

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 «Фармацевтична біотехнологія»
(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і
мікробіології

Віктор СТАБНІКОВ

“ 01 ” листопада 2022 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Лозиній Владиславі Євгенійвні

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Базидієві гриби як джерело антивірусних сполук»

керівник роботи Красінько Вікторія Олегівна, к.т.н., доц,
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від 31 жовтня 2022 року № 780-кв

2. Строк подання здобувачем роботи 03.02.2023

3. Вихідні дані до роботи біологічний агент: *Agaricus brasiliensis*, цільовий продукт: сульфатовані полісахариди

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) РОЗДІЛ 1. Базидієві гриби як джерело сполук антивірусної дії. РОЗДІЛ 2. Біотехнологічні особливості одержання сполук вищих базидіальних грибів антивірусного спрямування. РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування виробництва лікарського засобу. РОЗДІЛ 4. Обґрунтування вибору технологічної схеми стадій виділення і очищення субстанції. РОЗДІЛ 5. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях. РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання. РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення сульфатованих полісахаридів та виробництва лікарського засобу «МІКОПОЛІСОЛ». РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва субстанції для ЛЗ. РОЗДІЛ 9. Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання ЛЗ. РОЗДІЛ 10. Опис лікарського засобу згідно АНД.

5. Перелік графічного матеріалу Технологічна схема виробництва – 1 аркуш формату А1. Апаратурна схема виробництва – 1 аркуш формату А0.

6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання 01 листопада 2022 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	<i>Базидієві гриби як джерело сполук антивірусної дії</i>	01.11.2022-10.11.2022	
2	<i>Біотехнологічні особливості одержання сполук вищих базидіальних грибів антивірусного спрямування</i>	11.11.2022-20.11.2022	
3	<i>Техніко-економічне обґрунтування виробництва лікарського засобу</i>	21.11.2022-30.11.2022	
4	<i>Обґрунтування вибору технологічної схеми стадій виділення і очищення субстанції</i>	01.12.2022-10.12.2022	
5	<i>Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях</i>	11.12.2022-20.12.2022	
6	<i>Специфікація обладнання</i>	21.12.2022-30.12.2022	
7	<i>Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення сульфатованих полісахаридів та виробництва лікарського засобу «МІКОПОЛІСОЛ»</i>	31.12.2022-08.01.2023	
8	<i>Контроль виробництва субстанції для ЛЗ</i>	09.01.2023-15.01.2023	
9	<i>Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання ЛЗ</i>	16.01.2023-22.01.2023	
10	<i>Опис лікарського засобу згідно АНД</i>	23.01.2023-31.01.2023	
11	<i>Оформлення пояснювальної записки</i>	16.01.2023-31.01.2023	
12	<i>Виконання графічної частини проекту</i>	11.12.2022-08.01.2023	

Здобувач

_____ (підпис)

Владислава ЛОЗІНА

_____ (ім'я та прізвище)

Керівник роботи

_____ (підпис)

Вікторія КРАСІНЬКО

_____ (ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

У кваліфікаційній магістерській роботі проведено аналіз наукових публікацій останніх років, присвячених антивірусним властивостям базидієвих грибів, розглянуто антивірусні властивості базидіоміцетів щодо вірусів людини: віруси грипу, простого герпесу, імунодефіциту, коронавірусу та інших; вірусів рослин, а саме вірусу тютюнової мозаїки; та вірусів тварин – тешовірусу, вірусу хвороби Ньюкасла та інфекційного гемопоетичного некрозу. Приділено увагу і біотехнологічним особливостям одержання антивірусних метаболітів вищих грибів: умовам культивування, особливостям післяферментаційного виділення і очищення різних активних сполук, дослідженням хімічної будови метаболітів та їх противірусної активності.

На основі літературних даних здійснено підбір найефективнішого біологічного агента - грибів *Agaricus brasiliensis* UFSC 51 та розроблені теоретичні підходи до біотехнологічного одержання препарату противірусного спрямування на основі грибних полісахаридів.

Представлено проект одержання лікарського засобу «МІКОПОЛІСОЛ» із субстанції сульфатованих полісахаридів за використання грибів *A. brasiliensis* UFSC 51, основними стадіями технологічного процесу якого є: відокремлення та термоліз біомаси, фільтрування, осадження етанолом, центрифугування, сульфатування полісахаридів, центрифугування, ультрафільтрація та ліофілізація, подрібнення та просіювання субстанції, наповнення та блістерування капсул, упаковка капсул, групова упаковка ЛЗ.

Кваліфікаційна робота викладена на 144 сторінках друкованого тексту, містить 12 таблиць і складається з вступу, 10 розділів, висновків, списку використаної літератури (97 джерела), додатків (9 додатків) та графічної частини (2 креслення формату А0 та А1).

Ключові слова: полісахариди, сульфатування, базидієві гриби, капсули, блістерування, субстанція.

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ.....	2
ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1. БАЗИДІЄВІ ГРИБИ ЯК ДЖЕРЕЛО СПЛУК АНТИВІРУСНОЇ ДІЇ.....	8
1.1. Антивірусна активність базидіоміцетів проти вірусів людини.....	8
1.1.1. Віруси грипу.....	8
1.1.2. Віруси простого герпесу.....	10
1.1.3. Вірус імунодефіциту людини.....	12
1.1.4. COVID-19.....	14
1.1.5. Інші види вірусів.....	14
1.2. Антивірусна активність базидіоміцетів проти вірусів рослин.....	20
1.2.1. Вірус тютюнової мозаїки.....	20
1.3. Активність базидіоміцетів проти вірусів тварин.....	24
РОЗДІЛ 2. БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОДЕРЖАННЯ СПЛУК ВИЩИХ БАЗИДІАЛЬНИХ ГРИБІВ АНТИВІРУСНОГО СПРЯМУВАННЯ.....	26
2.1 Умови культивування.....	26
2.2. Особливості післяферментаційного виділення і очищення.....	27
2.2.1. Особливості отримання екстрактів.....	27
2.2.2. Виділення і очищення меланінів.....	30
2.2.3. Виділення активних з'єднань.....	30
2.3. Дослідження хімічної будови та вмісту активних сполук.....	31
2.4. Дослідження противірусної активності.....	32
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ (ЛЗ).....	35
3.1. Аналіз фармакологічних властивостей цільового ЛЗ, галузей використання, потреби у ЛЗ (нинішня та враховуючи перспективи).....	35

3.2. Обґрунтування вибору форми випуску лікарського засобу (ЛЗ).....	37
3.2.1. Обґрунтування форми випуску ЛЗ.....	37
3.2.2. Обґрунтування вибору первинної і вторинної упаковки ЛЗ.....	40
3.3. Обґрунтування вибору біологічного агенту для отримання субстанції для інженерної частини роботи.....	42
3.4. Розрахунок потреби у субстанції для випуску ЛЗ та розрахунок річної потреби у культуральній рідині для одержання розрахункової кількості субстанції.....	47
РОЗДІЛ 4. ОБґРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ СТАДІЙ ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ.....	50
РОЗДІЛ 5. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ.....	58
РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ.....	66
РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ СУЛЬФАТОВАНИХ ПОЛІСАХАРИДІВ ТА ВИРОБНИЦТВА ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ «МІКОПОЛІСОЛ».....	73
РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ЛЗ.....	79
РОЗДІЛ 9. ОБґРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ЛЗ.....	87
9.1. Розрахунок річної потужності виробництва ЛЗ та кількості серій на рік.....	87
9.2. Обґрунтування вибору класів чистоти виробничих приміщень (підготовки персоналу, дезінфікуючих засобів, вентиляційного повітря).....	87
9.3. Обґрунтування вибору підготовки первинної упаковки.....	94
9.4. Обґрунтування вибору підготовки води.....	95
9.5. Вибір технологічних стадій та операцій, обладнання.....	96

РОЗДІЛ 10. ОПИС ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД (ПРОЕКТ АНД).....	100
ВИСНОВКИ.....	113
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	114
ДОДАТКИ.....	130

ВСТУП

Віруси – генетично різноманітні організми, що визивають інфекції у рослин, тварин та людей.

Серед усіх патогенів, що викликають захворювання рослин, віруси являють собою значний ризик для сільського господарства. Згідно літературних даних, біля половини інфекційних захворювань серед різних культур рослин призводить до 40% загальних втрат врожаю. Тому віруси представляють собою один з основних обмежувачів сільськогосподарського виробництва у всьому світі, знижуючи як якість так і кількість продовольчих культур [1].

Більше 75% нещодавно виявлених інфекційних захворювань, вражаючих людей, мають тваринне походження (ВІЛ, лихоманка, грип) і передаються в природних умовах від диких чи домашніх хребетних тварин, що призводить до виникнення зоонозних інфекцій чи епідемій [2].

Боротьба з вірусними захворюваннями, здатними призводити до епідемій та пандемій, являється важливою та актуальною проблемою сучасної науки. Вірусні інфекції визивають такі небезпечні захворювання, як вірусний гепатит, натуральна віспа, кір, поліомієліт, ВІЛ, СНІД, герпес, грип, COVID-19, тощо [3]. Згідно даних МОЗ, станом на жовтень 2021 року, в Україні було зафіксовано: 324 випадки вірусного гепатиту, 3 випадки грипу [4], 945 випадків ВІЛ-інфекції, у 231 пацієнта діагностовано СНІД [5]. І це все за один місяць, не кажучи про кількість захворювань на COVID-19 за добу.

Вірус простого герпесу другого типу – нейротропний вірус людини, що вражає слизові оболонки статевих органів. Хоча інфекція часто протікає субклінічно, вірус простого герпесу може визивати легкі або тяжкі захворювання, особливо у немовлят та людей з ослабленим імунітетом [6].

На даний момент не існує лікування стійкої інфекції герпесу, а

					НУХТ БТЕК 02.02.07 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Лозіна В.Є.			Вступ	Літера	Аркуш	Аркушів
Перевір.		Красінько В.О.					6	144
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

довготривала терапія наявними протигерпетичними лікарськими засобами призвела до появи стійких штамів вірусу. Більш того, вірус простого герпесу другого типу було описано як фактор ризику ВІЛ-інфекції.

Згідно даних наукової літератури метаболіти більшості видів грибів, зокрема отримані з них сполуки, що належать до різних класів (полісахариди, терпеноїди, тощо), здатні інгібувати розвиток вірусів. Біологічна активність базидіальних грибів визначається присутністю активних компонентів у складі плодових тіл, міцелію та у культуральній рідині [7].

Препарати природного походження в порівнянні з синтетичними лікарськими засобами, володіють м'якою терапевтичною дією та низькою токсичністю, внаслідок чого можуть застосовуватися протягом тривалого часу [8]. Це дає можливість розробляти більш ефективні препарати на комплексній основі, які впливають на різні етапи реплікації вірусу [9].

Механізм дії сульфатованих полісахаридів базидіального гриба *Agaricus brasiliensis* UFSC 51 полягає в інгібуванні різних етапів циклу реплікації вірусу простого герпесу, в основному адсорбції, проникнення, експресії вірусних білків та поширення вірусу між клітинами [6].

Актуальність роботи. Приймаючи до уваги багатообіцяючу протигерпетичну активність сульфатованого полісахариду, бачимо перспективу та економічну доцільність в дослідженні даного полісахариду та побудові біотехнологічного підприємства з виробництва лікарського засобу «МІКОПОЛІСОЛ» на його основі [6].

Новизною роботи є виділення полісахаридів з міцеліальної маси гриба *A. brasiliensis* UFSC 51 та їх сульфатування, що посилює антивірусну дію, з подальшим виробництвом протигерпетичного лікарського засобу «МІКОПОЛІСОЛ» на їх основі, використовуючи при цьому новітнє промислове обладнання для отримання максимально якісного продукту та апаратне оформлення процесу на основі пошуку і ґрунтового аналізу наукової та патентної літератури.

РОЗДІЛ 1

БАЗИДІЄВІ ГРИБИ ЯК ДЖЕРЕЛО СПОЛУК АНТИВІРУСНОЇ ДІЇ

1.1. Антивірусна активність базидіоміцетів проти вірусів людини

Боротьба з вірусними інфекційними захворюваннями, які можуть спричинити епідемії та пандемію, є актуальною і важливою проблемою сьогодення. Все більш гостро постає питання щодо розробки нових протівірусних препаратів. З наукових джерел відомо, що багато видів базидіальних грибів мають різні класи речовин здатні інгібувати розвиток вірусів.

1.1.1. Віруси грипу

Вірус грипу, що належить до родини *Orthomyxoviridae*, є вірусом з оболонкою і класифікується на типи А, В, С і D та поділяється на різні серотипи на основі глікопротеїнів. Геном вірусів грипу А і В містить вісім сегментів одноланцюгової негативно-сміслової РНК, а вірусів грипу С і D – сім сегментів. Вірусний геном кодує гемаглютинін, нейрамінідазу (NA), нуклеокапсидний білок, RdRp, матричні білки (M1 і M2) і неструктурні білки (NS1 і NS2). Віруси грипу А і В пов'язані з сезонними епідеміями грипу [95].

Зважаючи на розповсюдженість вірусу, яка у певні роки носить епідемічний і, навіть, пандемічний характер, зрозумілою є зацікавленість вчених у пошуках дієвих засобів боротьби з вірусом грипу.

Проведені дослідження щодо антивірусної активності водних екстрактів із міцеліальної маси 11 базидіальних грибів: *Laricifomes officinalis*, *Ganoderma valesiacum*, *Phellinus conchatus*, *Datronia mollis*, *Lenzites betulina*, *Piptoporus betulinus*, *Trametes gibbosa*, *T. versicolor*, *Ischnoderma benzoinum*, *Irpex lacteus*, *Deadaleopsis confragosa* проти вірусу грипу типу А пташиного (H5N1) та людського (H3N2) показали найбільшу інгібуючу активність проти пташиного

					НУХТ БТЕК 02.02.07 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.	Лозіна В.Є.				РОЗДІЛ 1. Базидієві гриби як джерело сполук антивірусної дії	Літера	Аркуш	Аркушів
Перевір.	Красінко В.О.						8	144
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.	Стабніков В.П.							

вірусу грипу H5N1 екстракту *D. mollis*, а проти людського H3N2 - екстракту *T. versicolor* [10].

Корейські вчені дослідили антивірусну активність водних екстрактів *Phellinus igniarius* щодо вірусу грипу типу А та В, включаючи пандемічний H1N1 2009 року, людський H3N2, пташиний H9N2 та осельтамівір-резистентний вірус H1N1. Найбільшу інгібуючу активність проявляє водний екстракт *P. igniarius* по відношенню до вірусу людського грипу H3N2 [11].

Гао та команда вчених дослідили антивірусну активність водного екстракту *Cryptoporus volvatus* проти пандемічного вірусу грипу H1N1 2009 року, вірусу сезонного грипу А H3N2 та вірусу H1N1 (A/WSN). Екстракт був отриманий шляхом замочування подрібнених плодових тіл гриба, центрифугуванням та ліофілізацією супернатанту. Найбільше інгібування вірусів досягалося при концентрації екстракту 5 мг/мл [12].

Hwang B. та ін. дослідили антивірусну активність сполук, отриманих із плодових тіл *Phellinus baumii*, проти вірусу грипу H1N1, H5N1 та H3N2. В ході послідовного екстрагування, хроматографування та розділення було отримано 5 компонентів: гіспідин, гіфоломін В, іноскавін А, даваліалакон та фенігридин D. Найкращу інгібуючу дію на нейрамідіази рекомбінантних вірусів грипу H1N1, H5N1 та H3N2 показав фелігрідин D (IC_{50} = 8,8; 10,9; 10,3 μ M відповідно) [13].

Song та інші науковці виділили із *P. ignarius* 7 компонентів та дослідили їх антивірусну активність щодо вірусу грипу А H5N1. Було встановлено, що виявлений новий сесквітерпеноїд найкраще інгібує нейрамідіазу вірусу грипу А H5N1 (IC_{50} =0,657 μ M; EC_{50} =0,14 μ M) [14].

Іллічова та команда вчених досліджували антивірусну активність меланіну, отриманого з *Inonotus obliquus* проти вірусу грипу А H1N1. Меланіни виділяли з культуральної рідини та міцелію. Мінімальна доза при якій проявлялась антивірусна активність – 9,8 мкг/мл, максимальний IS=160 [15].

Українськими вченими разом з Круподьоровою було досліджено антивірусну активність грибних екстрактів, отриманих із базидіоміцетів різних таксономічних груп, зокрема видів *Auriporia aurea*, *Flammulina velutipes*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes*, *Lyophyllum shimeji*, *Pleurotus eryngii*, *P. ostreatus*, *Schizophyllum commune*, *Trametes versicolor* щодо вірусу грипу типу А (H1N1). Найбільшу антивірусну активність проти вірусу грипу проявили міцеліальні екстракти *L. edodes*, *G. lucidum* та *T. versicolor* ($EC_{50} = 0,077$ мг/мл) [16].

1.1.2. Віруси простого герпесу

Вірус простого герпесу (ВПГ) – це дволанцюговий вірус із оболонкою, що належить до родини *Herpesviridae*. ВПГ характеризується двома серотипами: ВПГ-1 і ВПГ-2. ВПГ-1 може викликати гінгівостоматит, герпес на губах, енцефаліт, герпетичний кератит і генітальний герпес, тоді як ВПГ-2 асоціюється з генітальною інфекцією, неонатальним герпесом і герпетичною пароніхією. Вірусний геном кодує >80 різних білків і поділяється на ранні (IE або α), ранні (E або β) і пізні (L або γ) гени. Гени IE негайно транскрибуються в білки IE. Білки IE, включаючи ICP0, ICP4 та ICP27, є регуляторами транскрипції, необхідними для транскрипції генів E та L. Гени E кодують білки, відповідальні за метаболізм нуклеотидів і ДНК (UL2, UL12, UL23, UL40 і UL50), реплікацію вірусу (UL5, UL30 і UL42) і модифікацію білка (US3). L-гени, такі як UL10, UL18, UL27 і US4, транскрибуються в білки вірусної структури, такі як глікопротеїн і капсидний білок [95].

Отже, зважаючи на тяжкість перебігу хвороб, спричинених вірусом простого герпесу, пошук антигерпетичних сполук серед грибних метаболітів також є актуальним.

Так, у дослідженні [16] авторами була протестована антивірусна активність цих грибних екстрактів щодо вірусу простого герпесу 2 типу. Встановлено, що найбільшу противірусну активність проти ВПГ-2 проявляє міцеліальний екстракт *T. versicolor* ($EC_{50} = 0,077$ мг/мл).

Разумов І. А. разом з командою вчених дослідили антивірусну та протективну активність екстрактів із грибів *L. edodes*, *I. obliquus*, *Hydnellum compactum*, *P. ostreatus* проти вірусу простого герпесу типу 2. Підготовка екстрактів для кожного виду базидіоміцета була індивідуальною, з виходом 4, 20, 5.5, 4 мг/мл маси сухих речовин для кожного гриба відповідно [17].

В іншому своєму дослідженні Разумов з командою вчених вивчали антивірусну активність екстрактів та полісахаридних фракцій отриманих з грибів *G. lucidum*, *P. ostreatus*, *P. cilrinopileatus*, *L. edodes*. Найбільшу противірусну активність виявляє водний екстракт *G. lucidum* [18].

Бразильські вчені дослідили антивірусні властивості сульфатованої похідної полісахариду, віділеного з *Agaricus brasiliensis*, проти вірусу простого герпесу 1 та 2 типу. Для отримання сульфатованого похідного, спочатку було виділено полісахарид із зневодненої міцеліальної маси, який потім сульфатували за допомогою реактиву піридин-хлорсульфонової кислоти [6].

Іспанські вчені дослідили антивірусну активність водних та метанольних екстрактів, а також полісахаридних фракцій, виділених з водних екстрактів грибів *Boletus edulis*, *L. edodes*, *P. ostreatus*, проти вірусу простого герпесу типу 1. Найбільшу активність проявляє полісахаридна фракція із *L. edodes* (індекс селективності (відношення токсичної концентрації при якій гине 50% клітинного моношару (TC_{50}) до IC_{50}) $SI = 167,62$) та суміші *L. edodes* з *P. ostreatus* ($SI = 174,91$) [19].

Ананько та ін. дослідили антивірусну активність меланіну, отриманого з *I. obliquus*, вирощених на середовищах ГТС з різними модифікаціями, проти вірусу простого герпесу типу 2. Встановлено, що при додаванні іонів міді до поживного середовища збільшує вихід меланіну майже в 5 разів. Тому антивірусну активність досліджували на зразках вирощених на ГТС з Купрумом та без. Виявилось, що найбільша активність проявляється в очищеному меланіні виділеному з культури, вирощеної на ГТС ($IC_{50} = <4,9$ мкг/мл), ніж тих, що вирощувались з додаванням міді ($IC_{50} = 60-75$ мкг/мл) [20].

Носік та ін. провели дослідження щодо антивірусної активності меланінів *I. obliquus* проти вірусу простого герпесу типу 1. Мінімальна доза при якій виявлялась протигерпетична активність – 50 мкг/мл [21].

1.1.3. Вірус імунодефіциту людини

Вірус імунодефіциту людини (ВІЛ), що належить до родини *Retroviridae*, є оболонковим вірусом, що містить позитивну одноланцюгову РНК. Гени ВІЛ кодують 15 вірусних білків, включаючи вірусні структурні білки, такі як вірусні ферменти та оболонку, важливі регуляторні елементи та додаткові регуляторні білки. Існує два типи ВІЛ: ВІЛ-1 і ВІЛ-2. ВІЛ-1 більш тісно пов'язаний із всесвітньою епідемією синдрому імунодефіциту, ніж ВІЛ-2 [95].

Оскільки ВІЛ вражає клітини, відповідальні за імунну відповідь (CD4 Т-клітини, макрофаги та дендритні клітини), він робить організм людини повністю беззахисним від інфекцій і, навіть пухлин. Таким чином, пошук сполук грибної природи, активних проти ВІЛ, має значну актуальність.

У дослідженні антивірусної активності меланінів *I. obliquus* проти ВІЛ-1 було встановлено, що меланін при концентрації 10 мкг/мл захищав клітини від ВІЛ-1 на 92,4%, EC_{50} (50%-ва ефективна концентрація) – 3,7 мкг/мл [21].

Колумбійські вчені дослідили антивірусну активність ферментних екстрактів (ФЕ), збагачених лаказою, отриманих з *Ganoderma sp.* та *Lentinus sp.* проти ВІЛ-1. Найбільший відсоток інгібування реплікації ВІЛ-1 показав зразок отриманий з *Lentinus sp.* – 86,4% при концентрації ФЕ 2466 од/л. Максимальне інгібування ранніх транскриптів показав зразок *Lentinus sp.* – 91,3% при концентрації 1233 од/л, а пізніх транскриптів – зразок *Ganoderma sp.* – 93,6% при концентрації 3437 од/мл [22].

Таїландські вчені дослідили антивірусну активність екстрактів *Lignosus rhinoceros*. Гексановий екстракт показав високу інгібуючу активність *in vitro* проти протеази ВІЛ-1. Етанольний та водний екстракти пригнічували активність протеази та зворотньої транскриптази ВІЛ-1 *in vitro*. Аналіз на основі клітин показав, що при концентрації 0,5 мг/мл водного екстракту значно пригнічується реплікація ВІЛ-1 [23].

Ці самі вчені дослідили антивірусну активність гексанового, етанольного та водного екстракту гриба *Auricularia polytricha*. Із водного екстракту додатково виділили 4 фракції для аналізу щодо антивірусної активності проти ВІЛ-1. Гексановий екстракт (1 мг/мл) показав найбільшу інгібуючу активність щодо протеази ВІЛ-1 ($71,07 \pm 2,17\%$, IC_{50} (інгібуюча концентрація при якій 50% моношару клітин залишається захищеною від дії вірусу) = $0,80 \pm 0,08$ мг/мл) [24].

Шибнев В. А. та ін. дослідили антивірусну активність *I. obliquus* щодо вірусу імунодефіциту людини. Із чаги було отримано 4 фракції (водні екстракти), багаті поліфенілкарбонowymi кислотами: перша екстрагувалась водою, друга – 70% спиртом, третя – включала деструктивну целюлозу та лігнін, четверта – екстрагувалась 12% аміаком. Найбільшу активність проявили I та II фракції у концентрації 5 мкг/мл (77,3% і 77,9% захисту клітин відповідно при 0,01 ЦПД₅₀/кл (тканинна цитопатична доза, що викликає 50% загибель моношару клітин) та 66,9% і 44,9% відповідно при 0,1 ЦПД₅₀/кл) [25].

Пекінські вчені дослідили активність лакази, виділеної з плодових тіл *Coprinus comatus*, щодо ВІЛ-1. Очищена лаказа проявила інгібуючу активність щодо зворотної транскриптази ВІЛ-1 ($IC_{50}=5,85$ μ М) [26].

Китайські вчені дослідили антивірусну активність металопротеїнази із *Lepista nuda* проти ВІЛ-1. Для виділення протеїнази висушені плодові тіла гриба гомогенізували, центрифугували та відбирали осад для подальшого очищення протеїнази на колонці. Встановлено, що протеїназа проявила інгібуючу активність щодо зворотної транскриптази ВІЛ-1 ($IC_{50}=4,00$ μ М) [27].

Sun J. та ін. виділили із водного екстракту *L. edodes* 10 фракцій, які були отримані шляхом поступової хроматографії спочатку екстракту, а потім кожної отриманої фракції. Одна із фракцій була ідентифікована як лаказа. Встановили, що лаказа проявила інгібуючу активність щодо зворотної транскриптази ВІЛ-1 ($IC_{50}=7,5$ μ М) [28].

1.1.4. COVID-19

Вірус nCoV - це поліаденілований, оболонковий, позитивний, одноланцюговий вірус великої РНК, який належить до роду β -вірусів і є на 96% ідентичним кажанячому SARS-подібному коронавірусу [96]. Станом на 27 грудня 2022 року зафіксовано 662,4 млн випадки інфікування коронавірусом, з яких 6,68 млн мали летальний наслідок [97]. В основному він вражає легені, експлуатуючи рецептор ACE2 (ангіотензинперетворюючого ферменту II) для рецепторно-опосередкованого ендоцитозу в альвеолярні епітеліальні клітини легень хазяїна, активуючи як вроджені, так і адаптивні імунні відповіді в організмі хазяїна, що призводить до неконтрольованих запальних вроджених і порушених адаптивних імунологічних реакцій [96].

Спалах SARS-CoV-2 по вьому світу та пов'язані з ним наслідки становлять загрозу для організацій охорони здоров'я та економіки багатьох країн. Відсутність спеціальної терапії проти нового вірусу вимагає створення нових лікарських засобів, тому пошук грибних метаболітів, що проявляють антиковідну дію є актуальним направленням сьогодення.

Li X. та команда вчених дослідили антивірусну активність метаболітів *P. pini* щодо SARS-CoV-2. Із висушених плодових тіл гриба отримали метаноловий екстракт, який фракціонували хроматографічними методами з отриманням восьми з'єднань. Найбільшу інгібуючу активність проти взаємодії SARS-CoV-2 Spike-ACE2 показав пінітерпеноїд А ($IC_{50}=64,5 \mu M$) [29].

Теплякова та ін. дослідили антивірусну активність екстрактів чаги *I. obliquus* проти SARS-CoV-2 штам nCov/Victoria/1/2020. Із висушених плодових тіл було приготовано 5 зразків (водних екстрактів) за індивідуальною технологією. Один із зразків показав найкращий результат на клітинах Vero по значенню $IC_{50}=0,759$ мкг/мл та $SI=155,5$ при масі сухих речовин 2,0 мг/мл [30].

1.1.5. Інші види вірусів

Як об'єкти для дослідження антивірусних властивостей автори [31] використовували такі базидіальні гриби як *Fomitopsis officinalis*

(модринофомес лікарський), *I. obliquus* (чага), *Ganoderma applanatum* (трутовик плоский). Із них було приготовано водні екстракти, а із чаги додатково отримано меланін. Найбільшу протівірусну активність проти вірусу вісповакцини показав отриманий з чаги меланін, а проти вірусу натуральної віспи: водний екстракт з плодових тіл модринофомесу лікарського та екстракти чаги.

Німецькі вчені виділили із *Hohenbuehelia grisea* 4-гідроксиплеврогризин який проявив антивірусну активність проти вірусу гепатиту С. Штам культивували поживних середовищах, де глюкоза виступала джерелом вуглецю [32].

Разумов та команда також дослідили активність екстрактів та полісахаридних фракцій грибів *G. lucidum*, *P. ostreatus*, *P. cilrinopileatus*, *L. edodes* проти вірусу Західного Нілу. Було встановлено, що найбільшу антивірусну активність проявляє водний екстракт *G. lucidum* [18].

Узагальнюючі дані щодо антивірусної активності базидіоміцетів проти вірусів людини, а саме: вірусу простого герпесу першого та другого типу, вірусу імунодефіциту людини, вірусів грипу, COVID-19 та інших видів вірусів наведено в таблиці 1.1.

Базидіоміцети як продуценти антивірусних метаболітів

Продуцент	Діюча речовина	Збудник	Антивірусна активність	Джерело
Віруси грипу				
<i>L. officinalis</i>	Водний екстракт	Вірус грипу типу А пташиного († H5N1) та людського (‡ H3N2)	^h 0,12 мг/мл [†] ID=3,0 lg [‡] ID=1,5 lg	[10]
<i>G. valesiacum</i>			0,067 мг/мл ID=2,0 lg ID=0,8 lg	
<i>P. conchatus</i>			0,0001 мг/мл ID=2,5 lg ID=1,0 lg	
<i>D. mollis</i>			0,00001 мг/мл ID=3,5 lg ID=2,1 lg	
<i>L. betulina</i>			0,000001 мг/мл ID=3,3 lg ID=0,9 lg	
<i>P. betulinus</i>			0,0067 мг/мл ID=1,5 lg ID=1,1 lg	
<i>P. igniarius</i>	Водний екстракт	Вірус грипу пандемічний H1N1 2009 року	IC ₅₀ =0,18 мг/мл	[11]
		H1N1	IC ₅₀ = 0,36 мг/мл	
		H3N2	IC ₅₀ = 1,14 мг/мл	
		Людський В	IC ₅₀ = 0,99 мг/мл	
		Пташиний H9N2	IC ₅₀ =0,56 мг/мл	
<i>C. volvatus</i>	Водний екстракт	Пандемічний вірус грипу H1N1 2009 року	^a 2,4 ТЦД ₅₀ /мл	[12]
		Вірус сезонного грипу А H3N2	2,6 ТЦД ₅₀ /мл	
		Вірус H1N1 (A/WSN)	1,7 ТЦД ₅₀ /мл	
<i>P. baumii</i>	Гіспідин	Нейрамінідаза вірусу грипу ^б H1N1, ^в H5N1 та ^г H3N2	^б IC ₅₀ =50,9 μM ^в IC ₅₀ =16,9 μM ^г IC ₅₀ =45,2 μM	[13]
	Гіфоломін В		IC ₅₀ =22,9 μM IC ₅₀ =12,3 μM IC ₅₀ =14,6 μM	
	Іноскавін А		IC ₅₀ =20,0 μM IC ₅₀ =18,5 μM IC ₅₀ =18,5 μM	
	Даваліалакон		IC ₅₀ =14,2 μM IC ₅₀ =21,8 μM IC ₅₀ =21,1 μM	

	Фелігридин D		IC ₅₀ =8,8 μM IC ₅₀ =10,9 μM IC ₅₀ =10,3 μM	
<i>P. ignarius</i>	Сесквітерпеноїд (eudesm-1b, 6a, 11-triol)	Нейрамінідаза вірусу грипу А H5N1	IC ₅₀ =0,657 μM SI=609,93	[14]
<i>I. obliquus</i>	Меланін з КР	Вірус грипу А H1N1	EC ₅₀ =47 ± 12 мкг/мл IS=50±15	[15]
	Меланін міцелію №1		EC ₅₀ =9,8 ± 1,6 мкг/мл IS=32±7	
	Меланін міцелію №2		EC ₅₀ =12,5 ± 2 мкг/мл IS=160±30	
	Меланін міцелію №3		EC ₅₀ =40 ± 4,4 мкг/мл IS=62,5±21	
<i>P. eryngii</i>	Міцеліальні екстракти	Вірус грипу H1N1	EC ₅₀ = 5 мг/мл	[16]
<i>L. shimeji</i>			EC ₅₀ = 0,62 мг/мл	
<i>P. ostreatus</i>			EC ₅₀ = 2,5 мг/мл	
<i>S. commune</i>			EC ₅₀ = 0,62 мг/мл	
<i>L. edodes</i>			EC ₅₀ = 0,077 мг/мл	
<i>F. velutipes</i>			EC ₅₀ = 1,25 мг/мл	
<i>F. fomentarius</i>			EC ₅₀ = 0,62 мг/мл	
<i>A. aurea</i>			EC ₅₀ = 0,62 мг/мл	
<i>G. lucidum</i>			EC ₅₀ = 0,077 мг/мл	
<i>T. versicolor</i>			EC ₅₀ = 0,077 мг/мл	
Віруси простого герпесу першого та другого типу				
<i>P. ostreatus</i>	Міцеліальні екстракти	ВПГ-2	EC ₅₀ = 0,155 мг/мл	[16]
<i>F. fomentarius</i>			EC ₅₀ = 0,62 мг/мл	
<i>A. aurea</i>			EC ₅₀ = 0,155 мг/мл	
<i>T. versicolor</i>			EC ₅₀ = 0,077 мг/мл	
<i>L. edodes</i>	Водний екстракт	ВПГ-2	^д 0,4 мг – 100%	[17]
<i>I. obliquus</i>			2 мг – 90%	
<i>H. compactum</i>			0,55 мг – 90%	
<i>P. ostreatus</i>			0,4 мг – 100%	
<i>G. lucidum</i>	Водний екстракт	ВПГ-2	1/40-1/320 для 10 БУО ВПГ-2	[18]
<i>P. astreatus</i>			1/20-1/40 для 10 БУО ВПГ-2	
<i>P. cilrinopileatus</i>			1/10 для 10 БУО ВПГ-2	
<i>L. edodes</i>			1/20-1/40 для 10 БУО ВПГ-2	
<i>A. brasiliensis</i>	Сульфатована похідна полісахариду	ВПГ-1(КОС)	IC ₅₀ = 5,5 мкг/мл	[6]
		ВПГ-1 (29R)	IC ₅₀ = 11,62 мкг/мл	

		ВПГ-2 (333)	IC ₅₀ = 4,3 мкг/мл	
<i>L. edodes</i>	Водний екстракт	ВПГ-1	IC ₅₀ =27,04 мкг/мл SI=14,21	[19]
	Метанольний екстракт		IC ₅₀ =96,44 мкг/мл SI=8,2	
	Полісахаридні фракції		IC ₅₀ =4,7 мкг/мл SI=167,62	
<i>B. edulis</i>	Водний екстракт	IC ₅₀ =35,12 мкг/мл SI=13,96		
	Метанольний екстракт	IC ₅₀ =86,17 мкг/мл SI=13,25		
	Полісахаридні фракції	IC ₅₀ = 5,96 мкг/мл SI=142,82		
<i>P. ostreatus</i>	Водний екстракт	IC ₅₀ =26,69 мкг/мл SI=15,15		
	Метанольний екстракт	IC ₅₀ =94,24 мкг/мл SI=10,65		
	Полісахаридні фракції	IC ₅₀ =4,8 мкг/мл SI=163,38		
<i>L. edodes</i> + <i>B. edulis</i>	Полісахаридні фракції	IC ₅₀ =5,9 мкг/мл SI=141,40		
<i>L. edodes</i> + <i>P. ostreatus</i>		IC ₅₀ =4,53 мкг/мл SI=174,91		
<i>B. edulis</i> + <i>P. ostreatus</i>		IC ₅₀ =6,02 мкг/мл SI=132,68		
<i>L. edodes</i> + <i>B. edulis</i> + <i>P. ostreatus</i>		IC ₅₀ =5,74 мкг/мл SI=139,58		
<i>I. obliquus</i>	Меланін з культуральної рідини (без міцелію)	ВПГ-2	IC ₅₀ =9,2±1,3 мкг/мл IS > 513	[20]
<i>I. obliquus</i>	Меланіни Зразок 2	ВПГ-1	≈87,5% при 50 мкг/мл 100% при 100 і 250 мкг/мл	[21]
	Зразок 3		100% при 50, 100, 250 мкг/мл	
	Зразок 4		100% при 50, 100, 250 мкг/мл	
Вірус імунодефіциту людини				
<i>I. obliquus</i>	Меланіни Зразок 1	ВІЛ-1	≈73,6% при 150 мкг/мл	[21]
	Зразок 2		27% при 400 мкг/мл	
	Зразок 4		92,4% при 10 мкг/мл EC ₅₀ =3,7 мкг/мл IS=35	

<i>Ganoderma sp.</i>	Ферментні екстракти збагачені лаказою	ВІЛ-1	* 60,8% ³ 866% и 93,6%	[22]
<i>Ganoderma sp.</i>			68,1% - -	
<i>Lentinus sp.</i>			86,4% 91,3% 90,5%	
<i>L. rhinoceros</i>	Гексановий екстракт	Протеаза ВІЛ-1 (PR)	88,97% PR 9,94% RT	[23]
	Етанольний екстракт	Зворотня транскриптаза	33,43% PR 55,03 RT	
	Водний екстракт	ВІЛ-1 (RT)	25,72% PR 55,56% RT	
<i>A. polytricha</i>	Гексановий екстракт	Протеаза ВІЛ-1	71,07 ± 2,17%	[24]
	Етанольний екстракт		43,82 ± 1,04%	
	Водний екстракт		14,80 ± 1,96%	
<i>I. obliquus</i>	Фракція 1	ВІЛ-1	и 77,3 % к 66,9 %	[25]
	Фракція 2		77,95 % 44,9 %	
	Фракція 3		34,2 % 18,8 %	
	Фракція 4		22,7 % 18,8 %	
<i>C. comatus</i>	Лаказа	Зворотня транскриптаза	IC ₅₀ =5,85 μM	[26]
<i>L. nuda</i>	Металопротеїназа		IC ₅₀ =4,00 μM	[27]
<i>L. edodes</i>	Лаказа		ВІЛ-1	IC ₅₀ =7,5 μM
COVID-19				
<i>P. pini</i>	Пінітерпеноїд А	SARS-CoV-2 Spike-ACE2	IC ₅₀ =64,5 μM	[29]
	Пінітерпеноїд В		IC ₅₀ =94,4 μM	
	Пінітерпеноїд С		IC ₅₀ =76,1 μM	
	Пінітерпеноїд D		IC ₅₀ =95,1 μM	
	Перикотерпеноїд А		IC ₅₀ =99,1 μM	
<i>I. obliquus</i>	Водний екстракт	SARS-CoV-2 штам nCov/Victoria /1/2020	IC ₅₀ =2,766 -5,979 мкг/мл	[30]
	Водний екстракт		IC ₅₀ =3,7-5,578 мкг/мл	
	Водний екстракт		IC ₅₀ =2,16-2,498 мкг/мл	
	Водний екстракт		IC ₅₀ =11,609 мкг/мл	
	Водний екстракт		IC ₅₀ =0,759 мкг/мл	

<i>Інші види вірусів</i>				
<i>F. officinalis</i>	Водний екстракт	Вірус вісповакцини	SI=2	[31]
		Вірус натуральної віспи	SI=4	
<i>I. obliquus</i>	Водний екстракт	Вірус натуральної віспи	SI>9	
	Меланін	Вірус вісповакцини	SI=12,5	
<i>H. grisea</i>	4-гідрокси-плеврогризин	Вірус гепатиту С	IC ₅₀ =2,5** нг/мкл	[32]
<i>G. lucidum</i>	Водний екстракт	Вірус Західного Нілу (ВЗН)	1/160-1/1280 для 1000 ТЦД ₅₀ ВЗН	[18]
<i>P. astreatus</i>	Водний екстракт та сумарна		1/10-1/80 для 1000 ТЦД ₅₀ ВЗН	
<i>L. edodes</i>	полісахаридна фракція (СПФ)		1/160 для 1000 ТЦД ₅₀ ВЗН	

SI – індекс селективності (відношення токсичної концентрації при якій гине 50% клітинного моношару (TC₅₀) до IC₅₀)

IC₅₀ – інгібуюча концентрація при якій 50% моношару клітин залишається захищеною від дії вірусу.

EC₅₀ – 50%-ва ефективна концентрація, яка спричиняє ефект проти вірусу.

ТЦД₅₀ – тканинна цитопатична доза, що викликає 50% загибель моношару клітин.

БУО – бляшкоутворюючі одиниці

^h - ефективна доза екстракту для нейтралізації вірусу грипу H5N1 та H3N2

^l – індекс нейтралізації для вірусу грипу H5N1

^к - індекс нейтралізації для вірусу грипу H3N2

^a – при концентрації екстракту 5 мг/мл

^б – інгібуюча концентрація для вірусу H1N1

^в – інгібуюча концентрація для вірусу H5N1

^г – інгібуюча концентрація для вірусу H3N2

^д - кількість сухої речовини у водному екстракті, введеної інфікованій тварині

^е – відсоток захисту клітин від 100 ТЦД₅₀ ВПГ-1 при відповідній концентрації

^є – відсоток захисту клітин від ВІЛ-1 при відповідній концентрації

^ж – відсоток інгібування реплікації ВІЛ-1

^з – відсоток інгібування ранніх транскриптів ВІЛ-1

^и – відсоток інгібування пізніх транскриптів ВІЛ-1

^й – відсоток інгібування 0,01 ТЦД₅₀/кл ВІЛ-1 при концентрації речовини 5,0 мкг/мл

^к – відсоток інгібування 0,1 ТЦД₅₀/кл ВІЛ-1 при концентрації речовини 5,0 мкг/мл

1.2. Антивірусна активність базидіоміцетів проти вірусів рослин

1.2.1. Вірус тютюнової мозаїки

В своєму іншому дослідженні Круподьорова вивчала антивірусну активність культуральної рідини *Ganoderma applanatum* та *G. lucidum* проти вірусу тютюнової мозаїки на рослинах дурману. Найбільшу активність

показав штам *G. lucidum*, інгібуюча дія якого проявилась вже за концентрації 10 мг/мл та досягла свого максимуму не змінюючись при цьому за підвищення концентрації до 100 мг/мл [33].

Коваленко з командою дослідили активність водного, кислотного та лужного екстрактів глікану, отриманих з трьох штамів *Ganoderma adspersum*, щодо вірусу тютюнової мозаїки, *in vitro* з використанням надчутливих рослини дурману (*Datura stramonium* L.). Найактивнішим препаратом виявився водний екстракт глікану, пригнічення вірусу на 50% спостерігається при концентрації 1 мкг/мл, а на 90% при концентрації 10-100 мкг/мл [34].

В своєму наступному дослідженні Коваленко з колегами визначали антивірусну активність глікан-гліколіпідних комплексів (ГГК), *in vitro* на рослинах дурману (*D. stramonium* L.), наступного складу (г/л):

ГГК-1: глюкуронооксиломан (ГКМ) гриба *Tremella mesenterica* (2) + рамноліпід *Pseudomonas* sp. PS-17 (0,1);

ГГК-2: глікан *Ganoderma adspersum* (0,5) + рамноліпід *Pseudomonas* sp. PS-17 (0,1);

ГГК-3: ГКМ (0,7) + манан *Candida maltosa* (0,17) + глікан (0,17) + рамноліпід (0,1).

Найбільше пригнічення вірусу тютюнової мозаїки показав нерозведений ГГК-2 (97,5%). У дослідженнях зі стійкістю сої до ВТМ кращі протективні властивості виявили розведені водою (1:10) ГГК на відміну від нерозведених [35].

Поліщук дослідила антивірусну активність глюкуронооксиломану (ГКМ) з ліофілізованої культуральної рідини гриба *Tremella mesenterica* та глюкану з міцелію *G. adspersum* проти вірусу тютюнової мозаїки. Найбільший відсоток пригнічення ВТМ, на листі дикого виду тютюну *Nicotiana sanderae*, показав глюкан, виділений водною екстракцією з *G. adspersum*, при концентрації 500 мкг/мл (97,9%) [36].

В наступних дослідженнях Поліщук з командою вчених вивчали антивірусну активність полісахаридного препарату (глюкану), виділеного

шляхом водної екстракції з міцелію *G. adspersum*, проти вірусу тютюнової мозаїки. Найбільше зниження (в 4 рази) титру антигену ВТМ в ізольованих протопластах тютюну, через 2 години, показав глюкан у концентрації 500 мкг/мл порівняно з контролем (1:160 і 1:640 відповідно) [37].

Бойко та ін. запатентували біологічний препарат, одержаний з плодів тїл печериці двоспорової (*Agaricus bisporus*) та гливи звичайної (*Pleurotus ostreatus*), а також ліофілізованих суцвіть, стебел та молодих листків хмелю (*Humulus lupulus* L.) [38]. Даний препарат під назвою «Біоекофунге-1» [39] було протестовано на помідорах. Дослідження показали, що при позакореневій обробці рослин спостерігається зниження титру вірусу тютюнової мозаїки в 2,5-5,8 разів на п'ятий день та в 3,2-12 разів – на десятий день досліду. Обробка рослин сої сорту Букурія показала, що захист від ураження ВТМ спостерігається при мінімальній концентрації розчину 1,5% [40].

Узагальнені дані, щодо противірусної активності базидіоміцетів проти вірусу тютюнової мозаїки наведено в таблиці 1.2.

Таблиця 1.2

Базидієві гриби як продуценти противірусних метаболітів проти вірусу тютюнової мозаїки

Продуцент	Діюча речовина	Антивірусна активність	Джерело
<i>G. applanatum</i>	Культуральна рідина	98,4%	[33]
<i>G. lucidum</i>		86%	
<i>G. adspersum</i>	Водний екстракт глікану	^a 78%	[34]
		96%	
		99%	
	Кислотний екстракт глікану	^b 69%	
		74%	
		74%	
	Лужний екстракт глікану	^b 72%	
52%			
64%			
<i>T. mesenterica</i> <i>G. adspersum</i>	Глікан-гліколіпідний комплекс -1	^r 10%→15,72% ^d 16,25%→13,75%	[35]
	Глікан-гліколіпідний комплекс -2	^r 17,15%→15,72% ^d 17,5%→15% ^e 70% - супернатант ГГК ^e 75% ^e 80% - супернатант ГГК	

		^ε 70% ^ε 9% - ГГК в ліпосомах ^ж 92,5% - супернатант ГГК ^ж 97,5% ^ж 61,25% - ГГК в ліпосомах	
	Глікан-гліколіпідний комплекс -3	^г 7,15%→11,43% ^д 10%→7,5%	
<i>T. mesenterica</i>	Глюкуронооксиломанан	^з 33% при 1000 мкг/мл ^з 71% при 2500 мкг/мл	[36]
<i>G. adspersum</i>	Глюкан	^з 97,9% при 500 мкг/мл ^з 93,8% при 1000 мкг/мл ^й 90% при 500 мкг/мл ^й 87% при 1000 мкг/мл	
<i>G. adspersum</i>	Глюкан	^к 1:640 через 2 год ^к 1:320 через 6 год ^к 1:80 через 24 год ^л 1:160 через 2 год ^л 1:160 через 6 год ^л 1:80 через 24 год	[37]
<i>A. bisporus</i> + <i>P. ostreatus</i> + <i>H. lupulus L.</i>	Композиція біохімічних речовин	^м 8,4±0,6 – 1,5% розчин ^м 6,9±0,6 – 2,5% розчин ^м 3,7±0,3 – 3,5% розчин ^н 10,8±0,7 – 1,5% розчин ^н 6,0±0,7 – 2,5% розчин ^н 2,9±0,1 – 3,5% розчин	[40]

^а – пригнічення інфекційності ВТМ на листках *Datura stramonium* водним екстрактом гліканів отриманого з I-III штаму при концентрації 100 мкг/мл

^б – пригнічення інфекційності ВТМ на листках *D. stramonium* кислотним екстрактом гліканів отриманого з I-III штаму при концентрації 100 мкг/мл

^в – пригнічення інфекційності ВТМ на листках *D. stramonium* лужним екстрактом гліканів отриманого з I-III штаму при концентрації 100 мкг/мл

^г – % уражених ВТМ рослин сої в перший день та через 10 днів нерозведеним ГГК; контроль 41,43%→44,29%

^д – % уражених ВТМ рослин сої в перший день та через 10 днів розведеним водою (1:10) ГГК; контроль 41,43%→44,29%

^е – % пригнічення ВТМ розведеним водою (1:100) ГГК в чистому вигляді, або у вигляді фракцій – супернатанту чи ліпосом

^ε – % пригнічення ВТМ розведеним водою (1:10) ГГК в чистому вигляді, або у вигляді фракцій – супернатанту чи ліпосом

^ж – % пригнічення ВТМ нерозведеним ГГК в чистому вигляді, або у вигляді фракцій – супернатанту чи ліпосом

^з – відсоток пригнічення ВТМ на рослинах *N. sanderae* при відповідній концентрації діючої речовини

^й – відсоток пригнічення ВТМ на рослинах *N. tabacum* при відповідній концентрації діючої речовини

^к – титр антигену ВТМ в ізольованих протопластах табака при концентрації глюкану 200 мкг/мл

^л – титр антигену ВТМ в ізольованих протопластах табака при концентрації глюкану 500 мкг/мл

^м – титр ВТМ на 5-й день досліду при позакореневій обробці рослин томату розчином препарату з відповідною концентрацією; початковий титр ВТМ - 21,4±0,1

^н – титр ВТМ на 10-й день досліду при позакореневій обробці рослин томату розчином препарату з відповідною концентрацією; початковий титр ВТМ - 34,8±0,7

1.3. Активність базидіоміцетів проти вірусів тварин

Бова дослідила антивірусну активність β-глюкану та глюкороноксиDOMANANУ (ГКМ) щодо тешовірусу свиней 1-го серотипу штам «Дніпровський-34». Найбільшу інгібуючу активність проявив β-глюкан (титр вірусу 4,25 lg ТЦД₅₀/см³ при концентрації 100 мкг/см³), СД₅₀ – концентрація, при якій спостерігається загибель 50% клітин, для β-глюкану становить 100 мкг/см³, а для ГКМ – 10 мкг/см³ [41].

Китайські вчені дослідили активність полісахариду та сульфатованих похідних гриба *Auricularia auricula* проти вірусу хвороби Ньюкасла. Для отримання полісахариду відвар гриба осаджували етанолом та очищували методом Севагса для видалення білка, пропускали через целюлозну колонку та висушували в сублімаційній сушарці [42].

Ren з командою виділили лентінан з *L. edodes* та визначали його антивірусну активність проти вірусу інфекційного гемопоетичного некрозу. Встановлено, що при концентрації лентінану 100 мкг/мл інгібуються 82,38 % вірусу [43].

Узагальнюючі данні щодо антивірусної активності базидіоміцетів проти вірусів тварин наведено в таблиці 1.3.

Таблиця 1.3

Базидіоміцети як продуценти противірусних метаболітів проти вірусів тварин

Продуцент	Діюча речовина	Збудник	Антивірусна активність	Джерело
-	β-глюкан	Тешовірус свиней серотип 1 штам «Дніпровський 34»	^a 7,25 lg ТЦД ₅₀ /см ³ при 0,1 мкг/см ³ 6,5 lg ТЦД ₅₀ / см ³ при 10 мкг/см ³ 4,375 lg ТЦД ₅₀ /см ³ при 50 мкг/см ³ 4,25 lg ТЦД ₅₀ /см ³ при 100 мкг/см ³	[41]

	Глюкуроно- ксиломанан		6,25 lg ТЦД ₅₀ /см ³ при 0,1 мкг/см ³	
			5,125 lg ТЦД ₅₀ /см ³ при 1 мкг/см ³	
			6,25 lg ТЦД ₅₀ / см ³ при 2 мкг/см ³	
			5,5 lg ТЦД ₅₀ / см ³ при 10 мкг/см ³	
<i>A. auricula</i>	Полісахарид та сульфатовані похідні	Вірус хвороби Ньюкасла	^б 15-45% ^в 9-37% ^г 24,74-70,9%	[42]
<i>L. edodes</i>	Лентінан	Вірус інфекційного гемопоетичного некрозу	^д ж 39,6% EC ₅₀ =209,67 мкг/мл ^з 28,47% EC ₅₀ =530,81 мкг/мл ^е 53,63% EC ₅₀ =77,06 мкг/мл 26,49% EC ₅₀ =589,66 мкг/мл ^є 82,38% EC ₅₀ =13,20 мкг/мл 55,86% EC ₅₀ =52,14 мкг/мл	[43]

^а – титр вірусу при відповідній концентрації діючої речовини

^б – відсоток інгібування вірусу при попередньому внесенні зразка

^в – відсоток інгібування вірусу при внесенні зразка після вірусу

^г – відсоток інгібування вірусу при одночасному внесенні зразка і вірусу

^д – антивірусна активність при попередньому внесенні зразка

^е – антивірусна активність при одночасному внесенні зразка і вірусу

^є – антивірусна активність при внесенні зразка після вірусу

^ж – відсоток інгібування вірусу при кратності інфекційності (MOI) 0,05 та концентрації зразка 100 мкг/мл

^з – відсоток інгібування вірусу при кратності інфекційності (MOI) 0,1 та концентрації зразка 100 мкг/мл

РОЗДІЛ 2

БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОДЕРЖАННЯ СПОЛУК ВИЩИХ БАЗИДАЛЬНИХ ГРИБІВ АНТИВІРУСНОГО СПРЯМУВАННЯ

2.1 Умови культивування

Культивування є одним із найважливіших етапів виробництва, адже від якості та чистоти посівного матеріалу залежить все подальше виробництво препарату. Біотехнологічні методи одержання біомаси міцелію дають можливість отримати екологічно чистий грибний препарат на якість та кількість якого можна вплинути шляхом зміни чи модифікації поживного середовища та умов культивування, також перевагою є можливість використовувати в якості середовища доступну для певного регіону сировину [44, 45].

Відтак автори [10] одержували грибний міцелій на вівсяно-кукурудзяному середовищі в стаціонарних умовах протягом 3 тижнів.

Українські вчені отримували культури грибів першочерговим вирощуванням міцелію на чашках Петрі на поживному середовищі з рН=6,0 (г/л): глюкоза – 20, дріжджовий екстракт – 3, пептон – 2, K_2HPO_4 – 1, KH_2PO_4 – 1, $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,25. З отриманого міцелію вирізали диски та переносили у колби (250 мл) з 50 мл рідкого середовища, на основі амарантового борошна, які культивували в стаціонарних умовах протягом 14 днів при $26 \pm 2^\circ C$ [16].

Разумов у своєму дослідженні отримував міцелій грибів шийтаке та гливи шляхом вирощування їх на зерні протягом 1 місяця [17].

В своєму іншому дослідженні Разумов вирощував біомасу грибів шляхом поверхневого культивування на пепетон-кукурудзяному агарі (ПКА) та рідкому середовищі №19 (з мелясою та кукурудзяним екстрактом) [18].

Cardozo отримував міцелій *A. brasiliensis* на картопляно-декстрозному

					НУХТ БТЕК 02.02.07 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Лозіна В.Є.			РОЗДІЛ 2. Біотехнологічні особливості одержання сполук вищих базидальних грибів антивірусного спрямування	Літера	Аркуш	Аркушів
Перевір.		Красінько В.О.					26	144
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

агарі при 25°C протягом 7 діб, який потім, у вигляді міцеліальних дисків, переносили у колби з модифікованим середовищем Мерлін-Норкранс (MNM) і культивували при 25°C протягом 10 днів. Отриманий міцелій відфільтрували та фрагментували в 300 мл 0,8% NaCl, а потім інокулянт внесли в 5 л аерліфтний реактор, де культивували його протягом 7 днів при 26°C [6].

Ананько та Носик для культивування чаги та отримання меланінів використовували глюкозо-триптонне середовище (г/л): глюкоза – 30, триптон – 2,5, дріжджовий екстракт – 1,25, KH_2PO_4 – 1,1, K_2HPO_4 – 4,4, MgSO_4 – 0,25, рН 7,0 – 8,0. Культивування здійснювали в 0,75 л колбах на качалках при 200 об/хв, 26°C протягом 12-15 діб до максимального накопичення меланінів [20, 21].

Florez-Sampedro з командою отримували ферментативні екстракти, для цього вони культивували гриби у 5 л біореакторі при 30°C з швидкістю перемішування 200 об/хв, швидкістю подачі повітря 75 л/хв, початковим рН 4,5 в поживному середовищі для лігнінолітичних грибів з індуктором лакази протягом 5 днів [22].

Sandargo та інші культивували *H. grisea* на двох рідких середовищах – ВAF та модифікованому середовищі Робінсона. Культури вирощену на середовищі ВAF використовували для інокуляції 200 мл кожного середовища в колбах Ерленмейера по 500 мл, інкубували на ротаційному шейкері при 24°C та 140 об/хв. Через 14 діб 30 мл посівного матеріалу переносили у шість 2л колб з 800 мл середовищ, інкубували так само до того моменту поки не була спожита вся вільна глюкоза, через 21 день в ВAF та 24 дня в модифікованому середовищі Робінсона [32].

2.2. Особливості післяферментаційного виділення і очищення

2.2.1. Особливості отримання екстрактів

Для отримання екстрактів російські вчені використовували 5 г замороженої подрібненої біомаси, яку суспендували у 25 мл стерильної дистильованої води та помістили у соніфікатор на 20 хв з амплітудою 24 μM .

Після цього, осад відокремили на центрифугі при 10000 об/хв протягом 20 хв, а отримані екстракти заморозили при -20°C [10].

Корейські вчені використовували засушені плодові тіла грибів, які кип'ятили при 130°C в дистильованій воді протягом 3 год. Отриманий водний екстракт змішували з двома об'ємами холодного (-20°C) 95% етанолу та витримували ніч в холодильнику. Темно-коричневий осад збирали за допомогою центрифугування та ліофілізували. Отриманий екстракт завантажували на колонку HP-20, де було здійснена поступове фракціонування водою, етанолом та 50% етанолом; кожну фракцію ліофілізували [11].

Вченими з Китаю було отримано водний екстракт *C. volvatus* за наступною технологією: подрібнені висушені плодові тіла замочували на ніч у дистильованій воді, а потім центрифугували при 8000-10000 об/хв протягом 30 хв; отриманий супернатант збирали, ліофілізували та зберігали при -80°C [12].

Українські вчені в якості досліджуваних зразків використовували міцеліальні екстракти, які були отримані наступним чином: спершу проводили відокремлення біомаси від культуральної рідини, потім її ретельно промивали дистильованою водою, висушували у високовакуумній сублімаційній сушарці та розтирали в ступці. Отриману біомасу суспендували в стерильному 0,9% розчині NaCl та поміщали в соніфікатор на 20 хв при амплітуді 24 μM . Осад відокремлювали на центрифугі протягом 20 хв при 10000 об/хв, а супернатант використовували для досліджень, охолодивши його до -20°C [16].

Для отримання екстрактів Разумов використовував наважки грибів з сирим зерном, які суспендував в стерильній дистильованій воді 1:4 по масі та прогрівав на киплячій водяній бані протягом 30 хв. Для екстракту шийтаке отриманий розчин фільтрували через декілька шарів марлі, а потім центрифугували 20 хв при 10000 об/хв. А для екстракту гливи – розчин витримували 48 год при 50°C в термостаті і лише потім центрифугували [17].

В наступному дослідженні Розумов отримував водні екстракти і додатково – сумарні полісахаридні фракції (СПФ) з них. Для цього було використано для варіанти виділення: 1) заморожену при -20°C біомасу розморожували, подрібнювали та суспендували ТЕН-буфері чи фізіологічному розчині (1:4) та руйнували ультразвуковим дезінтегратором при амплітуді 18-24 кГц протягом 5-10 хв на льоду, після цього нерозчинний осад видаляли центрифугуванням протягом 10 хв при 12000 об/хв; 2) плоді тіла розтирали у ступці, суспендували в стерильній дистильованій воді, прогрівали на киплячій водній бані протягом 60 хв, потім центрифугували та заморожували надосадову рідину. Для виділення СПФ екстракти обробляли 96% етанолом (1:1) при $6-8^{\circ}\text{C}$ протягом 18-24 год, осад відокремлювали центрифугуванням протягом 20 хв при 8000-10000 об/хв та розчиняли в 1-2 мл стерильної дистильованої води [18].

Для отримання метанольних екстрактів *Santouo* з командою змішували подрібнені до стану порошку гриби с метанолом, отриману суспензію встряхували протягом 2 хв, а потім центрифугували ще 2 хв при 8854 об/хв, супернатант відбирали для досліджень. Для отримання водних екстрактів, замість метанолу використовувалась вода [19].

Для отримання гексанового, етанольного та водного екстрактів *Sillarachaiaurora* та інші використовували порошок склероцій *L. rhinocerus*, який мацерували з гексаном в шейкері-інкубаторі при 225 об/хв протягом 72 год при кімнатній температурі, далі екстракт збирали фільтруванням та видаляли гексан ротаційним випаровуванням з отриманням неочищеного гексанового екстракту. Нерозчинний в гексані осад висушували та екстрагували, як описано вище, в етанолі, а потім воді (тільки при 4°C) [23, 24].

Шибнев для отримання водних і етанольних фракцій, найбільш багатих поліфенілкарбоновими кислотами, використовував подрібнений верхній шар чаги, який екстрагував у воді протягом 2 діб з використанням швидкісної мішалки при 20°C . Потім розчин центрифугували при 5000 об/хв протягом 1

год, фільтрували та упарювали воду у вакуумі при температурі $\geq 45^{\circ}\text{C}$. Аналогічно отримували етанольну фракцію, за використання 70% спирту для екстракції [25].

2.2.2. Виділення і очищення меланінів

Для отримання меланінів із чаги, Іллічова з командою, використовували гриб, подрібнений до розміру частинок не більше 0,5 мм, заливали розчином 0,1 М NaOH з розрахунку 1:10 і інкубували при 50°C протягом 5 годин. Очищення меланінів від домішок здійснювали за допомогою 6-кратного переосадження за наступною схемою: меланіни, що випали в осад, ресуспендували в розчині 0,1 М NaOH в об'ємному співвідношенні 1:10 і знову осаджували шляхом закислення середовища соляною кислотою до $\text{pH} < 2$ протягом 10 хв при 4000 об/хв. Розчин очищених меланінів нейтралізували до $\text{pH} = 7$ і висушували при температурі 50°C . Виділені та очищені меланіни додатково ферментативно обробили трипсином: 1 мг/мл кристалічного трипсину, pH розчину 7,5, експозиція 6 год при 37°C ; реакцію зупиняли закисленням розчину, потім нейтралізували до $\text{pH} = 7$ та висушили [14].

Ананько та Носик в своїх дослідженнях для виділення меланінів відокремлювали культуральну рідину від міцелію шляхом фільтрування через фільтрувальний папір, меланіни осаджували шляхом закислення середовища соляною кислотою до $\text{pH} < 2$. Меланіни з міцелію екстрагували 2%-им розчином NaOH (1:10) прогріваючи на водяній бані протягом 2 год при 100°C . Екстракти меланінів об'єднували та очищали шляхом 3-кратного (6-кратного – Носик) переосадження [20, 21].

Теплякова з командою отримували меланіни із чаги шляхом лужного гідролізу протягом 1 год при 0,5 атм з подальшим осадженням концентрованою хлоридною кислотою [30].

2.2.3. Виділення активних з'єднань

Hwang разом з командою виділяли активні з'єднання з плодкових тіл *P. baumii*, для цього їх спершу екстрагували етанолом, а потім послідовно розділили гексаном, CHCl_3 , EtOAc та BuOH. Шар, розчинний у EtOAc, який

мав найбільшу інгібуючу активність, хроматографували на колонці з силікагелем для отримання семи фракцій. Кожну активну фракцію розділили на колонці Sephadex LH-20 та ODS, потім за допомогою твердофазної екстракції та ВЕРХ для отримання з'єднань [13].

В своєму дослідженні Cardozo виділяв полісахарид із *A. brasiliensis*, який потім сульфатував, для цього культуральну рідину відцентрифугували і отриману біомасу зневоднювали при 55°C до постійної ваги. Далі її двічі змішували з п'ятьма об'ємами дистильованої води та нагрівали при 100°C протягом 3 год. Матеріал фільтрували під вакуумом через фільтрувальний папір та в отриманий розчин додавали три об'єми етанолу. Отриману суміш витримували при 4°C протягом 24 год та центрифугували 10 хв при 1100 об/хв, отриманий полісахарид ліофілізували. Для отримання сульфатованої похідної, полісахарид сульфатували з використанням піридин-хлорсульфонової кислоти. Після сульфатування отримані полісахариди піддавали діалізу та сушили в сублімаційній сушарці [6].

Ren з колегами виділяли лентінан з міцелію *L. edodes* наступним шляхом: подрібнений до стану порошку гриб суспендували в дистильованій воді при 60°C протягом 2,5 год. Надосадову рідину збирали центрифугуванням та концентрували до 30% від початкового об'єму за допомогою вакуумно-роторного випарювача при 60°C. Концентровану рідину обробляли реактивом Севага (хлороформ:бутанол, 5:1) для видалення білку. Після діалізу рідину змішували з трьома об'ємами етанолу, перемішували та витримували при 4°C протягом 12 год. Не очищений лентінан отримували центрифугуванням при 2500 об/хв протягом 10 хв, який потім розчиняли в дистильованій воді та наносили на аніонообмінну колонку DEAE-целюлоза (конку елюювали лінійним градієнтом 0-0,20 М розчину NaCl при швидкості потоку 0,40 мл/хв). Фракції з кожної пробірки об'ємом 10 мл збирали для подальшого очищення за допомогою колонки гель-фільтрації. Потім очищену фракцію концентрували, піддавали діалізу та ліофілізували [43].

2.3. Дослідження хімічної будови та вмісту активних сполук

Для ідентифікації структур виділених активних з'єднань Hwang використовував спектроскопічний метод включаючи ESI-mass та NMR аналіз шляхом порівняння спектральних даних п'яти з'єднань з раніше отриманим. Ці порівняння дали змогу ідентифікувати 5 активних з'єднань як гіспідин, гіфоломін В, іноскавін А, даваліалактон та фелігридин D [13].

Для визначення вмісту полісахаридів в пробах, Розумов, використовував фенол сірчаноокислий метод по оптичній густині при довжині хвилі 200 нм з використанням спектрофотометру [18].

Для ідентифікації полісахаридів Cardozo користувався спектроскопічними методами – ІЧ перетворення Фур'є, ядерно магнітний резонанс та елементний аналіз (С, Н, О, S). Визначення однорідності та молекулярної маси проводили методом високоефективної гель-фільтраційної хроматографії – зразки елюювали рухомою фазою 0,2 М NaCl зі швидкістю потоку 1 мл/хв [6].

Для визначення ферментативної активності, концентрованих за допомогою ультрафільтрації, ферментних екстрактів, Florez-Sampedro з командою використовували спектрофотометр при поглинанні 420 нм, разом з 2,2'-азино-ди-(3-етилбензотіазозин-6-сульфоною кислотою) (АБТС) в якості медіатора та цитратного буферу (рН 3) [22].

Для визначення складу лентіану, Ren з колегами, гідролізували його 4 М трифтороцтовою кислотою (ТФК) при 120°C протягом 4 год в запаяних пробірках. Залишкову ТФК видаляли метанолом при зниженому тиску за допомогою ротаційного вакуумного випаровувача. Гідролізати відновлювали борогідридом натрію (NaBH₄), потім підкислювали оцтовим ангідридом та піридином при 100°C протягом 1 год. Отримані ацетати альдитолу аналізували за допомогою газової хроматографії-мас-спектрометра [43].

2.4. Дослідження противірусної активності

Для дослідження противірусної активності меланінів *in vitro* Іллічова з командою використовували метод вимірювання поглинання клітинами барвника – нейтрального червоного. Для цього 96-луночний планшет засівали

культурою клітин MDCK (клітини нирки собаки) в середовищі DMEM з додаванням 5% сироватки плодів корови та антибіотиків. Посівна доза складала $2 \cdot 10^4$ клітин на лунку. Після формування 90% моношару (20 год інкубації при 37°C в атмосфері 5% CO_2) клітини відмивали безсироватковим середовищем та вносили вірус грипу А в дозі 100 ТЦД₅₀ на лунку. Через 30 хв після зараження в лунку вносили розведення меланінів в концентрації 1-5000 мкг/мл в середовищі MEM з додаванням антибіотиків і 2 мкг/мл ТРСК-трипсину. Клітини інкубували при 37°C в атмосфері 5% CO_2 протягом 72 год. Потім в кожному лунку планшету було додано нейтральний червоний (кінцева концентрація 0,34%), через 1,5 год клітини відмили, додали розчин для екстракції барвника (0,1 М $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ та 96% етанол в рівних об'ємах) і визначена оптична густина барвника, що вивільнився на мікропланшетному рідері BioRad 680 при довжині хвилі 490 нм з використанням програми Земфіра 2.0 [15].

Ананько з колегами для дослідження антивірусної активності меланінів засівали клітинами Vero 96-луночний планшет в кількості 20000 кл/лунку. Приготовані розведення препаратів наносили на дводобову культуру (по 3 повтори на кожне розведення). Після цього в лунки додавали вірус в дозі 100 БУО/мл. Оцінку активності проводили на 4-ту добу за допомогою аналізу редукції бляшок. Клітини фарбували генціан-фіолетовим, результати тесту реєстрували за допомогою фотометра 680 Земфіра [20].

Шибнев оцінював противірусну активність препаратів, по відношенню до ВІЛ, на моделі лімфобластоїдних клітин в 96-луноковому планшеті. До клітин додавали досліджувані фракції екстрактів та інфікували вірусом в дозі 0,01 чи 0,1 ТЦД₅₀/кл. Культури клітин інкубували при 37°C в атмосфері 5% CO_2 при 98% вологості 6 діб. Дослідження репродукції ВІЛ проводили шляхом оцінки вірусіндукованої цитопатичної дії в культурах клітин. Ступінь деструкції оцінювали під світловим мікроскопом відповідно до кількості загинувших клітин в кожній з трьох лунок. Оцінку результатів проводили

шляхом фарбування клітин з використанням тетразолowego барвника (МТТ) з спектрофотометрією при довжині хвилі 630 нм [25].

Теплякова з командою проводили дослідження цитотоксичності та противірусної ефективності екстрактів чаги проти COVID-19 колориметричним методом - за зміною оптичної густини розчину барвника, поглиненого живими клітинами в моношарі. При оцінці противірусної активності препаратів у лунки 96-лункових планшетів з моношаром клітин Vero E6 або Vero вносили по 0,1 мл розведень екстрактів у середовищі DMEM, а через 2 години інкубації при 37°C, 5% CO₂ вносили по 0,1 мл розведення вірусу в середовищі DMEM без сироватки з множинністю інфікування (MOI) 0,1 ТЦД₅₀/кл. Через 3 доби інкубування в лунки планшета з моношаром клітин Vero в культуральне середовище вносили вітальний (прижиттєвий) нейтральний барвник червоний 0,05мл на 1,5 години при 37°C. Після цього моношар клітин промивали дворазово фізрозчином, вносили лізуючий буфер і через 30 хв визначали оптичну густину. При використанні клітин Vero E6 на моношар наносили 0,075 мл розчину МТТ (броміду 3-(4,5-диметилтіазол-2-іл)-2,5-дифенілтетразолію) у фосфатному сольовому буфері з концентрацією 1 мг/мл. Через 1,5 год інкубації при 37°C барвник видаляли та клітини лізували диметилсульфоксидом (ДМСО) та вимірювали оптичну густину [30].

РОЗДІЛ 3

ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ (ЛЗ)

3.1. Аналіз фармакологічних властивостей цільового ЛЗ, галузей використання, потреби у ЛЗ (нинішня та враховуючи перспективи)

Згідно даних джерела [6] досліджуваний АФІ – сульфатований полісахарид гриба *A. brasiliensis* UFSC 51, проявляє синергічний ефект з ацикловіром, і може використовуватися окремо або в комбінації з ацикловіром для лікування герпесвірусних інфекцій в хворих, особливо тих, які не реагують на ацикловір.

Таким чином можна розглянути фармакологічні властивості ацикловіру в комбінації з яким буде застосовуватись сульфатований полісахарид.

Фармакодинаміка

Ацикловір є синтетичним аналогом пуринового нуклеозиду з інгібіторною активністю *in vivo* та *in vitro* відносно вірусу герпесу людини, що включає вірус простого герпесу I та II типу, вірус вітряної віспи та оперізувального герпесу, вірус Епштейна-Барра та цитомегаловірус. У культурі клітин ацикловір проявляє найбільшу активність проти вірусу простого герпесу I типу і далі, за зменшенням активності, проти вірусу простого герпесу II типу, вірусу вітряної віспи та оперізувального герпесу, вірусу Епштейна-Барра та цитомегаловірусу [46].

Інгібіторна активність ацикловіру проти вищезазначених вірусів є високоселективною. Фермент тимідинкіназа у нормальній неінфікованій клітині не використовує ацикловір як субстрат, тому токсична дія відносно клітин організму-господаря є мінімальною. Проте тимідинкіназа, закодована у вірусах простого герпесу, вірусах вітряної віспи, оперізувального герпесу та вірусі Епштейна-Барра, перетворює ацикловір на монофосфат ацикловіру –

					НУХТ БТЕК 02.02.07 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Лозіна В.Є.			РОЗДІЛ 3. Техніко- економічне обґрунтування виробництва лікарського засобу (ЛЗ)	Літера	Аркуш	Аркушів
Перевір.		Красінько В.О.					35	144
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

аналог нуклеозиду, який потім перетворюється послідовно на дифосфат і трифосфат за допомогою ферментів клітини. Слідом за вбудовуванням у вірусну ДНК ацикловіру трифосфат взаємодіє з вірусною ДНК-полімеразою, результатом чого є припинення синтезу ланцюга вірусної ДНК [46].

При тривалих або повторних курсах лікування тяжких хворих зі зниженим імунітетом можливе зменшення чутливості окремих штамів вірусу, які не завжди відповідають на лікування ацикловіром. Більшість клінічних випадків нечутливості пов'язані з дефіцитом вірусної тимідинкінази, однак існують повідомлення про ушкодження вірусної тимідинкінази та ДНК. *In vitro* взаємодія окремих вірусів простого герпесу з ацикловіром може також призводити до формування менш чутливих штамів. Взаємозалежність між чутливістю окремих вірусів простого герпесу *in vitro* та клінічними результатами лікування ацикловіром до кінця не з'ясована [46].

Фармакокінетика

Ацикловір лише частково абсорбується у травному тракті (приблизно 20 % прийнятої дози). Одночасний прийом їжі не призводить до зниження абсорбції. Максимальна концентрація досягається через 1,5-2 години [46].

Рівень його зв'язування з білками плазми крові відносно низький (від 9 % до 33 %) і при взаємодії з іншими лікарськими засобами не змінюється [46].

Ацикловір проникає крізь плацентарний бар'єр, у цереброспінальну рідину (50 % від відповідної концентрації у плазмі крові), грудне молоко [46].

Більшість препарату (85-90 %) виводиться у незміненому вигляді нирками та лише незначна частина (10-15 %) - у вигляді метаболіту (9-карбоксиметоксиметилгуанін). Нирковий кліренс ацикловіру суттєво вищий за кліренс креатиніну, що вказує на те, що виведення препарату нирками здійснюється шляхом не лише гломерулярної фільтрації, а і тубулярної секреції [46].

Кінцевий період напіввиведення при внутрішньовенному введенні ацикловіру становить приблизно 2,9 години, у хворих із хронічною нирковою

недостатністю - 19,5 години, під час гемодіалізу - 5,7 години. Рівень ацикловіру у плазмі крові під час діалізу знижується приблизно на 60 % [46].

Галуззю використання даного лікарського засобу є фармацевтичне лікування вірусу простого герпесу другого типу.

В 2016 році була опублікована остання оцінка глобального поширення вірусу простого герпесу другого типу (ВПГ-2). Згідно цих даних 491,5 млн людей живуть з інфекцією ВПГ-2, що еквівалентно 13,2 % населення світу віком від 15 до 49 років. ВПГ-2 передається виключно статевим шляхом та виявляється майже в два рази частіше у жінок ніж у чоловіків. Поширеність збільшується з віком, хоча найбільше число нових інфекцій припадає на підлітків. Враховуючи те, що герпес є довічною інфекцією, а інфекція ВПГ-2 збільшує ризик зараження вірусом імунодефіциту людини (ВІЛ) майже в три рази та може тягти за собою рідкісні й серйозні ускладнення, існує велика потреба в дієвих лікарських засобах [47, 48].

3.2. Обґрунтування вибору форми випуску лікарського засобу (ЛЗ)

3.2.1. Обґрунтування форми випуску ЛЗ

Полісахариди базидіального гриба *A. brasiliensis* являють собою порошкоподібну субстанцію на момент отримання готової субстанції для подальшого виготовлення лікарського засобу. Оскільки, готовий лікарський засіб на основі грибних полісахаридів планується приймати самостійно для лікування і профілактики вірусу простого герпесу або разом з ацикловіром, то при виборі форми випуску ЛЗ зупиняємось на таких формах: порошок, таблетки та капсули.

Порошки – це тверда лікарська форма, яка складається з однієї або кількох подрібнених сипучих речовин і може використовуватися для зовнішнього чи внутрішнього застосування [49].

До переваг порошків як лікарських форм відносять:

- точність дозування;
- простота в приготуванні;
- легкість в зберіганні і транспортуванні;

- універсальність складу – можна сполучити декілька лікарських речовин, що різняться за властивостями та складом [49].

Проаналізувавши переваги порошків можемо припустити, що при одночасному прийманні ацикловіру у вигляді таблеток та грибних полісахаридів у вигляді порошку, пацієнт буде запивати таблетки ацикловіру розчином полісахаридів. З цього випливає ряд недоліків, які властиві порошкам:

- незручність прийому речовин, що мають різкий чи неприємний запах, а також забарвлених речовин;
- невеликий термін зберігання через здатність до поглинання вологи та окиснення;
- подразнююча дія на оболонку шлунково-кишкового тракту [49].

Таблетки – це тверда лікарська форма, яку одержують шляхом попереднього оброблення і пресування основних та допоміжних речовин, може застосовуватися внутрішньо, зовнішньо, сублінгвально, парентерально та методом імплантації [49].

До переваг таблеток як лікарської форми відносять:

- зручність застосування та дозування;
- можливість сполучати різні за властивостями та терапевтичною дією речовини;
- можливість маскування неприємного смаку, кольору і запаху;
- регулювання всмоктування ЛЗ з таблеток за місцем локалізації і в часі;
- легкість та компактність в зберіганні і транспортуванні;
- тривалий термін зберігання [49].

Недоліками таблеток є:

- при тривалому зберіганні можливе цементування, що збільшує час розпаду таблетки;

- додаткові речовини, що вводяться для поліпшення зовнішніх, смакових та фізико-хімічних властивостей часто не несуть терапевтичної цінності, а деякі викликають побічні ефекти;
- дія лікарських речовин може розвиватися відносно повільно;
- не всі пацієнти можуть вільно проковтувати таблетки [49].

Проаналізувавши вище зазначене, можемо сказати, що таблетки як лікарська форма для грибних полісахаридів підходить краще ніж порошки. Неприємний смак та вигляд, а також здатність до вбирання вологи полісахаридів можна покращити за допомогою введення допоміжних речовин. Однак зважаючи на те, що для одноразового застосування необхідно 2000 мг полісахариду і додаткові речовини збільшать масу таблетки, дана лікарська форма не підходить для подальшого вибору, адже ускладнить її проковтування пацієнтами.

Капсули – тверда лікарська форма різного розміру та форми з твердою чи м'якою оболонкою, яка містить одну дозу діючої речовини [49].

Перевагами капсул є:

- точність дозування;
- гарний зовнішній вигляд;
- легкість проковтування та швидкість набухання;
- висока біодоступність;
- желатинові капсули легко розчиняються під дією травних соків;
- желатинова оболонка захищає лікарську форму від вологи, світла та пилу, а також механічних пошкоджень та впливів [49].

До недоліків капсул як лікарської форми відносять:

- висока чутливість до вологи желатинових капсул;
- желатин є середовищем для розвитку мікроорганізмів[49].

Таким чином використання капсул дозволяє не вводити додаткові речовини для покращення смакових властивостей, запаху, зовнішнього вигляду, оскільки руйнування капсули та вивільнення з неї діючих речовин буде відбуватися в шлунково-кишковому тракті. Також замість желатинових

капсул можна використовувати вегетаріанські, зроблені на основі морських водоростей, модифікованого крохмалю чи рослинної целюлози [50], які підходять для людей, що за культурними, релігійними чи іншими причинами не можуть або не хочуть вживати їжу тваринного походження. Вегетаріанські капсули також мають ряд переваг перед желатиновими: менша гігроскопічність, через нищий вміст вологи; більш висока стабільність в різних діапазонах температур та вологості; легко розчиняються при кімнатній температурі, а також сумісні з більшою кількістю рідких наповнювачі, що можуть розкласти желатинову капсулу [51].

Отже, порівнявши такі лікарські форми як порошки, таблетки та капсули, пропоную обрати вегетаріанські капсули на основі рослинної целюлози.

3.2.2. Обґрунтування вибору первинної і вторинної упаковки

В якості первинної упаковки капсул можна використати блістери чи пластмасові контейнери.

Блістери - це контурно-чарункове пакування, яке виконане з полімерної плівки та фольги алюмінієвої, і має форму близьку до форми таблетки чи капсули. Матеріали для виготовлення полімерної плівки можуть бути різні: поліпропілен, поліетилен, полівінілхлорид, полівінілденхлорид та інші [52].

Блістери мають ряд переваг:

- зручність у використанні та мала вага;
- гігієнічність – при відкритті однієї комірки немає контакту з іншими капсулами;
- підвищують збереженість капсул у процесі транспортування і зберігання;
- захищають від потрапляння вологи, забруднень та мікробної контамінації;
- підвищують термін зберігання лікарських препаратів;
- забезпечують ізолювання, тримання та фіксацію капсул [53].

Пластмасові контейнери можуть вироблятися з поліетилену, поліпропілену, полівінілхлориду, поліетилентерефталату, кополімерів етилену і вінілацетату чи біопластику (полігідроксиалканоат, тощо) [54].

Пластмасові контейнери мають такі переваги:

- герметичні;
- стійкі до механічних впливів;
- стійкі до перепадів температур та впливу світла;
- можуть мати захист від дітей [55].

Пластмасові контейнери порівняно з блістерною упаковкою мають і ряд недоліків:

- важкі;
- займають більше місця;
- при відкритті упаковки відбувається контакт з більшістю капсул в контейнері;
- при відкритті упаковки з'являється доступ кисню та вологи до всього вмісту контейнеру [56].

Проаналізувавши вище зазначене пропоную обрати блістери в якості первинної упаковки капсул.

В якості вторинної упаковки для капсул у блістерах можемо використати картонну коробку.

Переваги картонної вторинної упаковки:

- легкість;
- компактність;
- можливість підібрати розмір залежно від кількості продукції;
- відносна міцність при транспортуванні;
- висока екологічність;
- теплостійкість;
- гарні друкарські властивості [57].

До недоліків картонного пакування належать:

- висока гігроскопічність і намокаємість;

- низькі бар'єрні властивості для проникнення запахів, газів, парів;
- низька вологостійкість – втрата форми у вологому стані [57].

Таким чином пропоную обрати картонну коробку в якості вторинної упаковки, адже завдяки великому вибору розмірів та форм, які можуть виготовити на замовлення, можна варіювати з кількістю блістерів в упаковці та виділятися привабливим дизайном упаковки серед інших лікарських засобів.

3.3. Обґрунтування вибору біологічного агента для отримання субстанції для інженерної частини роботи

Згідно даним Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я, станом на 2016 рік, близько 13% населення світу, у віці 15-49 років, були інфіковані вірусом простого герпесу другого типу [47].

Для лікування герпесвірусних інфекцій застосовують цілий ряд противірусних препаратів. Найчастіше використовують препарат ацикловір (зовіракс, віролекс), який є синтетичним аналогом дезоксигуанідину. Його широке застосування призвело до виникнення препаратостійких штамів вірусу герпесу. Токсичність ацикловіру також накладає обмеження щодо застосування його пацієнтами з порушенням функцій нирок. В медичній практиці для лікування герпесвірусних інфекцій також використовують ідоксуридин, фоскарнет, тромантадин, інтерферони та їх індуктори, а також препарати рослинного походження, наприклад, панавір та алпізанір. Однак існуючі лікарські препарати на основі ацикловіра, а також інші антивірусні препарати хімічного та природного походження, не дозволяють ефективно контролювати герпесвірусні інфекції [17].

Тому, актуальною проблемою сьогодення є пошук та розробка нових антивірусних препаратів, особливо рослинного походження, з низькою токсичністю та вираженим антивірусним ефектом. Одним із джерел біологічно активних речовин з протигерпетичною активністю є базидієві гриби *Trametes versicolor*, *Agaricus brasiliensis* та *Inonotus obliquus*.

Дані з табл. 3.1 свідчать про те, що *I. obliquus* F-1244 та *A. brasiliensis* UFSC 51 мають приблизно однакову інгібуючу концентрацію діючих речовин, також гриб *A. brasiliensis* UFSC 51 має найменший час культивування порівняно з іншими. Але при цьому, склад поживних середовищ, діючі речовини грибів та їх противірусна активність різняться. Тому наступним етапом є порівняння вартості поживних середовищ для культивування обраних біологічних агентів (табл. 3.2).

З даних, наведених в табл. 3.2 видно, що вартість 1 л поживного середовища для культивування *A. brasiliensis* UFSC 51 є в 5 та 59,8 раз дешевше ніж для *T. versicolor* 355 й *I. obliquus* F-1244 відповідно.

Проте, така порівняльна характеристика є недостатньою, тому, для остаточного вибору біологічного агента, розрахуємо умовну вартість 1 г цільового продукту (табл. 3.3). З даних таблиці 3.3 можна зробити висновок, що умовна вартість 1 г полісахаридів *A. brasiliensis* UFSC 51 є близькою до міцеліальних екстрактів *T. versicolor* 355, але противірусна активність, виражена індексом селективності, є вищою.

Таблиця 3.1

Порівняльна характеристика біологічних агентів з антивірусними властивостями проти ВПГ-2

Біологічний агент	Діюча речовина	Склад поживного середовища, г/л (мл/л)	Тривалість процесу, діб	Особливості процесу	Противірусна активність	Література
<i>T. versicolor</i> 355	Міцеліальний екстракт	Амарантове борошно - 60	14	Культивування в колбах об'ємом 250 мл з 50 мл середовища при 26±2°C	IC ₅₀ =0,077 мг/мл SI= 324,67	Krupodorova T., Rybalko S., Barshteyn V. Antiviral activity of Basidiomycete mycelia against influenza type A (serotype H1N1) and herpes simplex virus type 2 in cell culture. <i>Virologica Sinica</i> . 2014, 29(5): 284–290. doi:10.1007/s12250-014-3486-y
<i>A. brasiliensis</i> UFSC 51	Міцеліальний полісахарид, який піддається подальшій сульфатації	Модифіковане середовище Мерлін-Норкранс: глюкоза – 0,0025, солодовий екстракт – 0,01, CaCl ₂ ·2H ₂ O – 0,001, NaCl – 0,001, MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,01, (NH ₄) ₂ HPO ₄ – 0,0005, KH ₂ PO ₄ – 0,1, FeCl ₃ ·6H ₂ O – 0,0012, тіамін HCl – 0,001.	7	Культивування в ерліфтному біореакторі об'ємом 5 л при 26°C.	IC ₅₀ =4,30±0,36 мг/мл SI= 562	Cardozo F., Camellini C., Mascarello A., Rossi M., Nunes R., Barardi C., Mendonca M., Simoes C. Antiherpetic activity of a sulfated polysaccharide from <i>Agaricus brasiliensis</i> mycelia. <i>Antiviral Research</i> . 2011; 92: 108-114. doi:10.1016/j.antiviral.2011.07.009.

Закінчення табл. 3.1

<i>I. obliquus</i> F-1244	Меланіни	ГТС: глюкоза – 30, триптон – 2,5, дріжджовий екстракт – 1,25, КН ₂ РО ₄ – 1,1, К ₂ НРО ₄ – 4,4, MgSO ₄ – 0,25	12-15	Культивування в колбах на качалках об'ємом 0,75 л при 200 об/хв, 26°C	IC ₅₀ =<4,9 мг/мл SI= >878	Ананько Г., Теплякова Т., Бардашева А., Ильичева Т. Меланины из глубинной культуры <i>Inonotus obliquus</i> и их противовирусная активность в отношении вируса простого герпеса 2 типа. <i>Успехи медицинской микологии</i> . 2015; 14: 384-388.
------------------------------	----------	--	-------	--	--	---

Вартість компонентів поживного середовища

Біологічний агент	Компонент поживного середовища, г/л (мл/л)	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Література (1, 2, 3)*
<i>T. versicolor</i> 355	Амарантове борошно - 60	44	2,64	1
	Вартість 1 л середовища – 2,64 грн			
<i>A. brasiliensis</i> UFSC 51	глюкоза – 2,5	19,50	0,05	2
	солодовий екстракт – 10	46	0,46	3
	CaCl ₂ ·2H ₂ O – 0,001	70	0,00007	4
	NaCl – 0,001	4,50	0,0000045	5
	MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,01	12,50	0,000125	6
	(NH ₄) ₂ HPO ₄ – 0,0005	55	0,000027	7
	KH ₂ PO ₄ – 0,01	69	0,0007	8
	FeCl ₃ ·6H ₂ O – 0,0012	52	0,00006	9
	тіамін HCl – 1	1898,99	0,0019	10
	Вартість 1 л середовища – 0,51 грн			
<i>I. obliquus</i> F-1244	глюкоза – 30	19,50	0,585	2
	триптон – 2,5	11097,18	27,74	11
	дріжджовий екстракт – 1,25	1100	1,4	12
	KH ₂ PO ₄ – 1,1	69	0,077	8
	K ₂ HPO ₄ – 4,4	155	0,682	13
	MgSO ₄ – 0,25	93	0,023	14
	Вартість 1 л середовища – 30,51 грн			

Примітка. * – Ціни наведено станом на грудень 2021 року. 1 – <https://prom.ua/p1449637997-muka-amaranta-1kg.html>, 2 - <https://prom.ua/p1026105741-glyukoza-pishevaya.html>, 3 - <https://flagma.ua/uk/yachmenno-solodovy-ekstrakt-yase-3-ot-25-kg-o4928641.html>, 4 - <https://kiev.prom.ua/p1027971594-kaltsij-hlorid-pishevoj.html?&primelead=MS4wOQ>, 5 - <https://kiev.prom.ua/ua/p272723101-sol-hlorid-natriya.html?&primelead=MS43>, 6 - <https://flagma.ua/magniy-sulfat-7-mi-vodny-ot-25-kg-meshok-o12182882.html>, 7 - <https://kiev.prom.ua/p658493018-diammonijfosfat-pisch-meshki.html?&primelead=MC41>, 8 - <https://kiev.prom.ua/p272635173-fosfat-kaliya-kalij.html>, 9 - <https://kiev.prom.ua/p1520000338-zhelezo-hlornoe-vodnoe.html>, 10 - https://ukrhim.com.ua/p415265819-vitamin.html?source=merchant_center&gclid=CjwKCAiA-9uNBhBTEiwAN3IINLr8AZLNyszczNepTSEtIUUWCpmwKxCz_DRGJIALBp_r9VBmloLgasRoCi9kQAvD_BwE, 11 - <https://shop.hlr.ua/pepton-kazeinovyuy-tripton-dbiotehnologii-fermtech-1-kg-234209.html>, 12 - [Екстракт дрожджей, цена 1100 грн - Prom.ua \(ID#1086437845\)](#), 13 - <https://prom.ua/p1456531817-kalij-fosfornokislj.html>, 14 - [Сульфат магнія/Магний сернокислий \(MgSO₄\), цена 93 грн - Prom.ua \(ID#783600334\)](#).

Умовна вартість 1 г цільового продукту при культивуванні *T. versicolor* 355, *A. brasiliensis* UFSC 51, *I. obliquus* F-1244

Біологічний агент	Вартість 1 л середовища, грн	Концентрація діючої речовини, г/л	Умовна вартість 1 г цільового продукту, грн/г	Тривалість культивування, діб	Противірусна активність SI
<i>T. versicolor</i> 355	2,64	9,23	0,29	14	324,67
<i>A. brasiliensis</i> UFSC 51	0,51	2,36	0,22	7	562
<i>I. obliquus</i> F-1244	30,51	0,92	33,16	12-15	>878

3.4. Розрахунок потреби у субстанції для випуску ЛЗ та розрахунок річної потреби у культуральній рідині для одержання розрахованої кількості субстанції

Для розрахунку потреби у новому лікарському засобі на основі сульфатованих полісахаридів базидіального гриба *A. brasiliensis* UFSC 51 необхідно орієнтуватися на потреби у ацикловірі, також ми враховуємо те, що підчас досліджень антигерпесної активності [6] використовували 20 мг/мл сульфатованих полісахаридів та 2 мг/мл ацикловіру.

Для розрахунку візьмемо до уваги те, що ацикловір випускається у формі таблеток, (1 таблетка містить 200 мг ацикловіру), по 20 таблеток в одній упаковці [46].

Курс лікування інфекцій, спричинених вірусом *Herpes simple* – 1 таблетка (200 мг) 5 разів на день, тобто 1000 мг/ день. Тривалість лікування 5 діб, тобто 5000 мг на один курс [46]. Тобто необхідна кількість сульфатованих полісахаридів на один курс становить 50 000 мг. Загальна кількість хворих на герпес другого типу – 419 500 000 чоловік.

Новий ЛЗ, хоча і має ряд позитивних переваг перед традиційним препаратом ацикловір, проте є новим на ринку (ще не набув довіри з боку споживачів, не є відомим...), тому на перших етапах виробництва, розрахунок

будемо проводити, орієнтуючись на таку кількість лікарського засобу, щоб забезпечити 0,01% всіх хворих.

Отже, щоб забезпечити 0,01% хворих лікарським засобом необхідно:

$$50000 \text{ мг АФІ} \times 41\,950 \text{ осіб} = 2\,097\,500\,000 \text{ мг} = 2097,5 \text{ кг полісахариду}$$

Концентрація полісахариду в культуральній рідині становить 2,36 г/л.

Кількість культуральної рідини, необхідної для отримання 2097,5 кг полісахариду становить:

$$0,00236 \text{ кг} - 1 \text{ л};$$

$$2097,5 \text{ кг} - x;$$

$$x = 888\,771,2 \text{ л} \approx 888,8 \text{ м}^3 \text{ культуральної рідини}$$

Враховуючи сумарні втрати цільового продукту під час виділення і очищення, а також стадій виробництва ЛЗ (45%), необхідно отримати наступну кількість культуральної рідини:

$$V_{\text{кр}} = 888,8 / (1 - 0,45) = 1616 \text{ м}^3$$

Отже, для забезпечення 0,01 % хворих ЛЗ, потрібно одержати (з врахуванням втрат) 1616 м³ культуральної рідини (V_{ГП}).

Розрахуємо, скільки культуральної рідини потрібно отримати за цикл ферментації, аби розрахувати кількість стадій приготування посівного матеріалу. Приймаємо кількість робочих трудоднів (Трд) 330, тоді кількість продукту на добу (V_д) становитиме:

$$V_{\text{д}} = V_{\text{ГП}} / \text{Трд} = 1616 / 330 = 4,9 \text{ м}^3 .$$

Кількість продукту за цикл (V_{кр}) буде становити:

$$V_{\text{кр}} = (K_1 \cdot V_{\text{д}} \cdot T_{\text{цф}}) / 24 = (1,1 \cdot 4,9 \cdot 178) / 24 = 39,97 \approx 40 \text{ м}^3 / \text{цикл},$$

де T_{цф} – цикл роботи ферментера, який включає тривалість виробничого біосинтезу (168 год) та час підготовки ферментера до роботи (10 год). K₁ – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій (K₁ = 1,1 – 1,5).

Підготовка ферментатора включає: миття та огляд (2 год), перевірка на герметичність (2 год), стерилізація (2 год), охолодження (1 год), завантаження

середовища (1,5 год), засів (0,5 год), вивантаження культуральної рідини (1 год).

РОЗДІЛ 4

ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ СТАДІЙ ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ

Виділення і очищення полісахаридів включає наступні стадії технологічного процесу:

- Відділення біомаси
- Дезінтеграція клітин
- Відділення залишків клітин
- Осадження полісахаридів
- Відокремлення полісахаридів
- Сульфатування полісахаридів
- Очищення сульфатованих полісахаридів
- Сушіння полісахаридів

Вибір способу відділення біомаси

На даному етапі відбувається відділення грибної біомаси від фільтрату. Існують такі способи відділення біомаси: фільтрування, центрифугування, сепарування.

Фільтрування культуральної рідини, що містить грибну біомасу значно ускладнено тим, що осад зазвичай аморфний, гливкий, має безструктурний характер і швидко забиває пори фільтруючого матеріалу [58]. Після процесу відділення біомаси на фільтрі залишаються баластні домішки, що призводить до додаткового процесу промивання біомаси та очищення фільтрів. Також у виробничих умовах процес фільтрування значно подовжується, що призводить до додаткових енерго- та трудовитрат, а, отже, до підвищення собівартості продукції [59].

Основною перевагою центрифугування порівняно з іншими методами розділення неоднорідних систем, наприклад осадженням і фільтруванням,

					НУХТ БТЕК 02.02.07 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 4. Обґрунтування вибору технологічної схеми стадій виділення і очищення субстанції	Літера	Аркуш	Аркушів
Розроб.		Лозіна В.Є.					50	144
Перевір.		Красінько В.О.						
Консультант								
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.				Кафедра БТМ		

полягає в значному збільшенні продуктивності та ефективності розділення [60]. Також центрифуги дозволяють відділити частинки розміром 25 мкм – 0,01 мкм. Однак є і ряд недоліків, до яких відносяться: складність конструкції, висока вартість і енергоємність, вібрація та шум, складність герметизації і асептики [61].

Сепарування здебільшого застосовують при концентруванні кормових та хлібопекарських дріжджів, при розділенні емульсії та просвітленні розчину біологічно активних речовин перед концентруванням. Використання сепараторів дозволяє розділити суспензії, що погано фільтруються, інтенсифікувати виділення та концентрування мікроорганізмів та твердих частинок розміром більше 0,5 мкм. До недоліків сепараторів відносять складність конструкції та зниження ефективності під час утворення великої кількості осаду [61].

Для відділення грибною біомаси краще обрати центрифугу безперервної дії з автоматичним вивантаженням осаду за допомогою шнека.

Вибір способу дезінтеграції клітин

Серед методів дезінтеграції клітин розрізняють механічні і немеханічні. До механічних методів відносять обробку в шаровому млині та ультразвукову обробку. Немеханічні методи поділяють на фізичні (декомпресія, термоліз, осмотичний шок), хімічні та ферментативні. Пропоную розглянути фізичні немеханічні методи дезінтеграції, оскільки механічні методи повністю руйнують клітинну стінку, що не є обов'язковим і може бути пошкоджено цільовий полісахарид, хімічні методи в свою чергу більше підходять для руйнування клітинних стінок бактерій, а ферментативні методи потребують комбінації з хімічним [62].

Метод декомпресії ґрунтується на тому, що докритичний або надкритичний газ при скиданні прикладеного тиску розширюється та викликає руйнування клітини. Метод має такі переваги: надзвичайно щадний; призводить до утворення «великого сміття», що легше видаляється, якщо цільовий продукт є розчинним; надкритичний вуглекислий газ здатний

втягувати сторонні аромати, викликані ліпідними компонентами. Головним недоліком є низька ефективність методу, залежність результату від швидкості скидання тиску і часу контакту між газом і суспензією [62].

Термоліз у великих масштабах стає все більш поширеним. Цей метод має декілька переваг: може бути використаний для знищення хазяїна, таким чином унеможливаючи вивільнення рекомбінантних організмів; якщо продукт не чутливий до температури може відбуватися переважна дезактивація протеази; метод призводить до утворення великих клітинних уламків, які можуть бути легко відокремлені від розчинного продукту. До недоліків відносять: можливе збільшення в'язкості, великі клітинні уламки можуть заважати відокремленню цільового продукту, якщо він є твердим тілом [62].

При осмотичному шоці клітини спочатку врівноважуються з високим осмотичним тиском, яке потім раптово розбавляють, вода швидко потрапляє в клітину, збільшуючи внутрішній тиск та викликаючи лізис. Ця методика обмежена тим, що не здатна порушити компоненти клітинної стінки, що забезпечують міцність (наприклад, пептидоглікан). Також недоліком даного методу є те, що він переважно використовуються для маломасштабних операцій через високу вартість та підвищену біологічну потребу в кисні (БПК), біологічного споживання кисню (БСК) технологічних відходів [62].

Проаналізувавши вищезазначене пропонуємо обрати термоліз, як метод дезінтеграції клітин, оскільки цільовий полісахарид є розчинним, а отже великі уламки клітин буде легше відокремити на наступній стадії.

Вибір способу відділення залишків клітин

В якості способів відокремлення залишків клітин можна розглянути використання барабанного вакуум-фільтра та фільтр-преса.

До переваг барабанного вакуум-фільтра можна віднести: легкість обслуговування, універсальність відносно різних суспензій, використання матеріалів стійких до агресивних середовищ. Однак, барабанний вакуум-фільтр має високу собівартість, невелику фільтрувальну поверхню, є

вірогідність отримати недостатньо промитий та висушений осад, розподільна головка віддалена від фільтрувальної поверхні, що призводить до затримки фільтрату та промивних вод всередині барабану і ускладнює їх окреме виведення [63].

Фільтр-прес натомість має велику фільтруючу поверхню, велику рушійну силу процесу, можливість використання лише окремих плит, є простим та надійним у використанні. Недоліками фільтр-пресу є неповна промивка осаду, швидкий знос фільтруючої тканини та ручне обслуговування (у випадку не автоматизованої моделі) [63].

У нашому випадку немає необхідності у занадто великій площі фільтрування та ідеально висушеному і промитому осаді, оскільки надалі будуть відбуватися етапи очищення, також термолізована біомаса може стати більш в'язкою, що пришвидшить знос фільтруючої тканини фільтр-пресу. Тому пропоную обрати барабанний вакуум-фільтр, оскільки його недолік, щодо ускладненого виведення фільтрату і промивних вод, можна вирішити використавши модель з внутрішньою фільтруючою поверхнею .

Вибір способу осадження полісахаридів

Відділені полісахариди потім осаджують. В якості осаджувачів використовують органічні розчинники, що здатні змішуватися з водою, солі четвертинних амонієвих основ та комплексоутворювачі [64, 65].

Найбільш поширеним методом є осадження етиловим спиртом. При концентрації спирту близько 80% більшість полісахаридів випадає в осад, а низькомолекулярні речовини залишаються в розчині. Також при поступовому додаванні спирту та відокремлюючи осад, що випадає при підвищенні концентрації спирту, можна провести фракційне осадження полісахаридів. Рідше, в якості осаджувачів, використовують метанол, ацетон, оцтову кислоту, тощо [64, 65].

Солі четвертинних амонієвих основ, таких як цетавлон, хлористий цетилпіридиній та інші, використовують для осадження та фракціонування полісахаридів. Але використовуючи такий метод утворюються солі

полісахаридів (наприклад, цетавлонові солі полісахаридів), які необхідно додатково розчиняти в концентрованих розчинах хлориду калію чи натрію при підвищеній температурі, нерозчинні в цих умовах комплекси розчиняють в пропанолі чи підігрітому етанолі, попередньо очистив від неорганічних солей [64, 65].

Кислі полісахариди можуть бути виділені або відокремлені від нейтральних полісахаридів за допомогою солей, таких як кальцієві, барієві, солі амонію, калію, рубідію, тощо [64, 65].

Як комплексоутворюючі агенти для осадження полісахаридів використовують солі міді (реактив Фелінга, рідше ацетати та сульфати міді) та гідроксид барію. В такому випадку утворюються комплекси полісахаридів, що необхідно розкласти за допомогою кислот, після чого полісахарид із розчину осаджують спиртом. Також варто відмітити, що луг, який присутній в реактиві Фелінга і соляна кислота, що використовується для регенерації полісахариду, можуть призводити до часткової деградації та деполімеризації полісахариду [64, 65].

Пропоную обрати в якості осаджувача етиловий спирт, оскільки він є найбільш вживаним і осаджує переважну кількість полісахаридів, також даний метод осадження не потребує додаткових витрат на регенерацію полісахариду.

Вибір способу відокремлення полісахаридів

Осаджені полісахариди можна відокремити тими самими способами, що й відокремлюють біомасу від культуральної рідини, а саме фільтруванням чи центрифугуванням. Під час фільтрування осад полісахаридів буде забивати фільтруючий матеріал, що ускладнить процес, натомість центрифугування, наприклад, за допомогою шнекової центрифуги, дасть змогу безперервно відокремлювати та автоматично вивантажувати осад полісахаридів.

Вибір способу сульфатування полісахаридів

Природні полісахариди самі по собі не мають або проявляють дуже низьку біологічну активність, введення сульфатованих груп може змінювати будову полісахариду та значно збільшувати їх біоактивність [66].

Нині використовують три методи сульфатування полісахаридів:

1) Метод хлорсульфонової кислоти з піридином. Кількість хлорсульфонової кислоти дуже важлива для значення ступеню заміщення, так як вона надає сульфатні групи під час сульфатування. Хлорсульфонова кислота також грає ключову роль в фізико-хімічних властивостях полісахаридів, включаючи моносахаридний склад та молекулярну масу. Перевагами цього методу є високі значення ступеню заміщення та виходу реакції. Недоліком цього метода є те, що бурна хімічна реакція хлорсульфонової кислоти може ускладнити контроль реакції [66].

2) Метод концентрованої сірчаної кислоти. Основні етапи цього методу взаємопов'язані з методом хлорсульфонової кислоти з піридином. Різниця полягає у тому, що концентрована сірчана кислота використовується в якості джерела сульфатованих груп. По відношенню до попереднього методу, цей метод має ряд переваг, включаючи стабільність умов реакції та низьку токсичність хімічних реагентів. Однак недоліками є деградація та карбонізація полісахаридів під дією сірчаної кислоти [66].

3) Метод триоксиду сірки з піридином. В цьому методі в якості джерела сульфатованих груп виступає триоксид сірки. До переваг методу відносять простоту та зручність проведення операцій. Однак реагенти коштують дорожче, а метод підходить тільки для маломасштабного виробництва в умовах лабораторії [66].

Проаналізувавши три методи сульфатування полісахаридів пропоную обрати метод хлорсульфонової кислоти з піридином.

Вибір способу очищення сульфатованих полісахаридів

Макромолекули полісахаридів у розчині існують у вигляді аморфного клубка, який заповнений розчиненими у воді низькомолекулярними фракціями (НМФ). НМФ у свою чергу осідають разом з полісахаридами, що потребує подальшого очищення останніх [67].

Для очищення полісахаридів зазвичай використовують комплекс методів, що включає такі етапи:

- промивання осаду етанолом (осадження полісахаридів)
- фільтрування осаду з його подальшим розчиненням у воді
- безпосередня очистка полісахаридів

Для очищення полісахаридів, виділених з рослинної сировини, від низькомолекулярних фракцій використовують діаліз та ультрафільтрацію [67].

Діаліз – мембранний процес розділення, в якому градієнт концентрації змушує менші молекули проникати з одної сторони мембрани на іншу [68]. Завдяки діалізу делікатні речовини можуть бути відділені без пошкодження, оскільки діаліз, як правило, проводиться в м'яких умовах: температура навколишнього середовища, відсутність помітного трансмембранного перепаду тиску і потік з низьким зсувом [69]. Хоча діаліз має ряд переваг, метод також має два суттєвих недоліка: низька швидкість операції та невелика селективність [68].

Перевагами ультрафільтрації як методу очищення полісахаридів є: простота експлуатації та масштабування, енергоефективність, неруйнівний характер процесу, що дозволяє працювати з термолабільними речовинами [70], висока швидкість очищення при одночасному концентруванні та відсутність додаткових витрат на розчинники для очищення, що робить метод економічно вигідним та скорочує час виділення полісахаридів [67]. Однак, одним з потенційних недоліків ультрафільтрації може бути забруднення мембрани і, як наслідок, зменшення мембранного потоку під час роботи. Але, цих недоліків можна уникнути завдяки попередній обробці полісахаридів етанолом, що дозволяє видалити нерозчинні матеріали, які згодом і забивають мембрани [70].

Проаналізувавши обидва методи, пропоную обрати метод ультрафільтрації, оскільки він дозволить швидше очистити полісахариди з отриманням більш якісного продукту.

Вибір способу сушіння полісахаридів

Вибір методу сушіння значно впливає на фізико-хімічні характеристики та біоактивність отриманих полісахаридів. Сушіння гарячим повітрям, сублімаційна та вакуумна сушка є найбільш поширеними методами сушіння полісахаридів [71, 72].

Сушіння гарячим повітрям є найбільш використовуваним, доступним та дешевим методом сушіння, однак при використанні високої температури можуть з'явитися значні зміни фізико-хімічних характеристик та активності полісахаридів [71, 72].

Вакуумна сушка ідеально підходить для матеріалів, які можуть бути пошкоджені чи змінені під дією високих температур, також вакуум видаляє вологу запобігаючи при цьому реакції окислення полісахаридів [71, 72].

Сублімаційна сушка – метод зневоднення заморожених матеріалів шляхом сублімації під вакуумом, який дозволяє отримати високоякісний продукт. Під час сублімаційного сушіння зберігається біологічна активність та висока реакційна здатність полісахаридів [71, 72], в процесі заморожування не відбувається ороговіння речовин і не втрачається їх хімічна активність, речовина виходить рихлою, пористою, володіє більшою поверхнею та високою швидкістю розчинення [73]. Однак, недоліком сублімаційної сушки є більш висока потреба в електроенергії під час процесу сушіння через умови охолодження та дезоксигенізації [71, 72].

Також дослідження показують, що вихід продукту, розчинність полісахаридів, кількість уронових кислот (компоненти полісахаридів) та білку є більшим за використання сублімаційної сушки [71, 72, 74].

Проаналізувавши наведені методи пропоную обрати метод сублімаційного сушіння через більшу кількість переваг по відношенню до недоліків.

РОЗДІЛ 5

ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ

Виділення і очищення цільового продукту – полісахаридів включає такі стадії:

1. Відділення біомаси
2. Термоліз біомаси
3. Фільтрування
4. Осадження полісахаридів етанолом
5. Відділення полісахаридів
6. Сульфатування полісахаридів
7. Відокремлення сульфатованих полісахаридів
8. Ультрафільтрація
9. Ліофілізація

Вихідні дані для підбору технологічного обладнання:

- a. об'єм культуральної рідини з однієї ферментації - $V_{кр} = 40 \text{ м}^3$;
- b. концентрація цільового продукту у КР $C_{ант} = 2,36 \text{ г/л} (=2,36 \text{ кг/м}^3)$
- c. концентрація біомаси у КР $C_{БМ} = 4,91 \text{ г/л} (=4,91 \text{ кг/м}^3)$ – АСБ,
- d. втрати на стадіях виділення цільового продукту та виготовлення

ЛЗ складають 45%: початкова кількість цільового продукту, яка поступає з КР складає $40 \text{ м}^3 \times 2,36 \text{ кг/м}^3 = 94,4 \text{ кг}$; кінцева кількість (з урахуванням 45% втрат) має становити 51,92 кг.

Розподіл втрат по стадіях та підбір необхідного обладнання наведено у таблиці 5.1.

					НУХТ БТЕК 02.02.07 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Лозіна В.Є.			РОЗДІЛ 5. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потів по стадіях	Літера	Аркуш	Аркушів
Перевір.		Красінько В.О.					58	144
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Таблиця 5.1

Підбір обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях

№ п/п	Назва стадії (операції)	Матеріальні потоки на стадії	Кількість по стадіях			Необхідне обладнання
			Надійшло	Втрати, (разом 45%)	Вийшло	
ТП 1. Відділення біомаси						
2	ТП 1.1. Центрифугування культуральної рідини	Біомаса	40 м ³	4 м ³ (10%)	196,4 кг (40 м ³ ×4,91 кг/м ³)	Центрифуга 40 м ³ /год (розрахунок на 1 год роботи)
		Супернатант			36 м ³	Збірник для фільтрату об'ємом 40 м ³
ТП 2. Термоліз						
4	ТП 2.1. Термоліз біомаси	Біомаса	196,4 кг	5,9 кг (3%)	190,5 кг	Апарат для термолізу
ТП 3. Фільтрування						
5	ТП 3.1. Фільтрування під вакуумом	Біомаса	190,5 кг	5,7 кг (3%)	-	Барабанний вакуум-фільтр 3,6 м ³ /год (розрахунок на 65 хв роботи)
		Осад	-		184,8 кг	Збірник для осаду об'ємом 5 м ³

Продовження табл. 5.1

		Фільтрат	-		3,8 м ³	Реактор змішувач об'ємом 16 м ³	
ТП 4. Осадження етанолом							
6	ТП 4.1. Осадження полісахаридів	Фільтрат	3,8 м ³	-	15,4 м ³	Реактор змішувач об'ємом 16 м ³	
ТП 5. Відділення полісахаридів							
7	ТП 5.1. Центрифугування	Фільтрат	15,4 м ³	1,2 м ³ (7,5%)	14,2 м ³	Центрифуга 20 м ³ /год (розрахунок на 46 хв роботи) Збірник об'ємом 20 м ³	
		Осад полісахаридів	-		63,9 кг	Реактор змішувач об'ємом 25 м ³	
ТП 6. Сульфатування полісахаридів							
8	ТП 6.1. Просочування полісахаридів сухим N,N-диметилформамідом	Осад полісахаридів	75,5 кг	1 м ³ (2%)	-	Реактор змішувач об'ємом 25 м ³	
		Суспензія	-		5,16 м ³		
9	ТП 6.2. Підігрівання розчину полісахаридів з піридином	Суспензія	5,16 м ³		-	5,16 м ³	Реактор змішувач об'ємом 25 м ³
		Розчин полісахаридів з піридином	-				
10	ТП 6.3. Охолодження розчину, внесення хлорсіркової кислоти та регулювання рН	Розчин полісахаридів з піридином	5,16 м ³		5,2 м ³	Реактор змішувач об'ємом 25 м ³	

Продовження табл. 5.1

11	ТП 6.4. Осадження полісахаридів етанолом	Розчин полісахаридів з піридином	5,2 м ³		20,4 м ³	Реактор змішувач об'ємом 25 м ³
ТП 7. Відокремлення сульфатованих полісахаридів						
	ТП 7.1. Центрифугування	Розчин полісахаридів з піридином	20,4 м ³	-	-	Центрифуга 20 м ³ /год (розрахунок на 61 хв роботи)
		Фільтрат	-	1,53 м ³ (7,5%)	18,87 м ³	Збірник об'ємом 20 м ³
		Осад сульфатованих полісахаридів з піридином	-	-	58,3 кг	Збірник для біомаси об'ємом 8 м ³
ТП 8. Ультрафільтрація						
13	ТП 8.1. Розчинення осаду	Осад сульфатованих полісахаридів з піридином	2 м ³	-	-	Збірник для біомаси об'ємом 8 м ³
		Розчин	-	-	7 м ³	
	ТП 8.2. Ультрафільтрація полісахаридів для видалення піридину	Розчин	7 м ³	-	-	Ультрафільтраційна установка (розрахунок на 44 хв роботи)

Продовження табл. 5.1

		Ультраконтрат сульфатованих полісахаридів	-	0,14 м ³ (2%)	6,86 м ³	Збірник об'ємом 8 м ³
ТП 9. Ліофілізація						
14	ТП 9.1 Ліофілізація сульфатованих полісахаридів	Ультраконтрат сульфатованих полісахаридів	6,86 м ³	-	-	Ліофілізатор
		Ліофілізовані полісахариди	-	0,36 м ³ (5%)	54,61 кг	
ТП 10. Подрібнення субстанції						
15	ТП 10.1 Подрібнення ліофілізованих полісахаридів	Ліофілізовані полісахариди	54,61 кг	1,37 кг (2,5%)	-	Вібраційний млин продуктивністю 30-60 кг/год
		Подрібнена субстанція	-		53,24 кг	
ТП 11. Просіювання субстанції						
16	ТП 11.1 Просіювання субстанції	Подрібнена субстанція	53,24 кг	1,06 кг (2%)	-	Вібросито з ситом діаметром 125 мкм
		Просіяна субстанція	-		52,18 кг	
ТП 12. Наповнення капсул						
17	ТП 12.1 Наповнення капсул	Просіяна субстанція	52,18 кг	0,26 кг (0,49%)	-	Автомат для наповнення капсул продуктивністю 3000-42000 капсул/ год
		Капсули	-		51920 капсул	

Продовження табл. 5.1

					(51,92 кг / 1 г в капсулі)	
ТП 13. Пакування капсул						
18	ТП 13.1 Пакування капсул	Капсули	51920 капсул	(0,01%)	-	Блістерна машина продуктивністю 20-30 блістерів/хв
		Блістери	-		5192 блістерів (51920 капсул / 10 шт в блістері)	
ТП 14. Пакування блістерів						
19	ТП 14.1 Пакування блістерів в упаковки	Блістери	5192 блістерів	-	-	Картонувальна машина продуктивністю 40-100 упаковок/хв
		Упаковки з ЛЗ	-		1298 упаковок (5192 блістерів/ 4 блістери на упаковку)	

Закінчення табл. 5.1

ТП 15. Пакування в групову упаковку						
20	ТП 15.1 Пакування упаковок з ЛЗ в групову упаковку	Упаковки з ЛЗ	1298 упаковок		-	Пакувальна машина з максимальною продуктивністю 4 коробки/ хв
		Коробки	-	-	72 коробки (1298 упаковок/ 18 упаковок в коробці)	

Таким чином, для здійснення післяферментаційних стадій процесу одержання сульфатованих полісахаридів *A. brasiliensis* UFSC 51 необхідне наступне обладнання:

- Збірники об'ємом 5, 8, 20, 40 м³
- Центрифуги продуктивністю 20 м³ та 40 м³
- Апарат для термолізу
- Барабанний вакуум фільтр продуктивність 3600 л/год
- Реактори-змішувачі об'ємом 16 м³ та 25 м³
- Ультрафільтраційна установка продуктивність 9,5 м³/год
- Ліофілізатор

Для стадій виготовлення лікарського засобу знадобиться наступне обладнання:

- Вібраційний млин продуктивністю 30-60 кг/ год
- Вібросито з ситом діаметром 125 мкм
- Автомат для наповнення капсул продуктивністю 2600 капсул/ год
- Блістерна машина продуктивністю 20-30 блістерів/хв
- Картонувальна машина продуктивністю 40-100 упаковок/хв

Пакувальна машина з максимальною продуктивністю 4 коробки/ хв

РОЗДІЛ 6
СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Таблиця 6.1

Специфікація обладнання ділянки виділення і очищення сульфатованих полісахаридів та виробництва лікарського засобу «МІКОПОЛІСОЛ»

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробник)
ПЗ-1	Повітрозбірник	1	Вентиляційна шахта Lindab. Матеріал – нержавіюча сталь. Продуктивність до 30000 м ³ /год. https://alpix.com.ua/catalog/lindab/vozdukhorasprelenie-i-regulirovanie-vozdukha/ventilyatsionnye-shakhty/pryamougolnye-ventilyatsionnye-shakty-sp/
Ф-2	Фільтр попередньої очистки	1	Карманний фільтр грубої очистки G4 Alter Air, E= 65-80%. https://shop.alterair.ua/ru/product/pocket-filter-g-class/#scrollDescription
В-3	Вентилятор	1	Вентилятор Вентс ВЦ 150 продуктивністю 555 м ³ /год. https://vents-shop.com.ua/ventilyator-vents-vc-150-uk/
К-4	Кондиціонер	1	Кондиціонер Tесnair LB серії ОНА продуктивністю 2100-9800 м ³ /год. https://planetaklimata.com.ua/catalog/lineup/?goodsid=540&path=root-20-44-133-540
Ф-5	Фільтр тонкої очистки	1	Карманний фільтр F9 S95 KR-8/600 SG, E = 40-95%. https://www.emw.de/ru/products/pocket-filters/pocket-filters-m5-f9.html
Ф-6	Фільтр високої ефективності	1	Фільтр HEPA H14, E=99,995% https://prom.ua/p577126535-filtr-hepa-n14.html
Брс-7	Бак розриву струменю	1	Бак розриву струменю серії 7.902-4 об'ємом 180 л. https://www.prostanki.com/board/item/152276
Н-8 Н-12 Н-16	Насос відцентровий	3	Насос відцентровий Pedrollo HFm50B (Італія) продуктивністю 18 м ³ /год. https://prom.ua/p870011427-tsentrobezhyj-nasos-pedrollo.html?&primelead=M144Ng

НУХТ БТЕК 02.02.07 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата

Розроб.	Лозіна В.Є.			
Перевір.	Красінко В.О.			
Консультант				
Н. Контр.				
Затверд.	Стабніков В.П.			

РОЗДІЛ 6. Специфікація
обладнання

Літера	Аркуш	Аркушів
	66	144
Кафедра БТМ		

ФВ-9	Фільтр грубої очистки води	1	Фільтр самопромивний ICMA 750 продуктивністю 12 м ³ /год, ступінь фільтрації 100 мкм. https://akvo.com.ua/ua/icma-750-2-dyujma-fil-tr
ПВ-10	Пом'якшувач води	1	Установка пом'якшення води DFU-2162-GL125 продуктивністю 8,0 — 16,0 м ³ /год, об'єм фільтруючого матеріалу 400 л, фільтруючий матеріал - іонообмінна смола DOWEX. http://aqua-line.net.ua/catalog/filtru-dlya-promuslovosti/ustanovki-pomyakshennya-filtru-dlya-promuslovosti/ustanovka-pomyakshennya-vodi-dfu-2162-gl125/#more-3185
ФМ-11	Фільтр механічний	1	Фільтр самопромивний Honeywell HS10S-1 1/2 AB, ступінь фільтрації 20 мкм. https://vencon.ua/products/honeywell-hs10s-1-12-ab-s-reduktorom
Узо-13	Установка зворотного осмосу	1	Установка зворотного осмосу ROF-15000 продуктивністю 15 м ³ /год. https://arista.in.ua/ua/p19387331-promyshlennaya-ustanovka-obratnogo.html
Е-14	Електродеіонізатор	1	Електродеіонізаційна установка PRO E-Cell* EU Series продуктивністю 9-12,4 м ³ /год. https://www.lenntech.com/Data-sheets/GE-E-FSroPRO-E-Cell-L.pdf
Єзв-15	Ємність для зберігання води	1	Збірник ZG-10000 об'ємом 10 м ³ , габаритні розміри (мм): d=2000, h=3900. https://en.wzlihong.com/ZG-series-storage-tank-pd48397733.html?gclid=CjwKCAiAy_CcBhBeEiwAcoMRHLOPAkj83muAEUF8TLAqTa3GPXqpbDKjiIq920xA70EHDsjPDQecRxoCxmMQAvD_BwE
Н-17	Насос відцентровий	1	Насос відцентровий з магнітною муфтою DM 30 (Італія), продуктивність 35 м ³ /год. https://www.debem.com.ua/ukr/nasos/nasosy_s_magnitnoj_muftoj/dm30/
Ц-18	Центрифуга	1	Декантерна центрифуга LW520EC продуктивністю 40 м ³ /год, швидкість обертання барабану 3200 об/хв,

			габаритні розміри (мм): 5150×1230×1465. https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:DTk9ysIOZRMJ:https://ooo.yumi.ru/index.php/katalog-tovarov2/dekanternye-tsentrifugi+&cd=14&hl=uk&ct=clnk&gl=ua
ЗБ-19	Збірник фільтрату	1	Збірник об'ємом 40 м ³ , габаритні розміри (мм): d=2800, l=6800. https://www.alibaba.com/product-detail/food-grade-horizontal-40m3-stainless-steel_62348739199.html
Т-20	Апарат для термолізу	1	Термолізатор робочим об'ємом 5 м ³ , з лопатевою мішалкою, змішувиком, робочий тиск атмосферний, робоча температура до 100°С, матеріал – нержавіюча сталь. https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjP06-d7tf3AhXSCRAIHbTaAFcQFnoECAyQAQ&url=https%3A%2F%2Fkorolan.com%2Fcatalog%2F100%2F227%2F&usg=AOvVaw1T8EHx99zoA7fPjbulrkSj
Н-21	Насос перистальтичний	1	Насос перистальтичний LPP-Т 32 (Фінляндія), продуктивність – 3,9 м ³ /год. https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwi-xb7qzfv7AhWR7aQKHQ2wDk4QFnoECCYQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.techprilad.com%2Findex.php%2Fcomponent%2Fbdthemes_shortcodes%2F%3Fview%3Ddownload%26id%3D8dcd91d38cdd5e48230799e7db7d68&usg=AOvVaw3_GMJn4Bjp-d_p48lkB2X5
Ф-22	Барабанний вакуум-фільтр	1	Барабанний вакуум-фільтр Taylo 6MQ з площею фільтрації 6,3 м ² , швидкість обертання 1-19 об/хв, продуктивність 3600 л/год, габаритні розміри барабана (мм): d=1010, l= 1995. https://prom.ua/ua/p1417310322-barabannyj-vakuum-filtr.html

Зб-23	Збірник осаду	1	Збірник ZG-5000 об'ємом 5 м ³ , габаритні розміри (мм): d=1600, h=2900. https://en.wzlihong.com/ZG-series-storage-tank-pd48397733.html?gclid=CjwKCAiAy_CcBhBeEiwAcoMRHLOPAkj83muAEUF8TLAqTa3GPXqpbDKjiIq920xA70EHDsjPDQecRxoCxmMQAvD_BwE
Рз-24	Реактор-змішувач	1	Реактор-змішувач об'ємом 16 м ³ , обладнаний сорочкою та перемішуючим пристроєм – лопатевою мішалкою, матеріал – нержавіюча сталь, габаритні розміри (мм): d= 2000, h= 4370. https://mcequipment.en.made-in-china.com/product/kSIEaQqXYMRI/China-Chinese-Manufacture-16m3-High-Pressure-Jacketed-Chemical-Reactor.html
Н-25 Н-29	Насос відцентровий	2	Насос відцентровий з магнітною муфтою DM 30 (Італія), продуктивність 20 м ³ /год. https://www.debem.com.ua/ukr/nasos/nasosy_s_magnitnoj_muftoj/dm30/
Ц-26 Ц-30	Центрифуга	2	Декантерна центрифуга LW430ЕС продуктивністю 20 м ³ /год, швидкість обертання барабану 3500 об/хв, габаритні розміри (мм): 4300×1000×1340. https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:DTk9ysIOZRMJ:https://oooyumi.ru/index.php/katalog-tovarov2/dekanternye-tsentrifugi+&cd=14&hl=uk&ct=clnk&gl=ua
Рз-27	Реактор змішувач	1	Реактор-змішувач об'ємом 25 м ³ , обладнаний сорочкою та перемішуючим пристроєм – лопатевою мішалкою, габаритні розміри (мм): d=2820, h= 3600. https://promf.com/en/container-en/reactors-en/921-reactor-bimetal-25-cub-m-en.html

ЗБ-28 ЗБ-32	Збірник фільтрату	2	Збірник об'ємом 20 м ³ , матеріал – нержавіюча сталь, габаритні розміри (мм): d= 2200, l= 5600. https://www.alibaba.com/product-detail/food-grade-horizontal-40m3-stainless-steel_62348739199.html
ЗБ-31	Збірник для осаду	1	Збірник об'ємом 8 м ³ , габаритні розміри (мм): d=2000, h=5000. https://tdredoctober.com/catalog/sborniki-nerzhaveyushchiy/584.html
Н-33	Насос відцентровий	1	Насос відцентровий з магнітною муфтою DM 10 (Італія), продуктивність 8 м ³ /год. https://www.debem.com.ua/ukr/nasos/nasosy_s_magnitnoj_muftoj/dm10/
Уф-34	Ультрафільтра- ційна установка	1	Ультрафільтраційна установка UF- 60К-6, продуктивністю 229 м ³ /день. https://pureaqua.com/industrial-ultrafiltration-uf-systems/
ЗБ-35	Збірник для ультракон- центрату	1	Збірник об'ємом 8 м ³ , габаритні розміри (мм): d=2000, h=5000. https://tdredoctober.com/catalog/sborniki-nerzhaveyushchiy/584.html
Л-36	Ліофілізатор	1	Ліофілізатор фармацевтичний GLZY-B (CIP), ємність піддонів для рідини 1000 л, кількість полиць до 17, температура полиць -55-80°С, габаритні розміри: 8350×2450×4960 мм. https://etwinternational.ru/1-1-freeze-dryer-for-apis-41522.html
ВМ-37	Вібраційний млин	1	Вібраційний надтонкий подрібнювач ЗМ-80 продуктивністю 30-60 кг/год, габаритні розміри - 1629×730×920 мм. http://www.hrbnano.com/yn_ru/index.php?p=goods_show&id=32&lanmu=12&c_id=21
ВК-38 ВК-40	Вакуумний конвеєр	2	Вакуумний конвеєр piFLOW®р продуктивністю 2-56 л/год (max до 15 т/год), матеріал - нержавіюча сталь ASTM 316L. https://www.piab.com/ru-ru/vacuum-conveyors-for-powder-and-bulk/piflow-p-high-requirement-vacuum-conveying/#description

BC-39	Вібросито	1	Вібросито для фармацевтичних сумішей ВВУ1.800.2ВЧ. Кількість дек – 2, активна площа - 2×0,5 м ² , габаритні розміри - 1345×930×1200 мм https://prom.ua/p619214373-vibrosito-krugloe-vysokochastotnoe.html?&primelead=MC43
АНК-41	Автомат для наповнення капсул	1	Автоматична машина для наповнення капсул GKF 702 продуктивністю 3000-42000 капсул/год, наповнення капсул – желатинових та НРМС капсул. Габаритні розміри - 2006×805×1298 мм. https://www.syntegon.com/solutions/pharma/capsule-filling-machines/gkf-selection-series/
Є-42	Ємність з кришкою	1	Ємність з герметичною кришкою об'ємом 50 л, матеріал – нержавіюча сталь AISI 316/ AISI 304, габаритні розміри 400×400. https://farmprom.net/emkost-s-kryshkoi/134
БМ-43	Блістерна машина	1	Автоматична блістерна лінія DPP-120. Продуктивність 20-30 блістерів/хв, вимоги до ПВХ – товщина 0,25-0,35 мм, вимоги до фольги – 0,02 мм; розмір матриці 120×90×26 мм. Габаритні розміри 2070×650×1060 мм. https://chumaki.in.ua/ua/p1025311551-avtomaticheskaya-blisternaya-liniya.html
К-44 К-46	Конвеєр	2	Конвеєр Dorner AquaPruf. Максимальне навантаження до 98 кг/м ² , швидкість – до 100 м/хв, ширина: 152-1524 мм, довжина: 914-25375 мм. https://www.dornerconveyors.com/europe/products/sanitary-stainless-steel-conveyors/aquapruf-conveyors
КМ-45	Картонувальна машина	1	Автоматична картонувальна машина ДХН-130 продуктивністю 40-100 коробок/хв, вимоги до коробки – (70-180)×(30-85)×(14-50) мм, вимоги до

			інструкції вкладиша – (80-250)×(90-170) мм. Габаритні розміри - 3100×1100×1550 мм. https://www.aligned.com.cn/products497/productShow425.html
ПМ-47	Пакувальна машина	1	Машина для упаковки в гофрокороби Е 4004. Максимальна продуктивність по збиранню гофрокоробів-4 коробки/хв, максимальні розміри коробки - 500×400×400 мм, максимальна швидкість подачі упаковок – 300 упаковок/хв, максимальний розмір упаковок - 105×110×180 мм https://pharmaunion.ru/equipment/uhlmann/upakovki-v-gofkoroba/

РОЗДІЛ 7

ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ СУЛЬФАТОВАНИХ ПОЛІСАХАРИДІВ ТА ВИРОБНИЦТВА ЛІКАРСЬКОГО ЗСОБУ «МІКОПОЛІСОЛЬ»

Технологічна схема одержання лікарського засобу «МІКОПОЛІСОЛЬ» включає допоміжні роботи (підготовка вентиляційного повітря, підготовка води очищеної, приготування 1М розчину NaOH) та технологічний процес (відділення біомаси, термоліз біомаси, фільтрування, осадження етанолом, центрифугування, сульфатування полісахаридів, центрифугування, ультрафільтрація та ліофілізація, подрібнення та просіювання субстанції, наповнення та блістерування капсул, упаковка капсул, групова упаковка ЛЗ). Технологічні схеми післяферментаційних стадій та виробництва ЛЗ наведено у графічній частині.

ДР 1. Підготовка вентиляційного повітря

ДР 1.1. Забір атмосферного повітря

Забір повітря здійснюється на висоті 2-3 м від рівня даху будівлі за допомогою повітрозбірника (ПЗ-1).

ДР 1.2. Попередня очистка повітря

Попереднє очищення повітря від крупних часточок пилу відбувається за допомогою карманного фільтру грубої очистки G4 (Ф-2) зі ступеню очищення повітря (E=65-80%).

ДР 1.3. Нагнітання повітря

На цій стадії за допомогою вентилятора (В-3) відбувається нагнітання повітря для підтримки надлишкового тиску 0,1 МПа.

ДР 1.4. Кондиціонування повітря

В кондиціонері (К-4) здійснюється нагрівання повітря до температури 21-23°C в залежності від пори року, з вологістю 30-50%.

					НУХТ БТЕК 02.02.07 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Лозіна В.Є.			РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення сульфатованих полісахаридів та виробництва лікарського засобу «МІКОПОЛІСОЛЬ»	Літера	Аркуш	Аркушів
Перевір.		Красінко В.О.					73	144
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

ДР 1.5. Другий ступінь очищення повітря

Для другого ступеню очистки повітря для приміщень класу С і D застосовується карманний фільтр F9 (**Ф-5**) з ефективністю очищення E= 40-95%.

ДР 1.6. Третій ступінь очищення повітря

Для приміщень класу С здійснюється третій ступінь очищення повітря за допомогою НЕРА фільтру класу H14 (**Ф-6**) з ефективністю очищення E=99,995%.

ДР 2. Підготовка води очищеної

ДР 2.1. Забір і попередня очистка води

З системи водопостачання вода потрапляє до баку розриву струменю (**Брс-7**) з якого вода насосом (**Н-8**) подається через фільтр грубої очистки води (**Фв-9**) на стадію пом'якшення.

ДР 2.2. Пом'якшення води

Пом'якшення води відбувається в установці пом'якшення води (**Пв-10**) звідки насосом (**Н-12**) через механічний фільтр (**Фм-11**) подається на наступну стадію.

ДР 2.3. Зворотний осмос

Насосом (**Н-12**) пом'якшена вода подається до установки зворотного осмосу (**Узо-13**).

ДР 2.4. Електродеіонізація

З установки зворотного осмосу (**Узо-13**) вода потрапляє до електродеіонізатора (**Е-14**).

ДР 2.5. Зберігання і розподіл води

З електродеіонізатора вода очищена збирається в ємність для зберігання води (**Єзв-15**) з якої насосом (**Н-16**) качається до системи водопостачання на підприємстві.

ДР 3. Приготування 1М розчину NaOH для регулювання рН

ДР 3.1. Приготування 1М розчину NaOH

Для регулювання рН до 10 на етапі сульфатування полісахаридів (ТП 6.3) додають 1,2 л 1М NaOH, для його приготування на лабораторних вагах зважують 48 г NaOH, переносять у колбу об'ємом 2 л і доводять водою до об'єму 1,2 л.

ТП 1. Відділення біомаси

ТП 1.1. Центрифугування культуральної рідини

Для відділення біомаси 40 м³ культуральної рідини зі збірника культуральної рідини насосом (Н-17) подають до центрифуги (Ц-18) з автоматичним вивантаженням осаду вагою 196,4 кг у термолізатор (Т-20) і відведенням 36 м³ супернатанту у збірник (ЗБ-19). Тривалість центрифугування 1 год.

ТП 2. Термоліз

ТП 2.1. Термоліз біомаси

В термолізаторі (Т-20) біомасу нагрівають за допомогою пари, яка обігріває змішувач, до 100°C та витримують продовж 3 год.

ТП 3. Фільтрування

ТП 3.1. Фільтрування під вакуумом

З термолізатора (Т-20) перистальтичним насосом (Н-21) термолізована біомаса подається до барабанного вакуум-фільтра (Ф-22) з автоматичним вивантаженням 184,8 кг осаду до збірника (ЗБ-23) та відведенням 3,8 м³ фільтрату до реактора-змішувача (Рз-24). Тривалість фільтрування 65 хв.

ТП 4. Осадження етанолом

ТП 4.1. Осадження полісахаридів

До реактора-змішувача (Рз-24) додають 11,6 м³ етанолу для осадження полісахаридів та витримують протягом 24 год при 4°C.

ТП 5. Відділення полісахаридів

ТП 5.1. Центрифугування

Від реактора-змішувача (Рз-24) суспензію насосом (Н-25) подають до центрифуги (Ц-26) з автоматичним вивантаженням 63,9 кг осаду

полісахаридів до реактора-змішувача (Рз-27) та відведенням фільтрату до збірника (Зб-28). Тривалість центрифугування 46 хв.

ТП 6. Сульфатування полісахаридів

ТП 6.1. Просочування полісахаридів сухим N,N-диметилформамідом

До реактора-змішувача (Рз-27) додають 3,96 м³ сухого N,N-диметилформаміду і витримують утворену суспензію при 50°C протягом 12 год при постійному перемішуванні.

ТП 6.2. Підігрівання розчину полісахаридів з піридином

До витриманої суспензії додають 2,4 л піридину та підігрівають суспензію до 80°C при постійному перемішуванні протягом 30 хв.

ТП 6.3. Охолодження розчину, внесення хлорсіркової кислоти та регулювання рН

До 80°C розчину, при постійному перемішуванні, додають 1,2 л хлорсіркової кислоти HSO₃Cl і залишають на 60 хв. Після цього розчин охолоджують до кімнатної температури, при постійному перемішуванні додають 40,6 л дистильованої води, і вносять 1,2 л 1М NaOH (від ДР 1.1) для доведення рН до 10.

ТП 6.4. Осадження полісахаридів етанолом

До утвореного розчину додають 15,2 м³ етанолу для осадження полісахаридів та витримують протягом 24 год при 4°C.

ТП 7. Відокремлення сульфатованих полісахаридів

ТП 7.1. Центрифугування

З реактора-змішувача (Рз-27) насосом (Н-29) суспензію подають до центрифуги (Ц-30) з автоматичним вивантаженням 58,3 кг осаду до збірника (Зб-31) та відведенням 18,87 м³ фільтрату до збірника (Зб-32). Тривалість центрифугування 61 хв.

ТП 8. Ультрафільтрація

ТП 8.1. Розчинення осаду

До збірника з осадом (Зб-31) додають 5 м³ води для розчинення осаду та передають на наступну стадію ТП 8.2.

ТП 8.2. Ультрафільтрація полісахаридів для видалення піридину

Отриманий розчин насосом (**Н-33**) перекачують до ультрафільтраційної установки (**УФ-34**) з мембранами розміром 80 кДа. Отриманий ультраконцентрат полісахаридів відводиться до збірника (**ЗБ-35**). Тривалість ультрафільтрації 44 хв.

ТП 9. Ліофілізація

ТП 9.1. Ліофілізація сульфатованих полісахаридів

Ультраконцентрат полісахаридів за збірника (**ЗБ-35**) розливають на 14 піддони ємністю по 1000 л кожен. Піддони завантажують у ліофільну сушарку (**Л-36**) та заморожують при температурі -50°C , сушіння відбувається при $+55^{\circ}\text{C}$. Тривалість ліофілізації 2-3 доби.

ТП 10. Подрібнення субстанції

ТП 10.1. Подрібнення ліофілізованих полісахаридів

З ліофільної сушарки (**Л-36**) 54,61 кг субстанції засипають до бункеру вібраційного млина (**ВМ-37**). Тривалість подрібнення 1 година.

ТП 11. Просіювання субстанції

ТП 11.1. Просіювання субстанції

53,24 кг подрібненої субстанції за допомогою вакуумного конвеєру (**ВК-38**) спрямовуються до вібросита (**ВС-39**) з діаметром сит 125 мкм.

ТП 12. Наповнення капсул

ТП 12.1. Наповнення капсул

52,18 кг просіяної субстанції з вібросита (**ВС-39**) вакуумним конвеєром (**ВК-40**) спрямовується до автомату для наповнення капсул (**АНК-41**). Час наповнення капсул – 74 хв.

ТП 13. Пакування капсул

ТП 13.1. Пакування капсул

З автомату для наповнення (**АНК-41**) наповнені капсули потрапляють до ємності (**Є-42**), в якій їх переносять та висипають в бункер блістерної машини (**БМ-43**). Тривалість блістерування 3 години.

ТП 14. Пакування блістерів

ТП 14.1. Пакування блістерів в упаковки

З блістерної машини (БМ-43) блістери по конвеєру (К-44) направляються до картонувальної машини (КМ-45), де відбувається вкладання блістерів та інструкції вкладишу в упаковку. Тривалість пакування 2 год.

ТП 15. Пакування в групову упаковку

ТП 15.1. Пакування упаковок з ЛЗ в групову упаковку

З картонувальної машини (КМ-45) по конвеєру (К-46) упаковки лікарського засобу потрапляють до пакувальної машини (ПМ-47), де відбувається групове пакування (по 18 упаковок) в гофрокороби. Тривалість групового пакування 36 хв.

ТП 16. Знешкодження рідких, твердих та газоподібних відходів

Рідкі відходи, а саме фільтрат, що утворюється під час відділення біомаси (ТП 1.1) та відокремлення сульфатованих полісахаридів (ТП 7.1), мийні та дезінфікуючі засоби очищуються на установці «BIOTAL-T», що складається з трьох SBR-реакторів [75]. Очищена вода надходить в каналізаційну мережу або може бути використана в технічних цілях.

Тверді відходи, у вигляді осаду, що утворюється після фільтрування термолізованої біомаси на барабанному вакуум-фільтрі (ТП 3.1) можна використати в якості палива для побутових і опалювальних печей, промислових котлів та котлів з гарячою водою, а також електростанцій на біомасі. Для цього осад додатково висушують (до вологості менше 15%) та гранулюють за допомогою гранулятора біомаси [76].

Пластикова тара, що залишається від деззасобів, сировини та допоміжних речовин сортується та відправляється до пунктів переробки.

Повітря, що виходить з виробничих приміщень проходить через систему фільтрів та викидається в атмосферу.

РОЗДІЛ 8

КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ЛЗ

Сульфатовані грибні полісахариди *Agaricus brasiliensis*

Ця аналітично нормативна документація поширюється на субстанцію сульфатовані грибні полісахариди *Agaricus brasiliensis*, яка являє собою - сульфатований-(1-2)- β -D-глюко-(1-3)- β -D-маннан [6, 77].

Склад:

Діючі речовини:

В одному пакеті міститься 10 кг сульфатованих полісахаридів базидіального гриба *A. brasiliensis*.

Призначення. Діюча речовина для виробництва лікарських засобів, зокрема МІКОПОЛІСОЛ.

Форма випуску.

Пакети по 10 кг.

					НУХТ БТЕК 02.02.07 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Лозіна В.Є.			РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва субстанції для ЛЗ	Літера	Аркуш	Аркушів
Перевір.		Красінько В.О.					79	144
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

СПЕЦИФІКАЦІЯ

Сульфатовані грибні полісахариди *Agaricus brasiliensis*

Найменування показників контролю	Встановлені значення	Методи контролю
1	2	3
Опис	Порошок від світло-коричневого до коричневого кольору	За п. 1 АНД, візуально
Ідентифікація	А. ЯМР-спектроскопія в спектрі ¹³ С. В. Високоєфективна гель-проникна хроматографія С. Інфрачервона спектрометрія Фур'є (FTIR-спектрометрія).	За п. 2 АНД ДФУ 2.2.33
Розчинність	Добре розчинний у воді <i>P</i> , нерозчинний у спирті та органічних розчинниках	За п. 3 АНД
Супровідні домішки	Домішка I – не більше 0,1%. Домішка II – не більше 0,2%. Будь-яка інша домішка – не більше 0,1%. Сума всіх домішок – не більше 1,0%	За п. 4 АНД ДФУ 2.2.29
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 0,5%	За п. 5 АНД ДФУ 2.2.23
Загальна зола	Не більше 0,1%	За п. 6 АНД ДФУ 2.4.16
Мікробіологічна чистота	Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10 ³ бактерій і не більше 10 ² грибів у грамі. Відсутність бактерій родини <i>Enterobacteriaceae</i> в 1 г.	За п. 7 АНД ДФУ 2.6.12, N, 2.6.13, N; 5.1.4, N

	Відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г. Відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г.	(категорія 3 А)
Кількісне визначення	Вміст діючої речовини не менше 90% та не більше 110%	За п. 8 АНД ДФУ 2.2.40
Антивірусна активність	IC ₅₀ = 4,30±0,36 мг/мл	За п. 9 АНД
Пакування	Пакети по 10 кг	За п. 10 АНД
Маркування	Маркування має містити відомості про виробника, торгіву і міжнародну непатентовану назву субстанції, умови зберігання, застережні заходи (якщо необхідно), дату виготовлення і термін придатності.	За п. 11 АНД
Транспортування	Транспортування при температурі від -20°C до +30°C.	За п. 12 АНД
Зберігання	У сухому захищеному місці при температурі не вище +30°C.	За п. 13 АНД
Термін придатності	2 роки	За п. 14 АНД

Методи контролю

Сульфатовані грибні полісахариди *Agaricus brasiliensis*

1. Опис

Порошок від світло-коричневого до коричневого кольору. Визначають візуально

2. Ідентифікація

А. ЯМР-спектроскопія в спектрі ^{13}C . Для аналізу беруть 60 мг зразку та розчиняють в D_2O . Аналіз проводять при 25°C за допомогою спектрометру VARIAN Unity Plus, який працює на частоті 100,582 МГц (9,4 Тесла), з використанням TSPA-d4 в якості еталону [6].

В. Визначення молекулярної маси (M_w) проводять методом високоефективної гель-проникної хроматографії на приладі Perlin-Elmer 200 (США) оснащеним детектором показника заломлення та колонкою для гель-фільтрації (TSK Gel 5000 PW $7,8 \times 300$ мм, з'єднаною із захисною колонкою TSK PWH 5×75 мм (Tosoh, Японія)). Зразок елюють 0,2 М NaCl рухомою фазою при швидкості потоку 1 мл/хв. M_w оцінюють за калібрувальними кривими стандартних декстранів (5, 12, 50, 150, 410, 670 кДа) [77].

С. Інфрачервона спектрометрія Фур'є (FTIR-спектрометрія). В спектрі ^{13}C будуть наявні дві полоси поглинання при 1253 та 810 cm^{-1} . Ці полоси вказують на сульфатні групи S=O та C-S-O [6].

3. Розчинність. Добре розчинний у воді *P*, нерозчинний у спирті та органічних розчинниках.

4. Супровідні домішки. Визначаються методом рідинної хроматографії (ДФУ 2.2.9) [78].

Домішка I – не більше 0,1%. Домішка II – не більше 0,2%. Будь-яка інша домішка – не більше 0,1%. Сума всіх домішок – не більше 1,0%.

5. Втрата в масі при висушуванні. Не більше 0,5 %. 1.00 г субстанції сушать при температурі від 100°C до 105°C .

6. Загальна зола. Не більше 0,1%, визначення проводять із 1г субстанції.

7. Мікробіологічна чистота. Субстанція не повинна містити сторонніх мікроорганізмів.

Визначають згідно з ДФУ 2.6.12, 2.6.13, N.

Зразок субстанції у кількості 10 г поміщають у мірний флакон місткістю 250 мл, доводять до 100 мл (розведення 1:10) буферним розчином з натрієм хлоридом і пептоном, рН 7,0 та перемішують до отримання гомогенної зависі.

Для визначення загальної кількості бактерій по 1 мл зависі висівають не менш, ніж на дві чашки Петрі з густим поживним середовищем №1 методом двошарового висівання.

Для визначення загальної кількості грибів по 1 мл зависі висівають не менш, ніж на дві чашки Петрі з густим поживним середовищем 2 методом двошарового висівання.

Посіви на середовищі №1 інкубують при 30–35°C для виявлення бактерій, а посіви з середовищем №2 – при 20–25°C для виявлення грибів протягом 5 діб, якщо вірогідні результати не будуть отримані раніше.

Для визначення окремих видів мікроорганізмів по 10 мл зависі висівають на рідких поживних середовищах: №3 (для виявлення бактерій родини *Enterobacteriaceae*) та №8 (для виявлення *Pseudomonas aureginosa* та *Staphylococcus aureus*). Посіви інкубують при 30–35°C протягом 18–24 год, після чого роблять пересіви з середовища №3 на густі середовища №4 та №5, а з середовища №8 – на середовища №9 та №10. Посіви інкубують при 35–37°C протягом 24–48 год. При наявності росту мікроорганізмів проводять їх ідентифікацію згідно вимог ДФУ 2.6.13.

У випадку виявлення в посівах сторонніх мікроорганізмів, контроль проводять на подвоєній кількості зразків препарату. При відсутності росту мікроорганізмів при повторному висіви досліджувану субстанцію вважають такою, що відповідає вимогам. У випадку росту сторонніх мікроорганізмів при повторному висіви зразків серію субстанції бракують.

Пропис бактеріальних поживних середовищ [78, 79].

Модифіковане печінкове середовище Блаурока:

Печінка великої рогатої худоби (ГОСТ 193421–73) (печінковий відвар (1:2)) – 1 л

Агар мікробіологічний (ГОСТ 17206–96) – 0,025 кг

Лактоза (ДФУ, 1 вид, Доп. 2, 2008, с.485) – 0,01 кг

Натрію хлорид (ДФУ, 1 вид, Доп. 1, 2004, с.422) – 0,005 кг

Пептон сухий для бактеріологічних цілей (ГОСТ 13805-76) – 0,01 кг

Цистеїн (ДФУ, 1 вид, 2004, с.483) – 0,0001 кг

Сухе біфідум-середовище Блаурока:

Агар мікробіологічний (ГОСТ 17206–96) – 0,75 г

Панкреатичний гідролізат казеїну (ТУ 9385-002-00479327–98) – 30,0 г

Екстракт пекарських дріжджів (ТУ 9385-18-00479327–2000) – 5,0 г

Глюкоза (ДФУ, 1 вид, Доп. 2, 2008, с. 417) – 7,5 г

Лактоза (ДФУ, 1 вид, Доп. 2, 2008, с.483-485) – 2,5 г

Цистеїн (ДФУ, 1 вид, 2004, с.483) – 0,5 г

Натрію хлорид (ДФУ, 1 вид, Доп. 1, 2004, с.422) – 2,5 г

Магній сірчаноокислий 7-водний (ГОСТ4523–77) – 0,5 г

Кислота аскорбінова (ДФУ, 1 вид, 2004, с.483) – 0,5 г

Натрій оцтовокислий (ГОСТ 199–78) – 0,3 г

Вода очищена – до 1 л рН (6,0±0,3)

Середовище МРС-5:

Агар мікробіологічний (ГОСТ 17206–96) – 20,0 г

Магній сірчаноокислий 5-водний (ГОСТ435–77) – 0,05 г

Цистеїн (ДФУ, 1 вид, 2004, с.483) – 0,1 г

Магній сірчаноокислий 7-водний (ГОСТ4523–77) – 0,2 г

Калій фосфорнокислий двозаміщений 3-водний (ГОСТ 2493–75) – 2,0 г

* Печінковий екстракт – 100,0 мл

** Дріжджовий автолізат з вмістом амінного азоту (0,15±0,03) % – 50,0

мл

Пептон сухий для бактеріологічних цілей (ГОСТ 13805–76) – 10,0 г

*** Гідролізат знежиреного молока – 330,0 мл

Твін-80 (Eph, вид 4 [0428]) – 1,0 мл

Глюкоза (ДФУ, 1 вид, Доп. 2, 2008, с. 417) – 20,0 г

Вода очищена – до 1 л

pH (6,4±0,2)

* Печінковий екстракт з вмістом амінного азоту (0,050±0,005) %

1. Печінка великої рогатої худоби (ГОСТ 193421–73) – 0,5 кг

2. Вода очищена – 1,0 л

** Дріжджовий автолізат з вмістом амінного азоту (0,15±0,03) %

1. Дріжджі хлібопекарські (ГСТ 171–81) – 2,5 кг

2. Вода питна – 10,0 л

3. Хлороформ (Vph, 2005, ГОСТ 20015–88) – 0,1 л

*** Гідролізат знежиреного молока

1. Молоко коров'яче пастеризоване, знежирене (ДСТУ 2661–94) – 1,0 л

2. Натрію гідроксид (ДФУ, 1 вид, Доп. 1, 2004, с.411) 20% розчин – до pH (8,0±0,2)

3. Панкреатин (ТУ 49–619–79) – 1,0 г

4. Хлороформ (Vph, 2005, ГОСТ 20015–88) – 10,0 мл

Амінний азот – (0,18±0,02) %, пептиди – (2,6±0,2) %

Натрію хлорид – (0,25±0,05) %, триптофан – (32,0±2,0) мг%

Казеїново-дріжджове середовище (КД-5):

Нативний дріжджовий автолізат із дріжджів (150 мг%) – 650 мл

Триптичний гідролізат казеїну з вмістом амінного азоту 150 мг% – 350

мл

Лактоза (ДФУ, 1 вид, Доп. 2, 2008, с.483–485) – 10 г

Натрію хлорид (ДФУ, 1 вид, Доп. 1, 2004, с.422) – 5 г

Цистеїн (ДФУ, 1 вид, 2004, с.483) – 0,1 г

Агар мікробіологічний (ГОСТ 17206–96) – 0,75 г

pH середовища (7,2±0,2)

Голодний агар:

1. Агар мікробіологічний (ГОСТ 17206–96) – 13,0 г

2. Вода очищена – 1,0 л

8. Кількісне визначення. Проводять спектрофотометричним методом. Вміст діючої речовини не менше 90% та не більше 110%.

9. Антивірусна активність. Попередньо, клітини Vero (ATCC:CCL 81), вирощують на середовищі MEM (Minimal Essential Medium) доповненому 10% фетальної бичачої сироватки, пеніциліном (100 од/мл), стрептоміцином (100 мг/мл) та амфотерцином В (25 мг/мл) при 37°C у зволоженій камері з 5% CO₂. Моношари клітин Vero, вирощених у 24-лункових планшетах, інфікують 100 БУО на лунку вірусом ВПГ-2 (333) та інкубують при 37°C протягом 1 год. Після інфікування вірусом вносять 20 мг/мл сульфатованих полісахаридів та зразки контролю: 20 мг/мл декстран сульфату та 2 мг/мл ацикловіру. Потім клітини покривають середовищем СМС (MEM, що містить 1,5% карбоксиметилцелюлози) та інкубують 72 год при 37°C. Після інкубування клітини фіксують, фарбують нафтол синій чорним, підраховують кількість бляшок і розраховують значення IC₅₀.

10. Пакування. Пакети по 10 кг.

11. Маркування. На пакети наклеюють етикетку на якій українською мовою вказують: виробника, товарний знак, адресу розташування виробництва, назву субстанції українською та латинською мовами, номер серії, реєстраційний номер, дата виготовлення, термін придатності та штрих-код.

При поставці товару на експорт вказують реєстраційний номер в країні імпортера, а вся інформація на етикетках прописується англійською мовою.

На етикетці групової тари (палету) додатково вказують кількість упаковок.

12. Транспортування. Транспортування в закритих транспортних засобах всіма видами критого транспорту при температурі від -20°C до +30°C.

13. Зберігання. У сухому захищеному місці при температурі не вище +30°C.

14. Термін придатності. 2 роки

РОЗДІЛ 9
ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ
ОДЕРЖАННЯ ЛЗ

9.1. Розрахунок річної потужності виробництва ЛЗ та кількості серій на рік

З врахуванням втрат після всіх стадій виготовлення субстанції і лікарського засобу отримуємо 51,92 кг препарату розфасованого в капсули.

Враховуючи те, що в одній упаковці міститься 40 г препарату (40 капсул по 1 г препарату в кожній капсулі), то з 51,92 кг отримуємо:

$$51\,920 \text{ г/цикл} / 40 \text{ г/упаковка} = 1298 \text{ упаковок за цикл}$$

Згідно Наказу МОЗ України [80] серія лікарського засобу – визначена кількість продукції, яка вироблена з певної кількості сировини в єдиному виробничому циклі. Отже, одна серія лікарського засобу «МІКОПОЛІСОЛ» становить 1298 упаковок.

Необхідна кількість культуральної рідини за рік з врахуванням втрат становить 1616 м³, а кількість культуральної рідини за цикл складає 40 м³, отже кількість циклів становить:

$$1616 \text{ м}^3/\text{рік} / 40 \text{ м}^3/\text{цикл} = 40 \text{ циклів на рік}$$

Кількість упаковок на рік складає:

$$1298 \text{ упаковок/цикл} \times 40 \text{ циклів} = 51\,920 \text{ упаковок/рік}$$

Тоді кількість серій на рік:

$$51\,920 \text{ упаковок/рік} / 1298 \text{ упаковок/серія} = 40 \text{ серій/рік}$$

9.2. Обґрунтування вибору класів чистоти виробничих приміщень (підготовки персоналу, дезінфікуючих засобів, вентиляційного повітря)

Підготовка персоналу

Персонал, що працює в приміщеннях класу С повинен бути вдягнутий в костюм із брюками, що щільно облягає зап'ястя, із високим коміром; ноги

					НУХТ БТЕК 02.02.07 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Лозіна В.Є.			РОЗДІЛ 9. Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання ЛЗ	Літера	Аркуш	Аркушів
Перевір.		Красінко В.О.					87	144
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

повинні бути в шкарпетках у відповідному взутті чи бахілах; голова має бути покритою; руки захищені рукавичками, а обличчя маскою. Персонал, що працює в приміщеннях класу D може не перебувати в масці та рукавичках. Періодичність заміни одягу для персоналу класу C становить одну добу, а для класу D – 2-3 доби [81].

Основні процедури підготовки персоналу до роботи:

1. В загальному гардеробі персонал повинен зняти верхній одяг і вдягнути комплект перехідного одягу (халат і тапочки), який використовується для пересування поза виробничими зонами.
2. У першій гардеробній перехідний одяг замінюється на повсякденний.
3. Залишити всі ювелірні прикраси та особисті речі в безпечному місці та видалити всю косметику.
4. Провести обробку рук, не одягаючи рукавичок та, за необхідності, вдягти спеціальних захисний чохол на бороду.
5. Перейти з першої гардеробної по спеціальному килиму, тричі переступивши по ньому, або через поперечну лаву в другу гардеробну.
6. Взяти комплект одягу в місці його зберігання, перевірити цілісність упаковки, відкрити упаковку. Вдягти захисну маску та шапочку, волосся при цьому має бути повністю сховане. Одягти халат/ блузон і брюки таким чином, щоб не забруднити їх зовнішній бік.
7. Закріпити застібки чи зав'язки.
8. Замінити перехідне взуття на взуття для виробничої зони, без допомоги рук.
9. Перевірити, використовуючи дзеркало в повний зріст людини, чи всі частини одягу вдягнуті правильно.
10. Обробити руки антисептиком і вдягнути стерильні рукавички.
11. Увійти у виробниче приміщення.

При виході з виробничої зони всі вищевказані операції проводять в зворотному порядку, зводячи до мінімуму забруднення одягу (якщо він

використовується знову) чи зняти одноразовий одяг і помістити в спеціальний контейнер [81].

Підготовка дезінфікуючих засобів

Для попередження виникнення резистентних форм мікроорганізмів пропонуємо обрати два дезінфікуючі розчини, які будуть замінюватись один на одного через деякий час.

В якості першого дезінфікуючого засобу пропонуємо обрати «Бациліквід лонг». До складу засобу входять наступні діючі речовини: полігексаметиленгуанідін гідрохлориду – 3-5%, глутаровий альдегід – 3-5%, алкілдиметилбензиламоній хлорид – 8-10%. Робочі розчини засобу мають гарні миючі, дезодоруючі, змочувальні, емульгуючі властивості, усуває неприємні запахи, не пошкоджують вироби та поверхні різноманітних матеріалів штучного та натурального походження; добре змиваються з поверхонь, не залишають нальоту і плям, не фіксують органічні забруднення. Засіб «Бациліквід лонг» має: бактерицидні, туберкулоцидні, спороцидні і віруліцидні властивості. Засіб належить до III класу помірно небезпечних речовин при парентеральному введенні та до IV класу мало небезпечних речовин при нанесенні на шкіру й інгаляційному надходженні. Недоліками засобу є – несумісність з милами та аніонактивними ПАР [82].

Робочі розчини готуються відповідно до таблиць в інструкції, наприклад, для дезінфекції поверхонь в різноманітних приміщеннях (підлога, стіни, двері, тощо) та поверхонь медприладів і апаратури використовують робочі розчини з концентрацією від 0,05% до 0,5%, час експозиції складає 60 хв для найнижчої та 5 хв для найвищої концентрації розчину, спосіб обробки – протирання, зрошення чи занурення, термін придатності робочих розчинів – 30 діб [82].

В якості другого дезінфікуючого розчину пропонуємо обрати «Саніфект». До складу засобу входять такі діючі речовини – n-алкілдиметилбензиламоній хлорид та n-алкілдиметилетилбензиламоній хлорид – не менше 4,5%. Даний засіб має виражені мийні, змочувальні, диспергуючі, емульгуючі та

дезодоруючі властивості, при підвищенні температури робочих розчинів вказані властивості посилюються, зберігаються при температурі до 90°C; не фіксують на поверхнях об'єктів обробки органічні забруднення, видаляють білкові, жирові, механічні забруднення, залишки крові, лікарських засобів, ефективні для видалення біоплівки. Засіб ефективний проти широкого спектру мікроорганізмів: має бактерицидну, туберкулоцидну, віруліцидну, фунгіцидну та спороцидну дію. За параметрами гострої токсичності концентрат засобу відноситься до IV класу небезпеки – мало небезпечна речовина. Із недоліків засобу – несумісність з сильними окисниками, аніонними ПАР та милами [83].

Для приготування робочих розчинів користуються відповідними таблицями, наприклад, для дезінфекції поверхонь медичного обладнання, апаратів, устаткування використовують 0,8% чи 1,5% розчин температурою 20°C, час експозиції 60 та 30 хв відповідно для кожної концентрації, спосіб знезараження – протирання, термін зберігання робочих розчинів – 14 діб [83].

Узагальнені дані потреби в дезінфікуючих розчинах для дезінфекції приміщень наведені в таблиці 9.1.

Для обробки рук персоналу пропоную обрати антисептичний засіб «Дермалонг Е». В якості активно-діючих речовин виступають: спирт етиловий (денатурований) - $70 \pm 3\%$, алкілдиметилбензиламоній хлорид – $0,1 \pm 0,02\%$ та молочна кислота $0,05 \pm 0,01\%$. При застосуванні засобу для антисептичної обробки рук – полегшує надягання медичних рукавичок, має антиперспірантні властивості – зменшує кількість виділень під рукавичками під час виконання маніпуляцій, володіє ранозагоювальною та протизапальною дією, не ускладнює загоєння штучно нанесених ран (розрізів, проколів). Засіб «Дермалонг Е» має бактерицидні, віруліцидні та фунгіцидні властивості, ефективний проти резидентної мікрофлори шкіри. Протимікробна дія засобу пролонгована в часі – не менше 3 годин, може продовжуватись до 5 годин (залежно від ступеню мікробного обсіменіння шкіри та інших об'єктів) [84].

«Дермалонг Е» за параметрами гострої токсичності для лабораторних тварин при введенні в шлунок та нанесенні на шкіру належить до мало

небезпечних речовин (IV клас небезпеки). Не виявляє шкірно-подразнюючих та сенсibiliзуючих властивостей при одно- та багаторазовому нанесенні на шкіру [84].

Гігієнічна антисептика шкіри рук виконується шляхом нанесення 3 мл засобу на сухі руки з подальшим втиранням в шкіру до висихання, час обробки – 30 с. Для дезінфекції медичних рукавичок, одягнених на руки персоналу засіб наноситься безпосередньо на рукавички або шляхом протирання марлевими (ватними) тампонами чи серветками, рясно зволженими засобом [84]. Узагальнені дані щодо потреб в деззасобах для обробки рук наведені в таблиці 9.2.

Таблиця 9.1

Орієнтовний розрахунок потреби в дезінфекційних засобах для дезінфекції поверхонь, обладнання та інвентарю в приміщеннях

№ з/п	Назва об'єкта	Площа, що підлягає дезінфекції, м ²		Дезінфікуючий засіб (мийний)			Кратність обробок			Потреби у деззасобах, л (кг)			
		При поточному прибиранні	При генеральному прибиранні	Назва	Концентрація виробничого розчину, %	Норма витрати робочого розчину на 1 м ²	На добу	На місяць	На рік	На одну обробку		На місяць	На рік
										При поточному прибиранні	При генеральному прибиранні		
1	Дезінфекція обладнання, поверхонь та інвентарю	360	360	Бациліквід лонг	0,5	100 мл	3	82	990	0,54	0,53	14,76	178,2
2	Дезінфекція обладнання, поверхонь та інвентарю	360	360	Саніфект	1,5	100 мл	3	82	990	1,62	1,62	44,28	534,6

Таблиця 9.2

Орієнтовний розрахунок потреби в антисептику для обробки рук персоналу

№ з/п	Назва об'єкта	Кількість осіб	Назва	Норма витрати на особу	Кратність обробок			Потреби у деззасобах, л		
					На добу	На місяць	На рік	На добу	На місяць	На рік
1	Дезінфекція рук та рукавичок	70	Дермалонг Е	3 мл	16	440	5280	3,36	92,4	1108,8

Підготовка вентиляційного повітря

Виробництво капсул, як нестерильної продукції проводиться в приміщеннях з класом чистоти С і D. Технологічні операції, які є найбільш критичними, а саме виробництво субстанції та готового лікарського засобу проводяться в зонах класу чистоти С. Такі операції, як пакування, маркування та відвантаження готового лікарського засобу проводяться в зонах класу D. Підготовка персоналу та одягу проводяться у тих зонах, в яких вони будуть працювати та використовуватися [81]

Очищення повітря у виробничих приміщеннях класів чистоти С має бути триступінчатим, для приміщень класу D - двоступінчатим. При цьому на кожному рівні очищення, для приміщень класу чистоти С, фільтри мають відповідати наступним вимогам:

- I рівень – не нижче класу G4;
- II рівень – не нижче класу F7;
- III рівень – не нижче класу H12;

На I ступені використовують фільтри класу G1- G4, що являються фільтрами грубої очистки, це можуть бути осередкові фільтри попереднього очищення типу ФЯП, ФЯВ або ФяУБ, предфільтри “PREFIL” і “KOFIL”, що очищають повітря від механічних часток, які встановлюють на вході в кондиціонер або в приточну камеру [81].

II ступінь підготовки повітря здійснюється фільтрами класу F5 – F9, типу ФР5, ФПП, а також фільтрами типу “MULTISACK” і “MULTIGLAS” тощо, які встановлюються безпосередньо перед повітрероздавальним пристроєм і призначені для тонкої фільтрації повітря від бактерій і твердих домішок при концентрації пилу $0,5 \text{ мг/м}^3$, з ефективністю очищення 40-95% [81].

III ступінь – повинен бути здійснений високоефективними стерилізувальними повітряними фільтрами класу H10 - H14 різних конструкцій, наприклад, “ABSOFIL”, “HEPA”, “SUPER-ULPA” (з

ефективністю очищення 99,999995%), що встановлюють безпосередньо в місці подачі повітря в робочу зону [81].

В приміщення класу чистоти D подається повітря після двохстадійної (мінімальна кількість ступенів) очистки. Для приміщень класу чистоти D фільтри повинні відповідати таким вимогам:

- I рівень – не нижче класу G3;
- II рівень – не нижче класу F6;

В цьому випадку на першій ступені використовують мішечні фільтри типу ФМ, чарункові – ФЯЛ або рулонні ФРП, які встановлюють на вході в кондиціонер або приточну камеру; на другій ступені – чарункові типу ФЯЛ, 4Ф, НЕРА, які встановлюють безпосередньо перед повітророзподільним пристроєм [85].

При цьому на кожному рівні очищення слід встановити штуцери для відбору повітря з метою визначення концентрації механічних часток до та після фільтрації. Згідно GMP 2020 максимальна допустима кількість часток в 1 м³ для класу С при розмірі часток 0,5 мкм становить 3520000, а при розмірі часток 5 мкм – 29000; для класу D ці показники не нормуються [81].

Температура повітря в приміщеннях, для забезпечення комфортних умов праці, має бути на рівні $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ взимку та $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ влітку, відносна вологість повітря при цьому повинна бути на рівні 30-50% [81].

9.3. Обґрунтування вибору підготовки первинної упаковки

Виготовлення первинної упаковки відбувається безпосередньо на підприємстві під час процесу упаковки капсул у блістери. Для виготовлення блістерної упаковки використовується ПВХ плівка та алюмінієва фольга, яка замовляється у перевірених постачальників.

Фармацевтична ПВХ плівка виробляється з твердого ПВХ, який не містить пластифікатори, що схильні до випаровування. Плівка володіє термічною та хімічною стійкістю, стійкістю до світла, кисню та механічним

пошкодженням і деформації, має високий ступінь герметичності та вологостійкості [86].

Фармацевтична алюмінієва фольга має високі бар'єрні властивості та повністю виключає потрапляння вологи, кисню та інших газів, мікроорганізмів і світла в середину упаковки. Фольга поставляється в стерильному стані завдяки температурі відпалу та процесам остаточного кондиціонування, також більшість виробників проводять друк в «чистих приміщеннях», щоб забезпечити стандарти стерильності [87].

Саме тому, спеціальної підготовки первинної упаковки не проводять, єдиним аспектом який можна вважати частиною етапу підготовки – правильне позиціонування катушок алюмінієвої фольги з написом відносно дати та серії, що буде штампуватися на ПВХ плівці [88].

9.4. Обґрунтування вибору підготовки води

Під час виробництва лікарського засобу «МІКОПОЛІСОЛ» використовується вода очищена для миття і дезінфекції приміщень та обладнання.

Згідно СТ-Н МОЗ України 42-3.7:2013 «Лікарські засоби. Якість води для застосування у фармації» вода очищена - це вода для виготовлення лікарських препаратів, при виробництві яких до води не висувають вимоги щодо стерильності та/або апірогенності. Воду очищену отримують шляхом дистиляції, іонного обміну або іншим підходящим способом з води, що відповідає вимогам затверджених компетентним уповноваженим органом нормативних документів стосовно якості води, призначеної для споживання людиною [89].

На практиці застосовують наступну схему отримання води очищеної: забір та попередня підготовка води (груба фільтрація) → пом'якшення води → зворотній осмос → електродеіонізація / зворотній осмос [90].

Забір води відбувається з міського водопроводу або свердловини у ємкості з розривом струменю, що створює стабільний потік в системі

водопідготовки, груба очистка при цьому здійснюється на фільтрах з системою зворотної промивки. Для пом'якшення води використовують методи осадження та іонного обміну, при цьому іонний обмін більш якісно усуває жорсткість води, дає можливість одночасно видаляти органічні речовини, а установка простіше в обслуговуванні та і сама вартість такої водопідготовки менше. На стадії зворотного осмосу вода очищається від органічних сполук і солей за рахунок пропускання води через напівпроникну мембрану при тиску більшому за осмотичний. На останній стадії може бути застосован ще один етап зворотного осмосу або процес електродеіонізації, де відбувається максимальне видалення іонів з води [90].

9.5. Вибір технологічних стадій та операцій, обладнання

Для виготовлення ЛЗ з субстанції необхідні наступні стадії:

1. Подрібнення ліофілізованої сировини
2. Просіювання
3. Наповнення капсул
4. Пакування капсул

Вибір способу подрібнення

Апарати для подрібнення класифікують за розміром отриманих часток (класом подрібнення) та за способом подрібнення [91]. Тонке подрібнення матеріалів проводять в подрібнювачах різних конструкцій, працюючих шляхом стирання матеріалу чи одночасного впливу ударних та стираючих зусиль. Розглянемо деякі з апаратів, що працюють за цими принципами [92].

До подрібнювачі стираючої дії відносять шарові млини, які мають наступні переваги: універсальність та висока продуктивність, незмінність заданої тонкості помелу при певній продуктивності апарата протягом тривалого періоду часу (з періодичним додаванням шарів для компенсації їх зносу), безпечність, надійність, простота обслуговування. В свою чергу шарові млини мають ряд недоліків: громіздкість та велика вага, великі витрати енергії на подрібнення, шум під час роботи [92].

До подрібнювачі ударно-стираючої дії відносять ударно-відцентрові млини, вібраційні млини, тощо. Основними перевагами ударно-відцентрових млинів є: отримання продукту помелу певного дисперсного складу, висока продуктивність та низькі енерговитрати. Основні недоліки даного апарату: пилоутворення, зношення робочих елементів млинів, особливо при подрібненні матеріалів підвищеної міцності [91].

Перевагами вібраційних млинів є: висока продуктивність, отримання продукту розміром часток від 2 мм до 1 мкм, здатність подрібнювати органічні і неорганічні матеріали в сухому чи вологому середовищі, відсутність тепловиділення, яке може вплинути на якість продукту, компактність, легкість встановлення. До недоліків відносять: зношення мелючих тіл та підшипників, підвищене шумовиділення [93].

Проаналізувавши вище зазначене, пропоную обрати вібраційний млин в якості подрібнювача, оскільки операція в ньому відбувається в закритому середовищі, що унеможливить потрапляння сторонніх предметів та мікрофлори.

Вибір способу просіювання

Просіювання відбувається за допомогою сит, чи грохотів, - апаратів, головною частиною яких є плоскі циліндричні чи конічні сита. Розглянемо деякі з них.

Барабанні грохоти – застосовують для порівняно тонкого просіювання. Головними перевагами барабанних грохотів є: рівномірне обертання, простота конструкції та обслуговування. До недоліків відносять: невелику продуктивність на одиницю поверхні сит, значне кришення матеріалу та значне пилоутворення, порівняно швидке забивання сит (матеріал не струшується) та велика витрата металу на виготовлення грохота [91].

Пласкі хитні (рухливі) грохоти. Перевагами таких апаратів в порівнянні з барабанними грохотами є: більша продуктивність та ефективність просіювання, компактність та зручність обслуговування, незначне кришення

матеріалу. Основні недоліки: неврівноваженість конструкції, швидкий вихід з ладу опорних стійок грохоту [91].

Вібраційні грохоти мають наступні переваги: при високій частоті коливань сита його отвори майже не забиваються матеріалом, більш висока продуктивність і точність просіювання, придатність для крупного та тонкого просіювання різноманітних матеріалів (у тому числі вологих і глинистих), компактність, легкість регулювання та зміни сит, менша витрата енергії.

Отже, пропоную обрати вібраційні грохоти (вібраційне сито/вібропросіювач) через його значні переваги та можливість вибору між мобільними та стаціонарними версіями.

Наповнення капсул

Розрізняють наступні типи машин для наповнення на основі їх конструкції:

- Потоківі (лінійні) машини для наповнення – процеси виконуються в безперервній лінії, і вони, як правило, мають одну вхідну і вихідну смуги, можливість інспектування на кожному етапі. Основним недоліком є громіздкість та необхідність широкого простору для роботи [94].

- Роторні фасувальні машини – процес наповнення відбувається по колу, за рахунок чого, апарат займає менше місця порівняно з потоковим наповнювачем, також цей наповнювач має більшу швидкість виробництва і підходять для масштабних підприємств, оскільки можуть мати кілька смуг подачі для розміщення різних ємностей для наповнення [94].

На основі автоматизації наповнювачі поділяють на ручні, напівавтоматичні та автоматичні.

У ручних наповнювачах оператори повинні завжди бути уважними та брати участь у більшості процесів під час наповнення [94].

Напівавтоматичні машини більше схожі на автоматичні наповнювачі, бо більшість процесів виконуються без участі оператора, також ці машини

можуть самостійно проводити кількісне наповнення та коригувати похибку вимірювання [94].

Повністю автоматичні наповнювачі мають автоматизовану подачу порошкового продукту в бункер/бак, зважування/вимірювання продукту та наповнення, також вони можуть працювати як з порошкоподібними, так і з гранульованими продуктами [94].

Проаналізувавши вище зазначене, пропоную обрати автоматичний роторний наповнювач для капсул.

Пакування капсул

Для упаковки капсул в блістери, на ринку представлені різні варіанти цієї операції. Розглянемо декілька варіантів:

1. Блістерну упаковку можна замовити у виробника, а на підприємстві здійснювати лише вкладання в неї капсул та запаювання.
2. Автомат для виготовлення блістерної упаковки.
3. Автомат який здійснює штамповку блістерів, вкладання в середину капсул та запаювання алюмінієвою фольгою.

На мою думку, варто обрати третій варіант, адже і в першому і в другому варіанті є необхідність в покупці та встановленні декількох апаратів, що збільшить енерго- та трудовитрати. Також, передача продукту між устаткуванням може призвести до небажаних забруднень та зниження якості кінцевого лікарського засобу.

Після упаковки капсул в блістери, за допомогою автоматичної лінії можна провести упаковку блістерів в картонні коробки з одночасним вкладанням інструкції та подальшим груповим пакуванням коробок в гофрокороби.

РОЗДІЛ 10

ОПИС ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД (ПРОЕКТ АНД) МІКОПОЛІСОЛ

Ця аналітично нормативна документація поширюється на лікарський засіб МІКОПОЛІСОЛ, який являє собою грибний полісахарид *Agaricus brasiliensis* - сульфатований-(1-2)- β -D-глюко-(1-3)- β -D-маннан [6, 77].

Склад:

Діючі речовини:

В одній капсулі міститься 1000 мг сульфатованих полісахаридів базидіального гриба *A. brasiliensis*.

Допоміжні речовини:

Гідроксипропіл метилцелюлоза (компонент вегетаріанської капсули).

Призначення. Профілактика та лікування інфекцій спричинених вірусом *Herpes simple*.

Форма випуску.

Капсули по 1000 мг в блістерах в картонній упаковці по 40 капсул.

					НУХТ БТЕК 02.02.07 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.	Лозіна В.Є.				РОЗДІЛ 10. Опис лікарського засобу згідно АНД (проект АНД)	Літера	Аркуш	Аркушів
Перевір.	Красінько В.О.						100	144
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.	Стабніков В.П.							

СПЕЦИФІКАЦІЯ МІКОПОЛІСОЛ

Найменування показників контролю	Встановлені значення	Методи контролю
1	2	3
Опис	Тверді капсули з гідроксипропіл метилцелюлози, корпус і кришка безбарвні. Вміст капсул – порошок від світло-коричневого до коричневого кольору	За п. 1 АНД, візуально
Ідентифікація	А. ЯМР-спектроскопія в спектрі ¹³ C. В. Високоєфективна гель-проникна хроматографія С. Інфрачервона спектрометрія Фур'є (FTIR-спектрометрія).	За п. 2 АНД ДФУ 2.2.33
Однорідність маси капсул	Відхилення маси вмісту кожної капсули від середньої маси має бути в межах $\pm 7,5\%$ і відповідати вимогам ДФУ 2.9.5.	За п. 3 АНД ДФУ 2.9.5
Однорідність вмісту діючої речовини в капсулах	Препарат відповідає вимогам, якщо вміст не більше як в одній однодозовій одиниці виходить за межі 85 – 115% і в жодній одиниці не виходить за межі 75 – 125% від середнього вмісту в препараті.	За п. 4 АНД ДФУ 2.9.6
Розпадання	Лікарський засіб витримав випробування, якщо всі шість капсул розпалися.	За п. 5 АНД ДФУ 2.9.1
Розчинення	При розчиненні у воді 75% діючої речовини повинно перейти в розчин за 45 хв при режимі перемішування 100 об/хв.	За п. 6 АНД ДФУ 2.9.3

	При розчиненні у 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої не менше 75% діючої речовини повинно перейти в розчин за 45 хв при режимі перемішування 50 об/хв.	
Втрата в масі при висушуванні	Наважку зразку вагою 1,0 г сушать при температурі від 100°C до 105°C до постійної маси. Втрату в масі при висушуванні відносять до початкової маси та виражають у відсотках.	За п.7 АНД ДФУ 2.2.32
Мікробіологічна чистота	Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10 ³ бактерій і не більше 10 ² грибів у грамі. Відсутність бактерій родини <i>Enterobacteriaceae</i> в 1 г. Відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г. Відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г.	За п.8 АНД, ДФУ, 2.6.12, N, 2.6.13, N; 5.1.4, N (категорія 3 А)
Супровідні домішки	Домішка I – не більше 0,1%. Домішка II – не більше 0,2%. Будь-яка інша домішка – не більше 0,1%. Сума всіх домішок – не більше 1,0%	За п.9 АНД ДФУ 2.2.29
Антивірусна активність	IC ₅₀ – 4,30±0,36 мг/мл	За п.10 АНД
Умови зберігання	У сухому захищеному місці при температурі не вище +30°C. Зберігати в недоступному для дітей місці.	За п.11 АНД
Термін придатності	2 роки	За п.12 АНД

Методи контролю МІКОПОЛІСОЛ

1. Опис

Тверді капсули з гідроксипропіл метилцелюлози, корпус і кришка безбарвні. Вміст капсул – порошок від світло-коричневого до коричневого кольору. Капсули повинні мати гладку поверхню без ушкоджень і видимих повітряних і механічних включень. Визначають візуально.

2. Ідентифікація

А. ЯМР-спектроскопія в спектрі ^{13}C . Для аналізу беруть 60 мг зразку та розчиняють в D_2O . Аналіз проводять при 25°C за допомогою спектрометру VARIAN Unity Plus, який працює на частоті 100,582 МГц (9,4 Тесла), з використанням TSPA-d4 в якості еталону [6].

В. Визначення молекулярної маси (M_w) проводять методом високоефективної гель-проникної хроматографії на приладі Perlin-Elmer 200 (США) оснащеним детектором показника заломлення та колонкою для гель-фільтрації (TSK Gel 5000 PW $7,8 \times 300$ мм, з'єднаною із захисною колонкою TSK PWH 5×75 мм (Tosoh, Японія)). Зразок елюють 0,2 М NaCl рухомою фазою при швидкості потоку 1 мл/хв. M_w оцінюють за калібрувальними кривими стандартних декстранів (5, 12, 50, 150, 410, 670 кДа) [77].

С. Інфрачервона спектрометрія Фур'є (FTIR-спектрометрія). В спектрі ^{13}C будуть наявні дві полоси поглинання при 1253 та 810 см^{-1} . Ці полоси вказують на сульфатні групи S=O та C-S-O [6].

3. Однорідність маси для одиниці дозованого лікарського засобу

20 одиниць дозованого лікарського засобу відбирають за статистично обґрунтованою схемою. Зважують нерозпаковану капсулу. Потім розпаковують капсулу в такий спосіб, щоб не була втрачена будь-яка частина оболонки, і видаляють якомога повніше її вміст. Потім зважують оболонку. За різницею зважувань розраховують масу вмісту капсули. Повторюють процедуру з іншими 19 капсулами. Лікарський засіб витримав випробування,

якщо не більше двох індивідуальних мас відхиляються від середньої маси на $\pm 7,5\%$ [78].

4. Однорідність вмісту діючої речовини в одиниці дозованого лікарського засобу

Точно зважують кожен з 10 відібраних капсул, ретельно стежачи за їх цілісністю. Витягують вміст кожної капсули підходящим способом. Точно зважують кожен зі спорожнених оболонок і розраховують для кожної капсули чисту масу вмісту, віднімаючи масу оболонки від відповідної загальної маси. Розраховують вміст діючої речовини в кожній капсулі, виходячи з витягнутої з капсули індивідуальної маси і результату кількісного визначення. Розраховують приймальне число (AV) так само, як і для методу прямого визначення, замінюючи індивідуальний вміст в одиницях на розрахунковий вміст, одержаний як зазначено нижче [78].

$$x_i = w_i \times (A/\bar{W})$$

де $w_1, w_2 \dots w_n$ — індивідуальні маси випробовуваних дозованих одиниць,

$x_1, x_2 \dots x_n$ - індивідуальний розрахунковий вміст у випробовуваних дозованих одиницях,

A — вміст діючої речовини (у відсотках до номінального значення), одержаний із використанням підходящої аналітичної методики,

\bar{W} — середнє значення індивідуальних мас ($w_1, w_2 \dots w_n$) [78].

Препарат відповідає вимогам, якщо вміст не більше як в одній однодозовій одиниці виходить за межі 85 – 115% і в жодній одиниці не виходить за межі 75 – 125% від середнього вмісту в препараті [78].

5. Розпадання

Випробовують шість капсул, використовуючи два паралельних кошика, або повторною процедурою. У кожен з трьох трубок поміщають одну капсулу і, якщо зазначено поміщають диск; опускають кошик у посудину з рідиною, зазначеною в загальних та окремих статтях. Вмикають прилад, по закінченні

зазначеного часу кошик виймають і досліджують стан таблеток або капсул [78].

Лікарський засіб витримає випробування, якщо всі шість капсул розпалися [78].

6. Розчинення

Розчинення проводять за допомогою приладу з кошиком. Як середовище розчинення використовують воду Р та 0,1М розчин кислоти хлористоводневої, об'єм середовища розчинення — 900-1000 мл, температура середовища розчинення — (37.0 ± 0.5) °С [78].

При розчиненні у воді 75% діючої речовини повинно перейти в розчин за 45 хв при режимі перемішування 100 об/хв. При розчиненні у 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої не менше 75% діючої речовини повинно перейти в розчин за 45 хв при режимі перемішування 50 об/хв [78].

7. Втрата в масі при висушуванні

Наважку зразку вагою 1,0 г сушать при температурі від 100°С до 105°С до постійної маси. Втрату в масі при висушуванні відносять до початкової маси та виражають у відсотках [78].

8. Мікробіологічна чистота

Препарат не повинен містити сторонніх мікроорганізмів.

Визначають згідно з ДФУ 2.6.12, 2.6.13, N.

Зразок лікарського засобу у кількості 10 г поміщають у мірний флакон місткістю 250 мл, доводять до 100 мл (розведення 1:10) буферним розчином з натрієм хлоридом і пептоном, рН 7,0 та перемішують до отримання гомогенної зависі.

Для визначення загальної кількості бактерій по 1 мл зависі висівають не менш, ніж на дві чашки Петрі з густим поживним середовищем №1 методом двошарового висівання.

Для визначення загальної кількості грибів по 1 мл зависі висівають не менш, ніж на дві чашки Петрі з густим поживним середовищем 2 методом двошарового висівання.

Посіви на середовищі №1 інкубують при 30–35°C для виявлення бактерій, а посіви з середовищем №2 – при 20–25°C для виявлення грибів протягом 5 діб, якщо вірогідні результати не будуть отримані раніше.

Для визначення окремих видів мікроорганізмів по 10 мл зависі висівають на рідких поживних середовищах: №3 (для виявлення бактерій родини *Enterobacteriaceae*) та №8 (для виявлення *Pseudomonas aureginosa* та *Staphylococcus aureus*). Посіви інкубують при 30–35°C протягом 18–24 год, після чого роблять пересіви з середовища №3 на густі середовища №4 та №5, а з середовища №8 – на середовища №9 та №10. Посіви інкубують при 35–37°C протягом 24–48 год. При наявності росту мікроорганізмів проводять їх ідентифікацію згідно вимог ДФУ 2.6.13.

У випадку виявлення в посівах сторонніх мікроорганізмів, контроль проводять на подвоєній кількості зразків препарату. При відсутності росту мікроорганізмів при повторному висіви досліджуваній препарат вважають таким, що відповідає вимогам. У випадку росту сторонніх мікроорганізмів при повторному висіві зразків серію препарату бракують.

Пропис бактеріальних поживних середовищ [78, 79].

Модифіковане печінкове середовище Блаурока:

Печінка великої рогатої худоби (ГОСТ 193421–73) (печінковий відвар (1:2)) – 1 л

Агар мікробіологічний (ГОСТ 17206–96) – 0,025 кг

Лактоза (ДФУ, 1 вид, Доп. 2, 2008, с.485) – 0,01 кг

Натрію хлорид (ДФУ, 1 вид, Доп. 1, 2004, с.422) – 0,005 кг

Пептон сухий для бактеріологічних цілей (ГОСТ 13805-76) – 0,01 кг

Цистеїн (ДФУ, 1 вид, 2004, с.483) – 0,0001 кг

Сухе біфідум-середовище Блаурока:

Агар мікробіологічний (ГОСТ 17206–96) – 0,75 г
Панкреатичний гідролізат казеїну (ТУ 9385-002-00479327–98) – 30,0 г
Екстракт пекарських дріжджів (ТУ 9385-18-00479327–2000) – 5,0 г
Глюкоза (ДФУ, 1 вид, Доп. 2, 2008, с. 417) – 7,5 г
Лактоза (ДФУ, 1 вид, Доп. 2, 2008, с.483-485) – 2,5 г
Цистеїн (ДФУ, 1 вид, 2004, с.483) – 0,5 г
Натрію хлорид (ДФУ, 1 вид, Доп. 1, 2004, с.422) – 2,5 г
Магній сірчаноокислий 7-водний (ГОСТ4523–77) – 0,5 г
Кислота аскорбінова (ДФУ, 1 вид, 2004, с.483) – 0,5 г
Натрій оцтовокислий (ГОСТ 199–78) – 0,3 г
Вода очищена – до 1 л рН (6,0±0,3)

Середовище МРС-5:

Агар мікробіологічний (ГОСТ 17206–96) – 20,0 г
Магній сірчаноокислий 5-водний (ГОСТ435–77) – 0,05 г
Цистеїн (ДФУ, 1 вид, 2004, с.483) – 0,1 г
Магній сірчаноокислий 7-водний (ГОСТ4523–77) – 0,2 г
Калій фосфорнокислий двозаміщений 3-водний (ГОСТ 2493–75) – 2,0 г
* Печінковий екстракт – 100,0 мл
** Дріжджовий автолізат з вмістом амінного азоту (0,15±0,03) % – 50,0

мл

Пептон сухий для бактеріологічних цілей (ГОСТ 13805–76) – 10,0 г
*** Гідролізат знежиреного молока – 330,0 мл
Твін-80 (Eph, вид 4 [0428]) – 1,0 мл
Глюкоза (ДФУ, 1 вид, Доп. 2, 2008, с. 417) – 20,0 г
Вода очищена – до 1 л
рН (6,4±0,2)
* Печінковий екстракт з вмістом амінного азоту (0,050±0,005) %
1. Печінка великої рогатої худоби (ГОСТ 193421–73) – 0,5 кг
2. Вода очищена – 1,0 л

** Дріжджовий автолізат з вмістом амінного азоту ($0,15 \pm 0,03$) %

1. Дріжджі хлібопекарські (ГСТ 171–81) – 2,5 кг
2. Вода питна – 10,0 л
3. Хлороформ (Vph, 2005, ГОСТ 20015–88) – 0,1 л

*** Гідролізат знежиреного молока

1. Молоко коров'яче пастеризоване, знежирене (ДСТУ 2661–94) – 1,0 л
2. Натрію гідроксид (ДФУ, 1 вид, Доп. 1, 2004, с.411) 20% розчин – до рН ($8,0 \pm 0,2$)

3. Панкреатин (ТУ 49–619–79) – 1,0 г
4. Хлороформ (Vph, 2005, ГОСТ 20015–88) – 10,0 мл

Амінний азот – ($0,18 \pm 0,02$) %, пептиди – ($2,6 \pm 0,2$) %

Натрію хлорид – ($0,25 \pm 0,05$) %, триптофан – ($32,0 \pm 2,0$) мг%

Казеїново-дріжджове середовище (КД-5):

Нативний дріжджовий автолізат із дріжджів (150 мг%) – 650 мл

Триптичний гідролізат казеїну з вмістом амінного азоту 150 мг% – 350

мл

Лактоза (ДФУ, 1 вид, Доп. 2, 2008, с.483–485) – 10 г

Натрію хлорид (ДФУ, 1 вид, Доп. 1, 2004, с.422) – 5 г

Цистеїн (ДФУ, 1 вид, 2004, с.483) – 0,1 г

Агар мікробіологічний (ГОСТ 17206–96) – 0,75 г

рН середовища ($7,2 \pm 0,2$)

Голодний агар:

1. Агар мікробіологічний (ГОСТ 17206–96) – 13,0 г

2. Вода очищена – 1,0 л

9. Супровідні домішки

Визначаються методом рідинної хроматографії (ДФУ 2.2.9) [17].

Домішка I – не більше 0,1%. Домішка II – не більше 0,2%. Будь-яка інша домішка – не більше 0,1%. Сума всіх домішок – не більше 1,0%.

10. Антивірусна активність

Попередньо, клітини Vero (ATCC:CCL 81), вирощують на середовищі MEM (Minimal Essential Medium) доповненому 10% фетальної бичачої сироватки, пеніциліном (100 од/мл), стрептоміцином (100 мг/мл) та амфотерцином В (25 мг/мл) при 37°C у зволоженій камері з 5% CO₂. Моношари клітин Vero, вирощених у 24-лункових планшетах, інфікують 100 БУО на лунку вірусом ВПГ-2 (333) та інкубують при 37°C протягом 1 год. Після інфікування вірусом вносять 20 мг/мл вмісту капсул та зразки контролю: 20 мг/мл декстран сульфату та 2 мг/мл ацикловіру. Потім клітини покривають середовищем СМС (MEM, що містить 1,5% карбоксиметилцелюлози) та інкубують 72 год при 37°C. Після інкубування клітини фіксують, фарбують нафтол синій чорним, підраховують кількість бляшок і розраховують значення IC₅₀.

11. Умови зберігання

У сухому захищеному місці при температурі не вище +30°C. Зберігати в недоступному для дітей місці.

12. Термін придатності

2 роки .

Фармакологічні властивості

Код АТС. J05A X20** Противірусні засоби прямої дії.

Імунологічні та біологічні властивості. МІКОПОЛІСОЛ відноситься до противірусних засобів системного застосування які впливають на адсорбцію та проникнення вірусу простого герпесу (ВПГ), а також на експресію вірусного білка та розповсюдження ВПГ від клітини до клітини.

Показання до застосування. МІКОПОЛІСОЛ призначено для профілактики та лікування дітей і дорослих. Препарат застосовують для:

- лікування інфекцій шкіри та слизових оболонок, спричинених вірусом *Herpes simple*, включаючи первинний та рецидивуючий генітальний герпес.
- профілактики рецидивів інфекцій, спричинених вірусом *Herpes simple*, у пацієнтів з нормальним імунітетом.
- профілактики інфекцій, спричинених вірусом *Herpes simple*, у пацієнтів з імунодефіцитом [46].

Способи застосування та дози. Капсулу слід приймати запиваючи великою кількістю води.

Лікування інфекцій, спричинених вірусом Herpes simple.

Препарат застосовують у дозі 2000 мг (2 капсули) 5 разів на добу із приблизно 4-годинним інтервалом, за винятком нічного періоду. Тривалість лікування – 5 днів, але у разі тяжкої первинної інфекції може бути продовженою.

При необхідності пацієнтам з тяжким імунодефіцитом або зі зниженою абсорбцією у кишечнику разову дозу можна подвоїти до 4000 мг.

Лікування потрібно розпочинати якомога раніше після початку розвитку інфекції. У випадку рецидивуючого герпесу найкраще починати лікування у продромальний період або після появи перших ознак ураження шкіри.

Профілактика рецидивів інфекцій, спричинених вірусом Herpes simple, у пацієнтів з нормальним імунітетом.

Препарат застосовувати у дозі 2000 мг 4 рази на добу з 6-годинним інтервалом (або для зручності – у дозі 4000 мг 2 рази на добу з 12-годинним інтервалом).

Лікування буде ефективним навіть після зменшення дози лікарського засобу до 2000 мг 3 рази на добу з 8-годинним інтервалом або навіть 2 рази на добу з 12-годинним інтервалом.

У деяких випадках радикальне поліпшення спостерігається після прийому добової дози лікарського засобу 8000 мг.

Для спостереження за можливими змінами природного перебігу захворювання терапію лікарським засобом потрібно періодично переривати з інтервалом 6-12 місяців.

Профілактика інфекцій, спричинених вірусом Herpes simple, у пацієнтів з імунодефіцитом.

Препарат застосовувати у дозі 2000 мг 4 рази на добу з 6-годинним інтервалом.

При необхідності пацієнтам з тяжким імунодефіцитом або зі зниженою абсорбцією у кишечнику разову дозу можна подвоїти до 4000 мг або застосовувати відповідну дозу для внутрішньовенного введення.

Тривалість профілактики залежить від тривалості періоду ризику.

Діти віком від 2 років.

Лікування та профілактика інфекцій, спричинених вірусом Herpes simple, у дітей з імунодефіцитом.

Препарат застосовувати у дозах, як для дорослих [46].

Передозування. Індивідуальна непереносимість компонентів.

Побічні дії. Не описано.

Протипоказання. Не встановлено.

Застосування під час вагітності та годування груддю. Досліджень, які могли б довести абсолютну безпеку застосування продукту у годуючих та вагітних пацієнток, не проводилося. Проте, добавка може призначатися як під

час вагітності, так і під час годування грудьми, виключно за показаннями і з дозволу фахівця.

Взаємодія з іншими лікарськими засобами. МІКОПОЛІСОЛ проявляє синергічний ефект з ацикловіром і може застосовуватися для комплексного лікування та профілактики інфекцій спричинених вірусом *Herpes simple*, а також в тому випадку, коли просте лікування ацикловіром вже не діє [6].

Вплив на здатність керувати автотранспортом. Не досліджувалося.

Умови зберігання. У сухому захищеному місці при температурі не вище +30°C. Зберігати в недоступному для дітей місці.

Строк придатності. 2 роки.

Умови відпуску. Без рецепта.

Упаковка. По 4 блістери в картонній коробці.

ВИСНОВКИ

Таким чином, проаналізувавши наукові дослідження, було встановлено, що базидієві гриби мають ряд активних речовин: полісахариди, меланіни, ферменти, протеїнази, терпеноїди, та інші, які проявляють антивірусні властивості щодо вірусів людей, рослин та тварин, і можуть бути використані як основи для створення нових протівірусних лікарських засобів.

Базидіоміцет *A. brasiliensis* є джерелом полісахаридів, які проявляють антивірусні властивості проти вірусів простого герпесу, а їх модифікація шляхом сульфатування посилює ці властивості, що дало можливість розглянути дані полісахариди в якості субстанції для отримання нового протигерпетичного лікарського засобу «МІКОПОЛІСОЛ».

В ході роботи, була проаналізована потреба в новому препараті і в якості початкового забезпечення ЛЗ взято 0,01% хворих на герпес другого типу. Орієнтуючись на таку кількість хворих розраховано потужність виробництва лікарського засобу «МІКОПОЛІСОЛ» - кількість культуральної рідини, яка виробляється на рік, для отримання 51 920 упаковок/рік, складає 1616 м³.

Проаналізувавши доступні на ринку форми випуску лікарських засобів та види первинних упаковок, було прийнято рішення випускати лікарський препарат «МІКОПОЛІСОЛ» у вигляді капсул, що містять по 1 г активної лікарської речовини – сульфатованих полісахаридів, в блістерах, по 40 капсул в упаковці (4 блістери).

Для виділення і очищення субстанції, а також виробництва з неї ЛЗ було здійснено ґрунтовний аналіз та пошук літератури, щоб підібрати сучасні, економічно доцільні та технологічно правильні методи і устаткування для створення чистого та якісного продукту.

На субстанцію та лікарський засіб «МІКОПОЛІСОЛ» була розроблена аналітична нормативна документація з врахуванням чинних стандартів та Державної фармакопеї України.

					НУХТ БТЕК 02.02.07 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.	Лозіна В.Є.				Висновки	Літера	Аркуш	Аркушів
Перевір.	Красінько В.О.						113	144
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.	Стабніков В.П.							

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Mehetre G., Loe V., Singh G., Sorokan A., Maksimov I., et al. Current Developments and challenges in plant viral diagnostics: a systematic review. *Viruses*. 2021, 13(3): 421. doi: 10.3390/v13030412. [Електронний ресурс] Режим доступу: [Current Developments and Challenges in Plant Viral Diagnostics: A Systematic Review \(nih.gov\)](#)
2. Gonzalez J., Macgregor-Skinner G. Dangerous viral pathogens of animal origin: risk and biosecurity. *Zoonoses - Infections Affecting Humans and Animals*. 2014: 1015–1062. doi: 10.1007/978-94-017-9457-2_41. [Електронний ресурс] Режим доступу: [Dangerous Viral Pathogens of Animal Origin: Risk and Biosecurity \(nih.gov\)](#)
3. Автономова А.В., Барков А.В., Краснопольская Л.М. Противовирусное действие лекарственных базидиальных грибов. *Практическая фитотерапия*. 2011, 1: 71-82. [Електронний ресурс] Режим доступу: [ПРОТИВОВИРУСНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ \(elibrary.ru\)](#)
4. Центр громадського здоров'я МОЗ України [Електронний ресурс] Режим доступу: [Інфекційна захворюваність населення України | Центр громадського здоров'я \(phc.org.ua\)](#)
5. Центр громадського здоров'я МОЗ України [Електронний ресурс] Режим доступу: [Статистика ВІЛ і ТБ в Україні: жовтень 2021 року | Центр громадського здоров'я \(phc.org.ua\)](#)
6. Cardozo F., Camellini C., Mascarello A., Rossi M., Nunes R., Barardi C., Mendonca M., Simoes C. Antiherpetic activity of a sulfated polysaccharide from *Agaricus brasiliensis* mycelia. *Antiviral Research*. 2011; 92: 108-114. doi:10.1016/j.antiviral.2011.07.009. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2011.07.009>
7. Сакович В., Жерносеков Д. Базидиомицеты как источники биологически активных веществ. *Вестник Полесского государственного*

университета. 2018, 1. [Электронный ресурс] Режим доступа: [Базидиомицеты как источники биологически активных веществ \(cyberleninka.ru\)](http://cyberleninka.ru)

8. Филиппова Е., Кабанов А., Скарнович М., Мазурков О., Теплякова Т., Косогова Т., Макаревич Е., Ибрагимова Ж., Трошкова Г., Шишкина Л., Мазуркова Н. Экстракты базидиальных грибов подавляют репродукцию вируса гриппа птиц А (H5N1) в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. *Современные проблемы науки и образования*. 2013, 5. [Электронный ресурс] Режим доступа: [ЭКСТРАКТЫ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ ПОДАВЛЯЮТ РЕПРОДУКЦИЮ ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ А\(H5N1\) В ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VITRO И IN VIVO - Современные проблемы науки и образования \(сетевое издание\) \(science-education.ru\)](http://science-education.ru)

9. Теплякова Т.В., Косогова Т.А., Ананько Г.Г., Бардашева А.В., Ильичева Т.Н. Противовирусная активность базидиальных грибов. Обзор литературы. *Проблемы медицинской микологии*. 2014, 16 (2): 15-25. [Электронный ресурс] Режим доступа: [Противовирусная активность базидиальных грибов. Обзор литературы – тема научной статьи по фундаментальной медицине читайте бесплатно текст научно-исследовательской работы в электронной библиотеке КиберЛенинка \(cyberleninka.ru\)](http://cyberleninka.ru)

10. Teplyakova T., Psurtseva N., Kosogova T., Mazurkova N., Khanin V., Vlasenko V. Antiviral Activity of Polyporoid Mushrooms (Higher Basidiomycetes) from Altai Mountains (Russia). *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 2012; 14(1): 37-45. doi: 10.1615/IntJMedMushr.v14.i1.40 [Электронный ресурс] Режим доступа: https://www.researchgate.net/publication/221837333_Antiviral_Activity_of_Polyporoid_Mushrooms_Higher_Basidiomycetes_from_Altai_Mountains_Russia

11. Lee S., Kim J., Heo J., Lee I., Park S., Hwang M., Bae J., Park M., Park H., Park M. The Anti-influenza Virus Effect of *Phellinus igniarius* Extract. *Journal of Microbiology*. 2013; 51(5): 676-681. doi: 10.1007/s12275-013-3384-2.

[Электронный ресурс] Режим доступа:

<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s12275-013-3384-2.pdf>

12. Gao L., Sun Y., Si J., Liu J., Sun G., Sun X., Cao L. *Cryptoporus volvatus* Extract Inhibits Influenza Virus Replication *In Vitro* and *In Vivo*. *PLoS ONE*. 2014; 9(12): e113604. doi: 10.1371/journal.pone.0113604. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113604>

13. Hwang B., Lee I., Choi H., Yun B. Anti-influenza activities of polyphenols from the medicinal mushroom *Phellinus baumii*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2015; 25(16): 3256-3260. doi: 10.1016/j.bmcl.2015.05.08. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.05.081>

14. Song A., Sun X., Kong C., Zhao C., Qin D., Huang F., Yang S. Discovery of a new sesquiterpenoid from *Phellinus ignarius* with antiviral activity against influenza virus. *Arch Virol*. 2014; 159, 753–760. doi: 10.1007/s00705-013-1857-6. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1857-6>

15. Ильичева Т., Ананько Г., Косогова Т., Олькин С., Омигов В., Таранов О., Теплякова Т. Противовирусная активность меланина из чаги (*Inonotus obliquus*), полученного на основе культивирования штамма F-1244, выделенного в чистую культуру. *Химия Растительного Сырья*. 2020; 2: 283-289. doi: 10.14258/jcrpm.2020025167. [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://journal.asu.ru/cw/article/view/5167/6578>

16. Krupodorova T., Rybalko S., Barshteyn V. Antiviral activity of Basidiomycete mycelia against influenza type A (serotype H1N1) and herpes simplex virus type 2 in cell culture. *Virologica Sinica*. 2014, 29(5): 284–290. doi:10.1007/s12250-014-3486-y. [Электронный ресурс] Режим доступа: [Antiviral activity of Basidiomycete mycelia against influenza type A \(serotype H1N1\) and herpes simplex virus type 2 in cell culture - PubMed \(nih.gov\)](#)

17. Разумов И., Казачинская Е., Пучкова Л., Косогова Т., Горбунова И., Локтев В., Теплякова Т. Протективная активность водных экстрактов из высших грибов при экспериментальной герпесвирусной инфекции у белых мышей. *Антибиотики и Химиотерапия*. 2013; 58(9-10): 8-12. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://www.antibiotics-chemotherapy.ru/jour/article/view/504/504>

18. Разумов И., Косогова Т., Казачинская Е., Пучкова Л., Щербакова Н., Горбунова И., Михайловская И., Локтев В., Теплякова Т. Противовирусная активность водных экстрактов и полисахаридных фракций, полученных из мицелия и плодовых тел высших грибов. *Антибиотики и Химиотерапия*. 2010; 55(9-10): 14-18. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/protivovirusnaya-aktivnost-vodnyh-ekstraktov-i-polisaharidnyh-fraktsiy-poluchennyh-iz-mitseliya-i-plodovyh-tel-vyshshih-gribov>

19. Santoyo S., Ramirez-Anguiano A., Aldars-Garcia L., Reglero G., Soler-Rivas C. Antiviral activities of *Boletus edulis*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinus edodes* extracts and polysaccharide fractions against Herpes simplex virus type 1. *Journal of Food and Nutrition Research*. 2012; 51(4): 225-235. [Электронный ресурс] Режим доступа: https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/660904/antiviral_santoyo_jfnr_2012.pdf;sequence=1

20. Ананько Г., Теплякова Т., Бардашева А., Ильичева Т. Меланины из глубинной культуры *Inonotus obliquus* и их противовирусная активность в отношении вируса простого герпеса 2 типа. *Успехи медицинской микологии*. 2015; 14: 384-388. [Электронный ресурс] Режим доступа: https://filala.ru/index.php?route=blog/article/download&article_id=156&download_id=5

21. Носик Д., Носик Н., Теплякова Т., Лобач О., Киселева И., Кондрашина Н., Бочкова М., Ананько Г. Противовирусная активность экстрактов базидиомицетов и гуминовых соединений в отношении вируса

иммунодефицита человека (Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus 1) и вируса простого герпеса (Herpesviridae: Simplexvirus: Human alphaherpevirus 1). Вопросы Вирусологии. 2020; 65(5): 276-283. doi: 10.36233/0507-4088-2020-65-5-4. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://virusjour.elpub.ru/jour/article/view/437/279>

22. Florez-Sampedro L., Zapata W., Orozco L., Mejia A., Arboleds C., Rugeles M. In vitro anti-HIV-1 activity of the enzymatic extract enriched with laccase produced by the fungi *Ganoderma sp.* and *Lentinus sp.* *Vitae*. 2016; 23(2): 109-118. doi: 10.17533/udea.vitae.v23n2a03. [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v23n2/0121-4004-vitae-23-02-00109.pdf>

23. Sillapachaiyaporn C., Chuchwankul S. HIV-1 protease and reverse transcriptase inhibition by tiger milk mushroom (*Lignosus rhinocerus*) sclerotium extracts: *In vitro* and *in silico* studies. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2020; 10: 396-404. doi: 10.1016/j.jtcme.2019.08.002. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2019.08.002>

24. Sillapachaiyaporn C., Nikhet S., Ung A., Chuchwankul S. Anti-HIV-1 protease activity of the crude extracts and isolated compounds from *Auricularia polytricha*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2019; 19: 35. doi: 10.1186/s12906-019-2766-3. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2766-3>

25. Шибнев В., Гараев Т., Финогенова М., Калнина Л., Носик Д. Противовирусное действие водных экстрактов березового гриба *Inonotus obliquus* на вирус иммунодефицита человека. *Вопросы вирусологии*. 2015; 60(2): 35-38. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://virusjour.elpub.ru/jour/article/view/322/200>

26. Zhao S., Rong C., Kong C., Liu Y., Xu F., Miao Q., Wang S., Wang H., Zhang G. A Novel Laccase with Potent Antiproliferative and HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitory Activities from Mycelia of Mushroom *Coprinus comatus*.

BioMed Research International. 2014. doi: 10.1155/2014/417461. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://doi.org/10.1155/2014/417461>

27. Wu Y., Wang H., Ng T. A Novel Metalloprotease from the Wild Basidiomycete Mushroom *Lepista nuda*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2011; 21: 256-262. doi: 10.4014/jmb.1010.10060. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://doi.org/10.4014/jmb.1010.10060>

28. Sun J., Wang H., Ng T. Isolation of a laccase with HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activity from fresh fruiting bodies of the *Lentinus edodes* (Shiitake mushroom). *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*. 2011; 48: 88-94. [Электронный ресурс] Режим доступа: https://www.researchgate.net/publication/51227640_Isolation_of_a_laccase_with_HIV-1_reverse_transcriptase_inhibitory_activity_from_fresh_fruiting_bodies_of_the_Lentinus_edodes_Shiitake_mushroom

29. Li X., Gao J., Li M., Cui H., Jiang W., Tu Z., Yuan T. Aromatic Cadinane Sesquiterpenoids from the Fruiting Bodies of *Phellinus pini* Block SARS-CoV-2 Spike–ACE2 Interaction. *Journal of Natural Products*. 2021; 84: 2385-2389. doi: 10.1021/acs.jnatprod.1c00426. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.1c00426>

30. Ингибитор репликации коронавируса SARS-CoV-2 на основе водного экстракта гриба *Inonotus obliquus* : пат. 2741714 Российская Федерация : А61К 36/06, В01D 11/02, А61Р 31/14 / Т.В. Теплякова, О.В. Пьянков, М.О. Скарнович, Н.И. Бормотов, Т.А. Косогова, А.С. Овчинникова, А.В. Магеррамова, А.Л. Потешкина, А.С. Сафатов, Е.И. Филиппова. - № 2020127270 ; заявл. 13,08,2020 ; опубл. 28,01,2021, Бюл. №4 – 12 с. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://patentimages.storage.googleapis.com/e2/ff/6e/ba53d03f2bb905/RU2741714C1.pdf>

31. Теплякова Т.В., Булычев Л.Е., Косогова Т.А., Ибрагимова Ж.Б., Юрганова И.А., Кабанов А.С., Пучкова Л.И., Бормотов Н.И., Бардашева А.В. Противовирусная активность экстрактов из базидиальных грибов в отношении ортопоксвирусов. Проблемы особо опасных инфекций. 2012; 3(113): 99-101. doi: 10.21055/0370-1069-2012-3-99-101. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2012-3-99-101>

32. Sandargo B., Thongbai B., Praditya D., Steinmann E., Stadler M., Surup F. Antiviral 4-Hydroxypseudothionin and Antimicrobial Pleurotin Derivatives from Cultures of the Nematophagous Basidiomycete *Hohenbuehelia grisea*. *Molecules*. 2018; 23(10): 2697. doi: 10.3390/molecules23102697. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://doi.org/10.3390/molecules23102697>

33. Круподьорова Т. А. Біологічні особливості *Ganoderma applanatum* (Pers.: Wallr.) Pat. та *G. lucidum* (Curtis: Fr.) P. Karst. в культурі : автореф. дис... канд. біол. наук: 03.00.21 / Круподьорова Тетяна Анатоліївна ; Київ. Ін-т ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. - Київ, 2009. - 20 с. [Електронний ресурс] Режим доступу: [Каталоги - НБУВ Національна бібліотека України імені В. І. Вернадського \(irbis-nbuv.gov.ua\)](http://irbis-nbuv.gov.ua)

34. Коваленко О., Поліщук О., Вассер С. Глікани вищого базидіального гриба *Ganoderma adspersum* (Schulzer) Donk: отримання та антивірусна активність. *Біотехнологія*. 2010, 3(5): 83-91. [Електронний ресурс] Режим доступу: [#5_2010.qxd \(biotechnology.kiev.ua\)](#)

35. Коваленко О., Васильєв В., Адамчук-Чала Н., Титова Л., Карпенко О. Штучні глікан-гліколіпідні комплекси як антивірусні засоби та ефектори мікробних препаратів на основі ризобій. Доповіді НАН України. 2017, 88-96. doi: 10.15407/dopovidi2017.01.088. [Електронний ресурс] Режим доступу: [13-Kovalenko.pdf \(nbuv.gov.ua\)](#)

36. Поліщук О. М. Глікани базидіоміцетів як інгібітори ВТМ-інфекції та індуктори вірусостійкості рослин : автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.06/ Поліщук Олена Миколаївна ; Київ. НАН України, Ін-т мікробіології

і вірусології ім. Д.К. Заболотного. - Київ, 2011. - 23 с. [Електронний ресурс]
Режим доступу: [Каталоги - НБУВ Національна бібліотека України імені В. І. Вернадського \(irbis-nbuv.gov.ua\)](#)

37. Полищук Е., Коваленко А., Антипов И., Оверченко В. Ингибирование инфекционности вируса табачной мозаики в присутствии глюкана *Ganoderma adspersum* (scholar donk) в изолированных протопластах табака. Вісн. КНУ, Серія «Біологія». 2012, 62: 69-72. [Електронний ресурс]
Режим доступу: [КИЇВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА - PDF Free Download \(docplayer.net\)](#)

38. Композиція біохімічних речовин для стимуляції продуктивності та захисту від хвороб сільськогосподарських рослин : пат. 53983 Україна : А01С 21/00, С05F 11/00 / О.А. Бойко, М.Д. Мельничук, А.Л. Бойко, І.П. Григорюк, В.О. Дубровін. № u 2010 04473 ; заявл. 16.04.2010 ; опубл. 25.10.2010 , Бюл. № 20. – 3 с. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://uapatents.com/3-53983-kompoziciya-biokhimichnikh-rechovin-dlya-stimulyaci-produktivnosti-ta-zakhistu-vid-khvorob-silskogospodarskikh-roslin.html>

39. Бойко О., Весельський С., Григорюк І., Мельничук М. Створення біопрепаратів на основі біохімічних компонентів різних видів базидіоміцетів та вищих рослин. Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Біологія, біотехнологія, екологія. 2014, 204: 120-127. [Електронний ресурс] Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnau_biol_2014_204_19

40. Бойко О., Григорюк І., Мельничук М. Гриби (Basidiomycetes): властивості в екологічних нішах, продуценти біологічно активних речовин. Агроекологічний журнал. 2011, 3: 69-75. [Електронний ресурс] Режим доступу: [Наукова бібліотека ХНТУСГ \(khntusg.com.ua\)](#)

41. Бова Т. Скринінг речовин мікробного походження з антивірусною активністю *in vitro*. *Біологія тварин*. 2010, 12(2): 503-507. [Електронний ресурс] Режим доступу: [*Microsoft Word - 2 \(inenbiol.com.ua\)](#)

42. Nguyen T., Chen J., Hu Y., Wang D., Fan Y., Wang J., Abula S, Zhang J, Qin T, Chen X, Chen X, Khakame SK, Dang, B. K.. In vitro antiviral activity of sulfated *Auricularia auricula* polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*. 2012; 90(3): 1254–1258. doi:10.1016/j.carbpol.2012.06.060. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://europepmc.org/article/med/22939338>

43. Ren G., Xu L., Lu T., Yin J. Structural characterization and antiviral activity of lentinan from *Lentinus edodes* mycelia against infectious hematopoietic necrosis virus. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018; 115: 1202-1210. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.04.132. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.132>

44. Ковалева Г.К. Биологические особенности и биохимический состав ксилотрофных базидиомицетов *Fomitopsis officinalis* (Vill.: Fr.) Bond. et Sing., *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. и *Trametes versicolor* (L.: Fr.) Pilat : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.24 / Ковалева Гульмира Кажгалневна ; Сибирский гос. технол. ун-т. – Москва, 2009. – 171 с. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://earthpapers.net/biologicheskije-osobennosti-i-biohimicheskij-sostav-ksilotrofnyh-bazidiomitsetov-fomitopsis-officinalis-vill-fr-bond-et-si>

45. Проценко М.А. Разработка технологии экспериментальных образцов препаратов из высших базидиомицетов : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.01.06 / Проценко Мария Анатольевна ; Гос. науч. центр вирус. и биотехн. «Вектор». – Кольцево, 2017. – 178 с. [Электронный ресурс] Режим доступа:

<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwj1gN3f84H2AhUDO-wKHbvzBLUQFnoECAQQAQ&url=http%3A%2F%2Fwww.vector.nsc.ru%2Fuserfiles%2Ffiles%2Fdiss%2Fprotsenko%2Fdprotsenko.pdf&usg=AOvVaw2-s3SRqQ8lTPozRvpt2KRc>

46. Ліки Контроль [Електронний ресурс] Режим доступу: [АЦИКЛОВІР-ДАРНИЦЯ інструкція UA/0991/01/01 \(9498\) \(likicontrol.com.ua\)](http://likicontrol.com.ua)
47. World Health Organization [Електронний ресурс] Режим доступу: [Massive proportion of world's population are living with herpes infection \(who.int\)](http://who.int)
48. World Health Organization [Електронний ресурс] Режим доступу: [Herpes simplex virus \(who.int\)](http://who.int)
49. Лич І.В. Промислова технологія лікарських засобів [Електронний ресурс]: конспект лекцій для студ. освітнього ступеня бакалавр спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» ден. та заоч. форм навч. / І.В. Лич. – К.: НУХТ, 2017. – 323 с.
50. Baumann M., Evangelista M., Roscoe B. From gelatin to vegetarian: Exploring plant-based soft capsule technologies. Vitafoods Insights. 2020 [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.vitafoodsinsights.com/product-development/gelatin-vegetarian-exploring-plant-based-soft-capsule-technologies>
51. Zandu Care. Veg Capsule [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://zanducare.com/blogs/news/veg-capsule>
52. Ямнюк О. Сучасні види упаковки готових лікарських засобів. Наукові розробки молоді на сучасному етапі. Київський національний університет технологій та дизайну, 2018: 521-523. [Електронний ресурс] Режим доступу: https://er.knutd.edu.ua/bitstream/123456789/11537/1/NRMSE2018_V1_P521-523.pdf
53. Устаткування виробництв галузі [Електронний ресурс]: лабораторний практикум для студ. напряму підготовки 6.051401 «Біотехнологія» ден. та заоч. форм навч./уклад.: І.В.Житнецький, О.А.Терещенко, Л.В. Марцинкевич, К.: НУХТ, 2014. - 50 с. [Електронний ресурс] Режим доступу: <http://library.nuft.edu.ua/ebook/file/36.34.pdf>

54. Arad Branding [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://aradbranding.com/en/advantages-and-disadvantages-of-plastic-containers-in-pharmacy/>

55. AmetistGlass [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://ametistglass.com/blog/plastikovaya-ili-steklyannaya/>

56. Science of drugs [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://drugs-bd.blogspot.com/2015/04/what-are-advantages-and-disadvantages-encountered-in-the-use-of-plastics-in-packaging-drugs.html>

57. Практикум для вик. лаб. роб. з дисц. «Пакувальна тара та обладнання для пакування» для здоб. ступ. вищої освіти «Бакалавр» зі спец. 133 «Галузеве машинобудування» Таврійський держ. агротехнологічний унів-т. [Електронний ресурс] Режим доступу: <http://www.tsatu.edu.ua/ophv/wp-content/uploads/sites/13/praktykum-dlja-vykonannja-laboratornyh-robot.pdf>

58. Выделение и очистка продуктов биотехнологии. Методическое пособие / авт.: Д.А. Новиков – Минск.: БГУ, 2014. – 256 с.

59. [Способ получения белковой биомассы базидиального гриба *Pleurotus pulmonarius*: пат. 2588474 Россия: С12Р 21/00, С12N 1/14 / Е.А. Мельникова, Е.Б. Мельников, Т.В. Рязанов, П.В. Миронов. - № 2015108407/10 ; заявл. 11.03.2015 ; опубл. 27.06.2016, Бюл. № 18. – 11 с.](#)

60. Технологічне обладнання біотехнологічної і фармацевтичної промисловості: підручник [для вищ. Навч. закл.] Стасевич М.В., Милянч А.О., Стрельникова Л.С., Крутьських Т.В., Бучкевич І.Р., Зайцев О.І., Гузьова І.О., Стрілець О.П., Гладух Є.В., Новіков В.П. – Львів: «Новий Світ-2000», 2018. – 410 с. [Електронний ресурс] Режим доступу: http://pdf.lib.vntu.edu.ua/books/2019/Stasevich_2018_410.pdf

61. Данилов І. П., Самійленко С. І. Апарати мікробіологічної промисловості: навч. посібник. – Харків: НТУ «ХП», 2008 – 272 с.

62. Middelberg, A. Process-scale disruption of microorganisms. *Biotechnology Advances*, 1995, 13(3), 491–551. doi:10.1016/0734-9750(95)02007-р
63. Плановский А.Н., Рамм В.М., Каган С.З. Процессы и аппараты химической технологии. – Москва: «Госхимиздат», 1962. – 841 с.
64. Кочетков Н.К., Боков А.Ф., Дмитриев Б.А., Усов А.И., Чижов О.С., Шиббаев В.Н. Химия углеводов. – Москва: «Химия», 1967. – 672 с.
65. Гемицеллюлозы / М.С. Дудкин, В.С. Громов, Н.А. Ведерников, Р.Г. Каткевич, Н.К. Черно. – Рига: Зинатне, 1991. – 488 с.
66. Wang Z., Xie J., Shen M., Nie S., Xie, M. Sulfated modification of polysaccharides: Synthesis, characterization and bioactivities. *Trends in Food Science & Technology*, 2018, 74: 147–157. doi:10.1016/j.tifs.2018.02.010
67. Ровкина К.И. Разработка и стандартизация активной фармацевтической субстанции гипополидеммического действия на основе полисахаридов некоторых высших растений флоры Сибири : дис. ...канд. фарм. наук : 14.04.02. Томск, 2019. 134 с.
68. Basile A., Ghasemzadeh K. Current trends and future developments on (Bio-) Membranes. 2022, 378 p. doi: 10.1016/C2019-0-04672-9
69. Lee, E. K., & Koros, W. J. Membranes, Synthetic, Applications. *Encyclopedia of Physical Science and Technology*, 2003, 279–344. doi:10.1016/b0-12-227410-5/00419-1
70. Kok I. Ultrafiltration for fractionation of polymer solutions. Master's Thesis / Essay, 2016. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://fse.studenttheses.ub.rug.nl/id/eprint/14620>
71. Fan L., Li J., Deng K., Ai L. Effect of drying methods on the antioxidant activities of polysaccharides extracted from *Ganoderma lucidum*. *Carbohydrate Polymers*, 2012, 87(2): 1849-1854. doi: 10.1016/j.carbpol.2011.10.018
72. Shang H., Wang M., Li R., Duan M., Wu H., Zhou H. Extraction condition optimization and effects of drying methods on physicochemical properties

and antioxidant activities of polysaccharides from *Astragalus cicer* L. *Scientific Reports*, 2018, 8:3359. doi: 10.1038/s41598-018-21295-z

73. Шарков В.И, Куйбина Н.И. Химия гемицеллюлоз. – Москва: «Лесная промышленность», 1972. – 440 с.

74. Ahmadi S., Sheikh-Zeinoddin M., Soleimanian-Zad S., Alihosseini F., Yadav H. Effects of different drying methods on the physicochemical properties and antioxidant activities of isolated acorn polysaccharides. *LWT*, 2019, 100: 1-9. doi: 10.1016/j.lwt.2018.10.027

75. Тетеря О. І., Мартинов С. Ю., Назаров С.М. Методичні вказівки до виконання лабораторної роботи «Ознайомлення з технологією очищення господарсько-побутових стічних вод на прикладі роботи установок «ВІОТАЛ-Т» (Стандарт)» для студентів спеціальності 192 «Будівництво та цивільна інженерія» всіх форм навчання / Тетеря О. І., Мартинов С. Ю., Назаров С.М. – Рівне: НУВГП, 2017 – 21 с. [Електронний ресурс] Режим доступу: <http://ep3.nuwm.edu.ua/6086/1/03-06-70.pdf>

76. Beston [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.bestongroup.com/ru/pellet-making-machine/biomass/>

77. Cardozo F., Camelini C., Cordeiro M., Mascarello A., Malagoli B., Larsen I., Rossi M., Nunes R., Braga F., Brandt C., Simoes C. Characterization and cytotoxic activity of sulfated derivatives of polysaccharides from *Agaricus brasiliensis*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2013; 57: 265–272. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.03.026. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.03.026>

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

79. Технологія пробіотиків: Підруч. / С.О. Старовойтова, О.І. Скроцька, Ю.М. Пенчук, Т.П. Пирог. — К.: НУХТ, 2012. — 318 с.

80. Наказ МОЗ України Про затвердження Порядку встановлення заборони (тимчасової заборони) та поновлення обігу лікарських засобів на території України №809 від 22.11.2011 [Електронний ресурс] Режим доступу: [Наказ МОЗ України від 22.11.2011 р. № 809 | Щотижневик АПТЕКА \(apteka.ua\)](#)
81. Лич І.В. Промислова технологія лікарських засобів [Електронний ресурс]: конспект лекцій для студ. освітнього ступеня бакалавр спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» ден. та заоч. форм навч. / І.В. Лич. – К.: НУХТ, 2017. – 323 с.
82. Інструкція Бациліквід лонг [Електронний ресурс] Режим доступу: [Інструкція Бациліквід лонг 2020 скан.pdf \(danamedikal.com\)](#)
83. Інструкція Саніфект [Електронний ресурс] Режим доступу: [MV_Sanifekt_2019.pdf \(interdez.com.ua\)](#)
84. Інструкція Дермалонг Е [Електронний ресурс] Режим доступу: [Інструкція Дермалонг Е.pdf \(danamedikal.com\)](#)
85. Устаткування асептичних і неасептичних виробництв лікарських засобів. Конспект лекцій для студентів спеціальності 133 “Галузеве машинобудування» спеціалізація «Обладнання фармацевтичних та біотехнологічних виробництв» / Уклад.: В.М. Поводзинський, В.Ю. Шибецький – К.: КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2017. – 251с.
86. Elitex [Електронний ресурс] Режим доступу: [Фармацевтическая плёнка \(googleusercontent.com\)](#)
87. Alufoil for pharmaceutical packaging [Електронний ресурс] Режим доступу: [Pharmaceutical Packaging - European Aluminium Foil Association \(alufoil.org\)](#)
88. Стандартные рабочие процедуры для блистерной упаковочной машины ПВХ Alu [Електронний ресурс] Режим доступу: [Стандартные рабочие процедуры для блистерной упаковочной машины Alu PVC - Huale \(hualimachinery.com\)](#)

89. СТ-Н МОЗУ 42-3.7:2013 Лікарські засоби. Якість води для застосування у фармації від 18.05.2013 [Електронний ресурс] Режим доступу: [СТ-Н МОЗУ 42-3.7:2013 Лікарські засоби. Якість води для застосування у фармації | Довідник лікарських препаратів Компендіум \(compendium.com.ua\)](#)

90. КАРЛАШ Ю.В. Основи проектування біотехнологічних виробництв. [Електронний ресурс]: конспект лекцій для здобувачів освітнього ступеня «бакалавр» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» освітньо-професійної програми «Біотехнологія» денної та заочної форм навчання /Ю.В. Карлаш, Є.О. Омельчук - К: НУХТ, 2019. – 252 с.

91. Конспект лекцій до розділу «Механічні процеси» з курсу —Процеси та апарати хімічних виробництв» для студентів III-IV курсів механічних спеціальностей / Укл. С.О. Опарін. – Дніпропетровськ: ДВНЗ УДХТУ, 2012. – 112 с. [Електронний ресурс] Режим доступу: [1 \(udhtu.edu.ua\)](#)

92. Касаткин А.Г. Основные процессы и аппараты химической технологии. Часть II. Тепловые и диффузионные процессы. Учебное пособие для химических ВТУЗов. 2-е изд., испр. и доп. – Москва: ГОНТИ «НКТП», 1938. – 680 с.

93. Hrbnano [Електронний ресурс] Режим доступу: [Компания по производству фармацевтического оборудования NANO \(hrbnano.com\)](#)

94. Levapack [Електронний ресурс] Режим доступу: [Powder Filling Machines : A Guide for Beginners - Levapack](#)

95. Seo DJ, Choi C. Antiviral Bioactive Compounds of Mushrooms and Their Antiviral Mechanisms: A Review. *Viruses*. 2021 Feb 23;13(2):350. doi: 10.3390/v13020350. PMID: 33672228; PMCID: PMC7926341.

96. Arunachalam K., Sasidharan S., Yang X. A concise review of mushrooms antiviral and immunomodulatory properties that may combat against COVID-19. *Food Chemistry Advances*. 2022, 1, 100023. doi: 10.1016/j.focha.2022.100023.

97. Worldometer [Электронный ресурс] Режим доступа: [COVID Live - Coronavirus Statistics - Worldometer \(worldometers.info\)](https://www.worldometers.info/coronavirus/)

Матеріали з конференції «PLANTA+. Наука практика та освіта»

БАЗИДІЄВІ ГРИБИ ЯК ДЖЕРЕЛО АНТИВІРУСНИХ СПОЛУК
ДЛЯ РОСЛИННИЦТВАЛозіна В.Є.¹, Красінько В.О.¹, Ломберг М.Л.²¹ Національний університет харчових технологій,
м. Київ, Україна²Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України,
м. Київ, Українаlozinavlada@gmail.com, krasinkoVO@nuft.edu.ua,
margarita@lomberg.kiev.ua

Ключові слова: лікарські гриби, ІВК, чисті культури, глибинне культивування, полісахариди, антимікробні властивості

Вступ. Серед усіх патогенів, що викликають захворювання рослин, значний ризик для сільського господарства являють саме віруси. Згідно літературних даних, біля половини інфекційних захворювань серед різних культур рослин призводить до 40% загальних втрат врожаю [1]. Зважаючи на складність діагностування та низьку ефективність традиційних засобів боротьби, віруси представляють собою один з основних обмежувачів сільськогосподарського виробництва у всьому світі, знижуючи як якість, так і врожайність продовольчих культур.

Згідно даних наукової літератури метаболіти багатьох видів базидієвих грибів, зокрема отримані з них сполуки, що належать до різних класів (полісахариди, терпеноїди, тощо), здатні інгібувати розвиток вірусів. Біологічна активність базидіальних грибів визначається присутністю активних компонентів у складі плодових тіл, міцелію та у культуральній рідині [2].

Так, дослідження антивірусної активності культуральної рідини *Ganoderma applanatum* та *G. lucidum* проти вірусу тютюнової мозаїки показали перспективність саме *G. lucidum* як продуцента сполук протівірусної спрямованості [3].

Порівняння протівірусної активності водного, кислотного та лужного екстрактів гліканів, отриманих з трьох штамів *Ganoderma adspersum*, щодо вірусу тютюнової мозаїки (ВТМ) *in vitro* з використанням як тест-об'єкта надчутливої рослини дурману (*Datura stramonium* L.) показало найвищу активність саме водного екстракту, за використання якого спостерігали пригнічення вірусу на 50% вже за концентрації 1 мкг/мл, а на 90% – за концентрації 10-100 мкг/мл. Також показано перспективність застосування комплексних препаратів полісахаридів базидіоміцетного та бактеріального або дріжджового походження. Так, у результаті визначення антивірусної активності глікан-гліколіпідних комплексів (ГГК) наступного складу: ГГК-1: глюкуроноксилман (ГКМ) гриба *Tremella mesenterica* (2 г/л) + рамноліпід *Pseudomonas* sp. PS-17 (0,1 г/л); ГГК-2: глікан *G. adspersum* (0,5 г/л) + рамноліпід *Pseudomonas* sp. PS-17 (0,1 г/л); ГГК-3: ГКМ (0,7 г/л) + манан *Candida maltosa* (0,17 г/л) + глікан (0,17 г/л) + рамноліпід (0,1 г/л) найбільше пригнічення ВТМ в умовах *in vitro* на рослинах дурману (*D. stramonium* L.) показав ГГК-2 (97,5%). У

дослідженнях зі стійкістю сої до ВТМ кращі протективні властивості виявили розведені водою (1:10) ГГК [4].

Дослідження антивірусної активності глюкуронооксиломанану з ліофілізованої культуральної рідини гриба *Tremela mesenterica* та глюкану з міцелію *G. adpersum* проти ВТМ показало обнадійливі результати: 97,9% пригнічення вірусної активності з використанням як тест-об'єкту листя тютюну дикого виду *Nicotiana sanderae*. Глюкан з міцелію базидієвого гриба *G. adpersum* був виділений водною екстракцією і використовувався у концентрації 500 мкг/мл. За результатами наступних досліджень було показано, що антивірусна активність того самого полісахаридного препарату (глюкану) з міцелію *G. adpersum* проти вірусу тютюнової мозаїки в ізольованих протопластах тютюну зумовлює зниження у 4 рази титру антигену ВТМ вже через 2 години [5].

Нині існує позитивний вітчизняний досвід розробки та практичного застосування противірусних препаратів для рослинництва на основі метаболітів базидієвих грибів. Зокрема розроблений та запатентований біологічний препарат, одержаний з плодових тіл печериці двоспорової (*Agaricus bisporus*) та гливи звичайної (*Pleurotus ostreatus*), а також ліофілізованих суцвіть, стебел та молодих листків хмелю (*Humulus lupulus* L.) [6]. Польові дослідження показали, що при позакореневій обробці рослин томату спостерігається зниження титру вірусу тютюнової мозаїки в 2,5-5,8 разів на п'ятий день та в 3,2-12 разів – на десятий день досліду. Обробка рослин сої сорту «Букурія» показала, що захист від ураження ВТМ спостерігається при мінімальній концентрації розчину 1,5% [7].

Таким чином, одержання полісахаридних комплексів базидієвих грибів з метою випробування їх противірусної активності є наразі актуальним завданням.

Матеріали та методи. Об'єктами досліджень були штами лікарських грибів, що зберігаються у Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України [8]. Дослідження росту грибів у стаціонарній та глибинній культурі, отримання біомаси та культуральної рідини проводили на органічних живильних середовищах: пивному суслі, середовищах з глюкозою та пептоном у співвідношенні джерел вуглецевого та азотного живлення С : N 20:1 та 10 : 2 в 0,5 л колбах Ерленмейера, що містили 50 мл рідкого середовища відповідно до методології [9]. Визначення кількісного вмісту ендополісахаридів та концентрації екзополісахаридів проводили за описаною методикою [10].

Результати та їх обговорення. Результати дослідження росту 33 штамів 19 видів лікарських грибів у глибинній культурі свідчать про те, що максимальне накопичення біомаси за 10 діб культивування для більшості досліджених культур (73%) забезпечувало середовище, яке містило 50 г/л глюкози та виключно органічний азот (пептон, 5 г/л). До видів, які за 10 діб глибинного культивування накопичували на цьому середовищі біомасу, яка перевищує 10 г/л за сухою масою, належать всі досліджені штами *Cyclocybe aegerita*, *Auricularia polytricha* 517, *Oudemansiella mucida* 223, а також штами видів *Pholiota adiposa* та *Ph. aurivella*. Рідке середовище з комбінованим

джерелом азоту (пептон та сірчаноокислий амоній) при однаковому співвідношенні джерела вуглецю та азоту (20:1) виявилось більш сприятливим для росту у глибинній культурі штамів *G. applanatum* 920, *G. lucidum* 921 та 1621, *Hericium erinaceus* 991, *Lentinula edodes* 1534, *Pleurotus djamor* 1526 та *P. sajor-caju* 1014. При цьому за 7 днів культивування штамі *P. djamor* та *P. sajor-caju* накопичували біомасу, яка перевищувала 10 г/л за сухою масою. Натуральне живильне середовище – пивне сусло було оптимальним для росту лише штамів *G. lucidum* 921 та 1621, вихід біомаси яких на 10 добу культивування становив $24,4 \pm 0,4$ та $22,1 \pm 0,9$ г/л а.с.м. відповідно [9].

Найбільшу концентрацію ендopolісахаридів спостерігали у міцелії *C. aegerita* 960 (4,8 г/л). Найменший вміст цих речовин відмічений нами у культур *H. erinaceus* 991 та *P. ostreatus* 453 (0,9 та 1 г/л відповідно). Вихід ендopolісахаридів у штамів видів *Morchella esculenta* 1755, *Flammulina velutipes* 1878 та *Hericium coralloides* 2332 становив 2,3 та 2,8 г/л відповідно.

Найперспективнішим продуцентом екзopolісахаридів серед досліджених культур виявилась культура *H. erinaceus* 991 (2,7 г/л). За даними літератури, вихід екзopolісахаридів при культивуванні їжовика гребінчастого коливається від 0,079 до 3,537 г/л. Дещо поступаються йому штамі *C. aegerita* 960 та *M. esculenta* 1755 – по 2,2 та 2,1 г/л екзopolісахаридів відповідно, хоча це також досить високі показники. З літературних джерел відомо, що концентрація екзopolісахаридів у культур *M. esculenta* може сягати 0,539–2,183 г/л, у штамів *F. velutipes* – 0,234–0,671 г/л, *P. ostreatus* – 0,091–1,091 г/л залежно від складу поживного середовища і часу культивування. Інші досліджені нами культури забезпечували вихід екзopolісахаридів: *H. erinaceus* 992 – 1,9 г/л, *Hericium flagellum* 2407 – 1,8 г/л, *F. velutipes* 1878 – 1,5 г/л. Штамі *Trametes versicolor* 353, *P. ostreatus* 453, та *H. erinaceus* 965 синтезували найменшу кількість екзopolісахаридів – по 1,4 г/л [10].

Висновки. Таким чином, показано, що ендо- та екзopolісахаридні комплекси базидієвих грибів є потенційними продуцентами для біотехнологічної розробки препаратів, призначених для адаптації культурних рослин в боротьбі проти вірусів. Підібрані рідкі живильні середовища для культивування досліджених видів лікарських грибів, які забезпечують значне накопичення біомаси, а також за результатами вмісту полісахаридів відібрані найбільш перспективні види та штамі шапинкових грибів з *IBK* колекції для подальших антивірусних досліджень їхніх полісахаридних комплексів.

Перелік посилань

1. Mehetre G., Loe V., Singh G., Sorokan A., Maksimov I., et al. Current Developments and challenges in plant viral diagnostics: a systematic review. *Viruses*. 2021, 13(3): 421. doi: 10.3390/v13030412. Current Developments and Challenges in Plant Viral Diagnostics: A Systematic Review (nih.gov)

2. Сакович В.В., Жерносеков Д.Д. Базидиомицеты как источники биологически активных веществ // Вестник Полесского государственного университета. Серия природоведческих наук. 2018. №1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/bazidiomitsety-kak-istochniki-biologicheskii-aktivnyh-veschest>.

3. Круподьорова Т.А. Біологічні особливості *Ganoderma applanatum* (Pers.: Wallr.) Pat. та *G. lucidum* (Curtis: Fr.) P. Karst. в культурі : автореф. дис... канд. біол. наук: 03.00.21 / Круподьорова Тетяна Анатоліївна ; Київ. Ін-т ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. - Київ, 2009. - 20 с.

4. Коваленко О., Васильєв В., Адамчук-Чала Н., Титова Л., Карпенко О. Штучні глікан-гліколіпідні комплекси як антивірусні засоби та ефектори мікробних препаратів на основі ризобій. Доповіді НАН України. 2017, 88-96. doi: 10.15407/dopovidi2017.01.088-13-Kovalenko.pdf (nbuv.gov.ua)

5. Полищук Е., Коваленко А., Антипов И., Оверченко В. Ингибирование инфекционности вируса табачной мозаики в присутствии глюкана *Ganoderma adspersum* (scholar donk) в изолированных протопластах табака. Вісн. КНУ, Серія «Біологія». 2012, 62: 69-72. КИЇВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА - PDF Free Download (docplayer.net)

6. Композиція біохімічних речовин для стимуляції продуктивності та захисту від хвороб сільськогосподарських рослин : пат. 53983 Україна : A01C 21/00, C05F 11/00 / О.А. Бойко, М.Д. Мельничук, А.Л. Бойко, І.П. Григорюк, В.О. Дубровін. № u 2010 04473 ; заявл. 16.04.2010 ; опубл. 25.10.2010, Бюл. № 20. – 3 с. <https://uapatents.com/3-53983-kompoziciya-biokhimichnikh-rechovin-dlya-stimulyaci-produktivnosti-ta-zakhistu-vid-khvorob-silskogospodarskikh-roslin.html>

7. Бойко О., Весельський С., Григорюк І., Мельничук М. Створення біопрепаратів на основі біохімічних компонентів різних видів базидіоміцетів та вищих рослин. Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Біологія, біотехнологія, екологія. 2014, 204: 120-127. http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnau_biol_2014_204_19

8. Bisko N, Lomberg M, Mykchaylova O, Mytropolska N (2022). IBK Mushroom Culture Collection. Version 1.1. The IBK Mushroom Culture Collection of the M.G. Kholodny Institute of Botany. Occurrence dataset <https://doi.org/10.15468/dzdsqu> accessed via GBIF.org on 2022-01-31.

9. Ломберг М.Л. Лікарські макроміцети у поверхневій та глибинній культурі : автореф. дис... канд. біол. наук: 03.00.21 / Ломберг Маргарита Леонідівна ; Київ. Ін-т ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. - Київ, 2005. - 20 с.

10. Мірошніченко М.С., Аль-Маалі Г.А., Ломберг М.Л., Красінько В.О. Синтез полісахаридів деякими видами грибів з *IBK* колекції. Мат-ли VI Міжнар. наук.-практ. конф.і «Біотехнологія: звершення та надії», присвяченої до 120-річчя НУБіП України (м. Київ, 14-16 листопада 2017 р.). 2017: 128-130. https://www.researchgate.net/publication/328538429_SINTEZ_POLISAHARIDIV_DEAKIMI_VIDAMI_GRIBIV_Z_IVK_KOLEKCIJ

Сертифікат з конференції «PLANTA+. Наука практика та освіта»

СЕРТИФІКАТ №342

Цим засвідчується, що

Лозіна В. Є.

брав(ла) участь у роботі III Науково-практичної конференції з міжнародною участю
«PLANTA+. НАУКА ПРАКТИКА ТА ОСВІТА»
 до 180-річчя Національного медичного університету імені О. О. Богомольця

18 лютого 2022 р.
 м. Київ, Україна

Сертифікат підтверджує участь у заході, тривалість якого становить 1 день, з нарахуванням 5 балів згідно з Наказом МОЗ України від 22.02.2019 № 446

Ректор Національного медичного університету імені О. О. Богомольця **Юрій КУЧИН**

Завідувачка кафедри фармакогнозії та ботаніки **Валентина МІНАРЧЕНКО**

Конференція внесена до Реєстру з'їздів, конгресів, симпозіумів та науково-практичних конференцій України 2022 р. №44 (Позначення: УкрІНТЕ) № 784 від 28 вересня 2021 р.)

НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА
PLANTA+

Постер з 88 міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів

Antiviral activity of glycans of highest basidiomycetes against tobacco mosaic virus

V. Lozina (supervisor: V. Krasinko, Ph.D, Associate Professor)
 National University of Food Technologies, Kyiv, Ukraine

Introduction

One of the effective, cost-effective, and safe ways to control plant viruses is the activation of their defense mechanisms by inducers of plant origin, which include metabolites of basidiomycetes

Objective

This study aims to identify the prospects for the use of basidiomycete glycans as components of drugs to protect plants from tobacco mosaic virus (TMV)

Materials and methods

The search and thorough analysis of Ukrainian scientific works were carried out on the basis of D. K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the National Academy of Sciences of Ukraine and M.G. Kholodny Institute of Botany of the National Academy of Sciences of Ukraine, relative to the antiviral activity of glycans isolated by aqueous, alkaline, and acid extraction against plants tobacco mosaic virus.

Results and conclusions

The use of glycans of highest basidiomycetes, especially fungi of the genus *Ganoderma*, as components of plant protection products against tobacco mosaic virus, is a promising area of modern biotechnology

90% **97,9%**

N. tabacum L. variety Immune 580

N. sanderiae Hort

Glycan isolated from the mycelium of *Ganoderma adspersum* by aqueous extraction, at a concentration of 500 µg/ml, inhibits 90% of TMV on the leaves of the indicator plant *Nicotiana tabacum* L. (tobacco) variety Immune 580, which is hypersensitive to TMV and 97,9% of the virus for wild tobacco *N. sanderiae* Hort, which is a sensitive mutant with defective N-gene.

Strains of <i>G. adspersum</i>	Degree of suppression of TMV			Source
	Aqueous extraction	Acid extraction	Alkaline extraction	
II	90%	-	-	Polishchuk, 2011
II	97,9%	-	-	
844	78%	69%	72%	Kovalenko, 2010
1259	96%	74%	52%	
1259	99%	74%	64%	

A study of the antiviral activity of glycans isolated by aqueous, acidic, and alkaline extraction from *G. adspersum* strains used as a test plant hypersensitive to the viral invasion of *Datura stramonium* L. showed that the greatest suppression of TMV show glycans isolated from *G. adspersum* 1259 (99%) at a concentration of 100 µg / ml

Матеріали з 88 міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів

88 International scientific conference of young scientist and students
"Youth scientific achievements to the 21st century nutrition problem solution".
April – May, 2022. Book of abstract. Part 1. NUFT, Kyiv.

18. Антивірусна активність гліканів вищих базидіоміцетів проти вірусу тютюнової мозаїки

Лозіна Владислава

Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

Вступ. Одним з ефективних, економічно вигідних та безпечних способів боротьби з вірусами рослин є активація їх захисних механізмів індукторами рослинного походження, до яких належать метаболіти базидієвих грибів [1].

Матеріали та методи. Проведено пошук та ґрунтовний аналіз вітчизняних наукових праць, здійснених на базі інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного та інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного, щодо антивірусної активності гліканів, виділених за допомогою водної, лужної та кислотної екстракції, проти вірусу тютюнової мозаїки рослин.

Результати та обговорення. До метаболітів вищих базидіоміцетів, які здатні активувати захисні механізми рослин, мають біологічне походження та можуть бути утилізовані ферментними системами рослин та мікроорганізмів відносять грибні глікани [1].

Механізми індукованої вірусостійкості у рослин та здатність інгібувати вірусну інфекцію наразі досліджені лише для дріжджових полісахаридів, відтак вивчення такого механізму для гліканів базидіоміцетів є особливо актуальним для сучасної біотехнології рослин [1].

Попередні дослідження українських науковців дозволили встановити, що найбільше пригнічення вірусу тютюнової мозаїки виявляє глюкоан, виділений з мицелію *Ganoderma adspersum* шляхом водної екстракції, в концентрації 500 мкг/мл. Для рослини-індикатора *Nicotiana tabacum* L. (тютюн) сорту Імунний 580, який є надчутливим до вірусу тютюнової мозаїки, ступінь пригнічення вірусу склав 90%, а для дикою виду тютюну *N. sanderae* Hort, який являє собою чутливий дефектний за N-геном мутант – 97,9% [1].

Дослідження антивірусної активності гліканів виділених шляхом водної, кислотної та лужної екстракції з штамів *G. adspersum* з використанням як тест-рослин надчутливого до вірусної інвазії дурману *Datura stramonium* L показало, що найбільше пригнічення вірусу тютюнової мозаїки проявляють глікани, виділені шляхом водної екстракції з *G. adspersum* 1259 (99%) у концентрації 100 мкг/мл, порівняно з штамом II (78%) та штамом 844 (96%). Найменшу пригнічуючу дію проявляють глікани, виділені шляхом кислотної (69-74%) та лужної (52-72%) екстракції при тій самій концентрації препарату [2].

Висновки. Таким чином, використання гліканів вищих базидіоміцетів, особливо грибів роду *Ganoderma*, як складових препаратів для захисту рослин від вірусу тютюнової мозаїки, є перспективним напрямком сучасної біотехнології.

Література

1. Поліщук О.М. (2011), Глікани базидіоміцетів як інгібітори ВТМ-інфекції та індуктори вірусостійкості рослин : автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.06/ Поліщук Олена Миколаївна ; Київ. НАН України, Ін-т мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного. - Київ, 23 с.
2. Коваленко О., Поліщук О., Вассер С. (2010), Глікани вищого базидіального гриба *Ganoderma adspersum* (Schulzer) Donk: отримання та антивірусна активність. *Біотехнологія*, 3(5), 83-91.

Матеріали з IV міжнародної науково-практичної конференції «Європейські виміри сталого розвитку»

the Goals», Bertelsmann Stiftung and Sustainable Development Solutions Network, Gütersloh and New York.

2. OECD (2019), Measuring distance to the SDG targets: An assessment of where OECD countries stand, OECD Publishing, Paris.

3. Tracking bilateral spillover effects. Отримано з: <https://spillovers.environmentalimpact.global/#/>.

4. Voluntary National Review 2020 FINLAND, Government Administration Department, Publications Helsinki 2020. Отримано з: https://sustainabledevelopment.un.org/content/documents/26261VNR_Report_Finland_2020.pdf

1. Eurostat (2021), «Sustainable development in the European Union — Monitoring report on progress towards the SDGs in an EU context — 2021 edition», Luxembourg: Publications Office of the European Union. Отримано з: <https://ec.europa.eu/eurostat/documents/3217494/12878705/KS-03-21-096-EN-N.pdf/8f9812c6-1aaa-7823-928f-03d8dd74df4f?t=1623741433852>

РОЗРОБКА БІОПРЕПАРАТІВ ДЛЯ РОСЛИННИЦТВА ЯК ОДИН З ФАКТОРІВ РОЗВИТКУ ЗЕЛЕНОЇ ЕКОНОМІКИ

Владислава Лозіна, Вікторія Красінько

Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

Email: lozinavlada@gmail.com

Вступ. В усьому світі вірусні захворювання рослин, що спричиняють серйозну шкоду якості рослинної продукції та значні економічні втрати, являють собою суттєву загрозу для сучасного сільського господарства та сталого розвитку економіки в цілому. Противірусні препарати хімічної природи несуть загрозу вторинного забруднення довкілля продуктами їхнього розкладання. Саме тому перспективним є пошук та розробка противірусних біопрепаратів, зокрема грибної природи, для рослинництва.

Матеріали та методи. Здійснено пошук та ґрунтовний аналіз літературних даних щодо біологічно активних речовин базидієвих грибів та їх противірусної активності.

Результати та висновки.

Базидіоміцети багаті на різні пептиди, білки та полісахариди, які є відомими метаболітами, що проявляють антивірусні властивості. Зокрема, існують непоодинокі дослідження високої противірусної активності, притаманної екстрактам з вищих базидіальних грибів *Coriolus versicolor*, *Coprinus comatus*, *Lentinus edodes*, *Pleurotus ostreatus*, *P. citrinopileatus*, *Flammulina velutiper*.

Доведена здатність глікопептидів *C. versicolor* та антивірусного протеїну, виділеного з *P. citrinopileatus*, інгібувати розвиток такого вірусу рослин як вірусу тютюнової мозаїки. Перспективним виявилось противірусне застосування полісахариду лентінану, виділеного із гриба *L. edodes*, дія якого пояснюється стимулюванням захисних механізмів рослин через підвищення стійкості рослини-хазяїна шляхом продукування пероксиду та захисних білків.

Таким чином, метаболіти вищих базидієвих грибів з антивірусним ефектом щодо вірусів рослин, будучи повністю біодеградабельними, є перспективним джерелом створення екологічно безпечних біопрепаратів для рослинництва.

Матеріали з конференції школи молодих науковців АТ «Фармак»

Матеріали X Науково-практичної конференції з міжнародною участю Школи молодих науковців АТ «Фармак»

рішенням (наказом) визначає переліки та обсяги товарів, робіт і послуг закупівлі в умовах воєнного стану.

Висновки. Отже, важливою ланкою вітчизняного фармацевтичного ринку є дистрибуція. Дистрибуція ЛЗ - це діяльність, що включає одержання, зберігання, постачання та/або експорт ліків, за виключенням постачання ЛЗ населенню.

Дистрибуція здійснюється на підставі ліцензій, одержаних суб'єктами господарювання відповідно до законодавства. Якість лікарських препаратів у процесі їх оптової реалізації забезпечується дотриманням правил Належної практики дистрибуції.

Належна практика дистрибуції містить вимоги до персоналу, документації, приміщень, обладнання, постачання, повернення, самоінспекцій, а також інформацію про дистриб'юторську діяльність, необхідну для надання компетентним уповноваженим органам.

З початком пандемії Ковід-19 у 2019 році та початком війни в Україні в лютому 2022 року ряд нормативно-правових актів щодо дистрибуції ЛЗ та МВ були суттєво змінені, що носить загалом позитивний характер та дозволяє стверджувати, що фармацевтичний ринок України здатен швидко реагувати на зміни. Слід також зазначити, що в цьому процесі важливу роль відіграли та відіграють волонтери, завдяки яким ланцюги поставок ЛЗ і МВ були надзвичайно динамічними та дозволили вчасно забезпечити необхідним громадян країни.

ПРОТИВІРУСНІ МЕТАБОЛІТИ БАЗИДІОМЦЕТІВ ЯК ПЕРСПЕКТИВНІ ФАРМАЦЕВТИЧНІ ПРЕПАРАТИ В БОРОТЬБІ З COVID-19

Лозіна В.Є. Красінько В. О.

Вступ. Наразі біологічні властивості SARS-COV-2 поступово розкриваються, а терапевтичні стратегії удосконалюються, крім того, на фармацевтичному ринку доступні кілька типів вакцин. Однак, поки що не створено жодних ефективних ліків та методів лікування COVID-19, а висока мутаційна здатність цього вірусу може змінити ефективність стратегії імунної адаптації за допомогою вакцин. Тому основною метою є пошук та створення безпечних, високоефективних та широкодоступних препаратів і методів лікування коронавірусної хвороби.

Мета дослідження. Метою дослідження є пошук біологічно активних речовин вищих грибів, що мають антивірусний ефект та здатні протистояти SARS-COV-2, для подальшої розробки лікарських засобів на їх основі.

Матеріали та методи. Здійснено пошук та аналіз закордонних досліджень щодо антивірусного ефекту грибних метаболітів проти COVID-19. Приведено порівняльну характеристику біологічно активних речовин базидіоміцетів та механізмів їх дії.

Результати та висновки. На практиці мета боротьби з COVID-19 полягає у пошуку та створенні препарату з базового можливого компонента, який є більш «адекватним» за своїми характеристиками. Однак використання такого методу пов'язано з можливими негативними побічними ефектами з боку людського організму. Як наслідок, вивчаються методи лікування за допомогою вже існуючих лікарських засобів, а також можливість застосування протівірусних та імуностимулюючих рослинних та грибних препаратів, екстрактів та зборів.

Зважаючи на численні дослідження, їстівні гриби можуть бути ефективними проти nCoV, оскільки поліпшують імунну відповідь організму, в той час як основною проблемою COVID-19 є зниження регуляції імунної системи та надмірна експресія цитокінів. Грибні імуномодулятори активізують як вроджену, так і адаптивну імунну систему. Шляхом проліферації та активізації компонентів вродженої імунної системи, таких як природні кілери (NK-клітини), нейтрофіли та макрофаги, збільшується вироблення та вивільнення цитокінів. Ці цитокіни згодом сприяють виробленню антитіл В-клітинами, а також посилюють диференціацію Т-клітин в Т-хелпери Th1 та Th2, які опосередковують клітинний та гуморальний імунітет, відповідно.

Через свою велику молекулярну масу полісахариди грибів не здатні проникати в імунні клітини та активувати їх безпосередньо. Дектин-1, рецептор комплекменту 3 (CR3), лактозилцерамід (LacCer) та Toll-подібний рецептор (TLR) 2 є одними з клітинних рецепторів, залучених до стимуляції полісахаридами. Ефективність полісахариду в цих умовах визначається його афінністю до рецепторів імунних клітин. Взаємодія з рецепторами імунних клітин є одним із шляхів, за допомогою якого гриби можуть змінити поведінку імунних клітин, що може допомогти в боротьбі з SARS-COV-2.

Шість низькотоксичних/нетоксичних, неканцерогенних і немутагенних хімічних речовин, отриманих з грибів: *Ganoderma colosum* (колосолактон VIII, E, G), *Auricularia polytricha*, *Flammulina velutipes*, *Lentinus edodes* (ергостерол), *Lignosus rhinocerus* (геліантріол F) і *F. velutipes* (велютин), продемонстрували інгібуючу дію на протеазу SARS-COV-2. Аналогічним чином метаболіти

Inonotus obliquus продемонстрували багатообіцяючі переваги у зменшенні запальних реакцій, пов'язаних з COVID-19. Крім того, було виявлено, що β-глюкани їстівного гриба *L. edodes* захищають від широкого спектру вірусних інфекцій і можуть сприяти зниженню ключових цитокінів, що беруть участь у цитокіновому штормі, який спостерігається у важких випадках SARS-COV-2. А комбінація грибів *Trametes versicolor* та *Fomitopsis officinalis* може проявляти імуномодельючі властивості проти COVID-19.

Таким чином, результати наукових досліджень показують, що метаболіти грибів є перспективною основою для створення профілактичних та терапевтичних засобів проти COVID-19.

РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ВИСОКОРОЗЧИННОГО ПРОТИБОЛЬОВОГО ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ДЛЯ ТАКТИЧНОЇ АПТЕЧКИ ВІЙСЬКОВИХ

Лижнюк В. В., Костюк В. Г. Кузьміна Г. І.

Вступ. У нинішніх умовах повномасштабної війни на полі бою важливим компонентом спорядження військовослужбовця є не лише ефективна зброя, але й правильно укомплектована тактична військова аптечка, яка значно підвищує шанс зберегти життя та здоров'я у разі поранення. Відповідно до протоколів надання допомоги пораненим з метою контролю болю рекомендовано використовувати спеціально створений «рановий пакет» або «pill pack», який представляє собою набір медичних препаратів, що приймаються відразу після поранення. Pill pack містить наступні складові: антибіотик, знеболюючий та нестероїдний протизапальний засоби у таблетованій формі в максимальних разових дозах. Одним із найбільш широко застосовуваних на практиці нестероїдних протизапальних лікарських засобів (НПЗЗ) з метою купірування болю, запалення, лихоманки, при терапії хронічного больового синдрому є німесулід. Однак відомо, що німесулід, як і більшість нестероїдних протизапальних засобів має низьку розчинність у воді, що уповільнює вивільнення активного фармацевтичного інгредієнту (АФІ) з твердих пероральних лікарських форм. Підвищення розчинності німесуліду представляє дуже актуальну тему, оскільки таким чином можна забезпечити максимально швидко дію препарату.

Мета дослідження. Розробка технології отримання високорозчинного протибольового лікарського засобу (ЛЗ), який буде використовуватися у тактичній аптечці військового.

Сертифікат з конференції школи молодих науковців АТ «Фармак»



Матеріали з конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології»

застосовують у випадках, коли окремі критерії можна розташувати в ієрархічному порядку, що не характерно для об'єктів фармацевтичного технологічного дослідження. До групи зведення до однокритеріальної задачі належать методи головного критерію, згортання, цільового програмування, які передбачають впорядкування вихідних критеріїв за рівнем ієрархії або визначення деякого вектору вагових коефіцієнтів для відображення важливості критеріїв. Методи згортання критеріїв широко використовуються у вирішенні задач багатокритеріальної оптимізації. Однак вони мають проблеми, пов'язані з необхідністю їх обґрунтування та вибору вагових коефіцієнтів, що не завжди прийнятно для технологічних досліджень у фармації. Метод ідеальної точки полягає у пошуку в області Парето точки, найближчої до такої, що не реалізується при заданих обмеженнях. Така ситуація не є типовою для фармацевтичних досліджень.

Найбільш ефективним здається розроблений авторами метод пошуку ідеальної точки у області припустимих значень технологічних параметрів, яка визначає таку їх сукупність, яка здатна забезпечити набір припустимих значень критеріїв, найближчий до оптимального варіанту, визначеного дослідником. За цим аналітичним методом формується єдиний критерій оптимальності, що враховує необхідні обмеження за окремими критеріями і технологічними параметрами без необхідності їх впорядкування за ієрархією й введення вагових коефіцієнтів.

Висновки. Проведено аналіз існуючих методів розв'язання задач багатокритеріальної оптимізації. Вивчено можливості застосування аналітичних методів розв'язання задач багатокритеріальної оптимізації у фармацевтичних дослідженнях.

БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ ГРИБІВ ЯК ОСНОВА ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ПРОТИ ВІРУСІВ ПРОСТОГО ГЕРПЕСУ

Лозіна В.Є., Красінько В.О.

Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

Вступ. Віруси простого герпесу (ВПГ) – це нейротропні віруси людини, які можуть викликати тяжкі захворювання. Наразі не існує ліків від персистоючої інфекції, а тривала терапія наявними протигерпетичними препаратами спричиняє появу резистентних штамів вірусу. Більше того, ВПГ був описаний як фактор ризику інфікування вірусом імунодефіциту людини, тому пошук нових протигерпетичних засобів, особливо з іншим, ніж у нуклеозидних аналогів механізмом дії, є однією з основних задач сьогодення [1].

Мета дослідження. Метою дослідження є виявлення біологічно активних речовин грибів та механізмів їх дії в боротьбі з вірусами простого герпесу, для подальшої розробки лікарських препаратів на їх основі.

Методи дослідження. Здійснено пошук та ґрунтовний аналіз наукових публікацій щодо антивірусної властивості метаболітів базидіоміцетів проти вірусів простого герпесу. Наведено порівняльну характеристику противірусних

властивостей біологічно активних речовин вищих грибів, а також їх взаємодію з лікарськими засобами.

Основні результати. Дослідження нового білку GFАНР, виділеного з гриба *Grifola frondosa*, показали, що він може інгібувати реплікацію вірусу простого герпесу першого типу (ВПГ-1) *in vitro*. Значення інгібуючої концентрації, що індукує 50% пригнічення вірусу (IC_{50}) становить 4,1 мг/мл, а терапевтичний індекс перевищує 29,3. Експерименти *in vivo* показали, що білок здатний полегшити запальні реакції у мишей та зменшити продукцію вірусу [2].

Екстракт міцелію JLS-S001, виділений з *Lentinus edodes*, також здатний значно пригнічувати інфікування клітин вірусом ВПГ-1. Це може бути пов'язано з тим, що екстракт блокує реплікацію вірусу на пізній стадії циклу реплікації [2].

З *Ganoderma lucidum* було виділено два види водорозчинних екстрактів GLhw і GLlw та вісім видів метанолрозчинних екстрактів GLMe-1-8. Противірусний експеримент *in vitro* показав, що GLhw, GLMe-1, GLMe-2, GLMe-4 та GLMe-7 можуть значно пригнічувати цитопатичну дію ВПГ [2].

Дослідження трав'яного збору WTTCGE на основі рослин *Wisteria floribunda*, *Trapa natans*, *Terminalia chebulae*, *Coicis lachryma-jobi* та грибів *G. lucidum*, *G. applanatum* показали, що суміш може полегшувати симптоми пацієнтів з генітальним герпесом та герпесом губ, а також скоротити час одужання пацієнтів [2].

На основі інших експериментальних даних була вивчена антивірусна активність мстанольних та водних екстрактів 10 видів лікарських грибів (*Morchella conica*, *M. esculenta*, *Terfezia boudieri*, *Pleurotus ostreatus*, *Tricholoma anatolicum*, *Fomes fomentarius*, *Laetiporus sulphureus*, *Phellinus igniarius*, *Porodaedalea pini* та *Pyrofomes demidoffii*) проти ВПГ-1. Результати показали, що водний екстракт *F. fomentarius*, *Ph. igniarius* та *P. pini* проявляють сильну протигерпетичну дію [2].

Вивчення антивірусної активності 10 видів базидіоміцетів проти ВПГ-2 *in vitro* показали, що лише чотири із них – екстракти міцелію *P. ostreatus*, *F. fomentarius*, *Auriporia aurea* та *Trametes versicolor*, значно пригнічують реплікацію ВПГ-2 в клітинах RK-13. Найвищі терапевтичні індекси (індекси селективності) виявлено для *A. aurea* та *T. versicolor*: 161,29 та 324,67 відповідно [3].

Дослідження противірусних властивостей сульфатованого полісахариду, виділеного з *Agaricus brasiliensis*, показали, що він здатний впливати на цикл реплікації вірусу, а саме на етапи адсорбції та проникнення; також полісахарид пригнічує експресію вірусного білка та поширення ВПГ між клітинами. Значення IC_{50} при постінфекційному лікуванні склали 5.50, 11.62 та 4.30 мг/мл для ВПГ-1 (KOS), ВПГ-1 (29R) та ВПГ-1 (333), відповідно. При вивченні можливої комплексної дії з лікарськими препаратами, було встановлено, що при взаємодії з ацикловіром проявляється синергічний ефект дії на віруси простого герпесу [1].

В іншому дослідженні було показано, що кислий білок-зв'язуючий полісахарид АРВР, що був виділений з плодових тіл *G. lucidum*, має противірусні властивості проти вірусу простого герпесу першого і другого типу. Напівмаксимальна ефективна концентрація (EC_{50}) полісахариду до ВПГ-1 та ВПГ-

2 становить 300 та 400 мг/мл, відповідно. Противірусна активність АРВР може бути головним чином зумовлена інгібуванням прикріплення та проникнення вірусу до клітин *Vero*. Подальші експерименти з метою вивчення ефективності АРВР у поєднанні з загальноживаними противірусними препаратами показали, що у комбінуванні з інтерфероном спостерігається синергічний вплив на вірус; результати комбінації з ацикловіром та аденозин арабінозидом показали прояв синергічної дії на ВПГ-1. З іншого боку АРВР в поєднанні з ацикловіром показав синергічну дію на ВПГ-2, в той час, як в поєднанні з арабінозидом проявилася антоганістична дія на ВПГ-2 [2].

Висновки. Таким чином, базидієві гриби можна розглядати як потенційне джерело для отримання біопрепаратів. Крім того, лікування засноване на комбінації різних противірусних засобів, можна вважати перспективним підходом для підвищення антивірусної селективності при одночасному зниженні активних концентрацій препаратів.

Список літератури

1. Cardozo F., Camelini C., Mascarello A., Rossi M., Nunes R., Barardi C., Mentdonca M., Simoes C. (2011), Antitherpetic activity of a sulfated polysaccharide from *Agaricus brasiliensis* mycelia, *Antiviral Research*, 92: 108-114. doi: 10.1016/j.antiviral.2011.07.009
2. Zhang Y., Zhang G., Ling J. (2022), Medicinal Fungi with Antiviral Effect, *Molecules*, 27, 4457. doi: 10/3390/molecules27144457
3. Krupodorova T., Rybalko S., Barshteyn V. (2014), Antiviral activity of Basidiomycete mycelia against influenza type A (serotype H1N1) and herpes simplex virus type 2 in cell culture, *Virologica Sinica*, 29(5): 284-290. doi: 10.1007/s12250-014-3486-y

ДОСЛІДЖЕННЯ З РОЗРОБКИ СКЛАДУ ТВЕРДИХ КАПСУЛ ІЗ ЕКСТРАКТАМИ ГЛОДУ

Лукіяниченко О.С., Яковенко В.К., Вишневецька Л.І.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

Вступ. Хвороби системи кровообігу залишаються основною причиною смерті та розвитку ускладнень, що призводять до втрати працездатності, зниження тривалості та якості життя людей. Згідно з маркетинговим аналізом обсягів продажу препаратів для лікування серцево-судинної системи, лікарські засоби на основі глоду входять до топ 10 найбільш реалізованих у кількісному вираженні. Серед 12 видів глоду, які дозволяє використовувати Державна фармакопея України, тільки два види мають достатню сировинну базу в Україні. Вивчення нових видів глоду та отримання стандартизованих екстрактів з плодів, листя та квіток дозволить розширити та збільшити ресурсну базу для створення нових лікарських рослинних препаратів.

Мета дослідження. Визначення технологічних властивостей сухих екстрактів з листя і квіток глоду та проведення фармакотехнологічних досліджень із розробки складу твердих капсул на їх основі.

Сертифікат з конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології»

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА АПТЕЧНОЇ ТЕХНОЛОГІЇ ЛІКІВ

Сертифікат № 134

Цим засвідчується, що

Лозіна В. Є.

брав(ла) участь у X Міжнародній науково-практичній конференції

“Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології”

10-11 листопада 2022 р.

Ректор НФаУ, проф.



Алла КОТВИЦЬКА

м. Харків, Україна, онлайн

