

Створення лінії інноваційних біологічно активних продуктів для медицини, харчової промисловості та сільського господарства

Создание линии инновационных биологически активных продуктов для медицины, пищевой промышленности и сельского хозяйства

Creating a line of innovative biologically active products for medicine and food industry

- 1. Номер державної реєстрації, номер реєстрації в університеті:** 0117U002390,
- 2. Науковий керівник:** Дуган Олексій Мартем'янович, д.б.н, професор, Дуган Алексей Мартемьянович д.б.н., профессор , Dugan Oleksiy M., Doctor of Science, professor.
- 3. Суть розробки, основні результати.**

(укр)

Розроблено біопрепарати на основі функціонально - активних штамів бактерій *p.Lactobacillus*, *p.Streptomyces* та грибів *p. Eremothecium*, *Trametes* та *Polyporus*

Бівалентний пробіотик на основі біосумісних штамів *L. rhamnosus LB3* та *L. delbrueckii subsp.delbrueckii* з високими показниками біотерапевтичної активності (антагонізм, адгезивність, кислотоутворення та резистентність до певних груп антибіотиків) та унікальними властивостями такими як: антиоксидантна дія, здатність забезпечувати генопротекторний захист та потенційна біотерапевтична активність щодо ряду системних захворювань. Препарат розроблено як лікувально – профілактичний засіб з поліфункціональною біотерапевтичною дією..

Природний імуномодулятор на основі ферментолізату штама *L. delbrueckii subsp.delbrueckii LB86*. Механізм імуномодулюючої дії препарату здійснюється за рахунок ефективної активації факторів вродженого імунітету та клітинної імунної відповіді, що направлені на захист організму від багатьох інфекційно - запальних хвороб. Ферментолізат розроблено як імуномодулюючий засіб для створення лінії лікувально-профілактичної косметики.

Комплексний препарат на основі лізату молочнокислих бактерій та етілтіосульфанілату – хімічного аналогу фітонцидів часнику, який поєднує ефективні властивості імуномодулятора з фунгіцидною активністю. Досліджено фармакодинаміку етілтіосульфанілата щодо збудника мікозів - *C. tropicales*. Препарат розроблено для лікування мікозів шкіри та слизових оболонок кандидозної етіології.

Функціонально - активна субстанція міцелію базидієвих грибів *p.Trametes* та *p. Polyporus*, як складова функціональних продуктів харчування з імуномодулюючими, гепатопротекторними, антибактеріальними та антивірусними властивостями.

Вітамін B2 та ефірна олія - продукти біотехнологічного походження, розроблені як складова функціональних продуктів та кормів на основі штаму *E.ashbyi* F-340. Розроблено науково обґрунтовану технологію отримання рибофлавіну та ефірної олії з ароматом троянди з використанням вітчизняної відновлюваної сировини.

Антисептичні матеріали з поліфункціональною активністю на основі мікробних ферментів штаму *Streptomyces albus*. Розроблено рідку та м'яку лікувальні форми поліфункціональних препаратів-антисептиків на основі літичних ферментів та антибіотиків, що виявляють стафілолітичну активність і фунгістатичну дію. Препарати антисептики здатні пригнічувати утворення біоплівок бактеріальних патогенів та пришвидчувати очищення, грануляцію та загоєння інфікованих ран.

(Ros)

Разработаны биопрепараты на основе функционально - активных штаммов бактерий *p.Lactobacillus*, *p.Streptomyces* и грибов г. *Eremothecium*, *Trametes* и *Polyporus*:

Бивалентный пробиотик на основе биосовместимых штаммов *L. rhamnosus* LB3 и *L. delbrueckii subsp.delbrueckii* с высокими показателями биотерапевтической активности (антагонизм, адгезивность, кислотообразования и резистентность к определенным группам антибиотиков) та уникальными свойствами такими как: антиоксидантное действие, генопротекторная защита и потенциальная биотерапевтическая активность в отношении ряда системных заболеваний. Препарат разработан как лечебно - профилактическое средство с полифункциональным биотерапевтическим действием.

Природный иммуномодулятор на основе ферментолизата штамма *L. delbrueckii subsp.delbrueckii* LB86. Механизм иммуномодулирующего действия препарата осуществляется за счет эффективной активации факторов врожденного иммунитета и клеточного иммунного ответа, направленных на защиту организма от многих инфекционно - воспалительных болезней. Лизат разработан как иммуномодулирующее средство для создания линии лечебно-профилактической косметики.

Комплексный препарат на основе лизата молочнокислых бактерий и этилтиосульфанилату - химического аналога фитонцидов чеснока, который сочетает эффективные свойства иммуномодулятора с фунгицидной активностью. Исследована фармакодинамика этилтиосульфанилата в отношении возбудителя микозов - *C. tropicales*. Препарат разработан для лечения микозов кожи и слизистых оболочек кандидозной этиологии.

Функционально - активная субстанция мицелия базидиевых грибов р.*Trametes* и р.*Polyporus*, для функциональных продуктов с иммуномодулирующими, гепатопротекторными, антибактериальными и противовирусными свойствами.

Витамин B2 и эфирное масло - продукты биотехнологического происхождения на основе штамма *E.ashbyi* F-340, как составляющая функциональных продуктов и кормов. Разработана научно обоснованная технология получения рибофлавина и эфирного масла с ароматом розы с использованием отечественной возобновляемого сырья

Антисептики с полифункциональной активностью на основе микробных ферментов продуцента *Streptomyces albus*. Разработаны жидкая и мягкая лечебные формы полифункциональных препаратов – антисептиков на основе литических ферментов и антибиотиков, которые проявляют стафилолитическую активность и фунгистатическое действие. Препараты антисептики способны подавлять образование биопленок бактериальных патогенов и ускорять очистку, грануляцию и заживления инфицированных ран.

(англ)

Biologicals based on functionally active bacterial strains of *Lactobacillus*, *Streptomyces* and *Eremothecium*, *Trametes* and *Polyporus* fungi have been developed

A **bivalent probiotic** based on biocompatible strains of *L. rhamnosus* LB3 and *L. delbrueckii subsp.delbrueckii*, which, along with high rates of biotherapeutic activity (antagonism, adhesion, acidity and resistance to certain groups of antibiotics), possesses unique properties, such as antioxidant effect, ability to exert gene protection and potential biotherapeutic activity against a number of systemic diseases. The drug is designed as a therapeutic and prophylactic agent with multifunctional biotherapeutic action. On the basis of the conducted researches the recommendations on creation of probiotic preparations with the given biotherapeutic properties taking into account the indicators of the health status of the consumer were developed.

Natural immunomodulator based on fermentolysate of *L. delbrueckii subsp.delbrueckii* LB86, whose immunomodulatory mechanism is carried out due to effective activation of innate immunity factors and cellular immune response aimed at protecting the body against many infectious and inflammatory diseases. The drug is designed as an immunomodelling agent to create a line of therapeutic and prophylactic cosmetics.

Complex drug based on lysate of lactic acid bacteria and ethylthiosulfanilate, a chemical analogue of garlic phytoncides, which combines the effective properties of the immunomodulator with fungicidal activity. The pharmacodynamics of the antiseptic ethylthiosulfanilate in relation to the mycosis pathogen *C. tropicales* has been investigated. The drug is designed to treat mycosis of the skin and mucous membranes of candidal etiology.

Functionally active substance of mycelium of basidium fungi of *Trametes* and *Polyporus* as a component of functional products with immunomodulatory, hepatoprotective, antibacterial and antiviral properties.

Vitamin B2 and essential oil — products of biotechnological origin, developed as a component of functional products and feed. Based on experimental research, a scientifically sound technology for producing riboflavin and essential oil with rose aroma was developed using *E.ashbyi* F-340 as a producer of domestic renewable raw materials.

Antiseptic materials with polyfunctional activity based on microbial enzymes of *Streptomyces albus* strain. Liquid and semi-solid dosage forms of multifunctional antiseptic preparations based on lytic enzymes and antibiotics of streptomycetes have been developed, which have a staphyolytic and fungistatic effect, inhibit the formation of biofilms of bacterial pathogens and accelerate purification, granulation and healing of infected wounds.

4. Наявність охоронних документів на об'єкти права інтелектуальної власності

- Патент України № 120389 на корисну модель // Барда мелясна як поживне середовище для культивування лікарських грибів, автори Іванова Т.С., Тітова Л.О., Бісько Н.А., Новак А.Г., Циганков С.П., Клечак І.Р. , дата публікації 25.10.2017р., Бюл. № 20 .
- Патент України на корисну модель № 136779 «Антимікробна фармацевтична композиція», автори Тодосійчук Т.С., Тодосійчук Д.С., Покас О.В., Клечак І.Р. ; власник Тодосійчук Т.С. (право власності передано КПІ ім. Ігоря Сікорського), дата публікації 27.08.2019 р., Бюл. № 16.

5. Порівняння зі світовими аналогами.

В Україні не налагоджено виробництво біопрепаратів, що розроблялися. Впровадження таких виробництв сприятиме імпортозаміщенню та розширенню асортименту багатофункціональних біопродуктів та антисептичних засобів поліфункціональної дії. Результати по створенню біопрепаратів відповідають світовим тенденціям та рівню А розроблена методика, щодо створення пробіотичних препаратів з ціліспрямованою дією не має аналогів в світі.

6. Економічна привабливість для просування на ринок

Висока ефективність механізму дії розроблених біопрепаратів, відсутність їх токсичності, простота отримання та наявність виробничої бази в Україні створює умови економічної привабливості даної групи препаратів для просування їх на вітчизняний ринок Оптимізовані живильні середовища та розроблені умови отримання біопрепаратів. Розроблено біотехнологію одночасного промислового отримання рибофлавіну та ефірної олії з вітчизняної відновлюваної сировини. Вдосконалення технології дало змогу підвищити вихід рибофлавіну у 17 разів, а ефірної олії – у 12 разів. За необхідністю, буде розроблено проектна документація на отримання інших біопродуктів. Економічний ефект від впровадження розроблених засобів також обумовлений створенням додаткових робочих місць на існуючих або нових підприємствах біотехнологічної галузі, розширенням асортименту вітчизняних виробників і прибутком від реалізації продукції.

7. Потенційні користувачі: Біофармацевтичні підприємства України: Заводи препаратів мікробіологічного синтезу «Ензим» та «БТУ-Центр» (м. Ладижин), ЗАТ «Біофарма» (Київ), ЗАТ «Лекхім» (Харків), ТОВ фірма "О.Д. Пролісок" (Київська обл.).

8. Стан готовності розробки Для вітаміну B2 розроблена технічна документація. На інші розроблені продукти отримані лабораторні зразки

9. Існуючі результати впровадження.

Акт впровадження технологічних режимів та умов при виробництві препаратів біологічно активних речовин та антимікробних фармацевтичних композицій від 20.06.2019 р. В результаті виконання роботи встановлені оптимальні технологічні параметри стерилізації та умови асептичного розливу біопрепаратів, які були впроваджені на підприємстві ТОВ «ФАРМА ІНТЕРНЕТІОНЛ ГРУП 2» при виробництві готової продукції фармацевтичного та косметичного призначення. Поєднання у складі запропонованої антимікробної фармацевтичної композиції діючих речовин з різною антимікробною специфічністю та механізмом дії дозволяє розширити області її застосування та підвищити ефективність. Останнє обумовлене здатністю розроблених ферментів руйнувати клітини патогенів, а дія виділеного антибіотику додатково запобігає їх розвитку. Запропоновані режими асептичної роботи, стерилізації первинної тари та укопорованої рідкої форми біопрепаратів дозволяють реалізувати технологію виробництва стерильних препаратів біологічно активних речовин із збереженням їх цільової специфічної активності для можливості їх застосування у косметичній та фармацевтичній галузях

Акт впровадження біотехнології виробництва біотехнології вітаміну B2 та ефірної олії для використання у складі фармацевтичних композицій Запропонована технологія передбачає одночасне виробництво двох цільових продуктів – вітаміну B2 (рибофлавіну) та ефірної олії з ароматом троянди - з використанням *Eremothecium ashbyi* Guillier.

Основний технологічний процес (біосинтез цільових продуктів) проводиться при наступних параметрах: початкове рН поживного середовища 7,5, температура 28⁰С, перемішування 180 об/хв., доза посівного матеріалу 1% на модифікованому поживному середовищі на основі глюкозо-фруктозного сиропу (ГФС 10). На етапі виділення цільових продуктів використовують метод гідродистиляції, що дозволить відділити компоненти ефірної олії у вигляді дистилату від концентрату, що містить залишки біомаси та рибофлавін. Для подальшого виділення ефірної олії запропоновано використовувати метод екстракції, а виділення рибофлавіну здійснюється осадженням відновником. Отриманий високоочищений рибофлавін може бути використаний у складі фармацевтичних та косметичних композицій, а також у продуктах харчування в якості барвника та для вітамінізації молока, круп, дієтичних продуктів тощо. Отримана очищена ароматична олія з ароматом троянди може бути використана у складі фармацевтичних та парфюмерно-косметичних засобів, продуктів ароматерапії, а також у харчовій промисловості для надання аромату кондитерським виробам та напоям. Підприємстві Впровадження було здійснено на базі ТОВ «ФАРМА ІНТЕРНЕТІОНЛ ГРУП 2 (м.Київ)» (Акт впровадження від 20.06.2019 р.)

*Акт впровадження способу отримання лізату на основі пробіотичного штаму *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB86 та ферментного препарату Цитал- Рк.* Проведено апробація способу одержання ферментолізату за наступними показниками: ступінь гідролізу клітин, мікробіологічна чистота, показники рН, концентрація білка при дотриманні умов гідролізу, що були розроблені (вік культури 14 год, рН 6.5 середовища, час гідролізу - 180хв, співвідношення фермент - субстратного комплексу 10⁹ кл./мл./100мг/мл). Показано, що за ступенем гідролізу клітин, мікробіологічної чистотою лізату, показником рН та вмістом білка метод одержання гідролізату не мав суттєвих розбіжностей з показниками розробника, а хімічні показники гідролізату відповідали категорії продуктів даної групи. Впровадження було здійснено на базі ТОВ «Євробіотех» LTD (м.Київ) (Акт впровадження від 11.11. 2019р)

10. Назва підрозділу: КПІ ім. Ігоря Сікорського Факультет біотехнології і біотехніки, телефон 044 -204-83-12, fbtbiotech@ukr.net.

11. Фото



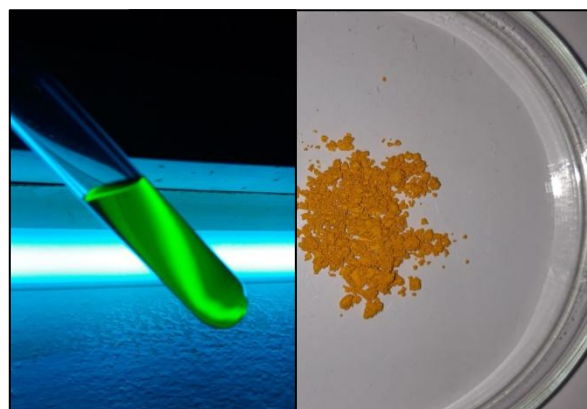
1. Бівалентний пробіотик на основі штамів -
L. rhamnosus LB3 та
L. delbrueckii subsp. delbrueckii



2. Природний імуномодулятор - лізат штама *L. delbrueckii subsp. delbrueckii* LB86



3. М'яка та рідка лікарські форми комплексних поліфункціональних антисептиків на основі ензимів та антибіотиків *S. albus* UN 44



4. Рідка форма рибофлавіну (флуоресценція в ультрафіолеті) та сухий технічний вітамін B₂

12. Перелік публікацій за матеріалами досліджень за період виконання

Захист дисертаційної роботи

1. «Розробка технології виробництва рибофлавіну і ефірної олії, що продукуються *Eremothecium ashbyi* Guill» на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія. Дата захисту 27 червня 2018 р. Поліщук В.Ю. (Науковий керівник д.б.н., проф. Дуган О.М)
2. Підготовлено до захисту дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук «Базидіальні макроміцети роду *Trametes* та *Polyporus*, як продуценти антиоксидантів» » (Дзигун Л.О.)

Монографії:

1. Тодосійчук Т.С., Ключко В.В. «Бактерії родів *Streptomyces* та *Pseudomonas* – продуценти антимікробних речовин та препарати на їх основі», 210 с.
2. Горчаков В.Ю. Обмен информации в природе. 2019, 186 с

Статті:

1. L.Oriabinska, S.Vasylyuk, V Novikov, V.Lubenets Ethylthiosulfanilate effect on *Candida tropicalis* // Ukr. Biochem. J., 2017, Vol. 89, N 5, p70-76
2. T.S. Todosiichuk, V.V. Klochko, Ya.I. Savchuk, O.P. Kobzyska. New antibiotic substances of the *Streptomyces albus* enzybiotic complex // Microb. j. - 2019. - №5. - p. 62-72.
3. L.Oriabinska, L. Lazarenko, Prasanna B.D. Probiotic and biotherapeutic properties of the tanazopositive *Lactobacillus plantarum* MTCC 2621 strain //Antibiotics and chemotherapy. 2019; 64 (7-8):
4. L. Oriabinska, O.Dziuba, O. Dugan *Lactobacillus* As producers of extracellular tannase// Biotechnologia Acta. 2018; 5 (1): 65-73
5. Т.С. Тодосійчук, В.О. Федоренко, М.В. Молочко, О.М. Громико «Розроблення умов глибинного біосинтезу антибіотика ландоміцину А» - Наукові вісті «НТУУ КПІ». 2017; 3:82-88.
6. Я.Левчик, А.В.Любінська, Я.О.Герасименко, Т.С.Тодосійчук. Специфічна активність препаратів *Streptomyces albus* у біорегуляції росту и розвитку рослин огірка // Innovative Biosystems and Bioengineering. 2018; 2: 98-104.
7. Сироїд О.О., Дзигун Л.П. Гранична межа критичної температури для базидієвого гриба *Laetiporus sulphureus* Наукові вісті НТУУ «КПІ». – № 3, 2017.– С. 77-81.
8. Pokas, O.V., Todosiichuk, T.S., Kravchenko, Y. The specificity of the antimicrobial action of the drugs based on *Streptomyces albus* enzymes and antibiotics. □ Edition of Articles Chine-Ukrainian International Symposium on Innovation and Technology, 30 October 2017 Jinan; compl. SDAS 2017. - p. 86- 94
9. Поліщук В.Ю., Дуган О.М. Вплив умов отримання посівного матеріалу на біосинтетичну здатність продуценту рибофлавіну *Eremothecium ashbyi* // Science and Education a New Dimension. Natural and Technical Sciences, 2017; 132 (14); 82_ 84.(Угорщина)
10. Л.Б. Орябінська, В.В. Карпенко, Т.З. Богдан Розробка методу гідролізу молочнокислих бактерій р. *Lactobacillus* ферментним препаратом шт. *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* 2435 / Збірник наукових праць НФаУ,– Х.: Вид-во НФаУ, 2018; 4: p170-174
11. Орябінська Л.Б., Прасанна Б.Д., Горчаков В.Ю., Оцінка біотерапевтичного потенціалу штаму *Lactobacillus plantarum* 2621 методом спектрально - динамічного аналізу.// Збірник наукових праць НФаУ - ,– Х.: Вид-во НФаУ, 2018; (5): p.275-279

12. Клечак І. Р., Бісько Н.А., Сироїд О.О Дослідження можливості біотехнологічного використання відходів плодово-овочевих виробництв як субстрату для культивування гриба *Lentinula edodes*. // *Innovative Biosystems and Bioengineering*. 2019; 4.
Подано до друку:
13. Oriabinska L.B., Lazarenko L.M., Gorchakov V.Yu., Todosiichuk T.S. Biotherapeutic potential and immunomodulatory activity of the fermentolysate of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB 86 // *Biopolymers and Cell*».
14. Поліщук В.Ю., Дуган О.М. Перспективи використання глюкозо-фруктозного сиропу в біотехнології рибофлавіну//*Food Science and Technology*

13 Надати ключові слова до розробки: ПРОБІОТИКИ, ЛАКТОБАКТЕРІЇ, ІМУНОМОДУЛЯТОРИ, АНТИОКСИДАНТИ, СТРЕПТОМЦЕТИ, АНТИСЕПТИКИ, АНТИБІОТИКИ, ЛІТИЧНІ ФЕРМЕНТИ, р. ЕРЕМОТНЕСІУМ, ВІТАМІН В2, ЕФІРНІ МАСЛА, ГРИБИ р.ТРАМЕТЕС, р.POLYPORUS, ФУНКЦІОНАЛЬНІ ПРОДУКТИ