МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій

Кафедра промислової фармації

РЕФЕРАТ

до дипломної магістерської роботи (проєкту)

на тему

«Лікарські препарати на основі культивованих грибів. Стандартизація та переробка сировини»

Виконала: студентка групи МгЗХФ-19

спеціальності 226 Фармація, промислова фармація

Нікіфорова Д.О.

Керівник Нікітіна О.О.

Рецензент Пальчевська Т.А.

Київ – 2020

**ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ**

ХГК Хітин-глюкановий комплекс

ЛЗ Лікарський засіб

БАД Біологічно активна добавка

ВГС Відпрацьований грибний субстрат

ПГМГхл Полігексаметиленгуанідин гідрохлорид

ЧАЗ Четвертинні амонієві з'єднання

АНД Аналітична нормативна документація

ВКЯ Відділ контролю якості

СРП Стандартна робоча процедура

СОП Стандартна операційна процедура

НХТ Низькомолекулярний хітозан

СХТ Середньомолекулярний хітозан

ВХТ Високомолекулярний хітозан

**Актуальність теми.** Вирощування грибів для медикаментозного використання – це показник розвитку та прогресу нашого часу, етапу переходу суспільства в епоху, коли гриби вже не сприймаються як звичайна їжа, але й мають цінні лікарські властивості для боротьби з сучасними хворобами життя. Культивування їстівних грибів пов’язане не тільки з пошуком повноцінного білка, але і з можливістю використовувати їхні властивості у медицині для лікування багатьох складних захворювань, таких як рак, шлункові-кишкові розлади, хвороби обміну речовин. За даними ВООЗ 80% американців і японців, 50% європейців регулярно вживає гриби. Але гриби мають не тільки поживну цінність, а і фармакологічну дію на організм. Особливо це стосується лікарських грибів. Так, в Японії, де продукти спеціального призначення на основі лікарських грибів застосовуються приблизно 50 років, а в них найвища тривалість життя (в середньому до 80 років) [5].

Проблеми розвитку грибівництва та їхнього використання в Україні та за кордоном привертають увагу багатьох вчених і фахівців у даній галузі, серед яких Н. Бісько, А. Бугаєнко, С. Вассер, Е. Соломко, І. Цапалова, В. Бакайтис, Н. Кутафьева, Х. Шреус [5, 14, 9] та інші. Проте, остаточно ще не визначено перспективи ефективного розвитку такої вузької галузі в Україні.

Особливістю грибів, є їх здатність виявляти фармакологічну дію на організм людини. Повсякденне застосування грибів, які мають давню багатовікову історію, на сьогодні виявляють явну тенденцію до збільшення масштабів їх використання, і це характерно для багатьох країн [11]. Особливе ставлення до використання грибів в харчуванні і медицині на Сході. Традиції їх використання в Китаї, наприклад, нараховують більше чотирьох тисячоліть. На сьогоднішній день у Китаї зареєстровано 270 видів грибів, які мають медичне застосування, більше ніж 100 видів використовують у традиційній медицині, та культивують більше 20 видів їстівних грибів [6]. Отже, невелика кількість наукових обґрунтувань та недостатність наукового дослідження даної теми зумовили її гостру актуальність.

Тим не менш, вирощування грибів з лікарськими властивостями вимагає ретельних методів контролю якості, щоб визначити, що врожай є безпечним, з високим вмістом біоактивних компонентів і що забезпечить очікувану біоактивність при споживанні [4]. Хоча ці методи дослідження специфічних лікарських властивостей грибів все ще знаходяться на зародковому етапі, перспектива вирощування грибів в медичному керунку швидко зростає. Грибні препарати це не надто далека реальність майбутнього [15].

**Метою дослідження** є можливість переробки культивованих грибів як джерел біологічно активних речовин з отриманням хітину та хітозану і шляхи використання.

**Завдання дослідження.** Для досягнення поставленої мети дослідження спрямоване на вирішення наступних завдань:

Провести аналіз наукової та науково - практичної літератури та узагальнити дані щодо вирощування грибів для медикаментозного використання;

* Здійснити визначення амілолітичної дії препаратів грибів;
* Здійснити визначення вмісту цукрів з плодових тіл грибів;
* Здійснити виділення хітину з грибів;
* Здійснити аналіз хімічного складу хітозану;
* Розробити технологію виробництва гелю на основі хітозану;
* Провести оцінку якості отриманого продукту;

**Об’єкти дослідження.** Культивовані гриби *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. *і Agaricus bisporus* (J.Lge) Imbach, допоміжні речовини, фармацевтичний ринок України.

**Предмет дослідження.** Розробка оптимального складу та раціонального виробництва препарату, що містить хітозан, виділений з культивованих грибів, у формі гелю, визначення.

**Методи дослідження.** В роботі використані наступні методи: аналітичний, емпіричний, бібліометричний, фармако-технологічні. Для кількісного та якісного аналізу були використані фізико- хімічні методи визначення амілолітичної дії препаратів грибів, метод визначення цукрів з плодових тіл грибів за методом Швецової і Лук’яненко, метод виділення хітину з грибів.

**Практична цінність.** На основі проведених досліджень здійснено розробку, обгрунтовано оптимальний склад та вибір допоміжних речовин лікарського засобу, що містить хітозан, виділений з культивованих грибів, у формі гелю, проведено аналіз якості готового препарату. Запропоновано технологію виробництва лікарського засобу.

**Елементи наукової новизни.** Розроблено склад та запропоновано технологію отримання лікарського засобу, що містить хітозан, виділений з культивованих грибів із задовільними технологічними характеристиками. Запропоновані методики ідентифікації та кількісного визначення діючих речовин готового препарату.

Гриби – це група гетеротрофних організмів, в яких відсутній хлорофіл, які бувають одно- та багатоклітинними, від дрібних мікроскопічних до таких великих, як трутовики чи гігантський дощовик. Гриби займають проміжне положення між рослинами і тваринами, оскільки характеризуються рядом ознак: 1. тваринні: гетеротрофний тип живлення, наявність в обміні сечовини, в оболонці клітин є хітин, запас поживних речовин у вигляді глікогену; 2. рослинні: а саме це необмежений ріст, адсорбтивний тип живлення (шляхом всмоктування, а не захоплювання їжі, характер розмноження. Тіло побудоване з тонких нитчастих утворень - гіф. Їх сукупність утворює вегетативне тіло (міцелій або грибницю). Умовно гриби поділяють на вищі та нижчі. У нижчих грибів міцелій має одноклітинну будову, у вищих він є багатоклітинний. Дріжджі та внутрішньоклітинні паразитичні гриби міцелію не мають. Всі гриби лікарського та їстівного спрямовування мають ряд біологічних особливостей. Зокрема, всі вони відносяться до Вищих базидіальних грибів, мають великий вміст складних вуглеводів, таких як полісахариди. Сучасні дослідження в різних країнах показали, що вищі базидіальні їстівні та лікарські гриби є збалансованим природним комплексом біологічно активних речовин: гліканів, хітину, терпенів, білків, ліпідів, каротиноїдів, меланіну, поліфенолів, полісахаридів, ферментів. Встановлено, що багато видів грибів з класів Basidiomycetes і Ascomycetes мають у складі усі незамінні для людини амінокислоти, високий вміст цінних ненасичених жирних кислот. В грибах міститься більше 20 хімічних елементів, серед яких К, Р, Mg, Са; а з мікроелементів – Mn, Li, Zn, Cs, V, Pb, Cu та ін. Також в них присутній ряд вітамінів: А, вітаміни групи В, Е, D, PP та в невеликій кількості вітамін С. У цілому ж, хімічний склад грибів залежить від видових особливостей, умов зростання, віку, тощо.

В результаті проведених літературних досліджень встановлено, що зацікавленість до лікувальних властивостей грибів поступово збільшується. В Україні за останні роки вивчення і використання лікарських та їстівних грибів у фармацевтичних цілях стало відноситись до пріоритетних напрямів розвитку науки. Гриби - це в першу чергу харчовий продукт, що має ряд властивостей, які роблять його засобом профілактики різноманітних захворювань. Найбільш культивованими в світі грибами, які мають лікувальні властивості, є такі гриби як *Agaricus bisporus* (печериця), *Pleurotus ostreatus* (устричний гриб або плеврот) - цей гриб вирощують та культивують в промислових масштабах, *Ledinula edod* (гриб шиітаке) та глива звичайна, що є одним з найбільш перспективних видів грибів, придатних до штучного вирощування.

На даний час в Україні лікарські засоби на основі грибів (або фунгопрепаратів) відіграють поки що незначну роль у медичному застосуванні. У вітчизняній фармації традиційно переважає розробка та виробництво препаратів з рослинної сировини, але фунгопрепарати привертають до себе все більше і більше уваги. Фунгопрепарати як і фітопрепарати є перспективними та комплементарними до організму людини. Також порівняно з продуктами хімічного синтезу фунгопрепарати є менш токсичними при застосуванні у медичній практиці, але при цьому не менш ефективними.

Хітин, який міститься в грибах, та хітозан, є природніми біополімерами, гетерополісахаридами з оліогомерними ланками, при чому хітозан є похідним хітину. Хітин є домінуючим компонентом клітинної стінки грибів. Грибний хітин є важливим джерелом для виробництва хітозану. Хітин та його основне похідне, хітозан, є найбільш поширеними біоматеріалами в природі після целюлози. Сфери застосування хітозану дуже різні та включає багато напрямків.

Дослідження, проведені вченими з різних країн, демонструють, що полісахариди та інші сполуки грибів виявляють противірусну активність проти багатьох вірусів. Багато видів базидіальних грибів та різні класи біологічно активних сполук, отриманих з них, здатні ефективно пригнічувати розвиток вірусів у клітинах та тваринах, володіючи низькою токсичністю. Біологічно активні сполуки одного і того ж виду грибів можуть виявляти противірусну дію проти різних патогенів.  Тому дослідження та вивчення культивованих грибів як джерело біологічно активних речовин є важливим та актуальним.

Відомо, що при виробництві грибів утворюється велика кількість побічних продуктів, включно з відходами та несортними грибами. На основі проведених дослідів встановлено, надлишки, відходи та несортні гриби, що утворюються при виробництві плодових тіл *Agaricus bisporus* та *Pleurotus ostreatus*, можна використовувати для комплексної переробки з метою отримання ферментів, полісахаридних комплексів і, після їх вилучення, хітину. Препарати плодових тіл цих грибів показали найбільші амілазні властивості. Кількісний вміст полісахаридів культивованих грибів виявився більшим за дикорослі, що було використано в експерименті. Найбільша кількість хітину – 42,44%, встановлена у плодових тілах трутовика лускатого, що порівняно з панцирами ракоподібних навіть перевищує найбільшу його кількість з панцирів раків.

Розробка технологій використання хітину і хітозану останнім часом привертає увагу вчених і виробників. Відомо, що високомолекулярний хітозан проявляє фізико-хімічні властивості, які дозволяють застосовувати його в якості ефективного емульгатора, структуро- і плівкоутворювача, консерванту та бактеріостатика. Особливо важливою є бактерицидна та бактеріостатична дія хітозану.

Проведено аналіз літературних джерел та виявлено, що хітину та його похідному - хітозану властива антибактеріальна активність по відношенню до різних мікроорганізмів, вірусів, мікроскопічних грибів, а також деяких штамів дріжджів. При чому статистика говорить про те, що антибактеріальний ефект хітину дещо слабше, ніж хітозану. Також хітин та хітозан, стимулюють нормальну регенерацію шкіри. Ще під час аналізу наукової інформації було становлено, що хітозан – також найбільш активний природний антиоксидант.

Було розглянуто фізико-хімічні властивості субстанції хітозану та зроблений висновок з усієї зібраної інформації, що розробка лікарського засобу на основі хітозану можлива.

Останнім часом був відзначений збільшений інтерес до м'яких лікарських форм. Найбільшою перевагою м’яких лікарських форм є можливість місцевого лікування препаратами для зовнішнього застосування різних дерматологічних патологій при незначному впливі на організм в цілому. Також пацієнтам легко використовувати препарати для зовнішнього застосування.

Розробка складу препаратів для зовнішнього застосування залежить від лікарської форми. Було запропоновано вибрати виготовлення лікарського засобу у формі гелю для місцевого застосування з репаративною та антибактеріальною дією.

Було зібрано та проаналізовано дані та вирішено, що доцільно розроблювати гель як комбінований препарат хітозану та полігексаметидгуанідину хлориду, адже синергізм їх властивостей покращить властивості розроблюваного продукту.

В ході проведеної теоретичної розробки комбінованого препарату було розроблено технологічну схему отримання гелю, виконано опис технологічних процесів виробництва. Для забезпечення матеріально-технічної бази для виробництва розроблюваного лікарського засобу здійснена робота по підбору та розробки специфікації виробничого обладнання, що відповідає вимогам GMP. Проведено дослідження з розробки технології гелю з урахуванням вимог, викладених в ICHQ8 «Фармацевтична розробка» та ICHQ9 «Управління ризиками для якості».

Таки чином, теоретична розробка комбінованого лікарського засобу на основі хітозану та полігексаметидгуанідину хлориду проведена в повному обсязі та засвідчує можливість розробки та впровадження даного продукту у широкомасштабне виробництво.

**ВИСНОВКИ**

1. Як показують дослідження літературних джерел - зацікавленість до лікувальних властивостей грибів поступово збільшується. Фунгопрепарати як і фітопрепарати є перспективними. Хітин, який міститься в грибах, та його похідне хітозан, є гетерополісахаридами. Дослідження, проведені вченими з різних країн, демонструють, що полісахариди та інші сполуки грибів виявляють антибактеріальну активність.

Отже, дослідження та вивчення культивованих грибів як джерело БАР є важливим та актуальним.

1. При виробництві грибів утворюється велика кількість побічних продуктів, відходів та несортних грибів. Грибні та грибні субпродукти є швидкопсувними продуктами та створюють екологічні проблеми для їх утилізації. Для зменшення впливу агропродовольчої промисловості на навколишнє середовище потрібно впроваджувати процедур валоризацію відходів.

На основі проведених дослідів встановлено, надлишки, відходи та несортні гриби, що утворюються при виробництві плодових тіл *Agaricus bisporus* та *Pleurotus ostreatus*, можна використовувати для комплексної переробки з метою отримання ферментів, полісахаридних комплексів і хітину.

Кількісний вміст полісахаридів культивованих грибів більший за дикорослі.

1. Розробка лікарських засобів з хітином і хітозаном останнім часом привертає увагу багатьох вчених і виробників. Особливо важливою є бактерицидна та бактеріостатична дія хітозану.

Також хітозан стимулює регенерацію шкіри та є природнім антиоксидантом.

1. Розроблено лікарський засіб у формі гелю, що містить хітозан, виділений з культивованих грибів. Найбільшою перевагою м’яких лікарських форм є можливість місцевого лікування препаратами для зовнішнього застосування при незначному впливі на організм в цілому.

Запропоновано технологічну схему отримання гелю.

1. Виконано опис технологічних процесів виробництва. Розроблено систему управління змінами для якості для технологічного процесу виробництва гелю.

Отже, лікарські препарати на основі культивованих грибів, стандартизація та переробка сировини є досить актуальною темою для вітчизняної фармацевтичної промисловості.

Основні результати дипломної магістерської роботи:

* опубліковані у статті: Нікіфорова Д.О. Лікарські препарати на основі культивованих грибів / Д.О. Нікіфорова / / Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Тенденції та перспективи розвитку науки і освіти в умовах глобалізації». – 2020. - № 56. – С. 510-512;
* опубліковані у статті: Нікітіна О.О., Нікіфорова Д.О. Культивовані гриби як джерело наноматеріалу – хітину / О.О. Нікітіна, Д.О. Нікіфорова / / Всеукраїнська міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Нанотехнології і наноматеріали у фармації та медицині». – 2020. - 17 квітня 2020 р. – С. 48-50.
* апробовані на міжнародній науково-практичній конференції «Перспективні матеріали та інноваційні технології: біотехнологія, прикладна хімія та екологія»: Нікітіна О.О., Нікіфорова Д.О. Основні ресурси хітину і хітозану грибного походження / Нікітіна О.О., Нікіфорова Д.О. / Матеріали Міжнар. наук.-практ. конф. «Перспективні матеріали та інноваційні технології: біотехнологія, прикладна хімія та екологія», 14-15 травня 2020р. – К.: КНУТД, 2020. – С. 49.

**Ключові слова**: *культивовані гриби, хітин, хітозан, стандартизація, переробка, сировина.*