

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ
ІМЕНІ П. Л. ШУПИКА

БУТКЕВИЧ ТЕТЯНА АНАТОЛІЇВНА

УДК: 615.014:615.453.6:615.32:582.284

**РОЗРОБКА СКЛАДУ, ТЕХНОЛОГІЇ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ТАБЛЕТОК З
СУХИМ ПОРОШКОМ БІОМАСИ *FLAMMULINA VELUTIPES***

15.00.01 – технологія ліків, організація фармацевтичної справи
та судова фармація

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Київ – 2020

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі аптечної та промислової технології ліків Національного медичного університету імені О. О. Богомольця Міністерства охорони здоров'я України, м. Київ.

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, доцент
ПОПОВИЧ ВАЛЕРІЙ ПАВЛОВИЧ
ТОВ «Виробничо-торгівельна фірма «ЕКМІ»,
м. Українка
головний технолог

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
РУДЕНКО ВОЛОДИМИР ВАСИЛЬОВИЧ
Українська військово-медична академія
Міністерства оборони України, м. Київ
професор кафедри військової фармації

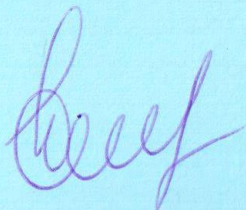
доктор фармацевтичних наук, професор
СТРІЛЕЦЬ ОКСАНА ПЕТРІВНА
Національний фармацевтичний університет
Міністерства охорони здоров'я України, м. Харків
професор кафедри біотехнології

Захист відбудеться «20» березня 2020 р. о 14⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.613.04 при Національній медичній академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика за адресою: 04112, м. Київ, вул. Дорогожицька, 9.

З дисертацією можна ознайомитися у науковій бібліотеці Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика (04112, м. Київ, вул. Дорогожицька, 9).

Автореферат розісланий «18» лютого 2020 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради



А. О. Дроздова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Однією із сучасних тенденцій розвитку фармацевтичної галузі є розширення використання біотехнологічних розробок при створенні нових лікарських засобів (ЛЗ). Застосування технології мікробіологічного культивування дозволяє одержати активну субстанцію у контрольованих умовах росту, з високим виходом біомаси та рівнем накопичення біологічно активних речовин (БАР) у одержаному продукті (Н. А. Бісько та співавт., 2006-2017).

З огляду на високий інтерес до використання природної сировини, що значно рідше викликає небажані алергічні реакції та токсичні ефекти, використання лікарських грибів (ЛГ) як об'єктів дослідження набуває актуального значення. В останні роки в Україні ведуться роботи з вивчення потенціалу їх застосування (О. В. Федотов, 2004-2006, 2013-2014, В. Т. Підченко, 2016, В. Ю. Барштейн та співавт., 2017, Б. О. Варинський та співавт., 2018). У країнах Південно-Східної Азії ЛЗ на основі ЛГ застосовують як препарати супроводу для корекції станів, що супроводжуються зниженням функціонування імунної системи: LE та LEM із *Lentinus edodes*, PSK та PSP із *Trametes versicolor* (В. Т. Підченко, 2016).

На сьогоднішній день на вітчизняному фармацевтичному ринку відсутні лікарські препарати на основі ЛГ. Проте, українськими науковцями ведуться такі фармако-технологічні розробки: Н. В. Кучеренко (2008) – розробка сиропу на основі водорозчинного білково-полісахаридного комплексу отриманого із плодових тіл плевроту черепичастого (*Pleurotus ostreatus*), Н. О. Федоритенко (2011) – розробка капсул на основі біомаси шиїтаке (*Lentinus edodes*), Н. Є. Бурда (2018) – розробка густих екстрактів із плодових тіл шиїтаке (*Lentinus edodes*) та мейтаке (*Grifola frondosa*), сухих екстрактів із плодових тіл рейши (*Ganoderma lucidum*) та трутовика березового (*Piptoporus betulinus*).

Враховуючи вищезазначене, науковий пошук з розробки складу, технології та дослідження ЛЗ із сухого порошку біомаси (СПБ) ЛГ *Flammulina (F.) velutipes* у формі таблеток є актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри аптечної та промислової технології ліків Національного медичного університету (НМУ) імені О. О. Богомольця на тему «Організаційно-технологічні дослідження лікарських та косметичних засобів» (№ державної реєстрації 0114U001826). Тема дисертаційної роботи затверджена на засіданні вченої ради фармацевтичного факультету НМУ імені О. О. Богомольця (протокол № 7 від 24.02.2015), коригування теми затверджено на засіданні вченої ради фармацевтичного факультету НМУ імені О. О. Богомольця (протокол № 14 від 10.05.2019).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи є обґрунтування складу, розробка технології та дослідження таблеток з СПБ *F. velutipes*.

Для досягнення поставленої мети було визначено задачі:

- узагальнити дані літератури та електронних наукових публікацій щодо ботанічної характеристики, хімічного складу та перспективності використання ЛГ *F.*

velutipes як джерела БАР, провести аналіз зареєстрованих на ринку України засобів на основі ЛГ;

- здійснити процес мікробіологічного культивування біомаси міцелію *F. velutipes* на низці поживних середовищ та отримати із неї сухий порошок;
- провести комплекс фізико-хімічних та фармако-технологічних досліджень СПБ *F. velutipes* як активного фармацевтичного інгредієнту (АФІ) з метою вибору складу ЛЗ;
- вивчити вплив допоміжних речовин (ДР) на фармако-технологічні властивості таблеток з СПБ *F. velutipes*, обґрунтувати склад та розробити технологію ЛЗ з СПБ *F. velutipes*;
- дослідити показники якості таблеток, вивчити стабільність та обґрунтувати термін і умови їх зберігання;
- розробити проекти технологічної та нормативної документації, провести апробацію одержання розроблених таблеток в умовах промислового виробництва.

Об'єкти дослідження – інформаційні матеріали (дані Державного реєстру ЛЗ України, дані реєстру висновків держсанепідекспертизи України), штам ЛГ *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer 1878, СПБ *F. velutipes*, ДР, таблетки з СПБ *F. velutipes*.

Предмет дослідження – розробка складу та технології таблеток з СПБ *F. velutipes*.

Методи дослідження. Для вирішення визначених задач застосовано методи дослідження: узагальнення, групування та систематизація даних джерел літератури та результатів власних експериментальних досліджень; біотехнологічне культивування; фізико-хімічні методи ідентифікації та кількісного визначення вмісту БАР у СПБ *F. velutipes* (іонообмінна рідинно-колонкова хроматографія, спектрофотометрія, газова хроматографія та флуориметрія); фармакологічні; математико-статистичний (дисперсійний аналіз); органолептичний (зовнішній вигляд), фізико-хімічні (втрата в масі при висушуванні, здрібненість, кристалографічна характеристика та ступінь ізометричності) та фармако-технологічні (насипна густина, насипна густина після усадки, плинність, показник стисливості, коефіцієнт Гауснера, сипкість, кут природного укосу, однорідність маси, стійкість до роздавлювання, стираність та розпадання) методи дослідження АФІ, таблеткової маси та таблеток; мікробіологічний (метод висівання). Статистична обробка експериментальних даних проводилась згідно вимог Державної фармакопеї України (ДФУ) 2.0.

Наукова новизна отриманих результатів. На основі результатів експериментальних досліджень обґрунтовано склад та розроблено технологію одержання нового ЛЗ у формі таблеток з СПБ *F. velutipes*.

Уперше проведено порівняльне дослідження біомаси *F. velutipes*, отриманої різними методами культивування, за вмістом БАР, встановлено її біологічну нешкідливість. Вивчено залежність фармако-технологічних властивостей таблеток з СПБ *F. velutipes* від вмісту ряду ДР, оптимізовано їх склад. Проведено валідацію методики випробування на мікробіологічну чистоту таблеток з СПБ *F. velutipes* відповідно до вимог ДФУ 2.0. Вивчено показники якості таблеток під час зберігання, встановлено їх термін придатності. Розроблено проекти технічних умов

(ТУ), методів контролю якості (МКЯ) і технологічної інструкції (ТІ) на таблетки з СПБ *F. velutipes*.

Набуло подальшого розвитку вивчення процесів біотехнологічного культивування міцеліальної біомаси ЛГ на перспективних альтернативних поживних середовищах.

Новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель «Біологічно активна субстанція з імуномодуючою активністю» UA № 117165 від 26.06.2017.

Практичне значення отриманих результатів. При виконанні дисертаційної роботи розроблено склад та технологію ЛЗ з використанням СПБ *F. velutipes* як АФІ. Створено та запропоновано новий оригінальний ЛЗ у формі таблеток. Розроблено проекти ТУ, МКЯ та ТІ на виробництво таблеток з СПБ *F. velutipes*, їх технологію апробовано в промислових умовах Науково-виробничого товариства з обмеженою відповідальністю (НВТОВ) «ЕКОМЕД», м. Київ (акт апробації від 05.02.2019).

Фрагменти дисертаційної роботи впроваджено у науково-педагогічний процес кафедр: технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» (акт від 21.02.2019), заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету (акт від 28.02.2019), технології ліків Запорізького державного медичного університету (акт від 12.03.2019), фармації Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» (акт від 14.03.2019), фармацевтичної технології і біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика (акт від 29.03.2019), управління та економіки фармації з технологією ліків Державного вищого навчального закладу «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського» (акт від 02.04.2019), аптечної та промислової технології ліків НМУ імені О. О. Богомольця (акт від 10.04.2019).

Особистий внесок здобувача. Особисто дисертантом було проведено огляд вітчизняних та зарубіжних джерел інформації; здійснено інформаційно-патентний пошук; експериментально проведено біотехнологію культивування гриба *F. velutipes*; досліджено фізичні та фармако-технологічні властивості СПБ *F. velutipes*; методом математичного планування експерименту встановлено залежність фармако-технологічних параметрів таблеток з СПБ *F. velutipes* від вмісту ДР; обґрунтовано склад таблеток, вивчено їх фармако-технологічні властивості; статистично оброблено та проаналізовано одержані результати усіх експериментальних досліджень; розроблено проекти ТУ, МКЯ та ТІ для таблеток з СПБ *F. velutipes*; проведено апробацію технологічного процесу в умовах промислового виробництва.

Визначення мети дослідження, шляхи її реалізації, планування та проведення експерименту, обговорення основних положень та формування висновків здійснено під керівництвом наукового керівника та за консультативної допомоги співавторів публікацій.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві з В. П. Поповичем, М. Л. Сятинею, Н. О. Козіко, Н. А. Бісько, Т. А. Круподьоровою, В. О. Тарасенко, Р. І.

Козаком, особистий внесок здобувача відображено за текстом дисертації та у авторефераті в списку публікацій. Автор висловлює щирю подяку усім співавторам за підтримку та співпрацю.

Співавторами наукових праць дисертанта захищено такі дисертації: Попович В. П. «Організаційно-економічні та технологічні аспекти фармацевтичного забезпечення лікарськими препаратами рослинного походження з гепатопротекторною дією», Запоріжжя, 2013; Сятиня М. Л. «Теоретичні та організаційно-технологічні основи лікарського забезпечення населення за умов реформування фармацевтичної галузі», Київ, 2004; Козіко (Федоритенко) Н. О. «Розробка складу та технології лікувально-профілактичного засобу у формі капсул на основі грибів Шийтаке», Харків, 2011; Бісько Н. А. «Шампиньон двуспоровый (*Agaricus bisporus* (J. Yge) Jmbach) и вешенка обыкновенная (*Pleurotis ostreatus* Jacq.: Fr) в искусственных экосистемах», Київ, 1992; Круподьорова Т. А. «Біологічні особливості *Ganoderma applanatum* (Pers.: Wallr.) Pat. та *G. lucidum* (Curtis: Fr.) P. Karst. в культурі», Київ, 2009; Тарасенко В. О. «Розробка складу та технології стоматологічних м'яких лікарських форм з німесулідом та цефтриаксоном», Київ, 2010.

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи викладено та обговорено на: IV науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології» (Харків, 2014), Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій Всесвітньому Дню здоров'я (Київ, 2015), VII Республиканской научно-практической конференции с международным участием студентов и молодых ученых «Проблемы и перспективы развития современной медицины» (Гомель, 2015), XIX Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених присвяченому пам'яті ректора, члена-кореспондента НАМН України, професора Леоніда Якимовича Ковальчука (Тернопіль, 2015), II International Scientific Conference «Pharmacology, Pharmaceutical Technology and Pharmacotherapy in Active Longevity» (Vilnius, 2015), I науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку» (Харків, 2016), LXX Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы современной медицины и фармации 2016» (Минск, 2016), VIII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (Харків, 2016), VI науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології» (Харків, 2017), III міжнародній науково-практичній дистанційній конференції «Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських засобів» (Харків, 2019).

Публікації. За матеріалами дисертаційного дослідження опубліковано 24 наукові праці, зокрема 11 статей у вітчизняних наукових фахових виданнях, 2 у іноземних виданнях, 10 тез доповідей, отримано 1 патент України на корисну модель.

Обсяг та структура дисертації. Дисертацію викладено на 189 сторінках друкованого тексту (обсяг основного тексту складає 128 сторінок). Робота

складається із анотацій, вступу, 5 розділів та висновків до них, загальних висновків, списку використаних джерел та 14 додатків. Дисертацію проілюстровано 32 таблицями та 25 рисунками. Список використаних джерел налічує 185 найменувань, з яких 89 латиною.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** обґрунтовано вибір теми дисертаційної роботи, визначено її мету та задачі, вказано об'єкт, предмет та методи дослідження, його наукову новизну і практичне значення одержаних результатів, особистий внесок здобувача, а також наведено відомості про впровадження та апробацію результатів дослідження, обсяг та структуру роботи.

У розділі 1 **«Аспекти використання лікарських грибів та створення засобів на їх основі (Огляд літератури)»** узагальнено дані джерел інформації щодо історичного досвіду застосування засобів на основі ЛГ при фармакотерапії різних станів, морфологічних особливостей, хімічного складу та фармакологічних властивостей ЛГ *F. velutipes*. Показано здатність різноманітних БАР гриба чинити імунomodуючу, антиоксидантну, гіпотензивну, протівірусну та ін. активності. Встановлено, що на українському ринку низька частка препаратів на основі ЛГ. Обґрунтовано доцільність наукового напрямку фармако-технологічних досліджень з використанням біомаси *F. velutipes* у якості АФІ для розробки ЛЗ у формі таблеток.

Розділ 2 **«Загальна методологія досліджень. Об'єкти і методи»** містить опис АФІ та ДР, поживних середовищ, лікарської форми – таблеток, їх фізико-хімічні властивості. Подано інформацію щодо використаних методик біотехнологічного культивування, фізичних та фізико-хімічних, фармакологічних, мікробіологічних, фармако-технологічних досліджень з наведенням відомостей про використані обладнання та реактиви. Статистична обробка результатів експериментальних досліджень проведена за допомогою методів математичної статистики відповідно до вимог ДФУ 2.0 за допомогою програм «STATISTICA® for Windows 6.0» та «Microsoft Office Excel 2010» за критерієм Ст'юдента (t_{st}) з рівнем статистичної значущості $p \leq 0,05$.

У розділі 3 **«Особливості технологічного процесу мікробіологічного культивування міцеліальної біомаси *Flammulina velutipes* та її дослідження»** представлені результати досліджень процесу культивування біомаси ЛГ *F. velutipes* на поживних середовищах (відходах харчової (макаронного та мукомольного виробництва) та олійно-екстракційної промисловостей (СО₂-шроти та шроти холодного віджиму). За рівнем утворення біомаси поживні середовища «Крихта» та СО₂-шрот амаранту обрано для вивчення росту ЛГ в умовах глибинної та поверхневої культури у порівнянні із контрольним глюкозо-пептонно-дріжджевим (ГПД) середовищем (рис. 1 та рис. 2). Оскільки, застосування поверхневого культивування дозволило отримати більш ніж удвічі вищий вихід біомаси та високі показники вмісту амінокислот (у 1,41 разів вищий сумарний вміст порівняно із глибинною культурою), цей метод обрано як оптимальний (температура – 26 ± 2 °C; рН середовища – 6,0; тривалість культивування – 14 діб).

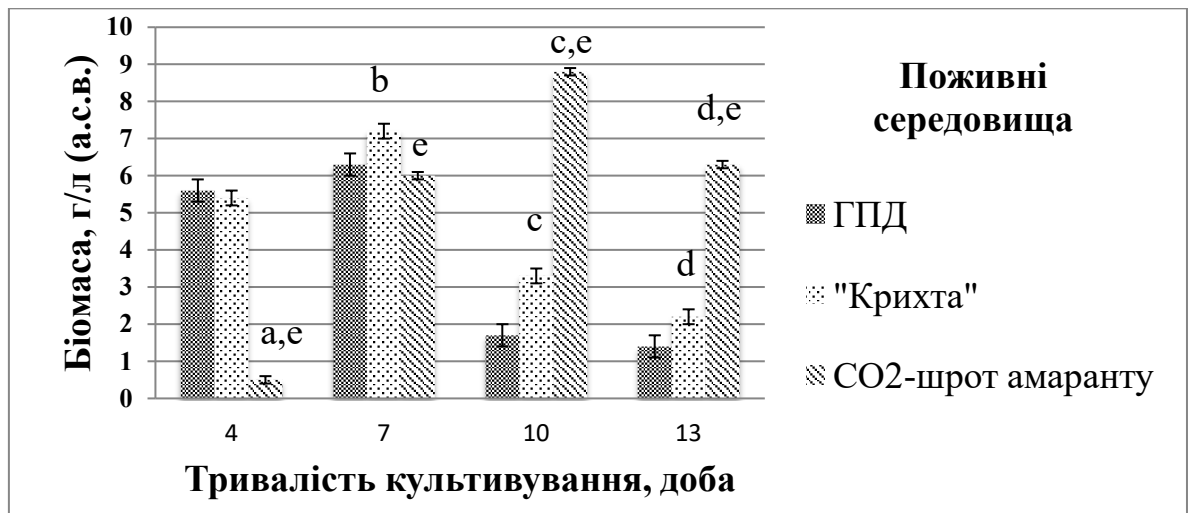


Рис. 1 Динаміка накопичення біомаси *F. velutipes* при глибинному культивуванні на рідких поживних середовищах

Примітки: 1. а – $p < 0,05$ порівняно з поживним середовищем ГПД на 4-ту добу росту; 2. b – $p < 0,05$ порівняно з поживним середовищем ГПД на 7-ту добу росту; 3. с – $p < 0,05$ порівняно з поживним середовищем ГПД на 10-ту добу росту; 4. d – $p < 0,05$ порівняно з поживним середовищем ГПД на 13-ту добу росту; 5. е – $p < 0,05$ порівняно з поживним середовищем «Крихта» відповідно на 4, 7, 10 та 13 добу росту; 6. а.с.в. – абсолютно суха вага.

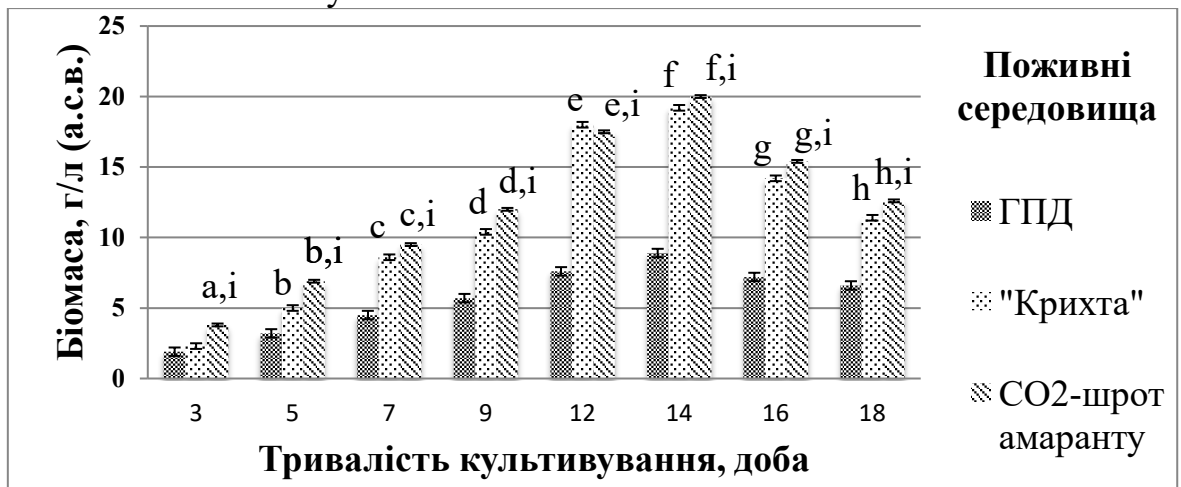


Рис. 2 Динаміка накопичення біомаси *F. velutipes* при поверхневому культивуванні на рідких поживних середовищах

Примітки: 1. а – $p < 0,05$ порівняно з поживним середовищем ГПД на 3 добу росту; 2. b – $p < 0,05$ порівняно з поживним середовищем ГПД на 5 добу росту; 3. с – $p < 0,05$ порівняно з поживним середовищем ГПД на 7 добу росту; 4. d – $p < 0,05$ порівняно з поживним середовищем ГПД на 9 добу росту; 5. е – $p < 0,05$ порівняно з поживним середовищем ГПД на 12 добу росту; 6. f – $p < 0,05$ порівняно з поживним середовищем ГПД на 14 добу росту; 7. g – $p < 0,05$ порівняно з поживним середовищем ГПД на 16 добу росту; 8. h – $p < 0,05$ порівняно з поживним середовищем ГПД на 18 добу росту; 9. i – $p < 0,05$ порівняно з поживним середовищем «Крихта» відповідно на 3, 5, 7, 9, 12, 14, 16, 18 добу росту; 10. а.с.в. – абсолютно суха вага.

Визначено, що біомаса *F. velutipes* належить до IV класу токсичності (малотоксичні речовини). При однократному внутрішньошлунковому введенні у лімітуючій дозі патологічних змін у внутрішніх органах та головному мозку мишей макроскопічно не виявлено. Дослідження периферійної крові піддослідних тварин за умов введення біомаси *F. velutipes* у 5 дозуваннях не призводить до негативних змін показників та може свідчити про відсутність токсичної дії на організм.

У розділі 4 «Обґрунтування складу та розробка технології таблеток з сухим порошком біомаси *Flammulina velutipes*» представлено результати досліджень з розробки складу та технології таблеток з СПБ *F. velutipes*. Висушену біомасу подрібнено (30 та 35 с) до одержання візуально однорідної маси жовтувато-бурого кольору. Результати визначень фармако-технологічних параметрів СПБ *F. velutipes* наведено у табл. 1. Встановлено оптимальний час подрібнення сухої біомаси ЛГ – 30 с. Порошок має задовільне значення плинності відповідно до класифікації Карра.

Таблиця 1

Фармако-технологічні показники СПБ *F. velutipes* (n = 5)

№ з/п	Показники, що вивчались	Результати	№ з/п	Показники, що вивчались	Результати
СПБ <i>F. velutipes</i> (тривалість подрібнення – 30 с)					
1	Насипний об'єм (V_0), мл	$215,0 \pm 5,0$	2	Насипний об'єм після усадки (V_{10}), мл	$204,0 \pm 6,0$
3	Насипний об'єм після усадки (V_{500}), мл	$173,0 \pm 3,0$	4	Насипний об'єм після усадки (V_{1250}), мл	$173,0 \pm 3,0$
5	Насипна густина (P), г/мл	$0,463 \pm 0,01$	6	Насипна густина після усадки ($P_{\text{tapped } 1250}$), г/мл	$0,576 \pm 0,01$
7	Показник стисливості ($P_{\text{ст}}$), %	$19,8 \pm 0,7$	8	Коефіцієнт Гауснера (K_{Γ})	$1,25 \pm 0,01$
9	Кут природного укосу, ° (град.)	$39,0 \pm 1,0$	10	Сипкість ($V_{\text{п}}$), г/с	$2,9 \pm 0,1$
СПБ <i>F. velutipes</i> (тривалість подрібнення – 35 с)					
1	Насипний об'єм (V_0), мл	$200,4 \pm 1,3$	2	Насипний об'єм після усадки (V_{10}), мл	$182,4 \pm 1,3$
3	Насипний об'єм після усадки (V_{500}), мл	$150,0 \pm 0,8$	4	Насипний об'єм після усадки (V_{1250}), мл	$149,6 \pm 0,9$
5	Насипна густина (P), г/мл	$0,499 \pm 0,003$	6	Насипна густина після усадки ($P_{\text{tapped } 1250}$), г/мл	$0,669 \pm 0,004$
7	Показник стисливості ($P_{\text{ст}}$), %	$25,4 \pm 0,4$	8	Коефіцієнт Гауснера (K_{Γ})	$1,34 \pm 0,01$
9	Кут природного укосу, ° (град.)	$43,4 \pm 1,3$	10	Сипкість ($V_{\text{п}}$), г/с	$3,6 \pm 0,1$

Примітки: 1. $p < 0,05$; 2. n – загальна кількість дослідів.

Технологічну блок-схему виробництва СПБ *F. velutipes* розроблено відповідно до умов промислового виробництва біологічних об'єктів (рис. 3).

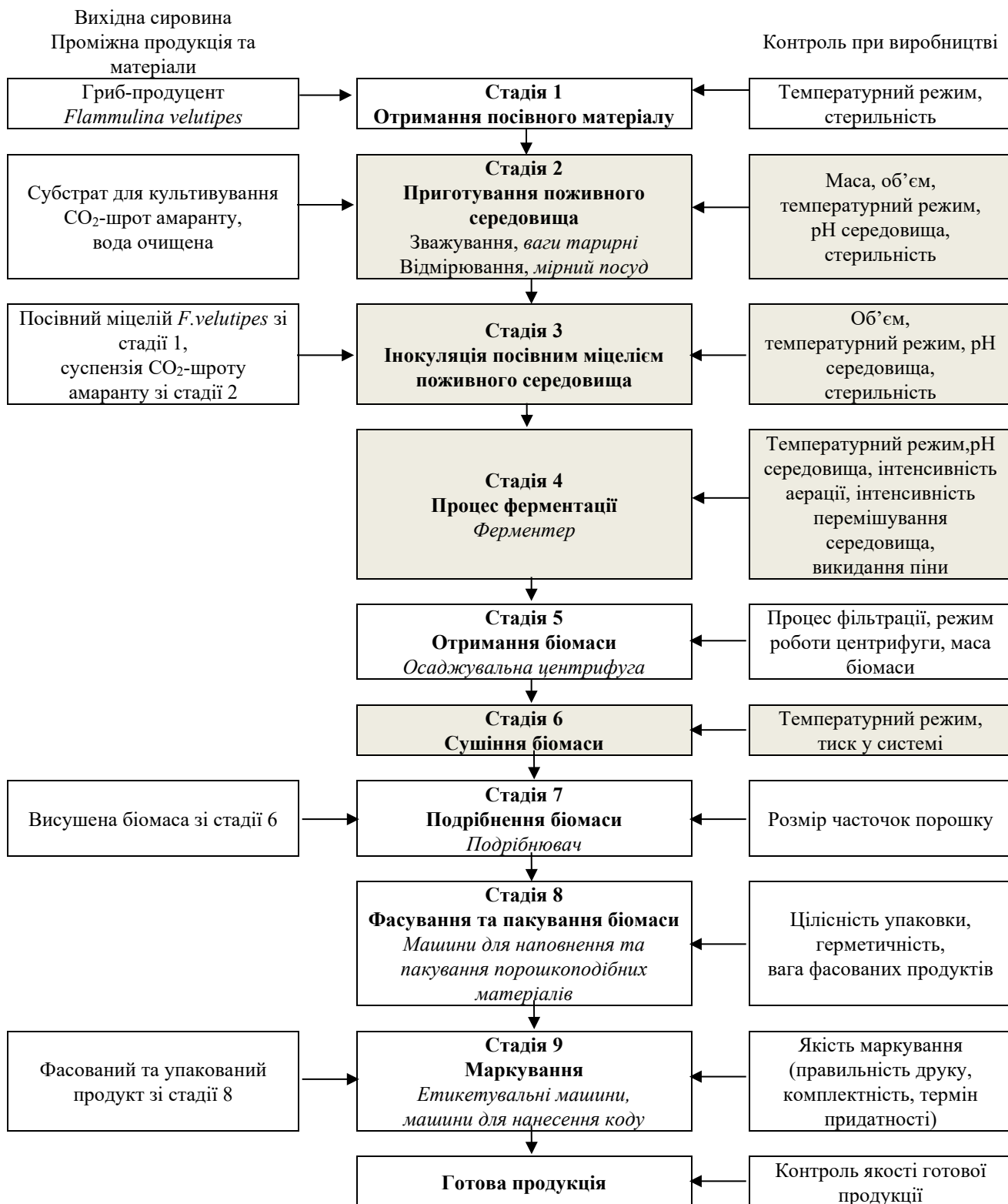


Рис. 3 Технологічна блок-схема виробництва СПБ *F. velutipes*

З метою одержання таблеток до складу таблеткової маси введено 4 групи ДР у кількості 20 % від загальної маси (табл. 2). Для проведення експерименту використано метод математичного планування – вивчення рівнів якісних факторів на основі 4x4 греко-латинського квадрату (табл. 3).

Таблиця 2

Допоміжні речовини, які вивчались при розробці таблеток з СПБ *F. velutipes*

Фактори	Рівні факторів
А – наповнювачі	a ₁ – магнею карбонат a ₂ – цукор білий (крупка цукрова) a ₃ – мікрокристалічна целюлоза 102 a ₄ – кальцію карбонат
В – розпушуючі речовини	b ₁ – крохмаль картопляний висушений b ₂ – глина біла (каолін) b ₃ – полівінілпіролідон b ₄ – крохмаль картопляний висушений:аеросил (1:1)
С – змащувальні та ковзні речовини	c ₁ – тальк c ₂ – кислота стеаринова c ₃ – магнею стеарат c ₄ – поліетиленгліколь 4000 подрібнений
Д – зв'язуючі речовини	d ₁ – без зв'язуючих речовин d ₂ – 20 % розчин полівінілпіролідону d ₃ – 5 % крохмальний клейстер d ₄ – 2 % крохмальний клейстер

Таблиця 3

План експерименту і результати вивчення таблеток з СПБ *F. velutipes*

№	А	В	С	Д	y ₁	y ₁ '	y ₂	y ₂ '	y ₃	y ₃ '	y ₄	y ₄ '	y ₅	y ₅ '
1	a ₁	b ₁	c ₁	d ₁	3	4	2,64	2,91	12,5	11	0,67	0,68	12,83	12,5
2	a ₁	b ₂	c ₂	d ₃	3	2	2,23	2,2	56,5	55,5	1,14	1,07	13,5	13,67
3	a ₁	b ₃	c ₄	d ₄	2	2	1,88	1,89	63,5	64,5	0,93	0,94	15,83	15,67
4	a ₁	b ₄	c ₃	d ₂	3	3	1,69	1,69	40,5	39,5	0,82	0,84	20	19,83
5	a ₂	b ₁	c ₂	d ₂	3	4	1,55	1,74	61,5	62,5	0,23	0,25	13,17	13
6	a ₂	b ₂	c ₁	d ₄	5	5	1,15	1,13	92,5	93	0,17	0,18	11,5	11,33
7	a ₂	b ₃	c ₃	d ₃	4	4	4,02	3,96	68	67,5	0,43	0,41	13,5	13,33
8	a ₂	b ₄	c ₄	d ₁	4	3	2,09	2,13	40	38,5	0,58	0,61	17,5	17,67
9	a ₃	b ₁	c ₃	d ₃	2	2	3,04	3,01	51	50	0,97	0,99	17,17	17
10	a ₃	b ₂	c ₄	d ₁	1	1	3,95	4,09	10	10	10,28	10,46	0,5	0,33
11	a ₃	b ₃	c ₁	d ₂	1	1	4,21	4,24	10	10	9,12	9,26	0,33	0,17
12	a ₃	b ₄	c ₂	d ₄	2	1	3,38	3,37	77	78	0,99	0,97	15,77	15,83
13	a ₄	b ₁	c ₄	d ₄	3	3	1,97	2,07	60,7	59,5	0,41	0,43	14,83	15
14	a ₄	b ₂	c ₃	d ₂	5	5	2,48	2,51	78,5	78,5	0,46	0,47	13	13,17
15	a ₄	b ₃	c ₂	d ₁	3	4	2,24	2,19	39	38,5	0,58	0,6	13,5	13
16	a ₄	b ₄	c ₁	d ₃	4	4	3,99	3,94	10,5	12,5	0,65	0,62	16,33	16

Примітки: 1. y₁ та y₁' – зовнішній вигляд таблеток з СПБ *F. velutipes* 1 і 2 серії, бали; 2. y₂ та y₂' – однорідність маси таблеток з СПБ *F. velutipes* 1 і 2 серії, ± %; 3. y₃ та y₃' – стійкість таблеток з СПБ *F. velutipes* до роздавлювання 1 і 2 серії, N; 4. y₄ та y₄' – стираність таблеток з СПБ *F. velutipes* 1 і 2 серії, %; 5. y₅ та y₅' – розпадання таблеток з СПБ *F. velutipes* 1 і 2 серії, хв.

На підставі результатів множинних порівнянь рівнів досліджуваних факторів з використанням критерію Дункана зроблено висновки щодо впливу досліджуваних ДР на показники якості таблеток з СПБ *F. velutipes*, що вивчалися та запропоновано наступні склади проміжного продукту – таблеткової маси (табл. 4).

Таблиця 4

Склад таблеткової маси для створення ЛЗ з СПБ *F. velutipes*

№ з/п	Речовини	Вміст на 1 таблетку, мг		
		Зразок № 1	Зразок № 2	Зразок № 3
1.	СПБ <i>F. velutipes</i>	800	800	800
2.	Цукор білий (крупка цукрова)	175	150	125
3.	Глина біла (каолін)	5	10	15
4.	Кислота стеаринова	10	10	10
5.	2 % крохмальний клейстер	10	30	50
Всього:		1000	1000	1000

Порівняльне дослідження зразків таблеткових мас (грануляту) проведено після пресування за показниками фармако-технологічних параметрів одержаних таблеток: середня маса, стійкість до роздавлювання, розпадання (табл. 5).

Таблиця 5

Порівняльні значення фармако-технологічних параметрів таблеток з СПБ *F. velutipes* (n = 5)

№ з/п	Показники, що вивчалися	Результати досліджень		
		Зразок № 1	Зразок № 2	Зразок № 3
1.	Середня маса, г	1,010 ± 0,008	1,009 ± 0,009	1,006 ± 0,011
2.	Стійкість до роздавлювання, N	50,0 ± 3,5	67,0 ± 2,7 ^a	79,0 ± 4,2 ^{a,b}
3.	Розпадання, хв	11,4 ± 0,4	12,9 ± 0,7 ^a	14,1 ± 1,1 ^a

Примітки: 1. ^a – $p < 0,05$ порівняно зі зразком складу таблеткової маси № 1; 2. ^b – $p < 0,05$ порівняно зі зразком складу таблеткової маси № 2; 3. n – загальна кількість дослідів.

Відповідно до одержаних результатів зразок складу таблеткової маси № 2 обрано для подальшої роботи, адже визначені фармако-технологічні параметри відповідали задовільним критеріям та мали статистично значущу різницю показників у порівнянні із зразками складів таблеткової маси № 1 та № 3.

Зазначені сухі компоненти відважували на технічних вагах, просіювали на ситі та поміщали у проміжні ємності зберігання – полімерні контейнери відповідного об'єму. Зволожувач готували наступним чином – 2,0 крохмалю картопляного розтирали з 6-10 мл води очищеної та додавали до 100 мл киплячої води очищеної, перемішували до утворення гомогенної рідини. СПБ *F. velutipes*, цукор білий (крупку цукрову) та глину білу (каолін) завантажували у гранулятор конічний (сито з розміром отворів $d = 3$ мм) та додавали розчин зв'язуючої речовини. Одержану масу висушували та повторно гранулювали (сито з розміром отворів $d = 1$ мм) у ємнісне обладнання, обпудрювали кислотою стеариновою та піддавали вивченню

після просіювання через систему сит. Результати свідчать про ймовірність отримання таблеток з постійним значенням середньої маси на основі такого складу проміжного продукту.

Визначені фармако-технологічні параметри таблеткової маси (грануляту) дозволили зробити висновок про хороші значення показників відповідно до класифікації Карра (табл. 6).

Таблиця 6

Фармако-технологічні параметри таблеткової маси (грануляту) для створення ЛЗ з СПБ *F. velutipes* (n = 5)

№ з/п	Показники, що вивчались	Результати досліджень
Таблеткова маса – гранулят (після одержання)		
1	Насипна густина, Р (г/мл)	$0,437 \pm 0,003$
2	Насипна густина після усадки, P_{tapped} (V_{1250}) (г/мл)	$0,491 \pm 0,009$
3	Показник стисливості, $P_{\text{ст}}$ (%)	$11,01 \pm 1,50$
4	Коефіцієнт Гауснера, $K_{\text{Г}}$	$1,13 \pm 0,02$
5	Сипкість, $V_{\text{п}}$ (г/с)	$3,60 \pm 0,24$
Таблеткова маса – гранулят (через 7 днів)		
1	Насипна густина, Р (г/мл)	$0,436 \pm 0,001$
2	Насипна густина після усадки, P_{tapped} (V_{1250}) (г/мл)	$0,494 \pm 0,003$
3	Показник стисливості, $P_{\text{ст}}$ (%)	$11,85 \pm 0,43$
4	Коефіцієнт Гауснера, $K_{\text{Г}}$	$1,14 \pm 0,01$
5	Сипкість, $V_{\text{п}}$ (г/с)	$3,70 \pm 0,16$

Примітка. n – загальна кількість дослідів.

Визначені фармако-технологічні параметри таблеток з СПБ *F. velutipes* наведено у табл. 7.

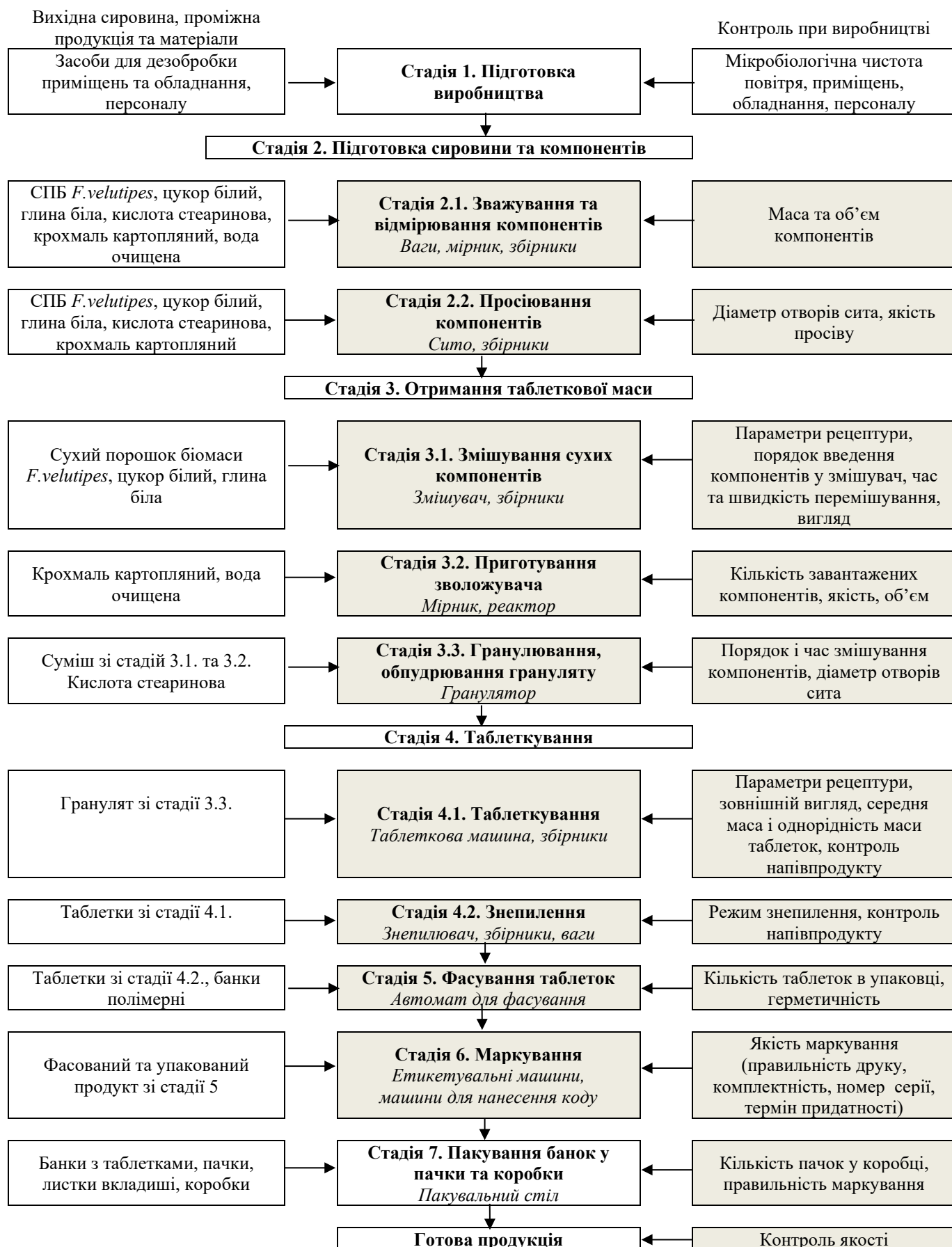
Таблиця 7

Фармако-технологічні параметри таблеток СПБ *F. velutipes* (n = 5)

№ з/п	Показники, що вивчались	Таблетки з СПБ <i>F. velutipes</i>
1.	Середня маса, г	$1,011 \pm 0,010$
2.	Стійкість до роздавлювання, N	$67,60 \pm 3,36$
3.	Стираність, %	$0,36 \pm 0,17$
4.	Розпадання, хв	$12,78 \pm 0,43$

Примітка. n – загальна кількість дослідів.

За результатами досліджень розроблено та опрацьовано технологічну блок-схему промислового виробництва таблеток з СПБ *F. velutipes*, що складається із 7 основних стадій: підготовка виробництва, підготовка сировини та компонентів, отримання таблеткової маси, таблеткування, фасування, маркування, пакування (рис. 4).

Рис. 4 Технологічна блок-схема виробництва таблеток з СПБ *F. velutipes*

Розділ 5 «Дослідження показників якості таблеток з сухим порошком біомаси гриба *Flammulina velutipes*» присвячено вивченню показників якості таблеток з СПБ *F. velutipes* відповідно до вимог нормативної документації. Результати перевірки визначення придатності використання методики випробування на загальне число аеробних мікроорганізмів і дріжджових та плісневих грибів та на окремі види мікроорганізмів (*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, толерантних до жовчі грамнегативних бактерій) показали, що таблетки з СПБ *F. velutipes* не володіють антимікробною дією та при визначенні показника мікробіологічної чистоти ЛЗ можуть бути використані загальноприйняті методики ДФУ 2.0. Результати вивчення показника «мікробіологічна чистота» для таблеток з СПБ *F. velutipes* відповідали вимогам ДФУ 2.0, 5.1.8, Категорія С.

Для контролю якісного та кількісного вмісту діючих речовин (амінокислот) розроблених таблеток з СПБ *F. velutipes* застосовано метод іонообмінної рідинно-колункової хроматографії з використанням автоматичного аналізатора амінокислот. Результати вивчення дозволили зробити висновок про стабільність вмісту БАР у 5 різних серіях таблеток з СПБ *F. velutipes* та запропонувати як критерій якості їх кількісного складу сумарний вміст амінокислот у межах від 117 до 143 мг на одну таблетку масою 1,0 г.

З метою вивчення даних про зміну якісних властивостей ЛЗ з часом проведено вивчення стабільності таблеток з СПБ *F. velutipes*. Було виготовлено 3 серії розроблених таблеток та закладено їх на довгострокове зберігання протягом 15 місяців (час спостереження), за температури (2-8) °C та (15-25) °C у первинній упаковці (банці для упаковки ЛЗ з контролем першого відкриття з поліетилентерефталату відповідно до вимог ТУ У 26.1-19046619-007:2007) (табл. 8, табл. 9).

Зразки таблеток з СПБ *F. velutipes* мали задовільні значення показників за фармако-технологічними параметрами, що вивчалися, ідентифікаційними тестами, кількісним визначенням вмісту діючих речовин, мікробіологічної чистоти. Спостереження показали відсутність таких явищ, як зміна кольору поверхні таблеток та сколу їх країв. Жодне із індивідуальних значень визначеного сумарного вмісту амінокислот у ЛЗ не виходило за допустимі межі відхилення. Статистично значущої різниці між одержаними показниками не виявлено.

Отже, проведені дослідження дозволили рекомендувати термін та умови зберігання таблеток з СПБ *F. velutipes* – 1 рік (час спостереження) у герметично закупореній тарі за температури від 2 до 25 °C, у сухому місці.

На базі НВТОВ «ЕКОМЕД» (м. Київ) проведено дослідно-промислову апробацію технології та МКЯ таблеток з СПБ *F. velutipes*, здійснено напрацювання серій ЛЗ.

Результати вивчення стабільності таблеток з СПБ *F. velutipes* при зберіганні за температури (2-8) °C (n = 5)

Показники, що вивчалися	Термін зберігання (час спостереження)							
	Почат.	1 міс.	2 міс.	3 міс.	6 міс.	9 міс.	12 міс.	15 міс.
Серія 10113								
Опис	Відповідає вимогам проекту МКЯ							
Ідентифікація (амінокисоти)	Відповідає вимогам проекту МКЯ							
Середня маса, г	1,010 ± 0,010	1,006 ± 0,009	1,004 ± 0,009	1,009 ± 0,010	1,012 ± 0,011	1,017 ± 0,012	1,006 ± 0,008	1,008 ± 0,008
Розпадання, хв	12,90 ± 0,40	12,91 ± 0,43	12,74 ± 0,31	12,85 ± 0,41	12,66 ± 0,34	13,10 ± 0,48	13,14 ± 0,48	13,17 ± 0,38
Кількісне визначення (амінокислоти), мг	127,053 ± 2,829	128,774 ± 3,271	130,452 ± 2,539	132,108 ± 1,483	130,854 ± 3,449	131,291 ± 2,675	129,246 ± 2,433	130,975 ± 2,997
Мікробіологічна чистота	Відповідає вимогам проекту МКЯ							
Серія 20113								
Опис	Відповідає вимогам проекту МКЯ							
Ідентифікація (амінокисоти)	Відповідає вимогам проекту МКЯ							
Середня маса, г	1,014 ± 0,012	1,014 ± 0,015	1,011 ± 0,012	1,005 ± 0,011	1,011 ± 0,012	1,017 ± 0,012	1,008 ± 0,010	1,004 ± 0,012
Розпадання, хв	12,84 ± 0,63	12,65 ± 0,64	12,81 ± 0,52	12,66 ± 0,43	12,73 ± 0,48	13,02 ± 0,57	13,09 ± 0,66	13,06 ± 0,66
Кількісне визначення (амінокислоти), мг	132,730 ± 2,285	130,274 ± 3,620	129,767 ± 3,426	128,389 ± 2,546	129,332 ± 3,216	130,611 ± 2,131	129,716 ± 3,183	129,156 ± 3,705
Мікробіологічна чистота	Відповідає вимогам проекту МКЯ							
Серія 30113								
Опис	Відповідає вимогам проекту МКЯ							
Ідентифікація (амінокисоти)	Відповідає вимогам проекту МКЯ							
Середня маса, г	1,014 ± 0,011	1,015 ± 0,013	1,012 ± 0,014	1,008 ± 0,013	1,015 ± 0,013	1,017 ± 0,014	1,009 ± 0,011	1,007 ± 0,009
Розпадання, хв	12,81 ± 0,65	12,72 ± 0,50	13,02 ± 0,61	12,76 ± 0,59	12,85 ± 0,38	13,02 ± 0,54	13,02 ± 0,61	13,26 ± 0,54
Кількісне визначення (амінокислоти), мг	129,074 ± 3,057	130,397 ± 2,240	130,373 ± 2,561	131,384 ± 3,203	130,533 ± 2,250	129,424 ± 3,684	128,769 ± 3,246	129,424 ± 3,742
Мікробіологічна чистота	Відповідає вимогам проекту МКЯ							

Примітка. n – загальна кількість дослідів.

Результати вивчення стабільності таблеток з СПБ *F. velutipes* при зберіганні за температури (15-25) °C (n = 5)

Показники, що вивчалися	Термін зберігання (час спостереження)							
	Почат.	1 міс.	2 міс.	3 міс.	6 міс.	9 міс.	12 міс.	15 міс.
Серія 10113								
Опис	Відповідає вимогам проекту МКЯ							
Ідентифікація (амінокисоти)	Відповідає вимогам проекту МКЯ							
Середня маса, г	1,011 ± 0,010	1,012 ± 0,008	1,012 ± 0,009	1,008 ± 0,010	1,009 ± 0,011	1,010 ± 0,010	1,005 ± 0,011	1,004 ± 0,005
Розпадання, хв	12,78 ± 0,43	12,68 ± 0,37	12,95 ± 0,41	12,98 ± 0,38	12,87 ± 0,56	13,02 ± 0,41	13,29 ± 0,49	13,33 ± 0,37
Кількісне визначення (амінокислоти), мг	134,256 ± 0,665	130,271 ± 1,738	128,526 ± 2,371	130,046 ± 3,698	129,682 ± 2,994	132,062 ± 2,991	128,947 ± 3,451	129,710 ± 3,648
Мікробіологічна чистота	Відповідає вимогам проекту МКЯ							
Серія 20113								
Опис	Відповідає вимогам проекту МКЯ							
Ідентифікація (амінокисоти)	Відповідає вимогам проекту МКЯ							
Середня маса, г	1,011 ± 0,010	1,010 ± 0,010	1,009 ± 0,013	1,010 ± 0,011	1,005 ± 0,011	1,007 ± 0,012	1,004 ± 0,008	1,003 ± 0,008
Розпадання, хв	12,60 ± 0,56	12,77 ± 0,62	12,83 ± 0,53	12,93 ± 0,49	13,07 ± 0,54	13,08 ± 0,72	13,13 ± 0,44	13,23 ± 0,49
Кількісне визначення (амінокислоти), мг	131,538 ± 2,098	131,154 ± 2,350	130,127 ± 3,141	130,814 ± 1,892	130,247 ± 2,485	129,766 ± 1,893	128,036 ± 2,213	128,239 ± 2,686
Мікробіологічна чистота	Відповідає вимогам проекту МКЯ							
Серія 30113								
Опис	Відповідає вимогам проекту МКЯ							
Ідентифікація (амінокисоти)	Відповідає вимогам проекту МКЯ							
Середня маса, г	1,011 ± 0,012	1,008 ± 0,011	1,009 ± 0,011	1,007 ± 0,013	1,010 ± 0,008	1,005 ± 0,008	1,004 ± 0,014	1,002 ± 0,020
Розпадання, хв	12,77 ± 0,54	12,88 ± 0,50	12,86 ± 0,50	12,91 ± 0,54	13,16 ± 0,77	13,08 ± 0,60	13,27 ± 0,49	13,20 ± 0,57
Кількісне визначення (амінокислоти), мг	130,175 ± 2,951	129,109 ± 3,453	129,629 ± 3,664	129,501 ± 3,908	130,210 ± 1,890	129,620 ± 2,457	127,329 ± 2,949	129,871 ± 2,380
Мікробіологічна чистота	Відповідає вимогам проекту МКЯ							

Примітка. n – загальна кількість дослідів.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

Розроблено алгоритм створення ЛЗ на основі медичних грибів, запропоновано біотехнологічне культивування гриба *F. velutipes* та отримання сухого порошку його біомаси, теоретично обґрунтовано та експериментально опрацьовано склад, розроблено технологію промислового виробництва таблеток з СПБ *F. velutipes* та проекти нормативно-технічної документації.

1. Проаналізовано та узагальнено дані джерел літератури, щодо аспектів створення лікарських та лікувально-профілактичних засобів на основі ЛГ. Вивчено ботанічну характеристику, хімічний склад та фармакологічну активність *F. velutipes*. Досліджено зареєстровані в Україні засоби на основі ЛГ. Обґрунтовано перспективність та доцільність створення ЛЗ з *F. velutipes*.

2. Розроблено та запропоновано умови промислового біотехнологічного культивування *F. velutipes*, а саме використання методу поверхневого культивування на поживному середовищі із CO₂-шротом амаранту як оптимальної технології, що дозволяє одержати вихід біомаси на рівні $20,0 \pm 0,8$ г/л з високим вмістом діючих речовин.

Вивчено показники гострої токсичності СПБ *F. velutipes* за умов внутрішньошлункового введення піддослідним тваринам та встановлено, що біомаса ЛГ належить до IV класу токсичності (малотоксичні речовини). Досліджено показники периферійної крові тварин за умов введення 5 дозувань суспензії СПБ *F. velutipes* у воді очищеній та підтверджено відсутність токсичної дії на організм.

3. Визначено фізичні та фармако-технологічні характеристики СПБ *F. velutipes*. Встановлено, що порошок має задовільне значення плинності та володіє фармако-технологічними параметрами, які потребують введення ДР для їх коректування при пресуванні з метою одержання таблеток.

4. Досліджено вплив 4 груп ДР (наповнювачі, розпушуючі, змащувальні та ковзні, зв'язуючі) на фармако-технологічні параметри таблеток з використанням методу математичного планування експерименту (дисперсійний аналіз). На підставі результатів експериментальних досліджень розроблено та опрацьовано склад таблеток з СПБ *F. velutipes*, запропоновано технологію їх виробництва, яка апробована в промислових умовах.

5. Досліджено показники якості таблеток з СПБ *F. velutipes*. Проведено валідацію методики випробування на мікробіологічну чистоту таблеток з СПБ *F. velutipes* та встановлено відповідність критеріям прийнятності ДФУ 2.0. Запропоновано методики ідентифікації та кількісного визначення БАР (амінокислот) у розроблюваних таблетках з використанням методу іонообмінної рідинно-колоночної хроматографії за допомогою автоматичного аналізатора амінокислот.

Вивчено фармако-технологічні, ідентифікаційні та кількісні, мікробіологічні показники стабільності таблеток з СПБ *F. velutipes* та запропоновано термін і умови їх зберігання – 1 рік (час спостереження) у сухому місці, за температури від 2 до 25°C.

6. Розроблено проекти ТУ, МКЯ та ТІ на таблетки з СПБ *F. velutipes*. Технологію виробництва препарату апробовано в промислових умовах НВТОВ «ЕКОМЕД», м. Київ.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях

1. Буткевич Т. А., Попович В. П., Козіко Н. О. Розробка технологічної блок-схеми виробництва сухого порошку біомаси *F. velutipes*. *Фармацевтичний часопис*. 2014. № 4 (32). С. 47–50. (Особистий внесок дисертанта – аналіз літератури, участь у проведенні експериментальних досліджень, розробка технологічної блок-схеми, участь у підготовці публікації до друку).
2. Попович В. П., Козіко Н. О., Буткевич Т. А. Перспективи використання лікарського гриба *Flammulina velutipes* у медичній та фармацевтичній практиці. *Фармацевтичний журнал*. 2015. № 1. С. 70–75. (Особистий внесок дисертанта – аналіз літератури, обробка та узагальнення відомостей, участь у підготовці публікації до друку).
3. Буткевич Т. А., Попович В. П. Порівняльне вивчення амінокислотного складу сухих порошоків біомаси *Flammulina velutipes*, які отримані методами поверхневого та глибинного культивування. *Фармацевтичний часопис*. 2015. № 1 (33). С. 15–17. (Особистий внесок дисертанта – аналіз літератури, обробка та інтерпретація результатів, участь у підготовці публікації до друку).
4. Вивчення вітамінного складу сухих порошоків біомаси *Flammulina velutipes* / Т. А. Буткевич, М. Л. Сятиня, В. П. Попович, Р. І. Козак. *Фармацевтичний журнал*. 2015. № 6. С. 70–75. (Особистий внесок дисертанта – аналіз літератури, обробка та інтерпретація результатів, участь у підготовці публікації до друку).
5. Определение суммарного содержания полисахаридов в сухих порошках биомассы лекарственного гриба *Flammulina velutipes* / Т. А. Буткевич, М. Л. Сятиня, В. П. Попович, Н. А. Козико. *Рецент*. 2015. № 6 (104). С. 54–58. (Особистий внесок дисертанта – аналіз літератури, участь у проведенні експериментальних досліджень, обробка та інтерпретація результатів, участь у підготовці публікації до друку).
6. Сятиня М. Л., Попович В. П., Буткевич Т. А. Жирнокислотний склад сухих порошоків *Flammulina velutipes*, отриманих методами біотехнологічного синтезу. *Ліки України плюс*. 2015. № 2 (23). С. 83–86. (Особистий внесок дисертанта – аналіз літератури, обробка та інтерпретація результатів, участь у підготовці публікації до друку).
7. Буткевич Т. А., Попович В. П. Дослідження показників периферичної крові мишей при пероральному введенні біомаси *Flammulina velutipes*. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика*. 2015. Випуск 24, Книга 5. С. 53–57. (Особистий внесок дисертанта – аналіз літератури, участь у проведенні експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, статистична обробка даних, участь у підготовці публікації до друку).
8. Гостра токсичність сухого порошку біомаси *Flammulina velutipes* / Т. А. Буткевич, М. Л. Сятиня, В. П. Попович, Н. О. Козіко, В. О. Тарасенко. *Збірник*

наукових праць Української військово-медичної академії Проблеми військової охорони здоров'я. 2015. Вип. 44, Том 1. С. 188–193. (Особистий внесок дисертанта – аналіз літератури, участь у проведенні експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, статистична обробка даних, участь у підготовці публікації до друку).

9. Буткевич Т. А., Сятиня М. Л., Попович В. П. Визначення фізичних та фармако-технологічних властивостей сухого порошку біомаси *Flammulina velutipes*. *Фармацевтичний часопис*. 2016. № 2 (38). С. 11–15. (Особистий внесок дисертанта – аналіз літератури, проведення експериментальних досліджень, обробка та інтерпретація результатів, участь у підготовці публікації до друку).

10. Буткевич Т. А., Сятиня М. Л., Попович В. П. Вивчення впливу допоміжних речовин на фармако-технологічні властивості таблеток сухого порошку біомаси *Flammulina velutipes*. *Фармацевтичний часопис*. 2017. № 3 (43). С. 47–51. (Особистий внесок дисертанта – аналіз літератури, проведення експериментальних досліджень, математичне планування експерименту, статистична обробка та інтерпретація результатів, участь у підготовці публікації до друку).

11. Butkevych T. A., Syatynya M. L., Popovych V. P. Technological aspects of tablets creation based on *Flammulina velutipes* biomass dry powder. *Фармацевтичний часопис*. 2018. № 4 (48). С. 14–18. (Особистий внесок дисертанта – аналіз літератури, проведення експериментальних досліджень, обробка та інтерпретація результатів, розробка технологічної блок-схеми, участь у підготовці публікації до друку).

12. Буткевич Т. А., Сятиня М. Л., Попович В. П. Исследование микробиологической чистоты таблеток сухого порошка биомассы *Flammulina velutipes*. *Рецепт*. 2019. Том 22. № 1. С. 64–70. (Особистий внесок дисертанта – аналіз літератури, обробка та інтерпретація результатів, участь у підготовці публікації до друку).

13. Буткевич Т. А., Сятиня М. Л., Попович В. П. Дослідження вмісту амінокислот у таблетках на основі сухого порошку біомаси гриба *Flammulina velutipes*. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 1. С. 60–63. (Особистий внесок дисертанта – аналіз літератури, обробка та інтерпретація результатів, участь у підготовці публікації до друку).

Патент України на корисну модель

14. Біологічно активна субстанція з імуномодуючою активністю : пат. 117165 Україна, МПК (2006): A61K 31/00, A61K 36/00, A01G 1/04 (2006.01); № u201605549; заявл. 23.05.2016; опубл. 26.06.2017, Бюл. № 12. (Особистий внесок дисертанта – здійснення інформаційно-патентного пошуку, обробка та інтерпретація інформації, систематизація даних, участь у підготовці матеріалів).

Тези доповідей

15. Butkevych T. A., Popovych V. P., Koziko N. O. Mycelial and polysaccharides production of *Flammulina velutipes*. *Сучасні досягнення*

фармацевтичної технології і біотехнології: матеріали IV науково-практичної конференції з міжнародною участю 16-17 жовтня 2014 р. Х.: НФаУ, 2014. С. 5.

16. Буткевич Т. А., Попович В. П., Козіко Н. О. Розробка і виробництво фармацевтичних субстанцій методами біотехнологічного синтезу. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої Всесвітньому Дню здоров'я 7-8 квітня 2015 року. К.: НМУ імені О. О. Богомольця, 2015. С. 252.

17. Буткевич Т. А., Попович В. П. Исследование острой токсичности сухого порошка биомассы лекарственного гриба *F. velutipes* при внутрижелудочном введении мышам-самкам. *Проблемы и перспективы развития современной медицины: сборник научных статей VII Республиканской научно-практической конференции с международным участием студентов и молодых ученых* 23-24 апреля 2015 г. Гомель: ГомГМУ, 2015. Том 1. С.102–103.

18. Буткевич Т. А., Попович В. П. Визначення жирнокислотного складу сухого порошку *Flammulina velutipes* отриманого методом глибинного культивування. *XIX Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених присвячений пам'яті ректора, члена-кореспондента НАМН України, професора Леоніда Якимовича Ковальчука* 27-29 квітня 2015 р. 2015. Тернопіль: Укрмедкнига. С. 342.

19. Буткевич Т. А., Сятиня М. Л., Попович В. П. Біомаса лікарського гриба *Flammulina velutipes* як біологічно-активна субстанція. *Pharmacology, Pharmaceutical Technology and Pharmacotherapy in Active Longevity: book of abstracts of the II International Scientific Conference* November 12, 2015. Vilnius: OIHN, 2015. P. 25–26.

20. Буткевич Т. А., Сятиня М. Л., Попович В. П. Визначення фракційного складу порошку біомаси лікарського гриба *Flammulina velutipes*. *Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку*: матеріали I наук.-практ. інтернет-конференції з міжнародною участю 24-25 березня 2016 р. Х.: НФаУ, 2016. С. 42.

21. Буткевич Т. А. Кристаллографическая характеристика порошка биомассы лекарственного гриба *Flammulina velutipes*. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации 2016: сборник тезисов докладов LXX Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых* 20-22 апреля 2016 г. Минск: БГМУ, 2016. С. 1284.

22. Буткевич Т. А., Сятиня М. Л., Попович В. П. Вибір допоміжних речовин при створенні лікарської форми на основі біомаси гриба *Flammulina velutipes*. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи*: матеріали VIII Національного з'їзду фармацевтів України 13-16 вересня 2016 р. Міністерство охорони здоров'я України, Нац. Фармац. Ун-т. Харків: НФаУ, 2016. Т.1. С. 329.

23. Буткевич Т. А., Попович В. П. Перевірка придатності методики визначення загального числа життєздатних аеробних мікроорганізмів та дріжджових і плісневих грибів для дослідження мікробіологічної чистоти таблеток сухого порошку біомаси *Flammulina velutipes*. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології*: матеріали VI науково-практичної конференції з міжнародною участю 13 жовтня 2017 р. Х.: НФаУ, 2017. С. 48–50.

24. Буткевич Т. А., Сятиня М. Л., Попович В. П. Вивчення фармако-технологічних властивостей засобу на основі сухого порошку біомаси *Flammulina velutipes* у процесі зберігання. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських засобів*: матеріали III міжнародної науково-практичної дистанційної конференції 1 березня 2019 р. Х.: НФаУ, 2019. С. 40–42.

АНОТАЦІЯ

Буткевич Т. А. Розробка складу, технології та дослідження таблеток з сухим порошком біомаси *Flammulina velutipes*. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.01 – технологія ліків, організація фармацевтичної справи та судова фармація. – Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, Міністерство охорони здоров'я України, Київ, 2020.

Дисертаційну роботу присвячено комплексному фармако-технологічному вивченню з розробки складу, технології та дослідження таблеток з СПБ *F. velutipes*. Розроблено та запропоновано метод біотехнологічного культивування біомаси гриба *F. velutipes*. Вивчено фізичні, фармако-технологічні параметри СПБ *F. velutipes*, таблеткової маси та таблеток з СПБ *F. velutipes*, досліджено їх залежність від вмісту ряду ДР. Проведено валідацію методики випробування на мікробіологічну чистоту таблеток з СПБ *F. velutipes* відповідно до вимог ДФУ 2.0. Вивчено та запропоновано методики ідентифікації та кількісного визначення загального вмісту БАР у розроблених таблетках. Встановлено показники якості таблеток при зберіганні, запропоновано термін їх придатності. Розроблено проекти ТУ, МКЯ та ТІ на таблетки з СПБ *F. velutipes*, технологію їх виробництва апробовано в промислових умовах.

Ключові слова: лікарські гриби, *Flammulina velutipes*, біотехнологічне культивування, сухий порошок біомаси, таблетки, технологія.

АННОТАЦИЯ

Буткевич Т. А. Разработка состава, технологии и исследование таблеток с сухим порошком биомассы *Flammulina velutipes*. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.01 – технология лекарств, организация фармацевтического дела и судебная фармация. – Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, Министерство здравоохранения Украины, Киев, 2020.

Диссертационная работа посвящена комплексному фармако-технологическому изучению по разработке состава, технологии и исследования таблеток с СПБ *F. velutipes*. Разработан и предложен метод биотехнологического культивирования биомассы гриба *F. velutipes*. Изучены физические, фармако-технологические параметры СПБ *F. velutipes*, таблеточной массы и таблеток с СПБ

F. velutipes, исследована их зависимость от содержания ряда вспомогательных веществ. Проведено валидацию методики испытания на микробиологическую чистоту таблеток с СПБ *F. velutipes* в соответствии с требованиями ГФУ 2.0. Изучены и предложены методики идентификации и количественного определения общего содержания БАВ в разработанных таблетках. Установлены показатели качества таблеток во время хранения, предложено срок их годности. Разработаны проекты ТУ, МКК и ТИ на таблетки с СПБ *F. velutipes*, технология их производства апробирована в промышленных условиях.

Ключевые слова: лекарственные грибы, *Flammulina velutipes*, биотехнологическое культивирование, сухой порошок биомассы, таблетки, технология.

SUMMARY

Butkevych T. A. Development of composition, technology and study of tablets with *Flammulina velutipes* biomass dry powder. – Qualifying scientific work with the manuscript copyright.

The thesis for a candidate of pharmaceutical science degree in specialty 15.00.01 «Drugs technology, organization of pharmacy and judicial pharmacy». – Bogomolets National Medical University, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, 2020.

Thesis is devoted to the complex pharmaco-technological research to the development of the composition, technology and study of tablets with *Flammulina velutipes* biomass dry powder.

The search for new sources of biologically active substances, their research, development of effective and safe preparations of natural origin remain the actual tasks of modern medicine and pharmacy.

Medicinal mushrooms (basidiomycetes) are a powerful source of useful physiologically active compounds, but they are almost unused in the practice of domestic traditional medicine. A work on studying the potential of their application as objects with a wide range of therapeutic actions is carried out in recent years in Ukraine.

The optimum conditions of the *Flammulina velutipes* biotechnological cultivation using a promising alternative liquid culture medium have been established: 60 g of amaranth flour, 1L of distilled water; (26 ± 2) °C temperature; 6,0 pH value; 14 days (cultivation in static conditions) and 10 days (submerged culture).

Comparative determination of the *Flammulina velutipes* biomass dry powder's biologically active substances content has been carried out. The method of cultivation in static conditions has been proposed to use. The yield of biomass has been observed at the level of 20.0 ± 0.8 g/l (2.27 times more compared to submerged culture), it contains in 1.41 times more amino acids (essential in 1.27 times, replaceable in 1.46 times) compared to the biomass dry powder obtained in submerged culture.

The study of the *Flammulina velutipes* biomass dry powder's acute toxicity in the condition of intragastric administration to mice has been carried out. It has been established that the substance belongs to the low-toxic substances. Peripheral blood

parameters under conditions of intragastric administration of *Flammulina velutipes* biomass dry powder's suspension have been investigated.

The physical and pharmaco-technological properties of *Flammulina velutipes* biomass dry powder have been identified. It has been established that *Flammulina velutipes* biomass dry powder obtained during crushing for 30 seconds has a satisfactory values of flowability.

The influence of four groups of excipients on pharmaco-technological properties of tablets with *Flammulina velutipes* biomass dry powder has been found. The method of mathematical experiment planning has been used.

Optimal representatives of the studied groups of excipients (sugar, kaolin, stearic acid, 2 % starch paste) have been selected for the production of tablets with *Flammulina velutipes* biomass dry powder by the method of compression with the previous wet granulation.

The composition of tablets containing 800 mg of *Flammulina velutipes* biomass dry powder, 150 mg of fillers, 10 mg of disintegrants, 10 mg of lubricants and glidants, 30 mg of binders per 1,0 g tablet has been developed and processed.

The pharmaco-technological properties of tablet mass – granulate and tablets with *Flammulina velutipes* biomass dry powder have been studied. It has been established that the addition of excipients and wet granulation method usage allow to obtain an intermediate product (tablet mass) that undergoes a tableting process to produce a qualitative finished product of satisfactory appearance and a constant average mass.

The examination of the suitability of microbiological purity test method has been carried out. The results showed that tablets with *Flammulina velutipes* biomass dry powder does not provide antimicrobial activity. Commonly accepted methods of State Pharmacopoeia of Ukraine 2.0 can be used to determine the microbiological purity of the product.

The correspondence of the tablets with *Flammulina velutipes* biomass dry powder microbiological purity according to the criteria of acceptability of State Pharmacopoeia of Ukraine 2.0., 5.1.8 category C has been established.

The methods of identification and quantitative determination of biologically active substances (amino acids) in tablets with *Flammulina velutipes* biomass dry powder have been proposed. The total content of amino acids, which lies in the range from 117 to 143 mg per one tablet weighing 1.0 g, has been chosen as a criterion for the quality control of the developed tablets.

A specification for the quality control of the tablets with *Flammulina velutipes* biomass dry powder has been composed.

The stability of tablets with *Flammulina velutipes* biomass dry powder during storage for 15 months in polymeric container has been demonstrated.

The projects of technical conditions, quality control methods and technological instruction for the production of tablets with *Flammulina velutipes* biomass dry powder have been developed.

The technology for the production of tablets with *Flammulina velutipes* biomass dry powder in industrial conditions has been developed and tested on the basis of Scientific and Production Limited Liability Company «ECOMED» (Kyiv).

Based on complex physical, chemical, pharmacological, microbiological, pharmaco-technological researches the composition and technology of tablets with *Flammulina velutipes* biomass dry powder have been theoretically substantiated and developed.

The results of researches have been introduced into the research work and educational process of related higher educational institutions of Ukraine.

Key words: medicinal mushrooms, *Flammulina velutipes*, biotechnological cultivation, biomass dry powder, tablets, technology.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АФІ	— активний фармацевтичний інгредієнт
БАР	— біологічно-активні речовини
ГПД	— глюкозо-пептонно-дріжджеве середовище
ДР	— допоміжні речовини
ДФУ	— Державна фармакопея України
ЛГ	— лікарський гриб
ЛЗ	— лікарський засіб
МКЯ	— методи контролю якості
НВТОВ	— Науково-виробниче товариство з обмеженою відповідальністю
НМУ	— Національний медичний університет
СПБ	— сухий порошок біомаси
ТІ	— технологічна інструкція
ТУ	— технічні умови