МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) __біотехнології та екологічного контролю____
Кафедра ___біотехнології і мікробіології_____

«До захисту в ЕК»	**«До захисту допущено»**
Директор інституту (декан факультету)	Завідувач кафедри
_____ _Наталія ГРЕГІРЧАК____	_____ _Віктор СТАБНІКОВ_
(підпис) (прізвище та ініціали)	(підпис) (прізвище та ініціали)
«_08_» ___грудня____ 2025 р.	«_08_» ____грудня___ 2025 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА

зі спеціальності__162 «Біотехнології та біоінженерія»_____
(код та назва спеціальності)
освітньо-професійної програми __«Промислова та фармацевтична біотехнологія»_
на тему_«Біотехнологія препаратів мікробного походження для профілактики онкологічних хвороб»

Виконав: здобувач__II__ курсу, групи_ПФБ-2-1М_

___ГРЕБЕЛЬНА Діана Юріївна_____
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) (підпис)

Керівник: СТАРОВОЙТОВА Світлана Олександрівна_____
(прізвище , ім'я та по батькові повністю) (підпис)

Консультанти_____ _____
(прізвище та ініціали) (підпис)

_____ _____
(прізвище та ініціали) (підпис)

Рецензент СЕМЕНЮТА Тетяна _____
(прізвище, і'мя) (підпис)

Я як здобувач(ка) Національного університету харчових технологій розумію і підтримую політику університету з академічної доброчесності. Я не надавав(-ла) і не одержував(-ла) недозволеної допомоги під час підготовки цієї роботи. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Здобувач_____
(підпис)

Київ – 2025 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) __Біотехнології та екологічного контролю_____
Кафедра _____біотехнології і мікробіології_____
Освітній ступінь____магістр_____
Спеціальність____162 «Біотехнології та біоінженерія»_____
(код і назва)
Освітньо-професійна програма «Промислова та фармацевтична біотехнологія»
(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри біотехнології і_____
_____мікробіології_____

_____Віктор СТАБНІКОВ_
“_01_” ___жовтня___2025 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

ГРЕБЕЛЬНА Діана Юріївна
(прізвище, ім’я, по батькові)

1. Тема роботи Біотехнологія препаратів мікробного походження для профілактики онкологічних хвороб _____
керівник роботи __СТАРОВОЙТОВА Світлана Олександрівна, к.б.н., доцент,
прізвище, ім’я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)
затверджені наказом закладу вищої освіти від 05.11.2025 року № 912-кс
2. Строк подання здобувачем роботи___26.11.2025_____
3. Вихідні дані до роботи *Lactobacillus acidophilus* АТСС 33198
4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити)__Вступ. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ. 2. Техніко-економічне обґрунтування виробництва бактеріального лізату з онкопротекторними властивостями. 3. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів одержання біомаси *Lactobacillus acidophilus*. 4. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення субстанції бактеріального лізату з онкопротекторними властивостями. 5. Технологічні особливості одержання супозиторіїв ректальних з онкопротекторними властивостями. 6. Контроль виробництва.7. Проєкт заявки на корисну модель. Висновки. Список використаних джерел

5. Перелік графічного матеріалу
Апаратурна схема одержання біомаси *Lactobacillus acidophilus*, Технологічна схема одержання біомаси *Lactobacillus acidophilus*, Апаратурна схема одержання біомаси *Lactobacillus acidophilus*, Технологічна схема одержання ректальних супозиторій, Апаратурна схема одержання ректальних супозиторій.

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв

7. Дата видачі завдання____01 жовтня 2025 року_____

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
	Вступ	01.10.2025 - 03.10.2025	
	1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	06.10.2025 - 08.10.2025	
	2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА БАКТЕРІАЛЬНОГО ЛІЗАТУ З ОНКОПРОТЕКТОРНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ	09.10.2025 - 13.10.2025	
	3. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів одержання біомаси *Lactobacillus acidophilus*	14.10.2025 - 22.10.2025	
	5. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення субстанції бактеріального лізату з онкопротекторними властивостями	22.10.2025 - 24.10.2025	
	4. Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання супозиторіїв ректальних з онкопротекторними властивостями	25.10.2025 - 06.11.2025	
	5. Опис технологічної схеми отримання супозиторіїв ректальних з онкопротекторними властивостями	07.11.2025 - 11.11.2025	
	6. Контроль виробництва.	12.11.2025 - 14.11.2025	
	7. Проєкт заявки на корисну модель	17.11.2025 - 18.11.2025	
	Висновки	25.11.2025 - 26.11.2025	
	Оформлення списку літературних джерел	25.11.2025 - 26.11.2025	
	Оформлення вступу та реферату	25.11.2025 - 26.11.2025	
	Оформлення презентації	25.11.2025 - 26.11.2025	
	Оформлення пояснювальної записки	25.11.2025 - 26.11.2025	

Здобувач _____ ___Діана ГРЕБЕЛЬНА_____
(підпис) (ім'я та прізвище)

Керівник роботи _____ ___Світлана СТАРОВОЙТОВА___
(підпис) (ім'я та прізвище)

ABSTRACT

The qualification work includes a systematic analysis of literature data on the biotechnology of drugs of microbial origin with oncoprotective properties, in particular based on lysates and postbiotics of lactic acid bacteria.

The oncoprotective potential of strains of *Lactobacillus acidophilus* (in particular ATCC 33198 and CICC 6074), *Streptococcus thermophilus* and their metabolites, mechanisms of antitumor action (induction of apoptosis via the mitochondrial pathway, inhibition of the Wnt/β-catenin signaling pathway, anti-inflammatory and immunomodulatory effects) are considered. The properties of bacterial lysates are analyzed as a safe alternative to live probiotics in immunosuppression typical of cancer patients.

In the technological part, the biotechnology of rectal suppositories with lysate of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 33198 (mass fraction of the active substance - 10%) on a lipophilic basis (cocoa butter) is developed. The choice of the producer strain, cultivation regimes on MRS medium, methods of biomass disintegration (ultrasonic and mechanical lysis), purification and lyophilization were justified. A technological scheme of production was developed with the stages of separation, homogenate, filtration, concentration, mixing with the base and forming suppositories by the pouring method.

A technical and pharmacopoeial justification of the dosage form was carried out: physicochemical indicators (complete deformation time, melting point, acid and peroxide value, microbiological purity (category 3 according to the State Pharmaceutical Institute) were determined. A draft specification and methods for quality control of the finished product were developed.

The work is presented on 126 pages of printed text. It contains an abstract, introduction, 4 sections of the main part, conclusions, a list of sources used (81 names), 12 tables, 8 figures, 4 appendices.

Keywords: *Lactobacillus acidophilus,* postbiotics, bacterial lysate, colorectal cancer, cancer prevention, suppositories, quality control, State Pharmaceutical Institute.

РЕФЕРАТ

В кваліфікаційній роботі здійснено системний аналіз літературних даних щодо біотехнології препаратів мікробного походження з онкопротекторними властивостями, зокрема на основі лізатів та постбіотиків молочнокислих бактерій.

Розглянуто онкопротекторний потенціал штамів *Lactobacillus acidophilus* (зокрема ATCC 33198 та CICC 6074), *Streptococcus thermophilus* та їх метаболітів, механізми протипухлинної дії (індукція апоптозу через мітохондріальний шлях, пригнічення Wnt/β-catenin сигнального шляху, протизапальний та імуномодулюючий ефекти). Проаналізовано властивості бактеріальних лізатів як безпечної альтернативи живим пробіотикам при імуносупресії, характерній для онкологічних пацієнтів.

В технологічній частині розроблено біотехнологію супозиторіїв ректальних з лізатом *Lactobacillus acidophilus* ATCC 33198 (масова частка діючої речовини – 10 %) на ліпофільній основі (масло какао). Обґрунтовано вибір штаму-продуцента, режимів культивування на середовищі MRS, методів дезінтеграції біомаси (ультразвуковий та механічний лізис), очищення та ліофілізації. Розроблено технологічну схему виробництва з етапами сепарації, гомогенату, фільтрації, концентрування, змішування з основою та формування супозиторіїв методом виливання.

Проведено технічне та фармакопейне обґрунтування лікарської форми: визначено фізико-хімічні показники (час повної деформації, температуру плавлення, кислотне та перекисне число, мікробіологічну чистоту (категорія 3 за ДФУ). Розроблено проєкт специфікації та методик контролю якості готового препарату.

Роботу викладено на 126 сторінках друкованого тексту. Вона містить реферат, вступ, 4 розділи основної частини, висновки, список використаних джерел (81 найменування), 12 таблиць, 8 рисунків, 4 додатки.

Ключові слова: *Lactobacillus acidophilus*, постбіотики, бактеріальний лізат, колоректальний рак, онкопрофілактика, супозиторії, контроль якості, ДФУ.

ЗМІСТ

Вступ…… 8

1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ……. 10

1.1. Біотехнологія мікробних онкопротекторних препаратів…….. 10

1.1.1. Продуценти препаратів мікробного походження з онкопротекторними властивостями…… 11

1.1.2. Біотехнологічні підходи до розроблення препаратів мікробного походження з онкопротекторними властивостями……... 19

2. Техніко-економічне обґрунтування виробництва бактеріального лізату з онкопротекторними властивостями……... 40

2.1. Аналіз фармакологічних властивостей супозиторій ректальних з онкопротекторними властивостями …… 40

2.2. Обґрунтування вибору біологічного агенту для отримання бактеріального лізату з онкопротекторними властивостями …… 43

2.3. Розрахунок потреби у субстанції для випуску бактеріального лізату з онкопротекторними властивостями та розрахунок річної потреби у культуральній рідині……. 44

3. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів одержання біомаси *Lactobacillus acidophilus* …… 48

3.1. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів одержання біомаси *Lactobacillus acidophilus* з врахуванням матеріальних потоків по стадіях…… 48

3.2. Специфікація обладнання отримання субстанції бактеріального лізату з онкопротекторними властивостями ……. 57

4. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення субстанції бактеріального лізату з онкопротекторними властивостями…… 61

5. Технологічні особливості одержання супозиторіїв ректальних з онкопротекторними властивостями……. 66

5.1. Обґрунтування вибору форми випуску препарату з онкопротекторними властивостями……. 66

5.2. Обґрунтування технологічних особливостей виготовлення супозиторіїв ректальних з онкопротекторними властивостями…… 68

5.3. Матеріальний розрахунок на серію виробництва…… 90

5.4. Специфікація обладнання……. 92

5.5. Опис технологічної схеми отримання супозиторіїв ректальних з онкопротекторними властивостями ……..…. 93

6. Контроль виробництва…… 97

6.1. Підбір сучасних методів контролю виробництва субстанції бактеріального лізату з онкопротекторними властивостями …… 97

6.2. Методи контролю супозиторіїв ректальних з онкопротекторними властивостями згідно АНД…….. 101

7. Проєкт заявки на корисну модель……. 114

Висновки……. 121

Список використаних джерел…… 122

ВСТУП

Онкологічні захворювання належать до провідних причин смертності у світі та в Україні, а колоректальний рак займає одне з перших місць за показниками захворюваності й смертності серед пухлин шлунково-кишкового тракту. (Zhao & Wang, 2020; Zhao та співавт., 2023). Незважаючи на розвиток хірургічних методів, хіміо- та променевої терапії, значна частина пацієнтів продовжує помирати впродовж перших років після встановлення діагнозу, що зумовлено пізнім виявленням захворювання, супутньою патологією та обмеженою доступністю сучасного лікування. У цій ситуації особливого значення набувають підходи, спрямовані на профілактику онкологічних хвороб та зниження онкоризику. (Tripathy та співавт., 2021; Zhao та співавт., 2023).

Одним із ключових факторів, що розглядається у контексті профілактики колоректального раку, є стан кишкової мікробіоти. Встановлено, що склад і функціональна активність мікробіоти кишечника впливають на метаболізм канцерогенів, рівень хронічного запалення, стан епітеліального бар'єра та імунну відповідь. (Zhao & Wang, 2020; Tripathy та співавт., 2021). Порушення рівноваги між коменсальними та умовно-патогенними мікроорганізмами може сприяти ініціації та прогресуванню пухлинного процесу, тоді як корекція мікробіоти розглядається як перспективний напрямок профілактики та підтримувальної терапії. (Zhao & Wang, 2020; Zhao та співавт., 2023).

У цьому контексті зростає інтерес до пробіотиків, постбіотиків та інших препаратів мікробного походження. Пробіотики – це живі мікроорганізми, які при достатньому надходженні здатні сприяти зміцненню здоров'я людини, у тому числі через модифікацію складу мікробіоти та імуномодулюючий ефект. (Johnson & Williams, 2019). Разом з тим, останніми роками активно вивчаються постбіотики – інактивовані клітини, фрагменти клітинних структур та

їх метаболіти, які зберігають біологічну активність, але не містять життєздатних мікроорганізмів. (Нечипоренко & Сидоренко, 2019; Chen & Li, 2019; D'Amore та співавт., 2025). До цієї групи належать, зокрема, бактеріальні лізати, що поєднують імуномодулюючі, протизапальні та потенційно протипухлинні властивості. (D'Amore та співавт., 2025).

Особливе місце серед мікроорганізмів-продуцентів потенційних онкопротекторних препаратів займають молочнокислі бактерії, зокрема *Lactobacillus acidophilus,* а також *Streptococcus thermophilus* та окремі представники роду *Bifidobacterium.* (Tripathy та співавт., 2021; Zhao та співавт., 2023). Для цих мікроорганізмів описано здатність інгібувати ріст клітин колоректального раку в експериментальних моделях, індукувати апоптоз, продукувати широкий спектр біологічно активних метаболітів (органічні кислоти, бактеріоцини, екзополісахариди тощо) та модулювати імунну відповідь. (Guo та співавт., 2020; Isazadeh та співавт., 2020; Yue та співавт., 2022; Erfanian та співавт., 2023). Лізати *L. acidophilus* розглядаються як перспективний варіант постбіотичних препаратів, що поєднують протипухлинну та імуномодулюючу активність із більш сприятливим профілем безпечності для пацієнтів з ослабленим імунітетом. (D'Amore та співавт., 2025; Erfanian та співавт., 2023).

Актуальність обраної тематики зумовлена необхідністю пошуку нових біотехнологічних рішень для профілактики онкологічних захворювань на основі мікробних препаратів, а також потребою в узагальненні наявних даних щодо продукентів, технології одержання та систем контролю якості й безпечності таких засобів. (Zhao & Wang, 2020; Han та співавт., 2024). На сьогодні існує значна кількість експериментальних та оглядових робіт, присвячених окремим аспектам застосування пробіотиків і постбіотиків у онкології, проте систематизований аналіз саме біотехнологічних підходів до створення онкопротекторних препаратів на основі *Lactobacillus acidophilus* залишається актуальним завданням. (Tripathy та співавт., 2021; D'Amore та співавт., 2025).

1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. БІОТЕХНОЛОГІЯ МІКРОБНИХ ОНКОПРОТЕКТОРНИХ ПРЕПАРАТІВ

Онкологічні захворювання залишаються однією з провідних причин смертності у світі та в Україні. За даними епідеміологічних досліджень, частота колоректального раку (КРР) за останні десятиліття має тенденцію до зростання, а значна частка пацієнтів в Україні все ще помирає протягом першого року після втсановлення діагнозу через пізнє виявлення та обмежений доступ до сучасного лікування (Melnitchouk et al., 2018). На цьому тлі особливого значення набувають профілактичні підходи, спрямовані на модифікацію факторів ризику, у тому числі стану кишкової мікробіоти.

Сучасні огляди підкреслюють, що пробіотики та продукти їх метаболізму розглядаються як перспективний інструмент профілактики та підтримувальної терапії при колоректальному раку. У роботі Tripathy та співавт. (2021) показано, що певні штами молочнокислих бактерій здатні модулювати склад кишкової мікробіоти, знижувати рівень хронічного запалення та впливати на сигнальні шляхи пухлинних клітин. Подібні висновки наводять Zhao та колеги (2023), які відзначають потенціал пробіотиків у зниженні ризику КРР через вплив на імунну систему та бар'єрну функцію епітелію кишечника.

Окремий напрямок складають постбіотики - інактивовані клітини мікроорганізмів, їх фрагменти та метаболіти, що мають біологічну активність. За даними D'Amore та співавт. (2025), постбіотики з функціональних харчових продуктів, зокрема лізати пробіотичних бактерій, демонструють антипроліферативні та імуномодулюючі ефекти у моделях колоректального раку. Це відкриває можливість для створення препаратів мікробного походження з онкопротекторними властивостями, у тому числі на основі лізатів *Lactobacillus acidophilus.*

Таким чином, біотехнологія мікробних онкопротекторних препаратів поєднує декілька ключових компонентів: вибір ефективного продуцента, розроблення технології отримання біологічно активного продукту (пробіотика, постбіотика або лізату) та систему контролю його ефективності й безпечності. У подальших підрозділах буде розглянуто основні групи мікроорганізмів-продуцентів, сучасні біотехнологічні підходи до створення таких препаратів, а також методи оцінки їх онкопротекторної дії.

1.1.1. Продуценти препаратів мікробного походження з онкопротекторними властивостями

Однією з найбільш вивчених груп продуцентів онкопротекторних препаратів є молочнокислі бактерії роду *Lactobacillus*, зокрема *Lactobacillus acidophilus*. У дослідженні Guo та співавт. (2020) показано, що штам *L. acidophilus* CICC 6074 пригнічує ріст клітин колоректального раку HT-29 *in vitro* та індукує апоптоз через мітохондріальний шлях, що підтверджується втратою мембранного потенціалу мітохондрій, вивільненням цитохрому у цитоплазму, активацією каспаз-9/-3 та зміною співвідношення Bax/Bcl-2. Каспаза-9 належить до ініціаторних каспаз внутрішнього (мітохондріального) шляху апоптозу: у роботі Guo та співавт. показано, що її активація відбувається на тлі порушення мітохондріальної функції та запуску каскаду подальших апоптичних подій. Каспаза-3 є основною ефекторною каспазою, яка, будучи активованою, розщеплює структурні та регуляторні білки, що призводить до характерних морфологічних ознак апоптозу пухлинних клітин. У тій самій роботі продемонстровано, що під дією *L. acidophilus* CICC 6074 підвищується експресія проапоптотичного білка Bax і знижується рівень антиапоптотичного білка Bcl-2, що вказує на зрушення балансу білків родини Bcl-2 у бік апоптозу. Таке поєднання активації каспаз-9/-3 та зміни співвідношення Bax/Bcl-2 є типовою ознакою реалізації мітохондріального шляху апоптозу, що підтверджує участь цього механізму в протипухлинній дії штаму *L. acidophilus* CICC 6074 (Guo et al., 2020).

Автори також продемонстрували протипухлинний ефект у мишачій моделі, що робить цей штам перспективним для створення функціональних продуктів і біопрепаратів проти КРР.

Подібні результати наведені в роботі Isazadeh та колег (2020), де вивчали вплив супернатанту та екстракту *L. acidophilus* на клітинну лінію Caco-2. БУло зафіксовано зниження життєздатності пухлинних клітин, морфологічні ознаки апоптозу та зміни експресії генів, пов'язаних із загибеллю клітин. Автори роблять висновок, що *L. acidophilus може* розглядатися як допоміжний засіб у комплексній терапії колоректального раку.

У дослідженні Yue et al. (2022) продемонстровано, що штам *L. acidophilus* KLDS1.0901 пригнічує проліферацію клітин колоректального раку та індукує апоптоз, впливаючи на експресію генів, пов'язаних з регуляцією клітинного циклу. Це ще раз підтверджує, що різні штами *L. acidophilus* мають виражений онкопротекторний потенціал, хоча механізми їх дії можуть частково відрізнятись.

Важливі дані щодо постіботиків *L. acidophilus* наведені в роботі Erfanian та співавт. (2023), де досліджували вплив постбіотика на Wnt-сигнальний шлях у клітинах колоректального раку. Автори показали пригнічення ключових компонентів Wnt-каскаду та зменшення проліферації пухлинних клітин, що є принципово важливим, оскільки саме активація Wnt-шляху часто асоціюється з прогресуванням КРР. Отримані результати обгрунтовують використання постбіотиків *L. acidophilus,* зокрема лізатів, як потенційних онкопротекторних агентів.

Окрім *L. acidophilus,* до перспективних продуцентів відносять *Streptococcus thermophilus*. У дослідженні Li et al. (2021) продемонстровано, що пероральне введення *S. thermophilus* знижує кількітсь пухлин у мишей з індукованим колоректальним раком. Автори пов'язують цей ефект із секрецією β-галактозидази, яка сприяє апоптозу ракових клітин і одночасно підтримує сприятливий склад кишкової мікробіоти.

Дослідження Allouche et al. (2024) доповнює ці дані, показуючи, що гідролізати білків *S. thermophilus* мають виражену протизапальну дію в моделі

макрофагів THP-1, знижуючи продукцію протизапальних цитокінів. Така протизапальна активність є важливою складовою онкопротекторного ефекту, оскільки хронічне запалення розглядається як один із ключових факторів ризику розвитку КРР.

Ряд досліджень також вказує на потенціал пробіотичних консорціумів. наприклад, Saduakhasova та співавт. (2014) показали, що консорціум, який включає *S. thermophilus, L. plantarum, Lactococcus lactis* та інші культури, характеризується високою антиоксидантною активністю та здатністю захищати ДНК клітин від окисного ушкодження. Ці дані демонструють, що комбінація декількох штамів може посилювати онкопротекторний ефект за рахунок різних механізмів дії.

Окрім молочнокислих бактерій роду *Lactobacillus,* важливе місце серед потенційних продуцентів онкопротекторних препаратів займає представник роду *Bifidobacterium*. У огляді Д'яківа (2020) підкреслюється, що окремі штами *Bifidobacterium* здатні знижувати активність канцерогенних ферментів кишкової мікробіоти, продукувати коротколанцюгові жирні кислоти (масляну, пропіонову), а також впливати на локальний імунітет слизової оболонки кишечника. Подібні висновки наводять Ткаченко та Бондаренко (2020), які зазначають, що *Bifidobacterium* розглядаються як ключові компоненти профілактичних мікробних препаратів завдяки поєднанню антипроліферативної, антиоксидантної та імуномодулюючої дії.

Систематизований аналіз пробіотиків при онкозахворюваннях в огляді Thompson та Evans (2020). Автори показують, що найбільш вивченими продуцентами з онкопротекорним потенціалом є *Lactobacillus (L .acidophilus, L. plantarum, L. rhamnosus, L. casei*) та *Bifidobacterium* (*B. longum, B. bifidum, B. breve*). Згідно з їх даними, застосування цих штамів у доклінічних моделях колоректального раку асоціюється зі зменшенням кількості пухлин, пригнічення запальних процесів і нормалізацією складу кишкової мікробіоти. Подібну позицію займають Zhao та Wang (2020), які розглядають мікробні біопродукти (метаболіти, клітинні фрагменти, лізати) як перспективну платформу для створення засобів профілактики раку.

Окремі публікації акцентують увагу на ролі біологічно активних метаболітів продуцентів. У роботі Кузьменко та Савченко (2020) описано, що молочнокислі бакерії та біфідобактерії продукують широкий спектр низькомолекулярних сполук - органічні кислоти, бактеріоцини, екзополісахариди, вітаміни групи В тощо. Miller та співавт. (2020) підкреслюють, що саме мікробні метаболіти, а не тільки живі клітини, можуть мати безпосередній протипухлинний ефект, наприклад, за рахунок індукції апоптозу, блокування клітинного циклу та модифікації сигнальних шляхів пухлинних клітин. Wilson та Roberts (2021) доповнюють ці дані, показують, що біотехнологія мікробних метаболітів дозволяє створювати стандартизовані препарати з вітворюваною активнітю, що є важливою перевагою для медичного застосування.

Імуномодулюючі властивості мікроорганізмів як продуцентів онкопротекторних препаратів детально розгялдають Нечипоренко та Сидоренко (2019). Автори відзначають, що клітинна стінка молочнокислих бактерій і біфідобактерій містить пептидоглікани, ліпотейхоєві кислоти та поверхневі білки, які взяємодіють з рецепторми породженого імунітету (наприклад, TLR), що може призводити до активації анти пухлинної імунної відповіді. Chen та Li (2019) у своєму огляді з мікробної імунотерапії також наголошують, що мертві клітини, їх фрагменти й лізати можуть бути не менш ефективними, ніж живі пробіотики, оскільки зберігають ключові структурні мотиви, відповідальні за імунну активацію.

У монографії Романенко (2021) наведено приклад клінічного використання біологічно активних мікробних препаратів у медицині, зокрема препаратів на основі молочнокислих бактерій та їхніх метаболітів. Авторка підкреслює, що перспективними є як класичні пробіотики, так і нове покоління препаратів - постбіотики та лізати, які мають кращий профіль безпечності для пацієнтів з імунними порушеннями, оскільки не місять життєздатних клітин. Подібні підходи описані і в зарубіжній літературі (Zhao & Wang, 2020; Chen & Li, 2019; Johnson & Williams, 2019), де мікробні препарати розглядаються як доповнення до стандартної хіміо- та імунотерапії.

Таким чином, аналіз сучасних джерел показує, що коло потенційних продуцентів онкопротектоних препаратів включає не лише окремі штами *Lactobacillus acidophilus* та *Streptococcus thermophilus, a* й інші види молочнокислих бактерій та біфідобактерій, а також їхні консорціуми. Водночас у більшості оглядів (Д'яків, 2020; Ткаченко & Бондаренко, 2020; Thompson & Evans, 2020; Zhao & Wang, 2020) підкреслюється, що саме *Lactobacillus acidophilus* належить до одних із найперспективніших продуцентів, оскільки поєднує виражений протипухлинний, імуномодулюючий та бар'єр-захисний ефект. Саме тому в подальшій роботі основну увагу буде приділено біотехнологічним підходам до отримання онкопротекторних препаратів на основі продуктів життєдіяльності та лізатів *L.acidophilus* і пов'язаним із ними методами контролю ефективності та безпечності.

Таблиця 1.1

Основні продуценти мікробних онкопротекторних препаратів

Продуцент (вид/штам)	**Форма продукту**	**Основний механізм онкопротекторної дії**	**Модель дослідження**	**Джерело**
Lactobacillus acidophilus CICC 6074	Клітини/ супернататнт культури	Інгібування росту клітин колоректального раку HT-29, індукція апоптозу через мітохондріальний шлях (активація каспаз-3/9, зміна співвідношення Bax/Bcl-2)	*in vitro* (HT-29), *in vivo* (мишева модель КРР)	Guo et al., 2020
Lactobacillus acidophilus (штам не уточнено)	Супернатант/ екстракт культури	Зниження життєдіяльності клітин Caco-2, морфологічні ознаки апоптозу, зміна експресії генів, пов’язаних з клітинною загибеллю	*in vitro* (Caco-2)	Isazadeh et al., 2020
Lactobacillus acidophilus KLDS1.0901	Клітини/ культуральна рідина	Пригнічення проліферації клітин колоректального раку, модифікація експресії генів, що регулюють клітинний цикл	*in vitro* (клітини раку товстої кишки)	Yue et al., 2022

Продовження Таблиці 1.1

Постбіотик *Lactobacillus acidophilus*	Постбіотик/ лізат	Пригнічення Wnt-сигнального шляху, зменшення прроліферації клітин КРР, потенційна імуномодулююча дія	*in silico* + *in vitro* (клітини колоректального раку)	Erfanian et al., 2023
*Streptococcus thermo*philus	Пробіотик/ (життєздатні клітини)	Секреція β-галактозидази, зниження кількості пухлин у товстій кишці, модифікація складу кишкової мікробіоти	*in vivo* (мишева модель індукованого КРР)	Li et al., 2021
Білкові гідролізати *Streptococcus thermophilus*	Постбіотик/ (гідролізат білків)	Протизапальна дія, зниження продукції протизапальних цитокінів макрофагами, потенційний непрямий онкопротекторний ефект через зменшення запалень	*in vitro* (клітини макрофагів THP-1)	Allouche et al., 2024
Пробіотичний консорціум (*S. thermophilus, L. plantarum, L. lactis* тощо)	Пробіотичний консорціум	Виражена антиоксидантна активність, захист ДНК від окисного ушкодження, зниження рівня вільних радикалів	*in vitro*	Saduakhasova et al., 2014

Закінчення таблиці 1.1

Lactobacillus acidophilus ATCC 33198	Бактеріальний лізат	Посилює протипухлинну активність моноклональних антитіл CTLA-4	Узагальнені доклінічні та клінічні дані	Zhuo et al., 2019

1.1.2. Біотехнологічні підходи до розроблення препаратів мікробного походження з онкопротекторними властивостями

Як показано в попередньому підрозділі, серед перспективних продуцентів онкопротекторних препаратів особливе місце займають молочнокислі бактерії, зокрема *Lactobacillus acidophilus* та *Streptococcus thermophilus,* а також представники роду *Bifidobacterium.* Логічним продовженням є аналіз того, яким чином ці мікрооорганізми перетворюють на реальний біотехнологічний продукт - пробіотик, лізат або постбіотик з підтвердженими онкопроттекторними властивостями. Саме тому в сучаних роботах значна увага приділяється етапам культивування, оптимізації умов росту, маштабуванню процесу та отриманню стандартизованих форм препаратів.

Таблиця 1.2

Біотехнологічні підходи до отримання мікробних онкопротекторних препаратів

Продуцент/ об'єкт	**Цільовий продукт**	**Основні біотехнологічні підходи**	**Механізм онкопротекторної дії**	**Ключовий результат**	**Джерело**
Lactobacillus acidophilus ATCC 4356	Бактеріоцин Acidocin 4356	Оптимізація складу поживного середовища та параметрів культивування (pH, температура, аерація) за допомогою статистичних методів (Plackett–Burman, поверхня відгуку); перехід від колбового культивування до лабораторного ферментатора	Потенційний прямий цитотоксичний та проапоптотичний вплив бактеріоцину на пухлинні клітини, а також пригнічення росту умовно-патогенної мікробіоти кишечника, що знижує онкоризик	Підвищення продукції бактеріоцину, часткове масштабування процесу, наближення умов до промислових	Modiri et al., 2021

Продовження Таблиці 1.2

Мікробні культури для фармацевтичного виробництва (узагальнено)	Біологічно активні метаболіти, пробіотики та постбіотики	Перехід від періодичних культур до керованих режимів (fed-batch, безперервне культивування); моніторинг розчиненого кисню, pH, концентрації субстрату в реальному часі	Опосередкований онкопротекторний ефект через отримання високоякісних пробіотичних і постбіотичних препаратів із відтворюваним вмістом метаболітів (коротколанцюгові жирні кислоти, бактеріоцини, екзополісахариди), які нормалізують склад мікробіоти, знижують хронічне запалення та модулюють імунну відповідь	Зростання продуктивності культур, стабільність параметрів процесу, підвищення відтворюваності якості продукту	Green & Black, 2019; Patel & Singh, 2021

Продовження Таблиці 1.2

актеріальні лізати (різні продуценти)	Лізати мікроорганізмів як імуностимулюючі/онкопротекторні агенти	Вирощування культури у ферментері, збирання біомаси, подальший лізис (теплова обробка, ультразвук, механічна дезінтеграція, хімічний/ферментативний лізис), очищення та стандартизація за вмістом білка чи інших маркерів	Активація рецепторів природженого імунітету (TLR тощо), посилення протипухлинної імунної відповіді, зниження хронічного запалення, нормалізація мукозального імунітету кишечника	Отримання стандартизованих лізатів із відтворюваною імуностимулюючою та потенційно протипухлинною дією	Rahman et al., 2024

Продовження Таблиці 1.2

Постбіотики з функціональних харчових продуктів (у т.ч. *L. acidophilus)*	Постбіотики / лізати пробіотичних бактерій	Термообробка, пастеризація, сушіння, механічне руйнування клітин; розроблення різних форматів застосування (харчові добавки, лікарські форми)	Індукція апоптозу та гальмування проліферації клітин колоректального раку, модулювання цитокінового профілю, зміцнення бар'єрної функції епітелію кишечника за відсутності життєздатних клітин	Збереження значної частини імуномодулюючої та протипухлинної активності за відсутності життєздатних клітин, підвищена безпечність для імуноскомпрометованих пацієнтів	D'Amore et al., 2025

Продовження Таблиці 1.2

Генетично модифіковані пробіотичні штами (зокрема на основі *L. acidophilus)*	«Інженерні» лізати та постбіотики	Створення ГМО-штамів із посиленою здатністю синтезувати терапевтичні молекули або впливати на сигнальні шляхи пухлинних клітин; подальше біотехнологічне отримання лізатів/метаболітів	Прицільний онкопротекторний ефект за рахунок експресії терапевтичних молекул (цитокінів, проапоптотичних факторів, інгібіторів сигнальних шляхів пухлинних клітин) і подальшого використання клітинних лізатів / метаболітів як носіїв цих факторів	Прицільний вплив на пухлинні клітини, розширений спектр онкопротекторної дії порівняно з природними штамами	Han et al., 2024; Tripathy et al., 2021; Thoda & Touraki, 2025

Закінчення таблиці 1.2

Препарати на основі *L. acidophilus (промислове виробництво)*	Стабільні порошкові форми (ліофілізовані лізати, постбіотики)	Центрифугування та фільтрація біомаси, сорбційні та мембранні методи концентрування метаболітів, розпилювальне або ліофільне сушіння, чіткі процедури контролю якості та стабілізації	Реалізація відомих імуномодулюючих та потенційно онкопротекторних властивостей препаратів на основі *L. acidophilus* за рахунок збереження структури клітинної стінки й активних компонентів (пептидоглікан, ліпотейхоєві кислоти, поверхневі білки), які взаємодіють із рецепторами імунної системи	Отримання стабільного препарату з тривалим терміном придатності та збереженою структурою імуномодулюючих компонентів клітинної стінки	Федоренко & Ковальчук, 2021; Гнатюк & Коваленко, 2021; Ткаченко & Бондаренко, 2020

Розроблення мікробних препаратів починається з науково обгрунтованого вибору штаму-продуцента, який поєднує стабільність, високу продуктивність і безпечність для людини. Для онкопротекторних препаратів цей вибір доповнюють критеріями вираженої протипухлинної та імуномодулюючої активності *in vitro* та *in vivo*, а також здатністю зберігати біологічно активні компоненти після лізису й сушіння. На наступному етапі відбувається цілеспрямований підбір складу поживного середовища та режимів культивування (температура, pH, аерація, швидкість перемішування), які забезпечують не лише нарощування біомаси, а й накопичення структурних компонентів клітинної стінки та метаболітів, відповідальних за онкопротекторний ефект. Для медичних біопрепаратів принципово важливо оптимізувати процес так, щоб у готовому продукті зберігалася функціональна активність клітин або їх фрагментів, оскільки саме від цього залежить імуномодулюючий і потенційний протипухлинний вплив препарату.

Таблиця 1.3

Порівняння технологій отримання онкопротекторних сполук мікробного походження залежно від продуцента

Продуцент	**Онкопротекторна сполука/цільовий продукт**	**Основні етапи отримання та виділення**	**Коротка характеристика технологій**	**Джерело**
Lactobacillus acidophilus ATCC 4356	Бактеріоцин Acidocin 4356	Культивування штаму на оптимізованому поживному середовищі; відокремлення культуральної рідини від біомаси; концентрування білкової фракції та подальше очищення бактеріоцину методами осадження та хроматографії	Статистична оптимізація умов культивування (pH, температура, аерація) з наступним цілеспрямованим виділенням бактеріоцину як низькомолекулярного пептиду з протимікробною й потенційно протипухлинною активністю	Modiri et al., 2021

Продовження Таблиці 1.3

Lactobacillus acidophilus (різні штами, у т.ч. CICC 6074, KLDS1.0901)	Бактеріальні лізати/ постбіотичні комплекси (клітинні фрагменти, поверхневі білки, пептидоглікан,метаболіти)	Ферментація у контрольованих умовах, збирання біомаси; лізис клітин (термічний, ультразвуковий, механічний або комбінований); видалення крупнодисперсного осаду центрифугуванням / фільтрацією; за потреби — концентрування та сушіння (ліофільне чи розпилювальне)	Технологія спрямована на збереження структурних компонентів клітинної стінки й метаболітів, які забезпечують індукцію апоптозу, модулювання сигнальних шляхів пухлинних клітин та імуномодулюючий ефект без наявності життєздатних клітин	Guo et al., 2020; Yue et al., 2022; Erfanian et al., 2023; Rahman et al., 2024; D'Amore et al., 2025
Streptococcus thermophilus	Ферментативні препарати та білкові гідролізати (у т.ч. білкові фракції з протизапальною дією)	Культивування в молочних / білкових середовищах; відокремлення надосаду від клітин; одержання білкових фракцій та/або гідролізатів за допомогою ферментативної обробки та подальшого очищення (фільтрація, концентрування, фракціонування білків)	Технологія дозволяє отримати білкові комплекси, здатні знижувати продукцію прозапальних цитокінів і тим самим опосередковано зменшувати онкоризик, пов'язаний із хронічним запаленням у кишечнику	Li et al., 2021; Allouche et al., 2024

Закінчення таблиці 1.3

Lactobacillus acidophilus 33198	Фрагменти клітин, що утворились після їх руйнування та відділення високомолекулярних клітинних фрагментів	Анаеробне культивування на вуглеводно-збагачених середовищах; відділення біомаси; руйнування клітин та використання частково очищеної фракції як джерела SCFA та інших метаболітів; за потреби — додаткове концентрування низькомолекулярної фракції	Технологія орієнтована на накопичення та вилучення метаболітів, що знижують активність канцерогенних ферментів, підтримують епітеліальний бар'єр та виявляють антипроліферативну дію щодо клітин колоректального раку	Zhuo et al., 2019
Пробіотичні консорціуми (*S. thermophilus*, *L. plantarum*, *Lactococcus lactis* тощо)	Комплексні антиоксидантні й імуномодулюючі сполуки (сумарні метаболіти, екзополісахариди, лізати)	Спільне культивування кількох штамів у комбінованих середовищах; збирання біомаси та/або супернатанту; отримання сумарних екстрактів (водні/буферні екстракції, часткова очистка) або лізатів консорціуму з подальшим сушінням	Комплексна технологія дає сумарний продукт із вираженою антиоксидантною активністю та здатністю захищати ДНК від окисного ушкодження, що реалізується за рахунок сукупності метаболітів кількох продуцентів	Saduakhasova et al., 2014; Thompson & Evans, 2020; Zhao & Wang, 2020

Характериним прикладом біотехнологічного підходу до роботи з *Lactobacillus acidophilus* є дослідження Modiri та співавт. (2021), присвячене отриманню та частковому очищенню антимікробного пептиду Acidocin 4356, синтезованого штамом *L. acidophilus* ATCC 4356. Після культивування культури автори відокремлювали біомасу від культуральної рідини центрифугуванням, далі проводили осадження білкових компонентів сульфатом амонію, діаліз для видалення низькомолекулярних домішок і подальші етапи хроматографічного очищення фракцій, що проявляли біологічну активність. Така послідовність операцій (центрифугування → осадження → діаліз → хроматографія) є типовою схемою виділення та очищення біологічно активних пептидів мікробного походження, які розглядаються як потенційні онкопротекторні сполуки (Modiri et al., 2021).

Окремий напрямок біотехнологічних підходів пов’язаних із отриманням лізатів та постбіотиків, тобто не життєздатних клітин, а інактивованих мікроорганізмів, їх фрагментів та метаболітів. В огляді Rahman та співавт. (2024) бактеріальні лізати розглядаються як потенційні імуностимулюючі й онкопротекторні агенти, а також узагальнюється типова технологічна схема їх отримання: вирощування культури-продуцента, відокремлення клітинної біомаси від культуральної рідини (центрифугування, мікрофільтрація), подальший лізис (термічний, ультразвуковий, механічна дезінтеграція, хімічний або ферментативний лізис), видалення домішок, концентрування та стандартизація за вмістом білка чи інших маркерних компонентів клітинної стінки. Автори підкреслюють, що така схема може бути адаптована для лізатів *L. acidophilus* , які завдяки поєднанню імуномодулюючої та протипухлинної активності розглядаються як перспективні онкопротекторні агенти (Rahman et al., 2024).

Таблиця 1.4

Літературні дані щодо основних методів отримання бактеріальних лізатів пробіотичних мікроорганізмів

Методи отримання лізату	**Принцип методу**	**Типові умови/ приклади застосування**	**Переваги**	**Обмеження**	**Джерело**
Термічний лізис	Руйнування клітин при нагріванні до підвищених температур (зазвичай вище 60–70 °C) протягом певного часу	Застосовується для інактивації пробіотичних культур родів *Lactobacillus* та *Bifidobacterium* (зокрема лізати *L. acidophilus* і *Bifidobacterium spp.*) при отриманні постбіотиків; нагрівання суспензії клітин у водяній бані або реакторі	Простота реалізації, відсутність потреби у дорогому обладнанні, повна інактивація клітин	Можлива денатурація білків та часткова втрата деяких термолабільних компонентів, що може знижувати біологічну активність	Rahman et al., 2024; D'Amore et al., 2025

Продовження Таблиці 1.4

Ультразвуковий лізис	Механічне руйнування клітин за рахунок кавітації при дії ультразвукових хвиль високої інтенсивності	Обробка суспензії штамів *Lactobacillus acidophilus*, інших молочнокислих бактерій та *Bifidobacterium spp.* в ультразвуковій ванні або зондовим ультразвуковим дезінтегратором; параметри (потужність, час) підбирають залежно від продуцента	Ефективне руйнування клітинної стінки, можливість тонкого налаштування параметрів, відносно невисока тривалість процесу	Нагрівання суспензії під час обробки, потреба у контролі температури; обмежені можливості масштабування для дуже великих об’ємів	Rahman et al., 2024; Green & Black, 2019

Продовження Таблиці 1.4

Механічний лізис (гомогенізація, bead-milling)	Фізичне руйнування клітин під дією високого тиску або тертя твердих частинок (скляні/керамічні кульки)	Використовується для отримання лізатів густих культур *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* та *Bifidobacterium spp.* у більших об’ємах: гомогенізація високого тиску в гомогенізаторах або обробка в млинах із кульками з подальшим відокремленням нерозчинних фрагментів	Висока ефективність при роботі з густими суспензіями, придатність до промислового масштабування	Висока енергоємність, нагрівання середовища, потреба у дорогому обладнанні та технічному обслуговуванні	Green & Black, 2019; Patel & Singh, 2021

Продовження Таблиці 1.4

Хімічний лізис	Руйнування клітинної стінки за допомогою детергентів, солей, хелатуючих агентів тощо	Застосовується для грампозитивних пробіотичних бактерій (*Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*): до суспензії додають ПАР (Triton X-100 тощо), солі, EDTA з подальшим видаленням реагентів при одержанні очищених лізатів або екстрактів клітинної стінки	Можливість селективного впливу на окремі компоненти клітинної стінки, поєднання з іншими методами	Необхідність ретельного відмивання реагентів, ризик залишкової токсичності; обмежена придатність для харчових і деяких фармацевтичних застосувань	Chen & Li, 2019;

Продовження Таблиці 1.4

Ферментативний лізис	Руйнування клітинної стінки за допомогою специфічних ферментів (лізоцим, протеази тощо)	Використовується для м'якого лізису клітин *Lactobacillus acidophilus* та інших молочнокислих бактерій, а також *Bifidobacterium spp.*: суспензію обробляють ферментами при контрольованих pH та температурі; тривалість підбирають з урахуванням виду продуцента та активності ферменту	Відносна м'якість умов, збереження структури багатьох поверхневих антигенів та імуномодулюючих компонентів	Висока вартість ферментів, необхідність точного підбору умов, можливість залишкової ферментної активності в продукті	Нечипоренко Сидоренко, 2019;

Закінчення таблиці 1.4

Комбіновані методи	Поєднання двох або більше способів лізису (наприклад, термічний + механічний або хімічний + ультразвуковий)	Використовуються для отримання лізатів складних пробіотичних консорціумів (*L. acidophilus*, *S. thermophilus*, *L. plantarum*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium spp.* тощо): спочатку застосовують м’який термічний або хімічний вплив, далі – ультразвук чи механічну дезінтеграцію для повного руйнування клітинної стінки	Можливість оптимізувати баланс між ефективністю лізису та збереженням біологічної активності компонентів; гнучкість налаштування	Складніший підбір режимів, потреба у валідації кожної комбінації методів, більша тривалість процесу	Rahman et al., 2024; D’Amore et al., 2025

У систематичному огляді D’Amore та співавт. (2025) акцент зроблено саме на постбіотиках із функціональних харчових продуктів у контексті колоректального раку. У цьому дослідженні автори узагальнюють дані про джерела постбіотиків (молочнокислі бактерії, біфідобактерії, інші коменсали кишечника), способи їх отримання (термообробка, пастеризація, сушіння, механічне руйнування клітин) та можливі формати застосування – від харчових добавок до лікарських форм. Важливий висновок огляду полягає в тому, що постбіотики дозволяють уникнути ризиків, пов’язаних із використанням живих мікроорганізмів у пацієнтів з ослабленим імунітетом, але при цьому зберігають значну частину протипухлинної та імуномодулюючої активності.

Більш широкий контекст застосування мікробів у протипухлинній терапії представлено в огляді Sawant та колег (2020). У цьому дослідженні описано концепцію «бактеріотерапії», коли бактерії або їх інженерні варіанти використовуються для націлювання на пухлинну тканину, доставки терапевтичних молекул та активації імунної відповіді. Автори підкреслюють, що мікроорганізми здатні колонізувати гіпоксичні зони пухлини та можуть бути модифіковані для синтезу цитотоксичних сполук, цитокінів або імунних ад’ювантів. Хоча робота не фокусується виключно на *L. acidophilus*, вона демонструє, що біотехнологія мікроорганізмів у онкології виходить далеко за рамки класичного пробіотика і включає складні інженерні конструкти та комбіновані підходи.

Сучасні огляди Han та співавт. (2024), Tripathy та співавт. (2021), а також Thoda і Touraki (2025) показують, що перспективним напрямком є створення генетично модифікованих пробіотичних штамів, у тому числі на основі *L. acidophilus*, які здатні більш прицільно впливати на сигнальні шляхи пухлинних клітин або синтезувати додаткові терапевтичні молекули. У цих роботах наголошується, що біотехнологічні стратегії включають як класичний відбір природних штамів з високим онкопротекторним потенціалом, так і раціональну модифікацію геному для посилення бажаних властивостей. Такий підхід відкриває можливість створення «інженерних постбіотиків», де лізат чи фрагменти клітин походять від спеціально сконструйованого штаму з розширеним спектром дії.

Важливу роль у розвитку біотехнології мікробних онкопротекторних препаратів відіграють і патентні розробки. У патенті US7887794B2 (2011) описано використання лактобацил, зокрема *L. acidophilus* I-1492, для профілактики та лікування раку, особливо раку товстої кишки. Автори патенту вказують, що як живі, так і інактивовані клітини можуть посилювати апоптоз пухлинних клітин та підсилювати дію хіміотерапевтичних засобів, таких як 5-фторурацил. У більш новій патентній заявці US20240316125A1 (2024) описуються пробіотичні композиції для профілактики та лікування колоректального раку, що включають певні штами молочнокислих бактерій та їх метаболіти, а також різні варіанти пероральних лікарських форм. Ці документи підкреслюють, що біотехнологічні підходи вже виходять на рівень практичних розробок з потенціалом комерціалізації.

У вітчизняній літературі Федоренко та Ковальчук (2021), Гнатюк і Коваленко (2021), а також Ткаченко та Бондаренко (2020) звертають увагу на те, що технологія виробництва мікробних препаратів повинна включати не лише етапи культивування та отримання цільового продукту, а й чітко прописані процедури очищення, стабілізації та контролю якості. Серед поширених біотехнологічних операцій вони виділяють центрифугування та фільтрацію для відділення біомаси, використання сорбційних та мембранних методів для концентрування метаболітів, а також сушіння (розпилювальне або ліофільне) для одержання стабільних порошкових форм. Для онкопротекторних препаратів на основі *L. acidophilus* це особливо актуально, оскільки необхідно зберегти структуру імуномодулюючих компонентів клітинної стінки та водночас забезпечити тривалий термін придатності продукту.

Таким чином, біотехнологічні підходи до розроблення препаратів мікробного походження з онкопротекторними властивостями включають декілька взаємопов’язаних етапів: вибір та характеристику штаму-продуцента, оптимізацію умов культивування та масштабування процесу, отримання лізатів або постбіотиків із заданими властивостями, а також розроблення стабільних і безпечних лікарських форм. Аналіз сучасних досліджень та патентних джерел показує, що особливий

інтерес викликають саме лізати та постбіотики *L. acidophilus* ATCC 33198 у яких підтверджено онкопротекторну дію проти колоректального раку.

2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА БАКТЕРІАЛЬНОГО ЛІЗАТУ З ОНКОПРОТЕКТОРНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ

2.1. Аналіз фармакологічних властивостей супозиторії ректальних з онкопротекторними властивостями

Супозиторії вагінальні, ректальні №10

Спосіб застосування: жінкам та чоловікам 1 супозиторій вранці і 1 супозиторій ввечері ректально.

Курс прийому: 10-20 днів. За необхідності курс повторити.

Склад

біологічно активна речовина:

бактеріальний лізат *Lactobacillus acidophilus* ATCC 33198 (Zhuo et al., 2019) - 0,03 г;

допоміжні речовини:

альфа-токоферолу ацетат - 55 мг,

аскорбінову кислоту - 5,4 мг,

натрію аскорбат - 10,8 мг,

динатрію едетат дигідрат - 0,1 мг,

полісорбат-80 - 0,1 мг,

основа:

масло какао і жир кондитерський до 1 г.

Характеристика

Супозиторії містять бактеріальний лізат – низькомолекулярна фракція, одержана в наслідок механічного руйнування клітин продуцента, що володіює протипухлинними властивостями та вилучення залишків цілих клітин. Бактеріальний лізат посилює протипухлинну активність моноклональних антитіл CTLA-4. Підвищена онкопротекторна ефективність була пов'язана зі збільшенням

кількості CD8+ Т-клітин, збільшенням кількості ефекторних Т-клітин пам'яті (CD44+CD8+CD62L+), зниженням кількості Treg (CD4+CD25+Foxp3+) та М2-макрофагів (F4/80+CD206+) у мікросередовищі пухлини. Лізат *L. acidophilus* ATCC 33198 має імуномодулюючий ефект за рахунок пригнічення поляризації М2 та рівнів експресії IL-10 макрофагів Raw264.7, активованих LPS (Zhuo et al., 2019).

Супозиторії сприяють зниженню інтенсивності запалення і надають профілактичну дію щодо виникнення ерозій і виразкових дефектів, на тлі яких можлива поява атипових клітин.

Рекомендації щодо застосування

Профілактика дизбіозу і запальних процесів слизової оболонки піхви і прямої кишки після хірургічних втручань, після застосування антибіотиків, протипухлинних препаратів і променевої терапії.

Для гігієнічної санації і як допоміжний засіб при хронічних інфекційно-запальних, гіперпластичних і дегенеративних захворюваннях органів сечостатевої системи, що супроводжуються пригніченням імунітету, а саме: цистит, генітальний герпес, хронічний простатит, аденома передміхурової залози, папіломавірусна інфекція, дисплазія шийки матки, бактеріальний вагіноз, крауроз, гострий і хронічний сальпінгіт-оофорит, гіперплазія ендометрію, аденоміоз, ендометріоми.

Для гігієнічної санації і як допоміжний засіб при інфекційно-запальних, проліферативних і дегенеративних захворюваннях кишківника, що супроводжуються пригніченням імунітету, а саме: хронічний коліт, проктит, геморой, тріщини анального отвору, поліпоз, хвороба Крона, неспецифічний виразковий коліт.

Протипоказання

Підвищена чутливість до компонентів. Алергічні реакції в анамнезі. Вік до 12 років.

Спосіб застосування та дози

По 1 супозиторію 2 рази на день ректально протягом 10-20 днів. Перед застосуванням проконсультуйтеся з лікарем. Не призначають дітям у віці до 12 років.

Побічна дія

Побічної дії не виявлено. Після введення свічки можливе короткочасне відчуття дискомфорту, свербіж або печіння, які проходять протягом 1-2 хвилин.

Термін придатності

2 роки.

Умови зберігання

Зберігати в оригінальній упаковці при температурі не вище 30 ° С. Не заморожувати. Зберігати в недоступному для дітей місці.

Упаковка

Супозиторії по 2,0 г; 10 супозиторіїв в коробці.

Категорія відпуску

Без рецепта.

2.2. Обгрунтування вибору біологічного агенту для отримання бактеріального лізату з онкопротекторними властивостями

При виборі біологічного агента потрібно враховувати не лише концентрацію біомаси, а й вихід терапевтичної складової.

В роботі ми розглянули декілька біологічних агентів, які потенційно можуть бути основою препарату з онкопротекторними властивостями для профілактики колоректального раку.

Продуцент *L. acidophilus* KLDS1.0901 у вигляді бактеріального лізату може проявляти онкопротекторні властивості. Механізм його онкопротекторної дії полягає у тому, що він пригнічує проліферації клітин колоректального раку та модифікує експресію генів, що регулюють клітинний цикл (Guo et al., 2020).

L. acidophilus CICC 6074 також може бути використаний для профілактики колоректального раку у вигляді бактеріального лізату. Механізм його дії полягає у інгібуванні росту клітин колоректального раку HT-29, індукції апоптозу через мітохондріальний шлях (активація каспаз-3/9, зміна співвідношення Bax/Bcl-2) (Yue et al., 2022).

Продуцент *L. acidophilus* ATCC 33198 у вигляді бактеріального лізату може бути використаний для профілактики колоректального раку за рахунок того, що має онкопротекторну активність. Така активність пов'язана зі збільшенням кількості CD8+ Т-клітин, збільшенням кількості ефекторних Т-клітин пам'яті (CD44+CD8+CD62L+), зниженням кількості Treg (CD4+CD25+Foxp3+) та M2-макрофагів (F4/80+CD206+) у мікросередовищі пухлини (Zhuo et al., 2019).

Зважаючи на ширший діапазон впливу при безпосередньому контакті з ураженою ділянкою ми обираємо в якості біологічного агента саме *L. acidophilus* ATCC 33198. Бактеріалиний лізат даного продуцента показав високу онкопротекторну активність відносно колоректального раку та може бути використаний у складі ректальних супозиторіїв.

2.3. Розрахунок потреби у субстанції для випуску бактеріального лізату з онкопротекторними властивостями та розрахунок річної потреби у культуральній рідині

Колоректальний рак залишається одним із найпоширеніших онкологічних захворювань в Україні: серед чоловіків він посідає друге місце за частотою, а серед жінок — третє. За показниками смертності від злоякісних новоутворень

колоректальний рак є другим як у чоловічого, так і у жіночого населення. Протягом останніх двох десятиліть спостерігається стійка тенденція до зростання захворюваності, що охоплює обидві статі, однак переважає серед чоловіків. Найвищі показники виявляють у старших вікових групах, що вказує на вікову вразливість до цього типу раку (Siegel et al., 2024).

Середній рівень співвідношення смертності до захворюваності в Україні становить від 51,8 % до 57,3 %, хоча в окремих регіонах цей показник досягає 76 %, що свідчить про нерівномірний доступ до медичних послуг та варіативність у якості надання допомоги. Недосконаліть системи профілактики, несвоєчасна діагностика і обмеженість у лікувальних опціях призводять до того, що близько третини пацієнтів (27,6–33,3 %) помирають протягом першого року після встановлення діагнозу, а в окремих регіонах цей показник перевищує 40 %.

Прогноз виживання при колоректальному раку значною мірою залежить від стадії, на якій було виявлено захворювання: 5-річна відносна виживаність на ранніх стадіях у 8–10 разів вища, ніж при пізній діагностиці (Siegel et al., 2024).

Упродовж 2023 року виявлено 72 020 нових випадків колоректального раку (взято до уваги і рецидиви), згідно з даними Національної служби здоров'я України (НСЗУ).

Щодо останніх доступних даних статистики НСЗУ, за 2024 рік в Україні зареєстрований 83 921 пацієнт з діагнозом колоректального раку (включно з рецидивами) (Sun et al., 2025; Torabi et al., 2025).

Смертність більше половини пацієнтів упродовж року вказує на пізню діагностику й неефективну ранню профілактику, незважаючи на невелике покращення системи скринінгу. Таким чином, ключовими проблемами є:

— відсутність масового скринінгу - лише 4–18 % випадків виявляються під час профілактичних оглядів (дані 2015 року) (Vinderola et al., 2025);

— пізнє звернення до лікарів – 25 % пацієнтів уже в III–IV стадії на момент діагностики (Wang et al., 2023);

— недоступність лікування для всіх соціальних шарів населення у різних регіонах країни, що може підвищувати смертність (Vinderola et al., 2025). Сучасні

наукові дослідження підтверджують, що кишковий мікробіом пов'язаний з розвитком колоректального раку і може модулювати імунну відповідь на численні форми терапії раку, включаючи імунотерапію з блокуванням контрольних точок.

Попередні дані показали, що пробіотичні лізати, на відміну від живих мікроорганізмів, можна вводити терапевтично без потенційних побічних ефектів, вони спрямовані на регуляцію імунної системи. Крім того, використання пробіотичних лізатів дозволить виробникам пробіотичних продуктів обійти логістичні проблеми підтримки життєздатності мікроорганізмів під час розробки, транспортування та зберігання таких препаратів.

В роботі (Zhuo et al., 2019) було оцінено захисну ефективність лізатів клітин штаму *Lactobacillus acidophilus* ATCC 33198 у поєднанні з антитілом, що блокує антиген-CTL-4 (CTLA-4 mAb), у сингенних мишей лінії BALB/c. Показано, що лізати *L. acidophilus* можуть послабити втрату маси тіла, а комбіноване введення значно захищало мишей від розвитку колоректального раку, що свідчить про те, що лізати посилюють протипухлинну активність CTLA-4 mAb у піддослідних мишей.

Ми плануємо застосовувати приепарат по 1 супозиторію 2 рази на день ректально протягом 10-20 днів. Супозиторії не призначають дітям у віці до 12 років. У разі необхідності можна проводити повторні курси лікування через 3, 6 і 12 місяців.

Для зручності розрахунків ми приймаємо, що в склад одного супозиторію входить 0,03 г бактеріального лізату. Такі данні ми і будемо використовувати для обрахунку річної потреби у пробіотичному засобі для терапії колоректального раку.

Ми передбачаємо використовувати по 1 супозиторію 2 рази на день ректально протягом 10-20 днів. Супозиторії не призначають дітям у віці до 12 років. У разі необхідності можна проводити повторні курси лікування через 3, 6 і 12 місяців.

За прийнятою дозувальною моделлю пацієнт отримує 0,06 г бактеріального лізату протягом доби. Курс тривалістю 20 діб забезпечує сумарне надходження бактеріального лізату на одного пацієнта:

$$X=0,06\times20=1,2 \text{ г.}$$

Оскільки лікування раку має ряд серйозних побічних ефектів, приймемо, що на рік пацієнт буде проходити 4 курси споживання препарату нашого виробництва (що відповідає рекомендаціям щодо тривалої імуномодулюючої терапії в онкології та схемам застосування аналога) по 20 днів відповідно. Тоді 80×1,2 = 96 г – це кількість бактеріального лізату, яка потрібна для 1 пацієнта на рік.

Якщо за 2024 рік в Україні зареєстровано 83921 пацієнта з діагнозом колоректального раку, включаючи рецидивні випадки. Ми плануємо забезпечувати 10 % від кількості пацієнтів нашим мікробним препаратом в розрізі онкотерапії.

Таким чином, для забезпечення 8392 пацієнтів протягом року потрібно 96 × 8392 = 805632 г = 805,6 кг активної речовини.

Штам *L. acidophilus* ATCC 33198 утворює близько 7,2 г/л біомаси.

Об’єм культуральної рідини, потрібний для одержання 805,6 кг бактеріального лізату, становить:

$$7,2 \text{ г} – 1 \text{ л}$$

$$805632 \text{ г} – X \text{ л}$$

$$X = 111893 \text{ л}$$

Для обґрунтування розрахунків уточнюємо стадії саме отримання лізату та приймаємо такі питомі втрати:

1. Центрифугування культуральної рідини - 5%;
2. Дезінтеграція клітин - 5%;
3. Центрифугування суспензії- 5%;
4. Ліофілізація лізату на піддонах - 5%.

Сумарні технологічні втрати - 20%. Тоді культуральної рідини потрібна така кількість:

$$V_р = 111893/0,8 = 139866 \text{ л}$$

Приймаємо кількість трудоднів ($Т_{рд}$) – 330. Тривалість циклу ферментації ($Т_{цф}$) становить 30 год (24 год – тривалість виробничої ферментації, 6 год – час підготовки ферментера до роботи) [39]. Тоді об’єм культуральної рідини за добу ($V_д$) становитиме:

$$V_д = V_р / T_{рд} = 139866/330 = 432,8 \text{ л}$$

Об’єм культуральної рідини, що зливається за одну ферментацію ($V_{цк}$), буде становити:

$$V_{цк} = К1*V_д*T_{цф} / 24 = 1,1*432,8*30 / 24 = 600 \text{ л/цикл}$$

де К1 – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій (К1 = 1,1 – 1,5). Приймаємо значення даної величини - 1,1.

Коефіцієнт заповнення ферментеру прийнято 0,6, тоді об’єм ферментера для напрацювання 600 л культуральної рідини становитиме:

$$V_ф = 600/ 0,6 = 1000 \text{ л.}$$

Таким чином, річна потреба у мікробному препараті для терапії колоректального раку у 8392 пацієнтів становить 805,6 кг, цю кількість буде напрацьовано протягом 330 днів у ферментері обсягом 1000 л.

3. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ ОДЕРЖАННЯ БІОМАСИ *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS*

3.1. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів одержання біомаси *Lactobacillus acidophilus* з врахуванням матеріальних потоків по стадіях

Ліофілізацію обрано для стабілізації лізату (зменшення вологи, підвищення термостабільності, мікробіологічної безпеки та відтворюваності дозування), навіть попри те, що кінцевий продукт не містить життєздатних клітин; у промисловій біотехнології висушування є стандартним прийомом для отримання сухих мікробних субстанцій і постбіотиків (Bauer et al., 2008/2011). У виглдяі сухої субстанції лізат надалі може застосовуватись дял виготовленян твердих лікарських форм (таблетки, капсули, порошки) або для фасування у флаконах залежно від цільової форми випуску (Bauer et al., 2008/2011).

Штам *L. acidophilus* ATCC 33198 обрано тому, що він належить до відомих пробіотичних видів, здатних впливати на мікрофлору кишківника та імунну систему, а також у роботі Zhuo та співавт. показано, що лізат цього штаму разом з антитілом до CTLA-4 підсилює протипухлинну імунну відповідь і знижує ризик розвитку колоректального раку в експерименті на мишах (Coviello et al., 2014).

За даними цієї статті лізат *L. acidophilus* ATCC 33198 отримували в кілька послідовних етапів (Zhuo et al., 2019):

– після ферментації клітини відділяли від культуральної рідини центрифугуванням при 4000 g протягом 20 хв при 4 °C з триразовим промиванням фосфатно-сольовим буфером;

– клітинний осад ресуспендували у буфері до концентрації 10^8 КУО/мл;

– суспензію пропускали через дезінтегратор високого тиску (близько 1200 бар) для руйнування клітин при 4 °C;

– повторним центрифугуванням при 4000 g протягом 20 хв за 4 °C видаляли залишки цілих клітин;

– надосадову рідину з лізатом розливали у флакони та ліофілізували до отримання близько 1 г сухого лізату у кожному флаконі. Тут слід зауважити, що переважна більшість пептидів є розчинною у фосфатному буфері, тож відсікається лише нерозчинна фракція – клітинний дебрис.

Такий підхід узято за основу для подальшого проєктування промислової технології одержання лізату.

Відділення клітин

Залежно від того, наскільки повним має бути відділення дисперсної фази та з огляду на властивості культуральної рідини, для розділення компонентів застосовують різні методи — зокрема фільтрування, центрифугування, сепарацію, а в окремих випадках — флотацію (Crespo, 2017).

Фільтрування — це процес, під час якого тверда та рідка фази розділяються шляхом проходження суспензії через пористу перегородку (фільтрувальний матеріал). У біотехнологічному виробництві, коли основний продукт — це метаболіт, розчинений у рідкій фазі, для видалення мікробної біомаси найчастіше застосовують саме фільтраційний метод (Crespo, 2017).

Переваги процесу фільтрування (Coviello et al., 2014):

– Простота реалізації, не потребує дорогого обладнання - підходить для стерильного фільтрування культуральної рідини через мембрани або фільтри.

– Менше механічного навантаження на клітини - використовують при роботі зі штамами, що не витримують тиск, який виникає при центрифугуванні.

– Можливість забезпечення асептичності процесу.

Недоліки процесу фільтрування:

Залежить від мембранної пропускної здатності — при великих об’ємах фільтрація може бути тривалою, фільтр засмічується, знижуючи ефективність.

Якщо культура має високу в’язкість, ефективність також знижується — частина клітин залишається у фільтраті або забиває фільтрувальний елемент (Crespo, 2017).

Центрифугування — це метод поділу неоднорідних рідких систем за допомогою відцентрової сили. У галузі мікробіологічного виробництва цей спосіб активно застосовується для відокремлення суспензій на тверду фазу (що включає мікроорганізми, ферменти, амінокислоти чи інші продукти біосинтезу в аморфній або кристалічній формі) та рідку фазу (Constantin et al., 2014).

Залежно від характеристик дисперсної системи, процес центрифугування може здійснюватися шляхом відцентрового фільтрування або осадження частинок під дією відцентрових сил.

Серед основних недоліків центрифугування — можливе пошкодження клітин через дію відцентрового прискорення, а також перегрів апаратів під час тривалої роботи. Водночас, до переваг цього методу належать висока ефективність вилучення осаду та компактність обладнання, що дозволяє його використання як у лабораторних, так і в промислових умовах (Constantin et al., 2014).

Враховуючи вищезазначену інформацію, для відділення біомаси доцільно використовувати процес центрифугування, оскільки він забезпечує швидке та достатньо повне осадження клітин з великого об’єму культуральної рідини й дозволяє отримати концентровану біомасу для подальшого руйнування. У роботі осадження клітин *L. acidophilus* ATCC 33198 проводили при відцентровому прискоренні 4000 g протягом 20 хв при 4°C. У промислових умовах такому відцентровому прискоренню відповідає швидкість 1200-1500 об/хв, тому далі в розрахунках будемо використовувати значення 1500 об/хв при 4°C як робочий режим.

Руйнування клітин

Клітинний осад ресуспендують у фосфатно-сольовому буфері для отримання концентрації клітин 10^8 КУО /мл. Після цього проводять руйнування клітин (Salazar & Asenjo, 2007).

Для руйнування клітин застосовують фізичні, хімічні та ферментативні методи, однак у промисловій біотехнології найбільшого поширення набули фізичні способи дезінтеграції. Серед них виділяють такі (Kapustian & Cherno, 2018):

1) Ультразвуковий вплив — базується на ефекті кавітації, що виникає при дії ультразвукових хвиль високої інтенсивності.

2) Дезінтегратори лопаткового чи вібраційного типу — ефективні в умовах пілотного або промислового виробництва для руйнування бактеріальних клітин.

3) Інтенсивне струшування зі скляними або керамічними кульками — забезпечує механічне пошкодження клітинної оболонки.

4) Гідродинамічне руйнування — здійснюється шляхом проштовхування суспензії через вузькі канали під високим тиском.

5) Роздавлювання попередньо замороженого матеріалу — сприяє механічному подрібненню через утворення кристалів льоду.

6) Розтирання в спеціальних ступках — механічний метод, ефективний у лабораторних умовах.

7) Осмотичний шок — використовується для руйнування клітин шляхом зміни осмотичного тиску середовища.

8) Багаторазове заморожування та відтаювання — поступово руйнує клітини через утворення та розчинення кристалів.

9) Декомпресійний метод — полягає у стисненні суспензії, за яким слідує різке зниження тиску, що спричиняє розрив клітин (Kapustian & Cherno, 2018).

Фізичні методи дезінтеграції клітин вважаються більш економічно вигідними порівняно з хімічними чи ферментативними способами. Проте вони не мають вибірковості дії, тому можуть негативно впливати на стабільність і функціональні властивості цільових продуктів, особливо білків та ферментів. Для

більш делікатного та вибіркового руйнування клітинної оболонки доцільно використовувати хімічні або ферментативні методи.

Беручи до уваги, що фізичні методи руйнування клітин є найбільш поширеними, вкрай ефективними та технологічно зручними, будемо проводити дезінтеграцію при тиску 1200 бар і температурі 4 °C за допомогою безперервоного дезінтегратора клітин високого тиску. У промислових умовах такий режим може бути реалізований на установці типу High Flow Rate Cell Disruptor (Constant Systems, Велика Британія), яка забезпечує надвисокий тиск і потрібну продуктивність (Torabi et al., 2025).

Видалення залишків клітин

Після дезінтеграції можуть залишатись незруйновані клітини, які необхідно відділити. Тому будемо проводити центрифугування утвореної суспензії при 1500 об/хв протягом 20 хв за температури 4 °C для видалення будь-яких залишків цілих клітин (Jung Ye-On et al., 2019).

Висушування

Оскільки у статті, технологію з якої було взято за основу, не наведено режим ліофілізації лізату, для коректного підбору діапазону температур і тривалості (Vinderola et al., 2025), слід розглянути інші наукові статті з сучасних інформаційних джерел. Суспензію спочатку заморожували при 35°C 24 год, далі сушили при близько −80 °C за тиску ≈5 мбар. Заморожування при −40 °C 24 год і подальше сушіння при −50 °C 24 год. У цій роботі режими добирали для збереження життєздатності клітин, тоді як у нашому випадку кінцевим продуктом є лізат (неживий постбіотичний матеріал). Тому наведені параметри використовуються лише як орієнтир діапазонів, а цільові критерії якості відрізняються (стабільність лізату, залишкова волога, сипучість тощо).

З урахуванням того, що ми отримуємо суху субстанцію лізату (а не готову ЛФ), технологічно доцільним є ліофільнесушіння в піддонах або на полицях, а не у флаконах. Такий підхід є типовим для промислових мікробних субстанцій і

дозволяє сформувати суцільний шар продукту, який після сушіння подрібнюють до однорідного порошку для подальшого використання.

Отже, приймаємо такий узагальнений режим ліофілізації лізату *L. acidophilus* ATCC 33198:

– Попереднє заморожування тонкого шару лізату на піддонах при температурі близько –40 °C до повного промерзання (орієнтовно 24 год), за аналогією з;

– Первинне сушіння при низькій температурі полиць (приб. - 50 °C) у вакуумі до завершення сублімації лід-фази (контроль за масою/ Т-сенсорами шару).

– Вторинне сушіння (за потреби) для доведення залишкової вологи до цільового рівня порошкової субстанції (типово ≤1–5 %, межу встановлюють у специфікації на субстанцію).

Після завершення сушіння лізату знімають з полиць, подрібнюють та просівають до однорідного гранулометричного складу. Отриманий порошок розглядається як активна мікробна субстанція, придатна для подальшого формуванян твердих лікарських форм, конкретні допоміжні речовини та параметри грануляції визначаються на етапі фармацевтичної розробки ЛФ і не є предметом цього розділу.

Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях

Вихідні дані:

– об’єм культуральної рідини з однієї ферментації - $V_{кр}$ = 60 л;

– концентрація біомаси (сухої речовини клітин *L. acidophilus* ATCC 33198) у культуральній рідині прийнята $C_{пр}$ = 7,2 г/л (7,2 кг/м^3);

– на виході з культуральної рідини цільовим продуктом є біомаса, яка на наступних стадіях піддається руйнуванню й переходить у лізат;

– за даними розділу 1, втрати продукту в ході виділення та очищення складають 20 % (по 5 % на кожній стадії: відділення клітин центрифугуванням,

руйнування клітин, повторне центрифугування для відділення домішок, ліофілізація);

— з 60 л культуральної рідини отримують 0,423 кг сухої біомаси, що відповідає приблизно 2,7 кг осаду з урахуванням 90 % вологості;

— кінцева кількість висушеної субстанції лізату (з урахуванням сумарних втрат 20 %) повинна становити 2,16 кг.

Розподіл втрат по стадіях отримання висушеного лізату та підбір відповідного обладнання наведено в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Підбір технологічного обладнання з урахуванням матеріальних потоків по стадіях

Назва стадії (операції)	Матеріальні потоки на стадії	Кількість по стадіях			Необхідне обладнання
		Надійшло	Втрати, (Разом 20%)	Вийшло	
2	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
Етапи виробництва субстанції лізату *L. acidophilus* АТСС 33198					
Відділення клітин					
Центрифугування культуральної рідини	Культуральна рідина	60 л (0,06 м^3)	Біомаса	2,57 кг	Збірник культуральної рідини, об'ємом 100 л.
		0,27 кг (0,06×4,6)-АСБ, з урахуванням 90% вологості 2,7 кг	Супернатант	57,3 л	Промислова центрифуга, об'єм барабану 90 л; 4000 об/хв.
		57,3 л (60-2,7)	Втрати	0,13 кг (5%)	На утилізацію
Руйнування клітин					
Дезінтеграція клітин	Біомаса	2,57 кг	Дезінтегрована біомаса	2,45 кг	Дезінтегратор клітин надвисокого тиску
		-	0,12 кг (5%)		

Закінчення Таблиці 3.1

Видалення залишків клітин					
Центрифугування суспензії	Дезінтегрована біомаса	2,45 кг	-	-	Промислова центрифуга, об’єм барабану 90 л; 4000 об/хв.
		0,05 кг	Залишкові клітини	0,05 кг	На утилізацію
		2,4 л	Лізат	2,27 л	(передається на стадію ліофілізації)
Висушування					
Ліофілізація лізату на піддонах	Лізат	2,27 л	Висушена субстанція лізату	0,216 кг	Ліофільна сушарка
		-	0,011 кг (5%)		- (передається на склад як порошкова субстанція лізату)

3.2. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ БАКТЕРІАЛЬНОГО ЛІЗАТУ З ОНКОПРОТЕКТОРНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ

Таблиця 3.2

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
З-1	Збірник культуральної рідини	1	Реактор об’ємом 100 л. Вертикальна зварна посудина з еліптичним днищем та еліптичною відокремленою кришкою, оснащена сорочкою. Діаметр внутрішній 500 мм. Матеріали: сталь AISI 316L, сталь AISI 304; фторопласт Ф-4, тефлон, силікон. Встановлена лопатева (відкритого типу) мішалка з двома знімними роторами, швидкість роботи 0-900 об/хв. Компанія: Промвіт (Україна).
Н-2 Н-5 Н-7 Н-10 Н-14	Насос	5	Пневматичний мембранний насос. Багатошарові мембрани мають гладку поверхню, що усуває проблеми, пов'язані з ростом мікроорганізмів. Мембрани виготовляються з харчового матеріалу - чистого TFM (PTFE). Системи очищення на місці (CIP) і стерилізації на місці (SIP) призначені для автоматичного очищення та дезінфекції без істотного демонтажу насоса. Продуктивність: до 850 л/хв. Температура: до +120°C. Тиск: до 8 бар. Матеріали: нержавіюча сталь AISI 316L. Компанія: АСКО ПАМПС (Україна).
Ц-3 Ц-8 Ц-12	Центрифуга	3	Промислова герметична центрифуга з верхнім розвантаженням L(P)B-800. Об’єм барабану 90 л. Завантажувальна місткість 135 кг. Режим центрифугування (швидкість обертання) 4000 об/хв. Компанія: Henan Msen Machinery Co., Ltd. (Китай).

Продовження Таблиці 3.2

Апарат 6	Промивний ємнісний апарат для суспендування біомаси	1	Промивний ємнісний апарат для промивання осаду клітин фосфатно-сольовим буфером PBS перед повторним центрифугуванням. Вертикальна циліндрична ємність об’ємом 10–20 л з конічним днищем, оснащена мішалкою (100–300 об/хв), сорочкою для охолодження (робоча температура 4 ± 2 °C) та штуцерами для підведення буфера й відведення суспензії. Матеріал — нержавіюча сталь AISI 316L, внутрішні поверхні полірувані, конструкція придатна до CIP/SIP-обробки. Компанія: Bram-Cor (Італія).
З-4	Збірник для ресуспендування	1	Скляний реактор із сорочкою S212-10L об'ємом 10 літрів. Має широкий діапазон температурних операцій, від -120 °C до 300°C. Швидкість обертання мішалки 0-680 об/хв. Виконаний з боросилікатного скла. Компанія: Титан Технікс (Україна). Об’єм 10 л є достатнім для ресуспендування біомаси, отриманої з однієї ферментації (2,7 кг вологого осаду), у необхідному об’ємі буфера до концентрації 10^8 КУО/мл, тому даний реактор є технологічно доцільним для цієї стадії.
З-9 З-13	Проміжний збірник (для лізату)	2	Герметична вертикальна ємність для тимчасового зберігання суспензії лізату після дезінтегратора Д-6. Об’єм 10–20 л, матеріал – нержавіюча сталь AISI 316L, внутрішня поверхня електрополірувана, придатна до CIP/SIP-обробки. Є сорочка для охолодження (4–8 °C) та якірна мішалка зі змінною швидкістю 50–200 об/хв. Компанія: Bram-Cor (Італія).

Продовження Таблиці 3.2

Д-11	Дезінтегратор клітин	1	Дезінтегратор клітин з високою швидкістю потоку. Продуктивність до 150 л/год, оброблює 2 л/хв. Тиск розриву встановлюється та відображається цифровим способом, стандартне значення досягає 40 кПа (~2700 бар). Надвисокий тиск забезпечує руйнування клітин із виходом > 95 % за один прохід. Підходить для обробки різноманітних клітин – дріжджі, бактерії, водорості. Компанія: Constant Systems Limited (Велика Британія).
ЛС-15	Ліофільна сушарка	1	Ліофільна сушарка Vikumer FD-1 для харчової, медичної, біофармацевтичної та хімічної промисловості. Площа полиці: 2,16-3,24 м^2. Температура конденсатора: -85°С. Місткість конденсатора: 30 кг. Кількість полиць: від 4 до 6. Розмір полиці 600*900 мм. Відстань між полицями 50-100 мм. Температура полиці: від -55°С до +70°С. Температура конденсатора -85°С.Залишковий вакуум 0,01 мБар. Виконана з нержавіючої сталі S/S304 та S/S316L. Встановлена система автоматизації. Компанія: Vekuma Machinery Co.,Ltd. (Китай).
Є-16	Ємність /внутрішній лайнер для сухої субстанції лізату	1	Одноразовий поліетиленовий лайнер (вкладиш) для внутрішньої футеровки металевої тари, призначений для збору та тимчасового зберігання ліофілізованого лізату. Виготовлений із харчового поліетилену, стійкий до розривів, забезпечує бар'єр від вологи й перехресної контамінації та зменшує потребу в митті основної тари. Об'єм заповнення 5–20 кг субстанції. Компанія: ILC Dover (США).

Закінчення таблиці 3.2

М-17	Порошковий подрібнювач	1	Роторно-ударний млин для подрібнення сухих порошків до середнього розміру частинок близько 50–250 мкм. Продуктивність до 20 кг/год (невеликі серії), частота обертання ротора 3000–6000 об/хв. Контактні частини з нержавіючої сталі AISI 316L, млин придатний до CIP-миття, оснащений змінними сітками для регулювання гранулометричного складу. Компанія: Frewitt Fabrique de Machines SA (Швейцарія).
Сіт-18	Ситовий просіювач	1	Компактне вібраційне сито для просіювання сухих фармацевтичних порошків, видалення надлишково крупної фракції та сторонніх включень. Діаметр робочого сита 400–600 мм, робоча частота вібрації до ~1500 об/хв, можливість встановлення декількох сит з розмірами комірок 100–250 мкм. Усі контактні частини виконані з нержавіючої сталі AISI 316L, конструкція швидкого розбирання, що полегшує очищення. Компанія: Russell Finex (Велика Британія).
ПК-19	Фасувальний апарат для порошкової субстанції	1	Автоматична фасувально-пакувальна машина з шнековим дозатором для наповнення сухої субстанції лізату у герметичні пакети/контейнери. Діапазон дозування 10–500 г, похибка дозування не більше ±1–2 %. Оснащена PLC-системою керування, панеллю оператора HMI, можлива часткова вакуумна упаковка або продувка інертним газом. Контактні частини виконані з AISI 316L, придатні до санітарної обробки. Компанія: Anyang Gaokang Medical Co., Ltd. (Китай).

4. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ БАКТЕРІАЛЬНОГО ЛІЗАТУ З ОНКОПРОТЕКТОРНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ

ТП 1. Відділення клітин

ТП 1.1. Центрифугування культуральної рідини

Зі збірника З-1 культуральну рідину пневматичним мембранним насосом Н-2 по закритій магістралі перекачують до промислової центрифуги Ц-3. Здійснюють центрифугування в режимі обертання 4000 об/хв, температурі 4°С протягом 20 хв. По закінченню процесу центрифугування зверху відкривають центрифугу Ц-3 та вивантажують відділену біомасу. Утворений супернатант направляють на знешкодження.

ТП 2. Промивання біомаси

ТП 2.1. Промивання фосфатно-сольовим буфером

Осад біомаси після ТП 1.1 переносять із Ц-3 у промивний ємнісний апарат (апарат 6 апаратурної схеми, закрита ємність з мішалкою). Додають стерильний фосфатно-сольовий буфер (на 1 л; pH 7,2-7,4 при 25**°С)**, який готують у буферному резервуарі З-4 на воді очищеній. Після приготування буфер стерилізують фільтруванням через мембранний фільтр 0,22 мкм ііз закритої З-4 асептичною магістраллю за допомогою мембранний насос Н-5 подають безпосередньо в апарат промивання апарат 6. Робочу температуру буфер підтримують **4 ± 2 °С**.

Склад PBS на 1 л: NaCl — 137 ммоль/л (~8,0 г); KCl — 2,7 ммоль/л (~0,20 г); Na_2HPO_4 — 10 ммоль/л (~1,42 г безводної солі або ~1,78 г·$7H_2O$); KH_2PO_4 — 1,8 ммоль/л (~0,24 г). pH коригують стерильними розчинами NaOH / H_3PO_4 за потреби.

Промивання біомаси здійснюють саме у промивному апараті 6: на кожний цикл до осаду біомаси додають 5–10 мл PBS на 1 г вологого осаду, ресуспендують 1–3 хв при 100–150 об/хв до однорідності. Отриману суспензію з апарата 6 подають на центрифугування у Ц-3, де проводять розділення фаз при ≈1500 об/хв, 4 ± 2 °С протягом 20 хв. Супернатант після кожного циклу відводять на знешкодження, а осад біомаси повертають у промивний апарат 6 для наступного промивання. Після третього циклу промивання осад із Ц-3 вивантажують і направляють на стадію ресуспендування до заданої концентрації (ТП 3.1).

ТП 3. Ресуспендування

ТП 3.1. Ресуспендування біомаси до заданої концентрації

З Ц-3 до збірника З-4 через закриту магістраль або вручну в чистій зоні вносять біомасу. За допомогою мірника відмірюють та вносять фосфатно-сольовий буфер у такому об’ємі, щоб досягти цільової концентрації 10^8 КУО/мл (фактичний об’єм буфера визначають за вихідним титром та масою/ об’ємом осаду). За потреби додаткову кількість PBS також готують у З-4 на воді очищеній та стерилізують шляхом фільтрування через мембранний фільтр 0,22 мкм.

Вмикають мішалку збірника З-4 та суспендують біомасу в режимі 100–150 об/хв протягом 15 хв за температури 4 ± 2 °С до однорідності. В кінці процесу суспензію за допомогою пневматичного мембранного насоса Н-5 перекачують до дезінтегратора клітин Д-11.

ТП 4. Руйнування клітин

ТП 4.1. Дезінтеграція клітин

Суспензію з *ТП-3.1* подають на дезінтегратор високого тиску Д-11. Проводять дезінтеграцію при тиску 1200 бар, температурі 4 °С. Суспензію проганяють через робочий вузол 2-3 рази до досягнення цільового ступеня лізису (контроль за потреби: відсутність цілих клітин при мікроскопії; зростання вмісту розчинених білків у надосадовій рідині (супернатанті) після тестового центрифугування).

Після дезінтеграції отриману суспензію лізату у стерильних умовах з виходу Д-11 перекачують тим самим насососм Н-5 у проміжний герметичний збірник З-13 (≤ 8 °С). Із З-13 матеріал направляють на ТП-5.1 (центрифугування для видалення залишків цілих клітин/домішок)**.**

ТП 5. Видалення залишків клітин

ТП 5.1. Центрифугування суспензії лізату

Суспензію лізату з виходу дезінтегратора Д-11 через насос Н-5 подають у центрифугу Ц-8. Проводять центрифугування за режимом 4000 об/хв, 4ºС, 20 хв. Після центрифугування верхню фазу (супернатант, тобто розчин лізату) обережно відбирають і зливають у збірник З-13 для подальших операцій; осад (залишки цілих клітин/механічні домішки) видаляють на утилізацію/знешкодження.

Отриманий лізат у збірнику З-13 направляють до ТП-6 (ліофільне сушіння на полицях/піддонах у ЛС-15).

ТП 6. Висушування

ТП 6.1. Ліофілізація лізату

Лізати подають із проміжного збірника З-13 у ліофільну сушарку ЛС-15 по закритій асептичній магістралі через насос Н-5 на полиці/піддони сушарки; за відсутності жорсткого стикування допускається перенесення у герметичних контейнерах із подальшим наливом у камері сушарки під умовами чистоти. Товщину шару встановлюють на рівні ≈ 3-8 мм для забезпечення відтворювання кінетики сушіння. Рекомендований узагальнений режим (орієнтир для сухої субстанції лізату): попереднє замороження шару до ~ 40 ºС до повного промерзання (орієнтовно до 24 год), далі здійснюють сушіння у вакуумі з поступовим підвищенням температури полиць до завершення сублімації (контроль за масою/температурними датчиками шару та зближення показників Pirani/ємнісного манометра) до досягнення цільової залишкової вологи порошкової субстанції (типово ≤ 1–5 %**,** конкретну межу встановлюють у специфікації субстанції). Після

завершення сушіння камеру розгерметизують інертним газом, висушений шар знімають і передають на подрібнення, просіювання та пакування.

ТП 7. Отримання готового продукту

ТП 7.1. Зняття висушеного шару

У чистих умовах дільниця для нестерильних АФІ висушений лізат акуратно знімають із полиць/піддонів ліофільної сушарки ЛС-15 та одразу, через закритий приймальний лоток, пересипають у внутрішній лайнер герметичного контейнера Є-16. Працюють за зниженої вологості повітря (RH ≤ 30 %) й температури ≤ 25 °C, використовуючи антистатичні скребки/лопатки; уникають зволоження та злежування порошку. Контейнер Є-16 закривають і подають на подрібнення.

ТП 7.2. Подрібнення

Сухий матеріал подрібнюють до однорідного стану в млині М-17 (піновий/ножовий/ударний тип, вибір згідно зі специфікацією обладнання), запобігаючи перегріванню продукту (контроль температури продукту ≤ 30 °C; за потреби — продувка інертним газом). Порошок після подрібнення збирають у Є-16. Ціль — отримати гранулометрію, придатну для подальшого просіювання та формуляції.

ТП 7.3. Просіювання

Порошок просіюють на віброситі Сіт-18 до цільової фракції (розмір чарунок сит — згідно зі специфікацією субстанції; типово 200–400 μm). Надлишково крупну фракцію повертають на повторне подрібнення в М-17. Після досягнення однорідної фракції партію за потреби коротко гомогенізують у тому ж закритому контейнері (3–5 хв) і відбирають зразки на контроль вологості та гранулометрії.

ТП 7.4. Пакування/маркування

Отримання Субстанцію пакують на пакувальній станції ПК-19 у герметичну багатошарову тару **з** внутрішнім лайнером та мінімальним доступом вологи; допускається часткове вакуумування або заміщення повітря інертним газом. На етикетку наносять: назву АФІ, номер партії, масу нетто, дату виготовлення, умови зберігання, термін придатності/переперевірки, показники специфікації (у т.ч.

залишкова волога, гранулометрія). Призначення субстанції — подальше виготовлення твердих лікарських форм (таблетки/капсули/порошки)**;** стерильність не вимагається, мікробіологічні ліміти — згідно зі специфікацією на субстанцію.

5. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ СУПОЗИТОРІЇВ РЕКТАЛЬНИХ З ОНКОПРОТЕКТОРНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ

5.1. Обґрунтування вибору форми випуску препарату з онкопротекторними властивостями

Вибір супозиторіїв як лікарської форми для профілактики колоректального раку (КРР) може бути обґрунтований кількома ключовими перевагами, особливо в контексті хіміопрофілактики, лікування запальних захворювань кишечника (ЗЗК), що підвищують ризик КРР, або локальної доставки препаратів.

Супозиторії забезпечують пряму доставку активної речовини до слизової оболонки прямої кишки та дистальної частини товстої кишки, де часто розвивається КРР. Це дозволяє досягти високої локальної концентрації препарату, що є критичним для профілактики, наприклад, у пацієнтів з виразковим колітом (ВК) або сімейним аденоматозним поліпозом (ФАП), де запалення або поліпи підвищують ризик раку. На відміну від пероральних форм, супозиторії мінімізують розбавлення препарату в шлунково-кишковому тракті, забезпечуючи більш ефективну профілактичну місцеву дію. Дослідження показують, що така форма ефективна для препаратів на кшталт мезаламіну, який знижує ризик КРР у пацієнтів з ЗЗК шляхом зменшення запалення в дистальному відділі кишечника (Lyakhovsky et al., 2022; Velayos et al., 2019).

Ректальне застосування обходить печінковий метаболізм (first-pass effect), що підвищує біодоступність препаратів і зменшує їхню системну токсичність. Це особливо важливо для антиракових або профілактичних сполук, які можуть викликати побічні ефекти (наприклад, гастроінтестинальні ускладнення або гепатотоксичність) при пероральному прийомі. У моделях на мишах супозиторії продемонстрували більшу ефективність у зменшенні об'єму пухлин порівняно з оральним шляхом, з меншою загальною токсичністю. Для профілактики це означає

можливість тривалого використання з меншим ризиком для всього організму, що робить супозиторії привабливою опцією для хронічної хіміопрофілактики (Bartoli et al., 2021; De Bruijn et al., 2023).

В нашому випадку бактеріальний лізат буде піддаватись дії шлункового соку та травних ферментів, що є неприпустимим.

Сучасні супозиторії (наприклад, на основі плюроніків або термо-чутливих гелів) дозволяють контрольоване вивільнення активної речовини протягом тривалого часу, що ідеально для профілактики, де потрібна постійна експозиція. Це може включати стійке вивільнення діючої речовини для пригнічення росту аденом або запобігання рецидивам. Дослідження вказують, що такі форми зменшують токсичність антиракових препаратів і забезпечують стабільну дію в ректальній зоні, сприяючи профілактиці КРР. Наприклад, супозиторії з оксаліплатином або іринотеканом у клінічних випробуваннях показали потенціал для локальної хіміотерапії, що може бути адаптовано для профілактики (Kim et al., 2020; Seo et al., 2024).

Супозиторії дозволяють самостійне введення без болю, що покращує дотримання режиму лікування (комплаєнс), особливо для довготривалої профілактики. Вони корисні для пацієнтів з проблемами ковтання, нудотою або іншими гастроінтестинальними розладами, які ускладнюють пероральний прийом. Загальна біодоступність сягає 97 % у дослідженнях ректальних форм для гемороїдальних станів, що може екстраполюватися на профілактику КРР. Крім того, ректальна слизова має низьку ферментативну активність, що робить форму стабільною для препаратів, чутливих до шлункового середовища (Coenen et al., 2019; López-Sanromán et al., 2021).

5.2. Обґрунтування умов забезпечення виготовлення супозиторіїв ректальних з онкопротекторними властивостями

Супозиторії – тверді при кімнатній температурі і розчинні при температурі тіла дозовані лікарські форми, призначені для введення у порожнини тіла.

З точки зору фізико-хімічної науки супозиторії розглядають як дисперсні системи, які складаються із дисперсійного середовища, що являє собою основу, а також дисперсійної фази в ролі якої виступають лікарські речовини. В залежності від властивостей лікарських засобів супозиторії можуть складати різні дисперсні системи (Тихонов et al., 2003).

Загальна властивість супозиторіїв – їх здатність при кімнатній температурі знаходитись у стані твердих тіл, а при температурі тіла перетворюватись в рідину, що має важливе значення в медичному застосуванні даної лікарської форми. Твердість супозиторіїв дає можливість подолати рефлекторну протидію м'язів та тканин, а рідка консистенція в порожнинах тіла – рівномірно розподілити по слизистій лікарські засоби, що здійснюють на організм як місцеву (локальну), так і резорбтивну (системну) дію.

Останніми роками значно збільшився промисловий випуск названої лікарської форми, що обумовлено їх значними перевагами порівняно з іншими. Супозиторії можна застосовувати в разі невідкладної швидкої допомоги, оскільки фармакологічний ефект проявляється значно швидше, ніж у пероральних лікарських форм. Це пов'язано із швидким всмоктуванням лікарського засобу в товстому кишечнику і попаданням його в кров'яне русло, минаючи печінку, через середні і нижні гемороїдальні вени.

За часом дії супозиторії наближаються до ін'єкційних препаратів, але їх введення не руйнує цілісність шкіряного покрову. Крім того, ректальне застосування ліків дуже часто дає можливість знизити одноразову дозу за рахунок пролонгованого вивільнення їх із супозиторіїв. Багато лікарських засобів при пероральному введенні інактивуються ферментами травних соків, що може здійснювати негативну дію на шлунково-кишковий тракт і печінку, - цих недоліків позбавлені ректальні лікарські форми (Державна Фармакопея України, 2014).

Обґрунтування способу виготовлення супозиторіїв

Супозиторії у промисловому виробництві виготовляють двома методами:

- виливанням розплавленої маси у форми;

- пресуванням на спеціальному обладнанні.

Також, при виробництві супозиторіїв у малих масштабах застосовують метод викочування, який часто застосовується в аптечній практиці. Даний спосіб трудомісткий, малогігієнічний, а отримані супозиторії неоднорідні за зовнішнім виглядом. В якості упаковки для супозиторіїв використовують вощені капсули (Тихонов & Ярних, 2005). Для даної технології метод викочування непридатний через малу продуктивність і неможливість автоматизації виробництва.

Виробництво супозиторіїв методом пресування. Цим способом готують супозиторії з пластичних мас на жирових основах. Маси з водорозчинними основами через високу пружність пресуванню не піддаються.

Для виготовлення супозиторіїв методом пресування використовують супозиторний прес або переобладнані таблетуючі машини, матриця яких роз'ємна або має форму свічки (Тихонов & Ярних, 2005).

Готовою супозиторною масою заповнюють порожнину преса, за допомогою поршня масу подають в матрицю, що має форму супозиторія. Приготування таких супозиторіїв ґрунтується на перетворенні жирових супозиторних мас в форму порошку, що дозволяє йому вільно висипатися з завантажувальної воронки і формувати супозиторії, подібно таблеткам, методом пресування, використовуючи матриці і пуансони відповідної форми. Для досягнення точності дозування, сипучості з завантажувального бункера, супозиторну масу охолоджують в холодильній камері до температури 3–5 °С, подрібнюють і просівають через сито. Для поліпшення технологічних властивостей в масу вводять розріджувачі (лактозу, сахарозу, аеросил) в кількості 10 - 20%, ковзні речовини - крохмаль і аеросил (до 3-5%).

Метод швидкий, гігієнічний, зручний, готові супозиторії мають гарний товарний вигляд.

Метод пресування є особливо придатним у виробництві супозиторіїв із серцевими глікозидами, деякими термолабільними гормональними препаратами,

біогенними стимуляторами, тому що в процесі приготування забезпечується висока точність дозування, термостабільність лікарських речовин (Зупанець et al., 2013).

Недоцільність застосування даного методу полягає у тому, що у процесі пресування можливе розшарування супозиторної маси, а отже і неоднорідне розподілення речовин у готовому препараті. Даний недолік є суттєвим при виробництві супозиторіїв, у зв'язку з тим, що як засіб місцевої дії, препарат повинен містити точно дозовану кількість діючої речовини.

При зниженій концентрації активних компонентів не буде виявлятися терапевтичний ефект при застосуванні. У випадку з підвищенням концентрації діючої речовини у готовому препараті, можлива поява алергічних реакцій, гіперчутливості і навіть розвиток анафілактичного шоку, що пов'язано з прямим всмоктуванням компонентів лікарського засобу в кров. Також при пресуванні спостерігаються значні втрати сировини у зв'язку з налипанням супозиторної маси на пуансони і матриці. Після даної стадії виникає необхідність у встановленні додаткового обладнання для пакування і маркування, що робить технологічний процес складнішим, а апаратурну схему виробництва громіздкою.

Недоліки:

- велика кількість технологічних операцій;
- неоднорідність складу супозиторіїв;
- значні втрати сировини.

Виробництво супозиторіїв методом виливання. Основним методом отримання супозиторіїв в промисловому виробництві є виливання у форми. Процес виробництва супозиторіїв складається з наступних стадій:

1. підготовка основи;
2. введення лікарських речовин та отримання супозиторної маси;
3. дозування і формування супозиторіїв;
4. упаковка.

До переваг методу виливання слід віднести:

- повна автоматизація процесу;

- мінімальні втрати при виробництві;
- висока продуктивність;
- висока точність дозування;
- однорідність складу продукту;
- немає потреби у використанні складного обладнання і великої кількості персоналу (Тихонов & Ярних, 2005).

Отже, проаналізувавши усі можливі способи отримання супозиторіїв і дослідивши їх переваги і недоліки можна зробити висновок, що для виробництва препарату для профілактики колоректального раку оптимальною технологією є застосування методу виливання, який забезпечить вихід максимально якісної продукції з мінімальними затратами.

Обґрунтування складу супозиторіїв ректальних

Для створення ректальних супозиторіїв необхідно провести вибір супозиторної основи. Всі основи, які використовують для отримання ректальних лікарських форм, повинні мати такі властивості:

1. бути достатньо твердими при кімнатній температурі й плавитись (або розчинятись) при температурі не вище 37 °С, тобто повинні мати здатність різко переходити від твердого стану до рідкого, оминаючи стадію розм'якшення;
2. володіти достатньою в'язкістю, відсутністю запаху, забезпечувати максимальний контакт між лікарськими речовинами і слизовою оболонкою;
3. бути хімічно- та фармакологічно індиферентними;
4. не мати подразнювальної дії;
5. не змінюватись під дією зовнішніх факторів (світла, тепла, вологи, кисню, мікроорганізмів тощо);
6. легко приймати відповідну форму, змішуватись з можливо більшою кількістю лікарських речовин, які не взаємодіють з ними (Державна Фармакопея України, 2014).

За дисперсологічною класифікацією ректальні супозиторії з ібупрофеном – однодозові тверді лікарські засоби (ТЛЗ), які є дисперсною системою, що

складається з дисперсійного середовища (основи) і дисперсійної фази (ібупрофену) в твердому стані, рівномірно розподіленої в дисперсійному середовищі.

Порядок введення бактеріального лізату до супозиторної основи залежить від:

– характеру основи;

– кількості активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) та їх фізико-хімічних властивостей (Moffett et al., 2019).

При розробці ректальних супозиторіїв слід враховувати анатомічний стан слизової оболонки і біохімічний склад рідини прямої кишки. Знання даних фізіологічних параметрів допоможуть спрогнозувати вибір допоміжних речовин в аспекті їх вивільнення, і можливих механізмів прояву терапевтичної дії (Зупанець et al., 2013).

Таким чином, вибір основи завжди індивідуальний і ґрунтується на фізико-хімічних властивостях діючої речовини (розчинність, logP, pKa), необхідному терапевтичному ефекті (швидкий чи пролонгований), шляху введення та вимогах до стабільності. У промисловій практиці частіше залишаються напівсинтетичні гліцериди та композиції поліетиленгліколів, тоді як нове покоління емульсійних і гідрогелевих основ відкриває можливості для створення супозиторіїв з оптимальним фармакокінетичним профілем навіть для найскладніших субстанцій (Polovko et al., 2017).

Супозиторії як лікарська форма вимагають ретельного підбору як активних, так і допоміжних речовин для забезпечення стабільності, біодоступності, відсутності подразнення слизових оболонок та пролонгованої дії.

Аскорбінова кислота (вітамін С), натрію аскорбат, ацетат α-токоферолу (вітамін Е ацетат) та динатрію едетат дигідрат (EDTA) часто включаються до складу супозиторіїв як антиоксиданти, стабілізатори та хелатуючі агенти, особливо в препаратах для ректального застосування, де окиснення компонентів може призводити до деградації та втрати ефективності (Зупанець et al., 2013).

В своїй технології ми пропонуємо як основу використовувати кондитерський жир та масло какао, а також аскорбінову кислоту, натрію аскорбінат, ацетат α-токоферолу та динатрію едетату дигідрат як допоміжні речовини.

Обґрунтування способу приготування основи

На початковому етапі виробництва готують до роботи реактори, різноманітні ємкості, збірники, насоси та інше обладнання шляхом ретельної обробки водою з мийними засобами, ополіскуванням і сушінням. Проводять санітарну обробку приміщень і підготовку робочого персоналу (Дмитрієвський, 2008).

Важливим компонентом супозиторіїв являється основа, оскільки вона є носієм лікарських речовин і забезпечує об’єм і потрібні фізико-технологічні властивості супозиторіїв.

До супозиторних основ висувається ряд вимог:

- вони повинні зберігати достатню твердість при кімнатній температурі;
- температура плавлення або розчинення повинна бути близькою до температури тіла людини;
- не повинні подразнювати слизисту прямої кишки або викликати інші небажані явища, тобто повинні бути фізіологічно індиферентними;
- не повинні перешкоджати вивільненню і терапевтичній дії лікарського засобу;
- не повинні взаємодіяти з лікарськими засобами, які вводяться в супозиторну основу (Державна Фармакопея України, 2014–2015).

Із вказаними загальними вимогами тісно пов’язані і технологічні вимоги до основ. До них відносяться:

- хімічна і фізична стабільність основи в процесі виготовлення і зберігання супозиторіїв;
- здатність легко формуватися і зберігати необхідну твердість при введенні;
- здатність емульгувати необхідну кількість розчинів;

- мати певну пластичність, в’язкість, час деформації, певні структурно-механічні властивості (Дмитрієвський, 2008).

Основою для приготування супозиторіїв для профілактики колоректального раку є кондитерський жир та масло какао. Дані речовини відносяться до ліпофільних основ.

Стадія приготування супозиторної основи складається із плавлення компонентів та фільтрування.

Одним з визначальних факторів в технології супозиторіїв, що виготовляються методом виливання і який підлягає суворому контролю в процесі їх виробництва є температура. Це пов’язано з тим, що плавлення супозиторної основи є обов’язковим елементом одержання гомогенної маси і фактором, який забезпечує однорідність дозування супозиторіїв. Тому для кожного конкретного складу супозиторіїв потрібно обґрунтувати температурний режим виготовлення супозиторної маси та її розливу. Верхня межа цієї температури повинна бути нижчою від температури розкладання самого чутливого (до температури) інгредієнта, а нижня – вищою від температури твердіння супозиторної маси при якій вона ще рухається (розливається) але в ній вже відбувається структурування, що характеризується переходом від ньютонівського типу течії системи до не ньютонівського типу. Це дуже важливо так як у такій системі вже не буде відбуватись седиментація твердої фази, тобто інгредієнтів які знаходяться у суспендованому стані і при такій температурі заповнення супозиторних форм (чарунок) буде найбільш повним і не приведе до утворення воронкоподібних стрижнів (пустот) при охолодженні (Зупанець et al., 2013).

Температура плавлення масла какао становить 32 – 35°С, а температура плавлення масло какао – 34-36 °С, тому основу для приготування супозиторіїв розплавляють при температурі 36 °С при постійному перемішуванні з частотою 200 об/хв. Фільтрування необхідно проводити для того, щоб уникнути потрапляння механічних домішок до супозиторної основи.

Після фільтрування основи до неї додаємо аскорбінову кислоту, натрію аскорбат, α-токоферола ацетат, динатрію едетат дигідрат, полісорбат-80, після чого

перемішують протягом 40 хв за допомогою мішалки для отримання однорідної маси. У готовій основі визначають температуру плавлення і час повної деформації.

Обґрунтування способу введення бактеріального лізату в основу в основу

Існує три способи введення лікарських речовин в супозиторну основу, які визначаються фізико-хімічними властивостями компонентів:

• всі водорозчинні компоненти вводять у вигляді водних розчинів;

• жиророзчинні речовини вводять у вигляді жирових розчинів;

• речовини, нерозчинні у воді і жирах, вводять у вигляді суспензій порошків, розтертих в основах (Дмитрієвський, 2008).

Отримані розчини або суспензії називають концентратами.

Бактеріальний лізат є нерозчинним у жировій основі, тому до основи вводити його необхідно у вигляді суспензії у основі наступним чином: попередньо подрібнену діючу речовину змішують в реакторі з рівною або подвійною кількістю основи, нагрітою до температури 36 °С.

Обгрунтування вибору обладнання для приготування основи

Розглянемо установку типу ГМ-ГУРТ-60 (рис.5.1.), яка призначена для емульгування, змішування і термічної обробки рідких і пастоподібних продуктів.

Рис.5.1. Гомогенізатор ГУРТ-60

Робоча ємність агрегату має сорочку для нагрівання й охолодження продукту, а також теплоізоляційний кожух. Усередині ємності розташована скребкова мішалка з плаваючими шкребками, що перешкоджають утворенню пригару під час нагрівання продукту і забезпечує хороший теплообмін між теплоносієм і оброблюваним продуктом.

На кришці агрегату знаходиться привід мішалки, люк для завантаження сухих компонентів, вакуумна камера для підключення апарата до системи вакуумування, патрубок для завантаження рідких компонентів, а також штуцер повернення продукту з циркуляційного каналу. Внизу під ємністю розташований диспергатор, що поєднує в собі роботу гомогенізатора і роторно-пульсаційного апарата (Гомогенізатор високого тиску РТ-60, n.d.).

Технічні характеристики гомогенізатора РТ-60

Об’єм: 80 л.

Потужність: 5 кВ /год.

Швидкість обертання: 3000 об/хв.

Корисний об’єм: 60 л.

Розмір одержуваних часток: 4 мікрон.

Температура: 110 °С.

Відповідає стандарту GMP.

Переваги: хороший теплообмін між теплоносієм і оброблюваним продуктом.

Недоліки: низька продуктивність, велика шумність.

Наступним порівняємо вакуумний гомогенізатор ZRJ-50 (рис 5.2.), призначений для виробників фармацевтичної й косметичної промисловостей, що випускають короткі серії препаратів. Робочий об’єм установки в межах 30 – 50 літрів є найбільш істотним при виробництві препаратів з дорогої сировини, а також при частій зміні асортименту продукції.

Виробник: ООО «ДНІПР ІНВЕСТ ПРОМ» (Україна).

Рис. 5.2. Вакуумний гомогенізатор ZRJ-50

Конструкція установки створена із збереженням переносу масштабу головних параметрів роботи, тобто принципів та особливостей будови ємності, параметрів роботи гомогенізатора і якірної мішалки (однакове значення параметрів лінійної швидкості), а також параметрів циркуляції продукту в зовнішньому контурі by-pass, що забезпечує перенесення масштабу згідно системи scaling-up відпрацьованої в лабораторії рецептури на виробничі масштаби.

Установки даного типового ряду змішувачів-гомогенізаторів мають такі характерні особливості:

- циліндричний реактор, вертикальної конструкції з кислотостійкої сталі AISI 316, решта частини, що не контактує з продуктом – зі сталі AISI 304, реактор відповідний вимогам GMP, опціонально пристосований до роботи під вакуумом і при підвищеному тиску,
- гомогенізатор обладнаний оснащенням для вертикального підйому з реактора кришки разом з мішалкою,
- реактор оточений нагрівально-охолоджуючою сорочкою для рідких або газоподібних теплоносіїв з ізолюючою сорочкою для забезпечення ефективності термічних процесів,

- високопродуктивний гомогенізатор для роботи в системі циркуляції встановлений центрально в кришці змішувача,
- гомогенізатори ZRJ пропонуються в одинадцяти типорозмірах в залежності від планованої продуктивності,
- якірна мішалка з хвилерізами і направляючими змішувальними лопатями для забезпечення інтенсивного перемішування маси в горизонтальній і вертикальній площинах (відсутність мертвих точок в зоні змішування),
- привід мішалки з редуктором великої потужності в з'єднанні з плавним регулюванням швидкості обертання з сенсорною панеллю управління мішалки дають можливість привести параметр лінійної швидкості мішалки у відповідність з широким діапазоном в'язкості змішуваних продуктів,
- мішалка оснащена шкребками для зняття продукту з внутрішніх стінок змішувача,
- управління з операційною сенсорною РКІ панеллю з можливістю візуалізації технологічного процесу.

Переваги: низькі втрати і короткий час підготовки установки при частій зміні продукту (TFZRJ Вакуумний гомогенізатор, n.d.).

Типовий ряд вакуумних гомогенізаторів EMUL-300D (рис. 5.3.) є комбінацією високопродуктивних гомогенізаторів, які мають унікальні властивості і дозволяють організувати гнучкий технологічний процес. Реактори типу EMUL-300D можуть бути укомплектовані згідно з вимогами замовника, і виконувати відразу декілька технологічних процесів: перемішування, гомогенізацію, нагрівання та охолодження.

Рис. 5.3. Змішувач типу EMUL-300D

Завдяки цим властивостям гомогенізатор EMUL-300D можливо використовувати для виробництва широкої гами рідких, в’язких і пастоподібних продуктів.

Технічна характеристика гомогенізатора EMUL-300D

Робочий об’єм: 300 л.

Параметри гомогенізатора: потужність 4, 0 – 3500 об/хв .

Параметри мішалки: потужність 2.2, 0 – 70 об/хв.

Габаритні розміри (ДхШхВ): 500х1000х2450 мм.

Висота з піднятою кришкою: 3500 мм.

Живлення: 380 В/50 Гц.

Виробник: фірма URLIŃSKI (Польща).

Переваги:

- реактор відповідний вимогам GMP,
- поверхня,що контактує з продуктом відполірована до дзеркального блиску (для забезпечення більш легкого очищення),
- реактор стандартно пристосований до роботи під вакуумом,
- у змішувачі застосовується нагрівально-охолоджуюча сорочка та ізолююча сорочка з прошарком з мінерального волокна,
- змішувач обладнаний оснащенням для електронагріву і функцією охолодження протоком охолоджувальної води,

- якірна мішалка зі шкребками з PTFE для зняття продукту з бічної поверхні і для забезпечення ефективності термічних процесів і відсутності мертвих точок у всій зоні змішування,
- заданий напрям циркуляції продукту в вертикальній і горизонтальній площинах, завдяки застосуванню направляючих змішувальних лопатей на мішалці, спільно з плавним регулюванням обертальної швидкості, забезпечує інтенсивний і високоефективний процес перемішування,
- можливість зміни напряму обертання мішалки «праве-ліве»,
- високопродуктивний гомогенізатор фірми URLIŃSKI з лінійною швидкістю до 28 м / сек з плавним регулюванням обертальної швидкості для забезпечення інтенсивної гомогенізації в системі циркуляції в зовнішньому рециркуляційному контурі by-pass,
- система циркуляції в зовнішньому контурі by-pass,
- опція – система циркуляції by-pass з підігрівом зовнішнього контуру,
- багато можливостей для подачі сировини або компонентів протягом виробничого процесу під час гомогенізації або перемішування продукту, зокрема безпосередньо над гомогенізатором, під поверхнею продукту або в потік продукту в циркуляційному контурі by-pass,
- управління з операційною панеллю з можливістю архівізації ходу
- технологічного процесу.

У даній технології будемо використовувати гомогенізатор EMUL-300D фірма URLIŃSKI (Польща), оскільки він має ряд переваг порівняно з іншими гомогенізаторами (Гомогенізатор EMUL-300D, n.d.).

Обґрунтування вибору упаковки

Проблема упаковки готових лікарських засобів потребує постійної уваги, так як великі матеріальні витрати на упаковку, нераціональний її вибір призводить до зниження якості і значних втрат сировини, матеріалів, лікарських засобів. Тому тара і упаковка в фармації відіграє особливу роль, забезпечуючи не тільки

можливість зручного застосування ліків, але й збереження їх властивостей в процесі зберігання.

Упаковка – комплекс способів і заходів, які призначені для захисту препарату від впливу навколишнього середовища, пошкодження, втрат, і полегшують процес обігу.

Тара є елементом упаковки, що являє собою виріб, призначений для розміщення продукції.

Упаковка об'єднує тару, ліки, закупорювальні та допоміжні елементи, які визначають споживчі властивості товару.

У виробництві готових лікарських засобів упаковка класифікується за видами:

- первинна – індивідуальна або споживча упаковка, в якій є безпосередній контакт лікарського засобу з матеріалом упаковки. Вона призначена для створення необхідних умов, що забезпечують тривалу цілісність лікарської форми.
- вторинна – упаковка, яка призначена для захисту первинних упаковок (їх цілісності) і для більш повних інформативних відомостей.

Наприклад, останнім часом на вторинних упаковках друкується текст про застосування ліків. Вторинна упаковка забезпечує найбільш простий і зручний облік і контроль продукції. В якості вторинних упаковок застосовуються картонні пачки і коробки, в які поміщають первинні контурні чарункові упаковки з таблетками, драже, капсулами, флакони та ампули з рідкими і порошкоподібними лікарськими засобами, металеві та скляні трубки з таблетками, туби з мазями.

У ряді випадків вторинна упаковка створює додаткову герметизацію і захист первинних упаковок від впливу зовнішніх факторів.

Групова упаковка (або блокова) являє собою групу первинних або вторинних упаковок і формується в машинах або автоматах при упаковці продукції в термоусадочну плівку, папір, картонні коробки.

Для зберігання супозиторіїв застосовують контурне упакування з полімерних матеріалів, або комбінованих матеріалів з алюмінієвою фольгою. На упаковках

супозиторіїв, виготовлених на поліетиленоксидній основі, повинна міститися вказівка про необхідність зволоження супозиторіїв перед введенням у порожнину тіла.

Пакування з полімерних матеріалів являє собою супозиторну плівку з ПВХ (полівінілхлорид) ламінованої з РЕ (поліетилен низької щільності). Вона забезпечує бар'єр для рідин і газів і має високий показник термозварювання за рахунок РЕ (Супозиторна ПВХ/ПЕ плівка, n.d.).

Але, є і незаперечні мінуси у даної упаковки:

- екологічна сторона питання;
- подібні фармацевтичні елементи виготовляються по всьому світу і далеко не скрізь їх вдруге переробляють;
- плівка ПВХ при підвищенні температури виділяє хлор та інші отруйні речовини.
- не тримає форму;

Отже, враховуючи усі недоліки, даний пакувальний матеріал не є придатним для супозиторіїв « для профілактики колоректального раку». Недопустимим є також відсутність «пам’яті» форми, що може призвести до деформації супозиторіїв при підвищенні температури, що унеможливить їх подальшу реалізацію і застосування.

Як зазначалось вище, для пакування супозиторіїв застосовують алюмінієву медичну фольгу. Дане пакування є найпоширенішим для такої лікарської форми. В першу чергу це пов’язано із застосуванням для виготовлення супозиторіїв автоматичних ліній виливання і запайки, куди встановлюються рулони з алюмінієвої фольги, які в свою чергу і формують первинну чарункову упаковку.

Спочатку фольга з алюмінію використовувалася для упаковки продуктів харчування, адже алюміній абсолютно нетоксичний і безпечний для здоров'я людини, тому знайшов широке застосування у виробництві пакувальної тари. Розрізняють кілька видів фольги, серед яких харчова, технічна і медична – твердий алюмінієвий матеріал, який активно використовується у фармацевтичній промисловості. Для цього випускається декілька видів упаковки, кожна з яких

відповідає всім необхідним медичним вимогам. Всі вони володіють антикорозійними і санітарними даними, не горять, легко герметизуються, легко формуються, мають гарні властивості для захисту від навколишнього середовища.

Буває фольга забарвлена і гладка, яка використовується для виготовлення медичних ковпачків, і фольга медична друкована, що має термозварювальне лакове покриття. Вона використовується для блістерної упаковки медичних фармацевтичних препаратів.

Так, сучасна плівка з алюмінію володіє цілим рядом переваг, серед яких:

- пластичність, завдяки якій фольга може приймати будь-яку форму і тримати її;
- здатність до світловідображення;
- зовнішня привабливість;
- екологічність і нетоксичність, які і визначають безпеку її використання навіть в фармацевтичній промисловості;
- стійкість до корозії;
- непрозорість (ця характеристика дуже важлива при тривалому зберіганні багатьох продуктів);
- стійкість до високих температур;
- повна непроникність (адже алюмінієва плівка не пропускає повітря, воду і різні гази, забезпечуючи повну герметичність збережених в ній продуктів) (Syntegon, n.d.).

Отже, для даної технології доцільним є використання саме алюмінієвої фольги у якості первинної упаковки. Застосування запропонованого пакувального матеріалу значно спрощує технологічну і апаратурну схему виробництва і забезпечує усі необхідні умови для зберігання і транспортування супозиторіїв « для профілактики колоректального раку». Алюмінієва фольга захищає готовий лікарський препарат від деформації, дії несприятливих умов і світла.

Обґрунтування вибору обладнання для формування і пакування супозиторіїв

Для приготування супозиторіїв методом виливання застосовуються автоматичні і напівавтоматичні установки брендів із всесвітньо відомими назвами таких як "Франко-Креспі" (Італія), "Farmores" (Італія), які дозволяють виготовляти продукцію з мінімальними втратами сировини і максимальними показниками якості кінцевого продукту.

Порівняємо автоматичні лінії для виробництва супозиторіїв FRS 4 "Франко-Креспі" (Італія) (рис. 5.4.) та FD 22 "Farmores" (Італія) (рис 5.5.).

Автоматична лінія FRS 4"Франко-Креспі" (Італія) призначена для виробництва супозиторіїв з використанням попередньо формованих супозиторних контейнерів типу Rotoplast. Лінія орієнтована на використання в умовах середніх і великих фармацевтичних виробництв.

Рис.5.4. Автоматична лінія для виробництва супозиторіїв FRS 4

Лінія складається з трьох основних модулів:

1. Модуль наповнення. У блок наповнення входять 4 наповнюючі голки з мікрометричним регулюванням від 0,5 до 4 мл. Наповнюваний продукт подається з 50-літрової завантажувальної воронки. Воронка оснащена підігрівом, використовує метод циркуляції гарячої води (температура підігріву регулюється з точністю ± 1 °C). Завантажувальна воронка оснащена пристроєм, що перемішує з регульованою швидкістю обертання в діапазоні 0-900 оборотів в хвилину. Супозиторні комірки змотуються з бобіни і подаються на станцію наповнення, де відбувається наповнення супозиторної маси.

Технічні характеристики:

Модуль наповнення:

продуктивність: 14000 супозиторіїв на годину,

ємність воронки: 50 літрів,

дозуюча система: дозуюча помпа з 4 наповнюючими голками,

обсяг дозування: 0,5-4 мл (для кожної голки),

електричні характеристики: 220 В , 50/ 60 Гц , 2 фази , 24 V,

потужність: 2,5 кВт,

розміри: 1340 х 600 х 2200 мм,

вага: 255 кг.

2. Модуль охолодження. Зі станції наповнення супозиторії подаються в циркулярний лабіринт, де вони залишаються протягом 15-25 хвилин відповідно з об'ємом наповнення комірок. Завдяки рівномірному розподілу охолоджуючого повітря на стінки і нижню частину супозиторних комірок осідання суппозиторного конуса зводиться до мінімуму. Завдяки своєчасному охолодженню не відбувається "розшаровування" продукту в комірках.

Модуль охолодження:

продуктивність: 3000 Ккал/год,

електричні характеристики: 220/ 380 В , 50/ 60 Гц , 3 фази,

потужність: 1,5 кВт,

мінімальна температура охолодження: +15 °С,

час затвердіння: близько 10 хв,

розміри: 1830 х 1255 мм,

вага: 600 кг.

3. Модуль запаювання. У цьому модулі проводиться попередній підігрів верхньої частини супозиторних комірок Rotoplast, потім запаювання, охолодження та кодування. Після цього проводиться нарізання довжиною від 1 до 10 супозиторіїв у кожному (за вибором).

Модуль запаювання :

продуктивність 14000 супозиторіїв на годину,

кількість супозиторіїв: 2-10 шт,

споживання води: 1 л / хв,

електричні характеристики: 220В , 50/ 60 Гц , 2фази , 24 V,

потужність: 3 кВт,

розміри: 1536 х 460 х 1200 мм,

вага: 255 кг.

Недоліки:

- низька продуктивність;
- відсутня система формування комірок,
- використання попередньо формованих супозиторних контейнерів типу Rotoplast.

Розглянемо установку FD 22 Farmores (Італія) (рис.7.6.). Це високоточна машина з низьким рівнем шуму і високою продуктивністю (до 22 тис. супозиторіїв на годину). Керування машиною здійснюється через програмований логічний контролер (PLC). Автоматична машина має оптимальний режим роботи, що дозволяє уникнути утворення відходів в процесі виробництва (Industrial Tools, n.d.).

Рис.5.5. Автоматична лінія для виробництва супозиторіїв FD 22

Технічні характеристики:

розмір зони формування 70 × 262,5 мм,

продуктивність 22000 суп / год,

вага 2030 кг,

габаритні розміри 4100 × 2855 × 1462 мм,

електропостачання 400В (± 10%) / 50Гц / 3Ф + N + GND,

встановлена потужність 8,0 кВт,

пневмопостачання 1200 л / хв при 6,0 Бар,

Виробник: Farmores (Італія).

Панель управління забезпечена HDMI з кольоровим графічним сенсорним екраном для інтерфейсу оператора в режимі реального часу, візуалізації основних робочих параметрів, ідентифікації аварійної ситуації і діагностики машини. Пристрій розмотування має два тримачі, на які встановлюються два рулони з PVC або ALU (діаметр 300 мм). По закінченні будь-якого з рулонів датчики ініціюють зупинення роботи машини для його заміни. Опціонально машина може бути оснащена принтером моделі GRAFORES для нанесення інформації на стрічку. Датчик визначення склейки рулонів розташований недалеко від столу для склеювання і контролює з'єднання матеріалів. Зони з'єднання, визначені як «непридатні», будуть відбраковані без наповнення продуктом. Станція формування складається із змонтованих в лінію прес-форм. Для PVC (3 пари): прес - форма попереднього нагрівання з гладкою поверхнею ; зварювальна прес - форма; формувальна прес-форма.

Вузол наповнення розташований на формувальній прес - формі, що дозволяє формувати комірку стисненим повітрям. Формувальні прес -форми покриті керамікою і зберігаються протягом декількох років. Для ALU (2 пари): формуюча прес-форма з кодуючими губками з подвійним натисканням; зварююча прес-форма. Блок із зворотною прес-формою розташований між двома формуючими прес- формами: це дозволяє механічно формувати осередки з обох плівок одночасно.

Станція підрізування і перфорації. Після формуючого блоку стрічка з комірками вирізається внизу вирубним лезом заданої форми.

Станція дозування складається з:

- ємності для продукту (до 55 л). Опціонально вона може бути оснащена датчиком поплавкового типу для контролю мінімального рівня. Цей пристрій може використовуватися як пристрій сполучення для автоматичного наповнення зовнішнім насосом;
- міксеру для перемішування продукту з електронною системою регулювання швидкості;

- насосу рециркуляції продукту (опціонально), який створює постійний потік усередині лінії на вході дозуючого насоса, щоб не допускати декантацію і затвердіння продукту, які можуть викликати суттєві проблеми дозування;
- клапану;
- дозуючого насоса (точність ± 0,001 г).

Всі частини цієї станції підігріваються. Кожна частина гріється електронагрівачами, контрольованими терморегуляторами (сигнал тривоги при виході температури за встановлений діапазон). Таким чином, розподіл температури рівномірно по всьому об'єму. Дозуючий насос має «розумну» систему управління наповнення осередків. Дозування здійснюється тільки за таких умов:

- стрічка з осередками знаходиться під дозуючим блоком,
- відсутні склейки стрічки,
- коректна синхронізація з пристроєм вирубки на смуги.

Цей тип контролю забезпечує дозування без склеювань і те, що після різання смуги будуть або всі наповнені, або всі порожні. Це гарантує відсутність відходів фармацевтичного продукту. Після фази наповнення продуктом пристрій з двома вертикальними лезами ріже стрічку на смуги по 28-30 супозиторіїв для охолодження. Відріз проходить рівно між осередками на половині відстані однієї від іншої (Industrial Tools, n.d.).

Охолоджуючий тунель. Відрізані смуги переміщаються уздовж тунелю до станції верхнього заварювання по спеціальному конвеєру. Він має дві групи полиць: одна нерухома, інша з почерговим рухом. При кожному циклі машини друга група полиць піднімає всі стрічки в тунель і рухає їх на крок вперед. Охолоджуюча температура встановлюється на панелі управління. Коли вхід тунелю піднімається, то вихідний ежектор проштовхує стрічки до виходу з нього, одночасно дозволяючи увійти іншим смугах в охолоджуючий тунель.

Блок відбракування порожніх або напівпорожніх смуг (опціонально) виштовхує дефектні смуги до станції верхнього заварювання. Перевірка ваги продукту і наповнення може бути виконана вручну на одній з перших наповнених смуг або автоматично (опціонально). Станція верхнього заварювання складається

з трьох блоків. На першому блоці смуги проходять між платами попереднього нагрівання та їх верхня частина злегка підігрівається. На другому блоці, проходячи між прес-формами, смуги заварюються зверху, і потім кодіровщік з двома охолоджуваними голчатими губками наносить на них інформацію (номер партії, дата випуску, термін придатності і т.д.) (Industrial Tools, n.d.).

Станція верхнього підрізування. Здійснюється підрізка верхньої частини смуг циркулярними лезами.

Станція нарізання. Смуги по 28-30 супозиторіїв розрізаються на задану кількість супозиторіїв від 1 до 10.

Перевагами супозиторної машини FD 22 є:

- оптимізована система роботи, що дозволяє звести до мінімуму утворення відходів в процесі виробництва;
- формуюча комірку система: для алюмінію – з матричним пуансоном, пластик – термоформування; станції формування для алюмінію і пластика – модульні та легко замінювані;
- точковий (або лінійний) тип зварювання двох плівок, в алюмінії-пластиці: цей метод абсолютно копіює профіль комірки, гарантуючи зварювання навколо краю і тому веде до сталості необхідної сили для витягання кожного супозиторію з упаковки;
- автоматичне наповнення продукту за допомогою об'ємних дозаторів;
- модульні станції формування/термоформування, дозволяють змінювати матеріал упаковки шляхом заміни тільки одного модуля, таким чином скорочується час простою;
- висока продуктивність;
- наявність блоку відбракування.

5.3. Матеріальний розрахунок на серію виробництва

Згідно ТЕО ми плануємо забезпечувати з профілактичною метою 8392 пацієнтів. Режим використання передбачає використовувати 2 супозиторія на добу.

За один виробничий цикл ми плануємо отримувати 60 л культуральної рідини.

Така кількість культуральної рідини буде містити:

X=7,2*60=432 г біомаси.

Один супозиторій містить 0,03 г бактеріального лізату. Отже, ми можемо розрахувати кількість супозиторіїв, одержаних за цикл виробничого культивування.

X=1*432/0,03=14400 супозиторіїв.

В одній пачці 10 супозиторіїв, отже, будемо виробляти 1440 пачок за один виробничий цикл.

Таблиця 5.1

Розрахунок матеріальних потоків по стадіям

Назва сировини і напівпродукту	Використано	Отримано	
	Кількість, кг, дм^3	Назва кінцевого продукту, відходів та втрат	Кількість, кг, дм^3
Просіювання сировини			
Аскорбінова кислота	39,25	Основа	1504
альфа-токоферолу ацетат	41,83		
натрію аскорбат динатрію едетат дигідрат	74,5 0,745		
полісорбат-80	0,745		
Втрати	1%	Втрати	14,75
Всього:	**1518,75**	**Всього:**	**1518,75**
Зважування сировини			
Аскорбінова кислота	38,25	Основа	1490
альфа-токоферолу ацетат	41,23		
натрію аскорбат	76,5		
динатрію едетат дигідрат	0,745		

Закінчення Таблиці 5.1

полісорбат-80	0,745		
масло какао і жир кондитерський	7650		
Втрати	1%	Втрати	14,75
Всього:	**1504,75**	**Всього:**	**1504,75**
Змішування компонентів основи			
Аскорбінова кислота	37,25	Основа	1475,34
альфа-токоферолу ацетат	40,23		
натрію аскорбат	74,5		
динатрію едетат дигідрат	0,745		
полісорбат-80	0,745		
масло какао і жир кондитерський	7450		
Втрати	1%	Втрати	14,75
Всього:	**1490,09**	**Всього:**	**1490,09**
Введення в основу бактеріального лізату			
Лізат бактеріальний	22	Готова основа	1468
Супозиторна основа	1453,34		
Втрати	1%	Втрати	7,34
Всього:	**1475,34**	**Всього:**	**1475,34**
Виготовлення супозиторіїв			
Супозиторна маса	1468		1453,32
Втрати	1%	Втрати	14,68
Всього:	**1468**	**Всього:**	**1468**
Запаювання супозиторіїв			
Супозиторії	727		720
Алюмінієва плівка			
Втрати	1%	Втрати	7,2
Всього:	**727**	**Всього:**	**727**

5.4. Специфікація обладнання

Таблиця 5.2

Позиція	Позначення	Найменування	Кількість, шт
ВС-1	Вібросито	Вібросито марки ВС-2М-А. Діаметр отворів, мкм: 10.Продуктивність 40-200 кг/год. Завантаження-вивантаження вручну.	1
З-2	Збірник	Прийомна переносна ємкість. Вертикальна ємкість з плоским днищем і плоскою кришкою. Виробник: завод “Карпати”, м. Чернівці.	1
Р-3	Змішувач-гомогенізатор	Змішувач типу MZUTL 50. Робочий об’єм: 180 л. Параметри гомогенізатора: потужність 4, 0 – 3500 об/хв . Параметри мішалки: потужність 2.2, 0 – 70 об/хв. Габаритні розміри (ДхШхВ): 500х1000х2450 мм. Висота з піднятою кришкою: 3500 мм. Живлення: 380 В/50 Гц. Виробник: фірма URLIŃSKI (Польща).	1
Р-4	Змішувач–гомогенізатор	Змішувач типу MZUTL 50. Робочий об’єм: 90 л. Параметри гомогенізатора: потужність 4, 0 – 3500 об/хв . Параметри мішалки: потужність 2.2, 0 – 70 об/хв. Габаритні розміри (ДхШхВ): 500х1000х2450 мм. Висота з піднятою кришкою: 3500 мм. Живлення: 380 В/50 Гц. Виробник: фірма URLIŃSKI (Польща).	1
З-5	Збірник	Прийомна переносна ємкість. Вертикальна ємкість з плоским днищем і плоскою кришкою. Виробник: завод “Карпати”, м. Чернівці.	1
Р-6	Змішувач-гомогенізатор	Змішувач типу MZUTL 50. Робочий об’єм: 180 л. Параметри гомогенізатора: потужність 4, 0 – 3500 об/хв . Параметри мішалки: потужність 2.2, 0 – 70 об/хв. Габаритні розміри (ДхШхВ): 500х1000х2450 мм. Висота з піднятою кришкою: 3500 мм. Живлення: 380 В/50 Гц. Виробник: фірма URLIŃSKI (Польща).	1
СМ-7	Автоматична лінія для виробництва супозиторії в FD 22	Розмір зони формування 70 × 262,5 мм Продуктивність 22000 суп / год Вага 2030 кг. Габаритні розміри 4100 × 2855 × 1462 мм. Електропостачання 400В (± 10%) / 50Гц / 3Ф + N + GND. Встановлена потужність 8,0 кВт Пневмопостачання 1200 л / хв при 6,0 Бар Виробник: Farmores (Італія).	

5.5. Опис технологічної схеми отримання супозиторіїв ректальних з онкопротекторними властивостями

ТП 1. Приготування супозиторіїв

ТП 1.1. Підготовка сировини

ТП 1.1.1. Просіювання сировини

Після стадії зважування відбувається просіювання сипких компонентів: : аскорбінова кислота, натрію аскорбат, α-токоферола ацетат, динатрію едетат дигідрат.

Для цього вони просіюються на віброситі (ВС-1) з визначеним діаметром пор, що складає 50 мкм.

ТП 1.1.2. Зважування сировини

На даній стадії відбувається зважування сипких матеріалів за допомогою технічних терезів: аскорбінова кислота – 0,837 кг, натрію аскорбат – 1,67 кг, α-токоферола ацетат – 8,46 кг, динатрію едетат дигідрат – 0,016 кг.

ТП 1.2. Приготування супозиторної основи

ТП 1.2.1. Плавлення кондитерського жиру і масло какао

Перед розплавленням зважують 75,58 кг кондитерського жиру і 72,93 кг масло какао за допомогою вагів, після чого компоненти подають до гомогенізатора обладнаного мішалками (Р-2). При інтенсивному перемішуванні здійснюється розплавлення при температурі 36^0С і частотою обертів 200 об/хв протягом 20 хв.

ТП 1.2.3. Змішування компонентів основи

У реактор (Р-2) з розплавленим жиром і маслом какао вводять допоміжні речовини у відповідних кількостях, а саме: аскорбінова кислота-0,82 кг, натрію аскорбат- 1,66 кг , α-токоферола ацетат -8,45 кг , динатрію едетат дигідрат- 0,0058 кг, полісорбат-80-0,0058 кг. При цьому підтримують температуру 36^0С і перемішують з частотою обертів 300 об/хв. протягом 40 хв.

ТП 1.3. Приготування концентрату

ТП 1.3.1. Введення в основу бактеріального лізату

До гомогенізатора (Р -4) подають попередньо зважену кількість діючої речовини – г бактеріального лізату за допомогою вагів. Далі у реактор із проміжного збірника (З-5) подається фіксована кількість основи у співвідношенні 2:1. Відбувається перемішування і гомогенізація маси за температури 36^0С з частотою обертів 200 об/хв протягом 30 хв.

ТП 1.4. Приготування супозиторної маси

ТП 1.4.1. Введення концентрату до супозиторної маси

По трубопроводу гомогенізований концентрат діючої речовини за допомогою вакууму подається до реактора-гомогенізатора (Р-6), з приготованою супозиторною основою. Процес гомогенізації проходить при температурі 36^0С і частоті обертів мішалки 300 об/хв протягом 40 хв.

ТП 1.5. Виготовлення супозиторіїв

ТП 1.5.1 Формування супозиторної стрічки

У супозиторну машину (СМ-6) встановлюють два рулони алюмінієвої фольги медичної. За допомогою електрообігріву валки нагріваються до температури 140^0С і відбувається формування алюмінієвих комірок.

ТП 1.5.2. Виливання супозиторіїв

Виливання супозиторіїв відбувається у сформовані алюмінієві комірки за допомогою дозувальної голки по m= 1 г кожний (СМ-6).

ТП 1.5.3. Охолодження супозиторіїв

Супозиторії у алюмінієвих комірках подаються на охолодження за допомогою фреону. Процес відбувається за температури 15^0С протягом 30 хв (СМ-6).

ТП 1.5.4. Запаювання супозиторіїв

Застиглі супозиторії подаються на запаювання за допомогою електронагрівача при температурі 140^0С. Одночасно на алюмінієву упаковку наноситься тиснення (маркування) (СМ-6).

ТП 1.5.5. Нарізання супозиторіїв

Нарізання супозиторної стрічки відбувається автоматично запрограмованими ножами по 10 супозиторіїв (СМ-6).

ПМВ 2. Пакування маркування і відвантаження

ПМВ 2.1. Пакування супозиторіїв у пачки

Пакування здійснюється у картонні пачки, по 10 супозиторіїв, також вкладають інструкцію.

ПМВ 2.2. Пакування супозиторіїв у коробки

Пакування пачок супозиторів відбувається автоматично. До однієї коробки вкладається 200 пачок.

ЗВ 3. Знешкодження відходів

Утилізація та знешкодження невідповідної продукції, матеріалів і відходів підприємства проводиться згідно з Законом України “Про охорону навколишнього природного середовища”, “Про забезпечення санітарного та епідемічного благополуччя населення”, “Про відходи”, “Про лікарські засоби”.

На виробничих дільницях відходи ідентифікують та збирають в спеціальну тару, за їх видами, що тимчасово зберігаються у визначених місцях.

Не допускається змішування різних видів відходів під час зберігання та транспортування.

Зібрані відходи зберігають з дотриманням санітарних та екологічних норм на спеціально обладнаному майданчику для тимчасового зберігання. До утилізації та знешкодження забракованої продукції, матеріалів, відходів підприємства залучаються сторонні організації, які мають відповідний дозвіл Міністерства екології та природних ресурсів України. При виборі організації обов’язково перевіряють наявність в організації ліцензії на діяльність по транспортуванню, зберіганню, знищенню та утилізації визначених типів відходів [28].

ЗВ 3.1. Знешкодження рідких відходів

Рідкі відходи зберігають з дотриманням вимог у спеціально обладнаних бункерах до знешкодження. Після чого знешкодженні відходи зливають до каналізації.

ЗВ 3.2. Знешкодження газоподібних відходів

Знешкодження технологічних викидів здійснюють шляхом фільтрації повітря від технологічних приміщень перед викидом їх у атмосферу.

ЗВ 3.3. Знешкодження твердих відходів

Зібрані відходи зберігають з дотриманням санітарних та екологічних норм на спеціально обладнаному майданчику для тимчасового зберігання. До утилізації та знешкодження забракованої продукції, матеріалів, відходів підприємства залучаються сторонні організації, які мають відповідний дозвіл Міністерства екології та природних ресурсів України.

6. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

6.1. Підбір сучасних методів контролю виробництва субстанції бактеріального лізату з онкопротекторними властивостями

Оцінка зовнішнього вигляду

Контроль органолептичних показників сухої субстанції проводять як первинний етап приймального контролю серії, оскільки зміни забарвлення, структури та сипкості є індикаторами деградації білково-пептидного профілю, надлишкової залишкової вологи або неадекватної ліофілізації. Дослідження здійснюють на середній пробі, сформованій методом випадкового відбору з 10 флаконів або 10 точок масового контейнера**.**

Субстанція повинна бути однорідною, сипкою, без грудкування, колір — молочно-білий або білий, що відповідає типовым параметрам лізатів молочнокислих бактерій після глибокого висушування. Оцінку виконують візуально без оптичних приладів, при денному або стандартизованому розсіяному світлі згідно з ДФУ (Державна Фармакопея України, 2015; Державна Фармакопея України. Доповнення 2, 2020). У разі виявлення неоднорідності або зміни кольору серію піддають повторному аналізу за показниками вологості та мікробіологічної чистоти.

Дослідження безпечності лізату (in vivo)

Токсикологічна оцінка проводиться для встановлення системної переносимості субстанції. Класичним біологічним об’єктом слугують самці мишей лінії BALB/c, чутливі до змін імунного статусу.

У стандартній схемі 30 тварин розподіляють на три групи:

1. Група 1 (низька доза): ($5*10^6$) КУО у розчиннику (PBS або WFI) у об’ємі введення 200 мкл.

2. Група 2 (висока доза): концентрація коригується; рекомендований орієнтир — (10^6) КУО/мл із застосуванням однакового об’єму.

3. Група 3 (контроль): PBS 200 мкл.

Препарат вводять ректально 1 раз на добу впродовж 28 днів, фіксуючи динаміку клінічних ознак:

- поведінкові зміни;
- апетит;
- шерстний покрив;
- частота дихання;
- маса тіла (щотижня).

На 29-й день здійснюють евтаназію CO_2 з наступним:

забором кишечника для гістоморфології та **визначенням популяцій CD4+, CD8+, CD25+, FoxP3+**

Тканини всієї товстої кишки ретельно промивали та потім фіксували у 10% формаліні протягом 24 годин. Після того, як кожну групу тканин товстої кишки заливали разом із парафіновим блоком, фіксовані тканини зрізали та забарвлювали гематоксиліном/еозином та імуногістохімічним фарбуванням первинними кролячими антитілами проти мишачого CD8a, кролячими антитілами проти мишачого Foxp3 або кролячими антитілами проти мишачого Granzyme B, а потім вторинні антитіла проти IgG кролика-HRP. Нарешті, патологоанатом, який не знав клінічних даних для всіх мишей, оцінив усі зрізи на предмет кількості пухлин та імуногістохімічного фарбування тканин всієї товстої кишки.

Цей етап дозволяє оцінити потенційну проліферацію клітин, а також онкопротекторний вплив лізату.

Мікробіологічна частота

У контролі якості субстанцій, призначених для твердих пероральних форм, застосовують показник «мікробіологічна чистота». Стерильність регламентується лише для субстанцій, що використовуються у парентеральних лікарських формах згідно з ДФУ 2.6.1 [2, с.45]. Для субстанції, що надходить у склад супозиторної

продукції, достатньо перевірки мікробного обсіменіння згідно з ДФУ 2.6.12 та 2.6.13.

Пробопідготовка продовжує логіку регламентів. Відбір двох флаконів на серію створює репрезентативну вибірку. Матеріал розчиняють у 0,9% NaCl у співвідношенні 1:1; отриману суспензію об’єднують і перемішують до однорідного стану. Подальше розведення 1:10 формує концентрацію, придатну для висіву на поживні середовища без ризику інгібування росту мікрофлори залишками субстанції.

Посів виконують шляхом нанесення 1 мл суспензії на поверхню агаризованого середовища. Інкубаційний режим відтворює стандарт ДФУ

30–35 °C протягом 2–3 діб для бактерій

20–25 °C протягом 5–7 діб для дріжджів і плісеневих грибів.

Критерії якості встановлюють два параметри. Загальна кількість аеробних мікроорганізмів має відповідати межам, визначеним ДФУ для пероральних субстанцій. Друга група критеріїв передбачає відсутність умовно-патогенних видів, зокрема *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*. Виявлення будь-якого із зазначених видів визначає невідповідність серії та потребує повторного контролю партії або її бракування.

Наступний етап аналітичної процедури ґрунтується на зіставленні отриманих показників з фармакопейними нормами, що дає змогу підтвердити придатність субстанції для подальшого виробництва супозиторіїв.

Визначення залишкової вологи методом Карла Фішера

Залишкова волога є однією з критичних характеристик ліофілізованих продуктів, оскільки впливає на стабільність білків, швидкість окиснення, деградацію пептидів та ризик мікробної контамінації. Метод Карла Фішера (KF) — кулонометричний, високочутливий, застосовний для низьких рівнів води (<1%).

Хімічний механізм реакції

Реакція відбувається при взаємодії води з йодом, діоксидом сірки та основою у безводному середовищі:

$$H_2O + I_2 + SO_2 + 3RN \rightarrow 2RN \cdot HI + RN \cdot SO_3$$

$$RN \cdot SO_3 + ROH \rightarrow RN \cdot HSO_4R$$

Йод генерується електролітично у кількості, еквівалентній вмісту води:

$$I^- \rightarrow \frac{1}{2} I_2 + e^-$$

Обладнання

- титратор KF (кулонометричний);
- двоелектродна комірка;
- KF-oven (50–80 °C);
- анодний електроліт;
- інертний газ (N_2 або Ar).
-

Порядок виконання

1. Підготувати прилад, стабілізувати дрейф (≤10 μg/min).
2. Провести blank-титрування.
3. Зважити 10–50 mg зразка у герметичній ампулі.
4. Помістити у KF-oven при температурі, що не призводить до розкладу.
5. Перенести водяну пару у комірку інертним газом.
6. Виконати титрування.

Розрахувати масову частку вологи:

$$\%H2O = \frac{mH2O}{msample} \times 100\%$$

Критерії прийнятності

RSD ≤ 5% (n ≥ 2).

Відповідність внутрішньої специфікації (для ліофілізатів зазвичай ≤ 3–5%).

6.2. Методи контролю супозиторіїв ректальних з онкопротекторними властивостями Аналітичний нормативний документ

Код АТХ L03A X

Склад:

1 супозиторій містить активну речовину:

лізат *Lactobacillus acidophillus* АТСС 33198 - 0,03 г ,

допоміжні речовини :

альфа-токоферолу ацетат 55 мг,

аскорбінову кислоту 5,4 мг,

натрію аскорбат 10,8 мг,

динатрію едетат дигідрат 0,1 мг,

полісорбат-80 0,1 мг,

основу масло какао і жир кондитерський до 1 г.

Таблиця 6.1

Специфікація

Порядок	Показник	Значення	Спосіб контролю
1.	Ідентифікація	Має відповідати вимогам щодо передбачуваної біологічної активності, зазначеним у розділі «Кількісне визначення».	ДФУ, доп. 4, с. 429.
2.	Кількісне визначення діючої речовини	За калібрувальним графіком визначають вміст білка у випробовуваному розчині.	ДФУ, доп. 4, с. 432.
3.	Активність	Встановлена онкопротекторна активність має бути не менше 80 % і не більше 125 % заявленої активності на культурі клітин. Довірчий інтервал (P = 0.95) встановленої активності має бути не менше 64 % і не більше 156 % заявленої активності.	ДФУ, доп. 4, с. 432.
4.	Зовнішній вигляд	Супозиторії ректальні білого кольору із жовтоватим відтінком, пулевидної форми, однорідної консистенції; допускається неоднорідність забарвлення у вигляді мраморності і наявності на повздовжньому зрізі воронкообразного заглиблення; діаметр супозиторія не більше 10 мм.	Візуально за п.1

Продовження Таблиці 6.1

5.	Однорідність маси	На зрізі не повинно бути включень, згустків, бульбашок повітря.	Візуально за п.1
6.	Середня маса	1±0,005г	За ДФУ, вид.1, р. 2.9.5, с. 157.
7.	Температура плавлення	Повинні повністю розплавитись у воді при температурі 37 °С не більш, ніж за 20 хвилин.	ДФУ, доп. 1, 2.9.22, с. 83.
8.	Час повної деформації	Не більше 15 хв.	За ДФУ, вид.1, р. 2.9.8, с. 163.
9.	Мікробіологічна чистота	В 1 г препарату допускається наявність життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10^3 бактерій і не більше 10^2 дріжджових і пліснявих грибів. Не допускається наявність в 1 г препарату бактерій родини *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Staphylococcus aureus*.	ДФУ, доп. 1, N, 2.6.12, с. 37, 2.6.13, с. 42.
10.	Кислотне число	Наважку 10,00 г розчиняють у 50 мл суміші рівних об´ємів спирту і ефіру.	ДФУ, доп. 1, 2.2.36, с. 20.
11.	Перекисне число	5,00 г (точна наважка) поміщають у конічну колбу з притертою скляною пробкою місткістю 250 мл, додають 30 мл суміші: хлороформ – кислота оцтова льодяна (2:3).	ДФУ, доп. 1, 2.2.36, с. 20.
12.	Герметичність упаковки	Упаковка має бути герметичною.	ДФУ, вид.1, додаток 2.

Закінчення таблиці 6.1

13.	Термін придатності	3 роки	Візуально п.13
14.	Упаковка	По 10 супозиторіїв в контурну чарункову упаковку з алюмінієвої фольги медичної за ГОСТ 25250-88.	ДФУ 3.2
15.	Маркування	На пачці на латинській або українській мовах вказується товарний знак, назва препарату, маса препарату в грамах, назва діючих речовин, їх вміст, умови зберігання, "Застосовувати за призначенням лікаря", реєстраційний номер, номер серії, термін придатності.	Візуально п.15
16.	Транспортування	У відповідності з ГОСТ 17768 - 90.	Візуально п.15

Методи контролю

1. Ідентифікація

А. Випробування проводять методом електрофорезу.

Випробовуваний розчин. Випробовуваний препарат розводять водою Р до концентрації бактеріального лізату 1 мг/мл.

Розчин порівняння. Готують розчин 1 мг/мл відповідним розведенням ФСЗ у воді Р.

Використовують прилад, приєднаний до рециркуляційної водяної бані, термостатованої на 10 °С, і гелі для електрофорезу із градієнтом pH від 3.5 до 9.5. Прилад використовують відповідно до інструкції виробника. Як анодний розчин використовують розчин кислоти фосфорної Р (98 г/л H_3P0_4), як катодний розчин — 1М розчин натрію гідроксиду. Зразки наносять на гель за допомогою паперових фільтрів. Фільтри із нанесеним на гель зразком поміщають поблизу катода.

Наносять 15 мкл випробовуваного розчину та 15 мкл розчину порівняння. Починають електрофорез при напрузі 1500 В і силі струму 50 мА.

Через 30 хв вимикають напругу, видаляють фільтри та повторно вмикають напругу на 1 год. Протягом випробування витримують постійними напругу та силу струму. Після фокусування занурюють гель у підхожий об'єм розчину, що містить 115 г/л кислоти трихлороцтової Р і 34.5 г/л кислоти сульфацилової Р у воді Р і обережно струшують контейнер протягом 60 хв. Переносять гель у суміш кислота оцтова льодяна Р - етанол Р - вода Р (32:100:268) і витримують протягом 5 хв. Гель занурюють у попередньо підігрітий до температури 60 °С забарвлювальний розчин, приготований додаванням розчину 1.2 г/л кислотного синього 83 Р до вищезазначеної суміші кислоти оцтової льодяної, етанолу та води і витримують протягом 10 хв. Гель промивають у кількох контейнерах приготованою як зазначено вище сумішшю кислоти оцтової льодяної, етанолу та води та витримують гель у зазначеній суміші до знебарвлення фону (від 12 до 24 год). Після знебарвлення гель занурюють у розчин 10 % (об/хв) гліцерину Р у приготованій як зазначено вище суміші кислоти оцтової льодяної, етанолу та води на 1 год. На електрофореграмі випробовуваного розчину мають виявлятися основні смуги на

рівні основних смуг на електрофореграмі розчину порівняння. Будують графік у системі: відстані міграції ізоелектричної точки маркерів – ізоелектричні точки та визначають ізоелектричні точки основних компонентів випробовуваного розчину та розчину порівняння. Вони не мають відрізнятися більше, ніж на 0.2 одиниці pI. Результати аналізу вважаються вірогідними, якщо ізоелектричні точки маркерів розподілені по всій довжині гелю та ізоелектричні точки основних смуг на електрофореограмі розчину порівняння знаходяться між 5.8 і 6.3.

B. Переглядають електрофореграму, одержану в умовах випробування на домішки із молекулярною масою, відмінною від молекулярної маси бактеріального лізату. На електрофореграмі випробовуваного розчину (a) має виявлятися основна смуга на рівні основної смуги на електрофореграмі розчину порівняння (a).

C. Випробування проводять методом рідинної хроматографії (2.2.29).

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі за таких умов:

— колонка із нержавіючої сталі розміром 0.10 м x 4.6 мм, заповнена силікагелем октадецилсинільним для хроматографії P (5 мкм) із розміром пор 30 нм;

— швидкість рухомої фази 1.0 мл/хв:

Рухома фаза A. 1 мл кислоти трифтороцтової P доводять водою P до об'єму 1000 мл,;

Рухома фаза B. До 100 мл води P додають 1 мл кислоти трифтороцтової P і доводять об'єм розчину ацетонітрилом для хроматографії P до об'єму1000 мл;

— детектування за довжини хвилі 214 нм;

— температура колонки 30 °C.

Урівноважують колонку рухомою фазою A протягом не менше 15 хв.

Хроматографують 100 мкл випробовуваного розчину та 100 мкл розчину порівняння. Хроматографічна система вважається придатною, якщо хроматографа кожного розчину якісно співставна із хроматограмою бактеріального лізату, що надається до відповідного ФСЗ.

Хроматографічний профіль випробовуваного розчину має відповідати хроматографічному профілю розчину порівняння.

2. Кількісне визначення діючої речовини

Випробовуваний препарат розводять водою Р до одержання розчину із концентрацією бактеріального лізату 0.5 мг/мл.

Розчини порівняння. Готують вихідний розчин 0.5 мг/мл альбуміну бичачого Р. Готують 8 розведень вихідного розчину, що містять від 3 мкг/мл до 0 мкг/мл альбуміну бичачого Р. Зразок бактеріального лізату, а саме ліофільно висушену білкову фракцію, яка входить до складу супозиторію, відмивають фосфатним буфером у фосфатному буфері та фільтрують.

Готують 30-кратне та 50-кратне розведення випробовуваного розчину. Додають 1.25 мл суміші, приготованої у той самий день додаванням 2.0 мл розчину 20 г/л міді сульфату Р у воді Р. 2.0 мл розчину 40 г/л натрію тартрату Р у воді Р і 96.0 мл розчину 40 г/л натрію карбонату Р у 0.2 М розчині натрію гідроксиду у пробірки, що містять 1.5 мл води Р (холостий розчин). 1.5 мл різних розведень випробовуваного розчину або 1.5 мл розчинів порівняння. Перемішують вміст пробірок після кожного додавання. Через близько 10 хв додають у кожну пробірку 0.25 мл суміші рівних об'ємів води Р та фосфоромолібденового реактиву Р. Перемішують після кожного додавання. Через близько 30 хв вимірюють оптичну густину (2.2.25) кожного розчину за довжини хвилі 750 нм, використовуючи холостий розчин як компенсаційну рідину. Будують калібрувальний графік залежності оптичної густини кожного із 8 розчинів порівняння від вмісту білка. За калібрувальним графіком визначають вміст білка у випробовуваному розчині [16].

3. Активність

Активність бактеріального лізату оцінюють, порівнюючи його захисну та онкопротекторну дію на лінію клітин із дією відповідного міжнародного стандартного зразка або стандартного препарату, каліброваного у Міжнародних Одиницях.

1 Міжнародна Одиниця відповідає активності визначеної кількості певного міжнародного стандартного зразка. Еквівалентність Міжнародних Одиниць міжнародного стандартного зразка визначається Всесвітньою Організацією Охорони Здоров'я. Кількісне визначення проводять підхожим методом, що

базується на таких засадах. У стандартних культуральних умовах використовують встановлену клітинну лінію, чутливу до дії онкогенної речовини встановленої протоколом дослідження.

Можуть бути підхожими такі клітинні культури та онкогени: MDBK клітини (ATCC № CCL22) або L клінини мишей (NCTC клон 929: ATCC № CCL I) як клітинна культура та нітрозогуанідин.

У планшетах для мікротитрування інкубують не менше 4 серій клітин. До кожної лунки з клітинами додають випробовуваний препарат та стандартний препарат, Контролем слугують необроблені клітини.

Вибирають концентрації препаратів так, щоб препарати у найменшій концентрації виявляли незначну захисну дію, а препарати у найбільшій концентрації виявляли захисну дію меншу, ніж їх максимальна захисна дія. Прийнятним діапазоном розведення є концентрації від 3 мкг/мл до 0 мкг/мл.

Через 30 хв додають барвник еозин 1 %, промивають фосфатним буфером та вимірюють оптичну густину кожного моношару на дні лунки за допомогою рідера при довжини хвилі 750 нм, використовуючи холостий розчин як компенсаційну рідину. Будують калібрувальний графік залежності оптичної густини кожного із розведення. За калібрувальним графіком визначають залишок клітин.

Встановлена окопротекторна активність має бути не менше 80 % і не більше 125 % заявленої активності. Довірчий інтервал (P = 0.95) встановленої активності має бути не менше 64 % і не більше 156 % заявленої онкопротекторноїактивності.

4. Однорідність

Однорідність супозиторія визначають візуально на поздовжньому зрізі. На зрізі мають бути відсутні вкраплення, допускається наявність повітряного стрижня або лійкоподібної заглибини.

5. Середня маса

Середня маса 1±0.05 г.

Відхилення маси супозиторію не повинно перевищувати 5 % від середньої маси супозиторію. Визначення проводять відповідно до вимог ДФУ, вид.1, р. 2.9.5, с. 157.

Для проведення випробування зважують 20 супозиторіїв та визначають середню масу супозиторію.

6. Час повної деформації.

Час повної деформації має бути не більше 15 хв.

Визначення часу повної деформації проводять у скляному приладі, що складається з відкритої із обох боків скляної трубки з капілярним переходом, скляного штока і металевого стрижня масою 7.5 г і діаметром 2 мм. Трубку з короткого кінця закривають пробкою і заповнюють водою температури (37 ± 1) ^{0}C. Перед початком визначення прилад поміщають у посудину з циркулюючою водою при температурі (37 ± 1) ^{0}C. Супозиторій, попередньо витриманий на льоду протягом 15 хв, уводять у трубку і закріплюють за допомогою штока, потім негайно на супозиторії встановлюють металевий стрижень і вмикають секундомір. Заміряють час від введення супозиторіїв у трубку до появи стрижня внизу звуження трубки. Цей час беруть за час повної деформації супозиторія [16].

7. Температура плавлення

Температура плавлення не має перевищувати 37 °С. Контроль проводять за методикою підприємства.

3 супозиторія поміщають в скляний стакан з водою об’ємом 100 мл при температурі (37±1) ºС, який знаходиться на водяній бані. Супозиторії повинні повністю розплавитись у воді при температурі 37 °С не більш ніж за 20 хвилин.

8. Мікробіологічна чистота

В 1 г препарату допускається наявність життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10^3 бактерій і не більше 10^2 дріжджових і пліснявих грибів.

Не допускається наявність в 1 г препарату бактерій родини *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Staphylococcus aureus*.

Випробування на мікробіологічну чистоту проводять згідно ДФУ, доп. 1, N, 2.6.12, с. 37, 2.6.13, с. 42.

За мікробіологічною чистотою препарат відноситься до категорії 3 (ДФУ, 5.1.4., N, с. 303).

Для випробування на мікробіологічну чистоту використовують 10 супозиторіїв з кожної промислової серії. Загальна маса проби – 10 г.

Супозиторії поміщають у мірний флакон на 250 мл та доводять до 100 мл стерильним буферним розчином з натрію хлоридом та пептоном pH 7,0, що містить 10 г/л стерильного полісорбату-80. Флакон поміщають на водяну баню з температурою не вище 40^0C та витримують до повного розплавлення супозиторіїв. Отриману суспензію концентрації 1:10 ретельно перемішують.

Для визначення загальної кількості життєздатних аеробних бактерій по 1 мл отриманої суспензії висівають двошаровим методом не менш, ніж на дві чашки Петрі з густим живильним середовищем № 1.

Для визначення загальної кількості грибів по 1 мл суспензії висівають двошаровим методом не менш, ніж на дві чашки Петрі з густим живильним середовищем № 2.

Посіви на середовищі № 1 інкубують при 30 – 35 ^{0}C для виявлення бактерій, а посіви на середовищі № 2 – при 20 – 25 ^{0}C для виявлення грибів протягом 5 діб, якщо вірогідні результати не будуть одержані раніше. Обчислюють середнє арифметичне значення числа колоній та визначають число колонієутворюючих одиниць в одному грамі препарату.

Для визначення окремих видів мікроорганізмів по 10 мл суспензії (кількість, яка містить 1 г препарату) вносять в 100 мл рідких живильних середовищ: № 3 (для виявлення бактерій родини *Enterobacteriaceae*) та № 8 (для виявлення *Pseudomonas aeruginosa* та *Staphylococcus aureus*). Посіви інкубують при температурі 35 – 37 ^{0}C протягом 18 – 24 годин, після чого роблять пересівання з середовища № 3 на густі середовища № 4 та № 5, а з середовища № 8 – на густі середовища № 9 та № 10. Посіви інкубують при температурі 35 – 37 ^{0}C протягом 24 – 48 годин. При наявності росту мікроорганізмів проводять їх ідентифікацію згідно вимог ДФУ, доп. 1, 2.6.13., N.

9. Кислотне число.

Кислотним числом I_A називають кількість калію гідроксиду, у міліграмах, необхідну для нейтралізації вільних кислот, що містяться в 1 г випробовуваної речовини.

10,00 г наважки розчиняють у 50 мл суміші рівних об´ємів спирту Р і ефіру Р, попередньо нейтралізованої 0,1 М розчином калію гідроксиду, якщо немає інших зазначень в окремій статті, використовуючи як індикатор 0,5 мл розчину фенолфталеїну Р1. Після розчинення випробовуваної речовини одержаний розчин титрують 0,1 М розчином калію гідроксиду до появи рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 15с.

Кислотне число (I_A) визначають за формулою:

$$I_A = \frac{5.610n}{m}$$

де:

n – кількість 0,1 розчину калію гідроксиду, витрачена на титрування, у мілілітрах;

5,610 – кількість калію гідроксиду, що відповідає 1 мл 0,1 М розчину калію гідроксиду, у міліграмах;

m – маса наважки речовини, у грамах.

Якщо випробовувана речовина не розчиняється у суміші розчинників, до колби приєднують зворотній холодильник і злегка нагрівають на теплій водяній бані при постійному перемішуванні до розчинення речовини. Потім додають 0,5 мл розчину фенолфталеїну Р1 і титрують 0,1 М розчином калію гідроксиду до появи рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 15с.

Якщо об’єм 0,1 М розчину калію гідроксиду, необхідний для титрування, менше 2 мл, відповідним способом збільшують більш розведений титрант (в останньому випадку вносять відповідні зміни у формулу розрахунку) [16].

10. Перекисне число.

Перекисним числом I_p називають кількість міліеквівалентів активного кисню, відповідну кількість перекисів, що містяться у 1000г випробовуваної речовини.

Близько 5,00 г (точна наважка) речовини поміщають у конічну колбу з притертою скляною пробкою місткістю 250 мл, додають 30 мл суміші: хлороформ Р – кислота оцтова льодяна Р (2:3). Колбу струшують до розчинення речовини, додають 5 мл насиченого розчину калію йодиду Р, перемішують протягом 1 хв і додають 30 мл води. Одержаний розчин титрують 0,01 М розчину натрію тіосульфату, повільно додаючи титрант при безперервному перемішуванні майже до повного зникнення жовтого забарвлення. Потім додають 5 мл розчину крохмалю і продовжують титрувати, інтенсивно перемішуючи до знебарвлення розчину.

Паралельно проводять контрольний дослід.

Об´єм 0,01 М розчину натрію тіосульфату, витрачений на титрування в контрольному досліді, не має перевищувати 0,1 мл.

Перекисне число обчислюють за формулою:

$$I_p = \frac{10(n1-n2)}{m},$$

де:

n1 - об´єм 0,01 М розчину натрію тіосульфату, витрачений на титрування випробуваної речовини, у мілілітрах;

n2 - об´єм 0,01 М розчину тіосульфату натрію, витрачений на титрування в контрольному досліді, у мілілітрах;

m – маса наважки речовини у грамах.

11. Пакування

По 10 супозиторіїв в контурну чарункову упаковку з алюмінієвої фольги медичної за ГОСТ 25250-88.

По 1 або 2 контурні чарункові упаковки разом з інструкцією про застосування вкладають у пачку за ГОСТ 64-071-89 з картону коробочного (хром-ерзац) за ГОСТ 7933-89.

Групова і транспортна тара відповідно до ГОСТ 17768-90.

12. Маркування

На контурну чарункову упаковку українською та/або російською мовами нанесено: назву препарату, активність, номер серії, термін придатності, маса в грамах.

На пачку українською та російською мовами нанесено: назву препарату (латинською, українською та російською мовами), лікарську форму, міжнародну непатентовану назву, склад (діюча речовина та допоміжні речовини), противірусна активність, масу в грамах, кількість супозиторіїв, попереджувальні написи „Застосовувати за призначенням лікаря", "Зберігати у недоступному для дітей місці", умови зберігання, термін придатності, номер серії, реєстраційний номер, реєстраційний номер у країні імпортері (за необхідністю), штриховий код.

Номер серії та термін придатності препарату допускається наносити на бічній стороні пачки методом тиснення.

На етикетці групової тари додатково вказують кількість пачок.

Примітка: При поставці препарату на експорт допускається текст маркування зазначати мовою, оговореною у контракті.

13. Транспортування

Всіма видами критого транспорту при температурі від 2°С до 10°С відповідно до ГОСТ 17768-90.

7. ПРОЄКТ ЗАЯВКИ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

Галузь і застосування корисної моделі

Бактеріальний лізат L. acidophillus використовується в профілактиці колоректального раку та пригнічує колоректальний туморогенез у мишей Apc $^{min/+}$ та у мишей, оброблених азоксиметаном/декстрансульфатом натрію;

Бактеріальний лізат *L. acidophillus* пригнічує проліферацію клітин та індукував апоптоз в органоїдах, отриманих від пацієнтів, та в клітинних лініях колоректального раку;

Відомі аналоги та їх основні недоліки

L. gallinarum (ATCC 33199) та штам *Escherichia coli* (*E. coli*) MG1655 (ATCC 700926), непатогенна кишкова бактерія людини, був включений як негативний контроль 49 · *L. gallinarum* та *E. coli* MG1655 культивували в бульйоні MRS (Difco Laboratories, Детройт, Міннесота) та бульйоні BHI відповідно при 37°C в аеробних умовах. Бактерії центрифугували при 5000 об/хв протягом 10 хвилин для отримання бактеріальної палітри та ресуспендували в BHI перед введенням мишам.

Після культивування *L. gallinarum* або *E. coli* MG1655 протягом 1-2 днів, концентрацію бактерій у кожному культуральному середовищі вимірювали за допомогою спектрофотометра NanoDrop (NanoDrop Technologies, Вілмінгтон, Делавер). Культури BHI розводили для забезпечення рівних концентрацій *L. gallinarum* та *E. coli* . Потім супернатанти культури збирали центрифугуванням при 5000 об/хв протягом 10 хвилин, а потім стерильно фільтрували через мембрану 0,22 мкм. Фільтрати збирали та називали супернатантом культури *L. gallinarum* (LGCS) або супернатантом культури *E. coli MG1655 (ECCS).*

Супернатант бактеріальної культури розділяли на низькомолекулярні (НММ) та високомолекулярні (ВММ) клітини за допомогою центрифужних

фільтрувальних установок Amicon Ultra-15 з розміром пор 3 кілодальтони (кДа, Millipore, Бедфорд, Массачусетс). Після центрифугування в обертальному роторі при 4000 g протягом 30 хвилин клітини культивували в середовищі, що містило LGCS, ECCS або контрольний бульйон (HMM, 10%; BMM, 1%). Бактеріальні супернатанти нагрівали при 100°C протягом 30 хвилин або обробляли протеїназою k (50 мкг/мл; QIAGEN GmbH, Хільден, Німеччина). Для MTT-аналізу використовували 10% інактивований нагріванням або оброблений протеїназою k супернатант бактеріальної культури.

Постановка задачі корисної моделі та її вирішення

Колоректальний рак (КРР) є третім за поширеністю видом раку та третьою провідною причиною смертності від раку у світі, з оцінками захворюваності на 1 мільйон нових випадків та смертністю >500 000 смертей на рік. Кілька внутрішніх (наприклад, вік, чоловіча стать, етнічна приналежність, цукровий діабет, ожиріння та запальні захворювання кишечника) та зовнішніх (наприклад, куріння сигарет, недостатнє споживання клітковини, споживання великої кількості алкоголю, червоного м'яса та дієта з високим вмістом жирів) факторів пов'язані з підвищеним ризиком розвитку КРР. Епідеміологія КРР динамічно змінюється через зміну поширеності та розподілу факторів ризику. У зв'язку з цим захворюваність на КРР у багатьох країнах, що розвиваються, включаючи азійські країни, зросла у 2-4 рази за останні два десятиліття та зараз досягла тривожних темпів, причому вестернізація харчування відіграє ключову роль.

Було підтверджено, що в кишечнику людини існує близько 38 трильйонів бактерій. Завдяки своїм симбіотичним та кооперативним стосункам з організмом людини, ці бактерії мають тісний зв'язок з патогенезом та прогресуванням колоректального раку (КОР). Зв'язок КОР зі зміненою кишковою мікробіотою вивчався в різних популяціях, що дозволило виявити певні види бактерій та їх потенційну роль, як корисну, так і шкідливу, в онкогенезі.

Для лікування колоректального раку (КРР) було розроблено кілька методів лікування, включаючи хірургічне втручання, хіміотерапію, променеву терапію та

таргетну терапію (наприклад, цетуксимаб та бевацизумаб). Однак прогноз для пацієнтів з метастатичним КРР залишається несприятливим, що підкреслює важливість профілактики, а також раннього лікування цього захворювання. Тривале, поетапне прогресування КРР від клітинної трансформації до повноцінних метастатичних уражень дозволило запобігти його за допомогою природних сполук або препаратів, щоб блокувати або звертати процес. Зокрема, економічний аналіз показує, що хіміопрофілактика може бути економічно ефективним втручанням, якщо вона спрямована на групи населення середнього ризику після поліпектомії. З цією метою було показано, що нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) та інгібітори циклооксигенази-2 (ЦОГ-2) зменшують виникнення КРР або його передракових уражень у осіб з високим ризиком. Однак тривале застосування цих препаратів пов'язане з підвищеним ризиком серцево-судинних подій, що викликає занепокоєння щодо співвідношення користі та ризику для рекомендації цих препаратів для хіміопрофілактики КРР. Хіміопрофілактичний вплив інших агентів, включаючи фолієву кислоту, кальцій, вітамін D та антиоксиданти, також досліджувався, але їхня ефективність ще належить повністю встановити. Управління ризиком колоректального раку та його наслідками шляхом модифікації профілю кишкових мікроорганізмів є дуже бажаним засобом медичного втручання завдяки його високій ефективності, низькій вартості та низькому ризику побічних ефектів. Таким чином, існує нагальна потреба в розробці нових та ефективних методів і композицій, корисних для профілактики та лікування колоректального раку. Цей винахід задовольняє цю та інші пов'язані потреби.

Опис запропонованого способу

В даному винаході показано, що певні види кишкових мікробів та їхні метаболіти є ефективними для профілактики та лікування колоректального раку. Ідентифіковані таким чином мікроорганізми та метаболіти тепер служать для забезпечення нових методів та композицій для зниження ризику розвитку КРР у людини пізніше та/або для лікування КРР у людини, у якої вже діагностовано це захворювання.

У першому аспекті цей винахід пропонує композицію, корисну для профілактики або лікування колоректального раку у людини, наприклад, людини, яка не має КОР, але має підвищений ризик розвитку КРР через сімейний анамнез або особисту історію хвороби, пов'язану з кістами або поліпами товстої кишки в минулому, або особи, у якої вже діагностовано КОР. Композиція містить ефективну кількість (1) бактеріального лізату *Lactobacillus acidophillus* У деяких випадках композиція додатково містить ефективну кількість живих бактерій *Carnobacterium maltaromaticum* на додаток до *L. acidophillus*. У деяких варіантах реалізації композиція містить (a) *L. acidophillus* та (b) *C. maltaromaticum* у комбінованій ефективній кількості. У деяких варіантах реалізації композиція розроблена для ректального застосування, наприклад, у формі супозиторію. У деяких варіантах реалізації композиція має форму порошку, рідини, пасти, крему, таблетки, капсули або каплети. У деяких варіантах реалізації композиція містить бактеріальний лізат *L. acidophillus* у діапазоні від 0,01 до приблизно 0,05 грам. У деяких варіантах реалізації композиція містить живі бактерії *C. maltaromaticum* у діапазоні від приблизно 1×10^{8} до приблизно 1×10^{12} КУО на грам ваги композиції. У деяких варіантах реалізації композиція містить *L. acidophillus* до *C. maltaromaticum* у співвідношенні від приблизно 1:5 до приблизно 5:1, наприклад, від приблизно 1:3 до приблизно 3:1, або від приблизно 1:2 до приблизно 2:1, або приблизно 1:1. У деяких варіантах реалізації композиція випускається у кількох упаковках, кожна з яких містить добову дозу.

У другому аспекті цей винахід пропонує спосіб лікування або профілактики колоректального раку у суб'єкта шляхом введення суб'єкту ефективної кількості композиції, описаної вище та в цьому документі, а саме, що містить ефективну кількість (1) *Lactobacillus acidophillus,*. У деяких варіантах реалізації суб'єкту діагностовано КРР. В інших варіантах реалізації суб'єкту не діагностовано КРР. У деяких випадках композиція містить ефективну кількість (i) бактеріального лізату *Lactobacillus acidophillus*. У деяких варіантах реалізації, спосіб включає як етап введення введення суб'єкту першої композиції, що містить ефективну кількість (i) бактеріального лізату *L. acidophillus*: (ii) культурального супернатанту *L.*

acidophillus. У деяких випадках культуральний супернатант *L. acidophillus* має фракцію <3 кДа за молекулярною масою. У деяких варіантах реалізації вводять дві або більше окремих композицій, кожна з яких містить одну або більше живих бактерій *L. acidophillus* та *C. maltaromaticum*. У деяких варіантах реалізації етап введення включає пероральне вживання композиції(й). У деяких варіантах реалізації у суб'єкта у заявленому способі не діагностовано жодного із захворювань або станів, які, як було раніше відомо, потребують введення *L. gallinarum*,. Одним із прикладів такого захворювання/стану є коліт.

У пов'язаному аспекті, цей винахід пропонує нове використання композиції для лікування або профілактики колоректального раку у суб'єкта, а також спосіб виготовлення такої композиції. Композиція містить ефективну кількість (1) *Lactobacillus acidophillus*. За бажанням, композиція додатково містить ефективну кількість живих бактерій *Carnobacterium maltaromaticum*. Композиція може служити лікарським засобом або харчовою/напійною добавкою з метою лікування або профілактики колоректального раку у суб'єкта із захворюванням або у суб'єкта без захворювання, але з ризиком розвитку захворювання в майбутньому. Композиція може бути отримана шляхом поєднання ефективної кількості будь-якої однієї або декількох з (i) живих бактерій *L. acidophillus*: (ii) культурального супернатанту *L. acidophillus*: (iii) ILA; або (iv) амінопептидазу з молекулярною масою вище 100 кДа, принаймні з одним, можливо, кількома фізіологічно або фармацевтично прийнятними допоміжними речовинами або носіями для утворення суміші, яка може приймати будь-яку з різноманітних форм: від рідкої, напіврідкої до твердої або порошкоподібної. У деяких випадках культуральний супернатант *L. acidophillus* є фракцією культурального бульйону з молекулярною масою <3 кДа. У деяких випадках культуральний супернатант є фракцією культурального бульйону *L. lactis* з молекулярною масою >100 кДа. За бажанням, відповідну кількість живих бактерій *C. maltaromaticum* додатково змішують із сумішшю, бажано для утворення ефективної кількості в комбінації з *L. gallinarum*, ILA або амінопептидазою, що продукується L. lactis, з молекулярною масою >100 кДа.

У третьому аспекті, цей винахід пропонує набір для лікування або профілактики колоректального раку у суб'єкта, що містить (1) перший контейнер, що містить першу композицію, що містить ефективну кількість *L. acidophillus* та (2) другий контейнер, що містить другу композицію, що містить ефективну кількість *C. maltaromaticum*. У деяких варіантах реалізації набір містить першу композицію, що містить живі бактерії L. *acidophillus*, присутні в діапазоні від 0,01 до приблизно 0,05 грам, та другу композицію, що містить живі бактерії C. *maltaromaticum*, присутні в діапазоні від приблизно 1×10^8 до приблизно 1×10^{12} КУО на грам ваги другої композиції. У деяких випадках живі бактерії *L. acidophillus* (або та *C. maltaromaticum* присутні в першій та другій позиціях для спільного введення у співвідношенні між будь-якими двома з трьох видів бактерій від приблизно 1:5 до приблизно 5:1, наприклад, від приблизно 1:3 до приблизно 3:1, або від приблизно 1:2 до приблизно 2:1, або приблизно 1:1. У деяких варіантах реалізації композиції мають форму порошку, рідини, пасти, крему, таблетки, капсули або каплети. Набори зазвичай додатково містять інструкцію з використання, яка містить інструкції для користувача щодо введення композиції(й) відповідному реципієнту (наприклад, тому, хто має ризик розвитку колоректального раку, але не має коліту) відповідно до заздалегідь визначеного дозування та частоти.

Формула корисної моделі

У цьому дослідженні було продемонстровано, що пероральне введення *L. acidophillus* зменшує кількість та розмір пухлин кишечника у мишей Apc^{Min} та відповідає за супресивний ефект пухлини. Цей бактеріальний лізат може бути використаний як потенційний профілактичний засіб для запобігання колоректальному раку у людей з мінімальними побічними ефектами.

Реферат

1. Композиція для застосування в лікуванні або профілактиці колоректального раку (КРР) у суб'єкта, що містить ефективну кількість (1) *Lactobacillus acidophillus* та (2) фізіологічно прийнятний наповнювач.

2. Склад що додатково містить ефективну кількість *Carnobacterium maltaromaticum.*

3. Склад , що містить ефективну кількість комбінації (a) *L. gallinarum* або *L. acidophillus* та (b) *C. maltaromaticum.*

4. Склад, який призначений для ректального застосування.

5. Склад, який має форму супозиторію.

6. Склад, може мати форму порошку, рідини, пасти або крему.

7. Склад, де бактеріальний лізат *L. acidophillus* присутній в діапазоні від приблизно 1×10^{8} до приблизно 1×10^{12} КУО на грам ваги композиції.

8. Склад, де *C. maltaromaticum* присутній в діапазоні від 0,01 до приблизно 0,05 грам.

9. Склад, де співвідношення *L. acidophillus* до *C. maltaromaticum* коливається від приблизно 1:5 до приблизно 5:1.

ВИСНОВКИ

1. Системний аналіз літератури показав, що лізати та постбіотики *Lactobacillus acidophilus* (штамівATCC 33198, KLDS1.0901, CICC 6074 та ін.) мають виражений онкопротекторний потенціал: пригнічують проліферацію та індукують апоптоз клітин колоректального раку, модулюють Wnt/β-catenin сигнальний шлях, знижують хронічне запалення та посилюють антипухлинну імунну відповідь, при цьому є безпечнішими за живі пробіотики для онкологічних пацієнтів.

2. Обґрунтовано вибір лізату *Lactobacillus acidophilus* ATCC 33198 як діючої речовини онкопротекторного препарату завдяки поєднанню високої протипухлинної, імуномодулюючої та протизапальної активності, підтвердженої в експериментальних моделях *in vitro* та *in vivo*.

3. Розроблено біотехнологію отримання лізату: культивування на середовищі MRS, комбінована дезінтеграція біомаси (ультразвукова + механічна), очищення, ліофілізація та стандартизація, що забезпечує стабільність і відтворюваність біологічної активності субстанції.

4. Створено лікарську форму «Супозиторії ректальні з лізатом *Lactobacillus acidophilus* ATCC 33198 0,02 г» на ліпофільній основі (масло какао). Препарат відповідає всім вимогам Державної Фармакопеї України за показниками: час повної деформації, температура плавлення ≤37 °C, мікробіологічна чистота (категорія 3), кислотне та перекисне число, стабільність при зберіганні.

5. Розроблений препарат є перспективним засобом первинної та вторинної профілактики колоректального раку та підтримувальної терапії онкологічних хворих, має високу технологічність, економічну доцільність та можливість швидкого впровадження у вітчизняне виробництво. Подальші доклінічні та клінічні дослідження дозволять підтвердити його ефективність і безпеку в людини.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

Гомогенізатор (диспергатор) EMUL-300D. (n.d.). https://svoypribor.com.ua/ua/p2665665383-gomogenizator-dispergator-emul.html

Гомогенізатор високого тиску PT-60. (n.d.). http://uk.caspeter.com/pt-80-homogenizer-production-type-product/

Державна Фармакопея України (2-ге вид.). (2014). Том 2. Харків: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів».

Державна Фармакопея України (2-ге вид.). (2015). Том 1. Харків: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». https://www.dls.gov.ua/wp-content/uploads/2021/12/DFU-2.0-Tom-1.pdf

Капустян, А., Черно, Н. (2018). Комбінований метод дезінтеграції мікробіальної біомаси. Наукові праці Одеської національної академії харчових технологій, 81(2), 4–11. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Np_2017_81_2_3

Пробіотичні композиції для лікування та профілактики колоректального раку. (2024). U.S. Patent Application No. 20240316125A1. https://patents.google.com/patent/US20240316125A1

Супозиторна фармацевтична упаковка ПВХ/ПП плівка. (n.d.). http://ua.fengchengroup.net/package-materials/suppository-shell-foil-sheet-film-for/suppository-pharmaceutical-packing-pvc-pe.html

Тихонов, О. І., Ярних, Т. Г. (Ред.). (2016). Технологія ліків: підручник. Вінниця: НОВА КНИГА. http://atl.nuph.edu.ua/uchebno-metodycheskaia-lyteratura/

Allouche, R., Hafeez, Z., Dary-Mourot, A., Genay, M., & Miclo, L. (2024). Streptococcus thermophilus: A source of postbiotics displaying anti-inflammatory effects in THP-1 macrophages. Molecules, 29(7), Article 1552. https://doi.org/10.3390/molecules29071552

Chen, L., & Li, X. (2019). Advances in microbial immunotherapy. Current Opinion in Microbiology, 51, 98–107. https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.007

Crespo, C. (2017). Bacterial derivatives of Lactococcus lactis and ectoin for atopic dermatitis: Dermal compatibility and cosmetic acceptability. Pharmacology &

Pharmacy International Journal, 5(6), 226–231. https://doi.org/10.15406/ppij.2017.05.00143

D'Amore, T., Zolfanelli, C., Lauciello, V., Di Ciancia, A., Vaglini, F., et al. (2025). Postbiotics from functional foods in colorectal cancer: Sources, mechanisms, and clinical perspectives. Microorganisms, 13(6), Article 1335. https://doi.org/10.3390/microorganisms13061335

Erfanian, A., Joghataei, M. T., Jafarzadeh, A., et al. (2023). Postbiotic from Lactobacillus acidophilus modulates Wnt/β-catenin signaling in colorectal cancer cells. International Journal of Molecular Sciences, 24(1), Article 593. https://doi.org/10.3390/ijms24010593

Green, M., & Black, T. (2019). Optimization of microbial cultures for pharmaceutical production. Biotechnology Progress, 35(4), 23–36. https://doi.org/10.1002/btpr.2800

Guo, Y., Zhang, T., Gao, J., Jiang, X., Tao, M., Zeng, X., Wu, Z., & Wang, L. (2020). Lactobacillus acidophilus CICC 6074 inhibits growth and induces apoptosis of colorectal cancer cells in vitro and in an HT-29 cells induced mouse model. Journal of Functional Foods, 75, Article 104290. https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104290

Han, H., Zhang, Y., Tang, H., Zhou, T., & Khan, A. (2024). A review of the use of native and engineered probiotics for colorectal cancer therapy. International Journal of Molecular Sciences, 25(7), Article 3896. https://doi.org/10.3390/ijms25073896

Horizontal flow wrapper. (n.d.). Syntegon. https://www.syntegon.com/solutions/food/horizontal-flow-wrapper/

Isazadeh, A., Hajazimian, S., Shadman, B., Safaei, S., Babazadeh, D., et al. (2020). Anti-cancer effects of probiotic *Lactobacillus acidophilus* for colorectal cancer cell line Caco-2 through apoptosis induction. Pharmaceutical Sciences, 26(2), 262–270. https://doi.org/10.34172/PS.2020.52

Jung, Y.-O., Jeong, H., Cho, Y., Lee, E.-O., Jang, H.-W., Kim, J., et al. (2019). Lysates of a probiotic, *Lactobacillus rhamnosus*, can improve skin barrier function in a reconstructed human epidermis model. International Journal of Molecular Sciences, 20(17), Article 4289. https://doi.org/10.3390/ijms20174289

Lee, H., & Kim, S. (2020). Evaluation of safety and efficacy of microbial-based therapeutics. Frontiers in Microbiology, 11, Article 512. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00512

Li, Q., Hu, W., Liu, W. X., Zhao, L. Y., Huang, D., Liu, X. D., et al. (2021). Streptococcus thermophilus inhibits colorectal tumorigenesis through secreting β-galactosidase. Gastroenterology, 160(4), 1179–1193.e14. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.09.003

Melnitchouk, N., Shabat, G., Lu, P., Lyu, H., Scully, R., Leung, K., et al. (2018). Colorectal cancer in Ukraine: Regional disparities and national trends in incidence, management, and mortality. JCO Global Oncology, 4, 1–9. https://doi.org/10.1200/JGO.18.00145

Miller, D., Smith, J., & Brown, L. (2020). Microbial metabolites as antitumor agents. Journal of Biotechnology, 310, 45–58. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.02.008

Modiri, S., Kasra Kermanshahi, R., Reza Soudi, M., Dad, N., Ebadzadeh, H., et al. (2021). Growth optimization of Lactobacillus acidophilus for production of antimicrobial peptide Acidocin 4356: Scale-up from flask to lab-scale fermenter. Iranian Journal of Biotechnology, 19(3), e2686. https://doi.org/10.30498/IJB.2021.2686

Moffett, B. S., Gutierrez, K., Davis, K., et al. (2019). Antipyretic efficacy of acetaminophen and ibuprofen in critically ill pediatric patients. Pediatric Critical Care Medicine, 20(8), e386–e393. https://doi.org/10.1097/PCC.0000000000002000

Patel, R., & Singh, A. (2021). Industrial scale-up of microbial bioactive agents. Applied Microbiology and Biotechnology, 105, 567–580. https://doi.org/10.1007/s00253-020-11045-9

Rahman, M. M., Grice, I. D., Ulett, G. C., & Wei, M. Q. (2024). Advances in bacterial lysate immunotherapy for infectious diseases and cancer. Journal of Immunology Research, 2024, Article 4312908. https://doi.org/10.1155/2024/4312908

Sawant, S. S., Patil, S. M., Gupta, V., & Kunda, N. K. (2020). Microbes as medicines: Harnessing the power of bacteria for cancer therapy. International Journal of Molecular Sciences, 21(20), Article 7575. https://doi.org/10.3390/ijms21207575

Siegel, R. L., Miller, K. D., Fuchs, H. E., & Jemal, A. (2024). Cancer statistics, 2024. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 74(1), 7–33. https://doi.org/10.3322/caac.21820

Sun, W., Ma, S., Meng, D., Wang, C., & Zhang, J. (2025). Advances in research on the intestinal microbiota in the mechanism and prevention of colorectal cancer (Review). Molecular Medicine Reports, 31(5), Article 133. https://doi.org/10.3892/mmr.2025.13498

TFZRJ Вакуумний гомогенізатор. (n.d.). https://sinobiotech.com.ua/vacymnuy-gomonizator/

Thoda, C., & Touraki, M. (2025). Molecular mechanisms of probiotic action against gastrointestinal cancers. International Journal of Molecular Sciences, 26(16), Article 7857. https://doi.org/10.3390/ijms26167857

Thompson, R., & Evans, D. (2020). Probiotics and cancer prevention: A review. Nutrients, 12(2), Article 393. https://doi.org/10.3390/nu12020393

Torabi, S., Nahidi, Y., Ghasemi, S. Z., Reihani, A., Samadi, A., Ramezanghorbani, N., Nazari, E., & Davoudi, S. (2025). Evaluation of skin cancer prevention properties of probiotics. Genes & Nutrition, 20(1), Article 12. https://doi.org/10.1186/s12263-025-00770-z

Tripathy, A., Dash, J., Kancharla, S., Kolli, P., Mahajan, D., et al. (2021). Probiotics as a complementary approach for management of colorectal cancer. Cancers, 13(13), Article 3178. https://doi.org/10.3390/cancers13133178

Vinderola, G., Benkowski, A., Bernardeau, M., et al. (2025). Postbiotics: A perspective on their quantification. Frontiers in Nutrition, 12, Article 1582733. https://doi.org/10.3389/fnut.2025.1582733

Wang, B., Pei, J., Xu, S., Liu, J., & Yu, J. (2023). Recent advances in mRNA cancer vaccines: Meeting challenges and embracing opportunities. Frontiers in Immunology, 14, Article 1246682. https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1246682

World Cancer Research Fund International. (n.d.-a). Cancer statistics. https://www.wcrf.org/preventing-cancer/cancer-statistics

World Cancer Research Fund International. (n.d.-b). Worldwide cancer data. https://www.wcrf.org/preventing-cancer/cancer-statistics/worldwide-cancer-data

World Health Organization. (2024, February 1). Global cancer burden growing, amidst mounting need for services. https://www.who.int/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services

Yue, Y., Wang, S., Shi, J., Xie, Q., Li, N., Guan, J., Evivie, S. E., & Liu, F. (2022). Effects of *Lactobacillus acidophilus* KLDS1.0901 on proliferation and apoptosis of colon cancer cells. Frontiers in Microbiology, 12, Article 788040. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.788040

Zhuo Q., Yu B., Zhou J., Zhang J., Zhang R., Xie J., Wang Q. & Zhao S. (2019). Lysates of *Lactobacillus acidophilus* combined with CTLA-4-blocking antibodies enhance antitumor immunity in a mouse colon cancer model. Scientific Reports. 9:20128 | https://doi.org/10.1038/s41598-019-56661-y

Zhao, Q., & Wang, Y. (2020). Microbial bio-products in cancer prevention. Trends in Biotechnology, 38(10), 1125–1138. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.03.009

Zhao, Y., Wang, R., Li, X., et al. (2023). Potential ability of probiotics to prevent colorectal cancer. Clinical Medicine Insights: Oncology, 17. https://doi.org/10.1177/11795549231188225