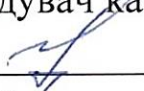


ОНМедУ, кафедра Технології ліків Семінарське заняття №11. «Біотехнологія виготовлення фармацевтичних препаратів з дріжджів. »

**ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
КАФЕДРА ТЕХНОЛОГІЇ ЛІКІВ**

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

 (Борисюк І.Ю.)

“ 27 ” серпня 2021 р

**МЕТОДИЧНА РОЗРОБКА ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ**

Факультет: фармацевтичний

Навчальна дисципліна «Фармацевтична біотехнологія»

Семінарське заняття №11 Тема: **«Біотехнологія виготовлення фармацевтичних препаратів з дріжджів. »**  
**для аспірантів**

Практичне заняття розробив:  
асистент



(Акішева А.С.)

підпис

Практичне заняття обговорено на  
методичній нараді кафедри  
«27» серпня 2021 р.  
Протокол № 1

Одеса – 2021

*Методична розробка практичного заняття, ОПП «Фармація, промислова фармація», для докторів філософії III освітньо-наукового рівня, фармацевтичний факультет, Дисципліна: «Фармацевтична біотехнологія» стр. 1*

**Тема: Біотехнологія виготовлення фармацевтичних препаратів з дріжджів.**

**Мета:** Ознайомитися з біотехнологією виготовлення фармацевтичних препаратів з дріжджів.

**Основні поняття:** дріжджі

**Обладнання:** згідно до вимог Належної аптечної практики (GPP).

**Навчальний час: 4,0**

План

**I. Організаційний момент**

**Зміст теми**

Метод автолізу дріжджів

Автоліз клітин розглядають як незворотний процес, пов'язаний із загибеллю клітин, що супроводжується гідролізом внутрішньоклітинних біополімерів під дією власних ферментів, вивільненням в позаклітинний простір низькомолекулярних продуктів і починається з руйнування клітинної оболонки. Під останньою слід розуміти функціональний комплекс клітинної стінки і цитоплазматичної мембрани (ЦПМ). Проведення лізису клітинних стінок при отриманні фармацевтичних продуктів багато в чому визначає якість кінцевого продукту тому необхідно отримувати біологічно активні речовини в недеградованому вигляді. У мікроорганізмів спостерігають два різновиди автолізу - екзо- ендотіпи. Стафілококів, стрептококів і ряду інших бактерій властивий екзотип автолізу, при якому під дією власне автолізів руйнується клітинна стінка, але зберігається ЦПМ в осмотически захищеному середовищі. Ендотип автолізу характерний для дріжджів, цвілевих грибів, бацил і пов'язаний з первісним руйнуванням ліпідів і ліпопротеїнових структур клітинних мембран. Крім поділу на екзо ендотіпи, розрізняють природний та індукований автоліз. До природному можна віднести автоліз клітин мікроорганізмів в постстаціонарному фазі відмирання мікробних культур. Індукований автоліз може бути викликаний у клітин будь-фази зростання мікробних культур як результат впливів, що призводить до незворотних структурних та функціональних порушень клітинної оболонки. Ми розглянемо індукований автоліз дріжджів, тому що саме цей тип в більшості випадків застосовується для отримання фармацевтичних продуктів з дріжджів. Для порушення цілісності клітинної оболонки застосовують індуктори автолізу. Автоліз дріжджових клітин може бути обумовлений трьома впливами: фізичними, хімічними, біологічними.

Фізичні фактори:

- температура -для дріжджів оптимальний інтервал температури 40-70 ° С. Автоліз супроводжується різким підвищенням проникності клітинних мембран, в першу чергу ЦПМ. Термообробка при відсутності кисню

підвищує активність дріжджових автолізінов, т.е. ферментов, що руйнують біополімери;

- осмотичний тиск середовища - в технологічній практиці для цієї мети застосовують підвищений вміст натрію хлориду або деяких інших солей. В результаті підвищення осмотичного тиску ЦПМ дріжджових клітин повністю руйнуються;

- механічне пошкодження - наводить до порушення компартмент ализации автолітичеських ферментного комплексу, а у дріжджів та грибів до вивільнення лізосомальних протеаз, що забезпечує субстратферментние взаємодії автолітичеських гидролаз з компонентами мембрани і біополімерами клітинної стінки, що призводять до їх руйнування. Хімічні фактори:

- іонна сила, рН середовища і якісний склад іонів. Встановлено, що більшість літичеських ферментів активніші при низькій іонній силі розчину. Високі концентрації галогенів в солях натрію і калію хлористого, броміду натрію, хлористого амонію специфічно активують ферменти автолітичеських комплексу. Солі лужноземельних металів, кобальту, марганцю мають незначний вплив на інтенсивність автоліза. Солі міді, заліза і цинку в концентрації 0,2-0,5 мМ пригнічують процес, а іони кальцію або магнію в концентрації 10 мМ стабілізують клітинні біополімери і запобігають пошкодження субклітинних структур. Наприклад, на середовищі з глюкозою в присутності іонів кадмію в концентрації 0,05 мМ число життєздатних клітин *Saccharomyces cerevisiae* зменшується на 90% через 5 хвилин і на 99,9% через 60 хвилин, тоді як на середовищі без глюкози токсичної дії кадмію в цій концентрації трохи є.

#### **Біологічні фактори:**

- амінокислоти, білки, ферменти, фракції клітинних гідролізаців. Зазначені речовини впливають на цілісність клітинних мембран і їх функціональну активність. Так, наприклад, гліцин, аланін, метіонін, фенілаланін і пролін в концентраціях 103-105М підвищують верхня межа температури пошкодження мембран дріжджових клітин на досить значну величину (3-9 ° С). Істотний вплив на індукцію автоліза надають антибіотики, що впливають на синтезної і деполімеразную активності системи синтезу клітинної стінки. Для автоліза дріжджових клітин застосовують літичеськие ферменти. Як ферментів володіють протеолітичної активністю можуть бути використані такі ферменти як пепсин, трипсин, лізоцим, папаїн та ін. Застосовують також і інші види ферментів, наприклад, β-глюконази, обробку якої проводять при 30 ° С протягом 30 хвилин. Особливу роль при проведенні автоліза дріжджів грають детергенти:

- аніонні (додецилсульфат натрію, N-лауроїлсаркозінат натрію, жирні кислоти) - в мембранах дріжджів вони викликають зменшення вмісту загальних ліпідів і фосфоліпідів і компенсаторне збільшення ступеня ненасиченності жирних кислот, приводячи в кінцевому підсумку, до

критичного підвищення плинності мембран і її дестабілізації. Найбільш ефективно призводять до автолізу ненасичені жирні кислоти. Ненасичені жирні кислоти у високій концентрації викликають дестабілізацію мембран. Механізм цієї дії полягає в здатності ненасичених жирних кислот розчинятися в мембрані без участі ацілпереносящего білка і знижувати температуру плавлення мембранних ліпідів, що веде до збільшення плинності мембрани. Найбільш активними виявляються ті ненасичені жирні кислоти (олеїнова, лінолева), які володіють власною низькою температурою плавлення. При цьому збільшення текучесті мембрани понад певної межі виявляється згубним для клітин і є причиною їх автолізу;

- катіонні (цетилтриметиламоній хлорид (бромід)) - лизують клітинні ядра, денатурируют білки і утворюють з ними позитивно заряджені комплекси, утворюють солі ДНК і РНК, розчинні при концентрації натрію хлориду більше 0,7 М. Це дозволяє вибірково осаджувати ДНК і РНК у вигляді солей цетилтриметиламоній у водних розчинах при низькій концентрації натрію хлориду. Осад ДНК і РНК у вигляді солей цетилтриметиламоній розчиняється в 1 М натрія-хлоріда. Завдяки гідрофобності молекул детергенту, відбувається їх проникнення ліпідний бішар, що призводить до дезорганізації ліпідних компонентів бислоя мембрани, викликає порушення їх бар'єрних функцій і призводить до автолізу клітини;

- неіонні (Тритон X100, Нонідет NP40) - їх антимікробну активність невелика, хоча вони мають здатність змінювати структуру клітинної оболонки мікробної клітини, вивільняючи білки, ліпіди, вуглеводи, ліпополісахариди. Це веде до проникності ЦПМ і збільшення часу в клітинній стінці, що підвищує ступінь лізису клітин при їх обробці ферментами і антибіотиками. У клітинах дріжджів структурні перетворення генералізованого характеру, розпочавшись в ЦПМ, поширюються по всій клітці за рахунок безперервної мережі мембран ЕПР, і таким чином вся клітина включається в фізіологічний відповідь на зовнішній вплив. Тому досить часто в якості індукторів використовують мембранотропні сполуки, що викликають загальні порушення структурної організації мембран дріжджових клітин, і внаслідок цього, їх бар'єрних функцій, що призводить до виходу з клітини життєво важливих метаболітів, т.е.к автолізу клітин мікроорганізмів. Автоліз дріжджів можна проводити в періодичному і безперервному режимах.

Характеристиками автоліза служать інтенсивність процесу і глибина розпаду клітинних структур. Інтенсивність автоліза визначається швидкістю реалізації продуктів гідролізу клітинних біополімерів і як сумарний ферментативний процес залежить від:

- кількості гідролаз;
- активності гідролаз;

- фізико-хімічних умов середовища;  
- субстратної стійкості клітинних компонентів до дії ферментів-автолітичних комплексу. Глибина автолізу вимірюється співвідношенням загальної кількості наявних у клітці до автолізу білків, полісахаридів, нуклеїнових кислоти їх Гідролізований частиною. Глибина і швидкість автолізу залежать від фізіологічного віку клітин. Клітини експоненціально зростаючої культури автолізуються швидше і в більшій мірі, ніж клітини стаціонарні, повного лізису яких, як правило, домогтися не вдається. Індукція автолізу передбачає створення дисбалансу між процесами синтезу і деградації клітинних структур. Інтенсивність автолізу визначається характером обраного індуктора і фізико-хімічними умовами, оптимальними для позбавлення клітини енергії і порушення структури клітинної оболонки. При виборі індуктора багато автори вважають за краще використовувати ненасичені жирні кислоти, що пов'язано, по-перше, з тим, що вони є природним компонентом клітини, і тому немає необхідності видаляти їх з отриманого продукту (автолізата), по-друге, жирні кислоти доступні і досить дешеві. Хорошим біологічним тестом для підбору індуктора є определение его впливу на дихання клітин, так як цей показник кількісно відображає зміни функціональної активності мембран, зумовлені порушеннями їх структурної організації, що і є причиною автолізу. Як приклади розглянемо кілька методів лізування пекарських дріжджів (*S. cerevisiae*).

Приклад 1 проведення автолізу дріжджів. Клітини дріжджів суспендують у воді до кінцевої концентрації 12-20% (в перерахунку на сухі речовини) і додають олеїнову кислоту в кількості 0,1-0,3% до кількості дріжджів. Суміш ретельно перемішується при 45-55 ° С протягом 30 хвилин для повного зв'язування олеїнової кислоти і дріжджових клітин. Потім до суміші додають гіпохлорит натрію в кількості 0,1-0,3%. Процес автолізу проводиться при 45-55 ° С протягом 20 годин. Після проведення автолізу суспензію сепарують з метою поділу на водораствориму фракцію і залишок дріжджових клітин. Водораствориму фракцію концентрують у вакуумі і висушують. Вихід з 10 кг дріжджів становить 4,1 кг сухого продукту. Продукт глибокого автолізу представлений наступним складом: аміни азот - 6,7%; нуклеїнові кислоти -1,45%; вуглеводи -11,6%; ліпіди -8,3%; зола -3,5%; вода -5,6%. Приклад 2 проведення автолізу дріжджів. Клетки дріжджів хлібопекарських суспендують у воді до кінцевої концентрації 14% (в перерахунку на сухі речовини) і суміш піддають автолізу протягом 8 годин в присутності олеїнової кислоти при температурі 50-55 ° С, при рН -6,8 -7,2. Продукти автолізу постійно перемішують. Через 3 години після початку автолізу вносять фермент. Після закінчення гідролізу суспензію прогрівають при температурі 90 ° С протягом 30 хвилин. Відокремлюють розчинені в екстракті речовини від залишків дріжджовий біомаси шляхом центрифугування. Екстракт продуктів автолізу концентрують до 18% сухої

речовини шляхом упарювання у вакуумі, а потім висушують на розпилувальній сушці. Вихід сухого продукту автолізу дріжджів 3 кг з 10 кг пекарських дріжджів. Зміст аміноазота становить 2,8%.

#### Отримання нуклеїнових кислот з дріжджів

Екзогенні нуклеїнові кислоти, і зокрема, РНК, а також продукти її часткового гідролізу мають широкий спектр біологічних ефектів:

- стимуляція процесів клітинного метаболізму з активацією синтезу ендогенних нуклеїнових кислот, специфічних білків і ферментів;
- підвищення мітотичної активності клітин;
- активація гіпофізу аденогіональної системи;
- стимуляція репаративних процесів із звільненням регенерує тканини від необхідності здійснення складного і енергоємного синтезу підстав для простих попередників;
- іммуномодуюча активність;
- активація утворення білків в клітинах кісткового і головного мозку;
- стимуляція синтезу АТФ. До цих властивостей за останнім часом додані дані про протизапальну дію низькомолекулярної дріжджової РНК, яка за рахунок механізмів пригнічення розщеплення фосфоліпідів клітинної мембрани до вільної арахідонової кислоти і її подальшого окислення по ліпоксігеназного і циклогеназному шляхах, стабілізує клітинні мембрани. Промислове культивування більшості мікроорганізмів з метою виділення ДНК і РНК економічно недоцільно. Тому вибір визначений мікроорганізмами, які культивують в промислових масштабах, наприклад, пекарські або пивні дріжджі. Дріжджова РНК є субстанцією для отримання ряду фармацевтичних препаратів, таких як нуклеинат натрію, ридостин, енкада ін. Технологія виділення РНК дріжджів складається з декількох основних стадій:

#### **Стадія I.**

Мікроорганізми з культуральної середовища при температурі 4 ° С осаджують низькошвидкісних центрифугуванням, обережно ресуспендірують в фізіологічному розчині і повторно осаджують центрифугуванням. Відмиті дріжджові клітини ресуспендірують в розчині для гомогенізації лізуючого розчині.

#### **Стадія II.**

Руйнування клітин (лізис) і освітлення лизата шляхом видалення нерозчинних частинок. З отриманого освітленого лизата виділяють РНК з подальшою очисткою. Для оптимальних умов лізису використовуються поєднання аніонних детергентів (додецилсульфат натрію) і протеаз. Для руйнування клітин використовується балістична дезінтеграція, при якій ступінь руйнування дріжджових клітин легко регулюється і добре відтворюється. Балістична дезінтеграція не вимагає ніяких додаткових

реактивів, не приводить до забруднення продукту і не інактивує біологічно активних речовин.

### **Стадія III.**

Лізис плазматичних клітин, освітлення лізису, суспендування і лізис ядер. Клітини лізують додаванням до гомогенату при використанні м'яких детергентів -неіоногенних (тритон X100) і дезоксихолат натрію. При цьому ядра НЕ лизуються. Лізат освітлюють низькотемпературних центрифугуванням. Ядра осаджують центрифугуванням при великих швидкостях. У Центрифугат міститься майже вся клітинна РНК з невеликою домішкою ДНК. Ядра ресуспендірують в розчині для гомогенізації і проводять лізис додаванням аніонних детергентів, наприклад, додецилсульфата натрію. У лізаті ядер міститься ДНК з незначною домішкою РНК.

Стадія IV. Очищення біополімерів: депротейнізація і видалення полісахаридів. Для очищення РНК і ДНК від білків потрібно зруйнувати нуклеопротейни. Для цього в лізуючий розчин вводять в різних концентраціях іонні детергенти; високі концентрації солей (1 М натрію хлорид); денатурируючі агенти (4-8 М сечовина); протеази (протеїназа До або проназа); тіольний з'єднання (2меркаптоетанол); комплексообразувачі (ЕДТА).

### **Стадія V.**

Очищення продукту від низькомолекулярних домішок і концентрування проводиться шляхом діалізації і ультрафільтрації.

Стадія VI. Фракціонування нуклеїнових кислот. Домішки ДНК в препараті РНК проводять обробкою ДНК-азой 1, вільної від РНК-ази. Домішки РНК в препараті ДНК проводять обробкою РНК-азой, вільної від ДНК-ази. Надалі проводять (при необхідності) колоночну рідинну хроматографію.

Метод отримання високомолекулярної РНК дріжджів

Для розгляду наводимо приклад промислового отримання РНК з дріжджів для отримання фармацевтичних препаратів.

1. Екстракція РНК. Один кілограм свіжих пресованих пекарських дріжджів (*S. cerevisiae*) суспендують порціями протягом 20 хвилин в 2 л киплячої дистильованої води, що містить 75 г аніонного детергента додецилсульфата натрію (додецилсульфат натрію лизує клітини ядра, денатурує білки і утворює з ними негативно заряджені комплекси, руйнує нуклеопротейни, вивільняючи РНК і ДНК). При цьому температура суспензії не повинна бути нижче 98 ° С. Суспензію кип'ятять протягом 40 хв при 98-102 ° С при постійному інтенсивному перемішуванні. Спочатку підтримують постійний обсяг води, а потім доводять до 3 л. Після закінчення екстракції в гарячу суспензію додають киплячу воду до обсягу 4,5 л, суміш перемішують і переносять у вузьку циліндричну ємність з термостійкого скла місткістю 5,0 л. Суміш залишають для відстоювання на 22 години.

## **2. Висолювання РНК.**

Відстояний верхній шар (близько 2,8 л) декантірують допомогою сифона в скляну ємність місткістю 5,0 л і додають в неї 810 г натрію хлористого і доводять водою до об'єму 4,5 л. Суспензію інтенсивно перемішують до повного розчинення солі і залишають при кімнатній температурі на 22 години. При цьому в нижній частині суспензії формується осад - високомолекулярная РНК.

### **Промивання осаду РНК**

З М розчином натрію хлориду і етиловим спиртом. Випав осад, що містить високополімерних РНК, відокремлювали від супернатанта центрифугуванням (1500 г, протягом 10 хв). Отриманий осад промивали двома порціями по 2 л 3 М розчином натрію хлориду і 2 порціями (по 1 л і 0,5 л) 94% іметіловим спиртом. Осад при кожній промивці відокремлюють центрифугуванням. Осад розчиняють у воді для ін'єкцій і ліофілізують. Вихід субстанції становить до 10 грам ліофілізованої високомолекулярної РНК з 1 кг дріжджів. Спектр поглинання соотвeтствуеточіщенному препарату РНК: A230 / 260-0,35-0,55; A280 / 260-0,4-0,55; A250 / 260-0,86-0,94. Продукт білого кольору, добре розчинний у воді.

**Біотехнологія отримання фармацевтичних препаратів на основі дріжджів**

### **Препарати на основі двуспиральної РНК дріжджів**

#### **Рідостін.**

Основним напрямком в запобіганні поширенню інфекційних захворювань протягом кількох десятиліть є вакцинація населення. Однак проведені заходи не завжди досягають мети. Так, наприклад, при високому відсотку щеплених проти грипу відзначається зниження середньорічних показників захворюваності лише на 10-20% проти очікуваного рівня. Як показує досвід, профілактика інфекційних захворювань за допомогою вакцинації може бути успішною в тому випадку, якщо збудник не схильний до антигенної мінливості. Тому в останні роки увага звертається на кошти, що впливають на статус системи неспецифічної резистентності. Відомо, що від стану цієї системи залежить ефективність лікування і профілактики багатьох захворювань, в тому числі і інфекційної природи. Розробка способів активації механізмів резистентності до інфекційних агентів включає створення нових препаратів, схем їх застосування і поєднання з відомими фармакологічними засобами. Досягнення біоінженерії, сучасної біотехнології дозволили отримувати принципово нові засоби для потреб охорони здоров'я. Одним з таких препаратів є індуктор інтерферону на основі двуспиральної РНК (дсРНК) мікробіологічного походження - Рідостін. В даний час препарат дозволений для лікування різних видів герпесу (простий, оперізуючий і генітальний), інфекційних уrogenітальних захворювань (хламідіоз) і як імуностимулятор. У 1967 році була доведена провідна роль



двоспиральної рибонуклеїнових кислот віндукції інтерферону. Великий досвід експериментального використання синтетичних полирибонуклеотидов на різних тварин і моделях патологій, висунув ряд завдань, пов'язаних з подоланням їх побічних і кумулятивних властивостей. Це поставило перед дослідниками завдання -Шукати інші джерела і способи отримання двоспиральної РНК -індукторов інтерферону з мікробіологічного сировини. Найбільш перспективними з точки зору продуктивності дсРНК і екологічної безпеки є непатогенні штами дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, які були обрані в якості штаму продуцента дсРНК. Одним з основних моментів виділення дсРНК з дріжджів з'явився пошук методів руйнування надзвичайно міцних клітинних стінок біомаси *Saccharomyces cerevisiae*.

На початкових етапах для руйнування клітинних стінок і вилучення дсРНК з дріжджів більш привабливим є застосування детергентного методу, який полягає в послідовному застосуванні 2етілгексановой кислоти і додецилсульфату натрію при оптимальному температурному режимі. Це дозволяє отримати дсРНК, вільної від білкових домішок. Дробове фракціонування екстрагованих нуклеїнових кислот хлористим літієм і додаткова депротейнізація кінцевого продукту дозволили отримати препарати дсРНК з наступними показниками якості: вміст дсРНК  $-41 \pm 9\%$ ; вміст нуклеотидного матеріалу  $-72 \pm 5\%$ ; вміст білка  $-0,7 \pm 0,5\%$ ; вміст ДНК-не більше 1,0%. Вихід такого препарату з 1 кг біомаси становив  $16,3 \pm 2,4$  мг. Препарат добре зарекомендував себе при лікуванні грипу і ГРВЗ, при розсіяному склерозі, важких форм кліщового енцефаліту та інших захворюваннях.

### **Препарати на основі $\beta$ -глюканов дріжджів**

#### **Зімосана.**

Препарати Zymocel (США) представляють собою суміш полісахаридів, виділених із стінки дріжджових клітин штаму *Saccharomyces cerevisiae*. Вивчення активної субстанції цих препаратів почалося з 1940 року. У той час ще не було відомо, який компонент цієї субстанції: білок, ліпіди або полісахариди відповідають за фармакологічну активність. У 80х роках Goldman С. і Grop J. з Гарвардського Університету встановили, що активною субстанцією в цих препаратах є суміш  $\beta$ -1,3глюкан і  $\beta$ -1,6глюкан. Молекула  $\beta$ -1,3 / 1,6глюкана складається з довгою основному ланцюзі молекул глюкози, з'єднаних  $\beta$ -1,3св'язями, і бічних ланцюгів молекул глюкози, також з'єднаних  $\beta$ -1,3-зв'язками (див. Рис. 3).

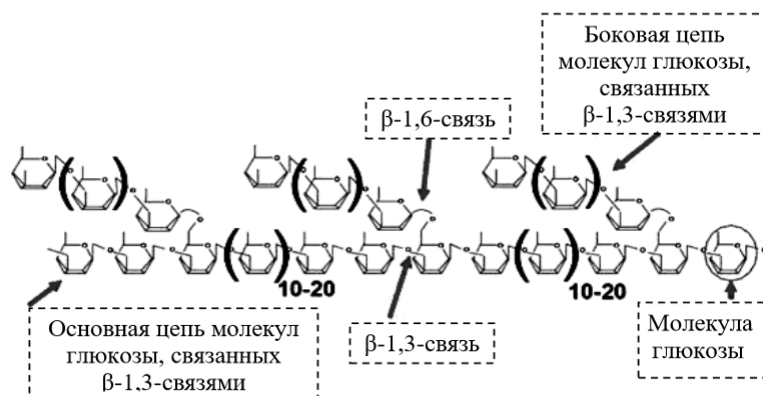


Рис. 3 – Структура молекули  $\beta$ -1, 3/1, 6-глюкана У різних штам дріжджів. Присутні різні  $\beta$ -глюкани: *Saccharomyces cerevisiae* в клітінній стінці містить  $\beta$ -1, 3-глюкан і  $\beta$ -1, 6-глюкан, а дріжджі *Pichia* і *Candida* –  $\beta$ -1, 3-глюкан. Отримання  $\beta$ -глюканів складається з декількох стадій:

- вирощування біомаси дріжджів;
- відмивання клітин дріжджів;
- руйнування клітин механічним методом;
- обробка ультразвуком (частота 18-22 кГц) суспензії отриманих клітинних стінок;

очищення від супутніх полісахаридних компонентів обробка лугом або специфічними ферментами;

осадження цільового продукту. Зімозан застосовується в клініці як неспецифічний стимулятор лейкоцитозу, що не робить прямого цитотоксичного дії на пухлинні клітини, але прискорює ріст пухлини і зменшує метастазування. Біологічна активність препарату обумовлена гліканом. Механізм дії пов'язаний з активацією фагоцитуючих і антиген-що представляють клітин. У реакціях комплемент залежного цитолізу посилює цитотоксичність активності Т-лімфоцитів, підвищує синтез імуноглобулінів, активує систему комплементу. Використовується при лейкопенії для профілактики променевої терапії та хіміотерапії пухлини. Останнім часом в літературі з'явилися дані про те, що норвезька фармацевтична компанія «Biotec Pharmason» створила новий лікарський засіб на основі відділення з клітінної стінки пекарського дріжджів  $\alpha$ -глюканів. Впровадження в медичну практику цього препарату намічено на 2012-2013 рік після закінчення клінічних випробувань. Препарат у вигляді гелю на основі  $\alpha$ -глюканів дозволяє прискорити загоєння ран, в тому числі і хірургічних швів. Дія препарату базується на посиленні вродженого імунітету, антибактеріальної активності. Експеримент на лабораторних тварин з бактеріальною інфекцією, яким  $\alpha$ -глюканів вводили внутрішньовенно і давали per os з їжею показали ефективність при двох способах введення.

## II. Контроль опорних знань

Методична розробка практичного заняття, ОПП «Фармація, промислова фармація», для докторів філософії III освітньо-наукового рівня, фармацевтичний факультет, Дисципліна: «Фармацевтична біотехнологія» стр. 10

Виконати тестові завдання:

м1. Відмінності дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae* від інших прокариотических продуцентів полягають:

- а) непатогенних;
- б) аеробний тип розвитку;
- в) анаеробний тип розвитку;
- г) здатність продукувати повноцінні еукаріотичні білки;
- д) нездатність продукувати повноцінні еукаріотичні білки.

2. Тип розмноження характерний для дріжджів:

- 1) розподіл
- 2) брунькування
- 3) подовження та розгалуження міцелію
- 4) трансдукція
- 5) рекомбінація

3 дріжджі-сахароміцети культивують в аеробних умовах при надлишку вуглеводів в живильному середовищі, зниженій кількості азоту і оптимальному вмісті кисню (максимум 2%) для отримання

- 1) відразу кристалічного вітаміну D2
- 2) рибофлавіну
- 3) аскорбінової кислоти
- 4) провітаміну D2

4. Проконсультуйте починаючу медсестру, яка тільки починає професійну діяльність, який шлях введення НЕ є характерним для бензілпеніциліна натрієвої солі:

- A. Пероральний
- B. Внутрішньовенний
- C. Внутрішньом'язовий
- D. У спинномозковий канал
- E. У зовнішній слуховий прохід

5. Однією з технологічних стадій при виробництві ферментних препаратів є сушка. Вкажіть найбільш раціональний метод сушки:

- A. Ліофільні
- B. У псевдооживленом шарі
- C. Ультразвукова
- D. Сорбционная
- E. терморрадиационной

6. Матеріали дубильні речовини виявляють в'язучу дію і використовуються для лікування колітів, ентероколітів, діареї. Яке рослинне сировину може рекомендувати провізор в такому випадку?

- A. Fructus Myrtilli
- B. Fructus Sambusci nigri
- C. Fructus Ribes nigri

D. Fructus Rhamni catharticae

E. Fructus Frangulae

7. Інвентаризація готівки в касі аптеки проводиться щомісяця. Понадлімітні залишки готівки в касі відносяться на збільшення наступного показника:

A. Фінансовий результат

B. Статутний капітал

C. Кредиторська заборгованість

D. Зарплата касиру

E. Резервний капітал

8. Протягом місяця аптека багаторазово отримувала товар від різних поставщиків. Який з накопичувальних документів використовується для реєстрації отриманого аптекою товару?

A. Товарний звіт

B. Реєстр вимог накладних

C. Журнал обліку рецептури

D. Реєстрація рознічних оборотів

E. Прибутково-видаткова накладна

9. У кінці місяця в аптеці розраховується сума реалізованої торговельної націнки. Вкажіть показник, який НЕ використовується для цього розрахунку:

A. Сума готівки в касі аптеки

B. Сума надходження товару в рознічних і оптових цінах

C. Залишок товару на початок місяця в рознічних цінах

D. Залишок товару на початок місяця в оптових цінах

E. Сума реалізації товару

10. Помилково пацієнтом була прийнята сіль, яка містить барій. Яка з приведених солей не проявляє токсичну дію на організм людини?

A. Сульфат барію

B. Карбонат барію

C. Нітрат барію

D. Ацетат барію

E. Хлорид барію

11. Аналізований мінералізатор містить опади сульфату барію і сульфату свинцю. Розділити ці солі можна, використовуючи:

A. Розчин ацетату амонію

B. Сірчану кислоту

C. Оцтову кислоту

D. Розчин ацетату натрію

E. Розчин нітрату амонію

12. Фармацевт готує порошки з трудноізмельчаємим речовиною. Вкажіть, яка речовина подрібнюють з летючої рідиною?

A. Камфора

- В. Магнію оксид
- С. Цинку сульфат
- Д. Міді сульфат
- Е. Глюкоза

13. Жінка 48-ми років поступила в кардіологічне відділення з діагнозом: ІХС, стенокардія. Напади виникають 1-2 рази на день. Який препарат найбільш доцільно рекомендувати для лікування?

- А. Ізосорбїду динітрат
- В. Еуфілін
- С. Но-шпа
- Д. Папаверин
- Е. Дипіридамол

### **III. Обговорення теоретичних питань:**

1. Кожен з організмів на 500 кг своєї маси за одну добу виробляє таку кількість новоствореного білка: корова-0,5 кг, соя-5 кг, дріжджі -50 т. У скільки разів більше білка здатні продукувати дріжджові клітини?

2. У кормових дріжджах міститься тіаміну (вітамін В1) в середньому 12,5 мг / кг, в рибній борошні 0,9 мг / кг, горосі 6,8 мг / кг. Скільки-ко тіаміну міститиметься в 1,7 т кормових дріжджів, рибного борошна, горосі?

3. В дріжджах, вирощених на ячмінних заторах, міститься білка -50,0% і 3,2% жирів; вирощених на мелясі -білка -44,5% і 5,2% жирів, на гідролізатах-53,0% і 2,2% відповідно. Який спосіб вирощування дріжджів найбільш ефективний?

### **Теми доповідей/ рефератів**

1. Технологія виготовлення препаратів з дріжджів, технологія виготовлення різних штамів дріжджів.
2. Проаналізуйте переваги біотехнологічного виробництва ергостерину на конкретних прикладах.
3. Технологічні стадії вирощування дріжджів.
4. Технологія бродильного виробництва.
5. Методи аналізу дріжджів.

### **IV. Підведення підсумків**

#### **Список рекомендованої літератури**

1. S. Spada. G. Walsh Directory of Approved Biopharmaceutical Products 1st Edition . – CRC Press, 2019. – 336 p.
2. С. Kokare PHARMACEUTICAL BIOTECHNOLOGY 1st Edition. – Nirali Prakashan, 2017. – 274.
3. Лихач А. В. Промислова біотехнологія / А. В. Лихач. – МНАУ. – 2016. – 116 с.

4. Краснопольский Ю.М., Звягинцева О.В. Фармацевтическая биотехнология. Аспекты фармацевтической химии. Ю.М. Краснопольский, О.В. Звягинцева. – Харьков: НТУ «ХПИ», 2018. – 248 с.

5. Державна фармакопея України : в 3 т. / ДП “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. –2-е вид. –Харків : Державне підприємство “ Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів ”, 2015. –Т.1. –