

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій

Кафедра промислової фармації

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему:

Активні фармацевтичні інгредієнти базидіальних грибів у створенні препаратів з
протимікробною та антиоксидантною дією

Рівень вищої освіти другий (магістерський)

Спеціальність 226 Фармація, промислова фармація

Освітня програма Промислова фармація

Виконала: студентка групи МгХФ-23

Воробйова К.В.

Науковий керівник

к. б. н., доц., Нікітіна О.О.

Рецензент

к. фарм. н., доц., Роїк О.М.

Київ 2024

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет _____ Хімічних та біофармацевтичних технологій

Кафедра _____ Промислової фармації

Рівень вищої освіти _____ другий (магістерський)

Спеціальність _____ 226 Фармація, промислова фармація

Освітня програма _____ Промислова фармація

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри ПФ
д.фарм.н, проф. Владислав СТРАШНИЙ

“27” листопада 2024 року

ЗАВДАННЯ НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТЦІ

_____ Воробйовій Крістині Володимирівні

1. Тема кваліфікаційної роботи «Активні фармацевтичні інгредієнти базидіальних грибів у створенні препаратів з протимікробною та антиоксидантною дією»

Науковий керівник роботи: Нікітіна Ольга Олександрівна, к. б. н., доцент
затверджений наказом вищого навчального закладу від “ 03 ” вересня 2024 р. № 188 -уч

2. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: наукові та науково-практичні джерела медичної та фармацевтичної літератури, методи інформаційного пошуку, порівняння та систематичного аналізу, вітчизняні та міжнародні нормативно-правові акти, стандарти щодо розробки та виробництва лікарських засобів

3. Зміст кваліфікаційної роботи: дослідження будови та складу перспективних базидіальних грибів для отримання полісахаридних комплексів з протимікробною і антиоксидантною дією; обґрунтування загальної концепції та

методів дослідження; визначення теоретичних аспектів виробництва
ранозагоювального гелю на основі шизофілану

4. Дата видачі завдання 16 вересня 2024

5. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розділ 1	Нікітіна О.О., к.б.н., доцент		
Розділ 2	Нікітіна О.О., к.б.н., доцент		
Розділ 3	Нікітіна О.О., к.б.н., доцент		
Висновки	Нікітіна О.О., к.б.н., доцент		

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапу кваліфікаційної роботи	Орієнтований термін виконання	Примітка про виконання
1	Вступ	16.09.2024-23.09.2024	
2	Розділ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД	24.09.2024-07.10.2024	
3	Розділ 2. МЕТОДОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ГЕЛЮ НА ОСНОВІ ШИЗОФІЛЛАНУ	08.10.2024-15.10.2024	
4	Розділ 3. РОЗРОБКА РАНОЗАГОЮВАЛЬНОГО ГЕЛЮ НА ОСНОВІ ШИЗОФІЛЛАНУ	16.10.2024-30.10.2024	
5	Висновки	31.10.24-04.11.2024	
6	Оформлення (чистовий варіант). Подача кваліфікаційної роботи науковому керівнику для відгуку	05.11.2024-19.11.2024	
7	Подача кваліфікаційної роботи для рецензування (за 14 днів до захисту)	20.11.2024-21.11.2024	
8	Подача кваліфікаційної роботи (проекту) для рецензування (за 12 днів дозахисту)	21.11.2024-22.11.2024	
9	Перевірка кваліфікаційної роботи на наявність плагіату та текстових співпадань (за 10 днів до захисту)	22.11.2024-25.11.2024	
10	Подання кваліфікаційної роботи на підпис завідувачу кафедри (за 7 днів до захисту)	25.11.2024-27.11.2024	

З завданням ознайомлений:

Студент

ВОРОБІЙОВА

Крістіна

Науковий керівник роботи _____ Ольга
НІКІТІНА

АНОТАЦІЯ

Воробйова К. В. Активні фармацевтичні інгредієнти базидіальних грибів у створенні препаратів з протимікробною і антиоксидантною дією. – Рукопис.

Кваліфікаційна робота за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація». – Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, 2023 рік.

Магістерська кваліфікаційна робота присвячена дослідженню ролі активних фармацевтичних інгредієнтів базидіальних грибів у створенні препаратів з протимікробною і антиоксидантною дією.

У роботі описано наукові підходи до сучасного тлумачення деяких термінів; розглянуто та проведено дослідження фармацевтичному ринку препаратів на основі базидіальних грибів; розкриті основні властивості активних фармацевтичних інгредієнтів отриманих на основі базидіальних грибів, полісахаридні комплекси, тощо. В дослідно-аналітичному розділі здійснено поглиблений опис методологічного обґрунтування гелю на основу шизофіллану отриманого з *Schizophyllum commune*. В проектно-рекомендаційному - розроблена стратегія та концепція моделі лікарського засобу у формі ранозагоювального гелю на основі шизофіллану.

Результатом проведеного дослідження стало з'ясування ролі АФІ базидіальних грибів, а саме: дослідження шизофіллану з базидіального гриба; розробка технологічної схеми, апаратурної схеми, вигідне обладнання та валідація технологічного процесу, шляхом використання навичок отриманих у навчанні на бакалавра та магістра.

Ключові слова: базидіальні гриби, шизофіллан, протимікробна дія, антиоксидантна дія, модель лікарського засобу, гель.

ABSTRACT

Vorobyova K.V.. “APIs of basidiomycetes in the creation of preparations with antimicrobial and antioxidant effects”.

Diploma work of the educational process - master's degree, in the form of a manuscript. Specialty - 226 Pharmacy, Industrial Pharmacy - Kyiv, 2024.

The master's qualification work is devoted to the study of the role of APIs of basidiomycetes in the creation of antimicrobial and antioxidant drugs.

To successfully achieve this goal, the theoretical section reviews the literature on the qualification work and also: describes scientific approaches to the interpretation of certain terms, primarily “basidiomycetes”; reviews and conducts research on drugs on the pharmaceutical market; reveals the main properties of APIs derived from basidiomycetes, polysaccharide complexes, etc. In the research and analytical section, an in-depth description of the methodological substantiation of the gel based on schizophyllan taken from the basidial mushroom is provided. In the design and recommendation section, the developed strategy and concept for the development of the model - on the example of a dosage form - a gel based on schizophyllan is scientifically put forward.

The result of the study was the clarification of the role of APIs of basidial mushrooms, namely: the study of schizophyllan from basidial mushroom; development of a technological scheme, hardware scheme, profitable equipment and validation of the technological process, using the skills acquired in bachelor's and master's studies.

Key words: *basidial fungi, schizophyllan, antimicrobial action, antioxidant action, drug model, gel.*

.

Зміст

ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД.....	9
1.1. Базидієві гриби.....	11
1.2. Полісахариди вищих базидіальних грибів.....	12
1.2.1. Новітні методики отримання полісахариду з грибів.....	14
1.2.2. Отримання екстрактів грибів з вмістом полісахаридів	16
1.3. Препарати вищих базидіальних грибів на ринках України та Америки.....	19
1.4. Склад, будова базидіальних грибів.....	28
1.5. Антимікробні властивості базидіальних грибів та їх АФІ.....	36
1.6. Шизофіллан- полісахарид.....	44
1.6.1. Культивування <i>Schizophyllum commune</i>	48
1.6.2. Стан популяції <i>S.commune</i>	52
Висновок до розділу 1.....	56
РОЗДІЛ 2. МЕТОДОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ГЕЛЮ НА ОСНОВІ ШИЗОФІЛЛАНУ.....	56
Висновок до розділу 2.....	66
РОЗДІЛ 3. РОЗРОБКА РАНОЗАГОЮВАЛЬНОГО ГЕЛЮ НА ОСНОВІ ШИЗОФІЛЛАНУ.....	67
3.1. Опис технологічного процесу виробництва гелю на основі шизофіллану з базидіального гриба.....	70
3.2. Технологічна схема виробництва сухого екстракту.....	79
3.2.1. Екстракція <i>S.commune</i>	83
3.3. Обґрунтування вибору лікарської форми, допоміжних речовин....	88
3.4. Технологічна схема виробництва гелю.....	90
3.5. Опис технологічного процесу.....	92
3.6. Валідація технологічного процесу виробництва гелю.....	103
Висновок до розділу 3.....	107
ВИСНОВКИ.....	108
ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ.....	110
ДОДАТКИ.....	119

ВСТУП

Актуальність теми: Дослідження полягає в нагальній потребі розробки нових ефективних лікарських засобів з протимікробною та антиоксидантною дією на основі природних сполук, таких як шизофіллан, виділений з базидіальних грибів та інших активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ). У сучасній фармацевтичній практиці існує проблема зростання стійкості патогенних мікроорганізмів до існуючих антибіотиків, що обмежує їхню ефективність і вимагає пошуку альтернативних рішень. Крім того, оксидативний стрес є ключовим фактором розвитку багатьох захворювань, що підкреслює необхідність створення препаратів з антиоксидантною дією. Критичний аналіз наявних досліджень свідчить про недостатнє використання потенціалу біологічно активних речовин грибів у створенні фармацевтичних препаратів, що обумовлює потребу в розробці технологій для їх стабільного і ефективного застосування. Розв'язання цієї проблеми можливе через глибоке вивчення властивостей шизофіллону, його фармакологічного профілю та розробку технології виробництва гелю, що забезпечить збереження його активності та стабільності у готовому продукті. Обґрунтування значення цієї роботи для розвитку фармацевтичної галузі полягає в тому, що успішна розробка та впровадження нових лікарських форм на основі шизофіллону не тільки розширить арсенал ефективних терапевтичних засобів, але й сприятиме подальшому розвитку знань у галузі використання природних біологічно активних речовин для фармакотерапії.

Мета: встановити сучасні напрямки теоретичних і експериментальних досліджень АФІ базидіальних грибів у створенні препаратів з протимікробною, антиоксидантною дією, перспективу їх застосування в медицині і фармації і розробити стратегію та концепцію моделі лікарського засобу у формі ранозагоювального гелю на основі шизофіллону отриманого з базидіального гриба *Schizophyllum commune*.

Матеріали і методи дослідження: Матеріали, що стосуються різноманіття, будови та біологічної дії АФІ базидіальних грибів отримані з науково-метричних баз PabMed, Scopus, Google Scholar. Вивчення фармацевтичного ринку препаратів на основі базидіальних грибів проводили методами аналізу та узагальнення. Стратегія та концепція моделі лікарського засобу у формі ранозагоювального гелю на основі шизофіллану проводилась з використанням методів фармацевтичної розробки. Для реалізації мети у процесі дослідження були використані: методи системного підходу, бібліографічний та інформаційного пошуку.

Завдання:

- Провести систематичний огляд літератури та наукових праць, тощо.
- Розробити, описати характеристики АФІ базидіальних грибів.
- Оцінити протимікробну активність виділених сполук.
- Дослідити антиоксидантну властивість сполук, у тому числі шизофіллану.
- Розробити, створити, описати та обґрунтувати технологічний процес одержання сухого екстракту шизофіллану та технологічного процесу виробництва гелю на основі шизофіллану з базидіального гриба *Schizofollum commune*.
- Підготувати презентацію та представити результати досліджень, що будуть містити опис та висновки на захисті кваліфікаційної роботи.

Об'єкт дослідження: базидіальні гриби, перспективні для фармацевтичного застосування; активні фармацевтичні інгредієнти, отримані на їх основі, зокрема полісахариди; методи отримання полісахаридів з грибів; технологія одержання ранозагоювального гелю з вмістом екстракту *Schizophyllum commune* (шизофіллану).

Предметом дослідження: теоретичне та експериментальне обґрунтування

складу, розробка технології та дослідження гелю на основі екстракту *Schizophyllum Commune*.

Матеріали та методи: Кваліфікаційної роботи присутні достовірні наукові знання, які були описані іншими науковими співробітниками та деякі, з якими я мала безпосередню роботу. Під час навчання на бакалавраті у Київському національному університеті технологій та дизайну за спеціальністю "Фармація, промислова фармація", набула ґрунтовних знань та практичних навичок у фармацевтичній хімії та технології. Та освоїла методи хімічного аналізу лікарських речовин, розуміння процесів синтезу та розробки фармацевтичних сполук, а також ознайомила з процедурами контролю якості фармацевтичної продукції. Крім того, опанувала основи фармакології, що включає вивчення механізмів дії лікарських засобів та їх взаємодії в організмі. Лабораторні роботи надали досвід у роботі з мікробіологічними методами дослідження, що особливо важливо для оцінки антимікробної активності, для мого випадку кваліфікаційної роботи. Також отримала базові знання у фармакогнозії, що дозволило розуміти властивості природних лікарських засобів, зокрема грибів. На рівні магістратури мої знання стали більш глибокими та спеціалізованими. Я вивчила сучасні технології виробництва лікарських засобів, включаючи інноваційні підходи до створення та оптимізації формул. Лабораторні роботи дали можливість розвинути практичні навички у вивченні біологічної активності речовин, зокрема антимікробних та антиоксидантних властивостей грибів, що стало основою для моєї кваліфікаційної роботи. Та також набула навичок роботи з сучасним лабораторним обладнанням та методиками, що дозволяють проводити комплексні дослідження у фармацевтичній галузі.

РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

Огляд літератури з теми "Активні фармацевтичні інгредієнти (АФІ) базидіальних грибів у створенні препаратів з протимікробною і антиоксидантною дією" має на меті дослідження сучасного стану знань у цій галузі та виявлення основних напрямків досліджень. У рамках цього огляду я аналізую різноманітні джерела, включаючи лекції, державні та світові документи, наукові роботи провідних науковців, а також власні наукові дослідження. Сучасна наукова література свідчить про значний інтерес до вивчення базидіальних грибів, таких як рейші (*Ganoderma lucidum*), шитаки (*Lentinula edodes*), майтаке (*Grifola frondosa*), чага (*Inonotus obliquus*) та інші; через їхні біологічно активні речовини з потужними протимікробними та антиоксидантними властивостями. Також для дослідницької аналізу були використані інформаційні джерела з інтернету, наприклад онлайн сайти купівлі ліків, як в Україні, так в Америці.

Велике значення має також синтез інформації з різних джерел, включаючи лекції та практичні заняття. Ці матеріали надають загальну картину про сучасний стан досліджень та технологій у цій галузі. Аналіз наукових робіт провідних дослідників дозволяє глибше зрозуміти ключові напрямки досліджень, методологічні підходи та результати, отримані у цій сфері [42,51,54-57].

Власні наукові дослідження, (які описані в ДОДАТКАХ А, Б, В, Г, Д) також відіграють важливу роль у формуванні огляду літератури. Роботи з вивчення біоактивних речовин базидіальних грибів підтверджують ефективність цих компонентів у протимікробній та антиоксидантній діях. Це дозволяє внести особистий внесок у розвиток цієї наукової галузі та показати нові перспективи для майбутніх досліджень у створенні препаратів з протимікробною і антиоксидантною дією" охоплює широкий спектр наукових джерел і досліджень. Наукові праці доводять значення

біоактивних речовин базидіальних грибів у фармакології, розкриваючи їх потенціал у розробці нових терапевтичних засобів [35-39].

1.1. Базидієві гриби

Базидієві (Basidiomycota) — відділ вищих грибів, у яких вегетативне тіло представлено розгалуженим клітинним міцелієм. Вегетативні клітини гаплоїдні або дикаріонтичні, причому дикаріонтична стадія за тривалістю переважає. Статевий процес — соматогамія. Статеве спороношення — базидія з базидіоспорами. Монадні стадії повністю відсутні [10, 22].

Відділ нараховує близько 30 тисяч видів і є другим за кількістю видів після аскомікотів. Еволюція базидієвих відбувалася паралельно з аскомікотами. У складі відділу представлені майже всі екологічні групи грибів, в тому числі сапротрофи на різноманітних субстратах, паразити вищих рослин, мікоризоутворювачі, дереворуйнуючі гриби тощо. Трапляються також копротрофи та мікотрофи. Серед базидіальних чимало видів належить до їстівних або отруйних грибів. Деякі представники мають цінні лікарські властивості.

Нещодавні дослідження в галузі хімії вуглеводів відкрили широкий спектр біоактивних олігосахаридів і полісахаридів рослинного походження, які є потенційними кандидатами проти раку, діабету, грипу, пухлин, запалень, тромбозів, інфекцій тощо. Завдяки сильній зв'язувальній здатності, гідрофільній природі та конформаційна гнучкість, ці полімери виявляють біологічну активність, або ілюструючи сам ефект, або індукуючи ефекти через складні каскади реакцій. Деякі з важливих препаратів на основі вуглеводів рослинного походження включають лентинан, крестин, декстрозу, маніт, фукоідан, шизофіллан тощо. Полісахариди також використовуються як харчові волокна, допоміжні речовини, біоадгезиви тощо у фармацевтиці. Крім того, полісахариди полегшують ретельну доставку ліків неуглеводних молекул. Цікаво, що зростаючий асортимент

лікарських засобів на основі сахаридів та їх різноманітне промислове застосування вимагає знання їх первинної структури, що є важливою передумовою для кращого розуміння механізму активності полісахаридів, а також ефективного комерційного використання цих природних полімерів.

1.2. Полісахариди вищих базидіальних грибів

Полісахариди (глікани) — полімерні високомолекулярні вуглеводи, побудовані з моносахаридів, які з'єднані глікозидними зв'язками і утворюють лінійні або розгалужені ланцюги. Ступінь полімеризації полісахаридів становить від 10–20 до декількох тисяч залишків, кожен з яких може існувати в піранозній або фуранозній формі, мати α - або β -конфігурацію глікозидного центру [10, 12, 18].

Полісахариди грибів є великими, складними вуглеводами, які містяться в клітинних стінках грибів. Вони складаються з довгих ланцюгів молекул цукру, з'єднаних разом, і можуть мати різні структури та склад в залежності від виду гриба. Полісахариди грибів включають бета-глюкани, хітин, глікоген та інші складні цукри.

Користь полісахаридів грибів для здоров'я є значною:

1. Підтримка імунної системи: Однією з головних переваг полісахаридів грибів є їхня здатність підсилювати імунну систему. Бета-глюкани, наприклад, активізують імунні клітини, такі як макрофаги та натуральні вбивці (NK клітини), допомагаючи боротися з інфекціями та підтримувати здоровий імунітет.

2. Антиоксидантні властивості: Полісахариди грибів також володіють антиоксидантними властивостями, захищаючи клітини від оксидативного стресу та запобігаючи розвитку хронічних захворювань, зокрема серцево-судинних та деяких форм раку.

3. Протизапальні ефекти: Вони мають протизапальні ефекти, зменшуючи запалення в організмі, що є ключовим фактором у багатьох хронічних захворюваннях.

4. Підтримка здоров'я травної системи: Як розчинні харчові волокна, полісахариди грибів сприяють здоров'ю травної системи, покращуючи травлення та допомагаючи у підтримці здорової кишкової флори.

5. Протиракові властивості: Деякі дослідження вказують на потенційні протиракові властивості полісахаридів грибів, зокрема їхню здатність інгібувати ріст пухлинних клітин.

Важливість вживання полісахаридів грибів полягає у їх комплексному впливі на здоров'я. Вони не тільки підтримують імунну систему та зменшують ризик розвитку хронічних захворювань, але й сприяють загальному покращенню стану організму [23, 57, 58].

Глюкани – це полісахариди, які складаються тільки з молекул глюкози.

Найвідомішими є основні типи глюканів – альфа та бета (α - та β -глюкани). Вони відрізняються між собою принципом сполуки молекул глюкози [6, 13, 24].

Наприклад крохмаль – найбільш відомий альфа глюкан (містить альфа (1 – 4) зв'язок) і целюлоза – бета глюкан, який містить бета (1 – 4) зв'язок. Номер вказує на місце з'єднання однієї молекули з іншою.

Дослідження показали що саме бета-глюкани зі зв'язками бета (1-3) та бета (1-6) мають імуностимулюючі, противірусні та протипухлинні властивості.

Лікарські гриби здебільшого мають бета (1-3) та бета (1-6) зв'язки, хоча також дуже часто сполучаються з іншими молекулами. Аналіз сирих

фракцій полісахаридів з грибів також показує, що всі вони мають певний рівень зв'язаного білкового компонента.

Багато досліджень показують, що плодові тіла у великій кількості виробляють ключові імуномодуючі грибові бета-глюкани, а також терпени, фенольні сполуки та інші біоактивні сполуки. Однак це залежить від виду та субстрату, на якому він був вирощений [24, 25, 64].

Деревні види, такі як Траметес, зазвичай мають більше бета-глюканів у плодовому тілі, ніж у міцелії.

1.2.1. Новітні методи отримання полісахаридів з базидіальних грибів

Відкриття нових ферментів є важливим напрямком досліджень як в академічних колах, так і в галузі виробництва ферментів. Дослідження та розробки, спрямовані на вивчення активності нових ферментів та їх правильну характеристику, мають важливе значення для розробки нових промислових ферментних препаратів. Один з новаторських ідей від австралійської компанії Megazyme (Виробництво реагентів і хімікатів, що використовуються в аналітичних лабораторіях, промисловості та дослідженнях.), про який ми хочемо більш детально поговорити [38-41].

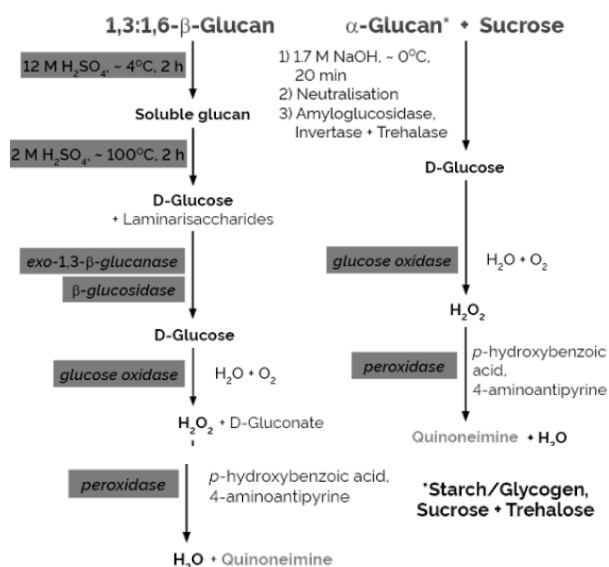


Рисунок 1.1.-Розробка методу кількісного визначення β -глюканів для оцінки якості функціональних продуктів на основі грибів

Після декількох досліджень, майже 50 якщо бути точнішими - вони створили свій продукт. На Рисунку 1.1. можна побачити, яким чином проводилась вимірювання: Було розроблено надійний метод вимірювання β -глюкану в продуктах грибів і міцелію. Яким чином це проводили? Вони (Баррі МакКлірі, Анна Драга) загальний вміст глюкану (плюс вільна глюкоза та глюкоза з сахарози) вимірювали за допомогою контрольованого кислотного гідролізу з H_2SO_4 , а виділену глюкозу спеціально вимірювали за допомогою реагенту глюкозооксидази/пероксидази (Рис. 1.1.) α -Глюкан (крохмаль/глікоген) плюс вільна глюкоза та глюкоза з сахарози були спеціально виміряні після гідролізу крохмалю/глікогену до глюкози за допомогою глюкоамілази та сахарози до глюкози плюс фруктози за допомогою інвертази та глюкози, спеціально виміряної за допомогою реагенту GOPOD. β -Глюкан визначали за різницею. Було порівняно кілька кислотних і ферментних методів гідролізу β -глюкану (Рис.1.1), і найкращим варіантом був метод з використанням H_2SO_4 . Для більшості зразків подібні значення β -глюкану були отримані як за допомогою оптимізованої процедури HCl , так і H_2SO_4 : Однак у випадку деяких зразків, зокрема *Ganoderma lucidum* і *Poria cocos*, процедура H_2SO_4 призвела до значно вищих значень. Гідроліз 2N трифтороцтовою кислотою при $120^\circ C$ виявився набагато менш ефективним, ніж будь-яка з двох інших оцінених кислот. Аналіз, повністю заснований на ферментативному гідролізі, загалом, дав набагато нижчі значення, ніж ті, отримані за допомогою процедури H_2SO_4 . Це дослідження проводилась на декільках представниках базидіальних грибів, які будуть описані та представленні нижче у розділі 1.4 [6, 25-29, 64].

Після цих досліджень австралійська компанія Megazyme, вирішила розробити набір зі 100 аналізів вимірювання по цій самій інструкції, що й

представили науковці вище. Їхні набори для тестування Megazyme схвалені як перевірені методи всесвітніми регулюючими інститутами як у дослідницьких, так і в промислових сферах.

1.2.2. Отримання екстрактів грибів з вмістом полісахаридів

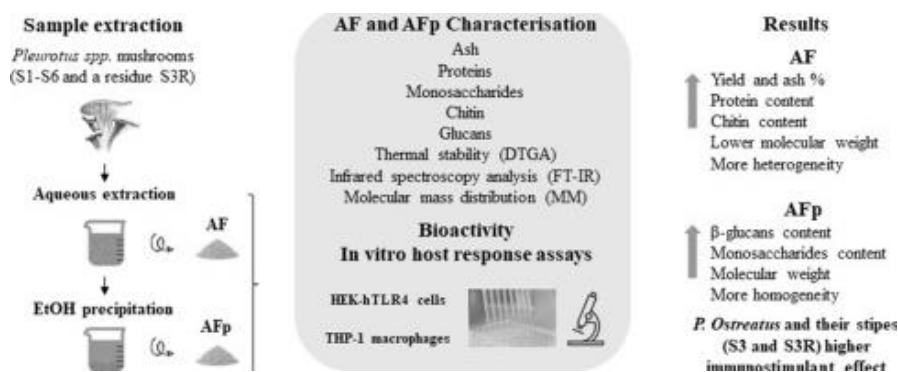


Рисунок 1.2.- Отримання екстракту з гриба *Pleurotus ostreatus*. Розробка ефективної методики екстракції біоактивних компонентів з *Pleurotus ostreatus*

Кожен з базидіальних грибів, як ми вже розглядали вище та наступні розділи також будуть мати інформацію з приводу цього- має свої різні властивості від антиоксидантною до протипухлинної та антимікробної. Як отримати дані? Перше і основне – отримати екстракти з необхідного гриба [29].

Екстракт гриба відноситься до будь-якого екстракту, отриманого з плодових тіл або міцелію гриба, стандартизованого таким чином, щоб містити гарантований рівень маркерної сполуки. Метою екстрактів є концентрація поживних речовин і біологічно активних сполук, присутніх у грибах, у більш зручній формі добавки. Екстракція допомагає руйнувати клітинні стінки грибів для вивільнення сполук і покращення всмоктування при прийомі всередину. Остаточний екстракт містить порошок або рідкий концентрат, який можна легко додавати до капсул, таблеток і настоянок. Використовуються різні методи екстракції, засновані на розчинності присутніх сполук. Наприклад, гарячі водні екстракти виділяють

водорозчинні полісахариди, тоді як спиртова екстракція дає більше терпеноїдів і фенольних сполук. Також можна використовувати попередню обробку ферментами та обробку під високим тиском для максимізації ефективності екстракції. В ідеалі екстракти грибів стандартизовані на основі вмісту однієї або кількох маркерних сполук, пов'язаних з основними бажаними біоактивними речовинами. Це допомагає забезпечити послідовність від партії до партії. На Рис. 1.2 представлено екстракцію гриба на прикладі *Pleurotus ostreatus*-Плеврот черепичастий, глива.

Екстракція полісахаридів і, зокрема, β -глюканів, з біомаси грибів широко досліджується, в основному з використанням водної або лужної обробки, хоча екстракція гарячою водою є одним із найбільш широко використовуваних методів. Водні екстракції, окрім того, що є більш екологічними та простими, дозволяють отримувати водорозчинні біоактивні екстракти, що полегшує їх тестування на клітинних культурах для оцінки їх імуномодулюючої чи протизапальної здатності. Численні аналізи були проведені з водними фракціями, багатими полісахаридами та багатими β -глюканами фракціями різних видів їстівних грибів, які продемонстрували їхню імуномодулюючу дію. Наприклад, повідомлялося про індукцію вродженої імунної відповіді проти клітин раку молочної залози та легенів за допомогою β -глюкану, виділеного з водної фракції *Pleurotus ostreatus* (Рис.1.2), тоді як гетерополісахарид, отриманий з *Lentinula edodes*, продемонстрував імуностимулюючу активність [13, 25, 29].

Проведемо декілька описів методів отримання екстракту на декількох варіантах дослідниками- Заїда Перес-Бассар, Крістін Бауерль, Марія Хосе Фабра, Антоніо Мартінес-Абад [65].

1. Для перевірки впливу β -глюканів на епітеліальну клітинну лінію HT-29 кишечника було використано аналіз репортерного гена в стабільно трансфікованому клоні HT-29 №16 для моніторингу активації NF- κ B, головний регулятор, що бере участь у запальних процесах. Після активації NF- κ B репортерні клітини HT-29 секретують ембріональна лужна фосфатаза (SEAP). Клітини зазвичай вирощували в DMEM High Glucose (BioWest) з додаванням 10% фетальної бичачої сироватки (FBS, Capricorn), 2 - глутаміну (BioWest), 200 мкг/мл зеоцину (invivogen), 100 ОД/мл пеніциліну та 100 мкг /мл стрептоміцину (BioWest) при 37°C, 5 % CO₂ у зволоженій атмосфері. Активацію NF- κ B у відповідь на β -глюкани аналізували, як описано раніше. Коротко, клітини висівали в кількості 60 000 клітин на лунку 96-лункового планшета і вирощували протягом 24 годин до впливу 0,25, 2,5 і 25 мкг/мл β -глюканів протягом наступних 24 годин. Лентинан (β -глюкан з *Lentinus edodes*) був включений у тій самій концентрації зразків, як позитивний контроль.

Супернатанти оцінювали на наявність SEAP з використанням п - нітрофенілфосфату як субстрату, який перетворювали на п-нітрофенол, і отриману оптичну щільність вимірювали на пристрої для зчитування мікропланшетів при 405 нм (Clariostar, BMG Labtech). TNF- α (Immunotools) використовувався як індуктор запалення в дозі 10 нг/мл, а ефект екстрактів перевірявся в присутності або відсутності TNF- α . Клітини кожної лунки лізували в PBS, 0,1 % Triton, 1 фенілметилсульфонілфториду (PMSF) і 1- етилендіамінтетраоцтової кислоти (EDTA) і вміст білка визначали за допомогою аналізу білка Бредфорда (BioRad). Активність SEAP виражається як активність SEAP = (A_{405 нм} тест – A_{405 нм} початковий) $\times$ загальний об'єм аналізу (мл)/мМ, коефіцієнт екстинкції п-нітрофенолу (18,5) $\times$ використаний супернатант клітинної культури (мл) $\times$ час (хв.) і нормалізовано на вміст білка в кожній лунці.

2. Після обробки β -глюканом життєздатність клітин оцінювали шляхом зменшення натрієвої солі резазурину (Sigma). Коротко кажучи, наприкінці інкубації β -глюкану клітинне середовище вилучали та замінювали розчином резазурину 10 мкг/мл, розчиненим у відповідному культуральному середовищі клітин, та інкубували протягом 2–4 годин при 37°C, 5 % CO₂. Життєздатні клітини перетворюють нефлуоресцентний резазурин у флуоресцентний резоруфін, і отриману флуоресценцію вимірювали при довжині хвилі збудження 540 нм і довжині хвилі випромінювання 590 нм у 96-лунковому рідері планшетів (CLARIOStar, BMG Labtech). Довільні одиниці флуоресценції тестових лунок (обробка β -глюканом) порівнювали з відповідними контрольними лунками.

Таким чином, у першому дослідженні було проведено аналіз активації NF- κ B, ключового регулятора запальних процесів, з використанням клітинної лінії HT-29, стабільно трансфікованої репортерним геном. Після впливу β -глюканів в різних концентраціях протягом 24 годин, активність SEAP була виміряна для оцінки активації NF- κ B. Результати показали, що β -глюкани активували NF- κ B у цих клітинах, що підтверджує їхній потенціал в модулюванні запальних процесів. Лентинан, β -глюкан з *Lentinus edodes*, використаний як позитивний контроль, також показав подібну активацію, що свідчить про ефективність досліджуваних β -глюканів у викликанні цієї реакції.

Друге дослідження було спрямоване на оцінку життєздатності клітин після обробки β -глюканом за допомогою тесту на зменшення резазурину. Життєздатні клітини перетворювали резазурин у резоруфін, який виявлявся за допомогою флуоресценції. Результати показали, що β -глюкани не мали значного негативного впливу на життєздатність клітин, що свідчить про їхню безпечність у використуваних концентраціях.

1.3. Препарати вищих базидіальних грибів на ринках України та Америки

Препарати з вищих базидіальних грибів – це лікарські засоби, створені на основі біологічно активних речовин, що видобуваються з цих грибів. Вищі базидіальні гриби належать до класу грибів Basidiomycota і включають такі відомі види, як Шиїтаке (*Lentinula edodes*), Трутовик (*Ganoderma lucidum*), Гриби роду *Tricholoma*, Печериці (*Agaricus bisporus*), Глива (*Pleurotus ostreatus*), і Шизофілум (*Schizophyllum commune*). Ці гриби містять різні біологічно активні компоненти, такі як полісахариди (наприклад, бета-глюкани), тритерпеноїди, фенольні сполуки, білки та інші сполуки, що мають широкий спектр фармакологічної активності [38- 41].

Препарати України на основі АФІ базидіальних грибів

Таблиця.1.1. Препарати України на основі АФІ базидіальних грибів, офіційні дані tabletki.ua.

Назва препарату	Діюча речовина	Дія	Ціна
Фільтрум таблетки №15	лігнін	Лігнін, що входить до складу Фільтрум – це природний ентеросорбент, який має високу сорбційну активність і неспецифічну дезінтоксикаційну дію.Зв'язує в кишечнику і виводить з організму патогенні (шкідливі) бактерії і бактеріальні	140,00- 195,90 грн.

Продовження таблиці 1.1.- Препарати України на основі АФІ базидіальних грибів

Назва препарату	Діюча речовина	Дія	Ціна
		токсини, алергени, алкоголь, лікарські препарати, солі важких металів, а також надлишок деяких продуктів обміну речовин, зокрема білірубін, холестерин, гістамін, серотонін, сечовину, інші метаболіти, відповідальні за розвиток внутрішньої інтоксикації організму та проявів у вигляді дерматозу. Лігнін не токсичний, не всмоктується, повністю виводиться з кишечника протягом 24 год. Фільтрум за основу має лігнін – сорбент природного походження, що сприяє нормалізації роботи шлунково-кишкового тракту, при комплексній терапії екзогенних і	

		ендогенних інтоксикацій різного походження: отруєння різного походження (алкоголем, лікарськими препаратами, солями важких металів та тощо)	
--	--	---	--

Продовження таблиці 1.1.- Препарати України на основі АФІ базидіальних грибів

Назва препарату	Діюча речовина	Дія	Ціна
		кишкових інфекціях та у комплексному - лікування диспепсії, харчових токсикоінфекцій; - при алергії (харчовій або лікарській) сприяє нормалізації роботи шлунково-кишкового тракту; - профілактика хронічних інтоксикацій у працівників шкідливих виробництв.	
Біонорм таблетки по 0.7 г №30	лігнін	Біонорм рекомендується як додаткове джерело нерозчинних харчових волокон	від 100,50 до 180.00 грн

(10x3)		(лігнін та целюлоза) і пребіотика (лактолоза) з метою нормалізації роботи шлунково-кишкового тракту. За рахунок лігніну та целюлози має високу сорбційну активність,	
--------	--	--	--

Продовження таблиці 1.1.- Препарати України на основі АФІ грибів

Назва препарату	Діюча речовина	Дія	Ціна
		яка дозволяє зв'язувати і виводити з просвіту ШКТ патогенні бактерії, продукти їх розпаду, а також ендо- і екзотоксини. Також бере участь у нейтралізації надлишку деяких продуктів обміну речовин, у тому числі білірубину, холестерину, сечовини та інших.	
Гриб їжовик гребінчастий (Лєвова Грива) Host Defense Lion's Mane, Fungi Perfecti, 120 капсул	Їжачок Гребінчастий (Hericium erinaceus) міцелій†/ферментована біомаса коричнево	Дуже широке застосування він отримав саме при хворобах пов'язаних з нервовою системою. Він збільшує природну вироблення фактора росту, що стимулює регенерацію нерва, що в свою чергу, забезпечує хорошу роботу мозку і нервової системи. Прийом Їжовик гребінчастий - покращує пам'ять, усуває депресивні стан і	від 2999.00 до 3022.00 грн

	го рису - 1 г	занепокоєння.	
Гриб Кордицепс с капсули №120	Міцелій гриба кордицепс а - 250 мг, екстракт плодового	Створює оптимальні дієтологічні умови для поліпшення обміну речовин; стимулює вивільнення гормонів кори надниркових залоз;	від 476.20 до 523.92 грн

Продовження таблиці 1.1. Препарати України на основі АФІ базидіальних грибів

Назва препарату	Діюча речовина	Дія	Ціна
	тіла гриба кордицепса (<i>Cordyceps Sinensis</i>) (екстракт 8:1 еквівалентний 240 мг гриба кордицепс) - 30 мг.	має антитоксичну дію; здійснює хороший заспокійливий ефект. Для профілактики онкогематологічних захворювань, порушень з боку сечовидільної, дихальної, серцево-судинної системи. Підвищує працездатність, запобігає проявам передчасного старіння організму, його застосовують як природний антибіотик.	
Solgar Екстракт грибів Рейші, Рейші,	Органічний екстракт грибів Рейші (<i>Ganoderma</i>	Ця формула містить три види грибів, які протягом 2000 років є частиною традиційних східних медичних практик.	від 1072.55 до 1175.00грн

Шиітаке і Майтаке Reishi Shiitake Maitake, 50 капсул	lucidum) (плодоносні тіло) 100 мг Органічний екстракт грибів шиітаке	Гриби рейші, шиітаке і майтаке містять такі натуральні компоненти, як натуральні полісахариди (бета- глюкан).	
---	--	---	--

Продовження таблиці 1.1.- Препарати України на основі АФІ базидіальних
грибів

Назва препарату	Діюча речовина	Дія	Ціна
	(плодової організм) 100 мг Органічний екстракт грибів Майтаке (4: 1) (Grifola frondosa) (плодоносні тіло) 100 мг Органічний екстракт грибів Ріші (Ganoderma lucidum)		

	(плодоносні тіло) (стандартизований для утримання 4% тритерпеноїді в і 7%бета-глюканов)30 мг		
--	---	--	--

Продовження таблиці 1.1.- Препарати України на основі АФІ базидіальних грибів

Назва препарату	Діюча речовина	Дія	Ціна
	Екстракт гриба Шиитаке (Lentinula edodes) (плодової організм) (екстракт 20:1, еквівалентний 30 мг гриба Шиитаке) 1,5 мг		

На українському ринку препарати, створені на основі базидіальних грибів, набувають все більшої популярності (Табл.1.1). Ці гриби відомі своїми імуномодуючими, протипухлинними та антиоксидантними

властивостями, що робить їх привабливими для широкого кола споживачів, зокрема тих, хто прагне зміцнити своє здоров'я за допомогою натуральних засобів. Серед найпоширеніших продуктів на основі базидіальних грибів на українському ринку можна виділити різноманітні дієтичні добавки у формі капсул, екстрактів і порошків, які представлені у таблиці з порівнянням цін та дією. Вони доступні як в аптеках, так і в спеціалізованих магазинах здорового харчування та онлайн-платформах [29-33].

Попит та ціна на такі продукти зростає завдяки збільшенню обізнаності населення про корисні властивості базидіальних грибів, а також через тренд на здоровий спосіб життя та використання природних засобів для підтримки здоров'я (Табл.1.1).

Важливим аспектом є те, що ці продукти часто позиціонуються як безпечні та ефективні добавки, що можуть використовуватися в якості доповнення до традиційних медичних засобів. Окрім того, збільшення популярності онлайн-шопінгу сприяє зростанню доступності таких препаратів для населення різних регіонів України, що також впливає на загальний розвиток ринку (Табл.1.1).

Наприклад, як один з представлених нами в таблиці 1.1 - Solgar Reishi збільшився за останні пів року у ціні, та має позитивні враження від дії.

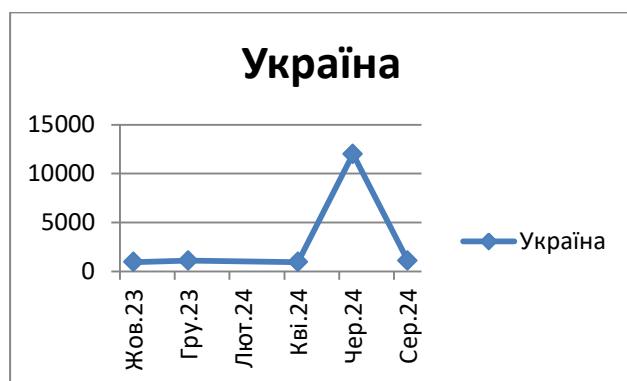


Рисунок 1.3. - Аналіз українського ринку фармацевтичних препаратів: середня ціна препарату за даними Tabletki.ua

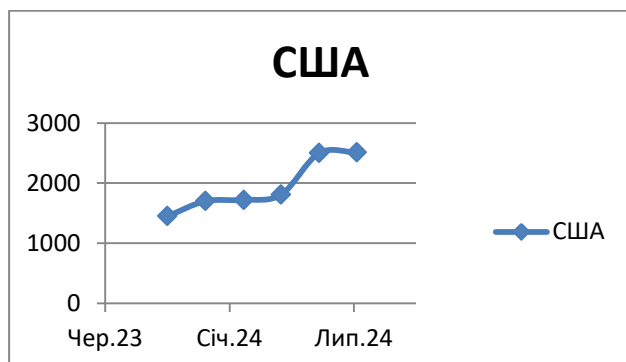


Рисунок 1.4. - Аналіз фармацевтичного ринку США: середня ціна препарату за даними CVS.com

Таким чином, український ринок (Рис.1.3) препаратів на основі базидіальних грибів демонструє значний потенціал зростання завдяки зростаючому інтересу споживачів до природних та ефективних засобів для підтримки здоров'я, зокрема в умовах глобальних трендів на здоровий спосіб життя.

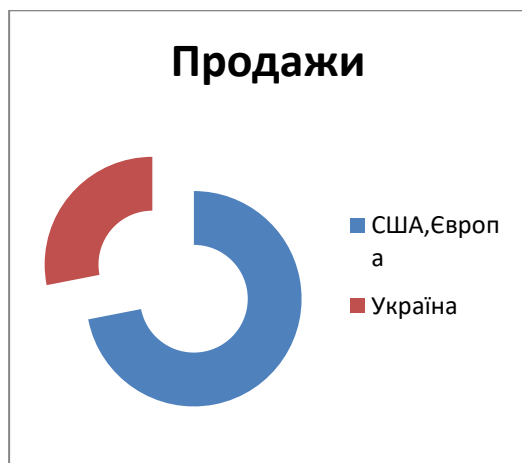


Рисунок 1.5. - Порівняльний аналіз фармацевтичних ринків України та США: структура та ціни препаратів

Але все ж таки український ринок по базидіальним грибам трохи слабший у порівнянні з Америкою (Рис.1.4.) та Європою, насамперед ціною та великим обсягом продукції (Табл.1.1).

Так як, середня ціна на ринку складає приблизно 500 грн, то на американському ринку від 30\$ (1300 грн на час писання кваліфікаційної роботи (Рис.1.5.)). На мою думку, ринок України тільки розвивається та набуває популярності до препаратів на основі базидіальних грибів, але росте помірно вгору, що дає можливість отримати більше прибутку.

1.4. Склад, будова базидіальних грибів

Представляємо декілька видів грибів, які використовуються у цих матеріалах:

1. Трутовик лакований, також ганодерма блискуча (*Ganoderma lucidum*) -неістівний деревний гриб родини ганодермові (*Ganodermataceae*). Гриб класифіковано у 1881 році. Використовується у народній медицині як лікарський засіб широкого спектра дії.



Рисунок 1.6.—Морфологічна ілюстрація гриба *Ganoderma lucidum*: вигляд структури у розрізі

Трутовик лакований (Рис.1.6.) часто ототожнюють із відомим лікувальним грибом «лінчжи» або «рейші», проте назва *Ganoderma lucidum* належить іншому близькоспорідненому представнику блискучих трутовиків. Зокрема, дослідження показали, що у більшості (93 %) виготовленої продукції як «лінчжи» чи «рейші» з майже половиною пакунків для вирощування цього гриба виявлені власні відмітні характеристики [47-50].

Речовини, які входять до складу гриба, ефективні при лікуванні пухлин, захворювань серцево-судинної, нервової системи, легенів, печінки. Цей гриб має протизапальну, антибактеріальну дію, є гарним антиоксидантом.

Коли цей гриб ще не вивели штучно, він був досить дорогим, адже в природі траплявся рідко. На Сході він передавався у спадок або міг бути частиною посагу. А деякі імператори навіть видавали укази: знайдені гриби обов'язково здавати в скарбницю.

Ксилотрофні гриби роду *Ganoderma*, зокрема *Ganoderma lucidum* і *G. applanatum* широко використовують у східній медицині вже понад 4 тисячі років. Сучасні дослідження грибів *G. lucidum* і *G. applanatum* дали змогу виділити з них понад 400 біологічно активних сполук різної хімічної природи й фармакологічних властивостей, а використання відповідних тест-систем, результати дослідів на тваринах і клінічні спостереження засвідчили, що препарати, отримані з цих видів грибів, мають онкостатичні, імуномодельовальні, антиоксидантні, антибактеріальні, гепатопротекторні, адаптогенні та інші цінні лікувально-профілактичні властивості.

Хімічний склад Ganoderma lucidum

Ganoderma lucidum, відомий як рейші або лінгжі, є одним з найбільш досліджених лікарських грибів у світі. Його хімічний склад (Табл.1.2) дуже багатий і включає в себе численні біоактивні сполуки, які мають різні терапевтичні властивості.

Таблиця 1.2. - Хімічний склад *Ganoderma lucidum*

• Полісахариди:	Бета-глюкани: Основні полісахариди, присутні у <i>G. lucidum</i> та інших, які мають імуномодулюючі та протипухлинні властивості.
-----------------	---

Ганодеран А, Б, С:	Специфічні полісахариди рейші, які показали значну антиоксидантну активність.
Тритерпеноїди: Ганодерова кислота:	Найбільш відомий тритерпеноїд, що має протипухлинні, протизапальні та антиоксидантні властивості.
Лінгзиви:	Група тритерпеноїдів, які сприяють поліпшенню функції печінки та мають антибактеріальні властивості.
Пептиди: Ганодерма-пептиди:	Пептиди, що мають антиоксидантну активність та сприяють захисту клітин від окислювального стресу.
Стероли: Ергостерол:	Попередник вітаміну D2, який має антиоксидантні та антиканцерогенні властивості.

Продовження таблиці 1.2. - Хімічний склад *Ganoderma lucidum*

1	2
Алкалоїди:	Мають антибактеріальні та противірусні властивості.
Фенольні сполуки:	Флавоноїди та фенольні кислоти: Потужні антиоксиданти, що захищають клітини від пошкоджень, викликаних вільними радикалами.
Нуклеотиди: Аденозин:	Має судинорозширювальні властивості та сприяє поліпшенню кровообігу.
Амінокислоти:	Гриби рейші містять всі основні амінокислоти, необхідні для синтезу

	білків.
• Вітаміни та мінерали:	Містять вітаміни групи В, вітамін С, залізо, цинк, магній, мідь та калій.

Будова *Ganoderma lucidum*

- Клітинна стінка: Клітинна стінка *Ganoderma lucidum* складається з хітину та β -глюканів, які забезпечують механічну міцність і захист.
- Цитоплазматична мембрана: Мембрана складається з фосфоліпідів і білків, які регулюють транспорт поживних речовин та іонів.
- Цитоплазма: Містить різноманітні органели, такі як мітохондрії, рибосоми, ендоплазматичний ретикулум, які беруть участь у метаболічних процесах.
- Ядро: Ядро *Ganoderma lucidum* містить ДНК та регулює генетичну інформацію і клітинні функції.
- Спори: Спори *Ganoderma lucidum* є репродуктивними структурами, які забезпечують розмноження і розповсюдження гриба.
- Гіменофор: Нижня частина шапинки гриба, що містить трубочки з порами, через які виділяються спори.
- Плодове тіло: Плодове тіло *Ganoderma lucidum* складається з шапинки та ніжки. Шапинка зазвичай має червонувато-коричневий колір і лаковану поверхню, яка є характерною ознакою цього гриба.

Ganoderma lucidum має унікальний хімічний склад, що включає полісахариди, тритерпеноїди, пептиди, стероли, алкалоїди, фенольні сполуки, нуклеотиди, амінокислоти, вітаміни та мінерали. Кожен з цих компонентів робить свій внесок у терапевтичний потенціал гриба.

Структурно *Ganoderma lucidum* характеризується наявністю клітинної стінки, цитоплазматичної мембрани, цитоплазми, ядра, спор, гіменофора та плодового тіла, що забезпечує його біологічні функції та здатність до виживання у природному середовищі. Завдяки своїм властивостям, цей гриб широко використовується в традиційній медицині та є перспективним об'єктом для подальших наукових досліджень.

2. *Agaricus subrufescens*—вид гриба, широко відомий як мигдальний гриб, мигдальний гриб, гриб сонця, Божий гриб, гриб життя, королівський сонячний гриб, джісонгронг або хімемацутаке *A. subrufescens* їстівний, має трохи солодкуватий смак і аромат мигдалю .

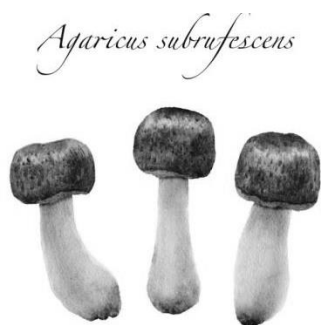


Рисунок 1.7. –Морфологічна ілюстрація гриба *Agaricus subrufescens*: характерні риси структури гриба

Agaricus subrufescens (Рис.1.7) вперше був описаний американським ботаніком Чарльзом Гортоном Пеком у 1893 році. Наприкінці дев'ятнадцятого та на початку двадцятого століть його культивували для столу на сході Сполучених Штатів. Його знову виявили в Бразилії в 1970-х роках і помилково ідентифікували як *Agaricus blazei* Murrill, вид, спочатку описаний у Флориді. Незабаром він був проданий через його передбачувані лікувальні властивості під різними назвами. *A. subrufescens* їстівний, має дещо солодкуватий смак і мигдальний аромат, отриманий від бензальдегіду, бензилового спирту, бензонітрилу та метилбензоату. Гриби *Agaricus*, які використовуються в традиційній та альтернативній медицині через їх передбачувану протиракову дію, не були оцінені достатніми високоякісними клінічними дослідженнями, щоб визначити безпеку та

біологічні властивості під час споживання в якості харчових продуктів, дієтичних добавок або ліків.

3. Шиїтаке (Рис. 1.8) - *Lentinula edodes* - їстівний гриб, вид роду Лентинула сімейства Негніюнікові (Marasmiaceae). Практика використання в їжу виходить із Китаю та Японії, нині гриб активно культивується по всьому світу.



Рисунок 1.8.—Морфологічна ілюстрація гриба *Lentinula edodes*: вигляд гриба у природі

Ще в період династії Мін (1368-1644) лікар У Цзюей написав, що шиїтаке можуть вживатися не тільки в їжу, але і як ліки від хвороб верхніх дихальних шляхів, слабкого кровообігу, хвороб печінки, знемоги та слабкості, а також для підвищення життєвої сили ци . Вважалося, що ці гриби запобігають передчасному старінню.

У сучасному Китаї та Японії плодові тіла гриба використовуються для зниження маси тіла, рівня холестерину в крові, а також для лікування імпотенції .

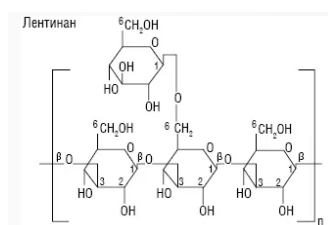


Рис.1.9. - Бета-глюкан лентинан, виділений із *Lentinula edodes*: хімічна структура

З плодових тіл і біомаси шиїтаке в 1969 році був отриманий препарат лентинан (Рис.1.9) , що володіє високою біологічною активністю . На його основі в Японії було створено комерційні лікарські препарати . Показано,

що «в пробірці» екстракт з міцелію гриба має захисні властивості при хіміотерапії, істотно знижуючи кількість патологічно змінених клітин, що виникають під дією протипухлинних препаратів.

4. Траметес різнобарвний (*Trametes versicolor*) — вид деревних грибів-трутовиків роду Траметес (*Trametes*).



Рисунок 1.10. – Ілюстрований вигляд Гриб *Trametes versicolor*

Траметес різнобарвний (Рис.1.10) зазвичай називають Хвостом Індика через його вражаючі шари та кольори. Завдяки потужним антиоксидантам та іншим потужним сполукам гриби індички є суперпродуктом із численними потенційними перевагами для здоров'я. Це може покращити здоров'я вашого кишечника, підвищити ваш імунітет і навіть мати деякі протиракові властивості.

5. Кордицепс китайський (лат. *Ophiocordyceps sinensis*, раніше - *Cordyceps sinensis*) - вид грибів з роду *Ophiocordyceps*, сімейства *Ophiocordycipitaceae*, належить до класу аскоміцетів



Рисунок 1.11. –Ілюстрований вигляд гриба *Cordyceps sinensis*: вигляд структури гриба

Кордицепс китайський (Рис. 1.11) стосується у традиційній китайській медицині, де він вважається ліками від 21 хвороби. Вважається, що він нібито має широкий спектр цілющих властивостей, починаючи з профілактики ракових утворень і закінчуючи придушенням больового синдрому, а також підвищенням лібідо.

Деніель Вінклер вважає, що використання цього гриба в медицині зародилося в Тибеті та Непалі. Найперша письмова згадка була виявлена наприкінці XV століття в роботах тибетського доктора Зуркхара Ньямні Дордже, зокрема в тексті "Wylie: Zur mkhar mnyam nyid rdo rje", датованому 1439-1475 роками (в трактаті "sang" "Інструкції на міріади ліків"). Першу згадку про китайський кордицепс у традиційній китайській медицині Вінклер виявив у збірці «Матерія медика» Ванга, Бен Цао Бей Яо. У XVIII столітті гриб був внесений до списку "Нова збірка матерії медики". Етно-мікологічні знання про гриб у непальців також були задокументовані. Гриб збирається вручну збирачами для використання з медичною метою. У традиційній китайській медицині вважається, що він має чудовий баланс інь і ян, оскільки вважається, що він є як твариною, так і рослиною. Такі ненаукові уявлення китайських фахівців із медичного застосування цих грибів викликають подив серед вчених поза Китаєм.

В даний час гриб вирощують у промислових масштабах. Однак досі нікому не вдалося виростити гриб, заразивши культурних гусениць: всі продукти, отримані з грибів, що культивуються, виготовляються з міцелію, вирощеного на зерні або штучних середовищах. В 1964 кордицепс офіційно вважається ліками китайської фармакопеї.

1.5. Антимікробні властивості базидіальних грибів та їх АФІ

Базидіальні гриби є джерелом повноцінного білка та біологічно активних речовин. Нині в США, Китаї, Японії та деяких країнах Європи вищі базидіальні гриби використовуються як продуценти комерційно

важливих речовин з фармакологічними властивостями, що становлять основу лікувально-профілактичних препаратів широкого спектра дії. Тому на даному етапі розвитку біотехнології і фармації є необхідним вивчення антимікробних властивостей макроміцетів з метою їх подальшого використання в фармакології [7, 12, 65].

З огляду на наведене вище обговорення, види діяльності можуть бути прагматичними при розробці ліків з рослинних ресурсів або вже були задіянні [65].

1. *Taxus*, *Undaria*, *Saccharina*, *Orostachys*, *Monostroma*, *Hedysarum*, *Gynostemma* тощо є деякими з роду рослин, відомих своїми значними протираковими та імуномодуючими біоактивними полісахаридами, такими як α -глюкани, фукоїдани, О-ацетильований сульфатований галактофукан, рамноксилан, сульфатовані гетерополісахариди, і т. д. Існує можливість перевірити структури та встановити деякі функціональні параметри (наприклад, вміст уронової кислоти або сульфату, діапазон молекулярної маси, індекс полідисперсності, в'язкість, ступінь заміщення), які можна експериментувати, щоб класифікувати полісахариди як біоактивні. Після того, як такі параметри встановлено, їх можна змінити, щоб підвищити їхню ефективність.

2. Лікарські гриби з різних видів *Agaricus*, *Trametes*, *Ganoderma*, *Lentinus*, *Pleurotus*, *Schizophyllum* тощо мають значні біологічно активні полісахариди, такі як лентинан, шизофіллан, крестин тощо з чітко визначеною структурою та сильна біологічна активність, що призводить до їх використання в продуктах харчування та фармацевтиці. Такі висновки можна поширити на інші невивчені види грибів.

3. Співвідношення структура-активність полісахаридів вищих видів рослин (голонасінних і покритонасінних) не дало комерційних препаратів, незважаючи на їх життєво важливу біологічну активність. Перешкода в

основному зумовлена мінливістю структури залежно від віку, сезону, типу ґрунту, вологості та багатьох інших географічних параметрів. Отже, існує гостра потреба у вивченні мінливості структури полісахаридів одного виду та впливу такої мінливості на біологічну активність .

4. Види, що мають потенційні полісахариди, потребують їх наявності на стійкій основі. Це можна реалізувати шляхом одомашнення важливих видів. Різноманітне застосування полісахаридів насіння, а саме галактоманнанів з гуару та камеді *Cassia tora* в продуктах харчування та кормах, фармацевтичних препаратах тощо стало можливим завдяки задоволенню попиту сільського господарства. Цей підхід необхідно поширити на інші потенційні види для їх ширшого використання.

5. Можуть бути розроблені ретельні стратегії перетворення поширених і відносно недорогих полісахаридів (а саме целюлози, крохмалю, галактоманнанів, ксилоглюканів тощо) у високоцінні вуглеводні полімери шляхом хімічної модифікації (карбоксиметил, гідроксипропіл, метил, етилпохідні тощо) або змішування з іншими однорідними та сумісними полісахаридами для конкретних кінцевих застосувань у фармацевтиці.

6. Морські мікробні полісахариди з екстремальних середовищ, а саме пелагічних доменів, гідротермальних джерел полярних регіонів тощо завдяки їхнім унікальним властивостям можуть бути досліджені для біомедичних і фармацевтичних застосувань.

7. Існують можливості для розробки стратегій легкого культивування біологічно активних та/або хімічно нових полісахаридів у лабораторії та збільшення масштабного виробництва для сталого використання у фармацевтичних препаратах та інших космецевтичних продуктах.

8. Структурний аналіз цікавих і нових полісахаридів з видів лікарських рослин привів до кращого розуміння біологічної активності.

Однак поглиблений аналіз структури полісахаридів є складним, тривалим і все ще неоднозначним через величезну складність структури. Існує гостра потреба у розробці простих підходів, які є швидкими, надійними та однозначними, разом із розробкою нових, послідовних та швидких протоколів біологічної активності.

Також, було виявлено та проведено дослідження у власній науковій роботі- Загроза, яку становлять мультирезистентні мікроорганізми, стала одним із найактуальніших викликів для сучасної медицини. Ці мікроорганізми, зокрема *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae*, та *Pseudomonas aeruginosa*, набули стійкості до широкого спектра антибіотиків, що значно ускладнює їхнє лікування та збільшує ризик смертності. Тривале використання антибіотиків у високих дозах, їхня токсичність, а також тривале перебування пацієнтів у лікарнях сприяють поширенню таких інфекцій та погіршують загальну ситуацію.

У відповідь на ці виклики сучасна наука зосереджується на пошуку нових фармацевтичних препаратів, здатних ефективно протидіяти антибіотикорезистентним бактеріям. Одним із перспективних напрямків є використання природних речовин, таких як ефірні олії рослин та сполуки терпенової природи. Однак, не менш перспективним є дослідження антимікробних властивостей базидіальних грибів, які можуть синтезувати специфічні фенольні сполуки з вираженими антимікробними властивостями. Ці гриби мають здатність адаптуватися до різних умов культивування, що робить їх перспективними для промислового використання [65-67].

Наприклад, *Hericium erinaceus* продукує кверцетин, відомий своїми антимікробними властивостями, а *Inonotus obliquus* містить рутин, який також активно досліджується як антибактеріальний агент. Дослідження інших базидіальних грибів, таких як *Sparassis crispa* та *Fistulina hepatica*,

виявили унікальні вторинні метаболіти, такі як спарассол та його похідні, а також нові поліацетиленові похідні гідроксикоричної кислоти. Ці сполуки продемонстрували високу ефективність проти мультирезистентних бактерій, зокрема проти *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, та *Acinetobacter baumannii*.

Проведу декілька описів досліджень, методик на такі штами грибів, як *Ganoderma lucidum*, *Flammulina velutipes*, *Kuehneromyces mutabilis*, *Hypsizygus marmoreus*, *Stropharia rugosoannulata*, *Lentinus edodes*.

З усіх даних можемо зробити висновки. На сьогодні пошук нових джерел антибіотиків є досить актуальним та важливим напрямком. Традиційно як продуценти антибіотичних сполук розглядалися нижчі гриби, однак в останні десятиріччя спостерігається зростаючий інтерес до вивчення біологічної активності метаболітів вищих макроміцетів. Сучасні дослідження грибів наведених вище - дали змогу виділити з них понад 1000 біологічно активних сполук різної хімічної природи й фармакологічних властивостей, а використання відповідних тест-систем, результати дослідів на тваринах і клінічні спостереження засвідчили, що препарати, отримані грибів з цих видів, мають онкостатичні, імуномодулювальні, антиоксидантні, антибактеріальні, гепатопротекторні, адаптогенні, гіполіпідемічні, гіпоглікемічні, протівірусні, протизапальні та інші цінні лікувально-профілактичні властивості [66-70].

Для роботи використовувались декілька штамів кожного представленого гриба. Як тест-об'єкти використовували штами бактерій, рекомендовані для визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 6896, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 та дріжджо-подібних грибів *Candida albicans* ATCC 18804 [69, 70].

Антагоністичну активність грибів визначались методом радіальних штрихів. Для цього міцелій ганодерми вирощували на поверхні неохмленого 7°В сусло-агару у чашках Петрі при температурі 25°C протягом 4–5 діб до повного заростання чашки міцелієм. Після заростання поверхні середовища міцелієм стерильним пробковим свердлом вирізали агаровий блок діаметром 20 мм, та розміщували його на поверхні м'ясо-пептонного агару (МПА) в чашці Петрі. Добові культури тест-штамів, вирощені на скошеному МПА, змивали стерильним фізіологічним розчином та доводили концентрацію мікробних клітин до 10^9 у мл за оптичним стандартом мутності. З отриманих суспензій за допомогою бактеріологічної петлі робили висів по радіусам чашки, проводячи штрих від блока з грибом до периферії. Посіви інкубували при 30 °C протягом 24 та 48 год. Антагоністичну активність оцінювали, вимірюючи розміри зон затримки росту тест-штамів. Водні екстракти грибів отримували таким чином: заливали попередньо підсушені та подрібнені за допомогою блендера плодові тіла гарячою водою у співвідношенні 1:5, та нагрівали до 90°C протягом 90 хв, охолоджували та фільтрували через стерильні паперові фільтри. Вплив екстрактів на ріст мікроорганізмів визначали методом лунок. Добові культури тест-штамів на скошеному МПА змивали стерильним фізіологічним розчином, доводили вміст бактерій до 10^7 кл/мл за оптичним стандартом мутності, наносили 0,1 мл суспензії клітин на поверхню МПА в чашці Петрі та ретельно розтирали стерильним шпателем Дригальського. Стерильним пробковим свердлом вирізали в засіяному середовищі лунки діаметром 8 мм, в які вносили 1 мл екстракту. Посіви інкубували при 37°C протягом 24 год. Вплив екстрактів оцінювали, вимірюючи діаметр зони затримки росту навколо лунки. Від отриманого результату віднімали діаметр лунки (8 мм) та вважали отримані дані дійсним розміром зони пригнічення. Усі досліди проводили в п'яти повторях. Отримані в ході дослідження дані з чутливості окремих тест-штамів (значення розмірів зон затримки росту) до активних сполук

вегетативного міцелію та екстрактів плодових тіл порівнювали за допомогою непараметричного критерію Манна-Уїтні, оцінюючи достовірність відмінностей отриманих результатів на рівні значимості не менше 95% ($p \leq 0,05$). У Табл. 1.3 представлено середні значення показників. Представляємо таблицю з вихідними даними.

Таблиця. 1.3. - Результати дослідження антимікробної активності

Вид	Штам	Тривалість культивуван ня	Діаметр зони затримки росту, мм	
			B. subtilis	E. coli
Flammulina velutipes	1994	16	2.5	3.5
Kuehneromyces mutabilis	2003	16	2	0

Hypsizygus marmoreus	2271	16	2.2	3
Stropharia rugosoannulata	2152	16	1.5	2.2
Lentinus edodes	1534	16	2.5	3.3
Piptoporus betulinus	1555	16	0	2.4
Lyophyllum shimeji	2247	16	2	3.5

При вивченні антагоністичної активності *G. lucidum* F102 щодо тест-мікроорганізмів встановлено, що найбільшу чутливість до метаболітів гриба при сумісному культивуванні виявляв *M. luteus*, для якого розмір зони затримки росту по штриху складав 10,0 мм через 24 год та

збільшувався протягом наступної доби до 11,2 мм. Деякими авторами вказується на виявлення в екстрактах ганодерми лізоциму, до якої клітини мікрокока є дуже чутливими. Це могло б певною мірою служити поясненням розширення зони затримки росту. Також спостерігалось досить значне пригнічення росту *E. faecalis* і *P. vulgaris*: розмір зони затримки росту через добу складав відповідно 6,8 мм та 6,4 мм.

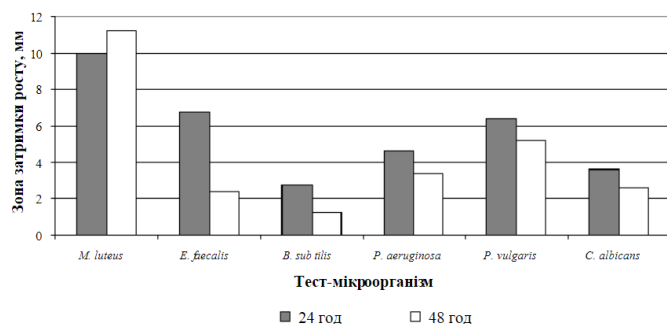


Рисунок 1.12. - Представленні

розміри зон затримки росту тест-мікроорганізмів при сумісному культивуванні з *Ganoderma lucidum* штам F102

При сумісному культивуванні тест-мікроорганізмів з *G. lucidum* F102 не виявлено особливостей впливу на грамнегативні та грампозитивні бактерії в цілому, оскільки найбільш чутливими були клітини *M. luteus*, проте культура *B. subtilis* характеризувалася найменшою чутливістю серед усіх тест-штамів. Також, штам F102 незначно пригнічував ріст *C. albicans* (Рис.1.12). Отримані результати свідчать про відмінності у спектрі метаболітів, що синтезуються обома штамами. Зменшення зон затримки росту тест-мікроорганізмів протягом другої доби, ймовірно, є результатом адаптації бактерій до сполуки, що викликала пригнічення, або нестабільністю її в агаризованому середовищі.

У результаті дослідження антимікробної активності 14 видів макроміцетів (не представлені у таблиці вище) виявлено, що у 7 видів антимікробна активність була відсутня. Причиною цього може бути недостатній для накопичення вторинних метаболітів термін культивування базидіоміцетів (10 діб) або використання менш активних штамів. У 8

штамів була виявлена антимікробна активність, що робить їх перспективними для подальших досліджень. Антимікробну активність визначали за діаметром зони затримки росту. Найбільшу антимікробну активність проявив штам *F.velutipes* 1994 по відношенню до тест-культури *E. coli*. Всі отримані результати дослідження наведені в таблиці.

У цілому, активність екстрактів щодо тест-мікроорганізмів відповідала антагоністичній активності грибів при їх сумісному культивуванні з тест-штамами, однак для деяких мікроорганізмів була дещо нижчою. Вірогідно, при гарячій екстракції метаболітів частина термолабільних сполук могла інактивуватися, що призвело до зміни ефекту. Відомо, що деякі глюкани ганодерми, які мають високу біологічну активність та асоційовані з протеїновим компонентом, який може денатуруватися при високих температурах. Крім того, глюкани різної будови дуже різняться за ступенем розчинності у воді та органічних розчинниках. Досить висока антагоністична активність вегетативного міцелію свідчить на користь доцільності більш детального вивчення його метаболітного спектру, враховуючи низьку собівартість та скорочені терміни отримання, у порівнянні з плодовими тілами.

1.6. Шизофіллан

Шизофіллан (Sonifilan, SPG) - нейтральний позаклітинний полісахарид, що виробляється грибом *Schizophyllum commune*. Шизофіллан є β -1,3 бета-глюканом з β -1,6 розгалуженням. Шизофілан також відомий як сізофіран [58-60].

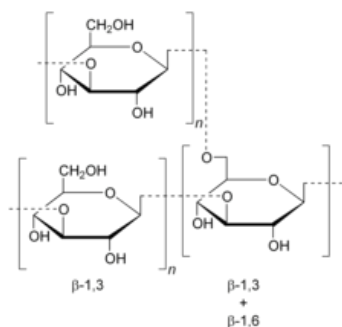


Рисунок 1.13. - Графічна ілюстрація

молекулярної структури шизофіллану

Шизофіллан (Рис.1.13) має молекулярну масу 450 000, питоме обертання у воді $+18-24^\circ$. Хімічно аналогічний полісахарид, склероглюкан, утворюється грибом *Athelia rolfsii*. Обидва полісахариди мають схожу хімічну структуру з курдланом. Він відомий кількома речами, включаючи його здатність стимулювати імунну систему, переносити метали у воді, допомагати в доставці ліків і використовувати в деяких нановолокнах [2, 4].

Шизофіллан, класифікований як бета-глюкан і видобутий із гриба *Schizophyllum commune*, не виявив побічних реакцій, які можна було б визначити в незалежних наукових дослідженнях. Завдяки своїй класифікації як бета-глюкан, FDA США загалом визнає шизофіллан безпечним (GRAS). Незважаючи на те, що особливої різниці між шизофілланом не проводилося, шизофіллан та інші β -глюкани безпечно вводили перорально різноманітним видам хребетних, що демонструють імуномодуляцію: миші, ікла, коні, і люди [20].

Schizophyllum commune - лікарський гриб з протираковими властивостями (шизофілант). *Schizophyllum commune* (Рис.1.14)-капельюшок гриба може досягати в діаметрі до 40 мм. Колір капелюшка найчастіше сіро-білий з відтінками рожевого і бежевого. У деяких випадках він стає оливково-зеленим. Гриб не має фігурної ніжки, росте латерально до субстрату. Має форму раковини або віяла. Поверхня капелюшки повстяна, хвиляста або борозниста [14, 22, 59].

Пластинчасті – гриб відноситься до сімейства пластинчастих, які поздовжньо розщеплені, віялоподібні; Колір зазвичай рожевий, тілесний. Під час посухи, щоб не втрачати вологу і захистити спори, гриб скручується всередину.



Рисунок 1.14.–Ілюстрація гриба *Schizophyllum commune* у природі

М'якоть охриста, тонка. Еластичний і роздутий у сезон дощів, і стає гелеподібним, твердим і крихким під час посухи. Невизначений, злегка кислий смак і запах.

Здатність шизофіллану виробляти фізіологічну реакцію безпосередньо пов'язана з процесом екстракції та подальшою обробкою, яку витримує сполука. Ця теорія також збігається з теорією інших бета-глюканів.

Високі дози шизофіллану не є основним чинником імунологічної відповіді. Дослідження підтвердили, що 10 мг (або менше) високоякісного, адекватно обробленого хімічно подібного бета-глюкану є достатньою дозою, щоб викликати вимірний вплив на імунні клітини. Крім того, бета-глюкани з дрібними частинками, модифіковані для запобігання повторній агрегації під час травлення, мають найбільш позитивний вплив на посилення імунітету.

У дев'яноста відсотків коней з активною виразкою, які отримували суміш полісахаридів, що містить шизофіллан, спостерігалось повне

розсмоктування та/або покращення виразкових ділянок, підвищення апетиту, збільшення ваги та позитивні зміни в поведінці.

Шизофіллан - це полісахарид, отриманий із міцелію гриба *Schizophyllum commune* (Рис.1.14), який є ниткоподібними частинами, з яких вони ростуть. Schizophyllan для догляду за шкірою виготовляється шляхом ферментації зріджених грибів, які потім піддаються високому очищенню. Дослідження показали, що шизофіллан чудово зменшує ознаки роздратованої шкіри. Це також хороший антиоксидант, здатний нейтралізувати пошкодження забруднювачів повітря, таких як дим. Цікаво, що вітамін С (у вигляді аскорбілфосфату натрію) показав кращі результати щодо загальної антиоксидантної здатності порівняно з декількома полісахаридами, включаючи шизофіллан; однак дослідники відзначили його заспокійливу здатність і підозрюють, що він також допомагає підвищити ендогенне (природне) постачання шкіри антиоксидантами. Завдяки сильним зв'язуючим воду (зволожуючим) властивостям шизофіллан підтримує зволоженість шкіри під час стресу краще, ніж аналогічна кількість гіалуронової кислоти. Слід зазначити, що для підтвердження цього результату необхідні додаткові дослідження. Його антиоксидантна здатність і м'які плівкоутворювальні властивості підтримують більш пружний вигляд і відчуття шкіри, що робить шизофіллан похідним гриба, який може допомогти зменшити ознаки старіння. Рівні використання шизофіллану в догляді за шкірою коливаються від 0,1 до 1%, при цьому кількості від 0,1 до 0,4% є досить ефективними для покращення гідратації шкіри, її гладкості та зменшення ознак подразнення [22, 59].

Шизофіллан — це нейтральний позаклітинний полісахарид, що виробляється грибом *Schizophyllum commune*. Він складається з 1,3-β- d- зв'язаного остову із залишків глюкози, до якого приєднані 1,6-β- d-

глюкозильні залишки. Основний ланцюг ідентичний кістяку полісахариду курдлан, однак у нього відсутні бічні глюкозильні ланцюги [5, 59-61].

Гриб *S. commune* широко споживається в Мексиці та інших тропічних країнах. Будучи багатим джерелом β -глюкану, *S. commune* було запропоновано як перспективний імуностимулятор.

1.6.1. Культивування *Schizophyllum commune*

Дослідження різних видів лігнотрофних базидіоміцетів, що за сучасними даними мають імуностимулюючу, антиоксидантну, протипухлинну, антивірусну та адаптогенну дію є надзвичайно важливою проблемою для України. Біологічно активними речовинами, що обумовлюють лікувальні властивості таких препаратів є в першу чергу глюкани: грифолан, лентинан, шизофілан, коріолан тощо. Шизофілан-нейтральний β -1,3-глюкан, виділений з культуральної рідини вищого базидіального гриба *Schizophyllum commune*, посилює клітинний імунітет та впливає на протипухлинні механізми. При цьому відбувається активація макрофагів, нейтрофілів та натуральних кілерних клітин по відношенню до пухлинних клітин та підвищується синтез інтерлейкінів та фактору некрозу пухлин [68, 69].

З огляду на те, що виробництво, які використовують глибинне культивування вищих базидіоміцетів сьогодні в Україні не існує, впровадження в промисловість вітчизняних біотехнологій є актуальним. Також важливим, з погляду створення та розроблення нових біотехнологій з використанням в якості продуценту *Schizophyllum commune*, є те, що з нього можна не тільки отримати продукти лікувально-профілактичного, а й промислового призначення, наприклад, різноманітні гідролітичні ферменти. Крім того, застосуванням як компоненти поживних середовищ низки дешевих побічних продуктів та відходів сільськогосподарського та

промислового походження можна як підвищити ефективність виробництва, так і сприяти їх утилізації.

З отриманих та відпрацьованих джерел можна зробити декілька описів та висновків по культивуванню гриба. Особливості глибинного культивування *S. commune* в літературі висвітлено недостатньо. В основному, в якості середовищ використовують сольовий розчин з додаванням глюкози (20-40 г/дм³) та різноманітних джерел ростових факторів – пептон, дріжджовий екстракт, картопляний відвар, мальц-екстракт. Але наведені авторами відомості не завжди повні і іноді суперечливі, тому існує необхідність в подальших поглиблених дослідженнях *S. commune* в різних умовах культивування, як в напрямку розширення теоретичних знань стосовно біології цього базидіоміцету, так і з точки зору створення нових вітчизняних біотехнологій отримання різноманітних БАР, в першу чергу полісахаридів лікувально профілактичного призначення [71, 72].

Об'єктом дослідження були 6 штамів *Schizophyllum commune* Fr., отриманих з колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім.М.Г.Холодного НАН України, два з яких виділені авторами з природного середовища України. Глибинне культивування проводили в колбах Ерленмеєра на 100 або 250 мл, в умовах постійного перемішування за допомогою орбітальної качалки (170–180 об/хв), при температурі (28±1) °С.

Середовища інокулювали попередньо отриманою фізіологічно активною глибинною культурою в кількості 10 об'ємних відсотків.

В (Табл. 1.4) якості мінеральної основи для середовищ використовували сольовий розчин наступного складу (г/дм³):

Таблиця.1.4. - Основа для середовища мінеральної основи

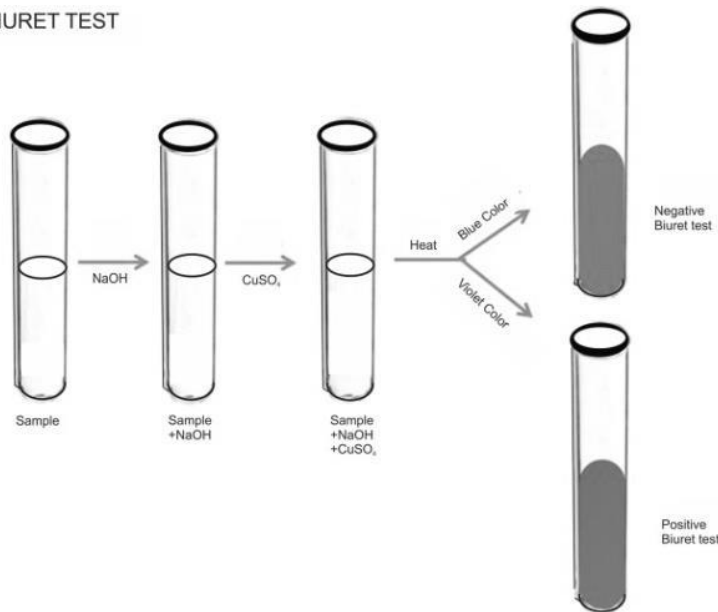
NH ₄ NO ₃ – 3;	KH ₂ PO ₄ – 1;	K ₂ HPO ₄ – 1;
MgSO ₄ ×3H ₂ O – 0,6;	глюкоза – 20.	

Також встановлено оптимальний вміст азоту та вуглецю в середовищі - для максимального накопичення біомаси концентрація глюкози - 30 г/дм³, нітрату амонію – 3 г/дм³, для максимальної кількості екзополісахаридів - 40 г/дм³ та 4 г/дм³ відповідно.

При цьому, для різних варіантів досліджень в якості ростових факторів та додаткових джерел азоту та вуглецю вносився в кількості еквівалентній 1 г/дм³ глюкози один з наступних компонентів: пивне сусло, бурякова меляса, кукурудзяний екстракт (КЕ), пептон, екстракт кормових дріжджів (ЕКД). Контрольне середовище не містило таких домішок. Протягом культивування раз на добу проводили відбір проб культуральної рідини. У пробах визначали рН, вміст біомаси, білку (Рис 1.15), редукуючих речовин та екзополісахаридів. Рівень накопичення біомаси визначали ваговим методом, висушуючи міцелій до постійної маси при температурі (105±1)°С .

Вміст редукуючих речовин у культуральній рідині визначали фериціанідним методом($T = \frac{a \cdot 0,03292}{0,5}$).

BIURET TEST



Рисунок

1.15.-

Концентрація білку, визначана методом Лоурі

На комплексних середовищах, що в якості ростових факторів та додаткових джерел азоту та вуглецю містили в кількості еквівалентній 1 г/дм³ глюкози один з наступних компонентів: пивне сусло, бурякова меляса, кукурудзяний екстракт (КЕ), пептон, екстракт кормових дріжджів (ЕКД), найбільший рівень накопичення біомаси виявився у штаму *S. commune* 1760 на середовищах з кукурудзяним екстрактом та мелясою – $6,7 \pm 0,2$ та $8,8 \pm 0,3$ г/дм³ відповідно.

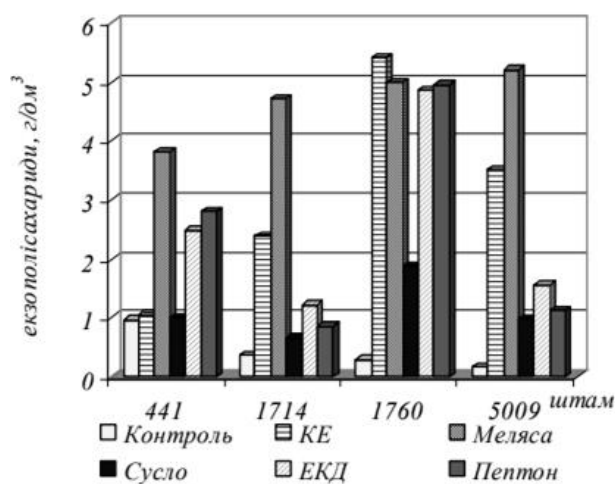


Рисунок 1.16. - Біосинтез

екзополісахаридів штамами *Schizophyllum commune* на комплексних поживних середовищах (10 доба)

Найгіршими середовищами були контрольне (без додаткових компонентів) та з суслом. Визначення накопичення екзополісахаридів на комплексних поживних середовищах показало, що їх максимальна кількість виявляється також у штаму *S.commune* 1760 (діаграма) на середовищі з кукурудзяним екстрактом - $5,42 \pm 0,51$ г/дм³. Дослідженнями встановлено, що динаміка концентрації РР, білку та рН в культуральному фільтраті *S.commune* (Рис 1.16) при культивуванні на комплексних середовищах залежать, в першу чергу, від складу середовища та пов'язані з наявністю речовин-індукторів та хімічною природою сполук, що є джерелами вуглецю для гриба. Визначено, що для отримання екзополісахаридів у досліджуваного штаму необхідно створювати вихідне значення рН середовища 8,0, а для більшого виходу біомаси – 5,4.

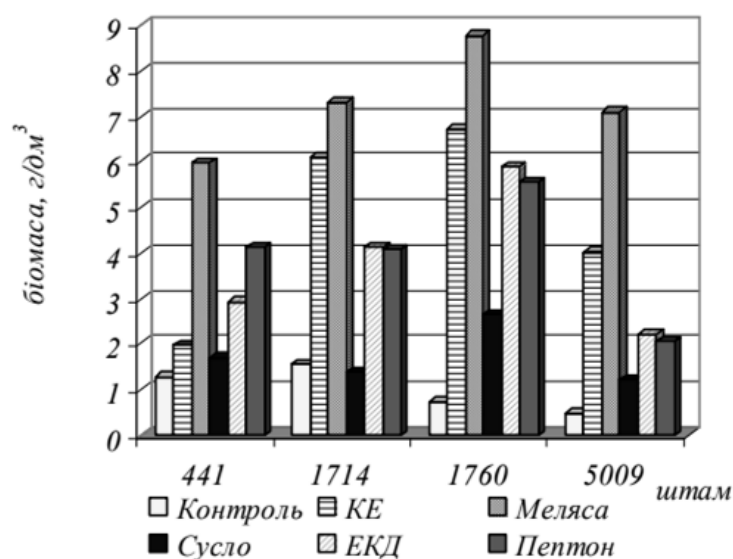


Рисунок 1.17. - Накопичення

біомаси штамами *S.commune* на комплексних поживних середовищах

Запропоновано умови вирощування та розроблено принципові технологічну та апаратурну схеми отримання шизофілану глибинним культивуванням штаму *S.commune* 1760 (Рис.1.17) на комплексних поживних середовищах з кукурудзяним екстрактом і м'ясою, механічним перемішуванням 180 об/хв, при температурі +30°C, тривалістю 5 діб, що

дає змогу отримувати достатньо високий рівень екзополісахаридів та біомаси - $9,02 \pm 0,28$ г/дм³ та $16,1 \pm 0,4$ г/дм³ біомаси, відповідно.

1.6.2. Стан популяції *S.commune*

Після аварії на Чорнобильській АЕС 26 квітня 1986 року Чорнобильська зона відчуження (CEZ) поблизу міста Прип'ять була в основному занедбана і протягом більш ніж трьох десятиліть сформувала унікальну екосистему в Європі. Ця територія характеризується мінімальним впливом людини (крім антропогенно підвищених рівнів радіації; Beaugelin-Seiller et al., 2018) і стала цінним місцем проживання рідкісних видів тварин і рослин. Вплив суворого середовища в CEZ викликає стрес, який може вплинути на рослини та тварин, а також на мікробіоту. Таким чином, можна очікувати впливу на ґрунтову грибкову спільноту. Модельний базидіоміцет, *Schizophyllum commune*, було обрано, оскільки це гриб, який має здатність розкладати лігнін, а також целюлозу. Це агарікоміцет, але філогенетично він відрізняється від більшості грибоутворюючих базидіоміцетів (Ebersberger et al., 2012). Це дозволило сконструювати праймери, які ампліфікують таксономічно важливу послідовність гена рРНК ITS1/2. Крім того, гриби, що мешкають на деревах, зазвичай не зустрічаються в ґрунті. Таким чином, зараження неінокульованим *Schizophyllum* було менш імовірним порівняно з іншими грибами, які регулярно зустрічаються в ґрунті. Поглинання радіонуклідів грибами, зокрема *Schizophyllum commune*, перевищує рівень поглинання рослинами, що підтверджується численними дослідженнями після аварії на Чорнобильській АЕС. Наші результати доводять доцільність використання грибів у мікоремедіації, оскільки це підвищує біодоступність радіонуклідів для рослин та мікробів у ґрунті. Це має перспективи для розробки методів землекористування на радіаційно забруднених територіях, таких як Чорнобиль і Фукусіма. Експерименти показали, що *S. commune* здатний рости як горизонтально, так і вертикально протягом 2 тижнів,

демонструючи інтенсивний ріст у порівнянні з іншими грибами. Він не тільки виживає в забрудненому ґрунті, але й конкурує з іншими ґрунтовими грибами, що підтверджується результатами ПЛР-досліджень [62].

Радіоактивне забруднення внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС створило унікальні екологічні умови, зокрема для вивчення виживання базидіоміцетів. У рамках дослідження було проведено польові випробування гриба *Schizophyllum commune* за 5 км від зруйнованого реактора. Гриб продемонстрував здатність виживати в забрудненому ґрунті, навіть через рік після інокуляції. Його швидкість росту становила приблизно 8 мм на день. Крім того, *S. commune* поглинав важкі метали та радіонукліди, що робить його перспективним для мікоремедіації забруднених територій. Тестування підтвердило його здатність конкурувати з іншими ґрунтовими мікроорганізмами в суворих умовах.

Також хочемо представити популяційні методи по грибу. Популяційні дослідження дозволяють встановити біологічне різноманіття видів та надають можливість визначити стан генетичних ресурсів компонентів екосистем, включаючи оцінку запасу генетичної мінливості, характер її розподілу в межах ареалів видів та провести відбір цінного генофонду. Подібні дослідження проводяться з використанням технологій ДНК (RAPD, ISSR, AFLP), або біохімічних маркерів (білків) організмів. Останній метод вирізняє відносна простота аналізу і відтворюваність отриманих результатів. На структуру популяцій грибів впливають багато факторів, а саме способи поширення, мутації, дрейф генів. Також, дуже суттєво, впливає притаманна грибам система вегетативної та статевої сумісності. Репродуктивна ізоляція може призвести до виникнення інтерстерильних груп всередині виду. Науковець Сергій БОЙКО у Інституті еволюційної екології НАН України – проводив дослідження стан

популяції гриба *Schizophyllum commune* на території урочища Феофанія з використанням поліморфних внутрішньоклітинних ферментних систем.

Одержану культуру (Табл. 1.5) вирощували поверхнево на рідкому глюкозо-пептонному живильному середовищі:

Таблиця.1.5. - Одержанні данні вирощеної культури

глюкоза – 10,0 г/л	пептон – 3,0 г/л	K ₂ HPO ₄ – 0,4 г/л
MgSO ₄ × 7H ₂ O – 0,5 г/л	ZnSO ₄ × 7H ₂ O – 0,001 г/л	CaCl ₂ – 0,05 г/л

Розливали по 25 мл у колби Ерленмейєра ємкістю 100 мл. Початковий рівень рН живильного середовища становив 5,0, культивування відбувалося за температури 28°C протягом 14–15 діб (Voiko, 2011). Для підтвердження генетичного контролю локусів дикаріону використовували монокаріотичні культури, які отримували методом спорових відбитків. Чистоту та приналежність до моноспорових культур контролювали за допомогою мікроскопії.

Загалом для чотирьох локусів (Рис.1.18) було встановлено одинадцять алельних варіантів, по два для ферментних систем ендо-1,3(4)-β-глюканази та глутаматоксалоацетаттрансамінази, три для α-амілази та чотири для каталази. Середнє число алелів на локус у популяції урочища Феофанія складало 2,75. Ефективне число алелів, що відображає вклад у алельне різноманіття, становило в середньому 1,51. Індекс різноманіття за Шеноном у дослідній популяції в середньому дорівнював 0,5484. Найбільший вклад в різноманіття вносили локуси Eg (0,6663) та Cat (0,7404).

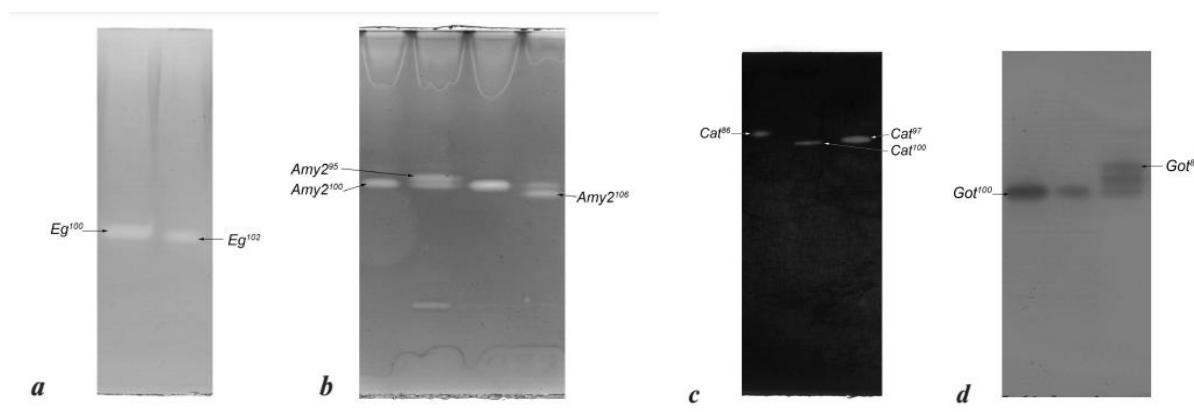


Рисунок 1.18. - Вигляд ендоезоферментні спектрів, що властиві грибам *Schizophyllum commune* урочища Феофанія (а – енд-1,3(4)- β глюканаза, б – α -амілаза, с – каталаза, d – глутаматоксалоацетаттрансаміназа)

Що стосується частоти алелів *S. commune* у популяції, то слід зазначити суттєву частку Amy2100 (0,8462), Got100 (0,9231) та Cat100 (0,7692) (табл. 3). Для локусу Eg спостерігається вагомий внесок обох алелів Eg100 (0,6154) та Eg102 (0,3846), однак, як було зазначено раніше, у популяції вони представлені у гомозиготному стані. Алелі Amy295, Cat86, Cat97 належать до рідких у межах дослідної популяції. У порівнянні з іншими популяціями *S. commune* (Voiko, 2015) популяція урочища Феофанія має нижчі показники середнього та ефективного числа алелів на локус, індексу різноманіття за Шеноном та гетерозиготності, що спостерігається.

Для чотирьох алозимних локусів гриба *Schizophyllum commune* популяції (Рис.1.21) урочища Феофанія було встановлено одинадцять алельних варіантів: по два для ферментних систем енд-1,3(4)- β -глюканази та глутаматоксалоацетаттрансамінази, три для α -амілази та чотири для каталази. Порушення рівняння Харді-Вайнберга для деяких локусів скоріш за все пов'язано з обмеженою чисельністю популяції та великим внеском інбридингу. Встановлено дефіцит гетерозигот ферментних систем енд-1,3(4)- β -глюканази і каталази та збалансованість гомо- та гетерозигот для локусів Amy2 та Got. Показники генетичної мінливості популяції *S.*

сортине урочища Феофанія свідчать про збідніння її генофонду через певну генетичну ізоляцію.

ВИСНОВОК ДО РОЗДІЛУ 1

Базидієві гриби мають неабиякі функції та дії, які були досліджені, а ще деякі досліджуються. У розділі один – ми надали декілька аргументів по грибам, декілька описів та знахідки для слідуючих досліджень.

Опрацьовані дані літературних джерел, опрацьовані офіційні сайти для отримання даних по препаратам вище та проведені описи аналізів ринку, досліджень, методик отримання екстрактів, АФІ з базидієвих грибів.

2. МЕТОДОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ГЕЛЮ НА ОСНОВІ ШИЗОФІЛЛАНУ.

Найбільш поширеними високомолекулярними полімерами, які зустрічаються в природі, є полісахариди. Вони синтезуються з відновлюваних джерел енергії, включаючи рослини, водорості та мікроорганізми, такі як гриби та бактерії [57].

Гелі — це колоїдні системи, які складаються з дисперсної фази (тверді частинки) і дисперсійного середовища (рідка або напіврідка субстанція). Гелі мають високу в'язкість і певну пружність, що дозволяє їм зберігати форму. Їх структура утворюється завдяки з'єднанню молекул дисперсної фази у тривимірну сітку, яка утримує рідке середовище. Завдяки своїм властивостям, гелі знаходять застосування в медицині, косметології, харчовій промисловості та багатьох інших галузях [15-17].

Представляємо методологію створення гелю:

- ✓ Екстракція та очищення шизофіллану:

Shizophyllum commune вирощують у відповідних умовах для максимального виділення полісахариду.

Екстракція шизофіллану здійснюється з використанням водних розчинів, а подальше очищення — шляхом діалізу або хроматографії:

Екстракція та очищення шизофіллану починається з вирощування базидіоміцетного гриба *Shizophyllum commune* в оптимальних умовах, які забезпечують максимальне виділення полісахариду. Для цього необхідно створити сприятливе середовище, що включає належну температуру, вологість, аерацію та джерела живлення, багаті на вуглеводи. Після досягнення бажаного рівня росту гриба і накопичення шизофіллану в культуральному середовищі, здійснюється екстракція полісахариду.

Екстракція шизофіллану проводиться з використанням водних розчинів. Спочатку культуральне середовище піддається фільтрації для видалення мікроскопічних частинок та клітинного матеріалу гриба. Отриманий фільтрат піддається екстракції шляхом додавання води, що сприяє вилученню полісахариду. Після цього суміш піддається нагріванню для руйнування клітинних мембран та полегшення вивільнення шизофіллану. Важливо контролювати температуру, щоб уникнути денатурації полісахариду.

Подальше очищення шизофіллану здійснюється методами діалізу або хроматографії. Діаліз використовується для видалення низькомолекулярних домішок шляхом пропускання екстракту через напівпроникні мембрани, що дозволяє полісахариду залишатися в розчині, тоді як домішки видаляються. Хроматографія, зокрема гель-фільтраційна або іонообмінна, дозволяє ще більш точно очищати шизофіллан, розділяючи його від інших речовин на основі молекулярної ваги або заряджених груп. Це забезпечує високу чистоту кінцевого продукту, що є

важливим для подальшого використання шизофіллану в розробці фармацевтичних засобів, зокрема гелевих форм для загоєння ран [63].

✓ Підготовка гелю:

Очищений шизофіллан розчиняють у воді для отримання потрібної концентрації.

Для утворення гелю необхідно створити певні умови, такі як зміна температури або додавання іонів, що сприяють зшиванню молекул шизофіллану:

На етапі підготовки гелю очищений шизофіллан розчиняють у воді для отримання розчину необхідної концентрації. Цей процес вимагає ретельного контролю, оскільки від концентрації залежатиме текстура та фізичні властивості кінцевого продукту. Після того як шизофіллан повністю розчинився, для утворення гелю необхідно створити певні умови, що сприяють зшиванню його молекул.

Одним із таких підходів є зміна температури розчину. Зазвичай, це передбачає поступове охолодження або нагрівання, що дозволяє молекулам шизофіллану взаємодіяти між собою і формувати тривимірну сітчасту структуру, яка і є основою гелю. Температурний режим підбирається таким чином, щоб забезпечити стабільність та однорідність гелевої структури.

Іншим підходом є додавання іонів, наприклад, іонів кальцію або магнію, які сприяють зшиванню молекул шизофіллану. Іони взаємодіють з функціональними групами полісахариду, що призводить до утворення міжмолекулярних зв'язків і стабілізації гелевої матриці. Вибір іонів та їх концентрація можуть значно вплинути на кінцеву текстуру гелю, його в'язкість та механічну міцність.

Таким чином, підготовка гелю включає створення оптимальних умов для зшивання молекул шизофілану, що забезпечує утворення стабільної та ефективної гелевої форми з необхідними властивостями для застосування в медичних або фармацевтичних цілях.

✓ Характеризація гелю:

В'язкість, пружність та стабільність гелю оцінюються за допомогою реометричних методів.

Досліджуються морфологічні властивості гелю за допомогою мікроскопії:

На етапі оцінки властивостей гелю проводиться комплекс аналізів, які дозволяють визначити його в'язкість, пружність та стабільність. Ці параметри є критично важливими для забезпечення ефективності та якості кінцевого продукту, особливо якщо гель призначений для медичного або фармацевтичного використання.

В'язкість, пружність та стабільність гелю оцінюються за допомогою реометричних методів. Реометри дозволяють досліджувати, як гель реагує на зовнішні сили, зокрема зсувні деформації. В'язкість характеризує опір гелю до деформації, а пружність — його здатність повертатися до початкової форми після зняття навантаження. Реометричні дослідження можуть проводитися в широкому діапазоні температур та швидкостей зсуву, що дозволяє отримати повну картину поведінки гелю в різних умовах. Стабільність гелю визначається за його здатністю зберігати свої властивості протягом часу під впливом зовнішніх факторів, таких як зміна температури, вологість або механічні навантаження.

Морфологічні властивості гелю досліджуються за допомогою мікроскопії. Зазвичай використовуються методи оптичної або електронної мікроскопії, які дозволяють отримати зображення внутрішньої структури

гелю на мікроскопічному рівні. Оптична мікроскопія дає можливість дослідити загальну структуру та рівномірність розподілу компонентів гелю, тоді як електронна мікроскопія забезпечує більш високу роздільну здатність, дозволяючи досліджувати наноструктурні особливості гелевої матриці. Аналіз морфологічних властивостей дає змогу оцінити, наскільки однорідним є гель, виявити можливі дефекти або нерівномірності, що можуть вплинути на його функціональні властивості.

Ці дослідження дозволяють комплексно оцінити якість гелю, а також адаптувати процес його виробництва для досягнення оптимальних характеристик.

✓ Біологічні властивості та застосування:

Гелі на основі шизофіллану мають низку корисних біологічних властивостей, таких як імуномодулюючі та антимікробні ефекти. Вони можуть бути використані в якості основи для ліків, ранозагоювальних покриттів та в косметології.

Гель на основі шизофіллану з гриба *Shizophyllum commune* представляє собою перспективну лікарську форму, що поєднує в собі терапевтичні властивості активної речовини з зручністю використання та високою біодоступністю. Обґрунтування вибору гелю як лікарської форми базується на ряді наукових, фармакологічних та технологічних факторів.

✓ Терапевтичні властивості шизофіллану:

Шизофіллан є біологічно активним полісахаридом, що має широкий спектр фармакологічних властивостей:

- ✓ Імуномодулюючі властивості: Шизофіллан стимулює активність макрофагів і лімфоцитів, підвищуючи імунну відповідь організму.
- ✓ Протизапальна дія: Цей полісахарид знижує рівень запальних цитокінів, що сприяє зменшенню запальних процесів.

- ✓ Антиоксидантна активність: Шизофіллан захищає клітини від пошкодження вільними радикалами, що є важливим для запобігання старіння шкіри та інших дегенеративних процесів.
- ✓ Ранозагоювальні властивості: Шизофіллан сприяє регенерації тканин і швидкому загоєнню ран.

Переваги гелю як лікарської форми:

- Висока біодоступність: Гелеві форми дозволяють активним інгредієнтам проникати в глибокі шари шкіри, забезпечуючи ефективне місцеве лікування.
- Зручність у використанні: Гелі легко наносити на шкіру, вони швидко всмоктуються і не залишають жирних слідів, що робить їх зручними для пацієнтів.
- Контрольоване вивільнення: Гелеві матриці можуть бути розроблені таким чином, щоб забезпечити поступове і рівномірне вивільнення активних речовин, продовжуючи їх терапевтичну дію.
- Стабільність активних інгредієнтів: Гелеві формули захищають активні інгредієнти від деградації під впливом зовнішніх факторів, таких як світло, повітря та волога.

Вибір допоміжних речовин:

Для забезпечення оптимальної стабільності, біодоступності та споживчих властивостей гелю були обрані наступні допоміжні речовини:

- Поліетиленгліколь (Рис.2.19) (PEG) 400 і 1500: Виступає як зволожувач і розчинник, сприяє проникненню активних інгредієнтів через шкіру.

- Масло чайного дерева: Має антисептичні та протизапальні властивості, що підсилює терапевтичний ефект гелю.

✓ Технологічні аспекти:

Виробництво гелю на основі шизофіллану включає кілька ключових етапів: підготовка базового розчину, розчинення шизофіллану, змішування з поліетиленгліколем, додавання допоміжних речовин, упаковка та фасування готового продукту. Кожен з цих етапів ретельно контролюється для забезпечення високої якості та стабільності кінцевого продукту.

Гель на основі шизофіллану є інноваційною та ефективною лікарською формою, яка поєднує в собі потужні терапевтичні властивості активного інгредієнта з перевагами гелевої основи. Використання цього гелю може значно покращити стан шкіри, сприяти швидкому загоєнню ран та забезпечити загальний позитивний ефект на здоров'я пацієнтів. Обґрунтування вибору гелю і допоміжних речовин базується на наукових дослідженнях та практичних перевагах, що робить цей продукт перспективним у сфері фармації та медицини.

Нативний шизофіллан зустрічається у воді у вигляді потрійних спіралей, які є стабільними приблизно до 145°C. Матеріал розпадається на одиничні спіралі при нагріванні вище цієї температури, а потрійні спіралі реформуються лише частково при наступному охолодженні. Температура переходу від потрійних до одинарних спіралей знижується в розчинах, що містять ДМСО або концентрований NaOH. Нативний шизофіллан часто використовується як модельний полімер для дослідження в'язкості нейтральних лінійних стрижнів. Однак частково дисоційований шизофіллан утворює гель при кімнатній температурі в концентраціях, як правило, 1 мас. %.

Через ці особливі властивості плавлення було проведено реологічну характеристику шизофілланових гелів. У рамках цього була досліджена

можливість зміщення переходу, навколо 5°C шляхом зміни якості розчинника шляхом додавання різних низькомолекулярних сполук: солей, глюкози, HCl або NaOH . Також була зроблена спроба змодельовати зміну модуля залежно від концентрації та температури за допомогою модифікованої каскадної теорії. Результати цього свідчать про те, що шизофілланові гелі мають два рівні організації при низьких температурах: потрійні спіралі шизофіллану та їх агрегати в пучках, які, у свою чергу, можуть утворювати фізичну мережу. Ця інтерпретація підтверджується якісною мікроструктурною характеристикою гелів нижче та вище температури плавлення.

У цій роботі повідомляється про мережу гелю, утворену жорсткими ланцюгами шизофілану (SPG) з бурою як зшиваючим агентом. Утворені поперечні зв'язки є непостійними та дещо динамічними за своєю природою, оскільки реакція поперечного зшивання регулюється рівновагою комплексоутворення. Процеси гелеутворення відстежуються за допомогою динамічних в'язкопружних вимірювань для вивчення впливу вмісту бури, концентрації SPG, температури, концентрації солі, типу солі та деформації. Кінетична модель першого порядку, що містить три параметри, $t(0)$ (час індукції), $1/\tau(c)$ (швидкість гелеутворення) і (насичений модуль зберігання), успішно застосована для опису гелеутворення системи SPG-Borax. Гелеутворення відбувається швидше за вищого вмісту бури, вищої концентрації SPG, вищої концентрації солі або нижчої температури. Крім того, гелеутворення є специфічним для катіонного типу. Модуль зберігання є лінійною функцією як вмісту бури, так і концентрації SPG. Лінійну залежність між модулем накопичення та вмістом бури можна пояснити за допомогою модифікованої теорії еластичності ідеальної гуми з переднім фактором альфа, щоб врахувати наявність неефективних поперечних зв'язків і ефект жорсткості ланцюга SPG. З іншого боку, лінійну залежність модуля накопичення від

концентрації SPG можна пояснити на основі контактної поведінки ланцюг-ланцюг розширених ланцюгів SPG. Уявна енергія активації та ентальпія зшивання розраховані як -74,5 та -32,4 кДж/моль для даної системи. Вимірювання розгортки деформації показують, що еластичність цього гелю починає відхилятися від мережі ланцюга Гауса при невеликій деформації 10%.

З вимірювань седиментаційної рівноваги, розсіювання світла та в'язкості серії нативних і оброблених ультразвуком зразків шизофіллану та позаклітинного β -1,3- D- глюкану було отримано наступні результати: (i) середньомасове та z -середнє молекулярне ваги ($\bar{M}_w$ і $\bar{M}_z$) у воді приблизно в три рази більші, ніж у диметилсульфоксиді (ДМСО) ; (ii) показник степеня у залежності характеристичної в'язкості Хаувінка-Марка-Сакуради у воді близький до 1,7, тоді як у ДМСО він становить 0,68; (iii) характеристична в'язкість зразків з $\bar{M}_w$ нижче 5×10^5 у воді при 25°C може бути підігнана за теорією Ямакави для вздовж жорсткого стержня , якщо крок (1,836 нм) потрійної спіралі Аткинс та ін. і діаметр (3 нм), оцінений за моделлю потрійної спіралі; (iv) характеристична в'язкість у сумішах вода-ДМСО при 25°C зазнає майже безперервного зниження, коли вагова частка ДМСО в суміші зростає приблизно до 87%. Ці результати разом приводять до висновку, що шизофіллан розчиняється у воді у вигляді потрійної спіралі, подібної до запропонованої Atkins et al. і що потрійна спіраль у водному розчині ДМСО різко «плавиться» до одиночних ланцюгів, коли спільне складання ДМСО досягає приблизно 87 мас.%. Було також виявлено, що потрійну спіраль неможливо відновити, якщо її розірвати в ДМСО.

Створення гелів на основі шизофіллану з *Shizophyllum commune* є перспективним напрямком, завдяки їхнім унікальним фізико-хімічним та біологічним властивостям. Такі гелі можуть знайти широке застосування в різних галузях, зокрема в медицині та фармації.

ВИСНОВОК ДО РОЗДІЛУ 2

Полісахариди поступово стають популярними як сучасні перев'язувальні матеріали для ран, оскільки вони виробляються природним шляхом, не є імуногенними, у великій кількості, доступні за ціною, нетоксичні та мають абсорбуючі властивості. Гідрогелі, отримані з полісахаридів, перетворюються на біоміметичні платформи, які можна використовувати як ранові пов'язки для ефективного загоєння. Полісахариди допомагають у загоєнні ран, сприяючи активації неспецифічної імунної системи [57].

Методика виготовлення ранозагоювального гелю з використанням шизофіллану включає кілька етапів. Спочатку здійснюється підготовка компонентів, зокрема шизофіллан виділяється з базидіоміцетного гриба шляхом ферментації та очищення. Для рівномірного розподілу шизофіллану в гелі підготовлюється водний розчин основи гелю, наприклад, карбомеру або ксантанової камеді, що слугуватиме основою для розчинення активного інгредієнта. Далі здійснюється розчинення гелеутворювача у воді при кімнатній температурі або підігрітій до 40°C, поступово додаючи його та ретельно перемішуючи до утворення однорідного гелю. В цей розчин поступово вводиться шизофіллан, забезпечуючи його рівномірний розподіл шляхом ретельного перемішування, при цьому важливо уникати утворення бульбашок повітря, які можуть вплинути на консистенцію та властивості кінцевого продукту [63].

Для досягнення потрібного рівня рН, зазвичай нейтрального або слабокислого, додають луг або кислоту, наприклад, розчин натрію гідроксиду або лимонну кислоту, що необхідно для забезпечення стабільності гелю та активності шизофіллану. Отриманий гель піддається гомогенізації для досягнення однорідної текстури та стабільної

консистенції за допомогою спеціального обладнання, такого як роторно-статорний гомогенізатор або ультразвуковий процесор. Після цього готовий гель розливають у стерильні контейнери та герметично запаковують для зберігання при кімнатній температурі або в умовах, що відповідають вимогам для даного типу лікарського засобу. Обов'язково проводиться контроль якості, включаючи перевірку на мікробіологічну чистоту, стабільність гелю, рівномірність розподілу шизофіллану та його активність.

3. РОЗРОБКА РАНОЗАГОЮВАЛЬНОГО ГЕЛЮ НА ОСНОВІ ШИЗОФІЛЛАНУ.

Ранозагоювальні гелі відіграють важливу роль у сучасній медицині, забезпечуючи ефективний захист і лікування ран. Шизофіллан, полісахарид, виділений з гриба *Shizophyllum commune*, має перспективні властивості для створення такого гелю завдяки своїй біосумісності, нетоксичності та імуномодуючій активності.

Гелі (лат. *gela*; *gelata* лат. *gelo* — застигаю) — зв'язнодисперсні ультра- та мікрогетерогенні дисперсні системи з газовим та рідким дисперсійним середовищем, які мають деякі властивості твердих тіл, зокрема здатність зберігати форму, деяку міцність, пластичність, частіше еластичність [1].

Гелі утворюються із високодисперсних систем при їх коагуляції, коли частинки дисперсної фази внаслідок молекулярного зчеплення (за рахунок молекулярних сил різної природи) утворюють просторову сітку, при цьому система не розшаровується, а затвердіває.

Гелі утворюються внаслідок пухкої коагуляції за відносно малим числом коагуляційних центрів на поверхні частинок дисперсної фази, напр. на кінцях, ребрах, кутах частинок витягнутої форми (анізотричних), особливо схильних до гелеутворення. При цьому

поверхня частинок стабілізована сольватними оболонками середовища. Саме тому типові гелі утворюються при дуже малому вмісті дисперсної фази, напр. при 0,01% у гідрозолі внаслідок додавання гелетвірних (коагулюючих) електролітів настає повне затвердіння. Якщо високодисперсна система є достатньо ліофільною, то утворюється типовий гель (коагуляційно-тиксотропна структура), який називається ліогелем. При цьому не відбувається розподілу фаз із появою осаду, а все дисперсійне середовище утримується механічно в комірках структури. Залежно від природи дисперсійного середовища (води, спирту тощо) розрізняють гідрогелі, алкогелі та ін. При переході системи із вільнодисперсного стану (золю) у зв'язнодисперсний кількість дисперсійного середовища практично не змінюється, уся рідина іммобілізована, тобто затверділа у структурі гелю. Перехід не супроводжується також і помітним тепловим ефектом, оскільки зчеплення частинок дисперсної фази відбувається на дуже малих стабілізованих ділянках поверхні, де зменшення поверхневої енергії Гіббса незначне. Групу типових гелів утворюють ліофільні (оборотні) високодисперсні системи колоїдних ПАР. Гелі утворюються із відповідних золів при підвищенні концентрації колоїдних ПАР або при зниженні температури. Специфічною властивістю типових коагуляційних структур є тиксотропія — здатність гелю мимовільно відновлюватися у часі після руйнування внаслідок механічної дії, а також переходити в золь під дією фізико-хімічних факторів. Гелі можуть бути не тільки коагуляційно-тиксотропними, а й конденсаційно-кристалізаційними структурами. Останні утворюються з типових ліофобних золів, між частинками котрих існує хімічний зв'язок. Вони мають високу міцність і руйнуються без зворотного відновлення. При висушуванні гелю перетворюється на тверду мікропористу систему, яка має крихку структуру без зворотного відновлення. Ці системи називають аерогелями (ксерогелями) [15-17].

Методологія створення ранозагоювального гелю

1. Екстракція та очищення шизофіллану:

Вирощування *Shizophyllum commune* у відповідних умовах для максимального виділення шизофіллану.

Екстракція здійснюється з використанням водних розчинів, очищення - шляхом діалізу або хроматографії.

2. Підготовка гелю:

Очищений шизофіллан розчиняють у стерильній воді до необхідної концентрації.

Для забезпечення гелеутворення можуть додаватися допоміжні речовини (наприклад, солі кальцію або натрію), які сприяють зшиванню молекул шизофіллану.

3. Додавання активних компонентів:

Для підвищення ефективності гелю можуть додаватися антимікробні агенти, вітаміни та інші біоактивні речовини.

Слід забезпечити рівномірний розподіл активних компонентів у гелі для максимального терапевтичного ефекту.

4. Стерилізація:

Готовий гель стерилізують за допомогою автоклавування або фільтрації через стерильні фільтри для запобігання контамінації.

Таблиця 3.6. - Характеристика та тестування ранозагоювального гелю

Характеризація та тестування
1. Фізико-хімічні властивості:
В'язкість і пружність гелю оцінюються за допомогою реометричних

методів.
Морфологія гелю досліджується за допомогою мікроскопії.
2. Біосумісність і безпечність:
Вивчається цитотоксичність гелю на культурах клітин.
Проводяться тести на біосумісність відповідно до міжнародних стандартів.
3. Ранозагоювальні властивості:
Гель тестується на моделях ран у тварин для оцінки його ефективності у прискоренні загоєння.
Оцінюється здатність гелю забезпечувати вологе середовище та захист від інфекцій.

Ранозагоювальні гелі на основі шизофіллану мають великий потенціал у медицині завдяки своїм унікальним властивостям. Вони можуть використовуватися для лікування різних типів ран, включаючи опіки, хронічні виразки та хірургічні рани. Подальші дослідження та клінічні випробування допоможуть підтвердити ефективність і безпечність таких гелів, відкриваючи нові можливості для їх застосування в медицині (Табл.3.6).

3.1. Опис технологічного процесу виробництва гелю на основі шизофіллану з базидіального гриба

Розпочнемо з того, що проведемо детальний опис кожної стадії.

Стадія 1: Приготування базового розчину

Приготування базового розчину для гелю на основі шизофіллану є критично важливим етапом усього технологічного процесу. Цей етап вимагає точності і ретельного контролю, щоб забезпечити високу якість кінцевого продукту. Основними матеріалами для цієї стадії є шизофіллан та очищена вода.

Процес починається з підготовки шизофіллану, що отримується з культури гриба *Shizophyllum commune*. Шизофіллан, будучи природним полісахаридом, володіє унікальними властивостями, які роблять його ідеальним компонентом для створення гелевих основ. Однак, для забезпечення високої якості розчину, необхідно ретельно контролювати чистоту та консистенцію цього матеріалу [43].

Шизофіллан спочатку зважують на високоточних електронних вагах. Це обладнання дозволяє отримати точну масу речовини, необхідну для подальшого розчинення. Ваги мають бути ретельно відкалібровані та перевірені перед використанням, щоб виключити будь-які похибки у вимірюваннях [21].

Після зважування шизофіллан проходить через вібросито. Це обладнання необхідне для видалення будь-яких механічних домішок і грудочок, що можуть бути присутні у сировині. Вібросито забезпечує рівномірний розмір частинок шизофіллану, що сприяє кращому розчиненню у воді. Вібрація сита дозволяє швидко і ефективно відокремити потрібні фракції, забезпечуючи однорідність кінцевого продукту [44].

Водночас, підготовляється очищена вода. Вода використовується тільки найвищої якості, яка відповідає всім санітарним нормам і стандартам. Вона зберігається у стерильних резервуарах, виготовлених з нержавіючої сталі або спеціального харчового пластику, що дозволяє уникнути будь-якої контамінації. Перед додаванням шизофіллану вода нагрівається до температури 70-80°C. Це необхідно для полегшення процесу розчинення полісахариду та забезпечення його рівномірного розподілу в рідині.

Цей етап завершується змішуванням шизофіллану з нагрітою очищеною водою. Процес ретельного перемішування відбувається у

змішувальному апараті, що забезпечує однорідність розчину. Змішувальний апарат має високопродуктивні лопаті, які створюють інтенсивний рух рідини, сприяючи повному розчиненню шизофіллану. Температура та час перемішування ретельно контролюються, щоб досягти оптимальної консистенції базового розчину [46, 49].

Таким чином, перша стадія процесу створення гелю на основі шизофіллану передбачає використання високоточних ваг, вібросити, стерильних резервуарів і змішувального апарату. Кожен крок цього етапу спрямований на забезпечення чистоти, однорідності та високої якості базового розчину, що є фундаментом для подальших стадій виробництва.

Стадія 2: Розчинення шизофіллану

Стадія розчинення шизофіллану є наступним критично важливим етапом у технологічному процесі виробництва гелю. Цей процес спрямований на перетворення твердого шизофіллану у однорідний рідкий розчин, який стане основою для подальших стадій виробництва гелю.

Першочерговим завданням цієї стадії є забезпечення рівномірного і повного розчинення шизофіллану у воді. Для цього використовується спеціальне обладнання - змішувальний апарат і нагрівальний резервуар. Змішувальний апарат оснащений високопродуктивними лопатями, які створюють інтенсивний рух рідини, що сприяє ефективному перемішуванню інгредієнтів.

Процес розчинення починається з додавання шизофіллану у нагріту до 70-80°C очищену воду. Нагрівання води є важливим аспектом цього етапу, оскільки підвищена температура сприяє швидшому і більш ефективному розчиненню полісахариду. Нагрівальний резервуар забезпечує підтримання стабільної температури протягом усього процесу, що є ключовим для досягнення однорідного розчину.

Після додавання шизофіллану у воду, розчин ретельно перемішується у змішувальному апараті. Перемішування проводиться при контрольованій швидкості, щоб уникнути утворення грудочок і забезпечити рівномірний розподіл шизофіллану у воді. Час перемішування залежить від об'єму розчину і може варіюватися від кількох годин до доби, щоб забезпечити повне розчинення полісахариду [49- 53].

Протягом усього процесу розчинення проводиться постійний контроль параметрів, таких як температура, швидкість перемішування і час. Ці параметри ретельно регулюються для досягнення оптимальної консистенції розчину. Крім того, проводиться регулярний відбір проб для перевірки однорідності і концентрації шизофіллану в розчині. Це дозволяє оперативно вносити корективи у процес при необхідності.

Після завершення процесу розчинення отриманий розчин піддається фільтрації для видалення будь-яких залишкових механічних домішок, які могли потрапити у розчин на попередніх етапах. Фільтрація проводиться за допомогою спеціальних фільтраційних систем, що забезпечують високий ступінь чистоти розчину.

Таким чином, стадія розчинення шизофіллану є ключовим етапом у виробництві гелю. Використання спеціалізованого обладнання, таких як змішувальні апарати і нагрівальні резервуари, а також ретельний контроль параметрів процесу забезпечують отримання високоякісного однорідного розчину шизофіллану, який є основою для подальших стадій виробництва.

Стадія 3: Змішування з поліетиленгліколем

Стадія змішування з поліетиленгліколем є наступним важливим етапом у процесі виробництва гелю на основі шизофіллану. На цьому етапі до однорідного розчину шизофіллану додаються додаткові компоненти, такі як поліетиленгліколь (PEG) 400 та 1500, які виконують функцію

зволожувачів і стабілізаторів, покращуючи консистенцію та властивості готового гелю.

Перш за все, напівпродукт з попередньої стадії, що є розчином шизофіллану, завантажується у змішувальний апарат. Цей апарат оснащений потужними лопатями та системою контролю температури, що дозволяє забезпечити оптимальні умови для ефективного змішування всіх компонентів. Поліетиленгліколь додається у два етапи: спочатку PEG 400, потім PEG 1500. Кожен з цих компонентів має свої унікальні властивості, які вносять внесок у кінцеву текстуру і стабільність гелю.

Після завантаження поліетиленгліколю в змішувальний апарат, розпочинається процес перемішування. Змішування проводиться при контрольованій температурі, зазвичай близько 40-50°C, що забезпечує кращу взаємодію між шизофілланом та поліетиленгліколем. Лопаті змішувального апарату обертаються з певною швидкістю, створюючи інтенсивний потік рідини, що сприяє рівномірному розподілу поліетиленгліколю у розчині шизофіллану. Важливо, щоб швидкість обертання та час змішування були ретельно регульовані, аби уникнути утворення бульбашок повітря і забезпечити однорідність суміші.

Після додавання та початкового перемішування поліетиленгліколю до розчину шизофіллану, до суміші додаються інші допоміжні речовини: метилпарабен, пропілпарабен, пропіленгліколь, вітамін Е та масло чайного дерева. Кожен з цих компонентів виконує свою функцію в кінцевому продукті: метилпарабен і пропілпарабен діють як консерванти, пропіленгліколь покращує зволоження, а вітамін Е і масло чайного дерева надають гелю додаткові лікувальні властивості.

Додавання цих допоміжних речовин також проводиться у змішувальному апараті. Ретельне перемішування на цьому етапі забезпечує рівномірний розподіл усіх компонентів у суміші, створюючи

однорідну масу. Змішувальний апарат дозволяє регулювати не тільки швидкість обертання лопатей, але і температуру, що є критичним для досягнення оптимальної консистенції гелю.

Після завершення процесу змішування отримана суміш піддається контрольним випробуванням для перевірки її якості. Проводяться тести на в'язкість, однорідність і стабільність, а також перевірка на відсутність будь-яких механічних домішок чи бульбашок повітря. Ці контрольні заходи забезпечують відповідність отриманого напівпродукту усім технологічним та якісним вимогам, підготовлюючи його до наступної стадії - остаточного перемішування та фільтрації.

Отже, стадія змішування з поліетиленгліколем є ключовим етапом, що забезпечує стабільність, однорідність та високі функціональні властивості кінцевого продукту. Використання спеціалізованого обладнання та ретельний контроль параметрів процесу дозволяють досягти необхідної якості гелю, який відповідатиме найвищим стандартам у галузі медицини та косметології.

Стадія 4: Додавання допоміжних речовин

Стадія додавання допоміжних речовин є наступним важливим етапом у виробництві гелю на основі шизофіллану. Цей етап спрямований на вдосконалення властивостей гелю, покращення його стабільності, ефективності та тривалості зберігання. До напівпродукту, отриманого на попередній стадії, додаються метилпарабен, пропілпарабен, пропіленгліколь, вітамін Е та масло чайного дерева.

Процес починається з підготовки змішувального апарату, у який завантажуються напівпродукт, що складається з розчину шизофіллану і поліетиленгліколю. Цей апарат забезпечує рівномірне перемішування всіх компонентів, а також підтримує необхідну температуру і швидкість перемішування.

Метилпарабен і пропілпарабен додаються до суміші для забезпечення консервуючих властивостей гелю. Ці речовини ефективно запобігають розвитку мікроорганізмів, що дозволяє продовжити термін зберігання продукту та забезпечити його безпеку під час використання. Додавання консервантів проводиться при низькій температурі, щоб зберегти їх ефективність і уникнути розпаду активних інгредієнтів.

Пропіленгліколь додається для покращення зволожуючих властивостей гелю. Це речовина, яка добре розчиняється у воді і взаємодіє з іншими компонентами, створюючи однорідну і стабільну суміш. Пропіленгліколь також покращує проникність активних інгредієнтів через шкіру, що робить гель більш ефективним при місцевому застосуванні.

Вітамін Е додається як антиоксидант, що захищає гель від окислення і покращує його стабільність. Ця речовина також має значні лікувальні властивості, зокрема, знижує запальні процеси і сприяє загоєнню ран. Вітамін Е вводиться у суміш на етапі перемішування для забезпечення його рівномірного розподілу в гелі.

Масло чайного дерева додається для забезпечення додаткових антисептичних і протизапальних властивостей гелю. Це природний компонент, який відомий своїми потужними лікувальними властивостями. Додавання масла чайного дерева проводиться на завершальному етапі змішування, щоб зберегти його активні компоненти і забезпечити максимальну ефективність.

Процес змішування триває до досягнення повної однорідності суміші. Змішувальний апарат забезпечує інтенсивне перемішування при контрольованій температурі, що дозволяє уникнути утворення бульбашок повітря і забезпечити рівномірний розподіл усіх компонентів. Після завершення змішування отримана суміш піддається ретельному контролю

якості, що включає перевірку на однорідність, в'язкість, стабільність і відсутність будь-яких механічних домішок.

Таким чином, стадія додавання допоміжних речовин є важливим етапом у виробництві гелю на основі шизофіллану. Використання сучасного обладнання, точне дотримання технологічних параметрів і ретельний контроль якості дозволяють отримати продукт високої якості, який відповідає всім вимогам безпеки та ефективності. Ця стадія завершується підготовкою гелю до остаточного пакування і фасування, що буде виконано на наступному етапі виробництва.

Стадія 5: Упаковка та фасування готового продукту

Упаковка та фасування готового продукту є завершальним етапом у технологічному процесі виробництва гелю на основі шизофіллану. Цей етап має вирішальне значення, оскільки від нього залежить збереження якості та ефективності продукту під час зберігання та використання. Крім того, правильна упаковка забезпечує зручність для кінцевого споживача та захист від зовнішніх впливів.

Процес упаковки починається з підготовки гелю, отриманого на попередніх стадіях. Готовий гель піддається остаточному контролю якості, щоб переконатися в його відповідності всім встановленим стандартам. Це включає перевірку фізико-хімічних властивостей, однорідності, в'язкості та стабільності продукту. Важливо, щоб на цьому етапі було виявлено та усунуто будь-які можливі недоліки, оскільки вони можуть вплинути на кінцевий продукт.

Після проходження контролю якості гель транспортується до пакувального відділу. Основним обладнанням, що використовується на цьому етапі, є тубонаповнювальна машина. Це автоматизований апарат, який забезпечує точне дозування гелю в упаковки. Машина оснащена системами контролю об'єму та ваги, що дозволяє забезпечити

рівномірність фасування та уникнути перевищення або нестачі продукту в кожній упаковці.

Процес наповнення туб починається з подачі пустих туб у тубонаповнювальну машину. Туби виготовляються з матеріалів, які забезпечують надійний захист гелю від зовнішніх факторів, таких як волога, світло і повітря. Після заповнення туби герметично запаюються, що запобігає витіканню продукту та зберігає його властивості протягом усього терміну зберігання.

Після запаювання туби проходять етап маркування. На цьому етапі на упаковки наноситься інформація про продукт, включаючи назву, склад, термін придатності, умови зберігання та інструкції з використання. Маркування виконується за допомогою спеціальних принтерів, які забезпечують чіткість та стійкість нанесених надписів.

Наступним кроком є вторинне пакування. Заповнені та марковані туби укладаються в картонні коробки або інші види упаковок, що забезпечують зручність транспортування та зберігання. Для цього використовується машина для укладки в пачки, яка автоматизує процес і забезпечує рівномірність укладання.

На завершальному етапі коробки з продуктом проходять остаточний контроль якості. Проводиться перевірка на цілісність упаковки, правильність маркування та відповідність кількості продукту в кожній коробці. Це дозволяє забезпечити, що кожна одиниця продукції відповідає встановленим стандартам і готова до відправлення споживачам.

Отже, стадія упаковки та фасування готового продукту є комплексним процесом, що включає контроль якості, автоматизоване наповнення, маркування та вторинне пакування. Використання сучасного обладнання та технологій дозволяє забезпечити високу якість та безпеку

гелю, що є ключовими аспектами для задоволення потреб споживачів та підтримки репутації виробника [52, 53].

3.2. Технологічна схема виробництва сухого екстракту.

Сухий екстракт – це концентрований продукт, отриманий з рослинної або грибною сировини шляхом вилучення активних компонентів і подальшого видалення розчинника. Цей процес дозволяє зберегти біологічно активні речовини у концентрованій формі, що забезпечує зручність у використанні та зберіганні. Сухі екстракти(Табл. 3.7) широко використовуються в медицині, фармації та косметології завдяки своїм високим терапевтичним властивостям [1,29].

Виробництво сухих екстрактів може бути організовано за двома схемами (Табл.3.7).

В першому випадку процес складається з 7 стадій :

Таблиця. 3.7. - Виробництво сухих екстрактів

1.	Допоміжні роботи.
2.	Одержання витяжки.
3.	Очищення витяжки.
4.	Згущення.
5.	Висушування і подрібнення.
6.	Стандартизація .
7.	Фасування, маркування та упакування.

А деколи сухі екстракти одержують без стадії згущення. Екстрагування при одержанні сухих екстрактів проводять тими ж методами, що і при одержанні густих екстрактів. Найчастіше використовують метод швидкоплинної реперколяції, тому що за допомогою цього методу одержують більш концентровані витяжки, на

випаровування яких витрачається менше теплової енергії і процес згущення проходить швидше.

Для очищення від баластних речовин використовують спиртоочищення, кип'ятіння, додавання каоліну.

Згущення проводять за допомогою роторного прямоплинного апарату, циркуляційного вакуум-випарного апарату, пінного випаровувача.

Висушування витяжки проводять за двома схемами:

1. без згущення рідкої витяжки;
2. через стадію згущення з наступним висушуванням.

Отримання сухого екстракту з гриба *Shizophyllum commune*

Процес отримання сухого екстракту шизофіллану з гриба *Shizophyllum commune* включає кілька основних стадій: підготовка сировини, екстракція, очищення та сушіння. Розглянемо кожну з цих стадій детальніше.

1. Підготовка сировини

Перший етап включає збір та підготовку гриба *Shizophyllum commune*. Гриби ретельно очищають від забруднень і зважують для визначення необхідної кількості сировини для екстракції. Потім гриби подрібнюють до дрібних частинок для збільшення площі контакту під час екстракції.

2. Екстракція

Процес екстракції полягає у вилученні шизофіллану з грибної маси. Для цього використовуються різні розчинники, найчастіше вода або водно-спиртові суміші. Подрібнену грибну масу поміщають у екстракційний апарат, де вона змішується з розчинником. Процес екстракції може

відбуватися при підвищеній температурі для збільшення виходу активних компонентів. Після певного часу настоювання та перемішування отримують рідкий екстракт, що містить розчинені біологічно активні речовини.

3. Очищення

Отриманий рідкий екстракт піддається очищенню для видалення нерозчинних частинок та інших домішок. Для цього використовуються методи фільтрації та центрифугування. Очищений екстракт повинен бути прозорим і однорідним, без видимих домішок.

4. Сушіння

Найважливішою стадією є видалення розчинника з очищеного екстракту для отримання сухого продукту. Для цього можуть використовуватися різні методи сушіння, такі як:

- Розпилювальна сушка: Рідкий екстракт розпилюється у сушильній камері, де він миттєво висушується під впливом гарячого повітря, утворюючи дрібнодисперсний порошок. Цей метод дозволяє швидко отримати сухий продукт з мінімальними втратами активних речовин.
- Ліофілізація: Процес заморожування екстракту з подальшим видаленням води шляхом сублімації. Цей метод зберігає максимальну кількість біологічно активних речовин, але є більш тривалим і дорогим у порівнянні з розпилювальною сушкою.

Після завершення процесу сушіння отримують сухий екстракт шизофіллану у вигляді порошку. Цей порошок фасується у відповідну тару для зберігання та подальшого використання.

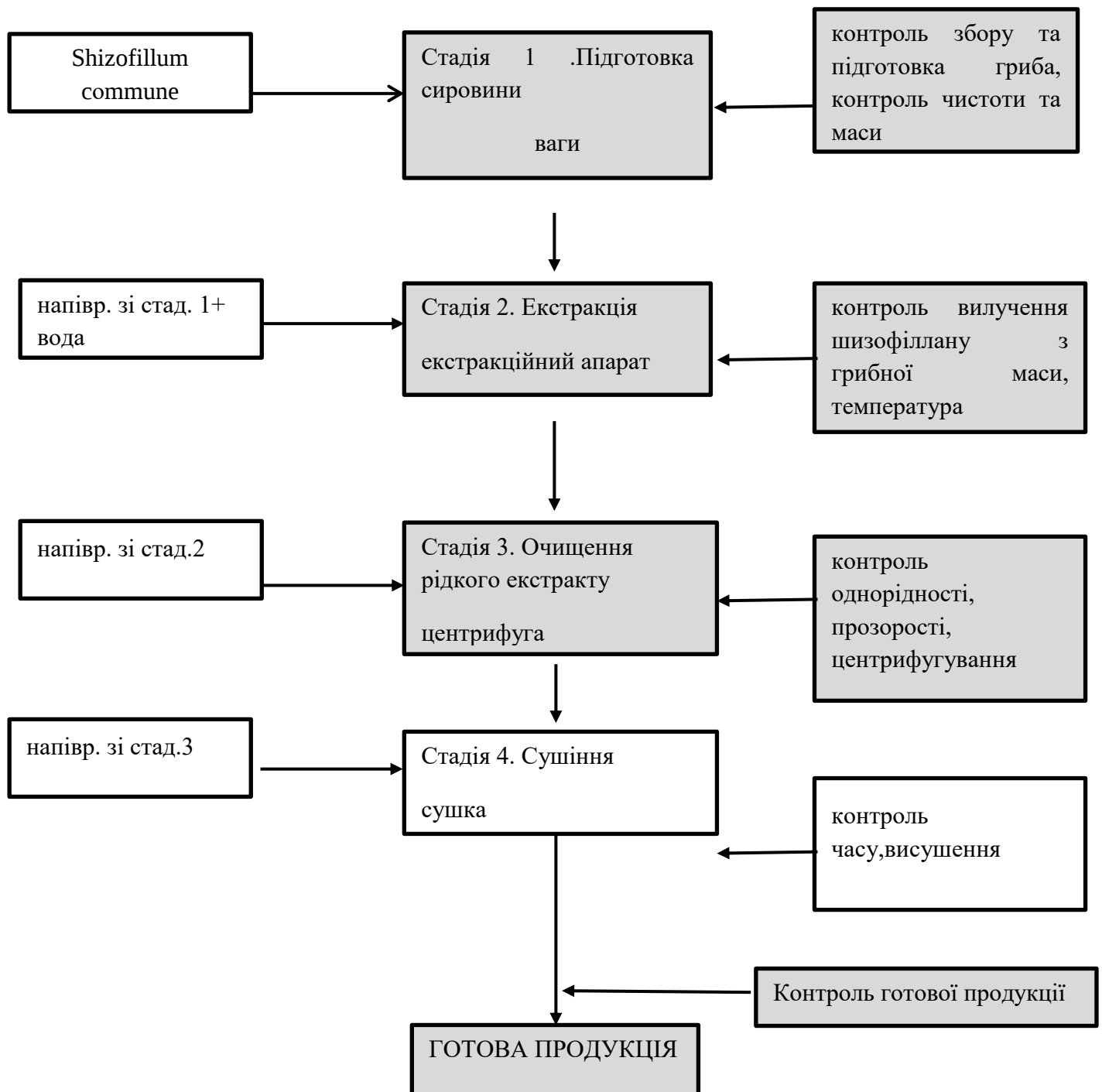


Рисунок 3.23 – Технологічна схема багатостадійного процесу екстракції біологічно активних сполук з міцелію *Shizophyllum commune*

Технологічна схема виробництва сухого екстракту з гриба *Shizophyllum commune* (Рис.3.23)

1. Матеріали та обладнання:

- Вихідна сировина: гриби *Shizophyllum commune*
- Екстракційні розчинники: вода або водно-спиртові суміші
- Обладнання: подрібнювач, екстракційний апарат, фільтраційна система, центрифуга, розпилювальна сушарка або ліофілізатор, пакувальна машина

2. Процес:

- Підготовка сировини: очищення, зважування, подрібнення
- Екстракція: змішування сировини з розчинником, нагрівання, настоювання, перемішування
- Очищення: фільтрація, центрифугування
- Сушіння: розпилювальна сушка або ліофілізація
- Фасування: пакування сухого екстракту у відповідну тару

Таким чином, виробництво сухого екстракту з гриба *Shizophyllum commune* є комплексним процесом, що включає підготовку сировини, екстракцію, очищення та сушіння. Кожен етап вимагає використання спеціалізованого обладнання та ретельного контролю для забезпечення високої якості кінцевого продукту.

3.2.1. Екстракція *Shizophyllum commune*

З розділу 1.6.1, 1.6.2 ми вже знаємо, як культивувати гриб, тому перейдемо до екстракції в лабораторних умовах.

S. commune вирощували на чашках Петрі, що містили крохмаль картопляний 4г, декстроза 20г, агар 15г, H₂O 1000мл (далі PDA) та інкубували протягом 10 днів.

Після цього періоду цей ендоефіт культивували в невеликих масштабах у 2 колбах Ерленмейера (500 мл), що містили 300 мл кожного рідкого середовища, і їх автоклавували при 121°C протягом 20 хвилин. *S. commune* культивували в різних рідких культуральних середовищах при перемішуванні при 120 об/хв протягом 28 днів при 25°C.

Наприкінці інкубаційного періоду бульйон відокремлювали від міцелію фільтрацією, а неочищені екстракти отримували екстракцією EtOAc і сушили в роторному випарнику, одержуючи 49,2, 54,0, 26,7, 26,5 і 38,2 мг відповідно. Культивування проводили на твердому середовищі: рис і кукурудзу інокулюють у 2 колби Ерленмейера (по 500 мл кожна), що містять: 90г рису або кукурудзи в 75мл H₂O. Культуральні середовища тричі автоклавують (три дні поспіль) при 121°C протягом 20 хв.

Культури інкубували при 25 ± 2°C протягом 21 дня.

Наприкінці періоду росту тверді культури подрібнювали та екстрагували EtOAc (5×200 мл). Фракцію EtOAc піддавали розподілу з H₂O. Концентрований екстракт EtOAc розчиняли в CH₃CN і потім піддавали розподілу з C₆H₁₄.

Shizophyllum commune інокулював у 52 колби Ерленмейєра по 500 мл (великий масштаб), кожна з яких містила: 1,2 г картопляного крохмалю, 6,0 г декстрази (PDB) у 300 мл H₂O, які були автоклавовані при 121°C протягом 20 хв. Приблизно 5 невеликих шматочків (1x1 см) середовища PDA з чашки Петрі, що містить виділену біомасу *S. commune*, посіяли в колби Ерленмейєра, запечатані ватою, щоб забезпечити аеробне зростання, та інкубували при 25±2°C протягом 28 днів.

Після закінчення інкубаційного періоду культури об'єднували, фільтрували, екстрагували EtOAc (3x0,5л). Розчинник випарювали, отримуючи неочищений екстракт EtOAc (960 мг).

Екстракт EtOAc (960,0мг) фракціонували з використанням силікагелю з оберненою фазою і градієнту $H_2O:CH_3OH$ (15:100% CH_3OH) в результаті чого одержали вісім частки (*S.co* -F1- *S.co* -F8). Фракцію *S.co* -F1 (559,0 мг) далі фракціонували за допомогою силікагелю з оберненою фазою і елюювали градієнтом $H_2O:CH_3OH$ (35:100% CH_3OH , що дало початок семи субфракціям (*S.co*- F1.1- *S.co* -F1.7. Субфракція *S.co* -F1.1 (470,0мг) була фракціонована з використанням обернено-фазового силікагелю і $H_2O:CH_3OH$ (5:100% CH_3OH), утворюючи сімнадцять фракцій (*S.co* -F1.1.1- *S.co* -F1.1.17). *S.co* -F1.1.2 ідентифікували як цикло (16,0 мг). H_2O (05:95-50:50 в/в, 30'; 50:50-100:0 (в/в), 10'; 100:0-05:95 (в/в), 15'; 1 мл xv^{-1} e $\lambda=220$ нм, колонка C-18) і було ідентифіковано як *cyclo*(L-Pro-L-Val) (Рис.3.27), *Rel.cyclo* (Pro-Phe) (Рис.3.28) та *Rel.cyclo* (Pro-Ile) (2,0 мг) у суміші. % CH_3OH (об'єм/об'єм) з 1 % HOAc), утворюючи п'ятдесят п'ять фракцій (*S.co* -F1.1.1.1- *S.co* -F1.1.1.55). Підфракцію *S.co* -F1.1.1.46 виділяли як сполуку урацилу(1,5 мг), а *S.co* -F1.1.1.38 ідентифікували в суміші як цикло(Pro-Тур) (Рис.3.25) з *p*-гідроксибензойна кислота (2,2 мг).

Екстракт AcOEt *S. commune* (PDB і кукурудза) дав сполуки (Рис. 3.27- 3.30) за допомогою комбінації хроматографії з оберненою (C-18) і нормальною фазою (силікагель). Аналіз дозволив з'ясувати та ідентифікувати чисті речовини або суміші.

Відомі сполуки цикло(L-Pro-L-Val) (Рис.3.27), урацил, цикло(Pro-Тур) (Рис.3.28), *p*-гідроксибензойна кислота, *Rel.cyclo* (Pro-Phe) (Рис.3.26), *Rel.cyclo* (Pro-Ile) (Рис.3.27), N-(2-фенілетил)ацетамід (Рис.3.28) і N-(4-гідроксифенілетил)ацетамід (Рис.3.28) були ідентифіковані шляхом порівняння його спектроскопічних даних з літературними значеннями 23, 28-33. Спектрометричні дані культурального середовища без *S. commune* порівнювали зі спектрами сполуки і не показали подібності.

Речовина 7 з Рис 3.28 показала низький потенціал інгібування ферменту ацетилхолінестерази та сильну активність проти *C. cladosporioides*. Речовина 8 з Рис.3.27 показала помірний потенціал інгібування ферменту ацетилхолінестерази та слабку активність проти *C. cladosporioides* і *C. sphaerospermum*.

Неочищені екстракти показали багатообіцяючі результати для біологічних аналізів як антиоксиданту, виділивши екстракт зі значним рівнем секвестрації DPPH[•] 68,36% та IC₅₀ = 28,7 мкг/мл порівняно з IC₅₀ = 7,49 мкг/мл стандартного кверцетину. Більшість цих екстрактів виявили сильну протигрибкову дію проти фітопатогенних грибів *C. cladosporioides* і *C. sphaerospermum*. Неочищені екстракти показали помірну інгібіторну активність AChE.

Дикетопіперазини з Рис.3.24, Рис.3.25, Рис.3.26 та Рис.3.27 були виявлені в екстракті PDB (у дрібному масштабі) за допомогою MS. Неочищені екстракти, отримані з YM, Nutrient і Malt, були піддані аналізу MS-MS і показали наявність дикетопіперазинів Рис 3.27, Рис.3.26 і Рис.3.27. Аналіз сирих екстрактів методом прямого введення (ID) показав наявність протонованих дикетопіперазинів та їх фрагментів у п'яти сирих екстрактах за допомогою експерименту, що підтверджує характеристику фрагментації дикетопіперазинів, виділених або ідентифікованих у суміші.

cyclo(L-Pro-L-Val) (1)

ESIMS m/z 197.0 [M+H]⁺ and fragments: 169.0

[M+H-28]⁺, 124.5 [M+H-73]⁺, 70.0 [M+H-127]⁺.

Рис.3.24.- Виявлення сполуки -

цикло-L-пролін-L-валінового дикетопіперазину

cyclo(L-Pro-L-Tyr) (3)

ESIMS m/z 261.3 [M+H]⁺ and fragments: 233.0

[M+H-28]⁺, 121.0 [M+H-140]⁺, 136.0 [M+H-125]⁺, 70.3 [M+H-191]⁺.

Рис.3.25.-Виявлена сполука цикло

(Pro-Tyr) із класу дикетопіперазинів: структурні характеристики та потенційні біологічні властивості

Rel.cyclo(Pro-Phe) (5)

ESIMS m/z 245.5 $[M+H]^+$ and fragments: 217.0

$[M+H-28]^+$, 154.1 $[M+H-90]^+$, 70.0 $[M+H-175]^+$.

Рис.3.26.–Виявлена сполука

Rel.cyclo (Pro-Phe) із класу дикетопіперазинів: структурні особливості та потенційні біологічні властивості

Rel.cyclo(Pro-Ile) (6)

ESIMS m/z 211.5 $[M+H]^+$ and fragments: 183.0

$[M+H-28]^+$, 137.8 $[M+H-73]^+$, 114.1 $[M+H-97]^+$,

69.6 $[M+H-141]^+$.

Рис.3.27.– Виявлена сполука *Rel.cyclo*

(Pro-Ile) із класу дикетопіперазинів: структурні особливості та потенційна біологічна активність"

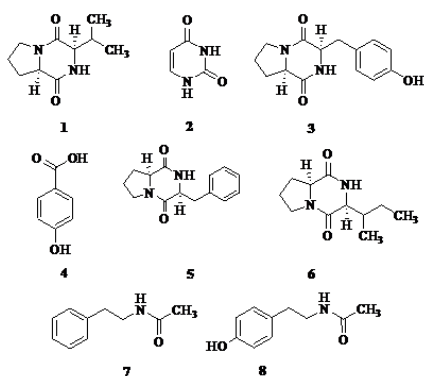


Рисунок 3.28.- Біоактивні сполуки, що

продукуються ендофітним грибом *Schizophyllum commune*: характеристики та потенційні фармакологічні властивості

У сирих екстрактах Чапека, рису (CH_3CN) і кукурудзи (CH_3CN) (невеликий масштаб) дикетопіперазини не були виявлені, що свідчить про те, що ферменти, відповідальні за біосинтез цих сполук, не експресуються *S.commune*. Завдяки цим спостереженням вдалося підтвердити, що культуральне середовище впливає на метаболічну продукцію мікроорганізмів. Це дослідження було розроблено як найбільш повне дослідження хімічних складових *S.commune*. Це перше повідомлення про ідентифікацію та виділення дикетопіперазинів, арилетиламідів, *p*-гідроксибензойної кислоти в ендофітному грибі роду *Schizophyllum*.

Дикетопиперазини спостерігали за допомогою мас-спектрометрії в різних сирих екстрактах у малому масштабі та у великому масштабі PDB, що вказує на те, що цей ендofіт є продуктивним продуцентом класу сполук шляхом варіювання поживних речовин культурального середовища. Біологічна активність, про яку повідомляють сполуки, які виробляє *S. commune*, передбачає екологічну взаємодію, а також захист рослин як захисний механізм інших організмів, які населяють види рослин.

Ці результати підсилюють потенціал цих мікроорганізмів як джерел вторинних метаболітів і співпраці з розумінням ендofітної взаємодії та рослини-господаря.

Перші спроби співвіднести варіації смуг, визначених як частоти розтягування карбоніла в інфрачервоній області для комплексів іонів твердих металів, з константами стабільності цих самих комплексів у розчині відносяться до початку 1950-х років.

3.3. Обґрунтування вибору лікарської форми, допоміжних речовин.

Вибір лікарської форми (Табл.3.8) і допоміжних речовин (Табл.3.9) є критично важливими аспектами у розробці будь-якого фармацевтичного продукту. В даному випадку, для шизофілану з гриба *Shizophyllum commune*, вибір гелю як лікарської форми має кілька переваг, а також обґрунтування використання певних допоміжних речовин. Вибір лікарської форми: Гель.

Таблиця.3.8. - Характеристика лікарської форми гелю, узятото з гриба *Shizophyllum commune*- шизофілан

Біодоступність: Гелі забезпечують високу біодоступність активних інгредієнтів завдяки їх здатності проникати через шкіру. Це особливо важливо для шизофілану, який має імуномодуючі та протизапальні властивості.

Зручність у використанні: Гелі легко наносити на шкіру, вони швидко всмоктуються і не залишають жирних слідів. Це підвищує комфорт для пацієнта та покращує дотримання режиму лікування.
Стабільність: Гель є стабільною формою для зберігання активних інгредієнтів, що захищає їх від деградації під впливом навколишнього середовища.
Контрольована доставка: Гелі дозволяють точно контролювати дозу активної речовини, що наноситься на шкіру, забезпечуючи рівномірний розподіл по поверхні.

Таблиця 3.9. - Вибір допоміжних речовин для лікарської форми гелю, узятого з гриба *Shizophyllum commune*- шизофіллан

1. Поліетиленгліколь (PEG) 400 і 1500:
Зволожуючі властивості: PEG забезпечує зволоження шкіри, що покращує проникність активних інгредієнтів.
Стабільність: PEG допомагає стабілізувати структуру гелю, забезпечуючи його однорідність і довготривалу стабільність.
2. Метилпарабен і пропілпарабен:
Консерванти: Ці речовини запобігають росту мікроорганізмів, що важливо для тривалого зберігання гелю та збереження його якості.
3. Пропіленгліколь:
Зволожуючий агент: Пропіленгліколь покращує зволожуючі властивості гелю і сприяє проникненню активних речовин через шкіру.

Продовження таблиці 3.9. - Вибір допоміжних речовин для лікарської форми гелю, узятого з гриба *Shizophyllum commune*- шизофіллан

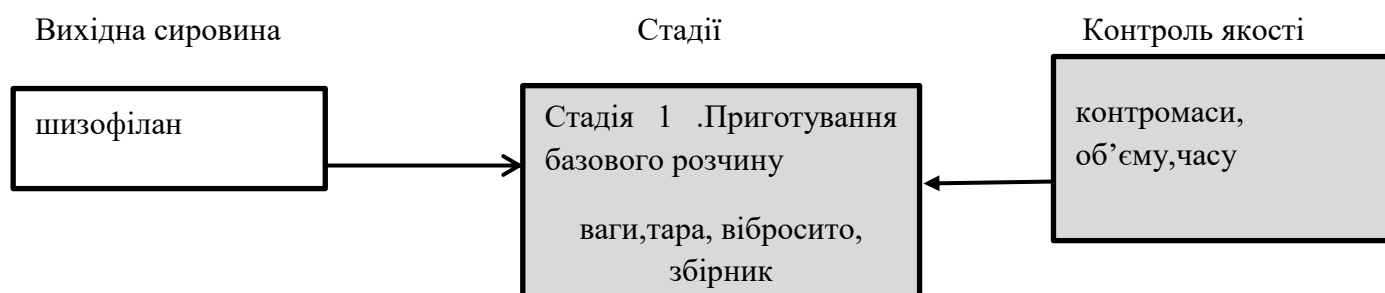
4. Вітамін Е:

○ Антиоксидант: Вітамін Е захищає активні інгредієнти від окислення, забезпечуючи стабільність гелю.
○ Лікувальні властивості: Вітамін Е має протизапальні властивості і сприяє загоєнню шкіри.
4. Масло чайного дерева:
○ Антисептик: Масло чайного дерева має потужні антисептичні та протизапальні властивості, що підсилює терапевтичний ефект гелю.

Переваги вибору допоміжних речовин

Використання зазначених допоміжних речовин у складі гелю забезпечує не лише стабільність і ефективність препарату, але й покращує його споживчі властивості. Зволожуючі агенти, такі як PEG і пропіленгліколь, забезпечують комфорт при нанесенні гелю на шкіру, тоді як консерванти гарантують безпеку під час зберігання. Вітамін Е і масло чайного дерева підсилюють лікувальні властивості гелю, надаючи додаткові терапевтичні ефекти. Таким чином, вибір лікарської форми гелю та допоміжних речовин для виробництва продукту на основі шизофілану з гриба *Shizophyllum commune* є обґрунтованим і базується на оптимальних фармацевтичних, терапевтичних і споживчих властивостях.

3.4. Технологічна схема виробництва гелю



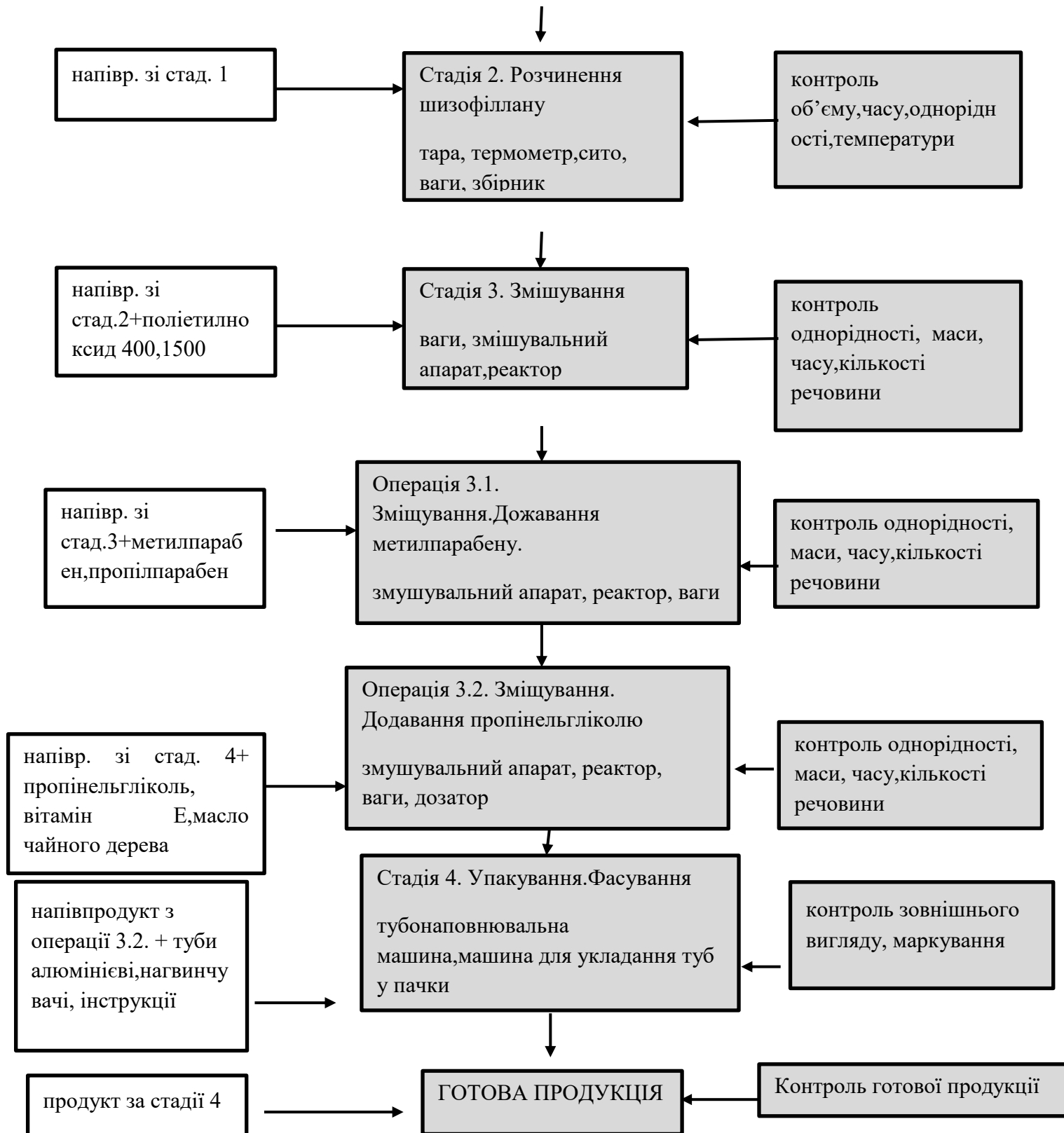


Рис. 3.29.- Технологічна схема виробництва гелю на основі шизофілану: ключові етапи процесу та обладнання, що забезпечують формування гелевої структури з оптимальними фізико-хімічними, антимікробними та антиоксидантними властивостями

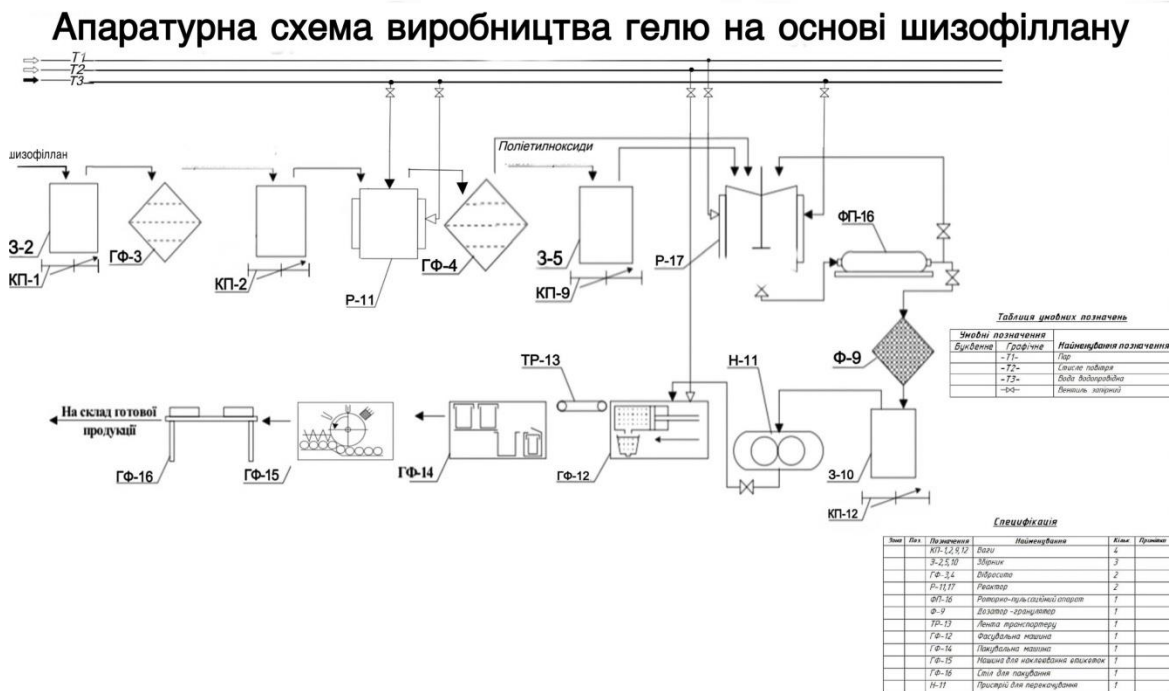


Рис.3.30. - Апаратурна схема технологічного процесу виробництва гелю на основі шизофіллану: послідовність стадій і обладнання, що використовуються для створення гелевої основи з антимікробними та антиоксидантними властивостями

3.5. Опис технологічного процесу

Таблиця. 3.10. - Установки у виробництві гелю

Індекс та номер за схемою	Найменування	Кількість одиниць	Матеріал робочої зони,	Технічна характеристика	Реєстрац. номер В-н
1	2	3	4	5	6

Продовження таблиці 3.10.- Установки у виробництві гелю

1	2	3	4	5	6
«КП»1	Ваги медичні (Автоматичні	1	Сталь Ст3,	Високопродуктивна автоматична система	В

	ваги "CWEmaxx")		чавун СЧ 18	вимірювання ваги від Bizerba. Вони забезпечують швидке та точне вимірювання ваги продуктів, що проходять через них, та можуть бути використані в багатьох галузях, включаючи продуктову та фармацевтичну промисловості. Технічні характеристики "CWEmaxx": • Максимальна вага: до 150 кг • Робоча температура: від 0 до 40°C • Живлення: 100-240 В АС, 50/60Гц • Споживана потужність: 20 Вт • Клас захисту: IP33 • Розміри: 280 x 750 x 700 мм • Вага: близько 40 кг	
«КП»2	Ваги торгові важільні настільна("CAS SW")	1	н/сталь 12X18Н1 0Т	CAS Corporation - є виробником	В

Продовження таблиці 3.10. -Установки у виробництві гелю

1	2	3	4	5	6
				настільної ваги "CAS	

				SW".Технічні характеристики ваги CAS SW: • Точність: 1 грам • Максимальна вага: 30 кг • Два дисплеї: один для покупця, другий для продавця • Захист від перевантажень • Можливість підключення до ПК або касового апарату • Матеріали: нержавіюча сталь та пластик. не потребує підключення до мережі електропостачання	
«ГФ»3,4	Вібросито("Russell Compact Sieve")	2	н/стал Ь 12X18 H10T	ГОСТ 4403-91.Виробник "Russell Compact Sieve" - компанія Russell Finex. Технічні характеристики:	В

Продовження таблиці 3.10. - Установки у виробництві гелю

1	2	3	4	5	6
---	---	---	---	---	---

				• Продуктивність: залежить від конкретної моделі, від 10 до 20 тонн на годину; • Потужність: від 0,25 кВт до 2,25 кВт; • Робочий об'єм: від 10 л до 1200 л, залежно від моделі; Час даного обладнання: 1-2 год.	
«СШ»7	Сушильна шафа("Binder FD115")	1	н/сталь 12X18H 10T	Виробляється німецькою компанією Binder GmbH. Обладнання виготовлене з нержавіючої сталі та має ізольовану внутрішню камеру, що дозволяє зберігати температуру і запобігати витоку тепла. Технічні характеристики: • Максимальна температура: 300°C • Об'єм камери: 115 літрів • Потужність: 2.6 кВт • Робочий тиск: 0.1 МПа Робочий час: до 999 годин	ВВ
«КП»9	Ваги торгові важільні настільна("CAS SW")	1	н/сталь 12X18H 10T	CAS Corporation - є виробником настільної ваги "CAS SW".	В

Продовження таблиці 3.10.- Установки у виробництві гелю

1	2	3	4	5	6
---	---	---	---	---	---

				Технічні характеристики ваги CAS SW: • Точність: 1 грам • Максимальна вага: 30 кг • Два дисплеї: один для покупця, другий для продавця • Захист від перевантажень • Можливість підключення до ПК або касового апарату • Матеріали: нержавіюча сталь та пластик. не потребує підключення до мережі електропостачання	
«Р»11, 17	Реактор	2	Сталь 08,Ст3, Емаль/ скло та сталь з покриттям з флюорополімерів	Виробництва компанії De Dietrich. Робочий об'єм - 100 літрів, максимальний тиск - 6 бар, максимальна температура - 180 градусів Цельсія. Потужність - 2 кВт. Час роботи - до 8 годин на цикл. Реєстраційний номер - 789012.	В

Продовження таблиці 3.10. - Установки у виробництві гелю

1	2	3	4	5	6
«ФП» 16	Роторно-пульсаційний апарат(Lödige KM series)	1	н/сталь 12X18H10T	Роторно-пульсаційного екстрактора - компанія "Heidolph". Цей апарат складається з верхньої та нижньої частин, які з'єднані між собою ротором. • Продуктивність: від 50 л до 200 літрів • Потужність: 3 кВт • Температурний діапазон: від -20 градусів до 150 градусів Цельсія • Робочий тиск: до 10 бар • Час екстракції: 2 год.	ВВ
«Ф»9	Дозатор-гранулятор(I-FEEDER)	1	н/сталь 12X18H10T	Дозатор-гранулятор I-FEEDER виробництва компанії LABOR SAVE. Матеріал - нержавіюча сталь. Максимальна продуктивність - до 300 кг/год. Потужність - 1.1 кВт. Робочий об'єм - 100 літрів. Час роботи - до 2 годин на цикл.	ВВ

Продовження таблиці 3.10. - Установки у виробництві гелю

1	2	3	4	5	6
«З»2,5, 10	Збірник (Silverson L5 Series High Shear Mixer")	3	н/сталь 12X18H10T	Виробник: Silverson Machines Матеріал: нержавіюча сталь Об'єм: від 1 л до 12 000 л Потужність: від 0,18 кВт до 75 кВт Робочий тиск: до 0,7 бар Робоча температура: до 200 °C Час мішання: до 60 хв.	В
«ГФ»1 2	Фасувальна машина (Spee-Dee Revolution Series.)	1	н/сталь 12X18H10T	Фасувальна машина для кремування і змащення - виробник - Spee-Dee Packaging Machinery, матеріал - нержавіюча сталь, технічні характеристики: продуктивність - до 200 туб за хвилину, потужність - 3,5 кВт, робочий об'єм - від 20 г до 5 кг.	ВВ
«ГФ»1 4	Пакувальна машина (Bosch Packaging Technology)	1	н/сталь 12X18H10T	Виробник: Bosch Packaging Technology, матеріал: нержавіюча сталь, Продуктивність: до 150 упаковок за хвилину. Потужність: 3 кВт Робочий об'єм: від 5 г до 100 г Розмір упаковки: від 40 мм х 40 мм х 80 мм до 160 мм х 110 мм х 240 мм	В

Установка "Master Plant".

Промислова багатофункціональна установка (Рис.3.31) "Master Plant" використовується в фармацевтичній промисловості для виготовлення різних препаратів, включаючи гель. Ця установка забезпечує повний цикл виробництва, включаючи змішування, змалювання, сушіння та інші процеси, які необхідні для виготовлення препаратів.



Рисунок.3.31.-Багатофункціональна установка Master Plant для виробничих процесів

"Master Plant" є високотехнологічною системою, яка забезпечує точність та стабільність процесів виробництва. Установка може бути налаштована під конкретні вимоги виробництва та готова до роботи з різними типами сировини та рецептурами. Крім того, "Master Plant" має високу продуктивність та може працювати у режимі 24/7, що дозволяє забезпечувати потреби великих обсягів виробництва.

Отже, установка "Master Plant" є ефективним та надійним засобом для виробництва гелю та інших препаратів в фармацевтичній промисловості.

Установка "Master Plant" є досить новим обладнанням у фармацевтичній промисловості, і зараз вона не є широко використовуваною в Україні для виготовлення різних препаратів.

Проте, вона має великий потенціал для виготовлення фармацевтичних препаратів, у тому числі мазі ністатинової, завдяки своїм особливостям. Установа "Master Plant" забезпечує проведення всіх необхідних процесів виготовлення в одному пристрої, що дозволяє зменшити витрати на обладнання та енергоресурси, а також скоротити час виготовлення продукту.

За допомогою установки "Master Plant" можливо проводити різноманітні операції, такі як дозування, змішування, змелювання та розчинення компонентів, стерилізація, фільтрація та інше. Крім того, установка може працювати в автоматичному режимі, що дозволяє забезпечити стабільність та точність процесів виготовлення.

В Україні зараз установку "Master Plant" використовують декілька великих фармацевтичних підприємств для виробництва різноманітних фармацевтичних препаратів, проте наразі не відомо, чи використовують її для виготовлення мазей, в нашому випадку гелів.

Обладнання фармацевтичного заводу БХФЗ.

Багатофункціональна установка, яку використовує фармацевтичний завод для виготовлення мазей та гелів, називається "МФУ-125". Ця установка є високопродуктивною та ефективною, що дозволяє виготовляти великі обсяги мазі за короткий час.

Установка "МФУ-125" складається з ряду модульних блоків, які дозволяють проводити різноманітні процеси виготовлення мазі: від розчинення та змішування речовин до фільтрації та наливання готової продукції в контейнери. Кожен блок має свою функціональність та може працювати як самостійна одиниця, що забезпечує гнучкість та швидкість роботи установки.

Одним із головних переваг установки є можливість проводити виробничі процеси з мінімальною участю людей, що зменшує ризики контамінації та помилок під час виготовлення мазі. Крім того, установка "МФУ-125" відповідає вимогам ГМП (доброї виробничої практики), що забезпечує високу якість та безпеку продукту.

Завдяки використанню багатофункціональної установки "МФУ-125", фармацевтичний завод може швидко та ефективно виробляти якісні мазі та гелі, що задовольняє потреби ринку та споживачів.

Для виробництва мазі та гелю використовуються різні обладнання, включаючи промислові млини, реактори, змішувачі та багатофункціональні установки. Одним з головних обладнань є багатофункціональна установка "Master Plant", яка забезпечує автоматизований процес виготовлення мазі від розчинення активних інгредієнтів до запакування готової продукції.

Крім того, на заводі використовуються високоякісні матеріали та сировини, які поставляються від провідних виробників з усього світу. Завдяки цьому може забезпечити високу якість та безпеку своїх продуктів.

Завод також працює згідно з вимогами міжнародних стандартів якості та безпеки, таких як GMP (Good Manufacturing Practice) та ISO (International Organization for Standardization). Це забезпечує високу якість та надійність продукції, що виробляється на заводі.

Упакована мазь потім може бути маркована з використанням промислових маркувальних машин, які друкують на упаковці інформацію про назву продукту, дозування, термін придатності, серійний номер тощо. Маркувальні машини можуть використовувати різноманітні технології друку, включаючи термічний друк, лазерний друк та струменевий друк.

Omega-15PL



Рисунок 3.32. - Установка Omega-15PL для наповнення туб

Напівавтоматична тубонаповнювальна машина для наповнення та запаювання пластикових та ламінатних туб, виготовлена спеціально для роботи в косметичній, фармацевтичній, хімічній та харчовій промисловості. Тубонаповнювальна машина може наповнювати густі, в'язкі, тягучі та рідкі продукти. Omega-15PL (Рис.3.32) оснащується робочим столом на 9 станцій із автоматичним поворотом. Це дозволяє підвищити продуктивність та зручність роботи.

Модель Omega-15PL ідеально підходить для пакування невеликих та середніх партій пластикових та ламінатних туб та за необхідності частої зміни форматів у процесі роботи. Надзвичайно легка зміна форматів дозволяє переходити з одного розміру та типу туб на інший за хвилини. Машина легка у роботі та обслуговуванні навіть для малокваліфікованого персоналу.

Delta-100 - Автоматична картонажна машина



Рисунок 3.33. - Автоматична пакувальна машина Delta-100 для фасування в туби

Автоматична картонажна машина Модель Delta-100 призначена (залежно від комплектації) для автоматичного вкладання та пакування туб, пляшок, таблеток у картонні коробки.

Картонжна машина Delta-100 (Рис.3.33) застосовується в косметичній, фармацевтичній, харчовій, кондитерській промисловості тощо для індивідуального пакування продукції в попередньо склеєні коробки. Може працювати індивідуально або у складі лінії.

3.6. Валідація технологічного процесу виробництва гелю.

Валідація — це систематичний процес документального підтвердження того, що конкретний метод, процес або система в межах певних параметрів фактично виконує функції або дає результати, які задовольняють встановленим вимогам. У фармацевтичному виробництві валідація є невід'ємною частиною забезпечення якості продукції та відповідності нормативним вимогам [21, 26].

Валідація (англ. validation) — це збір та оцінка даних, що починається на стадії розробки та продовжується на етапі серійного виробництва, які гарантують здатність всіх технологічних процесів (у т.ч. устаткування, приміщень, персоналу, сировини та матеріалів) постійно і стабільно досягати очікуваних результатів, тобто це документоване підтвердження того, що система працює так, як і передбачалося (термін наведено відповідно до настанови з валідації виробничих процесів GMP ВООЗ). В. поглиблює розуміння процесів, дає можливість пошуку шляхів їх оптимізації, знижує ризик виникнення ускладнень, ризик витрат внаслідок випуску дефектної (невідповідної) продукції, сприяє зменшенню обсягів випробувань у процесі виробництва як напівпродуктів, так і готової продукції. GMP ЄС та настанова 42–01–2001 «Лікарські засоби. Належна виробнича практика» визначають В. як дії, які відповідно до принципів належної виробничої практики доводять, що будь-яка методика,

процес, устаткування, діяльність або система справді приводять до очікуваних результатів. Цей термін дуже тісно пов'язаний з поняттям «кваліфікація» (qualification), під яким розуміють дії, що засвідчують — конкретне устаткування працює правильно і справді дає очікувані результати. Термін «Валідація» є більш широким та іноді включає поняття «кваліфікація» (атестація), різновиди якої наведено у додатку «М» Настанови 42-01-2001— кваліфікація: проекту, монтажу, функціонування, експлуатаційних якостей, встановлених технічних засобів, систем і устаткування. Кваліфікація проекту — DQ (design qualification) — документоване підтвердження придатності пропонованого проекту технічних засобів, систем та устаткування для їх передбачуваного використання відповідно до вимог GMP. Кваліфікація монтажу (установки)—IQ (installation qualification) — документоване підтвердження того, що технічні засоби, системи та устаткування було змонтовано або модифіковано відповідно до затвердженого проекту та рекомендацій виробника. Кваліфікація функціонування — OQ (operational qualification) — документоване підтвердження того, що технічні засоби, системи та устаткування, які було змонтовано або модифіковано, функціонують належним чином протягом усіх заданих робочих діапазонів відповідно до проектної документації.

Валідація технологічного процесу виробництва гелю

Валідація технологічного процесу виробництва гелю на основі шизофіллану з гриба *Shizophyllum commune* є критично важливим етапом для забезпечення стабільності, ефективності та безпеки кінцевого продукту. Вона включає кілька ключових аспектів: валідацію обладнання, методів аналітичного контролю, виробничих процесів і кінцевого продукту.

1. Валідація обладнання

Перше, що слід зробити, — це забезпечити, що все використовуване обладнання працює належним чином і відповідає вимогам процесу. Це включає:

- Кваліфікація установки (IQ): Документальне підтвердження того, що обладнання встановлено відповідно до специфікацій виробника і проектних вимог.
- Кваліфікація експлуатації (OQ): Перевірка та документування того, що обладнання функціонує відповідно до його експлуатаційних параметрів у межах специфікацій.
- Кваліфікація продуктивності (PQ): Перевірка та документування того, що обладнання стабільно працює і виробляє продукцію належної якості під реальними виробничими умовами.

2. Валідація методів аналітичного контролю

Аналітичні методи, що використовуються для контролю якості на різних стадіях виробництва, також повинні бути валідовані. Це включає перевірку точності, специфічності, лінійності, діапазону, відтворюваності та надійності методів, які застосовуються для аналізу вихідної сировини, напівпродуктів і готового гелю.

3. Валідація виробничих процесів

Цей етап включає документування і підтвердження того, що всі стадії виробництва гелю відповідають встановленим стандартам і що продукт, отриманий на кожній стадії, є стабільним і відповідає вимогам якості. Основні кроки:

- Підготовка базового розчину: Валідація процесу підготовки вихідної сировини та приготування розчину

шизофіллану, включаючи контроль ваги, чистоти сировини та однорідності отриманого розчину.

- Розчинення шизофіллану: Перевірка умов розчинення, таких як температура, час і швидкість перемішування, для забезпечення повного і однорідного розчинення полісахариду.
- Змішування з поліетиленгліколем: Валідація параметрів змішування для досягнення однорідної суміші, контроль співвідношення компонентів, умов температури та часу змішування.
- Додавання допоміжних речовин: Перевірка точності дозування та рівномірного розподілу метилпарабену, пропілпарабену, пропіленгліколю, вітаміну Е та масла чайного дерева в готовому продукті.
- Упаковка та фасування: Валідація процесів наповнення, запаювання, маркування та укладки туб для забезпечення цілісності упаковки і правильності маркування.

4. Валідація кінцевого продукту

Цей етап включає перевірку готового гелю на відповідність встановленим специфікаціям якості, таким як однорідність, в'язкість, стабільність, стерильність (за необхідності) та відсутність механічних домішок. Тестування кінцевого продукту також включає перевірку його терапевтичної ефективності та безпеки.

Документування валідації

Процес валідації повинен бути ретельно задокументований. Основні документи включають:

- План валідації: Документ, що описує стратегію валідації, визначає етапи, методи і критерії прийняття для кожної стадії процесу.
- Протоколи валідації: Описують конкретні тести та процедури, що будуть виконуватися для підтвердження валідації кожного етапу.
- Звіти про валідацію: Документують результати валідаційних тестів, включаючи будь-які відхилення і коригуючі дії, що були вжиті.

Висновок

Валідація технологічного процесу виробництва гелю на основі шизофіллану з гриба *Shizophyllum commune* є критичним елементом для забезпечення якості, безпеки та ефективності кінцевого продукту. Вона включає всебічне тестування та підтвердження кожного аспекту виробничого процесу, від підготовки сировини до кінцевого продукту. Це не тільки гарантує відповідність продукту встановленим стандартам, але й сприяє підвищенню довіри споживачів і регуляторних органів до якості продукції.

ВИСНОВОК ДО РОЗДІЛУ 3

Ранозагоювальний гель на основі шизофіллану є інноваційним засобом, розробленим для ефективного лікування ран та стимуляції регенераційних процесів шкіри. Основною метою його використання є прискорення загоєння, зменшення ризику інфекцій та мінімізація утворення рубців. Завдяки своїм унікальним властивостям, шизофіллан забезпечує антимікробну дію, захищаючи пошкоджені тканини від патогенів, і сприяє швидкому відновленню епітелію за рахунок стимуляції клітинного росту та регенерації.

Процес створення (Рис.3.23, 3.29-3.30) цього гелю включає кілька критичних етапів, починаючи від екстракції та очищення шизофіллану з базидіоміцетного гриба *Shizophyllum commune*, що забезпечує високу чистоту та активність полісахариду. Далі шизофіллан розчиняється у воді, і в результаті створення певних умов, таких як зміна температури або додавання іонів, відбувається зшивання молекул, що призводить до утворення стабільного гелю. Важливою частиною процесу є також оцінка реологічних властивостей гелю за допомогою реометричних методів, які дозволяють визначити його в'язкість, пружність та стабільність, а також морфологічний аналіз гелевої структури за допомогою мікроскопії, що гарантує однорідність і якість кінцевого продукту.

Таким чином, ранозагоювальний гель на основі шизофіллану є результатом ретельно продуманого технологічного процесу (Рис.3.29), який забезпечує високу ефективність і безпеку засобу. Його застосування відкриває нові можливості в лікуванні ран, особливо в умовах, коли необхідна висока антимікробна активність та підтримка природних процесів регенерації.

ВИСНОВКИ

Рановий процес є складним комплексом біохімічних реакцій організму, що спрямовані на загоєння пошкоджених тканин. Важливу роль у терапії цього процесу відіграє місцеве лікування, зокрема із використанням гелів, що забезпечують сприятливі умови для регенерації та захисту ран. Основою сучасної фармакотерапії ранового процесу є зменшення запальної реакції, забезпечення антимікробного захисту та стимуляція відновлення пошкоджених тканин. Відповідно, стратегія створення гелю з широким спектром дії, який поєднує в собі ці ключові аспекти, є пріоритетною на фармацевтичному ринку.

У магістерській роботі теоретично і практично обґрунтовано та вирішено наукове завдання щодо покращення результатів лікування ран шляхом місцевого застосування гелю, основним активним компонентом якого є шизофіллан, полісахарид, виділений з базидіоміцетного гриба *Shizophyllum commune*. Завдяки багатогранним властивостям шизофіллону, включно з його антимікробною активністю та здатністю стимулювати регенераційні процеси, рановий процес відбувається більш ефективно та швидко.

В рамках роботи було досліджено хімічний склад та фармакологічну дію шизофіллону як біологічно активної речовини, що міститься у грибах *Shizophyllum commune*. Проведено теоретичний аналіз застосування препаратів на основі полісахаридів з метою розробки ефективного ранозагоювального засобу.

Обґрунтовано теоретичні аспекти виробництва гелю (Табл. 3.10) з шизофілланом, включно зі складом і технологією його виготовлення. Було оформлено та розроблено теоретичні схеми виготовлення екстракту з гриба *Shizophyllum commune* та розроблена технологічна й апаратурна схеми виготовлення ранозагоювального гелю на основі шизофіллону, що було продемонстровано на Рис. 3.23, 3.29-3.30 та Табл. 3.10, де охарактеризовано кожен апарат або обладнання до усіх процесів. Проаналізовано всі стадії технологічного процесу (Рис. 3.29) отримання гелю в умовах фармацевтичного виробництва (Рис. 3.29 та Табл. 3.10), що забезпечує високі стандарти якості кінцевого продукту.

У результаті проведених досліджень розроблено науково обґрунтовану та практично реалізовану технологію виробництва ранозагоювального гелю на основі шизофіллону, яка сприятиме покращенню лікування ран завдяки його широкому спектру дії та високій ефективності.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Калинець-Мамчур, З. (2011). Словник-довідник з альгології та мікології. Львів: ЛНУ ім. І. Франка. 217 с.
2. Garcia, J., Rodrigues, F., Saavedra, M. J., Nunes, F. M., & Marques, G. (2022). Bioactive polysaccharides from medicinal mushrooms: A review on their isolation, structural characteristics and antitumor activity. Food Bioscience. с. 1-3 URL: <https://Www.Publish0x.Com/Nature-Animals-Plants-Mushrooms/Schizophyllum-Commune-Medicinal-Mushroom-With-Anti-Cancer-Pr-Xmkpgle> (дата звернення: 07.07.2024).
3. Clinical evaluation of schizophyllan combined with irradiation in patients with cervical cancer: a randomized controlled study / K. Okamura та ін. Cancer. 1986. Т. 58, № 4. С. 865–872. URL: [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19860815\)58:4%3C865::aid-cnrcr2820580411%3E3.0.co;2-s](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19860815)58:4%3C865::aid-cnrcr2820580411%3E3.0.co;2-s) (дата звернення: 25.10.2024).
4. Zhang, Y., Kong, H., Fang, Y., Nishinari, K., & Phillips, G. O. (2013). Schizophyllan: A review on its structure, properties, bioactivities and recent developments. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 1(1), с. 53-71.
5. Bae, A. H., Numata, M., Hasegawa, T., Li, C., Kaneko, K., Sakurai, K., & Shinkai, S. (2005). 1D arrangement of Au nanoparticles by the helical structure of schizophyllan: a unique encounter of a natural product with inorganic compounds. Angewandte Chemie International Edition, 44(13), 2030-2033.
6. Chen, H., Liu, N., He, F., Liu, Q., & Xu, X. (2022). Specific β -glucans in chain conformations and their biological functions. Polymer Journal, 54(4), с. 427-453.
7. Panda, S. K., Sahoo, G., Swain, S. S., & Luyten, W. (2022). Anticancer activities of mushrooms: a neglected source for drug discovery. Pharmaceuticals, 15(2), с. 176.

8. Kumar, P., Rai, S., Verma, S. K., Prakash, P. S., & Chitara, D. (2022). Classification, mode of action and uses of various immunomodulators. In *Immunomodulators and human health* (pp. 3-38). Singapore: Springer Nature Singapore.
9. Verma, S. K., Prakash, P. S., & Chitara, D. (2022). Classification, mode of action and uses of various immunomodulators. In *Immunomodulators and human health* (pp. 3-38). Singapore: Springer Nature Singapore.
10. Sivanesan, I., Muthu, M., Gopal, J., & Oh, J. W. (2022). Mushroom polysaccharide-assisted anticarcinogenic mycotherapy: Reviewing its clinical trials. *Molecules*, 27(13), c. 4090.
11. Nandi, S., Sikder, R., Rapior, S., Arnould, S., Simal-Gandara, J., & Acharya, K. (2024). A review for cancer treatment with mushroom metabolites through targeting mitochondrial signaling pathway: In vitro and in vivo evaluations, clinical studies and future prospects for mycomedicine. *Fitoterapia*, c. 172.
12. Krishnakumar, N. M., Ramesh, B. T., & Ceasar, S. A. (2023). Medicinal mushrooms as potential sources of anticancer polysaccharides and polysaccharide–protein complexes. *Studies in Natural Products Chemistry*, 76, c. 113-148.
13. Yoshiba, K., Saheki, T., Christensen, B. E., & Dobashi, T. (2019). Conformation and cooperative order-disorder transition in aqueous solutions of β -1, 3-d-glucan with different degree of branching varied by the Smith degradation. *Biopolymers*, 110(9), c. 23315.
14. Norisuye, T., Yanaki, T., & Fujita, H. (1980). Triple helix of a *Schizophyllum commune* polysaccharide in aqueous solution. *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition*, 18(3), c. 547-558.
15. Hou, Y., & Li, J. (2024). Hydrogels based on schizophyllan. *Polysaccharide Hydrogels for Drug Delivery and Regenerative Medicine*, c. 187-202.

16. Bot, A., Smorenburg, H. E., Vreeker, R., Pâques, M., & Clark, A. H. (2001). Melting behaviour of schizophyllan extracellular polysaccharide gels in the temperature range between 5 and 20 C. Carbohydrate polymers, 45(4), c. 363-372.
17. Watanabe, M., Toyomura, T., Wake, H., Liu, K., Teshigawara, K., Takahashi, H., ... & Mori, S. (2020). Differential contribution of possible pattern-recognition receptors to advanced glycation end product-induced cellular responses in macrophage-like RAW264. 7 cells. Biotechnology and Applied Biochemistry, 67(2), c. 265-272.
18. Wang, X. Y., Xu, R., Yin, J. Y., Wang, Y. X., Ma, L. Y., Nie, S. P., ... & Xie, M. Y. (2019). Physicochemical, structural and rheological properties of alkali-extracted polysaccharide from fruiting body of *Hericium erinaceus*. Lwt, 115, c. 108330.
19. Fang, Y., Takemasa, M., Katsuta, K., & Nishinari, K. (2004). Rheology of schizophyllan solutions in isotropic and anisotropic phase regions. Journal of Rheology, 48(5), c. 1147-1166.
20. Petra Mishnik, Dayn Momchylovych. Schizophillan. sciencedirect. 2021.C.117-210
URL: <https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/schizophyllan>
21. Vineet Kumar, Shipra Nagar, Pradeep Sharma. The possibility of using plant oligosaccharides and polysaccharides in the development of medicines. Publish0x. 2020. c. 587-639
URL: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816675-8.00015-4>. (дата звернення: 20.05.2024).
22. Dane Momchilovych. Schizophillan.sciencedirect. 2023. c.117-210
URL: <https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/schizophyllan> (дата звернення: 20.05.2024).
23. Slovis, N. (2017). Polysaccharide treatment reduces gastric ulceration in active horses. Journal of Equine Veterinary Science, 50, c. 116-120.

24. Meena, D. K., Das, P., Kumar, S., Mandal, S. C., Prusty, A. K., Singh, S. K., S. C. (2013). Beta-glucan: an ideal immunostimulant in aquaculture (a review). *Fish physiology and biochemistry*, 39, с. 431-457.
25. Geervliet, M. (2021). A window of opportunity: Modulation of the porcine gut microbiota and immune system by feed additives in early life (Doctoral dissertation, Wageningen University and Research).
26. Принципи кваліфікації та валідації у фармацевтичному виробництві : Настанова від 16.02.2009 № № 1/96. URL: https://zakononline.com.ua/documents/show/103435_575112 (дата звернення: 20.05.2024).
27. Настанова CPMP/QWP/848/96 (emea/cvmp/598/99) : Настанова від 27.03.2014.7-31 URL: <https://www.dls.gov.ua/wp-content/uploads/2019/02/Настанова-ЛЗ-Валідація> (дата звернення: 19.05.2024).
28. Настанова CPMP/QWP/2054/03 : Настанова від 27.03.2014 № ЕМА/CHMP/CVMP/QWP/BWP/70278/2012-Rev 1 G. Додаток II до Настанови з валідації процесів. Нестандартні процеси с.7-31 URL: <https://www.dls.gov.ua/wp-content/uploads/2019/02/Настанова-ЛЗ-Валідація-процесів.pdf> (дата звернення: 19.05.2024).
29. Марчишин, С. М. (2016). Збірник матеріалів IV науково-практичної конференції "Хімія природних сполук". С.3-143
30. Державна Фармакопея України / ДП «Науково–експертний фармакопейний центр». 1-е вид. Харків : РІРЕГ, 2001. 520 с.
31. Державна Фармакопея України/ ДП «Науково–експертний фармакопейний центр». 1-е вид. Харків : РІРЕГ, 2004. 620 с.
32. Державна Фармакопея України/ ДП «Державне підприємство «Науково-експериментальний фармакопейний центр» 2-е вид. Харків: РІРЕГ, 2008. 620 с.

33. Державна Фармакопея України/ ДП «Державне підприємство «Укрїнський науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» 1-е вид. Харків : PIPEГ, 2009. 280 с.
34. Vorobyova K. V., Nikitina O. Phenolic compounds of basidial fungi with antimicrobial properties. Problems and achievements of modern biotechnology: International Science. conference, Kharkiv, Ukraine. 2024. с. 296-298 URL: https://biotech.nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2024/04/tezy_iv_mizhnarodnoi_naukovo_praktychnoi_internet_konferentsii_problemy.pdf (дата звернення: 22.03.2024).
35. Vorobyova K. V., Nikitina O. Fungal biomolecules to combat alzheimer's disease - degree of study. potential benefits. Chemical and biopharmaceutical technologies/Collection of scientific papers: International Sciences. conference, Tallinn. 2023. с. 296-297 URL: https://www.kyivlvivpharma.com/files/ugd/773994_f550fa336a9f4832b3b73b4189352662.pdf (дата звернення: 01.01.2023).
36. Vorobyova K. V. VI International scientific and theoretical conference "Process and dynamics of the scientific path":. The edible mushrooms- a new approach to the treatment of genetic diseases: International Science. conference, Athens. 2024. с. 69-70 URL: <https://go-vropejska.esclick.me/1z4kfh7ae3ttcmatek> (дата звернення: 05.07.2024).
37. Vorobyova K. IN. Mushrooms - Help for humans. from traditional medicine to modern research. 6th International Scientific and Theoretical Conference "Science of the 21st Century: Development, Main Theories and Achievements": : International Sciences. conf., m. Helsinki, June 28. 2024 Helsinki, 2024. URL: <https://doi.org/10.36074/scientia-28.06.2024> (дата звернення: 28.06.2024). с.87-89
38. Vorobyova K. IN. Mushrooms against cancer. VI International scientific-theoretical conference "The driving force of science and trends in its development": International Science. conf., m. Coventry, June 21.

- 2024 Coventry, 2024. с. 130-131
URL: <https://doi.org/10.36074/scientia> (дата звернення: 21.06.2024).
39. Основна аптека в США. URL: <https://www.apteka03.online/> (дата звернення: 27.06.2024).
40. Сайт для обізнаності таблеток Америка. URL: <https://www.goodrx.com/> (дата звернення: 27.06.2024).
41. Сайт для обізнаності лікарських засобів. tabletki.ua. URL: <https://tabletki.ua/> (дата звернення: 20.03.2024).
42. Одна з найбільших аптечних мереж у США, де можна замовити ліки онлайн. URL: <http://www.cvs.com>
43. Костюк, Г. В., Деренська, Я. М., & Деренская, Я. Н. (2007). Удосконалення системи управління проектами у фармацевтичному виробництві на базі впровадження процесного підходу. С. 1-14.
44. Гладух, Є. В., Рубан, О. А., Сайко, І. В., Чуєшов, В. І., Ляпунова, О. О., Січкарь, А. А., ... & Безрукавий, Є. А. (2018). Промислова технологія лікарських засобів: базовий підручник для студ. вищ. навч. закладу (фармац. ф-тів) IV рівня акредитації. с.17-61.
45. Glick, T. F., Livesey, S., & Wallis, F. (2014). Medieval science, technology, and medicine: an encyclopedia. Routledge. С.18-22.
46. Гладух, Є. В., Рубан, О. А., Сайко, І. В., Чуєшов, В. І., Ляпунова, О. О., Січкарь, А. А., ... & Безрукавий, Є. А. (2018). Промислова технологія лікарських засобів: базовий підручник для студ. вищ. навч. закладу. 61 с.
47. Лікарські засоби. Належна виробнича практика: Настанова Св-Н МОЗ 42-4.0:2020. Вид. офіц. Київ : МОЗ України. 2020.
48. Дмитрієвський, Д. І. (2008). Технологія лікарських препаратів промислового виробництва.: Навч. посіб. для фарм. ф-тів ВМНЗ IV р. а. Нова Книга. с.100-147.

49. Галстян, А. Г., Шапкін, В. П., & Бушуєв, А. С. (2022). Основи проектування виробництв активних фармацевтичних інгредієнтів. с. 3-131.
50. Чисті приміщення та пов'язані з ними контрольовані середовища. Частина 2: Специфікації для тестування та моніторингу для підтвердження безперервної відповідності. 2010р.
51. Лікарські засоби. Належна виробнича практика: Настанова МОЗ 42-4.0:2021. Київ. МОЗ України, 2021.
52. Гладух, Є. В., Рубан, О. А., Сайко, І. В., Чуєшов, В. І., Ляпунова, О. О., Січкар, А. А., ... & Безрукавий, Є. А. (2018). Промислова технологія лікарських засобів: базовий підручник для студ. вищ. навч. закладу (фармац. ф-тів) IV рівня акредитації. с.32-70.
53. Шпичак, О. С. (2016). Теоретичне та експериментальне обґрунтування складу і розробка технології лікарських апіпрепаратів для застосування у спортивній медицині. с.170-300.
54. Нікітіна О.О. Лікарські рослини в системі здоров'я людини: Конспект лекцій. Київ: Кнутд, 2023. с. 131-134.
55. Є.В. Гладух, О.А. Рубан. Промислова технологія виробництва лікарських засобів: конспект лекцій. Київ, 2023. с. 170-210
56. Державний реєстр лікарських засобів України. URL: <http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/all/shlist?opendocument> (дата звернення: 27.03.2024).
57. Raina, N., Pahwa, R., Thakur, V. K., & Gupta, M. (2022). Polysaccharide-based hydrogels: New insights and futuristic prospects in wound healing. International Journal of Biological Macromolecules, 223, с. 1586-1603.
58. Chen, Z., Yin, C., Fan, X., Ma, K., Yao, F., Zhou, R., ... & Gao, H. (2020). Characterization of physicochemical and biological properties of Schizophyllum commune polysaccharide extracted with different

methods. *International Journal of Biological Macromolecules*, 156, c. 1425-1434.

59. Sharma, S., Gangal, S., & Rauf, A. (2009). Convenient one-pot synthesis of novel 2-substituted benzimidazoles, tetrahydrobenzimidazoles and imidazoles and evaluation of their in vitro antibacterial and antifungal activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(4), c.1751-1757.

60. Dalhoff, A., & Schmitz, F. J. (2003). In vitro antibacterial activity and pharmacodynamics of new quinolones. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 22, c. 203-221.

61. Alizadeh, V., Shojaosadati, S. A., & Zamir, S. M. (2021). Enhancement of schizophyllan production in *Schizophyllum commune* using microparticles in medium. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 44, c. 317-328.

62. Traxler, L., Wollenberg, A., Steinhauser, G., Chyzhevskiy, I., Dubchak, S., Großmann, S., ... & Kothe, E. (2021). Survival of the basidiomycete *Schizophyllum commune* in soil under hostile environmental conditions in the Chernobyl Exclusion Zone. *Journal of Hazardous Materials*, 403, c.124002.

63. Raina, N., Pahwa, R., Thakur, V. K., & Gupta, M. (2022). Polysaccharide-based hydrogels: New insights and futuristic prospects in wound healing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 223, c. 1586-1603.

64. McCleary, B. V., & Draga, A. (2016). Measurement of β -glucan in mushrooms and mycelial products. *Journal of AOAC International*, 99(2), c. 364-373.

65. Кудрявець, Є. В., & Ломберг, М. Л. (2014). Антимікробна активність вищих базидіальних грибів. c.620-621.

66. Zaichenko, T., Krupodorova, T., Barshteyn, V., & Dekhtiarenko, N. (2017). Антибактеріальні властивості деяких макроміцетів. *Research*

Bulletin of the National Technical University of Ukraine" Kyiv Politechnic Institute", (3), с. 19-28.

67. Зінченко, О. Ю., & Міресь, С. Л. (2018). Антимікробні властивості міцелію та екстрактів плодових тіл *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. Мікробіологія і біотехнологія, (2), с. 49-59.

68. Ліновицька, В. М., Бухало, А. С., Швед, О. М., & Дуган, О. М. (2011). Створення біотехнології отримання екзополісахаридів на основі глибинного культивування вищого базидіоміцету *Schizophyllum commune*. с.161-172

69. Бойко, С. М. (2018). Стан популяції *Schizophyllum commune* (Agaricales, Basidiomycota) на території урочища Феофанія. Український ботанічний журнал, (75, № 2), с. 191-196.

ДОДАТОК А



ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ А

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY

**ПРОБЛЕМИ ТА ДОСЯГНЕННЯ
СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ**

**PROBLEMS AND ACHIEVEMENTS
OF MODERN BIOTECHNOLOGY**

**Матеріали
IV міжнародної науково-практичної
Інтернет-конференції**

**Materials
of the IV International Scientific and Practical
Internet Conference**

**ХАРКІВ
KHARKIV
2024**

ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ А

Фенольні сполуки базидіальних грибів з антимікробними властивостями**Нікітіна О.О., Воробйова К.В.**

Кафедра промислової фармації Київського національного університету
технологій і дизайну, м. Київ, Україна
nikitinap1046@gmail.com

Поява мультирезистентних мікроорганізмів ставить під загрозу спроможність лікувати широкий спектр інфекційних захворювань і є глобальним ризиком громадському здоров'ю. Це є наслідком збільшення дози антибіотиків, їх високої токсичності, тривалого перебування пацієнтів у лікарні, що підвищує летальність. Одними з найпоширеніших мікроорганізмів з розвинутою мультирезистентністю є *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* та ін. Отже, терміново потрібне створення нових, більш ефективних фармацевтичних препаратів для боротьби з існуючими антибіотикорезистентними бактеріями. Часто як альтернатива антибіотикам розглядаються ефірні олії рослин, або сполуки терпенової природи. Серед базидіальних грибів відомі потужні лігніфікатори, що здатні перетворювати деревину на специфічні фенольні сполуки з вираженими антимікробними властивостями, вони легко адаптуються як до твердофазного культивування, так і до культивування в умовах рідкого середовища. Серед загальновідомих фенольних сполук – кверцетин, що виробляє *Hericium erinaceus*, глікозид кверцетину – рутин виявляється в міцелії і плодових тілах Березової чаги (*Inonotus obliquus*). Сьогодні відомі мінімальні інгібуючі концентрації рутину і кверцетину проти *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*. Дослідження незвичайних сполук проводилися на штамах *Lignomyces vetlinianus*, що утворюють видимі кристалоподібні конгломерати в чашках Петрі. Ці речовини були зібрані з пластин і ідентифіковані за допомогою газової хроматографічної мас-спектрометрії (GS-MS) як кластери 4,6-диметоксифталіду та 4,6-диметокси-1(3H)-ізобензофуранону, які також були знайдені в міцелії. Ці речовини вважаються

ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ А

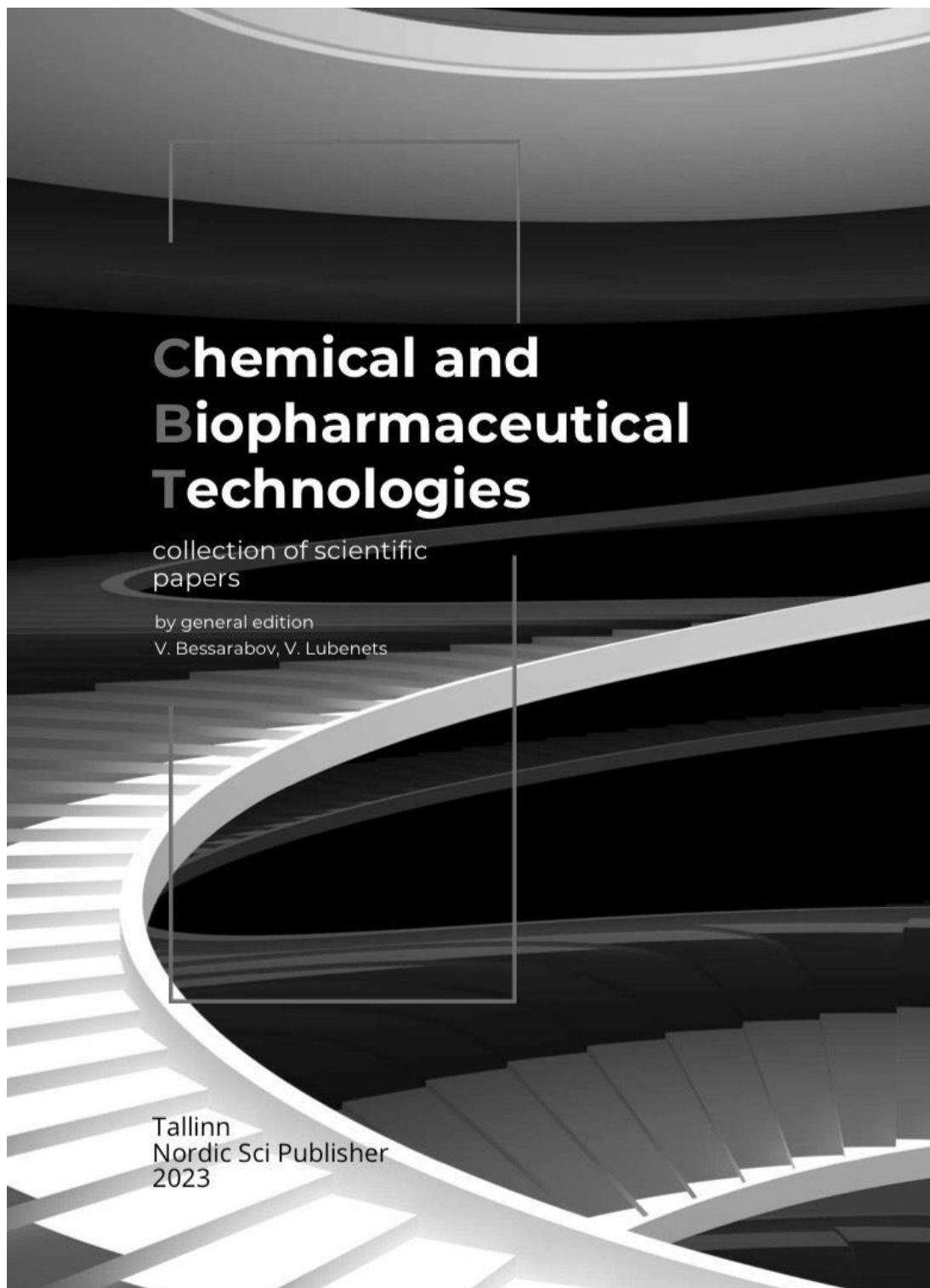
корисними і, як відомо, містяться в деяких рослинах, наприклад, в селері (*Apium graveolens*) і ряді мікроорганізмів, але серед Agaricomycetes вони дуже рідкісні.

Кристали, утворені штамами базидіального грибу *Sparassis crispa*, були ідентифіковані за допомогою методів GS-МС та ЯМР як спарассол (метил-2-гідрокси-4-метокси-6-метилбензоат) та його похідні (метиловий ефір спарассолу та метилорселінат). Відомо, що спарассол має антибіотичну дію, і штами лікарських грибів, які активно синтезують спарассол, можуть представляти інтерес для подальшого вивчення.

Дослідження вторинних метаболітів, що продукуються *Sarcodontia setosa*, за допомогою спектроскопічних методів (УФ, ЯМР та електророзпилювальна іонізаційна мас-спектрометрія високої роздільної здатності) виявило п'ять сполук в культуральній рідині. Їх хімічну структуру визначено як дві нові похідні саркодонтової кислоти — сетозова кислота та 7,8-дегідрогомосаркодонтова кислоти — і три раніше відомі бензохінонові пігменти. Були проведені скринінгові тести антибактеріальної активності цих сполук проти так званих штамів бактерій ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Enterobacter species*). *K. pneumoniae*, *S. Aureus* і *A. Baumannii* виявились найбільш чутливими до сполук *S. setosa*. Дослідження багатопорового грибу *Fistulina hepatica* виявило чотири нових поліацетиленових похідних гідроксикоричної кислоти — ізоциннатріацетин, ізоциннатріацетин А, С і етилциннатріацетин А. Скринінг антибактеріальної активності отриманих сполук проти штамів бактерій ESKAPE in vitro за допомогою визначення зон інгібування показало, що сполуки з *F. Hepatica* продемонстрували найвищу ефективність проти *E. faecium*, *S. aureus* і *K. pneumoniae*.

Для подальших досліджень перспективними виявляються наступні види базидіальних грибів з колекції макроміцетів відділу мікології Інституту ботаніки ім. М.Г.Холодного НАН України: *Hericium erinaceus* (18 штамів), *Sparassis crispa* (4 штами) та *Fistulina hepatica* (7 штамів).

ДОДАТОК Б



ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ Б

Ministry of Education and Science of Ukraine
Kyiv National University of Technologies and Design
Lviv Polytechnic National University
National Academy of Sciences of Ukraine
L.M. Lytvynenko Institute of Physical-Organic Chemistry and Coal Chemistry

CHEMICAL AND BIOPHARMACEUTICAL TECHNOLOGIES

Collection of scientific papers

Tallinn
Nordic Sci Publisher
2023

ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ Б

**FUNGAL BIOMOLECULES TO COMBAT ALZHEIMER'S DISEASE:
DEGREE OF STUDY, POTENTIAL BENEFITS****Vorobiova K.V., Nikitina O.O.**Kyiv National University of Technology and Design, Department of Industrial Pharmacy, e-mail: vorobeval7.kristinal7@gmail.com

Mushrooms have been used by humans as medicine for over 5000 years. According to various estimates, there are 2.2-3.8 million species of fungi, of

47

which 10,000 taxa are currently known. The Basidiomycota type contains a large number of biologically active compounds, which makes them a powerful resource for the development of new drugs, including those aimed at treating neurodegenerative diseases. Edible mushrooms are attracting even more attention as a commercial source of antioxidants. They can be used directly to enhance antioxidant protection through nutritional supplements to reduce oxidative stress. There is a wealth of evidence supporting the effectiveness of this strategy in vitro. One of the leading theories of the etymology of neurodegenerative diseases of the elderly includes oxidative stress as a causative risk factor, which, through a cascade of pathological processes, leads to synaptic dysfunction and neuronal death and manifests itself in memory loss and cognitive impairment. Certain synthetic antioxidants can cause adverse toxic effects, and natural alternatives with pleiotropic beneficial properties are needed to reduce the burden of neurological diseases, and bioactive compounds from medicinal mushrooms may be a new hope. The need for natural alternative sources of antioxidant products and ingredients comes primarily from consumers.

Objective of the study: The main goal of this study is to evaluate the potential therapeutic properties of fungal biomolecules in the treatment of neurodegenerative diseases and to create a basis for the development of effective drugs. In addition, to identify potential areas for further research in this area to treat Alzheimer's disease and improve the quality of life of patients and their families.

Research materials and methods.

Theoretically significant for our study were publications from the PubMed and Scopus scientific metric databases. We used the analysis and generalization of existing scientific material.

Research results.

One of the most promising areas in the search for effective treatments for Alzheimer's disease (AD) is the use of natural products, including edible and medicinal mushrooms. Some of these mushrooms contain bioactive compounds that can improve neuronal growth in the brain and protect them from neurotoxic effects, such as inflammation, that contribute to the development of neurodegenerative diseases, including dementia and Alzheimer's. Recent studies suggest the potential benefits of mushrooms as functional foods to prevent or delay the development of neurodegenerative diseases. Mushrooms contain a variety of bioactive compounds, such as alkaloids, flavonoids, polyketides, steroids, terpenes, polysaccharides, proteins, trace elements, and unsaturated fatty acids. Phenolic compounds have the highest antioxidant activity and are responsible for reducing oxidative damage.

Mushroom extracts and compounds are effective against the major mechanisms associated with AD, including inhibition of BACE1 (transmembrane aspartic protease 1), inhibition of A β (beta-amyloid peptide) aggregation, and inhibition

48

ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ Б

of acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE). They can be combined with additional therapeutic approaches, such as anti-inflammatory or antioxidant therapy, which is known to play an important role in neurodegeneration. Mushroom compounds with anti-AD potential are categorized into several classes, including lanostans, terpenoids, indole alkaloids, purine nucleosides, amino acids, lactones, benzaldehyde derivatives, dinamides, and ethanolamines, as shown in Figure 1.

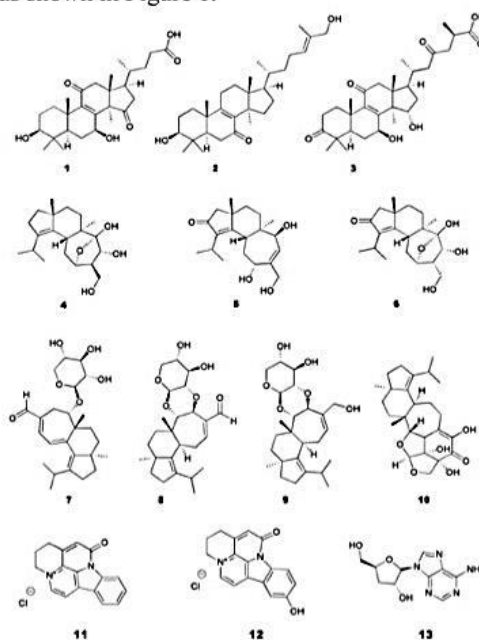


Figure 1. Examples of compounds isolated from fungi with potential to treat AD. These bioactive molecules belong to different classes: lanostane triterpenoids (1-3), polyoxygenated ciatanditerpenoids (4-9), sesterterpenoids (10), indole alkaloids (11 and 12), and purine nucleosides (13).

Several mushroom extracts and isolated compounds have been demonstrated to have anti-BACE1 and anti-A β potential. The A β peptide is formed during the cleavage of amyloid precursor protein by the BACE1. The A β peptides tend to interact with each other to form deposits that lead to the formation of amyloid plaques (also known as senile plaques), which are considered a hallmark of AD. Considering the inhibition of BACE1 and prevention of A β aggregation and A β cytotoxicity, species such as *Cordyceps militaris* (L.)Fr., *Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. and *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. are the most representative. The fungus *C. militaris* is considered to be

ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ Б

one of the oldest sources of bioactive compounds. The first report on the isolation and characterization of *C. militaris* metabolites dates back to the 1950s and is related to the purine nucleoside cordycepin. The medicinal mushroom *G. lucidum* has been used in many countries to promote health. Wang et al. conducted a study to evaluate the potential effects of dietary supplementation with 0.3, 0.6, and 1.8% *G. lucidum* in mice prone to accelerated aging [8]. Their results showed no significant differences in body weight, feeding habits, or locomotion between the treatment group and the control group (casein diet). However, a significant difference was observed in behavioral tests, as the supplemented group showed faster responses in avoidance tests. Significantly higher superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione reductase activities, as well as lower A β accumulation, were found in the test groups, showing that *G. lucidum* could be an interesting source of anti-A β compounds. In addition, triterpenoids isolated from *G. lucidum* were found to reduce neuronal apoptosis by inhibiting the ROCK signaling pathway (regulates cell morphology, polarity, and cytoskeletal remodeling by regulating actin and cell migration) in a mouse model. The mushroom *Hericium erinaceus* (Bull.) Persoon (also known as lion's head or Yamabushitake), native to East Asia, is well known for its therapeutic properties, particularly neuroprotective and neuroregenerative properties, which are due to its ability to stimulate neurogenesis, antioxidant and anti-inflammatory functions. An important feature of *H. erinaceus* is that it contains compounds that can penetrate the blood-brain barrier and affect neuronal activity by increasing synaptic plasticity, preventing apoptosis, reducing the number of A β laminae, and inhibiting AChE and BACE1. These properties support its potential in the treatment of AD. Due to the limitations and side effects of existing treatments for AD, there is a need to find new and safe alternative treatments. The use of mushrooms, such as *H. erinaceus*, may prove to be a promising avenue in this context and requires further research to unlock its full potential as a neuroprotective and treatment for AD. At the University of Queensland (2023), a global community of scientists is actively researching the possibility of using mushrooms to improve neurogenesis and reduce the risk of developing neurodegenerative diseases, including AD. Laboratory tests have measured the neurotrophic effects of compounds isolated from *H. erinaceus* on cultured brain cells, and found that the active compounds promote neuronal projection by spreading and connecting with other neurons. Using high-resolution microscopy, the mushroom extract and its active components were found to significantly increase the size of growth cones, which are particularly important for brain cells to sense their environment and make new connections with other neurons in the brain. Recent research (2017) conducted at the University of Malaya in Kuala Lumpur, Malaysia, indicates the presence of bioactive compounds in edible and medical mushrooms (*H. erinaceus*, *Grifola frondosa* (Dick.) Gray, *C. militaris*, *G. lucidum*). Extracts from mushrooms, such as *G. lucidum*, contain compounds

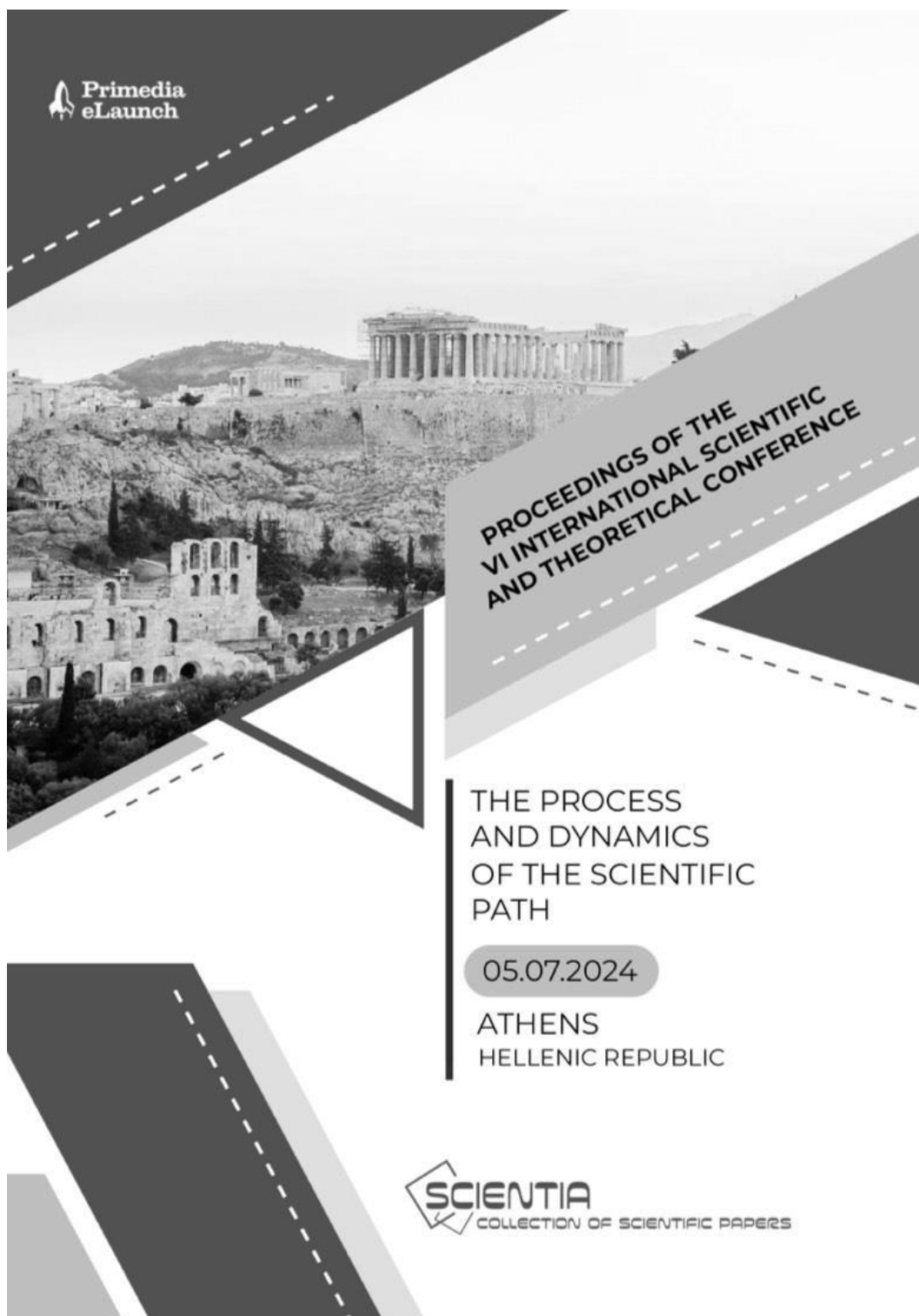
ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ Б

that may have antioxidant properties and contribute to neuroprotection, that may have beneficial effects on brain health. In their paper, the authors discuss scientific findings on the possible benefits of mushroom consumption and the activity of bioactive components that may offer neuroprotective and cognitive benefits. Researchers have also investigated the use of secreted Heat shock protein 70 (secHsp70) to protect against the harmful effects of amyloid plaques (Researchers are investigating the possibility of using secreted Hsp70, derived from various sources, including mushrooms, for its neuroprotective role and potential in the treatment of various neurodegenerative diseases. Hsp70 can be secreted by mushrooms such as Shiitake (*L. edodes*), Lieska (*H. erinaceus*), *C. militaris*, and others. This protein has the ability to interact with amyloid peptides and prevent them from damaging neurons. At the University of Florida (2014), based on the *Drosophila* model, they are studying the possibility of passive immunotherapy in the context of AD. Passive immunotherapy is one of the most promising treatments because it aims to block A β peptides. In this context, mushrooms, particularly Shiitake mushrooms, are cited as promising in passive immunotherapy for AD. The use of two antibodies targeting different epitopes of A β peptides simultaneously has been shown to result in synergism and increased peptide blocking efficiency. This is an important step in the development of immunotherapies to treat AD. The production of antibodies and their use in this context are related to fungi (namely, fungal compounds), and information about antibodies is provided to understand the principle of passive immunotherapy for AD.

Conclusions.

1. Mushrooms are a source of pharmacologically diverse and interesting molecules that are produced by different species and parts of the body. They can be combined with additional therapeutic approaches such as anti-inflammatory or antioxidant therapy, which to play an important role in neurodegeneration.
2. Research is conducted on a global scale and various models are used to study possible mechanisms of mushroom action.
3. Mushrooms, in particular *Hericium erinaceus* (Bull.) Persoon, are a promising area of research in the field of neuroprotection and treatment of neurodegenerative diseases, including Alzheimer's disease. They confirm various aspects, including the stimulation of neurogenesis, antioxidant and anti-inflammatory properties, the ability to reduce the number of amyloid plaques, and the ability to penetrate the blood-brain barrier.

ДОДАТОК В



Vorobiova K.V.

Department of Industrial Pharmacy

Kyiv National University of Technology and Design, Ukraine

THE EDIBLE MUSHROOMS: A NEW APPROACH TO THE TREATMENT OF GENETIC DISEASES

Understanding the role of edible mushrooms in the treatment of genetic diseases opens up new horizons in medicine. Edible mushrooms have been used since ancient times as food and to treat various diseases. They are rich in nutrients, such as polysaccharides, proteins, vitamins, and minerals, which can have a positive impact on human health. Modern research shows that certain types of mushrooms may have the potential to fight genetic diseases due to their unique bioactive compounds.

Modern science is actively exploring natural sources of medicinal compounds, and mushrooms play an important role in this context. There is a growing number of studies on the antioxidant, anti-inflammatory and immunostimulating properties of mushrooms. In addition, genetic technologies and bioinformatics provide new opportunities for detailed study of mushroom genomes and the discovery of new bioactive substances.

Common edible mushrooms can dramatically change the approach to the treatment of rare genetic diseases that affect hundreds of millions of people around the world. The lack of effective therapy often leaves these patients helpless. A team of researchers in the Laboratory of Cancer Heterogeneity, Plasticity and Therapy Resistance has discovered that the active ingredient found in the mushroom *Lepista inversa* has repair properties that allow it to correct certain genetic mutations known as “nonsense”. Their results were published in the journal *Nature Communications*.

Rare diseases are a serious health problem, affecting 300 million people worldwide. In 80% of cases, they are genetic in origin, and there are currently no treatments for these inherited diseases, which include cystic fibrosis, hemophilia, and Duchenne muscular dystrophy.

In their new paper, published in the journal *Nature Communications*, the research teams have for the first time identified an active substance in the mushroom that can correct nonsense mutations associated with the UGA stop codon, the most common of the three stop codons in the human genetic code. By fractionating the extracts of the mushroom *Lepista inversa*, the researchers were able to identify one of its active substances, the compound DAP (2,6-diaminopurine). They showed that this compound restores nonsense mutations in human cell lines as well as in animal models.

Possible further actions and steps:

1. Advanced animal models: The next step would be to test the active ingredient in a wider range of animal models to confirm its efficacy and safety. This will help to understand how DAP affects different types of cells and organisms.
2. Clinical trials: In case of successful results in animal models, clinical trials in humans will need to be initiated. These trials will be aimed at evaluating the efficacy and safety of DAP in patients with rare genetic diseases associated with nonsense mutations.
3. Optimization of the drug: Development of methods for purification and standardization of the active substance to create a pharmaceutical product. This includes researching ways to deliver DAP to target cells and tissues.
4. Study of long-term effects: Studying the long-term effects of DAP to ensure its safety and stability over time.

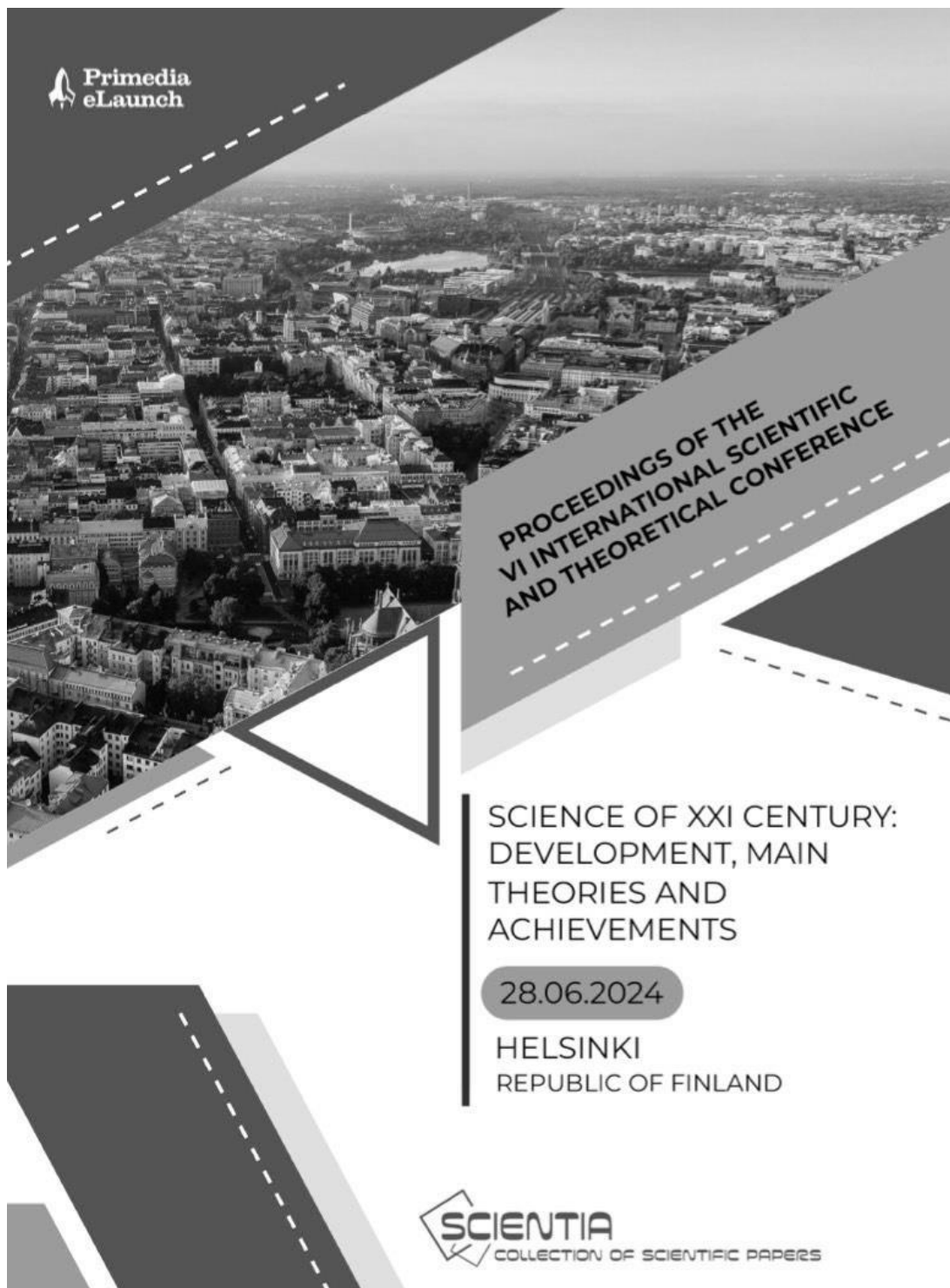
5. Molecular modifications: Consideration of the possibility of creating synthetic analogs of DAP with improved properties or development of combination therapies that include DAP and other active substances.

Conclusion. The discovery of the active substance DAP (2,6 diaminopurine) in the mushroom *Lepista inversa*, which is capable of correcting mutations, is a significant breakthrough in the treatment of rare genetic diseases. The low toxicity of this compound and its effectiveness in restoring the functions of mutated genes in human cells and animal models opens up new therapeutic possibilities. This approach makes it possible to correct genetic mutations, reducing the manifestations of diseases without affecting the genetic heredity of patients.

References:

1. Purine derivative for use in the treatment or prevention of diseases caused by a nonsense mutation – October 2017 – S. Rebuffat, S. Amand, C. Maulay-Bailly and F. Lejeune -PCT/EP2017/076846; WO2018073413A1
2. An Edible Mushroom With Potential to Fight Human Genetic Diseases- by inserm (newsroom).

ДОДАТОК Г



ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ Г

June 28, 2024 • Helsinki, Republic of Finland • Collection of scientific papers «SCIENTIA»

A. blazei is an edible mushroom native to Brazil and is cultivated especially in Japan. It is a very popular basidial mushroom known as the "sun mushroom" and is nowadays consumed worldwide as food or tea due to its medicinal properties. Its fruiting bodies exhibit antimutagenic, anticarcinogenic, and immunostimulatory effects; its extracts have also shown immunomodulatory, anticarcinogenic, and antimutagenic properties.

A. subrufescens is called the "almond mushroom" for its almond flavor and is cultivated in the United States and incorrectly called *A. blazei*. It produces various bioactive compounds that have the potential to treat many diseases and is used as a medicinal food for the prevention of cancer, diabetes, hyperlipidemia, atherosclerosis, and chronic hepatitis. Some of its beneficial properties are tumor growth reduction, antimicrobial and antiviral effects, immunostimulant and anti-allergic effects. Biologically active compounds isolated from this mushroom are mainly based on polysaccharides such as riboglucans, β -glucans and glucomannans.

L. edodes or "shiitake mushroom" has been used for many years to study functional properties and to isolate compounds for pharmaceutical use; this is because of its positive effects on human health. It has been used to relieve colds for hundreds of years, and some scientific evidence supports this belief.

Another edible mushroom is *L. polychrous*, found in northern and northeastern Thailand, which is used as a medicine for diseases such as dyspepsia or snake or scorpion bite. The methanolic extract and crude polysaccharides have antioxidant activity and inhibitory effects on the proliferation of breast cancer cells.

Cardiovascular disease and Alzheimer's disease have similar etiologies and preventive measures. As the number of elderly people worldwide increases, AD complications have a negative impact on the global healthcare system and economy. The leading cause of death worldwide is cardiovascular disease, which poses a serious threat to industrialized and developing countries. Mushroom biocomponents can control both diseases. One of the common links between AD and CVD is high blood pressure, high cholesterol, and inflammation. Diabetes and oxidative stress. AD is influenced by the cerebrovascular oxidative stress pathogenesis, exacerbated by hypertension, increased beta-amyloid (Ab) formation and decreased clearance.

Conclusion. In the search for practical, affordable solutions to meet nutritional needs, mushrooms are a very potential option. A variety of health problems can be prevented and treated with mushrooms, which also contain a number of nutrients. In addition, mushrooms have powerful therapeutic effects related to strengthening the immune system, maintaining homeostasis, regulating metabolism, treating diseases and improving the quality of human life. However, in-depth research is still needed to fully understand the potential, cultivation, and processing of a number of edible mushrooms.

References:

1. Edible Mushrooms: Improving Human Health and Promoting Quality Life- María Elena Valverde, Talía Hernández-Pérez, Octavio Paredes-López
2. Mushrooms: A Potential Option in the Management of Deficiency and Diseases in Humans- Kanna Sai Teja, Suruchi, Utkarsh Rai, Mukesh Kumar, Omkar Mohanty, Jyotsna Roy and Shweta Meshram.

ДОДАТОК Д



SECTION 18.**PHARMACY AND PHARMACOTHERAPY****Voroblova K.V.***Kyiv National University of Technology and Design, Department of Industrial***MUSHROOMS AGAINST CANCER**

Amid the growing interest in alternative cancer treatments, mushrooms are attracting particular attention due to their possible immunostimulatory and anti-tumor properties. Among the mushrooms of greatest interest in this context are *Agaricus blazei*, *Cordyceps sinensis*, *Grifola frondosa*, *Ganoderma lucidum*, and *Trametes versicolor*, among others. Their biologically active components are being actively researched for their ability to support the immune system, reduce the side effects of conventional therapy, and even directly affect the growth of tumor cells.

Mushrooms are often categorized as “plants,” but they are not plants, they are fungi. They are different from plants in the same way that plants are different from animals. There is an incredible number of edible mushrooms, numbering about 2000 species. Because mushrooms are very different from animal and plant foods, some authors call mushrooms the “third food kingdom.”

Mushrooms contain a wide range of vitamins and minerals. For example, some of them can be a source of vitamin D. They also contain a mixture of phytochemicals that may provide health benefits, such as flavonoids and antioxidants.

Mushrooms represent a unique branch of botanical medicine and are classified in the kingdom of fungi. They reproduce by spores. The body of a fungus can be a single cell or a structure called a hyphae or mycelial filaments. The fruiting body grows from the hyphae and produces spores for reproduction. The common and scientific names of the fungi discussed in this article can be found in the table. Many of the compounds studied have not yet been named and are often referred to by their gel chromatography fraction when they are studied. The most common medicinal active ingredient among mushrooms is β -glucan.

Experts still do not fully understand all the factors that affect the risk of development. In 2020, more than 18 million people worldwide were diagnosed with cancer.

Reishi is credited with many health benefits that have been known for over 2000 years, including the ability to strengthen the immune system and improve gut health, reduce fatigue, and improve sleep. Some researchers claim that studies on cell cultures and animals show that reishi can activate the anti-cancer activity of immune cells and inhibit the growth of cancer cells. “Reishi can activate the body's natural killer cells, which can target cancer cells, and increase apoptosis, or the programmed death of cancer cells,” says Giuseppe Venturella, a botanist and mycologist.

Tinder fungus extracts have been used as a mainstream cancer treatment since the 1970s in Japan and since the 1980s in China. They reviewed seven randomized controlled trials that investigated whether PSK (polysaccharide-K), a tinder fungus extract, reduces the side effects of radiotherapy or chemotherapy in patients with colorectal cancer. But they found that the small number of study participants, the lack of placebo controls, and the possibility that patients might report side effects differently because they knew they were taking PSK meant that any benefits were unclear.

ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ Д

June 21, 2024 • Coventry, United Kingdom • Collection of scientific papers «SCIENTIA»

Chaga, which grows on birch trees and resembles burnt charcoal, is said by some sellers to prevent wrinkles, help with inflammatory bowel disease, and fight bacterial and viral infections.

It is well known that mushrooms can stimulate the immune system and affect hematopoietic stem cells, lymphocytes, macrophages, T cells, dendritic cells (DCs) and natural killer cells (NKs). Extensive research conducted over the past 40 years has demonstrated that mushrooms have powerful anti-tumor properties that slow tumor growth, regulate tumor genes, reduce tumor angiogenesis, and enhance phagocytosis of malignant cells. In addition, evidence suggests that medicinal mushrooms can safely enhance chemotherapeutic efficacy and simultaneously protect against bone marrow suppression.

Similarly, PSK derived from the tinder fungus enhances the effectiveness of the drug docetaxel in the treatment of gastric cancer in humans. In an in vitro and in vivo study, Kinoshita et al. found that PSK inhibits NF- κ B and survivin, an anti-apoptotic molecule. The researchers were able to use a lower dose of the drug to achieve similar levels of apoptosis. Other studies confirm this observation in a human prostate cancer model. Reishi extracts in the form of ganoderic acid A have recently been found to increase the accumulation of the chemotherapeutic agent cisplatin in tumor cells. In particular, ganoderic acid A sensitized the HepG2 cancer cell line to cisplatin by inhibiting Janus kinase/signal transducers and activators of transcription (JAK/STAT3), which allowed cisplatin to increase apoptosis.

Some anticancer therapies depend on the function of NK cells to induce apoptosis. One such drug is trastuzumab, a monoclonal antibody targeting HER2. When PSK from tinder fungus was combined with trastuzumab, cell-mediated cytotoxicity increased significantly. Interestingly, when PSK and trastuzumab were used alone, they had similar levels of tumor inhibition. In combination, the two drugs reduced cell growth in tumors by 96%.

Combination therapies:

Development of new treatment protocols: Conducting clinical trials to determine the optimal dosages and regimens for the combined use of mushroom extracts with traditional chemotherapeutic drugs.

Adjuvant therapy: Investigation of the effectiveness of mushroom extracts as adjuvants to reduce side effects and increase the effectiveness of traditional cancer treatments.

Immunotherapy:

Immunostimulatory properties: The study of the effect of mushroom extracts on the immune system, in particular on the activity of natural killer cells (NK cells), macrophages and T cells.

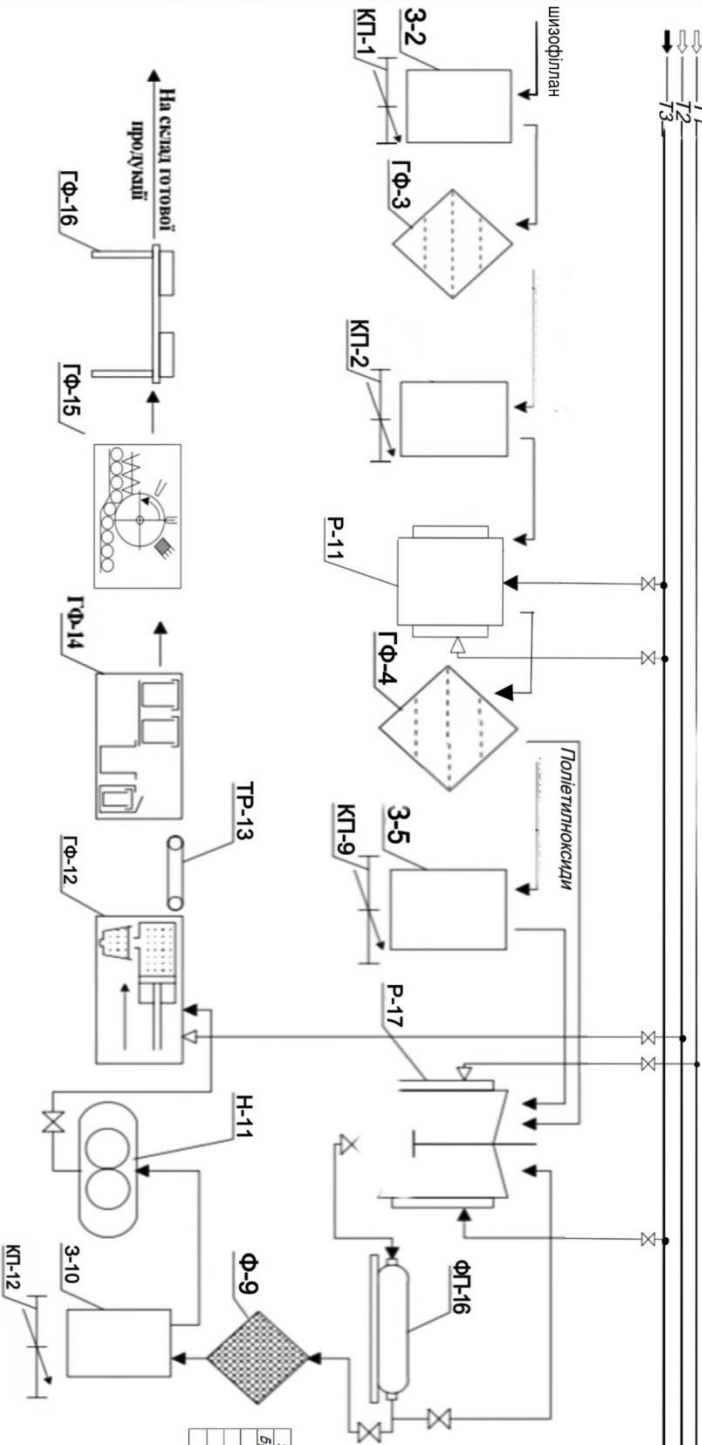
Enhancing the immune response: Exploring the potential of using mushrooms to enhance the body's immune response to tumor cells.

Bottom line. Future research in the field of oncology and the use of mushrooms offers promising prospects for the development of new therapeutic approaches.

References:

1. Immune Modulation From Five Major Mushrooms: Application to Integrative Oncology- Alena G. Guggenheim, ND, Kirsten M. Wright, BS, and Heather L. Zwickey.
2. Newspaper article- Mushrooms vs. cancer: Lowering risk and designing drugs- Tim Newman, Alexandra Sanfins, PhD.

Апаратурна схема виробництва гелю на основі шизофілану



Таблиця умовних позначень

Умовні позначення	Групи	Найменування позначень
Буквенне	-Т1-	Тар
	-Т2-	Система підпора
	-Т3-	Вода відводиться
	-Х-	Випуск, контроль

Специфікація

Мат. код	Виробник	Найменування	Клас	Категорія
3-2, 3-5, 10	Віктор	Віктор	3	
ГФ-3, 4	Віктор	Віктор	2	
Р-11, 17	Ріконт	Ріконт	2	
ФГ-16	Ріконт-Підприємство	Ріконт-Підприємство	1	
Ф-9	Віктор-Віктор	Віктор-Віктор	1	
ТР-13	Віктор	Віктор	1	
ГФ-12	Віктор	Віктор	1	
ГФ-14	Віктор	Віктор	1	
ГФ-15	Віктор	Віктор	1	
ГФ-16	Віктор	Віктор	1	
Н-11	Віктор	Віктор	1	

