрипсин, трипсин і пантрипсин. Із суміші ферментів отримують неактивний хімотрипсиноген. Для цього осад розчиняють у воді, підкисленій кислотою сульфатною до значення рН = 3,0, при температурі не вище 5 °С і повільно додають при перемішуванні розчин амонію сульфату. Потім розчин підлужують розчином 5 моль/л натрію гідроксиду до значення рН = 5,0 і витримують при кімнатній температурі до повного осадження кристалічного

хімотрипсиногену. Із фільтрату і промивних вод, отриманих після відділення хімотрипсиногену, виділяють трипсиноген висолюванням амонію сульфатом при підкислюванні розчином 5 моль/л кислоти сульфатно ї до значення рН = 3,0. Фільтрат, що залишився після виділення трипсину, підкислюють кислотою хлороводневою до значення рН = 2,5 при температурі 5 °С. З підкисленого фільтрату додаванням кристалічного магнію сульфату висолюють пантрипін разом із супутніми білками. Останні видаляють коагуляцією при нагріванні розчину до температури 90 °С протягом 1 хв і швидкому охолодженні до температури 20—25 °С. Осад баластних речовин відокремлюють фільтруванням. До фільтрату, об'єднаному з промивними водами, повільно при перемішуванні додають кристалічний амонію сульфат і відстоюють протягом 12 год при кімнатній температурі. У результаті утворюється два осади: аморфний і кристалічний. Темний аморфний осад пантрипіну відокремлюють від білого кристалічного осаду супутніх речовин. Осад пантрипіну розчиняють у воді і діалізують. По закінченні діалізу розчин фільтрують, стандартизують за сухим залишком і силою інгибуючої дії пантрипіну. Проводять стерилізувальну фільтрацію, розливають у флакони і піддають сублімаційному сушінню. Очищення індивідуальних ферментів триває декілька днів і складається із декількох багаторазово повторюваних операцій. Проводять триразове висолювання ферментів амонію сульфатом до різного ступеня насичення, зміни значення рН. Щоразу із фільтрату попередньо видаляють супутні речовини амонію сульфатом меншої концентрації, ніж застосовується при висолюванні ферментів, потім здійснюють п'ятикратну перекристалізацію ферментів. Хімотрипсиноген і трипсиноген активують до утворення хімотрипсину і трипсину у відповідних буферних розчинах при зниженій температурі і при додаванні кристалика трипсину. Знесолюють ферменти діалізом через целофанову плівку. Сульфат іони осаджують барію хлоридом, а надлишок іона барію видаляють на катіонах КУ-2. У знесолених розчинах ферментів установлюють необхідне значення рН, визначають концентрацію сухої

речовини і розбавляють водою очищеною відповідно до кінцевого вмісту сухого препарату у флаконах. Розведені розчини фільтрують через стерилізаційні фільтри, розливають у флакони і піддають сублімаційному сушінню.

Дезоксирибонуклеаза (*Desoxyribonucleasa*) являє собою ліофілізований білий порошок, добре розчинний у воді; значення рН 0,1 %-вого водного розчину складає 3,5-5,5. У водних розчинах фермент нестійкий (термін придатності 12 год), термолабільний, інактивується при температурі 55 °С. Активність визначають за утворенням кислоторозчинних продуктів, які звільняються препаратом із ДНК у певних умовах і виражають в одиницях активності ОА. В 1 мг препарату має міститися не менше 1700 ОА. Застосовують як засіб, що спричиняє деполімерізацію і розрідження гною, і як засіб, що затримує розвиток вірусів, які містять ДНК (герпесу, аденовірусів та ін.). Призначають у вигляді аерозолів для інгаляцій. Випускають у герметично закупорених флаконах по 5, 10, 25 і 50 мг. Зберігають у сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 20 °С.

Рибонуклеаза аморфна (*Ribonucleasum amorphum*) — ліофілізований порошок білого кольору, добре розчинний у воді. Активність визначають біологічним методом за кількістю кислоторозчинних речовин, які звільняються препаратом внаслідок гідролізу рибонуклеїнової кислоти в певних умовах. 1 ОА відповідає 1 мг препарату. Застосовується місцево у вигляді аерозолів для інгаляцій, внутрішньоплеврально, внутрішньом'язово при захворюваннях, що супроводжуються гнійно-некротичними процесами. Випускають у герметично закупорених флаконах по 10, 25 і 50 мг. Зберігають у сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 15 °С.

Хімотрипсин кристалічний (*Chymotrypsinum crystallisatum*) — блискучі лусочки або порошок білого кольору, добре розчинний у воді, значення рН 0,2 %-вого водного розчину складає 4,5-6,5. Водні розчини швидко інактивуються. Застосовують як рибонуклеазу. Випускають у герметично

закупорених флаконах, які містять по 5 і 10 мг кристалічного хімотрипсину. Зберігають у прохолодному (не вище 10 °С), захищеному від світла місці.

Трипсин кристалічний (*Trypsinum crystallisatum*) — пориста маса або порошок білого кольору, добре розчинний у воді, значення рН 0,2 %-вого водного розчину складає 3,0—3,5. У нейтральних і лужних розчинах препарат швидко руйнується. Застосовують так само, як хімотрипсин. Випускають у герметично закупорених флаконах або ампулах по 5 і 10 мг. Зберігають у сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 10 °С.

Пантрипін (*Pantrypinum*) — інгібітор протеаз (трипсину, хімотрипсину та інших), являє собою ліофілізований порошок жовтуватого кольору, добре розчинний у воді. Стандартизують біологічним шляхом за здатністю знижувати активність трипсину. В 1 г препарату міститься не менше 650 ОД. Застосовують при панкреатитах, вводять внутрішньовенно. Випускають у герметично закупорених флаконах по 6, 12, 15, 20 і 30 ОД. Зберігають у сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 20 °С.

ПРЕПАРАТИ ФЕРМЕНТІВ ІЗ СІМ'ЯНИКІВ

Ронідаза (*Ronidasum*) — препарат, який містить фермент гіалуронідазу, одержують із сім'яників статевозрілої великої рогатої худоби. Сім'яники обробляють 2 %-вим розчином фенолу протягом 5—15 хв, ретельно промивають водою, знімають оболонку і подрібнюють на млині-вовчку. Здрібнені сім'яники заливають фізіологічним розчином, який містить 0,25 % хлороформу в співвідношенні 1,0 : 0,5, і екстрагують ронідазу при перемішуванні протягом 35—40 хв. Екстракт відокремлюють фільтруванням, осад віджимають під гідравлічним пресом, віджату рідину приєднують до екстракту, розливають по касетах із нержавіючої сталі, сушать методом сублімації. Висушений препарат здрібнюють у кульовому млині, герметично закупорюють. Застосовують зовнішньо при лікуванні рубців (опікових, післяопераційних), контрактур суглобів. Зберігають у захищеному від світла місці при кімнатній температурі.

Лідаза (Lydasum) — препарат гіалуронідазної дії. Для одержання лідази здрібнені сім'яники великої рогатої худоби оброблюють розчином 0,1 моль/л кислоти оцтової у співвідношенні 1 : 2 при температурі 10 °С і перемішуванні протягом 4 год. Рідину, що знаходиться над осадом, відокремлюють і ацетоном осаджують фермент гіалуронідазу. Осад розчиняють у воді і процес осадження ацетоном повторюють три рази. Звільнений від ацетону осад очищеної гіалуронідази розчиняють у воді, фільтрують через стерилізувальні фільтри, розливають у флакони і висушують методом сублімації. Основними показаннями до застосування лідази є контрактури суглобів, рубці після опіків і операцій, анкілозивний спондилоартрит, гематоми тощо. Розчин вводять під шкіру. Випускають у флаконах, що містять по 64 УО (умовних одиниць) стерильної сухої речовини. Зберігають у сухому, темному місці, при температурі не вище 15 °С.

ВИРОБНИЦТВО ФЕРМЕНТІВ З РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ

Для одержання ферментів використовується також і рослинна сировина.

У багатьох випадках переваги рослин істотні:

- їх заготівля технологічно більш проста;
- висушений матеріал можна компактно упаковувати і зберігати тривалий час в умовах, що не вимагають спеціального технологічного обладнання.

Для виділення ферментів часто використовують насіння рослин, багате на білки, і яке може зберігати ферментативну активність протягом багатьох років. Недоліками рослинної сировини можна вважати сезонність її заготівлі і неоднаковий вміст ферментів у різних частинах рослини та регіонах заготівлі. Фармацевтичні виробництва нашої країни рослинні протеїнази не виробляють, оскільки більшість рослин, що їх продукує, в основному зростають у тропічних країнах. У лабораторії ферментних препаратів ДНЦЛЗ, яка є єдиною за профілем своєї діяльності в країнах СНД, вперше отримано рослинні препарати медичного призначення різної специфіки дії.

Рослинна сировина для виготовлення ферментів:

плоди динного дерева (*Carica papaya*) – папаїн;

плоди динного дерева (*Carica papaya*) – хімопапаїн;

пагони і листя смоківниці (*Ficus carica*) – фіцін;

плоди, стебла і відходи переробки ананасів (*Ananas comosus*) – бромелін;

бульби картоплі (*Solanum tuberosum*) – кисла фосфатаза;

корені хрону звичайного (*Armoracia rusticana*) – пероксидаза;

насіння столових кавунів (*Citrullus vulgaris* L.) — уреаза;

насіння чорнушки дамаської (*Nigella damascena* L.) — ліпаза;

проросле насіння пшениці (*Triticum aestivum* L.) — β -амілаза;

насіння гороху (*Pisum sativum* L.) — β -галактозίδαза;

насіння рапсу (*Brassica napus* L.) — інгібітор ліпази;

насіння люцерни (*Medicago sativa* L.) — інгібітор трипсину;

пшениця (*Triticum aestivum* L.) — інгібітор амілази;

насіння вівса (*Avena sativa* L.) — β -фруктофуранідаза.

Для виробництва ферментів можуть бути також використані продукти бджільництва. Відомо, що бджолиний мед має дуже виявлену активність ферменту амілази (діастази).

ТЕХНОЛОГІЯ ФЕРМЕНТНИХ ПРЕПАРАТІВ

Технологія ферментних препаратів характеризується різко вираженим індивідуальним підходом, зумовленим характером вихідної лікарської рослинної сировини, властивостями ферментів та супутніх їм речовин. Зазвичай ферменти в рослинній сировині знаходяться у вигляді складних комплексів, і для того, щоб їх одержати в кристалічному стані і біологічно активними, у першу чергу необхідно підібрати такі методи виділення, щоб при цьому не втрачалася їхня специфічна активність. Загальні принципи технологічних прийомів, включаючи підготовку сировини та обладнання і закінчуючи одержанням очищеного препарату, не є уніфікованими, а формуються і застосовуються залежно від завдань технології, типу та

індивідуальних особливостей ферменту. Перед екстракцією ферменту вихідну сировину піддають здрібнюванню для руйнації клітин, використовуючи промислові млини (вальці, дезінтегратори, дисмембратори). Як екстрагент ферменту використовують воду, водні розчини органічних розчинників (спиртів, ацетону, ефіру, діоксану), розведені розчини кислот і лугів, розчини нейтральних солей, а також буферні розчини. Екстрагент підбирається індивідуально для кожної рослинної сировини, що містить фермент. Гідролітичні ферменти, наприклад, амілази і протеїнази, найбільш повно екстрагуються з рослинної сировини за допомогою води.

Екстракт, отриманий у результаті вибіркової екстракції, поряд із ферментами містить супутні білки, ліпіди, пігменти, неорганічні іони, полісахариди та інші речовини неферментної природи. Видалення супутніх компонентів і досягнення високого ступеня очищення ферментного білка вимагає поєднання різних методів виділення. На першій стадії очищення екстракту може бути використана кислотна денатурація, яка дозволяє за рахунок зміщення рН середовища перевести білки у нерозчинний стан. Іноді, з обережністю, проводять їх температурну денатурацію шляхом короткочасного прогрівання екстракту при температурах, які не спричиняють денатурацію ферменту, що виділяється. Зазначені методи можуть поєднуватися. Застосовують також осадження неактивних домішок солями важких металів. З метою очищення екстракту від компонентів, що відрізняються розмірами молекул, застосовують діаліз через мембрани з певним розміром пор (целофан, колодій, пергамент). Використовують також стандартні мембрани з целюлози і її похідних.

Електродіалізом користуються рідко через небезпеку місцевого нагрівання і можливість небажаної зміни рН. Після попереднього очищення, а іноді і без нього, екстракт піддають фракціонуванню органічними розчинниками, нейтральними солями, сорбції-десорбції на різноманітних адсорбуючих матеріалах, очищенню за допомогою іонообмінних смол,

гельфільтрації тощо.

Для фракційного очищення із застосуванням органічних розчинників використовують спирти (етанол, метанол, ізопропанол, ацетон, інколи діоксан, діетилкарбінол, ароматичні та гетероциклічні аміни). Для зменшення денатураційного впливу дії осадження ведуть при знижених температурах. При фракціонуванні ферментів під дією солей часто використовують амонію сульфат, інколи застосовують натрію і магнію сульфати та ацетати. На відміну від органічних розчинників, які порівняно легко віддаляються центрифугуванням, сольові осадники з отриманого матеріалу можна видалити діалізом, який потребує багато часу. Ферменти мають здатність адсорбуватися на активованому вугіллі, крохмалі і його похідних, гідроксидах цинку, магнію, алюмінію, міді, на бетонітах, каоліні, гелі кальцію трифосфату, целюлозі і її похідних та інших матеріалах.

Іонообмінна хроматографія є більш тонким і вибіркоким методом очищення ферментів, в основі якої лежить реакція обміну між іонами і білками, що знаходяться в розчині. Як іоніти використовують катіоніти, що містять кислі радикали:

- сульфометилцелюлозу (СМЦ);
- сульфоетилцелюлозу (СЕЦ);
- карбоксиметилцелюлозу (КМЦ);
- фосфоцелюлозу (ФЦ).

Застосування знаходять також іоніти, що мають у своєму складі основну групу:

- аміноетилцелюлоза (АЕЦ);
- діетиламіноетилцелюлоза (ДЕАЕЦ);
- етилцелюлоза (ЕЦ);
- триетиламіноцелюлоза (ТЕАЦ);
- гуанідиноетилцелюлоза (ГЕЦ).

Розділення і концентрування. Для розділення і концентрування

ферментних білків часто застосовують метод гель-фільтрації з використанням сефадексів — полімерних ланцюгів полісахариду декстрину, з'єднаних через певні проміжки поперечними зв'язками, що утворюють своєрідні молекулярні сита, здатні розділяти білки за їх молекулярною масою.

Для концентрування ферментного білка часто використовують ультрафільтрацію. Метод полягає у розділенні високомолекулярних і низькомолекулярних сполук на селективних мембранах, здатних пропускати низькомолекулярні сполуки під дією тиску. Ультрафільтрація в 5-10 разів ефективніша за очищення з використанням фракціонування етанолом.

Кристалізація ферментів є складним методом їх очищення і застосовується для субстанцій, які пройшли концентрування і багатоступінчасте очищення. Кристалічний стан не є критерієм гомогенності ферментного білка, а вимагає додаткового підтвердження іншими методами (диск-електрофорезом у поліакриламідному гелі, ультрацентрифугуванням тощо). Методи і технологія кристалізації підбираються індивідуально для кожного ферменту.

ВИРОБНИЦТВО ФЕРМЕНТНИХ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ МІКРОБІОЛОГІЧНОГО СИНТЕЗУ.

Основний напрям мікробіологічного синтезу — використання клітин мікроорганізмів для виробництва ферментів, антибіотиків, вітамінів, алкалоїдів, амінокислот, органічних кислот, полісахаридів та ін. Промислове виробництво ферментних препаратів здійснюють в основному з культур мікроорганізмів: плісневих грибків, бактерій, дріжджів, актиноміцетів. Останніми роками для промислового виробництва ферментів використовують в основному міцеляльні гриби родів *Aspersillus*, *Penicillium* і *Rhizopus*, а також організми-продуценти бактерій роду *Bacillus*, *Echerichia coli* та інших. Вони здатні продукувати велику кількість різноманітних за своїм складом ферментів, що обумовлено специфічними можливостями їх ферментативного апарата, високою здатністю до розмноження та адаптації в різних умовах навколишнього середовища.

Використовуючи культури мікроорганізмів, можна набагато швидше одержати велику кількість біологічного матеріалу (біомаси) для наступного виділення ферментів.

Для харчування мікробних клітин можуть бути використані різноманітні продукти і відходи харчової промисловості (пшеничні і рисові висівки, картопляна мезга, пшеничне лушпиння, соняшникова лузга тощо). До недоліків мікробної сировини слід віднести значний обсяг роботи, який передуює препаративному виділенню ферментів (добір, вирощування і ведення штамів-продуцентів, підготовку живильних середовищ, дотримання умов стерилізації, вирощування, висушування тощо).

СИРОВИНА ДЛЯ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ

Для приготування живильних середовищ мікробіологічної промисловості використовують сировину мінеральну, тваринного і рослинного походження, а також синтезовану хімічним шляхом. Речовини, що входять до складу живильного середовища і які забезпечують розвиток культури і біосинтез обумовлених продуктів, не повинні містити шкідливих домішок. При виборі сировини необхідно враховувати його собівартість, оскільки в мікробіологічному синтезі важливого значення набуває вартість вихідних речовин і матеріалів.

Джерела вуглецю. Найбільш доступні для мікроорганізмів вуглеводи, тому в лабораторіях, а також у багатьох промислових біотехнічних процесах (у виробництві ферментів, антибіотиків, амінокислот тощо) використовують глюкозу, сахарозу, лактозу та інші вуглеводи. Однак зазначені вуглеводи є цінною харчовою сировиною і досить дорогі. У зв'язку з цим у більшості багатотоннажних мікробіологічних виробництв чисті вуглеводи замінюють більш дешевими і доступними продуктами: відходами крохмально-потокового виробництва (меляса, гідрол), гідролізатами торфу і рослинних відходів, побічними продуктами молочної промисловості та ін.

Меляса — відходи виробництва цукру із цукрового буряка, багаті на

вуглеводи та інші цінні органічні і мінеральні речовини. Меляса містить 70-80 % сухої речовини, у тому числі 45-60 % сахарози, 0,25-2 % інвертного цукру, 0,2-3 % рафінози, 1,2-3,4 % азотистих речовин. У її склад входять амінокислоти, органічні кислоти і солі, мінеральні речовини, деякі вітаміни. Меляса широко використовується у виробництві амінокислот, ферментів, дріжджів.

Гідрол — відходи виробництва глюкози з крохмалю. Вміст глюкози складає до 80 % суми цукрів, а інші 20 % — в основному продукти неповного гідролізу крохмалю. Поряд із цукром гідрол містить органічні кислоти, мінеральні елементи (фосфор, магній, залізо, натрій). Гідрол використовують як дешевий замітник у хіміко-фармацевтичних виробництвах.

Крохмаль картопляний (або кукурудзяний) містить 98,5-98,8 % крохмалю, 0,4-0,6 % білків, 0,6—0,7 % жирів, 0,12-0,17 % зольних елементів. Крохмаль використовують у ферментній, хіміко-фармацевтичній промисловості для вирощування мікроорганізмів, що мають амілолітичну активність.

Кукурудзяна мука — субстрат, який містить 60-70 % крохмалю, близько 10 % інших вуглеводів, 10-12 % білків, 3 % жирів, 0,8-1 % зольних елементів. Її використовують в основному у виробництві антибіотиків.

Пшеничні висівки — відходи борошномельного виробництва, використовуються для приготування живильних середовищ при твердофазному способі культивування. Висівки містять 16-20 % крохмалю, 10-12 % білків, 3-4 % жирів, 10 % клітковини.

Джерела органічного азоту. Для вирощування мікроорганізмів широко використовують субстрати, які містять органічні джерела азоту (амінокислоти, білки). Найбільш поширені в біотехнології натуральні субстрати — кукурудзяний екстракт, соєва мука, буряковий жом та інші досить доступні та дешеві.

Кукурудзяний екстракт — побічний продукт крохмально патокового

виробництва, що містить 40-50 % азотистих речовин, в основному амінокислоти, і 10-12 % вуглеводів, вітамінів, мікроелементів.

Соева мука — багате джерело органічного азоту, в основному у вигляді білків. Крім білків, у ній міститься до 20 % вуглеводів, які здебільшого важко засвоюються організмом, 4,5-6,5 % мінеральних елементів, деякі вітаміни.

Буряковий жом — відходи цукрового виробництва із цукрового буряка. Він містить: білків — 8,9, жирів — 0,23, целюлози — 21,7, зольних елементів — 4,2, кальцію — 4,7, фосфору — 1,2 %.

Інші види сировини. Крім основних компонентів живильних середовищ, у процесі ферментації часто використовують додаткові види сировини — попередники, поверхнево-активні речовини (ПАР), антибактеріальні препарати та ін. Попередники — синтетичні продукти, що входять до складу молекули цільового продукту і які додають у ферментаційне середовище для інтенсифікації процесу біосинтезу. Наприклад, при біосинтезі пеніциліну в культуральну рідину додають як попередник кислоту фенілоцтову, при біосинтезі еритроміцину — спирт пропіловий, вітамінів В12 — 5,6-диметилбензimidазол. Поверхнево-активні речовини в біологічних виробництвах використовують головним чином для піногасіння. Антибактеріальні препарати (фурадонін, фурацилін) — для підтримки асептичних умов.

ТЕХНІЧНІ ЗАСОБИ ДЛЯ РЕАЛІЗАЦІЇ ПРОЦЕСІВ ФЕРМЕНТАЦІЇ.

У мікробіологічних виробництвах використовують різноманітні ферментатори. Умовно їх можна поділити на такі типи: барботажні, ерліфтні, барботажно-ерліфтні з механічним перемішуванням, барботажні з циркуляційним перемішуванням, з ежекційною системою та ін. За структурою потоків ферментатори можуть бути апаратами повного перемішування або повного витіснення. За способом введення енергії і аерації розрізняють апарати із введенням енергії в газову фазу, у рідку фазу або комбіновані. Об'єм виробничих ферментаторів може бути від 10 до 1000 м³ із механічним

перемішуванням і барботажем. Ферментатори зазвичай являють собою герметичні циліндричні посудини, висота яких у 2-2,5 рази перевищує діаметр, найчастіше їх виготовляють із нержавіючої сталі. У ферментаторах установлюють мішалки турбінного, пропелерного та іншого типів. Діаметр мішалки становить приблизно $1/3$ діаметра апарата. У виробництві ферментів поширені ферментатори з мішалками, під якими знаходиться кільцеподібний або радіальний повітряний барботер. Для підтримування температури в апараті є подвійний кожух або теплообмінник на зразок зміювика. Ферментатор обладнаний арматурою і трубопроводами для подачі живильного середовища; води і пари; розчину, що регулює рН, піногасників; повітря та інших матеріалів. Сучасні ферментатори укомплектовують вимірювальними приладами і регулювальними приладами для піногасіння, оглядовими люками. Найголовніша вимога до апаратів — збереження стерильності, тому вони мають бути доступними для обробки гарячою парою. Робочий об'єм ферментатора звичайно не перевищує $6/10$ загального об'єму. Вільний простір над поверхнею розчину використовується як буферний, де накопичується піна, і таким чином запобігаються втрати культуральної рідини. Дослідження показали, що в рідині, яка піниться, умови аерації кращі, ніж у перенасичених розчинах, за умови постійного перемішування і циркуляції шару піни, тобто при неможливості тривалого перебування мікроорганізмів поза культуральною рідиною. В інституті мікробіології ім. Кірхенштейна АН Латвії створено ферментатор колонного типу об'ємом 100 м^3 з контактними пристроями.

Системи очищення повітря. Для забезпечення киснем культури мікроорганізмів в умовах аеробного процесу при глибинній ферментації через одиницю об'єму живильного середовища за 1 хв необхідно продути 0,5-2 об'єми повітря. Його треба очистити від механічних частинок, мікроорганізмів і хімічних речовин перед введенням у ферментатор. Для очищення повітря зазвичай застосовують фільтрацію. Повітря подають у систему під тиском 0,2 МПа. Для створення тиску найчастіше використовують турбо- або поршневі

компресори. Перед подачею в компресор повітря очищується від грубих частинок на масляних фільтрах. У ферментаторі воно проходить через фільтри: спочатку через загальний, потім через індивідуальний. Ці фільтри виконують функцію холодної стерилізації повітря. Фільтри заповнюють гранульованим зернистим або волокнистим фільтрувальним матеріалом, використовуючи гранульоване вугілля і скловату, діаметр волокон яких 18 мкм. Останнім часом почали використовувати спеціальне бактерицидне волокно. Товщина фільтрувального шару зазвичай складає 0,4—0,75 м. Індивідуальні фільтри часто заповнюють скловатою або бавовняною ватою, активованим вугіллям. Тривалість експлуатації фільтрів 1—1,5 год при температурі 120-126 °С. Після стерилізації їх сушать у потоці сухого повітря протягом 2-3 год. Фільтрувальний матеріал в індивідуальних фільтрах заміняють через 1-2 місяці, у загальних — через 6-8 місяців.

Найважливішим показником процесу ферментації є вміст біомаси, субстрату, продукту і відсутність забруднення сторонньою мікрофлорою. Фізичний стан продуцента характеризує питома швидкість росту, його морфологічний стан (розмір клітин, кількість клітин, що діляться,), а також багато біохімічних показників (вміст РНК, ДН, НАД, НАДН, АТР, АМР, активність ключових ферментів). Більшість хімічних показників визначають, періодично відбираючи пробу, фізичні показники — постійно за допомогою вмонтованих у ферментатор датчиків. Для біотехнологічних процесів істотне значення має не тільки температура і рН середовища, але й вміст розчиненого кисню. Для визначення рН і розчиненого кисню застосовують стерильні електроди, вмонтовані безпосередньо у ферментатор. Для визначення розчиненого кисню застосовують амперметричні срібно-свинцеві або срібно-золоті електроди. Істотний вплив на хід процесу ферментації має ступінь піноутворення субстрату. Для субстратів, що дуже піняться, використовують автоматизовані системи піногасіння, що включають як хімічні, так і механічні засоби. Сучасний біотехнологічний процес немислимий без застосування ЕОМ

для керування процесом ферментації: підтримка оптимальної величини рН, температури, піноутворення, частоти обертання мішалки, кількості розчинного кисню, швидкості подачі субстрату тощо.

Вибір апаратури, технології приготування і стерилізації живильного середовища залежить від кількості і виду компонентів, які попередньо розчиняють у підігрійтій або гарячій воді. Якщо за ступенем розчинності і стерилізації це можливо, то всі компоненти розчиняють в одному розчині та в певній послідовності. У противному разі їх розчиняють по окремих групах вихідних речовин, виходячи з їхніх фізико-хімічних властивостей, стерилізують і з'єднують у змішувачі. Якщо середовище стерилізують у невеликих кількостях, весь об'єм середовища доводять до температури 120 °С безпосередньо у ферментаторі або спеціальних котлах-стерилізаторах, витримують протягом 30-60 хв (залежно від об'єму середовища і його складу) при 120 °С, а потім охолоджують до 27-30 °С.

ПРИГОТУВАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ.

Штами-продуценти ферментів підприємства мікробіологічної або хіміко-фармацевтичної промисловості отримують з академій і університетів України і країн СНД у пробірках на зрізах агару або в ампулах. Кожна культура має паспорт із докладним описом морфології, характеристики середовища для культивування і збереження. Перед початком технологічного процесу культуру розмножують у стерильних умовах на оптимальному складі середовища і при дотриманні режиму вирощування (рН, температура, тривалість). З поверхні зрізу агару її стерильно переносять у колбу місткістю 100-200 мл та інкубують у термостаті. Тривалість кожної стадії вирощування 24 год. Подальше розмноження посівного матеріалу зазвичай проводять у два етапи: в цеху чистої культури та у відділі інокуляції. Апарати першого етапу вирощування часто називають інокуляторами, другого — посівними ферментаторами.

До складу культуральної рідини входять залишки використаного живильного середовища, синтезовані метаболіти і клітинна маса продуцента.

Для виділення продуктів біосинтезу використовують сепаратори, осаджувальні центрифуги, фільтрпреси, вакуум-барабанні фільтри, ротаційно-вакуумні фільтри, відстійники. Вибір обладнання залежить від масштабу ферментації, типу клітин, властивостей культуральної рідини, місця локалізації ферментів (у клітині, клітинній стінці, культуральній рідині). Стадія попередньої обробки культуральної рідини в деяких технологіях виробництва ферментів включає операцію руйнації клітин і клітинних стінок за допомогою гомогенізаторів високого тиску, ультразвуку, хімічною обробкою (електроліти, поліелектроліти, луги) і ферментаційні методи.

Біомасу грибків звичайно збирають прямим центрифугуванням культуральної рідини або сепаруванням. Бактеріальні клітини вимагають попередньої обробки культуральної рідини шляхом флокуляції у крупніші коагулюючі скупчення для збільшення ефективності їх поділу в центрифугі. При нейтральній реакції середовища бактеріальні клітини в культуральній рідині мають негативний заряд, обумовлений фосфатними або карбоксильними групами клітинної стінки. Флокулюючі агенти (амонію сульфат, кальцію хлорид) нейтралізують заряд і сприяють утворенню великих агрегатів клітин, які легко осідають із культуральної рідини. Після попередньої обробки культуральну рідину центрифугують або декантують. Альтернативою центрифугуванню служить фільтрація. Для фільтрації невеликих об'ємів культуральної рідини використовують нутч- і друк-фільтри, вакуум-барабанні і ротаційно-вакуумні фільтри. Прес-фільтри застосовують для обробки великих об'ємів рідини.

ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ ФЕРМЕНТУ

Стадія виділення і хімічного очищення включає низку процесів: від обробки нативного розчину до сушіння готового продукту. Звичайно після центрифугування біомасу отримують у вигляді густої рідини або пасти із вологістю 70-85 %. Клітинну масу промивають, фільтрують, сушать, гідролізують, екстрагують із неї необхідний фермент. Якщо ферменти

знаходяться в розчині, біомасу використовують після відділення як побічний продукт, а потрібну речовину виділяють із розчину різними методами: осадженням, фільтрацією, екстракцією тощо. Для одержання високоочищеного ферменту застосовують висолювання, діаліз, електродіаліз, мембранну фільтрацію, гельфільтрацію, іонообмінну хроматографію, афінну хроматографію, різні методи сорбції. Концентрування розчинів, які містять ферменти, здійснюється ліофілізацією, вакуум-випарюванням, виморожуванням.

ОДЕРЖАННЯ ГОТОВОЇ ПРОДУКЦІЇ

Після виділення і хімічного очищення ферменту його необхідно висушити — видалити з отриманого препарату вільну і зв'язану воду. Оскільки ферменти в основному термолабільні, для їх висушування необхідно застосовувати методи, які не призводять до втрати біологічної активності. На сучасному етапі промислового одержання ферментів, використовують різні методи зневоднення препаратів. Широкого поширення набуло ліофільне сушіння ферментів, що здійснюється при порівняно низьких температурах (від -10 до -15 °C). При роботі із значними об'ємами розчину, що містить ферменти, проводять висушування із застосуванням розпилювальних сушарок. Однією з важливих операцій хімічного очищення ферментів є кристалізація. Залежно від хімічної будови ферменту і його фізико-хімічних властивостей застосовують такі методи кристалізації: випарювання розчинника (ізотермічний), охолодження гарячого розчину (ізогідричний), одночасне охолодження і випарювання (комбінований), додавання в розчин інших речовин, які знижують розчинність (висолювання), виморожування.

Після висушування препарат, якщо він нестійкий, необхідно змішувати із стабілізатором або з наповнювачем (крохмалем, декстринами, неорганічними нейтральними сполуками, тальком тощо).

ІММОБІЛІЗАЦІЯ І СТАБІЛІЗАЦІЯ ФЕРМЕНТІВ

Імобілізація ферментів — це підвищення їхньої стабільності. Як відомо,

у клітинах ферменти знаходяться частіше в «незв'язаній» формі, тобто прикріплені до певних структур і локалізовані в органелах. Тому ферменти характеризуються нестабільністю у разі дії низки фізичних і хімічних чинників і можуть інактивуватися. Це має місце і при одержанні ферментів мікробіологічним шляхом, тому після досягнення у ферментаторі максимальної активності ферментів необхідно якнайшвидше провести їх виділення. Причиною зниження активності можуть бути протеази, які виділяються в середовище при автолізі клітин продуцента або в мікроорганізми, що утилізують фермент. При використанні ферментних препаратів для каталізу різних реакцій вільні ферменти досить чутливі до температури, рН середовища, наявності різних речовин. Дію цих чинників може денатурувати білок. Крім того, вільні ферменти можуть бути використані лише одноразово, їхня вартість досить висока.

Досягнення молекулярної біології сприяли детальному вивченню будови багатьох ферментів. Був розкритий амінокислотний склад багатьох ферментних білків, їх просторова конфігурація, виявлені активні центри, значення різних функціональних груп у виявленні каталітичної активності ферменту. Це дозволило створити теоретичну базу для виробництва ферментів пролонгованої дії або, як їх називають, іммобілізованих, фіксованих, або зв'язаних ферментних препаратів. Сутність іммобілізації ферментів — прикріплення їх в активній формі до нерозчинної основи, включення в гель або в напівпроникну мембранну систему. Методи іммобілізації ферментів можна розділити на дві групи: включення в гель мікрокапсули і зв'язування з носієм адсорбційним або ковалентним зв'язком. Допускається прикріплення ферментів тільки за допомогою функціональних груп, які не входять до активного центра і не беруть участь в утворенні фермент-субстратного комплексу. Носій ферменту, або матриця, може мати вигляд зернистого матеріалу, волокнистої структури, пластинчастої поверхні, плівок або тканин, порожнистих волокон, трубочок, капсул тощо. Має значення розмір частинок носія, важливо, щоб він мав велику

поверхню, тому рекомендується використовувати невеликі частинки діаметром 0,1-0,2 мм. Носій ферменту може бути як природною (нативною) речовиною, так і синтетичним полімером.

Для іммобілізації широко застосовують целюлозу і її похідні — кислу карбоксиметилцелюлозу і ацетилетилцелюлозу та ін. У воді целюлоза набухає, і її гідроксильні групи приєднують ділянки молекул ферменту. Із синтетичних носіїв можна назвати карбоксильні або сульфоксильні хлориди у вигляді полімерних іонообмінних смол, діазотований поліаміностерин, нітратні кополімери кислоти метакрилової та ін. Процес іммобілізації ферментів можна продемонструвати на прикладі зв'язування глюкоамілази з носієм ацетилетилцелюлози. Носій спочатку витримують протягом доби в очищеній воді для набухання. Потім при перемішуванні до ацетилетилцелюлози, що набухла, додають спочатку натрій-ацетатний буфер (рН = 5,53), потім — розчин очищеного ферменту. Після перемішування вносять поперечно-зшивальний агент — глутаровий альдегід, який утворює амідний зв'язок між аміногрупою носія і карбоксильною групою ферментного білка. Через кілька годин отриманий препарат промивають послідовно натрій-ацетатним буфером і розчином натрію хлориду для видалення сорбованого на носії білка. Іммобілізований у такий спосіб фермент зберігають під шаром води або буфера при температурі 3-5 °С.

Ферменти можна прикріплювати до поверхні носія шляхом сорбції до іонів: до катіонів (які містять активні кислотні групи) або до аніонів (які містять переважно основні групи). Як сорбенти — носії ферментів часто використовують гель алюмінію гідроксиду або кальцію фосфату, діатоміт, модифікований крохмаль, бентоніти, кізельгур та ін. Сорбцію ферментів здійснюють або в колонках пропусканням розчину ферменту з певною швидкістю через шар іоніту, або в реакторах, в яких сорбент певний час перемішують із розчином ферменту. Отриманий продукт потім використовують як іммобілізований ферментний препарат. Адсорбція ферменту на носії не

забезпечує тривалої стабілізації. Більш тривалу стабілізацію забезпечує іонообмінне зв'язування ферменту, наприклад, на модифікованих іонообмінних целюлозах. Широкого поширення набувають різні методи вміщення ферментів у гель. У процесі полімеризації гелю молекули ферменту зв'язуються на невеликих відстанях, і тоді фермент виявляється замкнутим усередині комірки гелю. Розміри пор гелю повинні бути менші за розміри молекул ферменту, але вони не повинні перешкоджати доступу субстрату до ферменту. Для іммобілізації ферменту з цілих клітин мікроорганізмів широко використовують поліакриламідний гель, кальцію альгінат, крохмаль та ін. Нині розроблено методи іммобілізації багатьох ферментів.

ІНГІБІТОРИ ФЕРМЕНТІВ

Існують речовини різної хімічної природи, здатні гальмувати перебіг біохімічних реакцій, в яких фермент є каталізатором. Гальмування може бути як оборотним, так і необерненим. Інгібітори відповідно поділяють на оборотні і необернені. При дії оборотних інгібіторів активність ферменту можна відновити видаленням інгібітору, наприклад, із використанням селективних мембран або діалізу. При дії необернених інгібіторів активність ферменту не відновлюється. Коли інгібітор за своєю структурою подібний до біоспецифічного субстрату конкретного ферменту, відбувається його приєднання до активної ділянки каталізатора. Інгібітор заважає приєднанню субстрату, гальмування припиняється. При неконкурентному інгібуванні інгібітор приєднується не там, де зв'язується субстрат, і від внесення надлишку субстрату фермент не звільнюється. У разі неконкурентного інгібування фермент може одночасно зв'язуватися як з інгібітором, так і з субстратом. Існують інгібітори і змішаної дії, що залежить від структурних особливостей інгібітору і ферменту. Змішаний тип інгібування може виникати і в разі, коли інгібітор з'єднується не з вихідним фермент-субстратним комплексом, а з проміжними продуктами, що утворюються в процесі реакції. Інгібіторами ферментів є солі важких металів, речовини, які специфічно впливають на

сульфгідрильні угруповання ферментного білка (органічні сполуки меркурію, арсен), специфічні білки рослин, мікроорганізмів і тварин, полісахариди, антибіотики, таніни та ін.

Контрольні питання

1. Властивості та класифікація ферментів.
2. Навести приклади виробництва ферментів із сировини тваринного походження.
3. Навести приклади виробництва ферментів із сировини рослинного походження.
4. Загальна процесуальна схема виробництва ферментних фармацевтичних препаратів на основі мікробіологічного синтезу.
5. Охарактеризувати основні стадії технологічного процесу промислового отримання ферментів.

Тема 9. Технологія отримання вітамінів

Вітамінами називаються біологічно активні речовини, які нарівні з жирами, білками, вуглеводами і мінеральними сполуками необхідні живому організму як біологічні каталізатори в обміні речовин.

Вітаміни надходять в організм у незначних кількостях (з їжею); після введення засвоюються з утворенням складних похідних, які поєднуються з білками, утворюючи ферменти (біокаталізатори), що прискорюють реакції синтезу, розпаду і переконструювання різних речовин в організмі.

Вітаміни в основному не токсичні, але все ж деякі при прийомі в дозах, що перевищують лікувальні, викликають розлади організму (наприклад, А і D), так звані гіпервітамінози.

При відсутності або нестачі вітамінів в їжі виникає ряд симптомів, що свідчать про наявність авітамінозу. Хвороби, зумовлені відсутністю або

недоліком вітамінів, називають авітамінозами (так, наприклад, летальність при захворюванні цингою без лікування складає біля 70-80%).

Вітаміни класифікують за фізичними властивостями на розчинні в жирах і розчинні у воді.

Позначення літерою об'єднує групу вітамінів, що використовуються при одному типі захворювань (крім вітамінів групи В та ще деяких виключень).

ЖИРОЗЧИННІ ВІТАМІНИ (добова норма, мг):

A – антиксерофтальмічний; ретинол (2,7),

D – антирахітичний; кальціфероли (0,01-0,025),

E – вітамін розмноження; токофероли (5,0),

K – антигеморагічний, чинник згортання крові; нафтохінони (1,0).

ВОДРОЗЧИННІ ВІТАМІНИ:

B – цілий комплекс вітамінів різної спрямованості дії:

B₁ – антиневритний; тіамін (1,2),

B₂ – вітамін росту; рибофлавін (1,7),

B₃ – антидерматитний; пантотенова кислота (3-5),

B₆ – антидерматитний; піридоксин (2),

B₁₂ – антианемічний; ціанокобаламін (0,003),

B_c – антианемічний, фолієва кислота (1-2,2),

C – протицинготний, аскорбінова кислота (75),

PP – противопелагричний, капіляррозміцнюючий; біофлавоноїди (18),

H – антисеборейний; біотин (0,25).

Найбільш досконалою можна вважати хімічну класифікацію, відповідно до якої всі вітаміни поділяють на наступні групи:

I. Вітаміни аліфатичного ряду: кислота аскорбінова, кислота пангамова (B₁₅), кислота пантотенова (B₃).

II. Вітаміни аліциклічного ряду: ретиноли (вітаміни групи A), кальціфероли (вітаміни групи D).

III. Вітаміни ароматичного ряду: вітаміни групи K.

IV. Вітаміни гетероциклічного ряду: токофероли (вітаміни групи E), рутин (вітаміни групи P), нікотинова кислота та її амід (вітаміни групи PP), піридоксин (вітамін групи B₆), тіамін (B₁), кислота фолієва (B_c), рибофлавін (B₂), кобаламіни (вітаміни групи B₁₂).

ВІТАМІННІ ПРЕПАРАТИ ІЗ СВІЖИХ РОСЛИН

Особливість препаратів із свіжих рослин полягає в тому, що в них міститься весь комплекс біологічно активних речовин, які входять до складу лікарської сировини в найбільш природному їх стані. Препарати із свіжих рослин мають давню історію. Про їх приготування є численні відомості у вітчизняній і закордонній медико-фармацевтичній літературі XVIII—XIX століть. У «Фармацевтичних записках», складених за лекціями О. П. Нелюбіна, який очолював кафедру фармації «Медико-хірургічної академії» у Петербурзі, можна знайти описи одержання соків і настоек із свіжих рослин. До початку XX століття кількість препаратів із свіжої рослинної сировини зменшилася, але вони залишилися в номенклатурі гомеопатичних аптек. Нині галенові і новогаленові препарати готують із висушеної лікарської сировини, що за якісним і кількісним складом біологічно активних речовин не завжди рівноцінна свіжозібраним рослинам. Під час заготівлі, сушіння і збереження БАР піддаються змінам унаслідок ензиматичних процесів дії кисню повітря і багатьох інших чинників. Дослідження багатьох учених показують, що після 1/2 - 1 року зберігання лікарської сировини вміст біологічно активної речовини (особливо серцевих глікозидів і ефірних масел) різко зменшується. У деяких випадках препарати із свіжих рослин мають більшу активність, ніж відповідні препарати, отримані із сухої сировини. Так, настойка із свіжих коренів валеріани лікарської в 2-3 рази активніша за настойку, отриману із сухих коренів. Крім того, вітамінна і фітонцидна активність спостерігається частіше в препаратах свіжих рослин. Тому доцільно в деяких випадках використовувати препарати із свіжих рослин. Сучасні препарати із свіжих рослин можна віднести до двох груп:

— соки;

— витяжки.

Соки із свіжих рослин бувають натуральними (незгущені), згущені і сухі.

СПОСОБИ ОДЕРЖАННЯ СОКІВ ІЗ СВІЖОЇ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ

Технологія одержання соків розроблена в Інституті фармакохімії ім. Кутателадзе АН Грузії із таких видів рослин: валеріани, дурману, наперстянки пурпурової і іржавої, конвалії, беладони, хвоща польового, чистотілу, водяного перцю, чемериці, мати-й-мачухи, кропиви. Багато з цих соків дозволені до застосування як лікувальні препарати. За технологією, запропонованою цим інститутом, свіжу рослинну сировину двічі пропускають через машини-вовчки або через вальці. Здрібнену мезгу загортають у полотняні серветки і поміщають у циліндр преса, накладуючи по 5-6 штук одна на одну і прокладаючи між ними пластинки з нержавіючої сталі, потім пресують для одержання соку. До кожних 85 частин вичавленого соку додають за масою 15 частин 95 %-вого етанолу, в якому розчинений хлоретан (0,3 % від загальної маси рідини). Для швидкого нагрівання суміш ставлять у воду, попередньо нагріту до температури 80-85 °С, на 30 хв, а потім швидко охолоджують у проточній воді. Така зміна температур сприяє інактивації ферментів і зсіданню білкових речовин. Осади, які випали, відокремлюють центрифугуванням. Одержують чистий, прозорий сік. Для консервації застосовують хлоробутанолгідрат або спирт етиловий.

Сік подорожника (*Succus Plantaginis*) — це суміш соку із свіжих листків подорожника великого (*Plantago major* G.) і соку трави подорожника блошиного (*Plantago psillium* G.). Технологічний процес одержання соку складається з таких операцій: збирання сировини, подрібнення, пресування, консервування соку, відстоювання, фільтрування. Збирання листя подорожника великого здійснюють у період цвітіння в суху погоду, ретельно очищують їх від забруднення, пожовклі і засохлі листки видаляють. Подрібнювання листя виконують на машині-вовчку МП-1-160, де ступінь здрібнювання їх досягає 2-8 мм. Сік віджимають під пресом. У циліндр преса на дно піддона з решіткою

укладають до 18 пакетів із подрібненою сировиною по 39 кг. Між пакетами поміщають дренажні решітки із нержавіючої сталі і пресують. У результаті пресування одержують 56,6-60 % соку. Жом удруге подрібнюють віджимають на пресі і одержують ще 10 % соку. До вичавленого соку негайно при постійному перемішуванні додають 25 частин етилового спирту 90 %-вого, що забезпечує 20 % його вмісту в кінцевій суміші. Сюди ж при діючій мішалці завантажують 0,15 % натрію метабісульфіту і перемішують до повного розчинення. Потім відбирають пробу для визначення вмісту спирту, сухого залишку, рН. Отриманий сік подорожника великого перекачують у відстійник, де залишають на 7 діб. Відстояний від баластових речовин сік декантують і за допомогою фільтрпреса фільтрують у збірник. Свіжу траву подорожника блошиного двічі подрібнюють на машинах-вовчках і негайно заливають етиловим спиртом і водою у співвідношенні 7 кг : 21 л : 14 л відповідно. Витяжку зливають, а масу двічі пресують. Шрот заливають водою очищеною в співвідношенні 2 : 1, ущільнюють і залишають на 12 год. Після чого водний мацерат відпресовують, приєднують до етанольного, визначають вміст етилового спирту. Фільтрують, як і сік подорожника великого, консервують, додаючи 0,15 % натрію метабісульфіту. Соки подорожника великого і блошиного змішують в однакових кількостях (1 : 1), відстоюють і фільтрують. Прозора рідина червонясто-бурого кольору, кислувато-солонувата на смак з відчуттям пекучості. Містить глікозид аукубін, вітамін К, каротин та інші сполуки. Запах слабкий, своєрідний, ароматний. Застосовують при анацидних гастритах і хронічних колітах. Випускають у флаконах по 250 мл, зберігають у прохолодному темному місці. Технологічна блок-схема одержання соку подорожника є типовою для фармацевтичних виробництв.

Сік каланхое (*Succus Kalanchoës*) одержують із свіжо зібраної трави культивованої рослини каланхое перистого (*Kalanchoë pinnata* (Lam.) Pers.) за типовою схемою. Отриманий сік відстоюють, декантують і для освітлення фільтрують через мезгу. Втрату соку виключають заміною декантації

сепарацією. Процес проводять на рідинному сепараторі тарілчастого типу. Прояснена рідина виводиться в приймач, а осад осідає в шламовому відділі сепаратора, кількість якого складає близько 0,07 %. Після сепарації сік піддається стерилізаційній фільтрації. Консервант — хлоробутанолгідрат — додають у кількості 0,5 %. Препарат містить дубильні речовини, вітаміни Р і С, кислоти органічні, мінеральні солі та інші сполуки. Сік каланхое — рідина жовтуватого кольору, ароматного запаху, трохи опалесцює з дрібною суспензією, яка легко розбивається при струшуванні. Сік каланхое виявляє місцеву протизапальну дію, сприяє очищенню ран від некротичних тканин, сприяє їх загоєнню. Входить до складу мазі каланхое, яку використовують при лікуванні трофічних ран. Випускають в ампулах по 3; 5; 10 мл; у флаконах по 10-100 мл. Зберігають у захищеному від світла місці при температурі не вище 10 °С.

Сукрадбел (*Sucradbellum*). Сік із свіжих коренів беладони. Прозора бурочервоного кольору рідина зі своєрідним запахом і слабгірка на смак, в якій міститься 0,13—0,15 % суми алкалоїдів. Виготовляють за типовою схемою одержання соків. Застосовують при постенцефалітичному паркінсонізмі.

Сукудифер (*Succudiferum*). Сік із свіжого листя наперстянки іржавої, очищеної від баластових речовин. Це прозора червоно-бурого кольору рідина, гірка на смак. В 1 мл міститься 5—6 ЖОД. Застосовують в усіх випадках серцевої недостатності, зумовленої ураженням клапанного апарата і захворюваннями серцевого м'яза.

Сік конвалії (*Siccus Convallariae majalis*). Сік із свіжих надземних частин (суміші листків і квіток) конвалії. Прозора червоно-бурого кольору рідина, гірка на смак, запах духмянний. В 1 мл міститься 24 ЖОД. Застосовують аналогічно до соку наперстянки.

Сік алое (*Succus Aloës*). Одержують із свіжих не консервованих листків алое деревовидного (*Aloë arborescens* Mill.), здрібнюють їх на вальцях. З отриманої мезги віджимають на пресі сік, нагрівають при температурі 100 °С

протягом 5-10 хв, охолоджують, поміщають у відстійник, потім додають 95 %-вий етанол до концентрації його в соку 20 % і відстоюють при температурі 6-8 °С протягом 14-15 діб. Після відстоювання сік декантують, фільтрують і додають 0,5 % хлоробутанолгідрату. Стандартизують препарат по сухому залишку, вміст якого повинен бути не менше 2 %. Сік алое — мутнувата рідина світло-оранжевого кольору, гірка на смак, під дією світла темніє. Застосовують при гастритах, запорах. Зовнішньо використовують при гнійних ранах, опіках. Випускають у флаконах по 100 мл.

Сік капусти білокачанної (*Siccus Brassicae capitatae*) одержують із листя капусти білокачанної (*Brassicae capitatae*) за технологією, розробленою в Інституті фармакохімії АН Грузії. Препарат містить велику кількість вітаміну U (метилметіонінсульфаніт U). Це біла із трохи жовтуватим відтінком рідина, мутнувата, солодкувато-гірка на смак, має своєрідний духмянний запах. Застосовують при шлункових захворюваннях нервового характеру, при лікуванні виразкової хвороби і хронічного коліту, при недостатньому кровообігу слизової оболонки шлунка.

ОДЕРЖАННЯ ЗГУЩЕНИХ СОКІВ

Екстракт журавлини (*Extracti Oxycocci*). Вичавлюють сік із дозрілих ягід журавлини болотної (*Oxycoccus palustris Pers.*) род. брусничних (*Vaccinaceae*) за типовою схемою, після чого проводять зброджування соку для видалення пектинових речовин, на які багата журавлина. Відокремлюють пектинові речовини центрифугуванням. Згущають сік до концентрації густого екстракту у вакуум-апаратах, які всередині посріблені, при розрідженні 60,8-65,8 кПа до вмісту 10 % сухих речовин. У згущеному соку міститься до 3,6 % цукрів, 3,25 % лимонної кислоти, аскорбінова кислота, вітамін Р (цитрин). Застосовують як вітамінний сік та смаковий засіб при пропасниці і гарячці

Контрольні питання

1. Властивості, біологічна роль та класифікація вітамінів.
2. Основні джерела вітамінів.

3. Навести приклади технології виготовлення вітамінних препаратів.
4. Яку особливість мають препарати із свіжих рослин?
5. Навести приклади застосування вітамінних препаратів.

Тема 10. Технологія виробництва бактеріальних препаратів для сільського господарства

При виборі антибіотику для боротьби зі збудниками захворювань і їх розповсюдження, а також способу використання препарату основну увагу необхідно звертати не тільки на біологічний ефект, а й на економічний та екологічний аспекти.

Одна із суттєвих вимог до антибіотиків для сільського господарства – вони не повинні використовуватись у медичній практиці.

Основні вимоги до антибіотиків, що використовуються у боротьбі з фітопатогенними організмами:

- 1) антибіотик повинен бути активним у відношенні до збудника захворювання, тобто володіти специфічністю біологічної дії;
- 2) повинні легко проникати у тканини рослин;
- 3) лікувальні дози повинні бути безпечні для рослин;
- 4) антибіотик на поверхні та усередині рослини не повинний швидко інактивуватися, але, при потраплянні у ґрунти, легко розкладатися там;
- 5) виявляти біологічну дію усередині тканин рослин;
- 6) не наносити шкідливого впливу на оточуюче середовище.

Найбільш широко використовується метод безпосередньої обробки ґрунтів, нанесення антибіотиків на наземні частини рослин, змочування насіння, коренів або інших органів у їх розчині. Потрапляючи у тканини рослин, антибіотики зберігаються там досить тривалий час – від 5 до 20 діб.

З великої кількості антибіотиків, що випробувались з метою використання для боротьби з різними захворюваннями рослин, найбільший ефект спостерігається при використанні стрептоміцину, гризеофульвіну, циклогексаміду та деяких інших.

Стрептоміцин використовується для боротьби зі збудниками захворювань рослин, що викликають бактеріальні хвороби у квасолі і сої; хворобами кісточкових (у США); хлопка, рису (в Індії). У деяких країнах випускають препарати стрептоміцину з окситетрацикліном, відомі як «агриміцин», «фітоміцин», «фітостреп».

Біалофос – гербіцид, отриманий на початку 1980-х років з культури *S. hydroscopicus*. За своєю структурою являє собою трипептид, що складається з двох залишків L-аланіну та L-глутамінової кислоти.

Антибіотики широко використовуються у тваринництві як лікарські засоби проти захворювань сільськогосподарських тварин, птиці та бджіл. З іншого боку, антибіотики використовуються і як стимулятори росту ряду сільськогосподарських тварин і птиці. Навіть їх невеликі кількості сприяють значному зменшенню відходу молодняку, прискорюють ріст та розвиток тварин і птиці, що у свою чергу пов'язано із скороченням витрат кормів на 5–10 %.

Розглядаючи дію антибіотиків на мікрофлору кишечника, відзначають:

1) вони сприяють збільшенню кількості мікроорганізмів, які синтезують вітаміни і пригнічують патогенну флору; зменшують кількість патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів;

2) сприяють переміщенню мікроорганізмів у кишечнику тварин;

3) знижують вірогідність субклінічних інфекцій, підвищують загальний тонус захисних реакцій організму;

4) знижують рН вмісту кишечника, зменшують поверхневий натяг клітин організму і прискорюють їх поділ.

Дія антибіотиків на ріст тварин, насамперед, пов'язана із зміною кишкової мікрофлори, хоча є повідомлення про безпосередній вплив цих речовин на організм тварини:

1) тканини збільшують швидкість абсорбції та використання метаболітів, знижуючи витрати кормів;

2) в організмі відзначається синергізм гормонів, збільшується кількість гормонів росту; підсилюється процес споживання кормів, збільшується адаптація організмів до несприятливих факторів;

3) знижується потреба тварини у вітамінах, збільшується їх синтез, знижується утворення метану, підвищується кількість летких кислот, які споживають тварини.

Серед найбільш розповсюджених антибіотиків можна відзначити:

авермектіни, що використовуються для пригнічення розвитку паразитів, у тому числі нематод;

монензин для лікування кокцидозу домашньої птиці;

лінкоміцин для лікування дизентерії;

новобіоцин для лікування холери індичок.

Перші відомості про використання антибіотиків у консервній промисловості належать до 1943 року. До таких антибіотиків відносять субтилін, низин та інші.

Використання антибіотиків при консервуванні дозволяє значно знизити час термічної обробки того чи іншого продукту.

Так, для консервування овочів запропоновано використовувати субтилін, під дією якого спостерігається загибель клостридіальних та термофільних бактерій.

Низин – антибіотик, що утворюється молочнокислими бактеріями, використовується при консервуванні не тільки овочів (томати, зелений горошок, цвітна капуста), але й риби, молока, сирів та ін. Антибіотик пригнічує

розвиток ряду термофільних спороутворюючих бактерій, не виявляючи токсичної дії на організм людини.

Контрольні питання

1. У чому переваги бактеріальних засобів захисту рослин?
2. Вимоги до антибіотиків, що використовуються у боротьбі з фітопатогенними організмами.
3. Навести приклади антибіотиків, які використовуються для боротьби зі збудниками захворювань рослин.
4. Як використовуються антибіотики у тваринництві?
5. Які антибіотики використовуються у консервній промисловості?

Рекомендована література

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
2. Биотехнология. Учеб. Пособие для вузов. В 8 т. / Под ред. Н.С.Егорова, В.Д.Самуилова. Кн.6: Микробиологическое производство биологически активных веществ и препаратов / Быков В.А., Крылов И.А, Манаков М.Н. и др. – М.: Высш. шк., 1987. – 143 с.
3. Тихонов А.И., Ярных Т.Г., Бездетко Н.В., Азаренко Ю.Н., под. ред. Тихонова А.И. Биофармация: Учебник. – Х.:Изд-во НФаУ, 2003. – 240 с.
4. Технологія ліків промислового виробництва: Підручник / В.І. Чуєшов, Л.М. Хохлова, О.О. Ляпунова та ін.: За ред. В.І. Чуєшова — Х.: Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2003. — 720 с.
5. Грачева И.М. Технология ферментных препаратов. - М.: Агропромиздат, 1987. - 335с.
6. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. - М.: Высш. шк., 1986. - 448с.
7. Мосичев М.С., Складнев А.А., Котов В.Б. Общая технология микробиологических производств. - М.: Легкая и пищ. пром., 1982. - 264с.
8. Калунянц К.А., Голгер Л.И. Микробные ферментные препараты (технология и оборудование). - М.: Пищ. пром., 1979, 303с.
9. Производство антибиотиков / Под ред. С.М.Навашина. - М.: Медицина, 1970. - 368с.
10. Промышленная микробиология / Под ред. Н.С.Егорова. - М.: Высш. шк., 1989. - 688с.
11. Воробьева Л.И. Микробиологический синтез витаминов. - М.: Изд-во МГУ, 1982. - 166с.
12. Биотехнология микробного синтеза / Под ред. М.Е.Бекера. - Рига: Зинатне, 1980. - 287с.

13. Грачева И.М., Гаврилова Н.Н, Иванова Л.А. Технология микробных белковых препаратов, аминокислот и жиров. – М.: Пищ. пром., 1980. - 448с.
14. Чуешов В.И., Чернов М.Ю., Хохлова Л.М. и др. Промышленная технология лекарств. Т 2 – Харьков: МТК-Книга, НФАУ, 2002. – 716 с.
15. Т.Брок. Мембранна фільтрація. – М.: Мир, 1987. – 462 с.

НАВЧАЛЬНЕ ВИДАННЯ

Конспект лекцій з дисципліни «Технологія антибіотиків та лікарських препаратів» освітньо-професійної програми першого (бакалаврського) рівня вищої освіти зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» усіх форм навчання / Укладач: Головей О.П.

Підписано до друку _____ р.
Формат _____ Обсяг _____ сторінок
Наклад _____ екз. Замовлення _____
51918, м. Кам'янське,
вул. Дніпробудівська, 2