

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Факультет медико-фармацевтичних технологій
Кафедра біотехнології

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: **«ОРГАНІЗАЦІЯ ВИРОБНИЦТВА НІГЕДАЗИ
З НАСІННЯ *NIGELLA DAMASCENA L.*»**

Виконав : здобувачка вищої освіти групи 162БТ620(3,10з)-01а
спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія
освітньої програми Біотехнологія
Ельнара АББАСОВА

Керівник: Доцент закладу вищої освіти кафедри промислової
технології ліків та косметичних засобів, к.фарм.н, доцент
Антоніна СІЧКАР

Рецензент: Провідний науковий співробітник лабораторії
імунітету, біотехнології та якості інституту рослинництва імені
В.Я. Юр'єва НААН України, к.б.н., с.н.с. Олена БЛІНСЬКА

АНОТАЦІЯ

Кваліфікаційна робота присвячена організації виробництва ліполітичного ферменту нігедази з насіння чорнушки дамаської (*Nigella damascena* L.) в умовах GMP. У дослідженні визначено критичні точки технологічного процесу виробництва Нігедази, що вимагають особливої уваги з точки зору GMP, а також розроблено біологічну, технологічну, апаратурну схеми, придатні для впровадження у виробничих умовах. Раціональна організація технологічного процесу, що базується на сучасних вимогах до якості, дозволяє створити безпечний, ефективний і стабільний лікарський засіб рослинного походження.

Загальний обсяг роботи становить 50 сторінок, містить 10 рисунків, 9 таблиць та 2 креслення формату A1.

Ключові слова: ліпаза, нігедаза, чорнушка дамаська, *Nigella damascena*, біотехнологія.

ANNOTATION

The qualification work is devoted to the organization of production of the lipolytic enzyme nigedaza from *Nigella damascena* L. seeds under GMP conditions. The study identified critical points in the technological process of *Nigella damascena* production that require special attention from the point of view of GMP, and also developed a biological, technological, and hardware scheme suitable for implementation in production conditions. The rational organization of the technological process, based on modern quality requirements, allows you to create a safe, effective and stable medicinal product of plant origin.

The total volume of the work is 50 pages, contains 10 figures, 9 tables and 2 drawings of A1 format.

Keywords: lipase, nigedaza, *Nigella damascena*, biotechnology.

ЗМІСТ

Вступ.....	3
1 Аналітичний огляд.....	5
2 Характеристика готового продукту, сировини, матеріалів, напівпродуктів.....	18
2.1 Характеристика готового продукту.....	18
2.2 Характеристика сировини.....	19
3 Технологічна частина.....	27
3.1 Розрахунок матеріального балансу.....	27
3.2 Розрахунок і вибір обладнання	30
3.3 Опис технологічного процесу.....	37
3.4 Схеми виробництва.....	41
3.5 Контроль виробництва.....	45
3.6 Екологічні аспекти виробництва.....	47
Висновок.....	49
Список використаної літератури.....	51
Додатки.....	55

					162.01.01.00 000 ПЗ							
Змн..	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	Організація виробництва нігедази з насіння <i>Nigella damascena</i> L. Пояснювальна записка			Літ.	Арк.	Аркушів		
Розробив	Аббасова										2	64
Перевірів	Січкарь											
.												
Н. контр.												
Затвердив	Хохленкова Н.В.				НФаУ Кафедра біотехнології							

ВСТУП

Актуальність теми. Серед лікарських засобів, що широко застосовуються в гастроентерологічній практиці, травні ферменти займають особливе місце. Порушення процесів травлення — явище надзвичайно поширене при більшості патологій шлунково-кишкового тракту, незалежно від їх етіології чи ступеня вираженості. У цьому контексті особливу увагу привертають ферментні препарати рослинного походження. Їх безперечною перевагою є відсутність у складі тваринного білка та компонентів жовчі, що робить такі засоби безпечними для пацієнтів з алергічними реакціями, а також у випадках, коли застосування жовчних кислот є небажаним або протипоказаним.

Одним із перспективних джерел рослинних ферментів є чорнушка дамаська (*Nigella damascena* L.). У 1980-х роках з її насіння був виділений ліполітичний фермент, що каталізує розщеплення жирів на гліцерин і жирні кислоти безпосередньо в кишківнику. Цей науковий прорив став можливим завдяки роботі групи дослідників під керівництвом професора Чорнобая В.Т. у лабораторії ферментних препаратів Харківського науково-дослідного хіміко-фармацевтичного інституту. На основі цього ферменту було створено препарат «Нігедаза», який став важливим доповненням у терапії захворювань, що супроводжуються ліпідною мальдигестією, і відкрив нові можливості для делікатної корекції процесу травлення.

Сучасні вимоги до фармацевтичного виробництва, зокрема стандарти GMP (Good Manufacturing Practice), висувають чіткі критерії до організації кожного етапу виробництва таких препаратів.

Мета роботи. Обґрунтувати основні технологічні підходи до організації виробництва Нігедази з насіння чорнушки дамаської відповідно до вимог GMP на сучасному біотехнологічному підприємстві.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						3
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Для досягнення мети були визначені такі завдання:

1. Зробити аналіз джерел літератури щодо загальної характеристики й класифікації ліпаз, їхньої природної функції, наявності у природному середовищі, методах виділення з природної сировини та способів отримання препаратів на їх основі, зокрема нігедази з насіння *Nigella damascena* L.
2. Описати технологічний процес одержання нігедази з насіння *Nigella damascena* L.
3. Розрахувати та підібрати обладнання для проведення стадій технологічного процесу.
4. Охарактеризувати критичні точки виробництва нігедази.
5. Розробити схеми виробництва нігедази.

Об'єктом роботи є нігедаза з чорнушки дамаської.

Предметом роботи є процес виробництва ферменту.

Методи. Аналіз нормативних документів GMP (EU GMP, WHO GMP); систематизація вимог до кваліфікації обладнання, валідації процесів і забезпечення якості; порівняльний аналіз традиційного та сучасного підходів до ферментного виробництва, класичні методи аналізу та порівняння, графічні методи для креслень.

Практичне значення отриманих результатів. Рослинні ліпази, зокрема з *Nigella damascena*, є перспективним, біосумісним та екологічним джерелом ферментів для медицини — як у травній терапії, так і у фармацевтичному синтезі. Отримання ліпази для медичних цілей потребує суворих біотехнологічних підходів: від чистоти виробництва до контролю активності. Результати роботи дозволяють організувати цех з виробництва нігедази на фармацевтичному підприємстві, а саме на базі практики ТОВ «ФК «Здоров'я»» для розширення асортименту рослинних ліпаз на вітчизняному фармацевтичному ринку.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						4
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

1 АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД

1.1 Загальні відомості про ліпази

Ліпази (триацилгліцеролгідролази, ЕС 3.1.1.3) — гідролітичні ферменти, що каталізують розпад триацилгліцеридів до жирних кислот і гліцерину, а також беруть участь у реакціях трансестерфікації та інтересифікації [1, 2]. Клас 3 означає гідролази, підклас 1 — діють на складноефірні зв'язки, підпідклас 1 — гідролази ефірів карбонових кислот. Вони мають α/β -гідролазну будову і каталітичну тріаду (Сер-Глу-Гіс) [2]. Діють у безводному середовищі. Унікальним є наявність так званої "шапочки" (lid), що розкривається при контакті з масловмісною фазою [3]. Ліпази класифікуються за джерелом: мікробні (*Thermomyces lanuginosus*, *Aspergillus*), тваринні (панкреатичні), рослинні - менш вивчені, але перспективні з екологічної точки зору [1, 2].

Схема розщеплення тригліцеридів наведено на рис. 1.1.

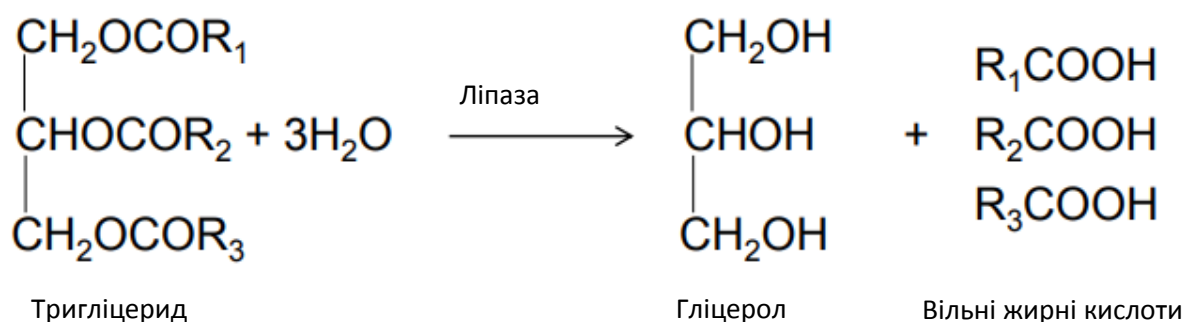


Рис. 1.1 – Реакція розщеплення тригліцеридів в організмі

Різні типи ліпаз та їхня роль визначається місцем їх присутності в організмі. Панкреатична ліпаза (рис. 1.2) – це основний фермент, що

виділяється підшлунковою залозою, відповідальний за основне перетравлення жирів у тонкому кишечнику.

Лінгвальна ліпаза виробляється в ротовій порожнині, особливо у немовлят, і починає перетравлення жирів у ротовій порожнині.

Шлункова ліпаза виробляється у шлунку і відіграє важливу роль у перетравленні жирів у немовлят, а також бере участь у гідролізі жирів у дванадцятипалій кишці у дорослих.

Ліпопротеїнліпаза знаходиться в кровоносних судинах і розщеплює тригліцериди, що містяться в ліпопротеїнах, для доставки жирних кислот до тканин.

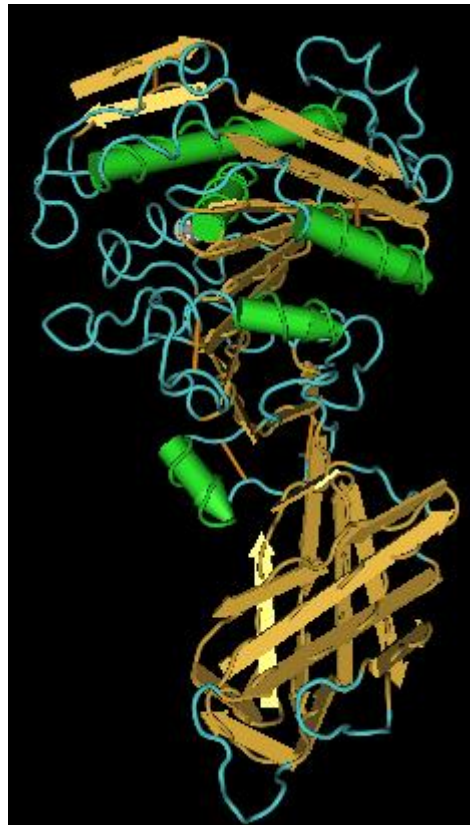


Рис. 1.2 – Комп'ютерна модель панкреатичної ліпази морської свинки (джерело: вільна енциклопедія Вікіпедія)

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		6

Механізм дії ліпази представлено в табл. 1.1 і на рис. 1.3.

Таблиця 1.1 – Механізм дії ліпази

Механізм дії	Пояснення
1. Гідроліз тригліцеридів	Ліпаза діє на молекули тригліцеридів, розщеплюючи їх на гліцерин та жирні кислоти.
2. Активація ліпази жовчаними кислотами	У тонкому кишечнику жовчні кислоти, що виділяються жовчним міхуром, допомагають емульгувати жири (утворюючи дрібні краплі) і активують ліпазу, збільшуючи її доступність для розщеплення жирів
3. Розщеплення на поверхні жирових крапель	Ліпаза, будучи водорозчинним ферментом, діє на поверхні жирових крапель, розщеплюючи тригліцериди.
4. Всмоктування продуктів гідролізу	Утворені жирні кислоти і гліцерин всмоктуються в клітини слизової оболонки кишечника, а потім транспортуються в кров для використання як джерело енергії або для зберігання.

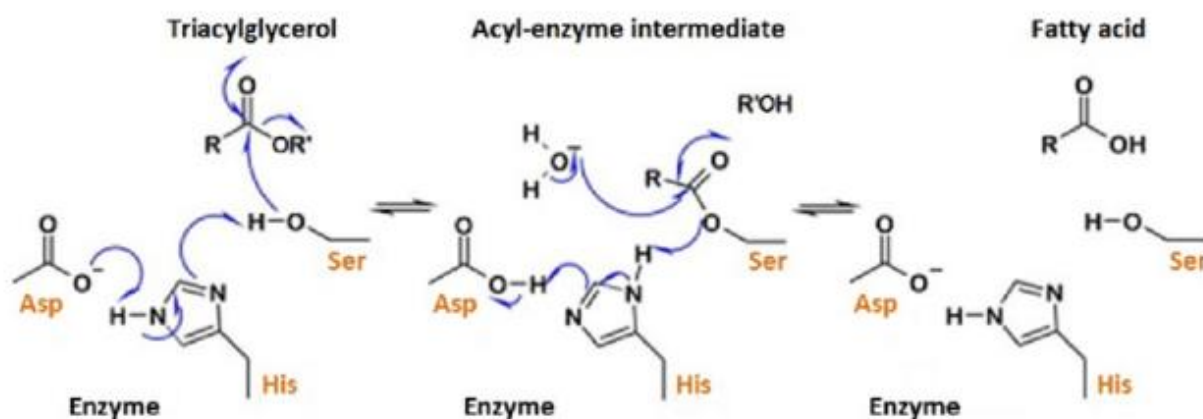


Рис. 1.3 – Каталітичний механізм дії ліпази на тригліцериди [1]

Таким чином, ліпаза є важливим ферментом, що забезпечує ефективне перетравлення та засвоєння жирів в організмі.

1.2. Рослинні ліпази

Рослинна ліпаза, як і будь-який інший тип ліпази, діє як фермент, що каталізує гідроліз (розщеплення водою) ліпідів, зокрема тригліцеридів, на гліцерин та жирні кислоти. Це дозволяє організму засвоювати жири, що надходять з їжею, та використовувати їх для отримання енергії та інших біологічних процесів.

У рослин ліпази беруть участь у мобілізації запасів ліпідів при проростанні насіння, а також у захисних реакціях проти патогенів [2, 3]. Ці ферменти активні за широкого діапазону рН/температур, та їхня характерна чутливість до умов довкілля обмежує промислове застосування [2].

Дослідженню та використанню рослинних ліпаз присвячено численні роботи вітчизняних та зарубіжних авторів [4-7]. Є деякі дані про негативну дію ліпази в процесах зберігання та переробки насіння олійних рослин: соняшнику, ріпаку, бавовнику, але вона знайшла активне застосування у медицині [3, 7]. Серед особливостей отримання рослинних ліпаз є певні труднощі їх виділення з сировини, порівняно з ферментами інших організмів. Серед особливостей тканин рослин, що зумовлюють експериментальні труднощі, слід відмітити: звільнення та вихід із клітинних компартментів при гомогенізації матеріалу вакуолярного соку з низьким значенням рН, а також танінів, поліфенолоксидаз, протеаз, що знижують активність ферментів.

Дослідження Чернобай В. Т., Рудюк В.Т., Корчагіна Л.М. показало, що ліпаза з насіння *Nigella damascena* стабільно працює при рН 3-12 (оптимальні

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						8
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

значення рН ≈ 8 і температура 37-40°C), повністю інактивується при 80 °C, гідролізує рослинні олії та тваринні жири [1, 5].

1.3 Шляхи промислового отримання ліпази з рослин

1.3.1 Екстракційні методи

Процес включає збирання, сушіння/ліофілізацію, подрібнення насіння, екстракцію водно-буферним розчином, осадження $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, або органічними розчинниками (етанол, ацетон), потім - відділення, фільтрацію та очищення (іонний обмін, гель-фільтрація) [8]. Полісахаридні носії (гомогенати, міцелярні середовища) дозволяють підвищити вихід і зберегти активність [9].

1.3.2 Очищення та іммобілізація

Більшість способів, що промислово застосовуються, отримують ліпазу в іммобілізованій формі: адсорбція, ковалентний зв'язок, перехресне скріплення, ентрапмент, CLEAs [10-13].

Магнітні мікрочастинки (Fe_3O_4): полегшують поділ реакційної суміші, особливо у промислових реакторах [12, 13];

Силікатні носії (SBA-15, біоміметичні силіcati): забезпечують м'які умови закріплення, мінімальну втрату активності [14];

Графенові композити, MOFs: забезпечують високу густину ферменту, стабілізують його структуру [16].

Комбінація адсорбції та ковалентного зв'язування дозволяє збільшити стійкість та повторне використання — особливо в колонних (packed-bed) та реакторах безперервної дії [16].

Іммобілізовані ліпази використовуються у виробництві енантіомерів (фармація), молочних продуктів, косметики, паперу, текстилю, миючих

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		9

засобів [1, 16-17]. Наприклад, CALB на підтримці Novozyme 435 широко використовується BASF та іншими фармкомпаніями [18].

1.3.3 Нанотехнології та масштабування промислового процесу

Можемо назвати деякі плюси: це стабілізація ферментів у широкій області рН та температури, повторне використання без значних втрат активності, поліпшені кінетичні характеристики та селективність [18].

Обмеження: висока вартість носіїв та спеціалізованого обладнання; необхідність дорогих сепараційних кроків (фільтрація, магнітна сепарація) [17]; втрата активності при масштабуванні вимагає оптимізації [18].

1.4 Отримання ліпаз для медичних цілей

Технологічні етапи включають: підготовку сировини (сушка/подрібнення); водно-буферну екстракцію; очищення (осадники, хроматографія); іммобілізацію на обраному носії; використання в реакторах (batch/continuous); рецикл та утилізацію.

Рослинні ферменти – екологічні, але потребують: зниження вартості носіїв та обладнання; стандартизації продукту; клінічних випробувань для фарм-застосування [5, 19].

Інтеграція наноматеріалів із рослинними ферментами накладає інноваційний вектор у прикладній біотехнології. Можливе створення гібридних ліній: мікробно-рослинних ферментів для розширеного застосування.

Джерела отримання ліпази для фармацевтичних та медичних цілей представлені в табл. 1.2.

Ліпази з рослин, особливо з *Nigella damascena*, мають високий потенціал для промислового застосування [11, 19]. Нанотехнології та

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		10

імобілізація забезпечують стійкість та ефективність, але економічні та технологічні бар'єри потребують удосконалення: оптимізації носіїв, реакторних схем, технологічних ліній та верифікації якості. Прогрес у цих галузях дозволить впроваджувати рослинні ліпази у сферах біоенергетики, фармакології та виробництва хімічних продуктів.

Таблиця 1.2 – Джерела отримання ліпази для фармацевтичних та медичних цілей

Джерело ліпази	Приклади	Переваги та недоліки
1. Мікроорганізми	<i>Candida rugosa</i> , <i>Rhizopus oryzae</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Mucor miehei</i> [3, 4, 13].	Висока продуктивність, керована експресія
2. Рослини	<i>Nigella sativa</i> , <i>Nigella damascena</i> , <i>Glycine max</i> , <i>Helianthus annuus</i> [6, 7, 15].	Низька алергенність, екологічність
3. Тканини тварин	Підшлункова залоза свині [1, 5].	Широко застосовують, але алергенні

Як було показано вище, ліпази являють собою гідролітичні ферменти, що каталізують розщеплення складних ефірів гліцерину і жирних кислот. У людини цей процес відбувається у травному тракті, зокрема, у тонкому кишечнику, і є ключовим для травлення жирів. Висока специфічність, стійкість до змін середовища та здатність функціонувати в безводних умовах роблять ліпази незамінними у фармацевтичній галузі. Для медичного застосування ліпази потрібні у складі препаратів для лікування порушень травлення, при панкреатичній недостатності, а також як біокаталізатори у синтезі хіральних лікарських речовин.

Сучасні тенденції зосереджені на рослинних і мікробних ліпазах, оскільки вони легше очищуються, дають вищу вихідну активність і мають меншу імуногенність [20].

В останні роки рослинні джерела, включаючи чорнушку дамаську (*Nigella damascena*) розглядають як найбільш перспективні джерела отримання ліпази для фармакологічного застосування завдяки високій біосумісності та м'якій дії [21].

Для вилучення ліпази з насіння *Nigella damascena* застосовуються наступні стадії:

- Механічне подрібнення та знежирення насіння;
- Буферна екстракція водорозчинних білків;
- Центрифугування та фільтрація;
- Стабілізація отриманого ферменту;
- Ліофільне висушування

Для більшого очищення готового продукту вводять додаткові стадії, такі як преципітація білків сульфатом амонію з наступним очищенням хроматографічними методами (гель-фільтрація, іонообмін).

З метою збереження активності ферменту проводять його іммобілізацію на різні носії (табл. 1.3).

Таблиця 1.3 – Іммобілізація ліпази

Метод іммобілізації	Носії	Переваги
1. Адсорбція	Целюлоза, цеоліти, агароза	Простота, збереження активності
2. Ковалентне зв'язування	Активовані полімери	Стійкість до умов середовища
3. Ентрапмент (включення)	Альгінат, поліакриламідні гелі	Біосумісність лікарських форм із пролонгованим вивільненням

Імобілізація забезпечує стабільність і можливість повторного використання ферментів [22].

1.4.1 Медичне застосування ліпази

Ліпази використовуються як стереоселективні каталізатори при синтезі:

- Протівірусних засобів (ефіри з хіральними центрами);
- Протиракових сполук;
- Естерифікованих похідних антибіотиків.

Дослідження показали, що ліпаза чорнушки дамаської:

- Має помірну протизапальну активність;
- Бере участь у розщепленні довголанцюгових жирних кислот;
- Може бути використана в терапії захворювань печінки та обміну речовин [23].

Найбільш широко ліпази застосовуються у складі лікарських засобів для корекції функцій шлунково-кишкового тракту (табл. 1.4).

Таблиця 1.4 – Приклади застосування ліпази у медичній практиці

Препарат	Джерело ферменту	Призначення
1. Креон	Підшлункова залоза	Панкреатична недостатність
2. Нігедаза	<i>Nigella damascena</i>	Альтернатива тваринним ферментам
2. Панкреатин	Свинячий фермент	Загальна ферментотерапія

1.4.5. Перспективи промислового виробництва ліпази

Промислове отримання ліпаз для фармацевтики потребує застосування масштабованих та стандартизованих біотехнологій [24, 25]:

- використання біоносіїв з контрольованими параметрами (целюлоза, хітозан);
- розробка безперервних біореакторів з іммобілізованими ліпазами;
- впровадження нанотехнологій для покращення стабільності ферментів у лікарських формах.

Спрощена технологічна схема виробництва ліпази з рослинної сировини для медичного застосування показана на рис. 1.4.

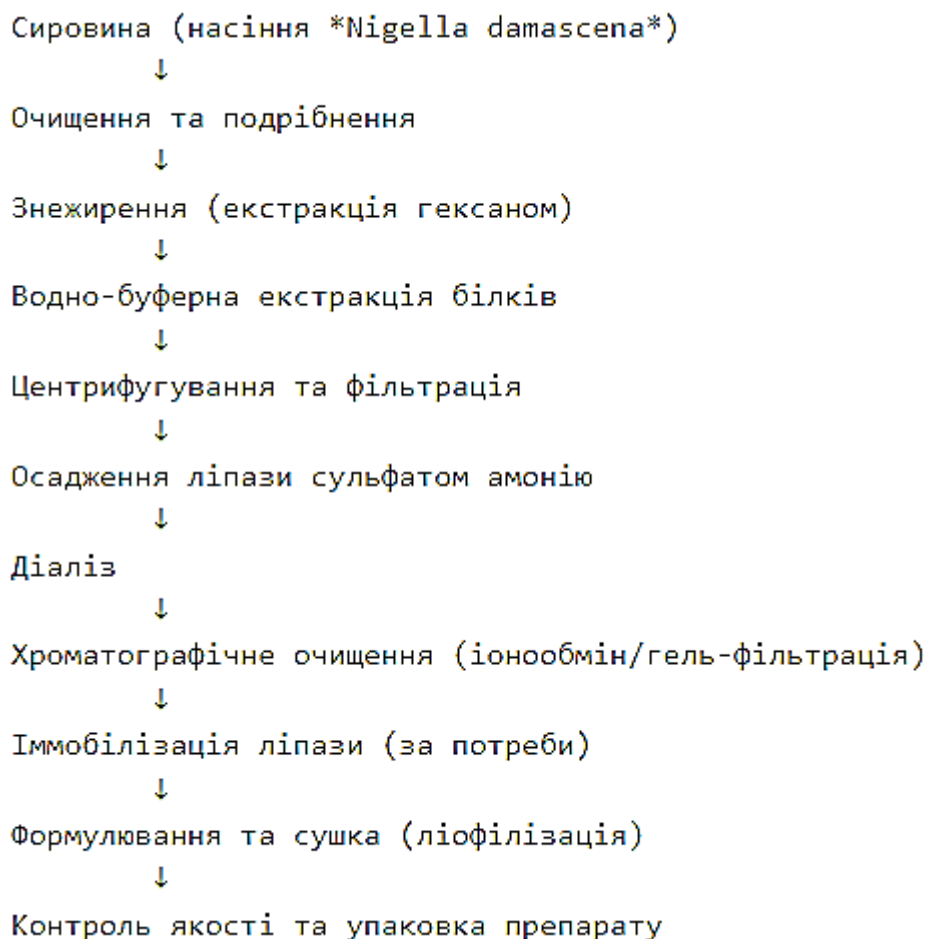


Рис. 1.4 – Спрощена технологічна схема виробництва ліпази з рослинної сировини [25]

Ця схема забезпечує отримання біологічно активної ліпази, придатної для застосування в медичних та фармацевтичних цілях, в умовах GMP. При цьому передбачають валідацію кожного етапу від вихідної сировини до фінального контролю якості. Особлива увага приділяється забезпеченню стерильності, контролю забруднювачів, відтворюваності та стабільності активності ліпази у лікарській формі.

Обладнання та опис етапів промислового отримання ліпази з насіння *Nigella damascene* наведено в табл. 1.5.

Таблиця 1.5 – Обладнання та опис етапів промислового отримання ліпази

Етап процесу	Опис технології	Основне обладнання
1. Підготовка сировини	Очищення, сушка та подрібнення насіння <i>Nigella damascena</i>	Мийні машини, барабанні сушарки, млини
2. Знежирення	Екстракція гексаном при контрольованій температурі та вакуумі	Екстрактори, вакуумні випарники, конденсатори
3. Екстракція ліпази	Водно-буферна екстракція білків при рН ~7.0, температурі 4–8 °C	Гомогенізатори, мішалки, біореактори
4. Центрифугування та фільтрація	Відділення нерозчинного осаду та великих частинок	Центрифуги, напірні фільтри
5. Осадження білків	Преципітація ліпази сульфатом амонію (до 80% насичення)	Реактори з нержавіючої сталі з охолодженням

Продовження табл. 1.5

1	2	3
6. Діаліз і концентрування	Видалення солей і малих молекул з розчину	Діалізатори, ультрафільтраційні касети
7. Хроматографічне очищення	Іонообмінна та гел'є-фільтраційна хроматографія	Колонки з DEAE-сефарозою, FPLC-системи
8. Імобілізація (за потреби)	Закріплення ліпази на носіях: агароза, хітозан	Реактори імобілізації, мішалки
9. Формулювання	Введення до лікарської форми (таблетки, капсули, гранули, розчини)	Змішувачі, гранулятори, таблеткові преси
10. Ліофілізація	Сушка продукту у вакуумі при низьких температурах	Ліофільні сушарки, холодильні установки
11. Контроль якості та пакування	Оцінка активності, стерильності, залишкового розчинника, мікробіологічної чистоти	Лабораторні аналізатори, пакувальні лінії

Застосування автоматизованих модульних біореакторів, систем моніторингу параметрів (рН, температури, провідності) та сертифікованих фармацевтичних фільтрів дозволяє дотримуватись вимог GMP на промислових установках.

Кожному етапу відповідає документація відповідно до вимог GMP: валідація процесів, калібрування обладнання, стандартні операційні процедури (SOP), звіти про відхилення (Deviation Reports) та контрольні аркуші з критичними точками (CCP).

Таким чином, рослинні ліпази, зокрема виділені з *Nigella damascena*, є перспективним об'єктом для медичного та фармацевтичного застосування. Їхня біосумісність, можливість масштабованого виробництва та функціональна активність відкривають широкі перспективи для розробки нових лікарських форм і препаратів, у тому числі на основі іммобілізованих ферментів.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						17
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

2 ХАРАКТЕРИСТИКА ГОТОВОГО ПРОДУКТУ, СИРОВИНИ, МАТЕРІАЛІВ, НАПІВПРОДУКТІВ

2.1 Характеристика готового продукту

НІГЕДАЗА (Nigedaza) - ліполітичний фермент (ліпаза), виділений з насіння чорнушки дамаської (*Nigella damascena* L.), родини лютикових (*Ranunculaceae*) [5].

Порошок темно-бурого кольору зі слабким характерним запахом. Гідролізує рослинні та тваринні жири. Активність вимірюється у ліполітичних одиницях (ЛО). 1 мг препарату містить близько 110 ЛО. Випускається у вигляді таблеток, розчинних у кишечнику, що забезпечує повне збереження активності при нормальній та підвищеній кислотності шлункового соку та часткове (приблизно наполовину) – при зниженій кислотності шлункового соку. Призначають у випадках вікового зниження ліполітичної активності дуоденального соку. Призначають внутрішньо по 1 – 2 таблетки за 10 – 30 хв до їди. При нормальній та підвищеній кислотності шлункового соку запивають водою, при гіпоанацидних станах – 1 – 2 столовими ложками натурального шлункового соку. Курс лікування зазвичай становить 3 - 4 тижні, але при необхідності може бути більш тривалим. Можливі побічні явища - біль у животі (у хворих на хронічний коліт), у цих випадках зменшують дозу або припиняють прийом препарату. Форма випуску: таблетки, вкриті оболонкою (розчинні у кишечнику), що містять по 0,15 г нігедази, по 30 штук у банках оранжевого скла. Зберігання: у сухому, захищеному від світла місці при температурі не вище + 10°C.

На сьогодні відомий тільки один вітчизняний виробник препарату нігедази - Даніка-Фарм, який виробляє рослинну біодобавку таблетки Нігедаза дамаська – чорний кмин [19]. У цього препарату широкий спектр дії

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						18
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

на різні системи і функції організму, але він має низьку ліполітичну активність, так як препарат нігедази не очищений.

2.2 Характеристика сировини

Рід Чернушка - *Nigella* належить до відділу Magnoliophyta, класу Magnoliopsida, підкласу Ranunculidae, надпорядку Ranunculanae, порядку Ranunculales, підпорядку Ranunculineae, сімейства Ranunculaceae, підродини Deiphnioideae, трибі Nigellea. Рід Чернушка (*Nigella*) складається з 14-20 видів, що ростуть у Середземномор'ї, Південній та Південно-Східній Європі, на Кавказі, у Малій та Середній Азії, Північній Африці, у СНД – 11 видів [26].

Назва чорнушка походить від латинського *nigellus*, що означає «чорнуватий» [27]. Інша назва – чорний кмин.



Рис. 2.1 – Зовнішній вигляд та насіння чорнушки дамаської

У світовій практиці використовуються як харчові та лікарські рослини тільки чотири види: *Nigella damascena* L. (чорнушка дамаська) - росте в Європейській частині та на Кавказі, *N. sativa* L. (ч. посівна), *N. indica* (ч.

індійська) зростають в Індії, Афганістані, Туркменії та у західних районах Китаю [27].

Чорнушка дамаська {*Nigella damascena* L.) - трав'яниста однорічна рослина заввишки 20-60 см, стебло прямостояче, ребристе, з жорсткими двичі-тричі перисто-розсіченими на лінійно-щетинисті сегменти, краї листової пластинки загорнуті вниз-довжиною 6. Листя вкрите дрібними трихомами. Верхівкове листя наближене до основи плодів.

Квітки верхівкові, одиночні, в діаметрі 4 см, оточені ажурним зеленим покривалом з верхнього перисто-розсіченого листя, що в кілька разів перевищує квітку, прості або махрові, чашечка п'ятичленна, листочки мають, біле, блакитне або синє забарвлення (Рис. 2.1).

Пелюстки - двогубі нектарники, по довжині менше чашечки, заокруглені, що переходять у короткий і вузький нігтик. Цвіте у червні – серпні. Плоди дозрівають у серпні – вересні [27].

Плід складається з п'яти сильно здутих, гладких, з рівним носиком, зрощених майже до верху листівок, оточених тонко-розсіченою, красивою обгорткою з верхівкового листя, довжиною 1-1,5 см. Насіння чорне, дрібне (2,2-3 мм завдовжки і 1,5-2 мм шириною), клиноподібне, тригранне, з поперечно-зморшкуватою поверхнею з приємним суниčním запахом [19].

Природно зростає у Криму, на Кавказі, Середземномор'ї, Балканах та Малій Азії. Зустрічається як бур'ян у ряді південних районів України, в Центральній Азії. Росте по степових схилах, бур'янів, зрідка дичає, культивується як декоративна та лікарська рослина [7]. Як лікарську сировину використовують зібрані в період повної зрілості та висушене насіння [23].

2.2.1 Хімічний склад

Насіння чорнушки дамаської містить 40-44% жирної олії, до складу якої входять ненасичені жирні кислоти ; до 1,5 % ефірної олії, вітамін Е, тритерпенові сапоніни, кумарини, хінони: тимохінон, клітковину, калій,

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		20

кальцій, кальцій, кальцій кампестерин, ситостерин, стигмастерин, холестерин, альфа-спінастерин. У стеблах, листі, квітках і насінні міститься алкалоїд да-масценін до 0,3%. У насінні ідентифікована фенольна сполука - 1-0-(2,4-дигідрокси)фенілацетилгліцерол [28].

У насінні чорнушки накопичується дуже важливий фермент ліполітичної дії - ліпаза [6]. У кристалічному нігелоні, виділеному із рослини, містяться 15 амінокислот, протеїни. Фосфоліпіди представлені фосфатидилхоліном і фосфатидилінозитолом. Насіння містить жирне масло, фермент - ліпазу, тритерпенові сапоніни, кумарини, тимохінон і сліди алкалоїдів [29].

З гідролізату надземної частини чорнушки польової виділено три речовини флавоноїдної природи та ідентифіковані як кемпферол, кверцетин та рамно-цитрин.

Хімічний склад надземної частини представлений кумаринами, флавоноїдами: кверцетином, рамноцином і кемпферолом, вітаміном С.

У траві чорнушки посівної та дамаської методом ВЕРХ ідентифіковані пігменти: лютеїн, зеаксантин, (З-криптоксантин, а-каротин, [З-каротин, неоксантин та каротиноїди).

Чорнушка залізиста, як і інші види, містить флавоноїди, ефірну олію, сесквітерпенові вуглеводні, стероїди, алкалоїди, вітаміни, жирну олію та ферменти [7, 29].

2.2.2 Застосування чорнушки в традиційній та науковій медицині

У народній медицині насіння чорнушки застосовуються досить різноманітно. Розтерта чорнушка з виноградним оцтом допомагає при болях у суглобах [19]. Настій насіння чорнушки дамаської має сечогінну, жовчогінну, загальнозміцнювальну і глистогінну дію, сприяє збільшенню лактації у матерів, що годують, нормалізує менструальний цикл, зменшує метеоризм і нормалізує стілець за наявності запорів. Відвар насіння

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						21
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ефективний при бронхіальній астмі, безсонні, пов'язаному з тривогою, жіночих захворюваннях, нирковокам'яній хворобі, гепатиті, деяких шкірних захворюваннях. При місцевому зовнішньому застосуванні олію чорнушки використовують для косметичних масок, компресів, масажу.

З насіння чорнушки дамаської отримано препарат «Нігедаза», що містить фермент ліполітичної дії. «Нігедаза» - препарат, рекомендований як засіб, що відшкодовує недостатню або повністю відсутню ліполітичну активність дуоденального соку, зумовлену патологією органів травлення (панкреатити, холецистопанкреатити, хронічні гепатити, хронічні гастрити, ентероколіти і т. д.), а також при віковому зниженні [19]. Слід зазначити, що «Нігедаза» є препаратом рослинної ліпази, що використовується як у вітчизняній, так і в зарубіжній медичній практиці.

В експерименті бутанальний екстракт надземної частини та насіння, ефірна олія виявляють антибактеріальну активність, спиртовий екстракт насіння - естрогенподібну, що пов'язано з наявністю фенольних сполук. Мазь на основі жирної олії має ранозагоювальну дію.

Жирна олія чорнушки має безліч показань для застосування, як високоефективне сечогінний, жовчогінний, м'який проносний, як імуностимулюючий засіб, до того ж воно дає результати в лікуванні різних дерматологічних захворювань, пов'язаних з нейрогуморальними і гістамінними порушеннями в організмі [3].

Завдяки наявності ряду медіаторних речовин, олія чорнушки стимулює секрецію гістамінази (антагоніста біогенних амінів) та вироблення протигістамінних антитіл. До того ж, постачання в тканини циклооксигенази забезпечує високий коефіцієнт антисеротонінної активності. При клінічних випробуваннях на пацієнтах з алергічними захворюваннями (алергічний риніт, бронхіальна астма, атопічна екзема) після лікування, проведеного олією чорнушки в капсулах у дозі 40-80 мг/кг/добу, було виявлено, що суб'єктивні алергічні відчуття зменшувалися у всіх

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		22

пацієнтів. Відзначено зниження вмісту триацилгліцеридів у плазмі та підвищення рівня ліпопротеїдів високої щільності, у той час як кількість еозинофілів, кортизолу та адрено-кортикотропінів не змінилася.

Препарати чорнушки стимулюють синтез імуномодуляторів, що дозволяє швидко нейтралізувати інфекційну агресію, і чинять протизапальну дію на місцевому та системному рівні, усуваючи симптоми застуди.

Ефірне масло, введене безпосередньо в тверді пухлини, інгібувало їх розвиток, і навіть зменшило їх обсяг після 30 днів лікування; ацетатні та етилові фракції ефірної олії мають сильний цитотоксичний ефект проти пухлинних клітин.

Компонент ефірної олії чорнушки - тимохінон має антиастматичну, антигістамінну, бактерицидну, протипухлинну, протисудомну, антиоксидантну, жовчогінну дію.

Іншими не менш важливими компонентами ефірної олії чорнушки є тимол і карвакрол, для яких характерні антиоксидантна, антибактеріальна та протигрибкова активності завдяки їх фенольній структурі. Поряд з іншими результатами, антиоксидантна активність тимолу корисна для вироблення нових препаратів замість антибіотиків або мікостатиків, оскільки прояв однієї молекули всіх трьох видів активності - антибактеріальної, протигрибкової та антиоксидантної - може дати і синергетичні ефекти.

Згідно з висновками американських онкологів, тимохінон блокує активність запальних цитокінів.

Дихлоретановий екстракт має проти лейшманіозну активність, що може служити амфотерицину Б альтернативою. Виявлено та підтверджено антимікробну активність по відношенню до грампозитивних бактерій, синьогнійної палички та золотистого стафілокока.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						23
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

2.2.3 Культивування та агротехніка чорнушки дамаської

Чорнушка дамаська досить невибаглива рослина, до ґрунтів невибаглива, може рости на засолених ґрунтах. Молоді сходи переносять весняні заморозки. Розмножується насінням, посів проводять ранньою весною широкорядним способом. Норма висіву насіння 12-15 кг/га, глибина загортання 1,5-2 см. Проростають вони за нормальної температури 5-6 °С. Сходи з'являються через 14-15 днів. Ґрунт готують основним оранкою, ранньовесняним боронуванням, культивацією та передпосівним прикочуванням. Догляд полягає у прополюванні бур'янів та розпушуванні міжрядь [4, 6].

Відповідно до агрорекомендацій при заготівлі сировини використовують таку технологію. Надземну частину рослини зрізають на висоті 5 см від поверхні ґрунту, коли більшість нижнього листа пожовтіло, а листівки набули світло-коричневого кольору. Плоди зі зрілим насінням обмолочують, очищають від сторонніх частин і висушують на горищах, розкладаючи на чистих підстилках тонким шаром, у хорошу погоду - на відкритому повітрі під навісом, в тіні. Можна сушити в сушарках за температури не вище 30-35 °С. Іноді допустимо листя залишати в чистих приміщеннях для досушування, після чого сухі плоди обмолочують і дрібне насіння чорнушки відокремлюють на ґратах.

Встановлено каріотип дамаської чорнушки, що дозволяє проводити генетичний контроль різних сортів цього виду [30].

2.3 Біосинтез цільового продукту

Коли насіння попадає у вологе середовище, відбуваються процеси активації ферментів, в тому числі й ліпази [2, 25]. Як було показано раніше, ліпаза активується, щоб розщепити жири (тригліцериди), що містяться в

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		24

клітинах, на гліцерин та вільні жирні кислоти. Ці продукти потім використовуються як джерело енергії та вуглецю для зростаючого проростка.

Опишемо коротко процес активації ліпази при проростанні насіння.

1. Поглинання води (імбібіція):

Насіння набухає, що запускає метаболічну активність.

2. Активація гормонів (в основному гібереліни).

Ці гормони синтезуються в ембріоні та стимулюють експресію генів, що кодують ліпазу.

3. Синтез ліпази

У відповідь на гормональні сигнали клітини алейронового шару або ендосперму (залежно від типу насіння) починають синтезувати ліпазу.

4. Гідроліз тригліцеридів:

Ліпаза каталізує розщеплення запасних ліпідів:



5. Використання продуктів розщеплення:

Гліцерин $\rightarrow$ переробляється на глюкозу (глюконеогенез).

Жирні кислоти $\rightarrow$ окислюються в гліюксилатному циклі та циклі Кребса $\rightarrow$ утворення енергії (АТФ) та цукрів для зростання проростка.

Процес активації ліпази у насінні показано на рис. 2.2.

Проліпаза перетворюється на активну ліпазу під дією специфічних протеаз, що активують ферменти, а ініціюється цей процес гормональною сигналізацією, особливо під впливом гіберелінів. Таким чином, проростаюче насіння синтезує гібереліни, які надходять з ембріона (особливо у злаках — алейроновий шар). Гібереліни активують транскрипцію генів ліпази і далі синтезується неактивна її форма — проліпаза. Протеази розщеплюють про

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						25
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ліпазу, тобто видаляють інгібуючу пептидну ділянку, через що формується активна ліпаза, готова до роботи.

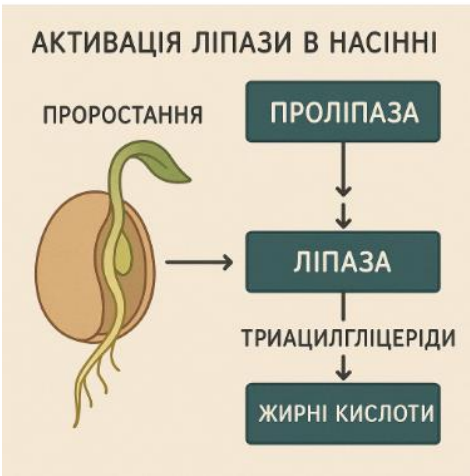


Рис. 2.2 – Процес активації ліпази при проростанні насіння

Це звичайний механізм для багатьох ферментів: вони синтезуються у проформі (неактивній), щоб уникнути самоперетравлення клітин.

У процесі проростання працює скоординована система: гормони → транскрипція → активація ферментів → мобілізація запасів. Схема показана на рис. 2.3.



Рис. 2.3. Схема активації ліпази у насінні

3 ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

3.1 Розрахунок матеріального балансу

Для розрахунку необхідної кількості ліпази, що одержується з дамаської чорнушки (*Nigella damascena*), для медичних потреб України, потрібно враховувати кілька факторів.

Основні параметри для розрахунку:

1. Цільова потреба в ліпазі

Грунтуємося на середніх дозах ліпази у лікарських препаратах та потенційній кількості пацієнтів.

2. Середня доза ліпази для пацієнта

Наприклад, панкреатичні препарати містять 6000-25000 ОД ліпази на дозу. Мінімальна терапевтична добова доза – 25000 ОД/день.

3. Цільова група

За даними ВООЗ в Україні близько 0,5% населення (~100 тис. осіб) мають показання до ферментотерапії (панкреатит, синдром мальабсорбції та ін.).

Річна потреба на 1 пацієнта:

$$25000 \text{ ОД/день} \times 365 \text{ днів} = 9\,125\,000 \text{ ОД / рік}$$

Разом по Україні (100 тис. осіб):

$$100000 \times 9125000 = 9,13 \times 10^{11} \text{ ОД/рік}$$

Вихід ліпази з насіння чорнушки

За літературними даними, насіння *Nigella damascena* містить від 1 до 3% білка, з яких близько 10-15% може становити ліпаза [25].

Умовний вихід: 50-100 ОД ліпази на 1 г насіння (після екстракції та очищення).

Візьмемо усереднене значення: 75 ОД/г насіння.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						27
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Маса насіння, необхідна для отримання річного обсягу ліпази:

$$\frac{9,13 \times 10^{11} \text{ ОД}}{75 \text{ ОД/г}} = 1,22 \times 10^{10} \text{ г} = 12200 \text{ т/рік}$$

Підсумок:

Річна потреба в ліпазі $\sim 9,13 \times 10^{11}$ ОД

Середній вихід ліпази з насіння 75 ОД/г

Необхідна кількість насіння чорнушки 12200 тонн на рік.

Висновок. Для повного покриття потреби України у ферментних препаратах на основі ліпази рослинного походження (середнє дозування, 100 тис. пацієнтів) необхідно близько 12 тисяч тонн насіння чорнушки дамаської щорічно. Це робить доцільним створення спеціалізованих агропромислових комплексів із культивування та переробки *Nigella damascena* в рамках фармацевтичного виробництва.

Для того, щоб розрахувати обсяги обладнання для виробництва ліпази з ~ 12200 тонн насіння *Nigella damascena* на рік, потрібно розглянути основні технологічні стадії, їх масштаб та підібрати орієнтовний обсяг обладнання, виходячи з: добової переробки сировини, ККД кожної стадії, умов роботи (безперервний/періодичний режим). Основні припущення у виробництві нігедази надані в табл. 3.1.

Хоча в останні роки спостерігається зростання попиту на рослинні джерела через алергій на свинячу ліпазу, вимог веганства/релігії, стійкості та чистоти рослинних ферментів, в Україні значну частину ринку займає ліпаза тваринного походження (близько 70 %).

Перерахуємо об'єм необхідної річної кількості нігедази, якщо доля ринку складе 30 %.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						28
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Таблиця 3.1. Основні припущення у виробництві нігедази

Показник	Значення
1. Річна переробка сировини	12200 тонн
2. Робочих днів на рік	261 днів
3. Добова переробка	46700 кг/день
4. Кількість робочих змін на добу	2 зміни (по 8 годин)
5. Очікуваний вихід ліпази	75 ОД/г сировини ($7,5 \times 10^4$ ОД/кг)
6. Цільовий обсяг ліпази	$9,13 \times 10^{11}$ ОД/рік

Тоді ринкова потреба виходячи з попереднього розрахунку:

1. Загальна потреба України у ліпазі: $9,13 \times 10^{11}$ ОД/рік

Відповідно:

Джерело ліпази	Частка	Потреба (ОД/рік)
<i>Nigella damascena</i>	30%	$2,74 \times 10^{11}$

З урахуванням того, що вихід ліпази з *Nigella damascena* ≈ 75 ОД/г сировини, потрібно:

$$\frac{2,74 \times 10^{11} \text{ ОД}}{75 \times 10^3 \text{ ОД/кг}} = 3,65 \times 10^6 \text{ кг сировини}$$

або 3650 тонн на рік.

2. Добова продуктивність

При 261 робочих днях:

$$\frac{3654}{261} = 14,0 \text{ т/день}$$

Тобто переробка сировини знизилася з 47 тонн/день до 14 тонн/день. 3

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		29

1 кг насіння отримують 82 г нігедази.

Таким чином, для однієї серії готового продукту нам потрібна кількість сировини, наведена в табл. 3.2.

Таблиця 3.2 – Потреби у сировині на 1 серію продукту

Сировина	Кількість, кг
Насіння <i>Nigella damascena</i>	14000,0
Розчин аміаку 25 %	27,8
Хлорид амонію	38,9
Сахароза	1,59
Вода очищена	50613,0

3.2 Розрахунок і вибір обладнання

1. Активація насіння.

Добовий об'єм 14000 кг розділяємо на 2 завантаження по 7000 кг, води очищеної потрібно взяти у співвідношенні 1:2, тобто 1 частина сировини, 2 частини води, таким чином води маємо 14000 кг.

Насипна щільність насіння чорнушки – 550 кг/м³ [3]. Відповідно об'єм насіння складе:

$$V_{\text{насіння}} = \frac{7000}{550} = 12,73 \text{ м}^3$$

Таким чином, загальний об'єм суміші складе:

$$12,73 + 14 = 26,73 \text{ м}^3$$

Враховуючи коефіцієнт збільшення об'єму суміші після набухання насіння, який за даними літератури становить близько 1,07 [6], перерахуємо

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						30
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

загальний об'єм суміші:

$$26,73 \times 1,07 = 28,60 \text{ м}^3.$$

З урахуванням 2-циклічного завантаження сировини об'єм одного завантаження складе $14,3 \text{ м}^3$. Візьмемо стандартний реактор на 8 м^3 , то з урахуванням коефіцієнту заповнення реактора 0,6 робочий об'єм складе $4,8 \text{ м}^3$. Підставимо наші дані:

$$\frac{14,3}{4,8} \approx 2,9$$

Таким чином, ми встановили, що для активації насіння нам знадобиться 3 реактори на 8 м^3 .

2. Водно-буферна екстракція білків

На екстракцію надходить 7560 кг шроту

Об'єм розчину: 3 л буфера на 1 кг шроту, тобто 22680 л/день)

Реактори для екстракції (при 4–8°C):

Реактор	Об'єм суспензії	Кількість
Біореактори з мішалкою	35000 л	2-3

3. Центрифугування та фільтрація

Обробка: ~35000-37000 л/день

Обладнання:

Центрифуги	Обсяг обробки	Кількість
Промислові декантери	10–15 м ³ /год	2–3

4. Діаліз та концентрування

Установка ультрафільтрації: ~15–20 м³/день

Обладнання	Об'єм	Кількість
Касети UF 30kDa	по 5–10 м ² /од	5–10 касет

5. Ліофілізація

Об'єм активного концентрату: ~2–5 м³/день

Ліофілізатори	Обсяг завантаження	Кількість
Ліофільні камери	500-800 л	4-6

6. Фасування та пакування готової продукції

Обладнання: пакувальна лінія

Установки повинні працювати мінімум у 2 зміни, з безперервним контролем рН, температури, витрати та стерильності.

Кількість та об'єм обладнання, необхідного для виробництва нігедази з насіння *Nigella damascena* з урахуванням присутності на ринку панкреатичної ліпази наведено в табл. 3.2.

Таблиця 3.2. Кількість та об'єм обладнання

Етап або обладнання	Кількість
Переробка сировини	14,0 т/день
Біореактори екстракції	8 м³ × 3–4
Центрифуги	10-15 м³/год 1-2
Ультрафільтраційні колонки	0,2–0,3 м³ × 2–3
Ліофілізатори	500-800 л × 4-6 1-2 шт.

Перерахуємо параметри одного біореактора при об'ємному співвідношенні екстракції сировина : буферний розчин 1:3 та використання 3 реакторів.

1. Вихідні дані:

На екстракцію надходить 35 м³ суспензії шроту у буферному розчині.

Якщо узяти циклів екстракції за добу – 4, тоді об'єм суспензії за цикл:

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						32
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

$$35/4 = 8,75 \text{ м}^3.$$

Загальна кількість реакторів: 2

Тоді робочий об'єм кожного реактора становить $8,75/2 = 4,375 \text{ м}^3$, з урахуванням коефіцієнту заповнення реактора (0,6) загальний потрібний об'єм реактора буде дорівнювати :

$$\frac{4,375}{0,6} \approx 7,3 \text{ м}^3.$$

2. Параметри реактора:

Використовуємо співвідношення $H/D = 2$ (висота до діаметру).

Об'єм циліндричної частини:

$$V = \frac{\pi D^3}{2} = 7,3 \Rightarrow D^3 = \frac{2 \cdot 7,3}{\pi} \approx 4,65 \Rightarrow D \approx 1,67 \text{ м}$$

Тоді:

Діаметр (D) $\approx 1,67 \text{ м}$

Висота (H) $= 2 \times D \approx 3,34 \text{ м}$

3. Діаметр валу мішалки

Стандартне співвідношення:

$$\frac{d_{\text{вала}}}{D} = 0,05 \Rightarrow d_{\text{вала}} = 0,05 \cdot 1,67 \approx 83,5 \text{ мм}$$

Округлюємо до стандартного: 80 мм.

4. Площа теплообмінної поверхні

Для охолодження буферної суспензії:

$$A = \pi DH = \pi \cdot 1,67 \cdot 3,34 \approx 17,5 \text{ м}^2$$

врахуємо кришку, дно та теплообмінник:

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						33
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

$$A_1 \approx 17,5 \cdot 1,2 \approx 21 \text{ м}^2$$

У табл. 3.3 наведено параметри для одного реактора.

Таблиця 3.3. Параметри реактора

Параметр	Значення
Корисний об'єм	7,3 м ³
Діаметр реактора (D)	1,67 м
Висота реактора (H)	3,34 м
Діаметр валу мішалки	80 мм
Площа теплообміну	~21 м ²

Кількість реакторів 2, продуктивність одного реактора ~7300 л/цикл.

Загальний вигляд реактора наведено на рис. 3.1.

Для нашого випадку — екстракції об'ємом 4,5 м³ - оптимальним є стандартний камерний реактор з нержавіючої сталі об'ємом ~ 8 м³ з оболонкою для охолодження.

Ми обрали промисловий реактор типу Jacketed Stainless Steel Stirred Tank Reactor, об'ємом 8000 л (~8м³). Матеріал: нержавіюча сталь (SS304 / SS316L) із дзеркальним поліруванням — відповідає фарма- та біотехнологічним стандартам.

Охолодження/нагрів: оболонка або зовнішній змієвик — дозволяє підтримувати температурний режим 4–8°C, що є оптимальним для ферментів, в тому числі рослинної ліпази.

Мішалка (турбінного або лопатевого типу) з приводом 7,5 кВт, регульована кількість обертів (50-100 об/хв) - підходить для гомогенізації суміші з твердими частинками.

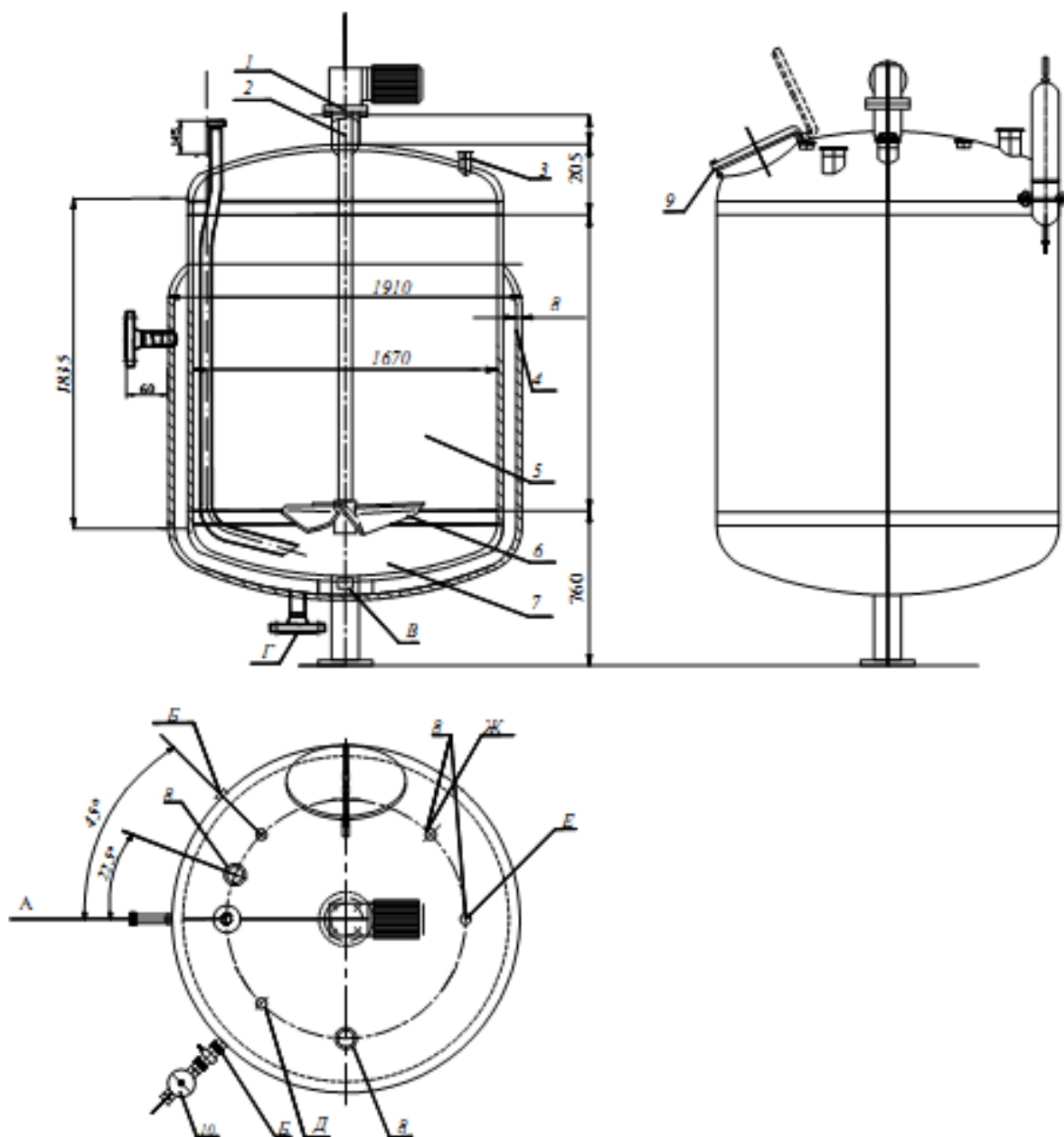


Рис. 3.1 – Загальний вигляд реактора для екстракції нігедази: 1 – привід мішалки; 2 – вал мішалки; 3 – патрубок; 4 – оболонка реактора; 5 – порожнина реактора; 6 – мішалка, 7 – днище реактора, 8 – патрубок, 9 – завантажувальний люк, 10 – фільтр для азоту, А – вивід розсолу, Б – вхід азоту, В – вивідний патрубок, Г – вхід розсолу, Д – вхід води гарячої, Е – вода очищена, Ж – вода водопровідна.

Реактор повністю відповідає вимогам GMP - нержавіюча сталь, CIP/SIP, контроль температури та перемішування з можливістю чищення in place та стерилізації.

Стандартне промислове рішення серійно доступне у багатьох постачальників (Made-in-China, European vendors).

Ультрафільтраційний мембранний елемент складається з порожнистих волокон з гідрофільного матеріалу з розміром пор від 0,01 до 0,1 мкм. Зовнішній діаметр волокон становить 1,3 мм, внутрішній – 0,7 мм, порожнисті волокна закріплюється у корпусі мембранного елемента. Готові мембранні елементи розміщуються на каркасі установки і підключаються до системи розподілу рідин в залежності від потреби у продуктивності установки.

Майже усі виробники мембран виготовляють їх з полімерних матеріалів, таких як поліакрилонітрил, поліімід, аліфатичний поліамід, похідні целюлози, сульфований полісульфон, полівініліденфторид. Крім того, для виготовлення мембран можуть використовуватися окремі керамічні (неорганічні) матеріали.

Стаціонарний ультрафільтраційний модуль є одним зі способів мембранної фільтрації, в якій рідина за допомогою гідростатичного тиску просочується через порожнисті волокна. Порожнисті волокна використані в ультрафільтраційних мембранах — це тонкий шар матеріалу, здатний відсівати певні речовини, якщо величина їх молекул більше розміру мембранних пор. Ультрафільтраційна мембрана, яку ще називають капілярною, здатна видаляти бактерії, віруси і зважені речовини.

Мембрани ультрафільтрації містять порожні волоконні трубки, до яких під тиском проходить вода ззовні всередину, залишаючи на зовнішній стороні бактерії, віруси та зважені певні речовини, тоді як вода і низькомолекулярні розчинені речовини проходять крізь них.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		36

3.3 Опис технологічного процесу

Для забезпечення фармацевтичної якості ліпази необхідно враховувати ключові фактори виробничої надійності та відповідності до вимог GMP. Кожен етап технологічного процесу супроводжується потенційними ризиками, що потребують адекватних заходів контролю та валідації:

- Якість вихідної сировини: потрібне сертифіковане рослинництво, перевірка на пестициди, мікотоксини, важкі метали. Застосовується вхідний контроль та атестація постачальників.
- Контролює критичні параметри процесів: температура, рН, час екстракції, концентрація осадника. Ці параметри підлягають постійному моніторингу та запису.
- Ідентифікація та активність ліпази: оцінюється біохімічними методами (спектрофотометрія, електрофорез), підтверджується стабільність та активність у заданих умовах.
- Запобігання забрудненню: необхідні стерильні умови у ключових стадіях, використання фільтрів 0,22 мкм, чистих приміщень класу D та вище, а також дотримання правил персоналу (GMP-тренінг, контроль одягу та доступу).
- Документування та простежуваність: всі дії фіксуються у виробничій документації, включаючи протоколи контролю якості, звіти про відхилення, лог-файли обладнання.
- Фінальний контроль: Мікробіологічні випробування, тести на залишкові розчинники, перевірку стабільності при зберіганні.

Таким чином, успіх промислового впровадження ліпази з *Nigella damascena* у фармацевтичне виробництво залежить від суворості дотримання норм GMP, впровадження систем управління якістю (QMS) та постійного

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						37
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

вдосконалення технології з опорою на принципи аналізу ризиків (QbD, НАССР). Ці заходи забезпечують безпеку, ефективність і відтворюваність ферментних препаратів з урахуванням рослинних ліпаз.

Отримання нігедази з насіння чорнушки дамаської включає такі етапи та стадії:

1. Підготовка сировини
2. Активація насіння
3. Подрібнення насіння
4. Приготування буферного розчину
5. Екстракція ліпази буферним розчином аміаку (з рН 9-10)
6. Видаляють шрот, баластові білки центрифугуванням
7. Концентрування розчину нігедази за допомогою ультрафільтрації
8. Стабілізація нігедази
9. Сушка
10. Пакування готової продукції

Роздивимось більш детально весь технологічний процес отримання нігедази з насіння чорнушки.

Стадія 1. Підготовка сировини

Відважене на вагах (КП 1) у збірнику (З 2) повітряно-сухе насіння чорнушки дамаської завантажують у промивний барабан (Б 4), промивають теплою водою питною з температурою 25–30 °С, відміряною в мірнику М 3 і підігрітою в реакторі (Р 5), протягом 10 хв., залишки води видаляють на центрифугі (Ц 6) і за допомогою стрічкового конвеєра (Т 7) подають на стадію активації.

Стадія 2. Активація насіння

У реактор (Р 9) завантажують промите насіння і заливають водою очищеною через мірник (М 8) з температурою 35–39 °С у співвідношенні 1:2. До оболонки реактора подають гарячу воду для підтримання температури 35-

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		38

39 °C і суміш залишають на добу для активації ферменту. Після закінчення процесу активації надмірну вологу видаляють за допомогою центрифуги (Ц 10), а активоване насіння за допомогою стрічкового конвеєра (Т 11) подають на стадію подрібнення.

Стадія 3. Подрібнення насіння

Насіння подрібнюють на вальцях (В 12), попередньо встановивши зазор між вальцями $1,5 \pm 0,5$ мм, і збирають у збірники (З 13), які передають на стадію 4.

Стадія 4. Приготування буферного розчину

На вагах (КП 14) у збірнику (З 15) відважують амонію хлорид, завантажують у реактор (Р 16), із мірника (М 17) заливають потрібну кількість води очищеної, перемішують, із мірника (М 18) в герметичних умовах заливають потрібну кількість розчину аміаку 25 %, суміш перемішують за допомогою мішалки при обертах 100 об/хв. Подають в оболонку реактора розсіл, охолоджують буферний розчин до температури 4–8 °C, постійно перемішуючи і за допомогою насосу (Н 19) передають до реактора (Р 20) на стадію екстракції.

Стадія 5. Екстракція ліпази

З подрібненого насіння екстрагують нігедазу амонійним буферним розчином з рН 9,5.

Подрібнене насіння завантажують у реактор (Р 20), з реактора (Р 16) насосом (Н 19) заливають аміачний буферний розчин з рН 9,5, охолоджений до температури 4-8 °C і перемішують. Суміш витримують протягом 30 хвилин при температурі 4–8 °C. Отримане вилучення, що містить нігедазу, насосом (Н 21) передають на стадію 6.

Стадія 6. Центрифугування

Розчин нігедази відокремлюють від шроту на центрифугі (Ц 22).

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						39
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Суміш із реактора (Р 20) насосом (Н 21) подається у ротор центрифуги (Ц 22). Частота обертання ротора 3000 об/хв. Відділений екстракт самопливом збирається у збірник (З 23), який передають на стадію 7. Шрот передають на утилізацію.

Стадія 7. Діаліз і концентрування розчину нігедази

Збірник (З 23) з екстрактом нігедази з'єднують шлангом з лінією подачі на ультрафільтраційній установці (Ф 24). Вмикають насос (Н 25). Регулюючи запірним вентилем, збільшують тиск в системі до $(0,15 \pm 0,01)$ МПа і починають процес фільтрації. Тиск вимірюють манометром. Екстракт зі збірника (З 23) насосом подається в ультрафільтраційний апарат (Ф 24) і вертається назад у збірник (З 23). Концентрують екстракт у 5 разів (за об'ємом) і передають на стадію 8.

Стадія 8. Стабілізація нігедази

До реактора (Р 28) подають зі збірника (З 23) концентрований екстракт нігедази, додають сахарозу, відважену на вагах КП 26 у збірнику З 27, у кількості 0,1 г на 1 л екстракту для стабілізації ферменту, перемішують 10 хв і передають на стадію сушіння 9.

Стадія 9. Сушіння

Сушіння розчину препарату нігедази здійснюють на ліофільній установці (СШ 30).

Розчин розливають у касети і проводять попереднє заморожування у низькотемпературній камері (Х 29). Процес сушіння ведуть при температурі $(\text{мінус } 35 \pm 2) ^\circ\text{C}$ протягом (1,5–2) год у ліофільній сушарці (СШ 30). Касети з висушеним препаратом передають на стадію 10.

Стадія 10. Фасування в пакети

Висушений порошок нігедази фасують на автоматичній лінії ГФ 31 у пакети Zip-lock по 1 кг, наклеюють етикетки.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						40
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

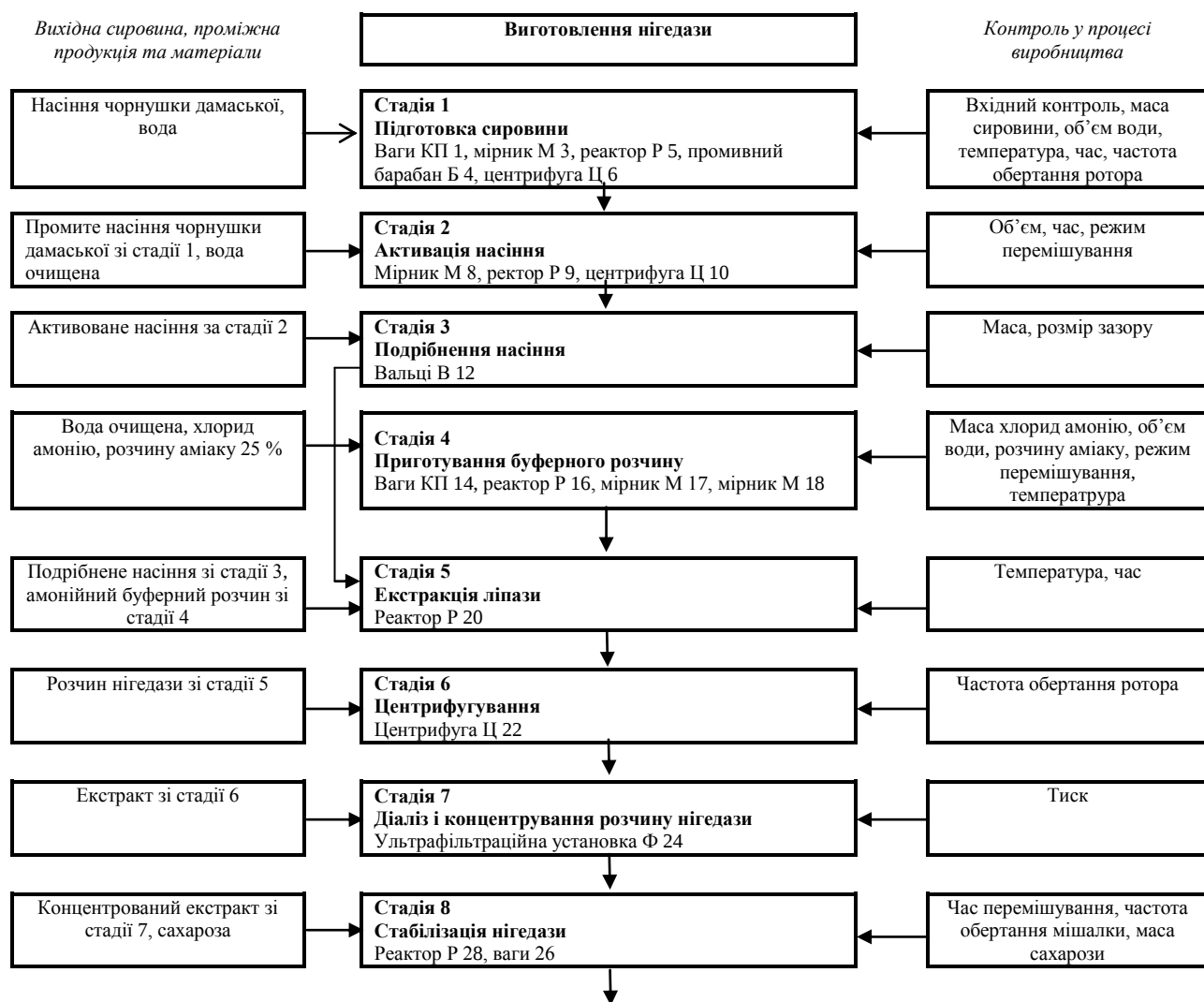
Стадія 11. Пакування та маркування препарату

Пакети з нігедазою по 10 штук пакують до ящиків картонних, наклеюють етикетки групові, після чого ящики направляються на склад готової продукції.

З 1 кг насіння *Nigella damascena* отримують 82 г нігедази з ліполітичною активністю 110000 Од/г.

3.4 Схеми виробництва

Виробництво нігедази містить стадії технологічного процесу виділення ферменту з рослинної сировини, схеми якого наведені на рис. 3.2 і 3.3.



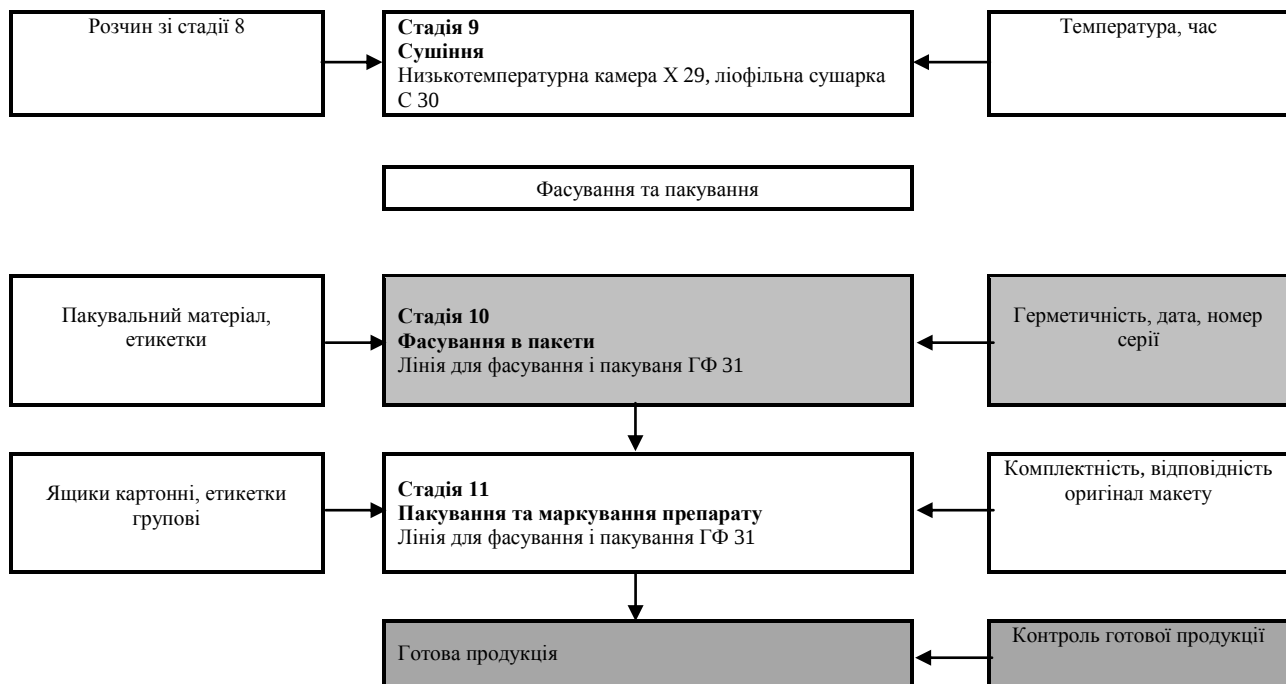


Рис. 3.2 – Технологічна схема одержання нігедази

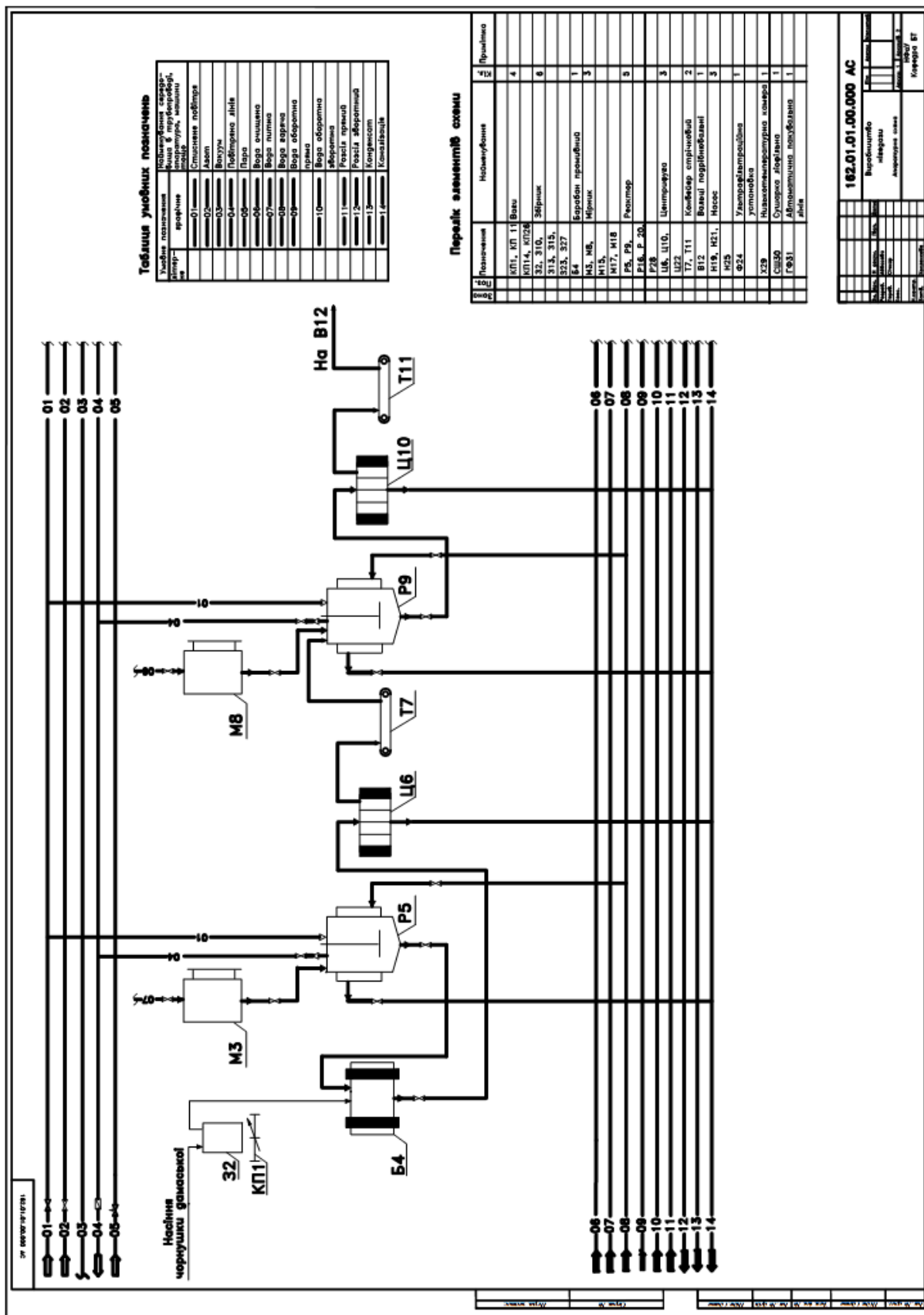


Рис. 3.3 – Апаратурна схема одержання нігедаси

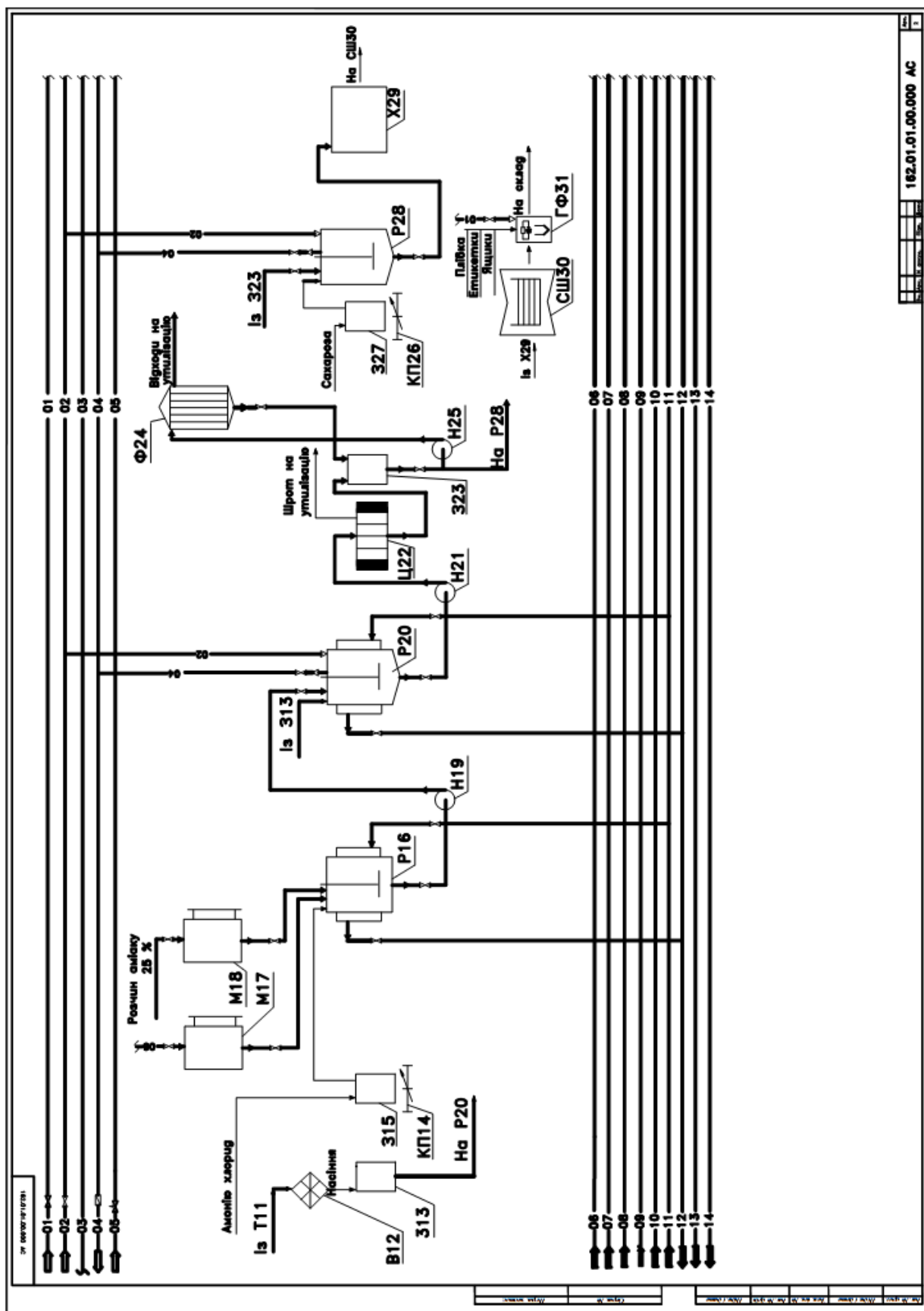


Рис. 3.3 – Апаратурна схема одержання нігедази (продовж.)

3.5 Контроль виробництва

Контроль процесу ферментації ліпази із рослинної сировини (зокрема *Nigella damascena*) є критично важливим для забезпечення стабільності, стерильності та ефективності біотехнологічного виробництва. Він охоплює три основні складові: технологічний, хімічний та мікробіологічний контроль.

Технологічний контроль

Технологічний контроль при виробництві рослинної ліпази передбачає моніторинг фізико-хімічних умов на ключових стадіях процесу:

Температурний режим: збереження температури під час екстракції (не вище 10–15 °C) для запобігання денатурації білків.

Співвідношення сировини до екстрагента: контроль співвідношення маса/об'єм (наприклад, 1:3 – 1:5).

Час екстракції: визначається експериментально для кожного типу сировини (зазвичай 4–8 год).

pH буферного розчину: підтримується на рівні 6,8–7,2 для оптимальної стабільності ферменту.

Швидкість перемішування в реакторі: 60–100 об/хв для забезпечення ефективного масообміну.

Параметри контролюються за допомогою датчиків температури, рН-метрів, системи логування та візуального контролю в реальному часі.

Хімічний контроль

Хімічний аналіз необхідний для підтвердження ефективності кожного етапу обробки:

Контроль складу сировини: визначення вмісту білку та жиру перед початком обробки.

Визначення активності ліпази: ферментативна активність визначається шляхом гідролізу тригліцеридів та аналізу вільних жирних кислот (наприклад, методом титрування).

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						45
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Контроль залишкового гексану: особливо важливо для фармацевтичного застосування — проводиться методом газової хроматографії.

Контроль чистоти буферних розчинів та іммобілізованих форм: визначення залишкових солей, білків, вуглеводів.

На етапі діалізу або ультрафільтрації визначається ступінь очищення по провідності або спектрофотометричними методами.

Мікробіологічний контроль

Попри те, що продукт не отримується в результаті мікробної ферментації, мікробіологічний контроль обов'язковий.

Перевірка сировини на мікробну обсемененість: визначення загального мікробного числа, наявність пліснявих грибів або патогенів.

Контроль стерильності буферів і обладнання: особливо на пізніх етапах, перед сушінням або упаковкою.

Аналіз готового екстракту: перевірка на мікробіологічну чистоту відповідно до фармакопейних норм.

Критерії завершення процесу екстракції

Завершення технологічного циклу встановлюється за сукупністю параметрів:

- досягнення цільової концентрації ферменту в екстракті (активність >500–1000 U/мл);
- стабілізація рН буферного розчину;
- повне знежирення сировини (контроль вмісту ліпідів після обробки);
- виконання нормативного часу витримки та очищення.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						46
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

3.6 Екологічні аспекти виробництва

Виробництво ліпази з рослинної сировини, зокрема з насіння чорнушки дамаської, має певні переваги перед мікробіологічними та тваринними методами з погляду екологічної безпеки. Однак при масштабуванні процесу необхідно враховувати потенційний вплив на навколишнє середовище та розробляти відповідні заходи з його мінімізації.

Переваги з точки зору екології:

1. Відновлюваність сировини: насіння *Nigella damascena* може вирощуватися в екологічно чистих регіонах України без застосування хімічних добрив та пестицидів.
2. Відсутність генетично модифікованих організмів (ГМО): рослинна сировина не потребує ГМО-продуцентів, як у випадку мікробних ліпаз.
3. Зниження ризику алергенності та біоаккумуляції: рослинні ферменти не містять домішок тваринного походження, що знижує біологічні ризики для пацієнтів та довкілля.
4. Зниження утворення відходів: після екстракції відпрацьоване насіння може бути використано як сировина для біопалива або компостування.

Основні джерела потенційного забруднення наведені в табл. 3.3.

Екологічні рішення у виробництві:

1. Біологічне очищення стічних вод: використання мікробних флокулянтів та біореакторів для деградації органіки.
2. Утилізація відходів насіння: відпрацьований шрот після екстракції може бути перероблений на органічні добрива або брикети.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						47
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Таблиця 3.3 – Основні джерела потенційного забруднення

Джерело	Характеристика	Можливі наслідки
Залишки гексану після знежирення	Органічний розчинник, леткий і токсичний	Загроза ґрунтовим і водним ресурсам
Стічні води з білками та солями	Містять сульфат амонію, залишки білків	Біогенне забруднення
Викиди пилу з насіння	Механічне подрібнення викликає запилення	Потенційна алергенність
Використана тара, пластики	Пакування реагентів, фільтрів, середовищ	Накопичення побутових відходів

3. Вентиляція та фільтрація повітря: фільтри тонкого очищення запобігають пиловому та паровому забрудненню повітря.

4. Рециклінг пакування: впровадження політики поводження з відходами відповідно до ISO 14001.

Нормативна база

Виробництво ліпази має відповідати таким екологічним нормам:

Закон України "Про охорону навколишнього природного середовища" (1991);

ДБН В.2.2-10-2001. Вимоги до підприємств харчової промисловості;

ISO 14001:2015 – Системи екологічного менеджменту;

Фармакопейні вимоги до залишків органічних розчинників (Ph. Eur., ДФУ).

Таким чином, процес отримання ліпази з *Nigella damascena* за правильного проєктування та контролю має низький екологічний вплив. Упровадження систем рекуперації, біоочищення та повторного використання залишків робить таке виробництво сталим, відповідальним та придатним для фармацевтичного ринку України.

ВИСНОВОК

У процесі виконання роботи було досліджено джерела, методи отримання, очищення та медичне застосування ліпаз, з особливою увагою до рослинної ліпази з *Nigella damascena* (чорнушки дамаської). Продемонстровано, що ця рослинна ліпаза має високу біосумісність, потенційно нижчу алергенність та може застосовуватись як ферментативний компонент у фармацевтичних препаратах, зокрема у складі ферментного засобу "Нігедаза".

Було обґрунтовано технологічну схему промислового виробництва ліпази з насіння чорнушки, підібрано відповідне обладнання, розраховано обсяги виробництва для покриття потреб українського ринку та проаналізовано екологічні аспекти такого виробництва. Особливу увагу приділено стандартам належної виробничої практики (GMP) та контролю якості на всіх етапах технологічного процесу.

Водночас встановлено, що в Україні наразі відсутнє повноцінне промислове виробництво ферментного препарату на основі рослинної ліпази "Нігедаза", попри очевидні переваги цього препарату, зокрема:

можливість заміни тваринних ферментів,
меншу чутливість до температурних змін,
потенційне використання в пацієнтів із непереносимістю панкреатину тваринного походження.

Отже, створення власного виробництва ферменту з *Nigella damascena* є перспективним напрямом розвитку української фармацевтики, що дозволить:

зменшити імпортозалежність,
розширити асортимент вітчизняних ферментних препаратів,
сприяти розвитку біотехнологічного сектору,
а також забезпечити сталість і екологічну безпечність фармацевтичного виробництва.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						49
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Результати цієї роботи можуть бути використані як техніко-технологічне обґрунтування для проектування пілотної виробничої ділянки з отримання лікарської ліпази рослинного походження в Україні.

Після проведення масштабування на основі проведених розрахунків, розробленої промислової технології з вибором основного і допоміжного обладнання в роботі можлива організація великотоннажного промислового випуску нігедази.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						50
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Біотехнологія : підручник / В. Г. Герасименко та ін. Київ : Інкос, 2006. 647 с.
2. Колесніков М. О., Пащенко Ю. П. Біохімія та фізіологія рослин. Малий практикум : навч.-метод. посіб. Мелітополь : ТДАТУ, 2022. 226 с.
3. Буца М. Обґрунтування технології виробництва олії із насіння чорнушки дамаської : пояснювальна записка до кваліфікац. роботи ступеня вищої освіти «Магістр». Дніпро : Дніпров. держ. аграрно-економ. ун-т, 2022. 79 с.
4. Вирощування нігелли на півдні України може зацікавити бджолярів та ландшафтних дизайнерів. *AGRI-GATOR*. 2021. URL: <https://agrigator.com.ua/2019/09/22/vyroshchuvannia-nihelly-na-pivdni-ukrainy-mozhe-zatsikavyty-bdzholiariv-ta-landshaftnykh-dyzajneriv/> (дата звернення: 09.12.2024).
5. Діхтярьов С. І. Чернобай Володимир Тимофійович. *Фармацевтична енциклопедія*. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/83/chernobaj-volodimir-timofijovich> (дата звернення: 05.03.2025).
6. Дроздова А. А., Мойсієнко В. В. Особливості росту і розвитку рослин чорнушки (*Nigella l.*) залежно від елементів технології вирощування *Таврійський науковий вісник*. 2023. № 132. С. 59–65.
7. Дроздова А. А. Енергетична та економічна оцінка вирощування чорнушки посівної і чорнушки дамаської. *Перспективні напрями наукових досліджень лікарських і ефіроолійних культур* : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф., 25 берез. 2024 р. Лубни : Інтер Парк, 2024. С. 60–62.
8. Екологічна біотехнологія : навч. посіб. : у 2 кн. / О. В. Швед та ін. Львів : Львів. політехніка, 2018. Т. 1. 424 с.
9. Каратєєва О. І., Юлевич О. І. Загальна біотехнологія : курс лекцій для здобувачів (короткого циклу) рівня вищ. освіти ОПП «Біотехнології та

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		51

біоінженерія» спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія» денної форми здобуття вищ. освіти. Миколаїв : МНАУ, 2022. 107 с.

10. Капрельянц Л. В. Теоретичні основи біотехнології : навч. посіб. Харків : Факт, 2020. 296 с.

11. Ковальов В. М. Чорнушка. *Фармацевтична енциклопедія*. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/6810/chornushka> (дата звернення: 08.03.2025).

12. Красінько В. О. Методи контролю біотехнологічних, фармацевтичних і харчових виробництв : конспект лекцій. Київ : НУХТ, 2019. 252 с.

13. Загальна (промислова) біотехнологія : навч. посіб. / М. Д. Мельничук та ін. Київ : ФОП Корзун Д. Ю., 2014. 252 с.

14. Методи фармакогностичного аналізу. ЛР, сировина рослинного і тваринного походження, яка містить вуглеводи, глікозиди, ліпіди, білки, вітаміни, органічні кислоти та ізопреноїди. Модуль 1 : навч.-метод. посіб. з фармакогнозії для лабораторної роботи студентів III курсу фармацевт. ф-ту спец. «Фармація» / С. Д. Тржецинський та ін. Запоріжжя : ЗДМУ, 2015. 154 с.

15. Методичні рекомендації до виконання кваліфікаційної роботи бакалавра для здобувачів вищої освіти спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» ОП «Біотехнологія» / О. С. Калюжная та ін. Харків : НФаУ, 2024. 128 с.

16. Пирог Т. П., Ігнатова О. А. Загальна біотехнологія : підручник. Київ : НУХТ, 2009. 336 с.

17. Сидоров Ю. І., Влязло Р. Й., Новіков В. П. Процеси і апарати мікробіологічної промисловості. Технологічні розрахунки. Приклади і задачі. Ч. III. Основи проектування мікробіологічних виробництв. Львів : Львів. політехніка, 2004. 252 с.

18. Технологічне обладнання біотехнологічної і фармацевтичної промисловості : підруч. для вищ. навч. закл. / М. В. Стасевич та ін. Львів :

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		52

Новий Світ–2000, 2018. 410 с.

19. Чорний кмин таблетки, нігедаза 90 шт Данікафарм. URL: [https://fito.ua/ua/p1612272236-chernyj-tmin-tabletki.html?srsId=](https://fito.ua/ua/p1612272236-chernyj-tmin-tabletki.html?srsId=AfmBOor0VbMG8vGYD0iOdN37Yf9N_euv-ghJ8MlDwdIyJVsaMnEEeHFV)

[AfmBOor0VbMG8vGYD0iOdN37Yf9N_euv-](https://fito.ua/ua/p1612272236-chernyj-tmin-tabletki.html?srsId=AfmBOor0VbMG8vGYD0iOdN37Yf9N_euv-ghJ8MlDwdIyJVsaMnEEeHFV)

[ghJ8MlDwdIyJVsaMnEEeHFV](https://fito.ua/ua/p1612272236-chernyj-tmin-tabletki.html?srsId=AfmBOor0VbMG8vGYD0iOdN37Yf9N_euv-ghJ8MlDwdIyJVsaMnEEeHFV) (дата звернення: 08.12.2024).

20. Юлевич О. І., Ковтун С. І., Гиль М. І. Біотехнологія : навч. посіб. Миколаїв : МДАУ, 2012. 476 с.

21. Biological properties, phenolic profile, and botanical aspect of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascene* L. seeds: a comparative study / L. Benazzouzmail et al. *Molecules*. 2023. Vol. 28(2). P. 571. DOI: 10.3390/molecules28020571.

22. Commission Regulation (EU) No 234/2011 of 10 March 2011 implementing Regulation (EC) No 1331/2008 of the European Parliament and of the Council establishing a common authorisation procedure for food additives, food enzymes and food flavourings. *Official Journal of the European Union*. 2011. L 64. P. 15–24.

23. Effective callus induction and plant regeneration in callus and protoplast cultures of *Nigella damascena* L. / M. Klimek-Chodacka et al. *Plant Cell, Tissue Organ Cult. (PCTOC)*. 2020. Vol. 143(3). P. 693–707. DOI: 10.1007/s11240-020-01953-9.

24. Kuzmishyna I. Medicinal plants and medicinal raw materials: theory and practice : навч.-метод. посіб. Луцьк, 2024. 268 с.

25. Lipolytic enzymes: biological features and applications in the food industry / V. V. Havryliak et al. *CTAS*. 2024. Vol. 7(2). P. 116–125.

26. Lyakh V., Soroka A. New mutations of flower shape in *Nigella damascena* L., its pleiotropic effects and patterns of inheritance. *Adv. Hort. Sci.* 2023. Vol. 37(3). P. 289–293.

27. Micro- and macroscale patterns of petal morphogenesis in *Nigella damascene* (Ranunculaceae) revealed by geometric morphometrics and cellular

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		53

analyses / P. Galipot et al. *Frontiers Plant Sci.*, 2021. Vol. 12. P. 769246. DOI: 10.3389/fpls.2021.769246.

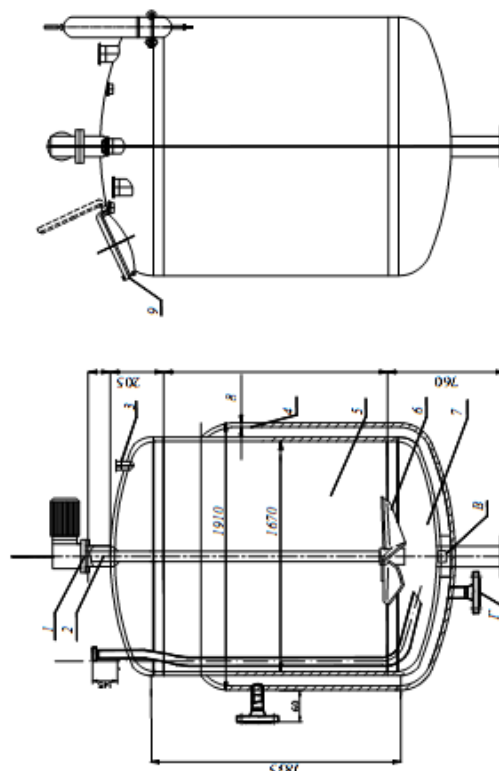
28. Nigella plants. Traditional uses, bioactive phytoconstituents, preclinical and clinical studies / B. Salehi et al. *Front. Pharmacol.* 2021. Vol. 12. P. 625386. DOI: 10.3389/fphar.2021.625386.

29. Phytochemical and micromorphological analysis of the seeds collected from the newly developed Nigella damascena L. Cultivar / M. I. Shanaida et al. *Pharmaceutical review*. 2024. № 3. P. 13–20.

30. Ulusu F., Şahin A. Investigation on the effects of different concentrations of some fertilizers on yield, quality and essential and fixed oil composition of Nigella damascene. *Rom. Biotechnol. Lett.* 2021. Vol. 26(3). P. 2722–2735.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						54
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ДОДАТКИ



Технічні характеристики:

Решетар з мішалкою з нижнім спуском, оболонкою, ділянком шлангу.

• 5000.1

- 1670 .mm

www.3340.net

• **આવકવર્ધન**

- 7,5 κΒm

Перелік складових частин

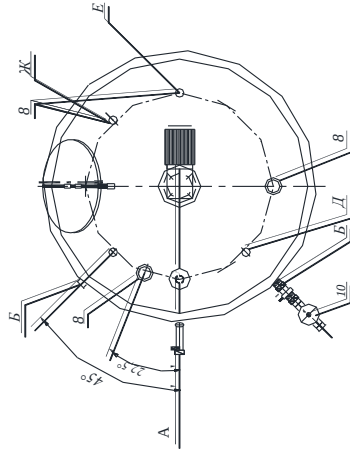
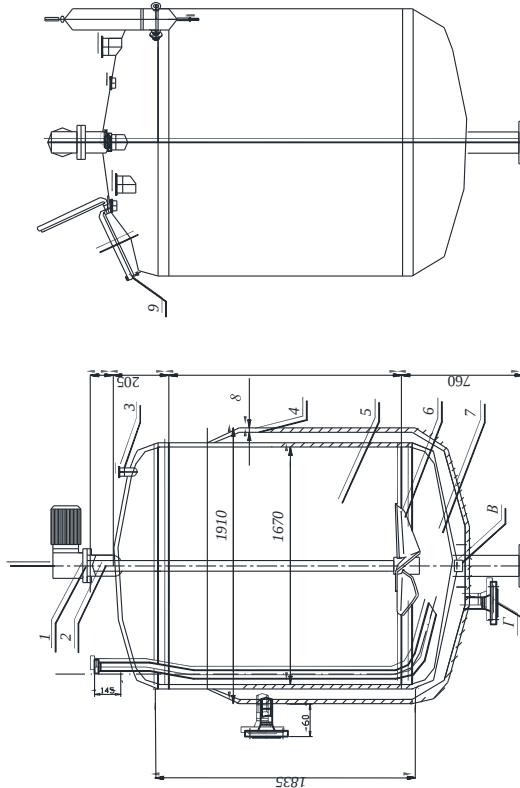
№ п/п	Имя	Подпись	Дата	Подпись
1	Григорьев Александр			
2	Васильев Александр			
3	Павлов Александр			
4	Сидоров Александр			
5	Петров Александр			
6	Иванов Александр			
7	Смирнов Александр			
8	Мухоморов Александр			
9	Павлов Александр			
10	Сидоров Александр			
11	Петров Александр			
12	Иванов Александр			
13	Смирнов Александр			
14	Мухоморов Александр			
15	Павлов Александр			
16	Сидоров Александр			
17	Петров Александр			
18	Иванов Александр			
19	Смирнов Александр			
20	Мухоморов Александр			
21	Павлов Александр			
22	Сидоров Александр			
23	Петров Александр			
24	Иванов Александр			
25	Смирнов Александр			
26	Мухоморов Александр			
27	Павлов Александр			
28	Сидоров Александр			
29	Петров Александр			
30	Иванов Александр			
31	Смирнов Александр			
32	Мухоморов Александр			
33	Павлов Александр			
34	Сидоров Александр			
35	Петров Александр			
36	Иванов Александр			
37	Смирнов Александр			
38	Мухоморов Александр			
39	Павлов Александр			
40	Сидоров Александр			
41	Петров Александр			
42	Иванов Александр			
43	Смирнов Александр			
44	Мухоморов Александр			
45	Павлов Александр			
46	Сидоров Александр			
47	Петров Александр			
48	Иванов Александр			
49	Смирнов Александр			
50	Мухоморов Александр			
51	Павлов Александр			
52	Сидоров Александр			
53	Петров Александр			
54	Иванов Александр			
55	Смирнов Александр			
56	Мухоморов Александр			
57	Павлов Александр			
58	Сидоров Александр			
59	Петров Александр			
60	Иванов Александр			
61	Смирнов Александр			
62	Мухоморов Александр			
63	Павлов Александр			
64	Сидоров Александр			
65	Петров Александр			
66	Иванов Александр			
67	Смирнов Александр			
68	Мухоморов Александр			
69	Павлов Александр			
70	Сидоров Александр			
71	Петров Александр			
72	Иванов Александр			
73	Смирнов Александр			
74	Мухоморов Александр			
75	Павлов Александр			
76	Сидоров Александр			
77	Петров Александр			
78	Иванов Александр			
79	Смирнов Александр			
80	Мухоморов Александр			
81	Павлов Александр			
82	Сидоров Александр			
83	Петров Александр			
84	Иванов Александр			
85	Смирнов Александр			
86	Мухоморов Александр			
87	Павлов Александр			
88	Сидоров Александр			
89	Петров Александр			
90	Иванов Александр			
91	Смирнов Александр			
92	Мухоморов Александр			
93	Павлов Александр			
94	Сидоров Александр			
95	Петров Александр			
96	Иванов Александр			
97	Смирнов Александр			
98	Мухоморов Александр			
99	Павлов Александр			
100	Сидоров Александр			

Таблица 1

Group	Hydrophobic	Area	Percent hydrophobic by area
A	Short alkanes	1	70
B	Short alkanes	1	40
C	Short alkanes	1	20
D	Short alkanes	1	40
E	Short alkanes	1	40
F	Short alkanes	1	40
G	Short alkanes	1	40
H	Short alkanes	1	40
I	Short alkanes	1	40
J	Short alkanes	1	40
K	Short alkanes	1	40
L	Short alkanes	1	40
M	Short alkanes	1	40
N	Short alkanes	1	40
O	Short alkanes	1	40
P	Short alkanes	1	40
Q	Short alkanes	1	40
R	Short alkanes	1	40
S	Short alkanes	1	40
T	Short alkanes	1	40
U	Short alkanes	1	40
V	Short alkanes	1	40
W	Short alkanes	1	40
X	Short alkanes	1	40
Y	Short alkanes	1	40
Z	Short alkanes	1	40

[illegible]

162.01.01.00.00.03



Технічні характеристики :

Реактор з мішалкою з нижнім ступком, оболонкою,
фільтром азоту:
Об'єм - 8000 л
Діаметр - 1670 мм
Висота - 3340 мм
Тип мішалки - трилопатева
Потужність привода електрична
мішалки - 7,5 кВт

Перелік складових частин

Код	Назва частини	Матеріал	Кількість	Примітка
1	Привід мішалки	Сталь	1	
2	Без мішалки	Сталь	1	
3	Мішалка	Сталь	1	
4	Оболонка	Сталь	1	
5	Порожнина реактора	Сталь	1	
6	Мішалка	Сталь	1	
7	Діафрагма	Сталь	1	
8	Мішалка	Сталь	1	
9	Характеристики мішалки	Сталь	1	
10	Фільтр для азоту	Сталь	1	

Таблиця шпигерів

Назва	Найменування	Протяг	Розмір	Матеріал
А	Вхід розсолу	1	70	Сталь
Б	Вхід азоту	1	40	Сталь
В	Вихідний патрубок	1	70	Сталь
Г	Вхід розсолу	1	70	Сталь
Д	Вхід води гарячої	1	40	Сталь
Е	Вхід очищеної	1	40	Сталь
Ж	Вхід водопровідна	1	40	Сталь

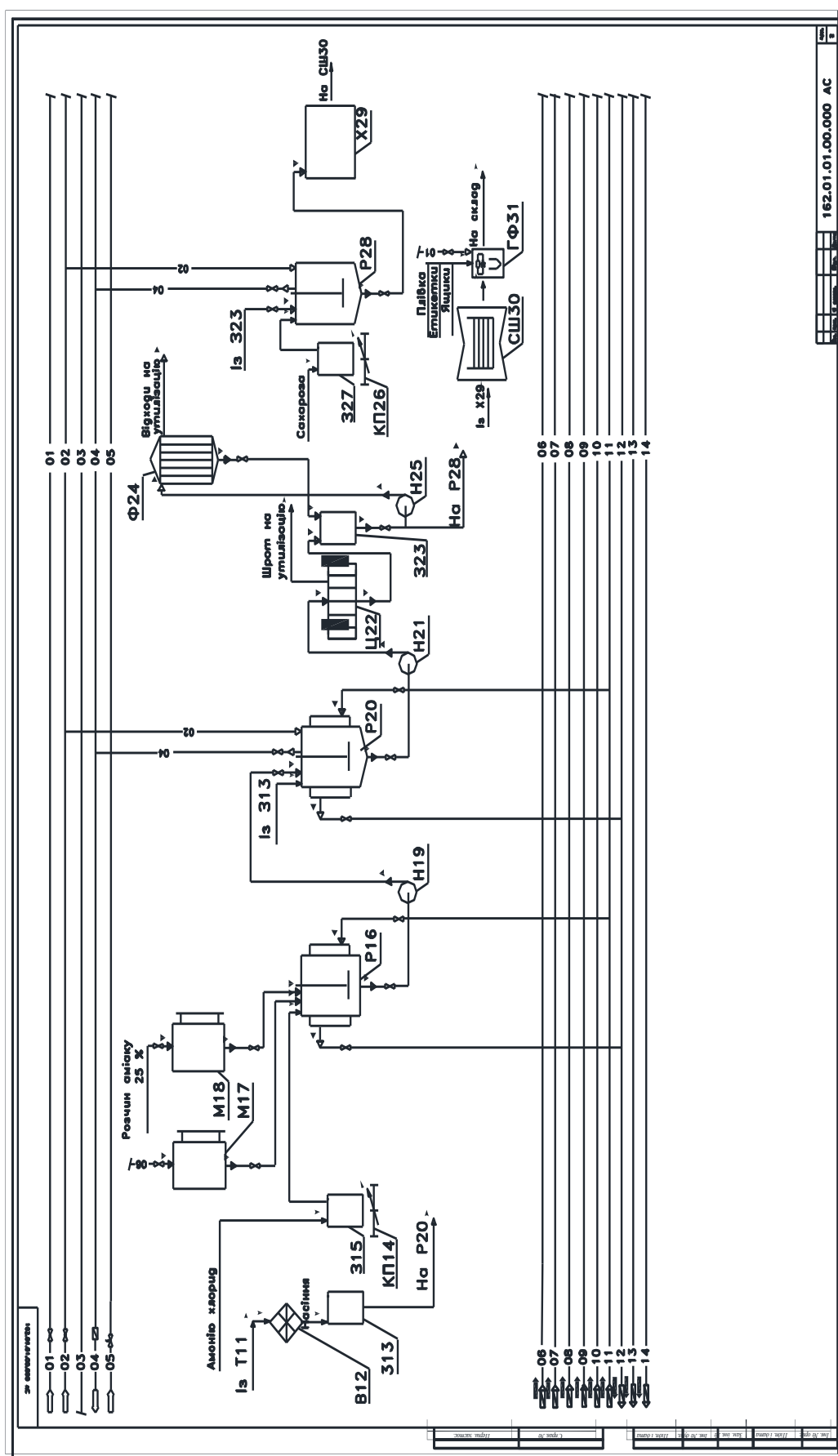
162.01.01.00.00.03

Реактор

Корпусна металова вафля

Сталь

Корпус реактора







ІПКЄФ
НФДУ



Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет
Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації

Матеріали

*II Науково-практичної Internet-конференції
з міжнародною участю*

ФАРМАЦЕВТИЧНІ ТЕХНОЛОГІЇ, СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТА ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Харків, 22 травня 2025

ТЕХНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ОРГАНІЗАЦІЇ ВИРОБНИЦТВА НІГЕДАЗИ НА СУЧАСНОМУ ПІДПРИЄМСТВІ ЗА ВИМОГАМИ GMP

Аббасова Е. А., Січкарь А. А., Манський О. А.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

antoneo@ukr.net

Вступ. Ферментні препарати рослинного походження дедалі частіше знаходять застосування у медичній практиці завдяки м'якій дії та високому профілю безпеки. Нігедаза — вітчизняний ліполітичний фермент, отриманий із насіння *Nigella damascena* L., є прикладом ефективного природного засобу для корекції порушень ліпідного травлення. Розроблений ще у 1980-х роках у лабораторії ферментних препаратів Харківського науково-дослідного хіміко-фармацевтичного інституту (нині ДП "ДНЦЛЗ") під керівництвом проф. Чорнобая В. Т. [1], цей препарат потребує сучасної оптимізації технологічного процесу в контексті вимог GMP (Good Manufacturing Practice) [2].

Мета дослідження. Обґрунтувати основні технологічні підходи до організації виробництва Нігедази відповідно до вимог GMP на сучасному біотехнологічному підприємстві.

Методи дослідження. Аналіз нормативних документів GMP (EU GMP, WHO GMP); систематизація вимог до кваліфікації обладнання, валідації процесів і забезпечення якості; порівняльний аналіз традиційного та сучасного підходів до ферментного виробництва.

Результати дослідження. Визначено критичні точки технологічного процесу виробництва Нігедази, що вимагають особливої уваги з точки зору GMP: стандартизація сировини (насіння *Nigella damascena*), контроль параметрів екстракції, мікробіологічна чистота, відтворюваність активності ферменту, а також стабільність готової форми.

Запропоновано модифіковану схему виробництва з урахуванням вимог щодо зонування, контролю перехресного забруднення, ведення документації, валідації процесів та кваліфікації персоналу.

Висновки. Впровадження виробництва Нігедази за принципами GMP є цілком реалістичним і необхідним кроком для забезпечення високої якості препарату та його конкурентоспроможності. Раціональна організація технологічного процесу, що базується на сучасних вимогах до якості, дозволяє створити безпечний, ефективний і стабільний препарат рослинного походження.

Список використаних джерел.

1. Korchagina L. N., Rudyuk V. F., Chernobai V. T. A study of some properties of the lipase from the seeds of *Nigella damascena* L. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 1980. Vol. 16, № 4. P. 567–570.
2. European Commission. *EudraLex – Volume 4 – EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use*. – Brussels: European Commission. URL: https://health.ec.europa.eu/medicinal-products/eudralex/eudralex-volume-4_en (Date of access: 20.04.2025).

HEALTH SETTINGS, AND THE EDUCATIONAL ISSUES FACING PHARMACEUTICAL TRAINING IN GEORGIA

Sulashvili Nodar, Beglaryan Margarita, Gorgaslidze Nana, Chichoyan Naira, Gabunia Luiza, Zarnadze Irine, Kvizhinadze Natia, Alavidze Nato, Abuladze Nino, Giorgobiani Marina, Zarnadze Shalva (Davit)..... 75

THE MANIFESTATION OF CUTTING-EDGE OF VIEWPOINTS ON ARTIFICIAL INTELLIGENCE IN SUPPORTING PHARMACY, HEALTHCARE, MEDICAL PRACTICES, AND COMMUNITY WELL-BEING

Sulashvili Nodar, Beglaryan Margarita, Gorgaslidze Nana Gabunia Luiza, Alavidze Nato, Abuladze Nino, Giorgobiani Marina, Patsia Lali, Sulashvili Marika, Okropiridze Tamar..... 83

A THOROUGH ANALYSIS OF SCIENTIFIC DISCUSSIONS ON CORE ELEMENTS IN EVALUATING THE HEALTH HAZARDS OF E-CIGARETTES AND PUBLIC HEALTH CHALLENGES

Sulashvili Nodar, Beglaryan Margarita, Gorgaslidze Nana, Gabunia Luiza, Alavidze Nato, Abuladze Nino, Giorgobiani Marina, Patsia Lali, Sulashvili Marika, Okropiridze Tamar..... 100

ALOE VERA - ANTI-AGING INGREDIENT OF MEDICINAL COSMETICS

Tarapata M. O., Kukhtenko O. S., Novosel O. M., Trutaev S. I. 107

JUSTIFICATION OF THE COMPOSITION OF BUCCAL FILMS WITH KALANCHOE JUICE

Zourhri A., Sichkar A. A., Soldatov D. P., Kryklyva I. O..... 110

ТЕХНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ОРГАНІЗАЦІЇ ВИРОБНИЦТВА НІГЕДАЗИ НА СУЧАСНОМУ ПІДПРИЄМСТВІ ЗА ВИМОГАМИ GMP

Аббасова Е. А., Січкара А. А., Манський О. А..... 111

ВИЗНАЧЕННЯ ПРОТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ МОДИФІКОВАНОГО СТРЕПТОМІЦИНУ ЩОДО РЕФЕРЕНТНИХ ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ ЗА МЕТОДОМ ДИСКІВ

Андреева І. Д., Осолодченко Т. П., Батрак О. А., Рябова І. С., Мануйлов М. Б..... 112

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ МОДИФІКОВАНОГО СТРЕПТОМІЦИНУ ЩОДО КЛІНІЧНИХ ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ ЗА МЕТОДОМ «КОЛОДЯЗІВ»

Андреева І. Д., Осолодченко Т. П., Мартинов А. В., Завада Н. П. 113

РОЗРОБКА СКЛАДУ ТА ТЕХНОЛОГІЇ ЗАХИСНОГО БАЛЬЗАМУ ДЛЯ ГУБ З ГІАЛУРОНОВОЮ КИСЛОТОЮ

Андрушак А. М., Пелех-Бондарук І. Р..... 114

ВАЛІДАЦІЯ ТА ОЦІНКА ВПЛИВУ НА НАВКОЛИШНЄ СЕРЕДОВИЩЕ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОЇ МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ