

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

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему: «ОТРИМАННЯ ОЛІГОСАХАРИДІВ ГРУДНОГО МОЛОКА
БІОТЕХНОЛОГІЧНИМ СПОСОБОМ ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ У
ЗАМІННИКАХ ГРУДНОГО МОЛОКА»**

Виконав : здобувач вищої освіти групи ПБТМ24(1,6д)-01
спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія
освітньої програми Промислова біотехнологія
Андрій ЄВТУШЕНКО

Керівник: завідувачка кафедри біотехнології, д.фарм.н.,
професорка Наталя ХОХЛЕНКОВА

Рецензент: Завідувачка кафедри біотехнології, біофізики
та аналітичної хімії Національного технічного
університету «Харківський політехнічний інститут»,
д. т. н., професорка Ольга БЛИЗНЮК

АНОТАЦІЯ

У роботі проведено аналітично-оглядове дослідження олігосахаридів грудного молока людини (Human Milk Oligosaccharides, НМО) як біологічно активних компонентів, що беруть участь у формуванні кишкової мікробіоти, імунної системи та нейророзвитку немовлят. Узагальнено дані щодо структури, біосинтезу та факторів варіабельності НМО, зокрема ролі генетичного статусу матері та стадії лактації. Розглянуто основні механізми біологічної дії НМО та обґрунтовано доцільність їх використання у складі дитячих молочних сумішей.

Ключові слова: грудне молоко, НМО, олігосахариди грудного молока, мікробіота, імунна система.

Робота складається зі вступу, трьох розділів, висновків, списку використаних джерел. Загальний обсяг роботи – 63 стор., кількість рисунків – 14, таблиць – 13, використаних джерел – 39, додатків – 1.

ABSTRACT

The work presents an analytical review of human milk oligosaccharides (HMOs) as bioactive components involved in the development of infant gut microbiota, immune system, and neurodevelopment. Data on HMO structure, biosynthesis, and variability factors, including maternal genetic status and stage of lactation, are summarized. The main biological functions of HMOs and the prospects for their use in infant formulas are discussed.

Keywords: breast milk, HMOs, human milk oligosaccharides, intestinal microbiota, immune system.

The work consists of an introduction, three sections, conclusions, and a list of sources used. Total volume of the work – 63 pages, number of figures – 14, tables – 13, sources used – 39, appendices – 1.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
------------	---

	3
РОЗДІЛ І ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	8
1.1. Грудне молоко людини як динамічна біологічна система.....	8
1.2. Структура, класифікація та біологічні функції НМО.....	9
1.3. Фактори, що впливають на склад НМО у грудному молоці.....	11
1.4. Біологічні функції олігосахаридів грудного молока.....	13
1.5. Порівняння НМО з іншими пребіотиками (ГОС/ФОС).....	14
Висновок до розділу 1.....	16
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	17
2.1. Хімічний синтез олігосахаридів грудного молока: механізми глікозилювання та їх обмеження.....	17
2.2. Ферментативний та хемоензиматичний синтез олігосахаридів грудного молока.....	21
2.3. Мікробний біосинтез олігосахаридів грудного молока.....	25
2.4. Інноваційні напрями отримання олігосахаридів грудного молока: рослинні системи та синтетична біологія.....	29
2.5. Порівняльний аналіз методів отримання олігосахаридів грудного молока.....	33
Висновки до розділу 2.....	35
РОЗДІЛ 3 ПРАКТИЧНІ АСПЕКТИ ЗАСТОСУВАННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ БІОТЕХНОЛОГІЇ ОЛІГОСАХАРИДІВ ГРУДНОГО МОЛОКА.....	36
3.1. Використання олігосахаридів грудного молока у заміниках грудного молока.....	36
3.2. Клінічно підтвержені ефекти застосування олігосахаридів грудного молока у складі дитячих сумішей.....	39
3.3. Технологічні перспективи розвитку біотехнології олігосахаридів грудного молока.....	44
Висновок до розділу 3.....	47
ВИСНОВКИ.....	49
ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ.....	51

ВСТУП

Грудне молоко є еволюційно вдосконаленим та динамічним біологічним продуктом, оптимально адаптованим для забезпечення росту, розвитку та захисту новонародженої дитини. Його унікальність визначається не лише балансом макронутрієнтів, а й наявністю низки біоактивних компонентів, серед яких особливе місце посідають олігосахариди грудного молока (Human Milk Oligosaccharides, НМО) [1], [3]. Ці складні вуглеводи, які є другим за вмістом твердим компонентом після лактози, практично не засвоюються організмом немовляти, але відіграють фундаментальну роль у формуванні здорової кишкової мікробіоти, розвитку імунної системи, захисті від патогенів та підтримці нейрокогнітивного розвитку [7], [8], [11].

Незважаючи на незаперечні переваги грудного вигодовування, соціально-економічні, медичні та психологічні обставини часто роблять його неможливим. Тому створення замінників грудного молока, максимально наближених до природного стандарту, є пріоритетним завданням сучасної нутриціології та харчової промисловості [5]. Ключовим викликом на цьому шляху довгий час залишалася неможливість відтворення структурної та функціональної складності НМО. Синтетичні пребіотики, такі як галакто-(ГОС) та фруктоолігосахариди (ФОС), лише частково імітували загальний пребіотичний ефект, не забезпечуючи специфічної імуномодулюючої, антиадгезивної та нейропротекторної дії, властивої природним НМО [1], [3], [4].

Проривом останнього десятиліття став стрімкий розвиток біотехнологічних методів, що дозволив налагодити промислове виробництво окремих НМО, структурно ідентичних тим, що містяться в грудному молоці [2], [11], [39]. Завдяки інструментам метаболічної інженерії та синтетичної біології вдалося створити мікробні «фабрики» на основі безпечних штамів, здатних ефективно синтезувати такі ключові олігосахариди, як 2'фукозиллактоза (2'-FL) та лакто-N-неотетраоза (LNnT) [6], [7], [11].

Отримання регуляторних схвалень від Європейського агентства з безпеки харчових продуктів (EFSA) та Управління з контролю за якістю харчових продуктів і лікарських засобів США (FDA) відкрило шлях для інтеграції цих інгредієнтів у склад дитячих сумішей нового покоління [13], [14], [17], [31]. Клінічні дослідження підтвердили, що такі суміші сприяють формуванню мікробіоти, подібної до мікробіоти дітей на грудному вигодовуванні, знижують ризик інфекцій та покращують загальний стан здоров'я немовлят [8], [36], [38].

Мета та завдання дослідження. Метою даної магістерської роботи є здійснення комплексного аналітичного огляду сучасних біотехнологічних методів отримання олігосахаридів грудного молока, структурно ідентичних природним, та оцінка їх застосування у промисловому виробництві замінників грудного молока.

Для досягнення мети було поставлено такі завдання:

1. Проаналізувати біологічну роль, структурну класифікацію та фактори варіабельності НМО як об'єкта біотехнології.
2. Охарактеризувати та порівняти сучасні методи отримання НМО: хімічний, ферментативний та мікробний синтез, включаючи інноваційні підходи синтетичної біології.
3. Дослідити технологічні, економічні та регуляторні аспекти промислового виробництва НМО, проаналізувати структуру світового ринку.
4. Оцінити ефективність та безпеку використання синтезованих НМО у сучасних дитячих сумішах на основі даних клінічних досліджень.
5. Визначити перспективні напрями розвитку біотехнології НМО, включаючи персоналізацію харчування та альтернативні джерела виробництва.

Об'єкт і предмет дослідження. Об'єктом дослідження є біотехнологічні процеси промислового синтезу олігосахаридів грудного молока.

Предметом дослідження виступають сучасні методи біотехнологічного отримання НМО (мікробний, ферментативний), їх технологічні параметри, економічна ефективність та біологічна активність у складі замінників грудного молока.

Наукова новизна та практичне значення. Робота представляє собою систематизований огляд найновіших (2015–2025 рр.) досягнень у галузі біотехнологічного синтезу олігосахаридів грудного молока структурно ідентичних олігосахаридам грудного молока. Новизна полягає в комплексному аналізі не лише технологічних платформ (генетично модифіковані штами *E. coli*, *S. cerevisiae*, рослинні системи), а й детальному розгляду регуляторних вимог EFSA/FDA, економічних моделей виробництва та глобальних ринкових тенденцій.

Практичне значення роботи полягає у формуванні науково обґрунтованих підходів для потенційного розвитку вітчизняного виробництва НМО, зокрема з використанням локальних ресурсів (молочна сироватка), а також у наданні структурованої інформації для фахівців харчової, біотехнологічної та фармацевтичної галузей.

Апробація результатів дослідження і публікації. Окремі результати дослідження були представлено на VI Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «YOUTH PHARMACY SCIENCE» (10-11 грудня 2025 року) та опубліковані в матеріалах конференції:

Євтушенко А.А., Хохленкова Н.В. Отримання олігосахаридів грудного молока біотехнологічним способом та їх застосування у замінниках грудного молока. Youth Pharmacy Science: матеріали VI Всеукраїнської науковопрактичної конференції з міжнародною участю (10-11 грудня 2025 р., м.

Харків). - Х.: НФаУ, 2025. С. 196.

Структура роботи.

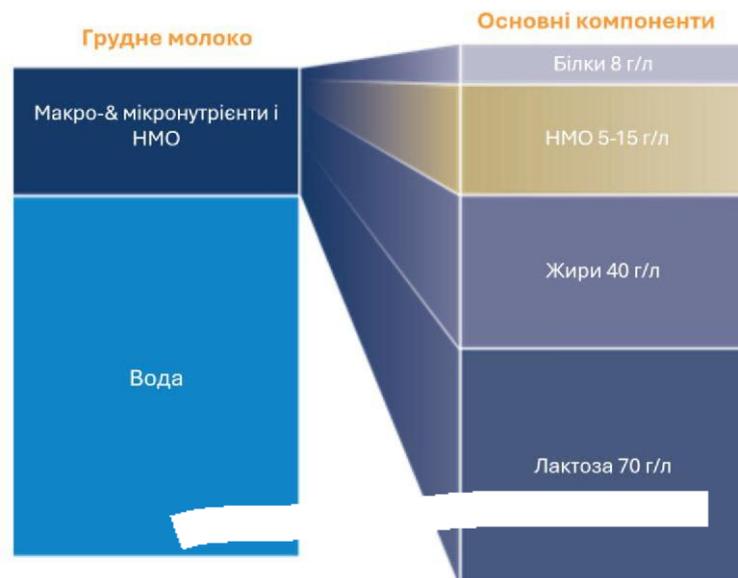
Кваліфікаційна робота складається зі вступу, трьох розділів, висновків та списку використаних джерел.

Загальний обсяг роботи становить 60 сторінок, кількість рисунків 14, Джерельну базу становлять 39 наукових публікацій, офіційних документів регуляторних органів та аналітичних звіті, додатків 1

РОЗДІЛ І ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Грудне молоко людини як динамічна біологічна система

Грудне молоко людини є унікальною біологічною рідиною, що забезпечує немовля не лише енергетичними та пластичними ресурсами, але й широким спектром біоактивних молекул, здатних регулювати розвиток імунної системи, формування кишкової мікробіоти та становлення нейрофізіологічних функцій. На сучасному етапі наукових досліджень грудне молоко розглядають як динамічну, адаптивну систему, склад якої змінюється



залежно від гестаційного віку, стадії лактації, фізіологічного стану матері та індивідуальних генетичних особливостей. Загальний склад грудного молока та функціональне значення його основних компонентів наведено на рис. 1.1 [3,5,16].

Рис. 1.1 – Основні компоненти грудного молока та їх біологічні функції (Andreas et al., 2015; Ballard, Morrow, 2013).

Біологічна цінність грудного молока зумовлена складною взаємодією його компонентів. Окрім макронутрієнтів, таких як білки, жири та вуглеводи, воно містить імуноглобуліни, гормони, фактори росту, цитокіни, клітинні елементи та низку низькомолекулярних біоактивних сполук. Особливе місце серед них займають олігосахариди грудного молока (human milk oligosaccharides, НМО), які є третім за концентрацією твердим компонентом після лактози та ліпідів [14,29].

На відміну від більшості харчових вуглеводів, НМО практично не перетравлюються в шлунково-кишковому тракті немовляти. Відсутність відповідних гідролітичних ферментів призводить до того, що НМО досягають товстого кишечника у незміненому вигляді, де реалізують свої біологічні функції [17, 26]. Така особливість свідчить про те, що еволюційне призначення НМО полягає не у забезпеченні енергетичних потреб, а у регуляції мікробіологічних та імунних процесів.

Накопичені літературні дані переконливо демонструють, що наявність НМО у грудному молоці є одним із ключових факторів, що зумовлюють відмінності у стані здоров'я дітей на грудному та штучному вигодовуванні. Зокрема, грудне вигодовування асоціюється зі зниженим ризиком інфекційних захворювань, алергічних реакцій, запальних процесів і порушень розвитку імунної системи [6,24,38]. Важливу роль у реалізації цих ефектів відіграють саме НМО, які формують специфічне мікробіологічне та імунологічне середовище в організмі немовляти.

1.2. Структура, класифікація та біологічні функції НМО

Олігосахариди грудного молока є надзвичайно різноманітною групою вуглеводних сполук, що відрізняються складною молекулярною архітектурою та високим ступенем структурної гетерогенності. Базовою структурною одиницею всіх НМО є лактозне ядро ($\text{Gal}(\beta 1-4)\text{Glc}$), яке складається з молекул

глюкози та галактози. Подальше приєднання моносахаридних залишків — галактози, N-ацетилглюкозаміну, фукози та сілової кислоти — відбувається за участю специфічних глікозилтрансфераз, що забезпечують утворення різних типів глікозидних зв'язків. Схематичне зображення біосинтезу та приклади основних структур НМО представлено на рис. 1.2 [14,23].

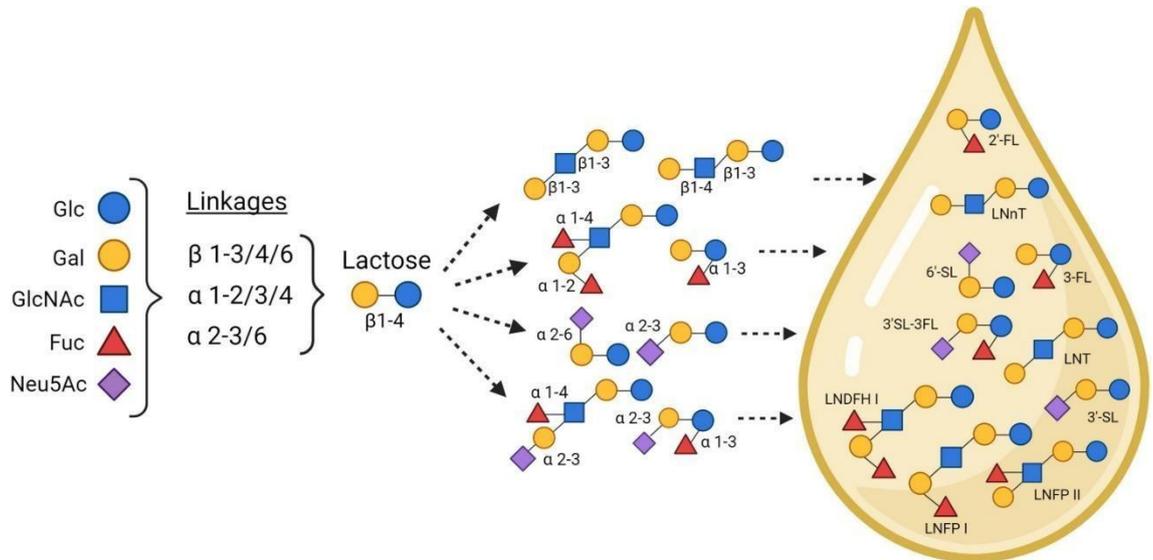


Рис. 1.2 – Біологічно релевантні олігосахариди грудного молока та їх біосинтез у молочній залозі. Позначення: Fuc - фукоза; Gal - галактоза; Glc - глюкоза; GlcNAc - N-ацетилглюкозамін; Neu5Ac - N-ацетилнейрамінова кислота; hMOS - олігосахариди грудного молока; (Advances in Nutrition, 2024.)

Станом на сьогодні ідентифіковано понад 200 індивідуальних структур НМО, і цей перелік продовжує розширюватися завдяки вдосконаленню аналітичних методів, зокрема мас-спектрометрії та рідинної хроматографії високої роздільної здатності [4,23]. Структурна різноманітність НМО проявляється у варіаціях довжини ланцюгів, ступеня розгалуження та конфігурації глікозидних зв'язків, що зумовлює функціональну специфічність окремих молекул.

Залежно від наявності певних функціональних груп НМО традиційно поділяють на три основні класи (рис. 1.3): нейтральні нефукозильовані,

фукозильовані та сіалізовані. Нейтральні нефукозильовані олігосахариди складаються переважно з лактозного ядра та повторюваних дисахаридних одиниць і відіграють важливу роль у пребіотичній стимуляції кишкової мікробіоти [17].

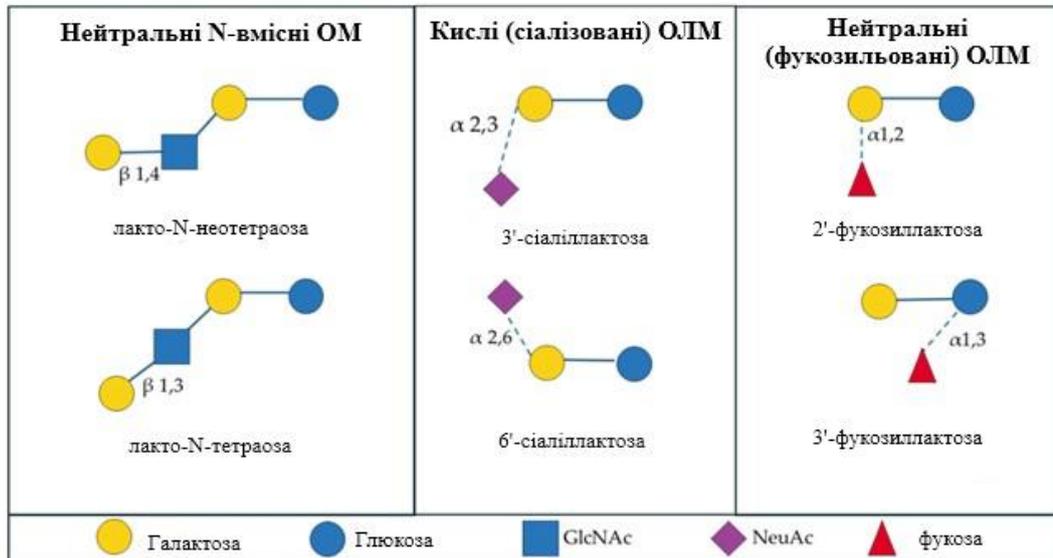


Рис. 1.3 – Класифікація олігосахаридів грудного молока за структурними особливостями. (MDPI Biology, 2024.)

Фукозильовані НМО є найчисленнішим класом і включають такі сполуки, як 2'-фукозиллактиза та 3-фукозиллактиза. Вони характеризуються вираженою антиадгезивною та імуномодулюючою активністю і є одними з найбільш досліджених олігосахаридів у контексті дитячого харчування [15,19,30]. Саме фукозильовані НМО становлять значну частку загального пулу олігосахаридів у грудному молоці більшості жінок.

Сіалізовані олігосахариди містять залишки сіалової кислоти, що надає молекулам негативного заряду та зумовлює їхню участь у процесах клітинної сигналізації, нейророзвитку та регуляції запальних реакцій [9,18]. Висока концентрація сіалізованих НМО у певні періоди лактації свідчить про їхню адаптивну роль у розвитку нервової системи немовляти.

1.3 Фактори, що впливають на склад НМО у грудному молоці

Однією з ключових характеристик олігосахаридів грудного молока є значна міжіндивідуальна варіабельність їх кількісного та якісного складу. Ця

варіабельність не є випадковою, а формується під впливом комплексу генетичних, фізіологічних та екзогенних чинників, які визначають біологічні властивості грудного молока. Узагальнено на рис. 1.4. [1,29,35].

Провідну роль у формуванні профілю НМО відіграє генетичний статус матері, зокрема активність генів FUT2 та FUT3, що кодують фукозилтрансферази. Наявність активного Secretor-статусу зумовлює синтез α 1,2-фукозилізованих олігосахаридів, серед яких домінує 2'-фукозиллактоза. У жінок із неактивним Secretor-статусом ці сполуки практично відсутні, що призводить до формування альтернативного профілю НМО [1,15,30].

Важливим чинником є термін гестації. У грудному молоці матерів передчасно народжених дітей виявляють підвищений вміст сіалізованих НМО, що розглядається як адаптивний механізм, спрямований на підтримку незрілої нервової та імунної системи немовлят [22]. Така особливість складу грудного молока підкреслює його здатність до функціональної адаптації.

Стадія лактації також суттєво впливає на концентрацію НМО. Найвищий загальний вміст олігосахаридів характерний для молозива, після чого спостерігається поступове зниження їх концентрації у зрілому молоці. Водночас якісний склад НМО залишається відносно стабільним, що свідчить про збереження їхньої функціональної ролі протягом усього періоду грудного вигодовування [29,35].



Рис. 1.4 – Основні фактори, що впливають на кількісний та якісний склад олігосахаридів грудного молока (Han et al., 2021; Kunz et al., 2017; Thurl et al., 2017).

Менш вираженим, але біологічно значущим є вплив харчування та метаболічного стану матері. Деякі дослідження вказують на те, що ожиріння або порушення вуглеводного обміну можуть асоціюватися зі змінами профілю НМО, хоча ці ефекти є вторинними порівняно з генетичними детермінантами [12].

1.4. Біологічні функції олігосахаридів грудного молока

Біологічна роль НМО реалізується через низку взаємопов'язаних механізмів, що забезпечують комплексний вплив на організм немовляти. Основні механізми біологічної дії олігосахаридів грудного молока наведено на рис. 1.5. Однією з найважливіших функцій є пребіотичний ефект, який полягає у селективній стимуляції росту корисних мікроорганізмів, зокрема біфідобактерій, здатних ефективно утилізувати НМО як джерело субстрату [17,21].

Формування специфічного мікробіотичного профілю кишечника немовляти має вирішальне значення для розвитку імунної системи. Метаболіти, що утворюються в процесі ферментації НМО, сприяють зниженню рН кишкового вмісту, пригніченню росту патогенів та стимуляції бар'єрної функції епітелію [26,38].

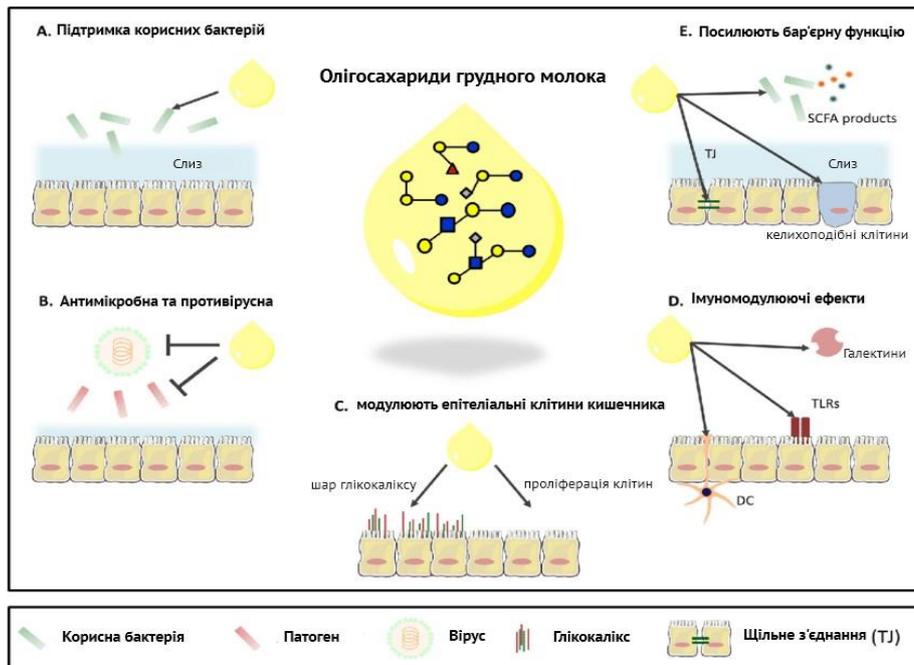


Рис. 1.5 – Основні механізми біологічної дії олігосахаридів грудного молока (Hu, Yueqi & Wu, Xing & Zhou, Li & Liu, Jikai. Which is the optimal choice for neonates' formula or breast milk (2024).)

Антиадгезивна дія НМО полягає у здатності імітувати рецептори клітин епітелію кишечника, блокуючи прикріплення патогенних бактерій і вірусів.

Цей механізм є важливим для профілактики інфекційних захворювань, зокрема респіраторних і шлунково-кишкових [24].

Окрім опосередкованого впливу через мікробіоту, НМО безпосередньо взаємодіють з клітинами імунної системи, модулюючи продукцію цитокінів, регулюючи запальні реакції та сприяючи формуванню імунної толерантності [6,13,39].

Ці властивості мають особливе значення у ранньому дитячому віці, коли імунна система перебуває на стадії активного формування.

Сіалізовані олігосахариди відіграють важливу роль у розвитку нервової системи та когнітивних функцій. Дані експериментальних і клінічних досліджень свідчать про участь сіалової кислоти у процесах синаптогенезу та нейрональної пластичності, що зумовлює довгострокові наслідки для когнітивного розвитку дитини [9,18].

1.5 Порівняння НМО з іншими пребіотиками (ГОС/ФОС)

Традиційно для наближення пребіотичного ефекту грудного молока у дитячих сумішах використовували комбінації галактоолігосахаридів (ГОС) та фруктоолігосахаридів (ФОС), зазвичай у співвідношенні 9:1 [1], [4]. Однак порівняльний аналіз виявляє суттєві відмінності між цими синтетичними пребіотиками та НМО.

ГОС, отримані з лактози, та ФОС, отримані з інуліну або сахарози, мають відносно просту, стандартизовану структуру. Їхній пребіотичний ефект є неспецифічним і спрямований на стимуляцію широкого спектру біфідобактерій і лактобакіл, але не обов'язково тих видів, які домінують при грудному вигодовуванні (*B. infantis*) [1], [26]. На відміну від них, НМО забезпечують високоспецифічну підтримку саме біфідодомінантного профілю, характерного для здорового немовляти [10], [35].

Найважливіша відмінність полягає в наявності у НМО додаткових, непребіотичних функцій. Ні ГОС, ні ФОС не володіють здатністю безпосередньо зв'язувати патогени або модулювати імунну відповідь через взаємодію з клітинними рецепторами [3], [4]. Вони також не є джерелом сіалової кислоти для розвитку мозку. Їхній імуномодулюючий потенціал реалізується лише опосередковано, через зміни в мікробіоті та продукти ферментації. Порівняльну характеристику олігосахаридів грудного молока та традиційних пребіотиків (ГОС/ФОС) наведено в табл. 1.1.

Таблиця 1.1

Порівняльна характеристика НМО, галактоолігосахаридів (ГОС) та фруктоолігосахаридів (ФОС)

Параметр	Олігосахариди грудного молока (НМО)	ГОС/ФОС
Структурна складність	Висока (>200 ізомерних структур), включає фукозу та сіалову кислоту	Низька, стандартизовані структури без фукози/сіалової кислоти

Специфічність дії	Висока, селективна для <i>Bifidobacterium infantis</i> та інших асоційованих з грудним вигодовуванням видів	Низька, неспецифічна стимуляція різних біфідобактерій та лактобакіл
Антиадгезивний ефект	Так («молекулярні пастки»)	Ні
Пряма імуномодуляція	Так (взаємодія з імунними клітинами кишечника)	Опосередкована (через мікробіоту та SCFA)
Вплив на нейророзвиток	Так (джерело сіалової кислоти)	Ні
Регуляторний статус	Novel Food / GRAS (для кожного окремого НМО)	Загальноновизнані безпечні інгредієнти (GRAS)

Отже, хоча ГОС/ФОС є цінними інгредієнтами для підтримки загального здоров'я кишечника, вони не здатні відтворити повний спектр біологічної активності НМО. Синтез біоідентичних НМО відкриває можливість принципово нового рівня наближення функціональних властивостей дитячих сумішей до золотого стандарту грудного молока.

Висновок до розділу 1

Аналіз літературних джерел свідчить, що грудне молоко людини є динамічною біологічною системою, унікальні властивості якої значною мірою зумовлені наявністю олігосахаридів грудного молока (НМО). НМО є третім за вмістом твердим компонентом грудного молока та виконують не енергетичну, а регуляторну функцію, забезпечуючи формування кишкової мікробіоти, імунний захист та підтримку нейророзвитку немовляти.

Їхня структурна різноманітність (понад 200 структур), зумовлена генетичними факторами матері (секреторний статус FUT2/FUT3), забезпечує багатовекторну функціональність, що виходить далеко за рамки традиційного пребіотичного ефекту. НМО виконують роль селективного субстрату для

формування біфідодомінантної мікробіоти (*Bifidobacterium infantis*), виступають як «молекулярні пастки» для блокування адгезії патогенів, безпосередньо модулюють імунні відповіді та сприяють нейророзвитку через сіалізовані форми. Цей комплексний профіль принципово відрізняє НМО від синтетичних пребіотиків (ГОС/ФОС).

Отже, олігосахариди грудного молока є ключовими біоактивними компонентами, що визначають переваги грудного вигодовування та обґрунтовують доцільність їх розгляду як пріоритетного об'єкта сучасних біотехнологічних досліджень. Отримані узагальнення створюють теоретичну основу для подальшого аналізу методів біотехнологічного синтезу НМО та можливостей їх промислового застосування.

РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Олігосахариди грудного молока (Human Milk Oligosaccharides, НМО) є структурно складними біомолекулами, відтворення яких у промислових масштабах тривалий час залишалося значним технологічним викликом. Історично для отримання НМО застосовували три основні підходи: хімічний синтез, ферментативний (хемоензиматичний) синтез та мікробне біотехнологічне виробництво. Протягом останнього десятиліття відбулося чітке розмежування сфер їх застосування: хімічний синтез зберіг значення для лабораторних досліджень, тоді як мікробна біотехнологія стала домінуючою платформою для промислового виробництва основних НМО [2], [34], [25].

2.1. Хімічний синтез олігосахаридів грудного молока: механізми глікозилювання та їх обмеження

Хімічний синтез олігосахаридів грудного молока (НМО) є класичним підходом органічної хімії вуглеводів, який забезпечує отримання структурно строго визначених молекул. Ключовою особливістю цього методу є необхідність точного контролю регіо- та стереоспецифічності глікозидних зв'язків, оскільки біологічна активність НМО безпосередньо залежить від конфігурації α - або β -зв'язків між моносахаридними залишками.

Хімічний синтез НМО здійснюється шляхом поетапної збірки олігосахаридного ланцюга з попередньо функціоналізованих моносахаридних блоків. Кожен етап передбачає суворий контроль реакційної здатності окремих гідроксильних груп. Основні етапи хімічного синтезу олігосахаридів грудного молока узагальнено в табл. 2.1. Загальну послідовність етапів хімічного синтезу НМО представлено на рис. 2.1.

Механізми α/β -контролю глікозидних зв'язків

Однією з найскладніших задач хімічного синтезу НМО є керування стереохімією глікозидного зв'язку, оскільки природні НМО містять як α -, так і β -зв'язки (наприклад, α 1-2-фукозилування, β 1-4-галактозилування).

Таблиця 2.1

Основні етапи хімічного синтезу НМО

Етап	Характеристика	Технологічне значення
Захист гідроксильних груп	Введення бензильних, ацетильних або силільних захисних груп	Запобігання небажаному глікозилуванню
Активація глікозильного донора	Формування глікозилгалогенідів, трихлороацетимідів тощо	Забезпечення реакційної здатності
Глікозилування	Утворення глікозидного зв'язку	Формування основи НМО
Деблокування	Зняття захисних груп	Отримання функціонально активної молекули
Очищення	Хроматографія, перекристалізація	Досягнення аналітичної чистоти

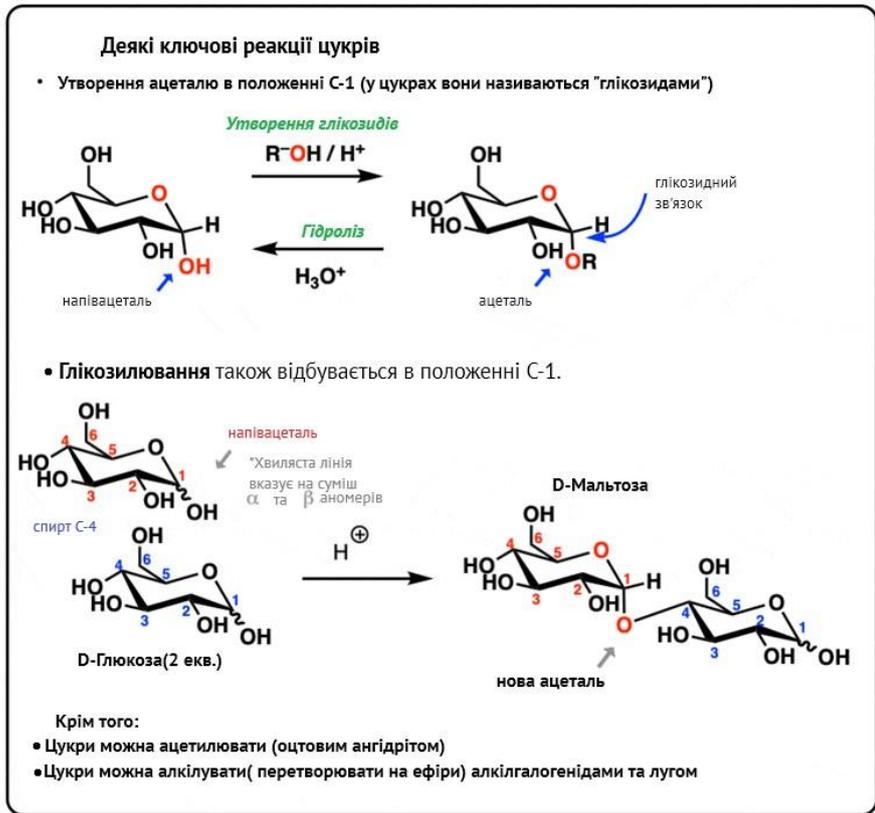


Рис. 2.1 – Узагальнена схема хімічного синтезу олігосахаридів грудного молока, що включає стадії захисту гідроксильних груп, активації глікозильних донорів, утворення глікозидних зв’язків та поетапного деблокування. (Kobata A. (2010) [14]; Das A. et al. (2025) [20].)

Фактори, що визначають α/β -селективність

Фактори, що визначають стереоселективність глікозилювання при хімічному синтезі НМО, наведено в табл. 2.2. Механізми стереоселективного глікозилювання при хімічному синтезі НМО проілюстровано на рис. 2.2.

Таблиця 2.2

Основні фактори контролю α/β -глікозилювання

Фактор	Механізм впливу	Приклад
Природа захисних груп	Участь сусідніх груп (anchimeric assistance)	2-О-ацетильна група сприяє β -зв’язку
Тип глікозильного донора	Рівень стабільності оксокарбонієвого іону	Трихлороацетиміди

Каталізатор	Впливає на швидкість та напрям реакції	Ag^+ , $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$
Розчинник	Стабілізація проміжних іонів	Дихлорметан, ацетонітрил
Температура	Кінетичний або термодинамічний контроль	Низькі температури \rightarrow β -селективність

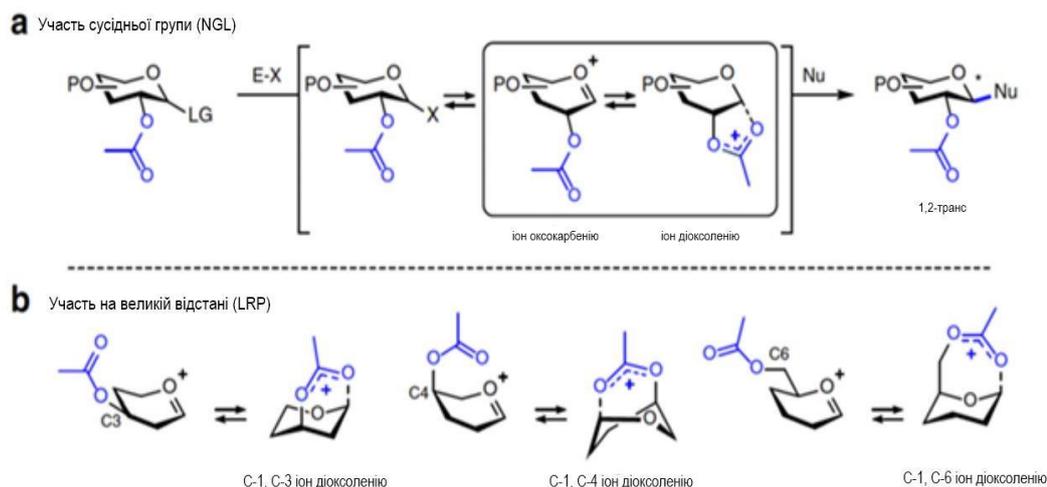


Рис. 2.2 – Механізми стереоселективного глікозилування при хімічному синтезі олігосахаридів грудного молока: роль участі сусідніх функціональних груп у формуванні α - та β -глікозидних зв'язків. (Das A. et al. (2025) [20]; Zheng J. et al. (2022) [32].)

Участь сусідніх груп як ключовий інструмент β -контролю

Найбільш надійним методом керування β -глікозидним зв'язком є ефект участі сусідньої групи, за якого захисна група в положенні C-2 моносахариду стабілізує проміжний карбокатион.

У випадку, коли в положенні C-2 присутня ацетильна або бензоїльна група, формується циклічний ацилоксонієвий іон, що блокує доступ нуклеофіла з α -боку та сприяє утворенню β -глікозидного зв'язку. Цей механізм є принципово важливим для синтезу β -зв'язаних структур НМО, таких як лакто-N-тетраоза (LNT). Формування оксокарбонієвого перехідного стану під час глікозилування наведено на рис. 2.3.

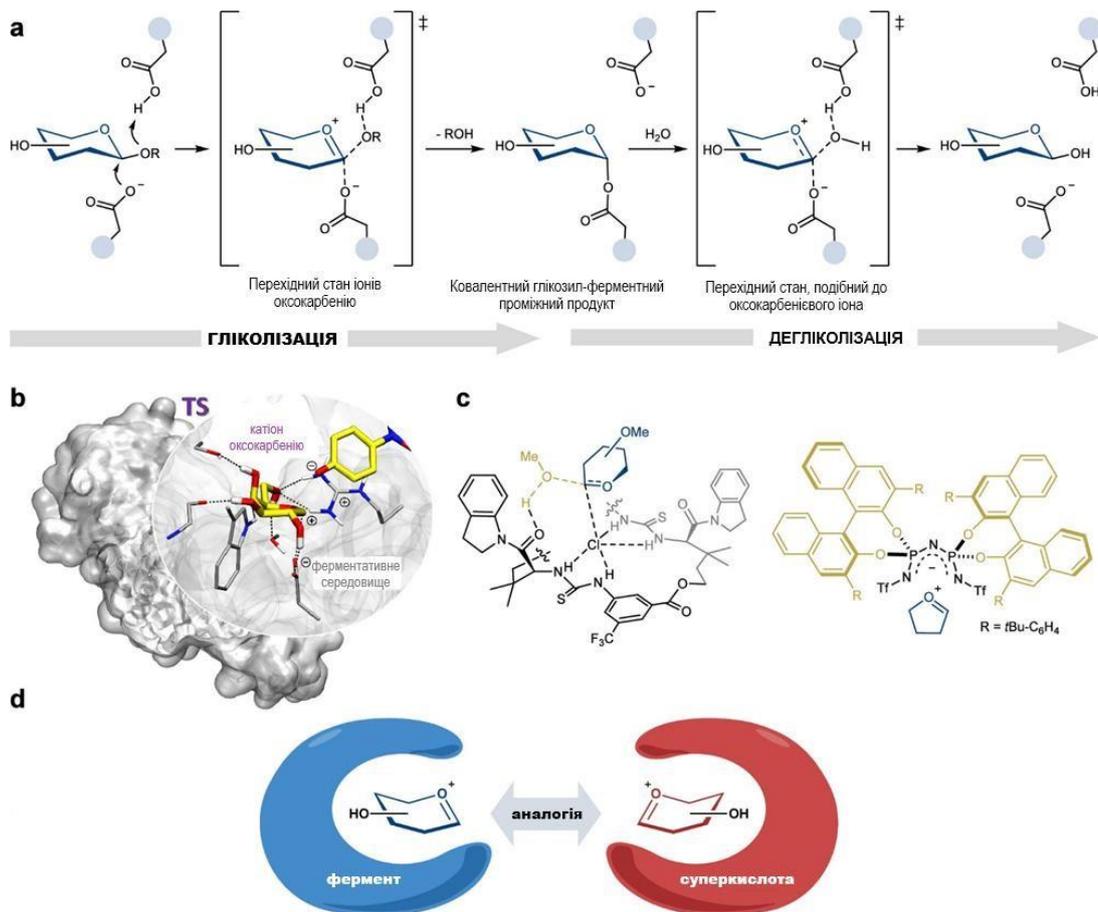


Рис. 2.3 – Оксокарбенієвий іоноподібний перехідний стан, що формується під час реакції глікозилювання та визначає стереохімію глікозидного зв'язку в хімічному синтезі НМО (Das et al., 2025; 32. Zheng et al., 2022)

Проблеми синтезу α -фукозилізованих та сіалізованих НМО

На відміну від β -зв'язків, α -глікозилювання, характерне для фукозилізованих НМО (наприклад, 2'-FL), є значно менш контрольованим. Фукоза не має функціональної групи в положенні С-2, здатної до ефективної участі сусідніх груп, що ускладнює керування стереохімією.

Сіалізовані НМО створюють додаткові труднощі через:

- велику стеричну об'ємність сіалової кислоти;
- її кислотну-чутливу природу;
- нестабільність активованих донорів.

Ці фактори різко знижують вихід реакцій і ще більше ускладнюють масштабування хімічного синтезу.

Узагальнена оцінка методу

Незважаючи на високу структурну точність, хімічний синтез НМО характеризується високою складністю, низькою масштабованістю та значними витратами, що обмежує його застосування лабораторним рівнем.

2.2 Ферментативний та хемоензиматичний синтез олігосахаридів грудного молока

Ферментативний та хемоензиматичний синтез НМО є логічним розвитком підходів до отримання біоідентичних олігосахаридів грудного молока, спрямованим на подолання обмежень хімічного синтезу. Його принциповою перевагою є використання біологічних каталізаторів — глікозилтрансфераз, які забезпечують формування глікозидних зв'язків із заданою регіо- та стереохімією за м'яких умов реакції [32], [33].

На відміну від хімічних методів, у яких контроль α/β -конфігурації досягається опосередковано, у ферментативному синтезі стереохімія реакції детермінована просторовою організацією активного центру ферменту, що робить цей підхід особливо ефективним для синтезу фукозилзованих і сіалізованих НМО.

Ферментативний синтез НМО ґрунтується на дії глікозилтрансфераз (GTs), які каталізують перенесення моносахаридних залишків з нуклеотидактивованих донорів на відповідні акцептори. Основні класи ферментів, що використовуються для синтезу НМО, узагальнено в таблиці 2.3.

Таблиця 2.3

Основні глікозилтрансферази, задіяні у ферментативному синтезі НМО

Клас ферментів	Донор цукру	Тип зв'язку	Приклади НМО
Галактозилтрансферази	UDP-галактоза	β 1-3, β 1-4	LNT, LNnT
Фукозилтрансферази	GDP-фукоза	α 1-2, α 1-3, α 1-4	2'-FL, 3-FL
Сіалілтрансферази	СМР-Neu5Ac	α 2-3, α 2-6	3'-SL, 6'-SL

Завдяки високій субстратній специфічності глікозилтрансфераз ферментативний синтез забезпечує відсутність ізомерних домішок і відтворення природної структури НМО, що є критичним для їх біологічної активності.

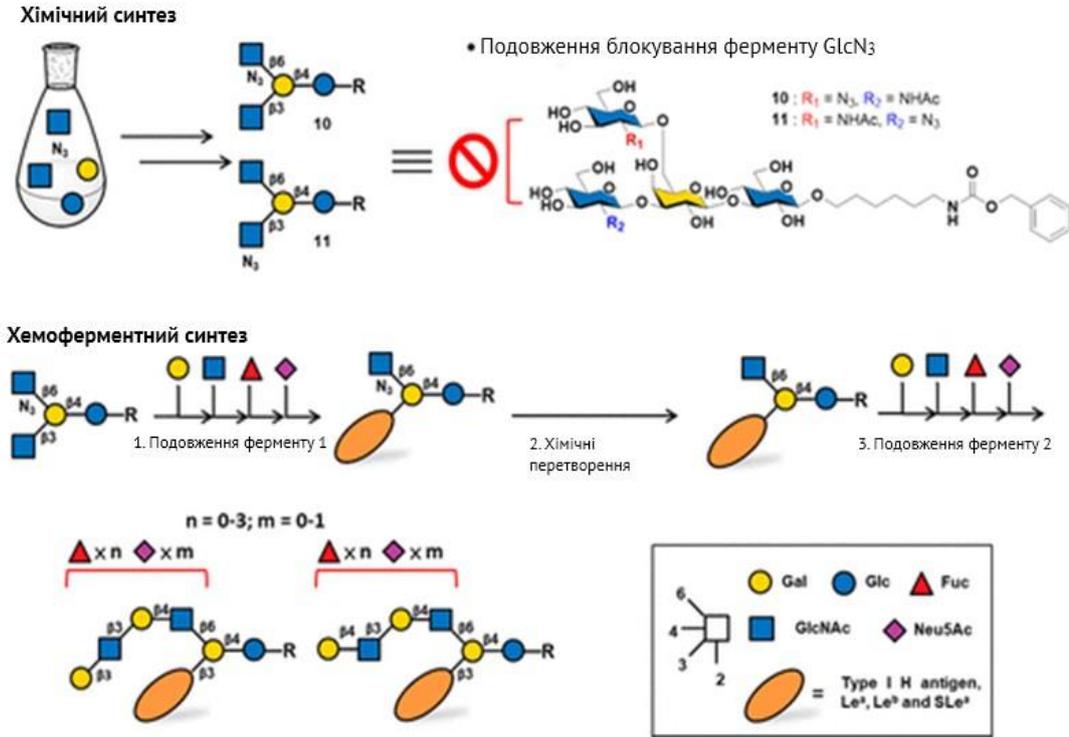


Рис. 2.4 – Загальна схема ферментативного синтезу олігосахаридів грудного молока за участю глікозилтрансфераз і нуклеотид-активованих донорів цукрів (Zheng et al., 2022; Sprenger et al., 2017)₃

Стереохімічний контроль у ферментативному глікозилюванні

Стереохімічний контроль у ферментативному синтезі реалізується за рахунок просторової організації активного центру глікозилтрансферази. Донор і акцептор фіксуються у строго визначеній орієнтації, що забезпечує формування лише одного типу глікозидного зв'язку.

Порівняльні відмінності між хімічним та ферментативним контролем стереохімії наведено в таблиці 2.4.

Таблиця 2.4

Порівняння механізмів стереохімічного контролю при хімічному та ферментативному глікозилюванні

Характеристик	Хімічний синтез	Ферментативний синтез
а		

Контроль зв'язку	α/β -	Непрямий (захисні групи, розчинник)	Прямий (активний центр ферменту)
Утворення ізомерів		Можливе	Відсутнє
Умови реакції		Органічні розчинники	Водне середовище
Відтворюваність		Обмежена	Висока

Завдяки цьому ферментативний синтез є оптимальним підходом для отримання α -фукозильованих і сіалізованих НМО, які є найбільш проблемними для хімічного глікозилювання. Принцип стереохімічного контролю глікозидного зв'язку в активному центрі глікозилтрансферази показано на рис. 2.5.

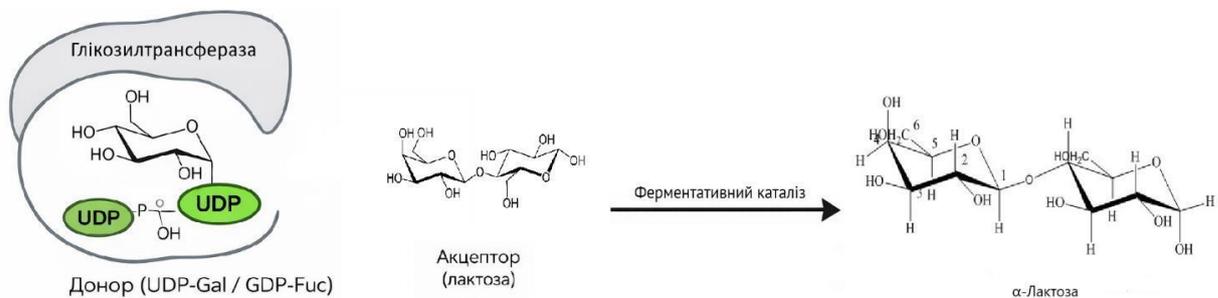


Рис. 2.5 Стереохімічний контроль утворення глікозидного зв'язку в активному центрі глікозилтрансферази при ферментативному синтезі НМО (Zheng et al., 2022).

Хемоензиматичні та мультиферментні каскадні системи

Суттєвим економічним обмеженням ферментативного синтезу є висока вартість нуклеотид-активованих донорів цукрів. Для подолання цієї проблеми були розроблені хемоензиматичні та мультиферментні каскадні системи, у яких синтез донорів і глікозилювання відбуваються в одній реакційній системі. Основні компоненти таких каскадів наведено в таблиці 2.5.

Таблиця 2.5

Структура мультиферментної каскадної системи синтезу НМО

Компонент системи	Функція
Ферменти синтезу нуклеотид-цукрів	Утворення UDP-, GDP-, CMP-донорів
Глікозилтрансферази	Перенесення цукрового залишку

Системи регенерації нуклеотидів	Зниження витрат донорів
Акцептор (лактоза, похідні)	Основа НМО

Такі системи значно підвищують атомну економічність процесу та знижують собівартість синтезу, хоча їх масштабування до промислових обсягів залишається технологічно складним [32], [34]. Мультиферментну каскадну систему синтезу НМО з регенерацією донорів представлено на рис.

2.6.

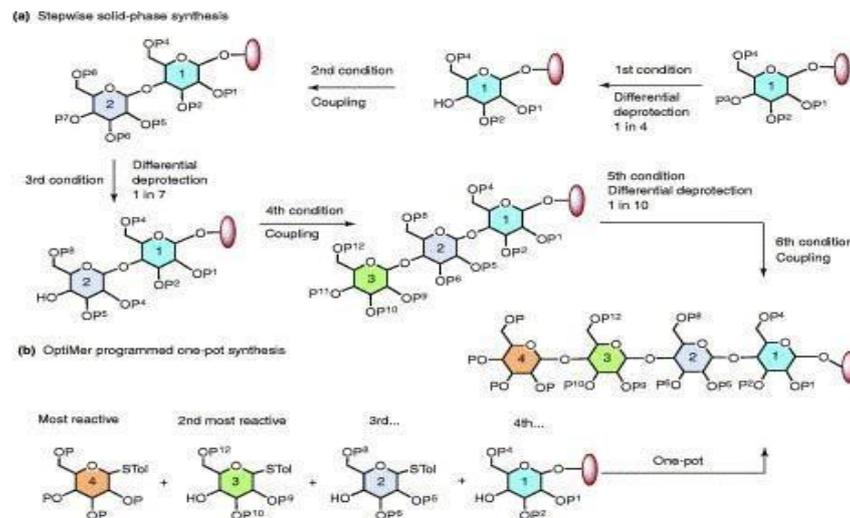


Рис.2.6 Принципи багатостадійного хімічного синтезу олігосахаридів: покроковий твердофазний синтез та програмований one-pot підхід із використанням диференціального депротектування захисних груп (Seeberger, 2000).

Технологічні обмеження та сфери застосування

Незважаючи на високий рівень структурної точності, ферментативний і хемоензиматичний синтез мають низку обмежень, які стримують їх широке промислове впровадження. Узагальнена характеристика переваг і недоліків методу наведена в таблиці 2.6.

Таблиця 2.6

Переваги та обмеження ферментативного і хемоензиматичного синтезу НМО

Параметр	Характеристика
Структурна точність	Дуже висока

Стереоселективність	Повна
Масштабованість	Обмежена
Собівартість	Висока (ферменти, донори)
Основні сфери застосування	Складні та рідкісні НМО, дослідні й напівпромислові процеси

Узагальнена оцінка підходу

Ферментативний та хемоензиматичний синтез забезпечують найвищий рівень біоідентичності НМО і є еталонними з точки зору контролю структури. Водночас технологічні та економічні обмеження зумовлюють їх використання переважно для синтезу складних або високовартісних олігосахаридів, тоді як для масового виробництва провідну роль відіграє мікробний біосинтез.

2.3 Мікробний біосинтез олігосахаридів грудного молока

Мікробний біосинтез є провідною сучасною платформою отримання олігосахаридів грудного молока та основою їх промислового виробництва. На відміну від хімічного й ферментативного синтезу, цей підхід використовує генетично модифіковані мікроорганізми як цілісні клітинні системи, у яких синтез нуклеотид-цукрових донорів, формування глікозидних зв'язків і, в окремих випадках, секреція продукту інтегровані в один метаболічний процес [25], [33].

Ключовою перевагою мікробного біосинтезу є можливість використання дешевих вуглецевих субстратів (глюкоза, лактоза, молочна сироватка) та досягнення високих концентрацій цільових НМО, що робить цей метод економічно доцільним для великотоннажного виробництва.

Загальні принципи мікробного біосинтезу НМО

Мікробний синтез НМО ґрунтується на концепції клітинної “біофабрики”, у межах якої метаболічні шляхи продуцента цілеспрямовано модифікують для перенаправлення потоків вуглецю на синтез заданого олігосахариду. Для цього у клітину інтегрують гени, що забезпечують:

- синтез нуклеотид-цукрових донорів;
- експресію специфічних глікозилтрансфераз;
- оптимізацію регуляції центрального метаболізму.

Загальну концепцію мікробного біосинтезу НМО з використанням клітин продуцентів показано на рис. 2.7.

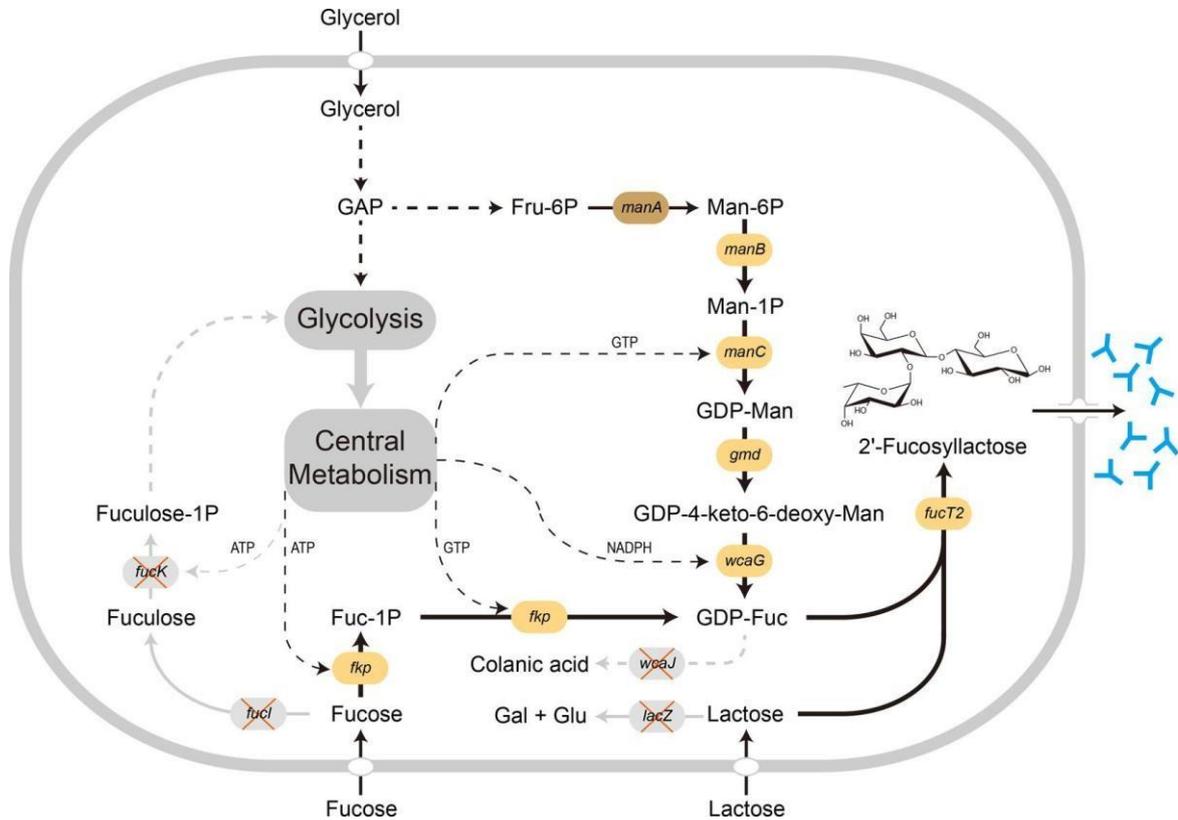


Рис.2.7 – Загальна схема мікробного біосинтезу олігосахаридів грудного молока з використанням генетично модифікованих клітин-продуцентів (Palur et al., 2023; Sprenger et al., 2017)

Метаболічна інженерія шляхів синтезу НМО

Ключовим елементом мікробного біосинтезу є метаболічна інженерія, спрямована на підвищення доступності активованих донорів цукрів і мінімізацію побічних потоків. Типові генетичні модифікації, що застосовуються для синтезу НМО, узагальнені в таблиці 2.7.

Таблиця 2.7

Основні напрями метаболічної інженерії мікроорганізмів-продуцентів НМО

Напрямок модифікації	Мета
----------------------	------

Посилення синтезу нуклеотид-цукрів	Підвищення доступності донорів
Експресія глікозилтрансфераз	Формування заданих зв'язків
Блокування конкуруючих шляхів	Зменшення втрат субстрату
Оптимізація транспорту	Полегшення секреції НМО

Найкраще вивченим прикладом є біосинтез **2'-фукозиллактози (2'-FL)**, для якого створено штами з високою продуктивністю. Метаболічний шлях біосинтезу 2'-фукозиллактози в інженерному штамі мікроорганізмів наведено на рис. 2.8.

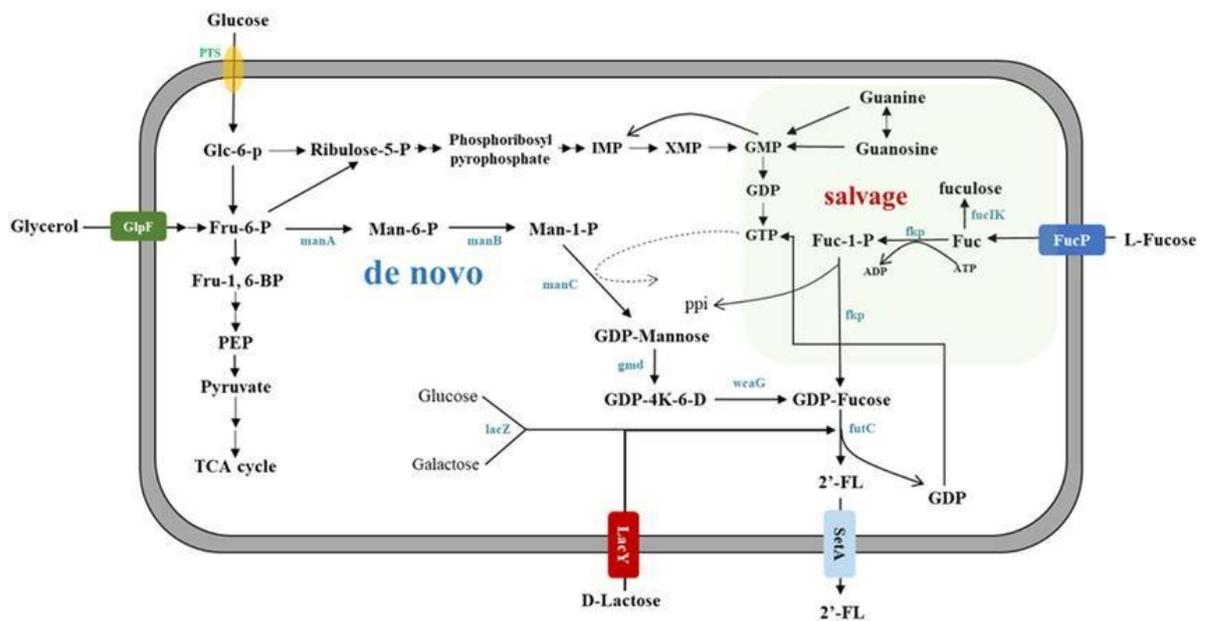


Рис. 2.8 – Метаболічний шлях біосинтезу 2'-фукозиллактози в інженерному штамі мікроорганізмів із синтезом GDP-фукози та подальшим фукозилюванням лактози (Huang et al., 2017)

Мікроорганізми-продуценти: *E. coli* та GRAS-штами

Для мікробного біосинтезу НМО застосовують як модельні організми, так і штами зі статусом GRAS (Generally Recognized As Safe). Кожна платформа має власні переваги та обмеження, що визначає сферу її застосування.

Порівняльну характеристику основних типів продуцентів наведено в таблиці 2.8.

Порівняння мікроорганізмів-продуцентів НМО

Критерій	<i>E. coli</i>	GRAS-штами
Генетична керованість	Дуже висока	Помірна
Досяжні титри НМО	Високі	Середні
Регуляторні вимоги	Суворіші	Спрощені
Downstream processing	Складніший	Простіший

Технологічні та регуляторні обмеження мікробного біосинтезу

Незважаючи на високу ефективність, мікробний біосинтез НМО супроводжується низкою технологічних викликів, зокрема:

- необхідністю забезпечення генетичної стабільності штамів;
- контролем параметрів ферментації;
- складністю очищення продукту, особливо при використанні

E. coli.

Важливу роль відіграють також регуляторні аспекти, оскільки кінцевий продукт має відповідати вимогам безпеки для харчового застосування, що стимулює розвиток GRAS-платформ.

Узагальнена оцінка методу

Мікробний біосинтез є найбільш збалансованим підходом до отримання НМО з точки зору продуктивності, масштабованості та економічної ефективності. Саме цей метод став основою сучасного промислового виробництва ключових олігосахаридів грудного молока, тоді як хімічні та ферментативні підходи виконують допоміжну або нішеву роль.

2.4 Інноваційні напрями отримання олігосахаридів грудного молока: рослинні системи та синтетична біологія

Поряд із хімічним, ферментативним та мікробним синтезом НМО, в останні роки активно розвиваються інноваційні альтернативні платформи,

спрямовані на підвищення гнучкості виробництва, зниження капітальних витрат та отримання рідкісних або структурно складних олігосахаридів. До таких підходів належать рослинні експресійні системи та методи синтетичної біології, зокрема створення мікробних консорціумів і модульних біосинтетичних шляхів [14], [25], [32].

Ці напрями поки що не є домінуючими у промисловому масштабі, однак мають значний потенціал для нішевого та регіонального виробництва НМО.

Рослинні експресійні системи для синтезу НМО

Рослинні системи розглядаються як перспективна альтернатива мікробному біосинтезу, оскільки рослинні клітини природно містять внутрішньоклітинні пули нуклеотид-цукрів, необхідні для глікозилування. Найбільш дослідженою моделлю є *Nicotiana benthamiana*, яка широко використовується для транз'єнтної експресії рекомбінантних білків.

Принцип отримання НМО в рослинних системах полягає у:

- доставці генів глікозилтрансфераз у клітини рослини;
- експресії відповідних ферментів у цитозолі або апараті Гольджі;
- використанні ендогенних донорів цукрів для синтезу НМО [14].

Ключові характеристики рослинних систем узагальнені в таблиці 2.9.

Таблиця 2.9

Характеристика рослинних експресійних систем для отримання НМО

Параметр	Характеристика
Тип експресії	Транз'єнтна
Основний хазяїн	<i>Nicotiana benthamiana</i>
Джерело донорів цукрів	Ендогенні нуклеотид-цукри
Час отримання продукту	Кілька тижнів
Масштабованість	Обмежена

Синтез НМО у рослинних експресійних системах схематично представлено на рис. 2.9.

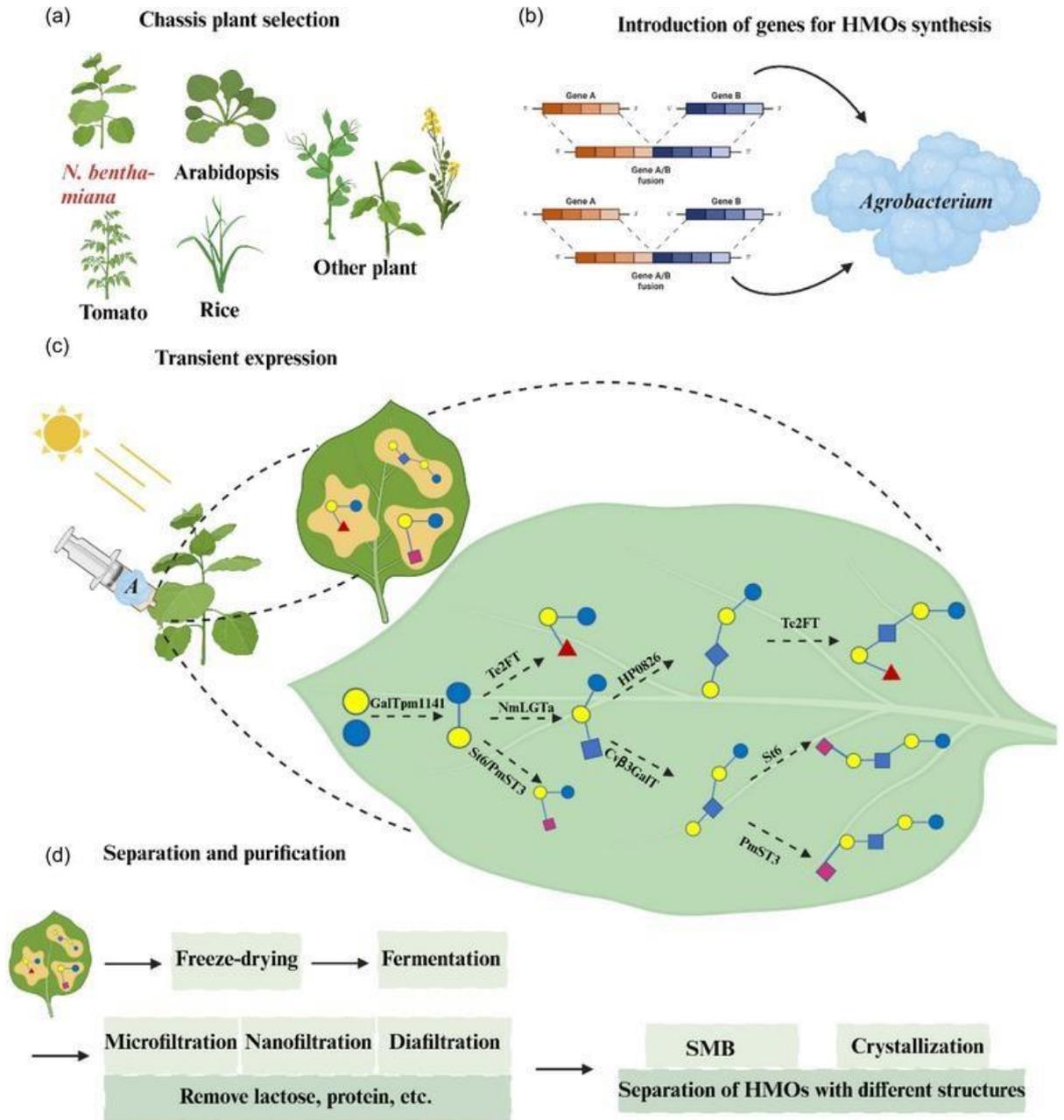


Рис. 2.9 – Схематичне зображення транзійтної експресії глікозилтрансфераз у рослинних клітинах та синтезу олігосахаридів грудного молока з використанням ендогенних нуклеотид-цукрів (Kobata et al., 2010; Zheng et al., 2022)

Синтетична біологія та модульні біосинтетичні підходи

Синтетична біологія відкрила нові можливості для конструювання штучних або модульних шляхів синтезу НМО, які не обмежені природними метаболічними архітектурами окремих організмів. Одним із ключових

напрямів є створення мікробних консорціумів, у яких різні штами виконують окремі етапи біосинтетичного шляху.

Такий підхід дозволяє:

- розподілити метаболічне навантаження між клітинами;
- уникнути накопичення токсичних проміжних метаболітів;
- підвищити стабільність процесу при тривалому культивуванні

[25].

Іншим напрямом є модульна реконструкція шляхів у межах одного організму з використанням інструментів генної інженерії, зокрема CRISPRCas, що забезпечує точне редагування геному та регуляцію експресії ферментів.

Основні концепції синтетичної біології у застосуванні до НМО наведено в таблиці 2.10. Концепцію застосування синтетичної біології для отримання НМО показано на рис. 2.10.

Таблиця 2.10

Підходи синтетичної біології для синтезу НМО

Підхід	Сутність	Переваги	Обмеження
Мікробні консорціуми	Розподіл шляхів між штамми	Зниження навантаження	Складність контролю
Модульні шляхи	Блокова організація метаболізму	Гнучкість	Генетична нестабільність
CRISPR-Cas	Точне редагування геному	Висока керованість	Регуляторні обмеження

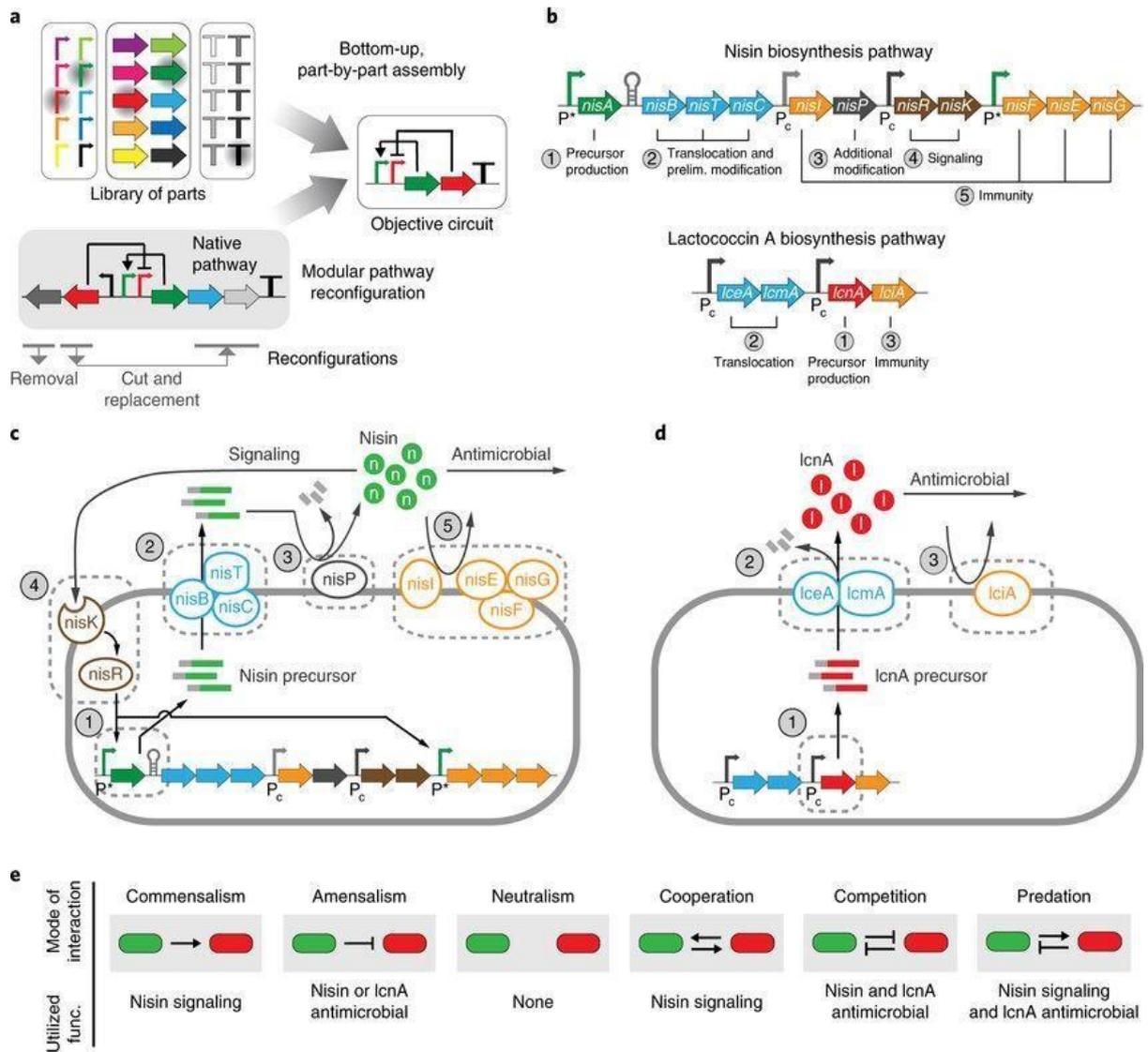


Рис. 2.10 – Концептуальна схема застосування синтетичної біології для синтезу НМО: мікробні консорціуми та модульні біосинтетичні шляхи (Palur et al., 2023; Zheng et al., 2022)

Узагальнена оцінка інноваційних підходів

Рослинні системи та методи синтетичної біології розширюють технологічний арсенал отримання НМО та створюють передумови для гнучкого, децентралізованого виробництва. Водночас ці підходи перебувають на стадії активного розвитку й наразі поступаються мікробному біосинтезу за масштабованістю та економічною ефективністю.

2.5 Порівняльний аналіз методів отримання олігосахаридів грудного молока

Існуючі методи отримання олігосахаридів грудного молока істотно відрізняються за принципами реалізації, технологічною складністю, економічною ефективністю та сферою практичного застосування. Хімічний, ферментативний, мікробний та інноваційні підходи не є взаємовиключними, а формують ієрархію технологічних рішень, кожне з яких доцільне для конкретних завдань - від фундаментальних досліджень до великотоннажного промислового виробництва.

Порівняльний аналіз цих методів дозволяє обґрунтовано визначити оптимальні платформи для синтезу окремих класів НМО, а також оцінити перспективи їх подальшого розвитку.

Ключові характеристики основних методів отримання НМО узагальнено в таблиці 2.11.

Таблиця 2.11

Порівняльна характеристика методів отримання олігосахаридів грудного молока

Критерій	Хімічний синтез	Ферментативний/ хемоензиматичний	Мікробний біосинтез	Інноваційні підходи
Структурна точність	Дуже висока	Дуже висока	Висока	Висока
Стереохімічний контроль	Обмежений	Повний	Повний	Повний
Масштабованість	Низька	Обмежена	Висока	Обмежена
Собівартість	Дуже висока	Висока	Низька	Змінна
Продуктивність	Низька	Середня	Висока	Низька–середня
Основна сфера застосування	Дослідження, стандарти	Складні НМО	Масове виробництво	Нішеві продукти

Вибір технології залежно від типу НМО

Доцільність застосування конкретного методу значною мірою визначається структурною складністю цільового олігосахариду. Прості нейтральні НМО, такі як 2'-фукозиллактоза або LNnT, ефективно отримуються шляхом мікробного біосинтезу, тоді як складні фукозильовані або сіалізовані структури часто потребують ферментативних або комбінованих підходів.

Залежність вибору технології від типу НМО узагальнено в таблиці 2.12.

Таблиця 2.12

Оптимальні методи синтезу для різних класів НМО

Клас НМО	Приклади	Найбільш доцільний метод
Нейтральні прості	2'-FL, LNnT	Мікробний біосинтез
Нейтральні складні	LNT, DF-LNH	Ферментативний / комбінований
Сіалізовані	3'-SL, 6'-SL	Ферментативний
Рідкісні або модифіковані	Аналоги НМО	Хімічний синтез

Регуляторні та практичні аспекти вибору методу

Окрім технологічних показників, суттєвий вплив на вибір методу мають регуляторні вимоги та практичні аспекти впровадження. Для харчового застосування перевага надається платформам, які дозволяють забезпечити високу чистоту продукту, відсутність токсичних домішок та відповідність статусу GRAS або вимогам Novel Food.

У цьому контексті мікробний біосинтез на основі GRAS-штамів є найбільш універсальним рішенням, тоді як ферментативні та інноваційні підходи розглядаються як доповнювальні або спеціалізовані.

Таким чином, жоден із методів отримання НМО не є універсальним. Хімічний синтез зберігає значення як інструмент фундаментальних досліджень, ферментативні підходи — як високоточні методи синтезу

складних структур, тоді як мікробний біосинтез є оптимальним рішенням для промислового виробництва основних НМО. Інноваційні напрями доповнюють існуючі технології та формують основу для подальшого розвитку галузі.

Висновки до розділу 2

У розділі 2 проаналізовано сучасні методи отримання олігосахаридів грудного молока. Показано, що хімічний синтез, який був історично першим підходом, забезпечує високу структурну точність і контроль конфігурації глікозидних зв'язків, однак характеризується багатостадійністю, низьким сумарним виходом і високою собівартістю, у зв'язку з чим нині використовується переважно для фундаментальних досліджень та отримання референтних стандартів.

Ферментативний і хемоензиматичний синтез розглянуто як більш селективні альтернативи, що забезпечують контроль регіо- та стереохімії глікозидних зв'язків, зокрема при синтезі фукозильованих і сіалізованих НМО. Водночас висока вартість ферментів і нуклеотид-активованих донорів, а також обмежена масштабованість стримують їх широке промислове застосування.

Встановлено, що мікробний біосинтез із використанням генетично модифікованих мікроорганізмів є найбільш ефективною та економічно доцільною платформою для промислового виробництва НМО. Інтеграція синтезу нуклеотид-цукрів і глікозильовання в межах однієї клітини дозволяє досягати високих титрів і знижувати собівартість, а використання штамів зі статусом GRAS спрощує регуляторні процедури.

Інноваційні підходи, зокрема рослинні експресійні системи та методи синтетичної біології, мають потенціал для нішевого виробництва та синтезу рідкісних НМО, проте наразі поступаються мікробному біосинтезу за масштабованістю та технологічною зрілістю. Загалом показано, що вибір методу отримання НМО визначається структурною складністю цільової молекули, обсягами виробництва, економічною доцільністю та регуляторними вимогами.

РОЗДІЛ 3

ПРАКТИЧНІ АСПЕКТИ ЗАСТОСУВАННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ БІОТЕХНОЛОГІЇ ОЛІГОСАХАРИДІВ ГРУДНОГО МОЛОКА

3.1. Використання олігосахаридів грудного молока у заміниках грудного молока

Розвиток біотехнологічних методів синтезу олігосахаридів грудного молока (Human Milk Oligosaccharides, НМО) зумовив принципові зміни у підходах до створення заміників грудного молока. Якщо на початкових етапах формування ринку дитячого харчування основний акцент робився на відтворенні макронутрієнтного складу грудного молока (білків, жирів і вуглеводів), то сучасний етап характеризується переходом до функціонального моделювання його біоактивних компонентів. Саме НМО, як третя за кількістю фракція твердих речовин грудного молока та водночас один із ключових регуляторних факторів, стали центральним об'єктом цієї трансформації. [7], [19].

Еволюція заміників грудного молока та передумови інтеграції НМО

Традиційні дитячі суміші, створені на основі коров'ячого молока, історично зазнавали значної адаптації, спрямованої на зниження вмісту білка, модифікацію амінокислотного складу та оптимізацію жирнокислотного профілю. Водночас відтворення вуглеводної фракції грудного молока тривалий час обмежувалося використанням лактози як основного джерела вуглеводів та введенням синтетичних пребіотиків, зокрема галактоолігосахаридів (ГОС) і фруктоолігосахаридів (ФОС) [1], [4].

Комбінації ГОС/ФОС застосовувалися з метою імітації загального пребіотичного ефекту грудного молока, однак їх дія була неспецифічною і не могла відтворити багатовекторний функціональний вплив природних НМО. Зокрема, ГОС/ФОС не забезпечують селективної стимуляції *Bifidobacterium longum subsp. infantis*, не володіють антиадгезивною активністю щодо патогенів та не беруть участі у прямій імуномодуляції або нейророзвитку. Ці

обмеження сформували чіткий запит на створення структурно ідентичних природним олігосахаридів, що стало можливим лише після розвитку сучасних біотехнологій [25].

Прорив у галузі метаболічної інженерії мікроорганізмів дозволив налагодити промисловий синтез окремих НМО, що стало відправною точкою для їх інтеграції у склад дитячих сумішей нового покоління [7], [25].

Біотехнологічно синтезовані НМО як інгредієнти дитячих сумішей
Першими НМО, що були впроваджені у промислове виробництво, стали 2'-фукозиллактоза (2'-FL) та лакто-N-неотетраоза (LNnT). Їх вибір був зумовлений як високою поширеністю у грудному молоці жінок-секреторів, так і відносною технологічною доступністю синтезу [7], [19].

Біотехнологічний підхід до отримання 2'-FL ґрунтується на використанні генетично модифікованих мікроорганізмів, здатних синтезувати активований донор фукози (GDP-фукозу) та здійснювати перенесення фукозильного залишку на молекулу лактози за участю фукозилтрансфераз. У сучасних промислових процесах застосовуються як модифіковані штами *Escherichia coli*, так і мікроорганізми зі статусом GRAS. Завдяки оптимізації метаболічних потоків, ферментаційних режимів fed-batch та умов культивування досягається концентрація 2'-FL, що перевищує 100 г/л культурального середовища [7], [25].

Отриманий продукт проходить багатоступеневу систему очищення, яка включає ультрафільтрацію, іонообмінну та адсорбційну хроматографію, що забезпечує видалення клітинних компонентів, залишкових білків і, у випадку використання *E. coli*, ендотоксинів. Кінцевий інгредієнт має чистоту понад 98% та є структурно ідентичним природному аналогу грудного молока, що підтверджується методами ВЕРХ, мас-спектрометрії та ЯМР-спектроскопії [7], [25].

Аналогічні підходи застосовуються для синтезу LNnT, а згодом були розширені для отримання інших нейтральних і сіалізованих НМО, зокрема

3-фукозиллактози (3-FL), 3'-сіаліллактози (3'-SL) та 6'-сіаліллактози (6'-SL) [19], [25].

Формування багатокомпонентних НМО-профілів у сучасних сумішах

Початковий етап інтеграції НМО у дитячі суміші характеризувався використанням одного олігосахариду, найчастіше 2'-FL. Такий підхід дозволив оцінити безпечність і базову ефективність інгредієнта, однак не відображав структурної різноманітності НМО у грудному молоці [19].

Наступним етапом стало створення сумішей, що містили комбінацію з двох НМО, зазвичай 2'-FL та LNnT. Ця стратегія була спрямована на часткове відтворення балансу між фукозильованими та нефукозильованими структурами і забезпечила більш комплексний вплив на мікробіоту кишечника [19].

Сучасний тренд у галузі полягає у використанні багатокомпонентних сумішей, що включають 5–6 різних НМО, серед яких поєднуються фукозильовані (2'-FL, 3-FL), нейтральні нефукозильовані (LNnT, LNT) та сіалізовані структури (3'-SL, 6'-SL). Такий підхід дозволяє більш точно імітувати природний НМО-профіль грудного молока та забезпечує синергічний ефект, що реалізується через декілька біологічних механізмів одночасно [19], [36].

З біотехнологічної точки зору, створення таких сумішей стало можливим лише після суттєвого зниження собівартості виробництва окремих НМО, оптимізації логістики та стандартизації процесів очищення і контролю якості. Це підкреслює прямий зв'язок між розвитком біотехнологічних платформ і еволюцією кінцевих продуктів дитячого харчування [25], [31].

Технологічні аспекти інтеграції НМО у виробництво сумішей

Інтеграція біотехнологічно синтезованих НМО у виробництво заміників грудного молока відбувається на фінальних етапах технологічного процесу. Очищені та висушені (зазвичай методом розпилювального сушіння)

НМО вводяться у суміш у вигляді порошкових інгредієнтів з чітко стандартизованим вмістом активної речовини [25].

Ключовими вимогами до цього етапу є:

- стабільність НМО при термічній обробці;
- відсутність взаємодії з іншими компонентами суміші;
- збереження структурної цілісності під час зберігання.

Дослідження показують, що більшість нейтральних і сіалізованих НМО є термостабільними в умовах, характерних для виробництва сухих сумішей, що додатково підтверджує їх технологічну придатність [10], [36].

Таким чином, використання НМО у замінниках грудного молока є прямим результатом розвитку сучасної біотехнології, яка забезпечила перехід від концепції загального пребіотичного збагачення до точного функціонального моделювання грудного молока [25], [37].

3.2. Клінічно підтвержені ефекти застосування олігосахаридів грудного молока у складі дитячих сумішей

Інтеграція біотехнологічно синтезованих олігосахаридів грудного молока до складу замінників грудного молока супроводжувалася необхідністю ретельної оцінки їх ефективності та безпеки в умовах реального застосування. На відміну від багатьох інших функціональних інгредієнтів, НМО не розглядаються виключно як нутрієнти, а як біоактивні молекули з регуляторною дією. Саме тому ключову роль у підтвердженні доцільності їх використання відіграли рандомізовані контрольовані дослідження (РКД), а також систематичні огляди й метааналізи, проведені протягом останнього десятиліття [36].

Клінічні ефекти НМО реалізуються комплексно та охоплюють вплив на формування кишкової мікробіоти, імунний статус, частоту інфекційних захворювань, розвиток алергічних проявів і загальні показники росту та переносимості. Важливо, що більшість досліджень оцінюють не ізольований

ефект одного показника, а сукупний вплив НМО як функціонального компонента дитячої суміші [38].

Вплив НМО на формування кишкової мікробіоти немовлят

Одним із найбільш послідовно підтверджених клінічних ефектів НМО є їхній вплив на раннє формування кишкової мікробіоти. У дітей, які перебувають на грудному вигодовуванні, типовим є біфідодомінантний мікробіотичний профіль, зокрема з високою часткою *Bifidobacterium longum subsp. infantis*. Саме цей мікробіотичний патерн вважається маркером здорового розвитку кишечника та імунної системи [19], [38].

Клінічні дослідження продемонстрували, що включення 2'-фукозиллактози (2'-FL) та комбінацій НМО (наприклад, 2'-FL у поєднанні з LNnT) до складу дитячих сумішей сприяє формуванню мікробіоти, яка за своїм складом істотно наближається до мікробіоти дітей на грудному вигодовуванні. У таких немовлят відзначається збільшення відносної кількості біфідобактерій та зниження частки умовно-патогенних мікроорганізмів [36], [38].

Механістично цей ефект пояснюється високою специфічністю НМО як субстратів для бактерій, що володіють відповідним ферментативним апаратом. На відміну від ГОС/ФОС, які ферментуються широким спектром мікроорганізмів, НМО вибірково стимулюють ріст видів, асоційованих із грудним вигодовуванням. Це забезпечує більш стабільний і фізіологічно релевантний мікробіотичний профіль у критичний період раннього розвитку [17], [35].

Додатково встановлено, що ферментація НМО супроводжується підвищенням утворенням коротколанцюгових жирних кислот, насамперед ацетату, який сприяє підкисленню кишкового середовища та створює несприятливі умови для росту патогенів [10], [36].

Захисний ефект НМО щодо інфекційних захворювань

Другим важливим клінічним аспектом застосування НМО є їхній вплив на частоту та перебіг інфекційних захворювань у немовлят. Результати кількох РКД та довготривалих спостережень свідчать, що діти, які споживають суміші, збагачені НМО, демонструють нижчу захворюваність на гострі респіраторні та шлунково-кишкові інфекції порівняно з дітьми, які отримують стандартні суміші без НМО [36], [38].

Особливо показовими є дані щодо зниження частоти бронхітів та інших інфекцій нижніх дихальних шляхів протягом першого року життя. В окремих клінічних дослідженнях відзначено істотне зменшення потреби в застосуванні антипіретиків та антибактеріальних препаратів у групах, що отримували суміші з 2'-FL або комбінаціями НМО [36].

З біологічної точки зору, захисний ефект НМО реалізується через декілька взаємодоповнювальних механізмів. По-перше, НМО виступають як «молекулярні пастки», імітуючи глікокон'югати на поверхні епітеліальних клітин і блокуючи адгезію патогенів до слизових оболонок. По-друге, опосередкований через мікробіоту ефект сприяє зміцненню бар'єрної функції кишечника та зниженню транслокації мікроорганізмів. По-третє, НМО здатні безпосередньо впливати на клітини імунної системи, модулюючи продукцію цитокінів і баланс прозапальних та протизапальних сигналів [13], [39].

Таким чином, зниження інфекційної захворюваності у дітей, які споживають суміші з НМО, є результатом системної імуномодулюючої дії, а не лише наслідком змін у мікробіоті [22], [25].

Вплив НМО на розвиток алергічних проявів та імунну толерантність

Окрему увагу в клінічних дослідженнях приділено потенційному впливу НМО на формування імунної толерантності та ризик розвитку алергічних захворювань. Хоча дані в цій сфері ще не є настільки однозначними, як щодо

мікробіоти чи інфекцій, наявні результати свідчать про перспективність цього напрямку [27].

У дітей з підвищеним ризиком atopічних захворювань спостерігали тенденцію до зниження частоти atopічного дерматиту при застосуванні сумішей, збагачених НМО. Вважається, що цей ефект пов'язаний зі здатністю НМО сприяти дозріванню регуляторних Т-клітин та формуванню толерантності до харчових і мікробних антигенів [13], [39].

Крім того, опосередкований вплив через біфідодомінантну мікробіоту сприяє зменшенню прозапального фону в кишечнику, що є критично важливим у ранньому віці, коли імунна система перебуває на етапі становлення [25].

Переносимість, безпечність та показники фізичного розвитку

Безпечність є ключовою вимогою до будь-якого інгредієнта, що використовується у дитячому харчуванні. Клінічні дослідження показали, що НМО добре переносяться немовлятами, не викликають небажаних побічних ефектів та не асоціюються з порушеннями травлення [8], [36].

Показники росту, зокрема маса тіла, довжина тіла та окружність голови, у дітей, які споживали суміші з НМО, відповідали віковим нормам і не відрізнялися від аналогічних показників у дітей на грудному вигодовуванні. Це свідчить про те, що включення НМО не має негативного впливу на енергетичну забезпеченість та загальний нутритивний статус [36].

Особливо важливо, що навіть при використанні багатокомпонентних сумішей, які містять 5–6 різних НМО, не було зафіксовано підвищення частоти побічних реакцій, що підтверджує доцільність такого підходу з точки зору безпеки [19], [38].

Узагальнення основних клінічних ефектів застосування НМО у складі дитячих сумішей у порівнянні зі стандартними формулами без НМО наведено в таблиці 3.1

Таблиця 3.1.

Порівняльна характеристика клінічних та функціональних ефектів дитячих сумішей, збагачених олігосахаридами грудного молока (НМО), та стандартних сумішей без НМО

Параметр	Суміші з НМО (2'-FL, LNnT, 3'-SL, 6'-SL тощо)	Стандартні суміші без НМО (з/без ГОС/ФОС)
Формування кишкової мікробіоти	Біфідодомінантний профіль, зростання <i>Bifidobacterium spp.</i> , мікробіота наближена до грудного вигодовування	Менш специфічна стимуляція мікробіоти, більша частка умовно-патогенних бактерій
Пребіотична специфічність	Висока селективність до бактерій, асоційованих із грудним вигодовуванням (<i>B. infantis</i>)	Неспецифічна ферментація широким спектром мікроорганізмів
Антиадгезивний захист	Наявний: НМО функціонують як «молекулярні пастки», блокуючи адгезію патогенів	Відсутній
Частота інфекційних захворювань	Зниження частоти респіраторних та кишкових інфекцій; менша потреба в антибіотиках	Вища частота інфекцій у порівнянні з сумішами, збагаченими НМО
Імуномодуюча дія	Пряма і опосередкована дія: модуляція цитокінової відповіді, формування імунної толерантності	Переважно опосередкована через мікробіоту
Алергічні прояви (атопія)	Тенденція до зниження ризику atopічного дерматиту у групах ризику	Відсутність підтвердженого профілактичного ефекту
Переносимість	Добра переносимість, відсутність збільшення побічних ефектів	Загалом добра переносимість

Показники росту та розвитку	Відповідають віковим нормам і показникам дітей на грудному вигодовуванні	Відповідають віковим нормам
Біоміметичність щодо грудного молока	Висока: відтворення структурних і функціональних компонентів НМО	Обмежена, відсутня структурна ідентичність НМО

Таблицю сформовано на основі даних рандомізованих контрольованих досліджень і систематичних оглядів [36], [38].

Узагальнюючи результати клінічних досліджень, можна стверджувати, що застосування біотехнологічно синтезованих НМО у складі дитячих сумішей забезпечує не лише нутритивну адекватність, а й реалізацію низки біологічних ефектів, притаманних грудному молоку. Це підтверджує доцільність подальшого розвитку біотехнологій НМО та створює підґрунтя для переходу до більш персоналізованих і функціонально орієнтованих рішень, що розглядаються у наступному підрозділі [25], [37].

3.3. Технологічні перспективи розвитку біотехнології олігосахаридів грудного молока

Сучасний етап розвитку біотехнології олігосахаридів грудного молока характеризується переходом від масштабування окремих, технологічно доступних структур до формування комплексних платформ, здатних відтворювати різноманіття та функціональну складність природного НМОпрофілю. Якщо впровадження 2'-фукозиллактози та лакто-N-неотетраози у промислове виробництво можна розглядати як перший етап комерціалізації, то подальший розвиток галузі пов'язаний із вирішенням значно складніших інженерних, метаболічних і регуляторних завдань [37].

Технологічні перспективи біотехнології НМО доцільно розглядати у контексті трьох взаємопов'язаних напрямів: розширення спектра доступних олігосахаридів, удосконалення біосинтетичних платформ та оптимізації

економічних параметрів виробництва. Саме інтеграція цих напрямів визначатиме здатність галузі перейти від виробництва окремих молекул до створення біоміметичних сумішей нового покоління [11].

Розширення спектру біотехнологічно доступних НМО

Незважаючи на значний прогрес у галузі, сучасне промислове виробництво охоплює лише обмежену кількість НМО, тоді як у грудному молоці ідентифіковано понад 200 різних структур. Більшість із них належать до складних поліфукозилізованих або високомолекулярних сіалізованих олігосахаридів, синтез яких супроводжується суттєвими технологічними труднощами та високими вимогами до регіо- і стереоспецифічності реакцій [11].

Основними обмежувальними факторами розширення спектра доступних НМО є складність побудови багатоступеневих глікозилізованих ланцюгів, необхідність синхронного забезпечення клітини кількома активованими донорами цукрів, а також зростаюче метаболічне навантаження на продуцент. Ці чинники зумовлюють зниження виходу цільового продукту та ускладнюють масштабування процесів [11].

Подолання зазначених обмежень пов'язується з розвитком безклітинних ферментативних систем, які дозволяють реалізовувати багатоферментні каскади поза живою клітиною. Такі системи забезпечують високу контрольованість реакційних умов і зменшують утворення побічних продуктів, що робить їх перспективними для синтезу рідкісних та високоцінних НМО, незважаючи на наразі обмежену економічну ефективність [53].

Синтетична біологія та конструювання високопродуктивних платформ

Ключовим драйвером подальшого розвитку біотехнології НМО є застосування інструментів синтетичної біології. На відміну від класичної метаболічної інженерії, що зосереджується на оптимізації окремих шляхів,

синтетична біологія дозволяє проєктувати клітинні системи як модульні біосинтетичні платформи.

Перспективним напрямом є створення так званих «суперштамів», здатних одночасно синтезувати декілька різних НМО у контрольованих співвідношеннях. Це досягається шляхом:

- модульної експресії глікозилтрансфераз;
- балансування потоків нуклеотид-активованих донорів;
- регуляції експресії ключових ферментів за допомогою індукованих або динамічних промоторів.

Альтернативним підходом є використання мікробних консорціумів, у яких різні штами виконують окремі функції синтезу. Такий розподіл метаболічного навантаження дозволяє уникнути токсичності проміжних продуктів і підвищити загальну стабільність системи. Хоча впровадження консорціумів у промислове виробництво пов'язане з додатковими труднощами контролю процесу, цей підхід розглядається як перспективний для отримання складних НМО-профілів.

Альтернативні платформи біосинтезу НМО

Окрім традиційних бактеріальних і дріжджових систем, активно досліджуються альтернативні платформи біосинтезу НМО. Однією з таких платформ є транзйєнтна експресія глікозилтрансфераз у рослинних клітинах, зокрема у *Nicotiana benthamiana*. Рослинні системи здатні використовувати власні пулі цукрових нуклеотидів, що потенційно зменшує потребу у складній метаболічній інженерії.

Перевагами цього підходу є відносно швидке отримання продукту та відсутність потреби у ферментерах великого об'єму. Водночас залишаються відкритими питання масштабування, стандартизації та економічної доцільності такого виробництва, що обмежує його застосування переважно нішевими або регіональними сценаріями.

Подальше зниження собівартості та масштабування виробництва

Економічна ефективність є критичним фактором для розширення використання НМО поза сегментом преміального дитячого харчування.

Основними напрямками зниження собівартості виробництва є:

- оптимізація ферментаційних режимів (fed-batch, continuous fermentation);
- використання дешевших субстратів, зокрема лактозовмісних побічних продуктів молочної промисловості;
- спрощення процесів очищення за рахунок використання GRAS мікроорганізмів.

Подальше зниження вартості НМО створює передумови для їх ширшого застосування у функціональному та медичному харчуванні, а також відкриває можливості для локалізації виробництва в країнах із розвинутою молочною галуззю.

Технологічні передумови персоналізації харчування

Персоналізація харчування на основі НМО-профілю грудного молока є логічним наслідком розвитку біотехнологічних платформ. З технологічної точки зору, персоналізація стає можливою лише за умови наявності гнучких виробничих систем, здатних швидко змінювати склад НМО-сумішей без суттєвого зростання витрат.

Поєднання даних про генетичний статус матері (секретор/несекретор), мікробіом немовляти та можливостей біотехнологічного синтезу створює підґрунтя для переходу від універсальних формул до адаптованих рішень. Хоча така персоналізація наразі перебуває на етапі концептуального опрацювання, технологічні передумови для її реалізації вже формуються.

Таким чином, перспективи розвитку біотехнології НМО пов'язані не лише з кількісним зростанням виробництва, а насамперед із якісним ускладненням біосинтетичних систем. Подальший прогрес у галузі визначатиметься здатністю інтегрувати інструменти синтетичної біології,

оптимізувати економічні параметри процесів і забезпечити гнучкість виробництва для створення багатокомпонентних та персоналізованих НМО-профілів.

Висновок до розділу 3

У розділі 3 проаналізовано практичні аспекти застосування біотехнологічно синтезованих олігосахаридів грудного молока та окреслено ключові напрями розвитку біотехнології НМО в контексті створення сучасних замінників грудного молока. Показано, що інтеграція НМО у склад дитячих сумішей є логічним результатом розвитку метаболічної інженерії та синтетичної біології, які забезпечили можливість промислового отримання структурно ідентичних природним олігосахаридів.

Встановлено, що суміші, збагачені НМО, мають клінічно підтвержені переваги порівняно зі стандартними формулами без НМО. Їх застосування сприяє формуванню біфідодомінантної кишкової мікробіоти, зниженню частоти інфекційних захворювань, реалізації імуномодулюючих ефектів та характеризується доброю переносимістю і відсутністю негативного впливу на показники фізичного розвитку немовлят. Узагальнені результати клінічних досліджень підтверджують високий рівень біоміметичності НМО-сумішей щодо грудного молока.

Показано, що сучасний етап розвитку біотехнології НМО характеризується переходом від виробництва окремих олігосахаридів до створення багатокомпонентних сумішей, здатних відтворювати структурну та функціональну складність природного НМО-профілю. Перспективними напрямами є розширення спектра біотехнологічно доступних НМО, удосконалення біосинтетичних платформ із використанням інструментів синтетичної біології, а також подальше зниження собівартості виробництва.

Загалом результати розділу 3 підтверджують, що біотехнологічний синтез НМО є науково обґрунтованим і перспективним напрямом розвитку сучасної харчової біотехнології, який створює передумови для подальшого

вдосконалення замінників грудного молока та впровадження персоналізованих нутритивних підходів.

ВИСНОВКИ

1. Доведено, що олігосахариди грудного молока (НМО) є ключовими біоактивними компонентами, які відіграють визначальну роль у формуванні мікробіоти кишечника, імунної системи та метаболічного програмування немовлят, що зумовлює їх високу біотехнологічну й нутриційну значущість.

2. Узагальнено, що НМО характеризуються високою структурною різноманітністю та реалізують свою біологічну дію через комплекс механізмів, включаючи модуляцію мікробіоти, антиадгезивний захист, імунорегуляцію та вплив на нейророзвиток, а генетично зумовлений НМОпрофіль визначає індивідуальну варіабельність ефектів.

3. Показано, що НМО принципово відрізняються від традиційних синтетичних пребіотиків (ГОС/ФОС) за рівнем структурної і функціональної біоміметичності, що обґрунтовує доцільність їх біотехнологічного відтворення у складі дитячих сумішей нового покоління.

4. Встановлено, що серед сучасних методів отримання НМО найбільш ефективною та економічно доцільною для промислового застосування є мікробна біотехнологічна платформа, тоді як хімічні та ферментативні підходи мають обмежене або нішеве використання.

5. Проаналізовано, що біотехнологія НМО за останнє десятиліття трансформувалася у динамічну галузь харчової біотехнології з активним промисловим і ринковим розвитком, у межах якої основним сегментом залишається дитяче харчування з перспективою розширення сфер застосування.

6. Підтверджено, що включення біотехнологічно синтезованих НМО до складу дитячих сумішей є безпечним та асоціюється з клінічно доведеними перевагами, зокрема формуванням біфітодомінантної мікробіоти та імуномодуючим ефектом.

7. Окреслено перспективи, подальшого розвитку біотехнології НМО, які пов'язані з розширенням спектра доступних структур, створенням багатокomпонентних композицій та впровадженням персоналізованих нутритивних підходів на основі інструментів синтетичної біології.

8. Обґрунтовано, що біотехнологічний синтез НМО є науково виваженим і стратегічно важливим напрямом сучасної харчової біотехнології, який має теоретичну та практичну цінність для розробки інноваційних продуктів дитячого харчування і потенційної локалізації високотехнологічного виробництва в Україні.

ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ

1. Maternal and Infant Factors Influencing Human Milk Oligosaccharide Composition: Beyond Maternal Genetics / S. M. Han et al. *The Journal of nutrition*. 2021. Vol. 151(6). P. 1383–1393. [DOI: 10.1093/jn/nxab028](https://doi.org/10.1093/jn/nxab028).
2. Human milk oligosaccharides are associated with maternal genetics and respiratory health of human milk-fed children / A. Ambalavanan et al. *Nat. Commun*. 2024. Vol. 15. P. 7735. [DOI: 10.1038/s41467-024-51743-6](https://doi.org/10.1038/s41467-024-51743-6).
3. Andreas N. J., Kampmann B., Mehring Le-Doare K. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early Hum. Dev.* 2015. Vol. 91(11). P. 629–635. DOI: 10.1016/j.earlhumdev.2015.08.013.
4. Mendis P. M., Jackson G. P. Structural characterization of human milk oligosaccharides using ultrahigh performance liquid chromatography-helium charge transfer dissociation mass spectrometry. *Glycobiology*. 2022. Vol. 32(6). P. 483–495. DOI: [10.1093/glycob/cwac010](https://doi.org/10.1093/glycob/cwac010).
5. Ballard O., Morrow A. L. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatric Clinics of North America*. 2013. Vol. 60(1). P. 49–74. [DOI: 10.1016/j.pcl.2012.10.002](https://doi.org/10.1016/j.pcl.2012.10.002).
6. The impact of human milk oligosaccharides on health from infancy to childhood / M. Fibbiani et al. *Minerva pediatrics*. 2022. Vol. 74(6). P. 724–732. [DOI: 10.23736/S2724-5276.22.07037-9](https://doi.org/10.23736/S2724-5276.22.07037-9).
7. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for the production of 2'-fucosyllactose and 3-fucosyllactose through modular pathway enhancement / D. Huang et al. *Metabolic engineering*. 2017. Vol. 41. P. 23–38. [DOI: 10.1016/j.ymben.2017.03.001](https://doi.org/10.1016/j.ymben.2017.03.001).
8. Clinical Studies on the Supplementation of Manufactured Human Milk Oligosaccharides: A Systematic Review / Y. B. Schönknecht et al. *Nutrients*. 2023. Vol. 15(16). P. 3622. [DOI: 10.3390/nu15163622](https://doi.org/10.3390/nu15163622).

9. Sialylated human milk oligosaccharides program cognitive development through a non-genomic transmission mode / J. Hauser et al. *Molecular psychiatry*. 2021. Vol. 26(7). P. 2854–2871. [DOI: 10.1038/s41380-021-01054-9](https://doi.org/10.1038/s41380-021-01054-9).
10. Recent trends in human milk oligosaccharides: New synthesis technology, regulatory effects, and mechanisms of non-intestinal functions / Q. Chen et al. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 2025. Vol. 24(2). P. e70147. [DOI: 10.1111/1541-4337.70147](https://doi.org/10.1111/1541-4337.70147).
11. Oral supplementation of healthy adults with 2'-O-fucosyllactose and lacto-Nneotetraose is well tolerated and shifts the intestinal microbiota / E. Elison et al. *British Journal of Nutrition*. 2016. Vol. 116(8). P. 1356–1368. DOI: 10.1017/S0007114516003354.
12. Innis S. M. Impact of maternal diet on human milk composition and neurological development of infants. *The American journal of clinical nutrition*. 2014. Vol. 99(3). P. 734S–741S. DOI: [10.3945/ajcn.113.072595](https://doi.org/10.3945/ajcn.113.072595).
13. Tailored Combinations of Human Milk Oligosaccharides Modulate the Immune Response in an In Vitro Model of Intestinal Inflammation / C. Walsh et al. *Biomolecules*. 2024. Vol. 14(12). P. 1481. [DOI: 10.3390/biom14121481](https://doi.org/10.3390/biom14121481).
14. Kobata A. Structures and application of oligosaccharides in human milk. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*. 2010. Vol. 86(7). P. 731–747. [DOI: 10.2183/pjab.86.731](https://doi.org/10.2183/pjab.86.731).
15. Influence of Gestational Age, Secretor, and Lewis Blood Group Status on the Oligosaccharide Content of Human Milk / C. Kunz et al. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2017. Vol. 64(5). P. 789–798. [DOI: 10.1097/MPG.0000000000001402](https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001402).
16. Biology of human milk oligosaccharides: from basic science to clinical evidence / C. Kunz et al. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*. 2022. Vol. 35(2). P. 280–299. [DOI: 10.1111/jhn.12990](https://doi.org/10.1111/jhn.12990).

17. Human milk oligosaccharides and infant gut microbiota: Molecular structures, utilization strategies and immune function / B. Zhang et al. *Carbohydrate polymers*. 2022. Vol. 276. P. 118738. [DOI: 10.1016/j.carbpol.2021.118738](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118738).
18. Studies and Application of Sialylated Milk Components on Regulating Neonatal Gut Microbiota and Health / Y. Wang et al. *Frontiers in Nutrition*. 2021. Vol. 8. [DOI: 10.3389/fnut.2021.766606](https://doi.org/10.3389/fnut.2021.766606).
19. Infant Formula Supplemented with Five Human Milk Oligosaccharides Shifts the Fecal Microbiome of Formula-Fed Infants Closer to That of Breastfed Infants / A. Q. Holst et al. *Nutrients*. 2023. Vol. 15(14). P. 3087. [DOI: 10.3390/nu15143087](https://doi.org/10.3390/nu15143087).
20. Das A., De Meo C., Demchenko A. V. Chemical Synthesis of Human Milk Oligosaccharides: Sialyllacto-*N*-Tetraose a (LSTa). *The Journal of Organic Chemistry*. 2025. Vol. 90(51). [DOI: 10.1021/acs.joc.5c02428](https://doi.org/10.1021/acs.joc.5c02428).
21. Consumption of Human Milk Oligosaccharides by Gut-Related Microbes / A. Marcobal et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010. Vol. 58(9). P. 5334–5340. [DOI: 10.1021/jf9044205](https://doi.org/10.1021/jf9044205).
22. Moukarzel S., Bode L. Human Milk Oligosaccharides and the Preterm Infant: A Journey in Sickness and in Health. *Clinics in perinatology*. 2017. Vol. 44(1). P. 193–207. [DOI: 10.1016/j.clp.2016.11.014](https://doi.org/10.1016/j.clp.2016.11.014).
23. A strategy for annotating the human milk glycome / M. R. Ninonuevo et al. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2006. Vol. 54(20). P. 7471–7480. [DOI: 10.1021/jf0615810](https://doi.org/10.1021/jf0615810).
24. Human milk oligosaccharides and respiratory syncytial virus infection in infants / K. M. Tonon et al. *Advances in Nutrition*. 2024. Vol. 15(6). P. 100218. [DOI: 10.1016/j.advnut.2024.100218](https://doi.org/10.1016/j.advnut.2024.100218).
25. Palur D. S. K., Pressley S. R., Atsumi S. Microbial Production of Human Milk Oligosaccharides. *Molecules*. 2023. Vol. 28(3). P. 1491. [DOI: 10.3390/molecules28031491](https://doi.org/10.3390/molecules28031491).

26. Okburan G., Kızıler S. Human milk oligosaccharides as prebiotics. *Pediatrics and neonatology*. 2023. Vol. 64(3). P. 231–238. [DOI: 10.1016/j.pedneo.2022.09.017](https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2022.09.017).
27. Early neutral prebiotic oligosaccharide supplementation reduces the incidence of some allergic manifestations in the first 5 years of life / S. Arslanoglu et al. *Journal of biological regulators and homeostatic agents*. 2012. Vol. 26(3). P. 49–59.
28. Systemic Availability of Human Milk Oligosaccharides in Infants and Adults: A Narrative Review / S. Schenk et al. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*. 2025. Vol. 16(9). P. 100488. [DOI: 10.1016/j.advnut.2025.100488](https://doi.org/10.1016/j.advnut.2025.100488).
29. Systematic review of the concentrations of oligosaccharides in human milk / S. Thurl et al. *Nutrition Reviews*. 2017. Vol. 75(11). P. 920–933. [DOI: 10.1093/nutrit/nux044](https://doi.org/10.1093/nutrit/nux044).
30. Comprehensive profiles of human milk oligosaccharides yield highly sensitive and specific markers for determining secretor status in lactating mothers / S. M. Totten et al. *Journal of proteome research*. 2012. Vol. 11(12). P. 6124– 6133. [DOI: 10.1021/pr300769g](https://doi.org/10.1021/pr300769g).
31. GRAS Notices / U. S. Food and Drug Administration. URL: https://hfpappexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&sort=GRN_No&order=DESC&showAll=true&type=basic&search= (Date of access: 26.11.2025).
32. Enzymatic and chemoenzymatic synthesis of human milk oligosaccharides and derivatives / J. Zheng et al. *Carbohydrate Polymers*. 2022. Vol. 291. P. 119564. [DOI: 10.1016/j.carbpol.2022.119564](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119564).
33. Sprenger G. A., Baumgärtner F., Albermann C. Production of human milk oligosaccharides by enzymatic and whole-cell microbial biotransformations. *Journal of Biotechnology*. 2017. Vol. 258. P. 79–91. [DOI: 10.1016/j.jbiotec.2017.07.030](https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.07.030).

34. Cell-Free Multi-Enzyme synthesis and purification of uridine diphosphate galactose / R. Mahour et al. *ChemBioChem*. 2021. Vol. 23(2). P. e202100361. DOI: 10.1002/cbic.202100361.
35. Kenney A. D. A review of human milk oligosaccharide concentrations of breast milk for infants and young children through 24 months of age. *Frontiers in Nutrition*. 2025. Vol. 12. P. 12443758. URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12443758/> (Date of access: 26.11.2025).
36. Clinical evidence and mechanistic pathways of human milk oligosaccharide supplementation for health benefits: an updated review / T. Amin et al. *Frontiers in nutrition*. 2025. Vol. 12. P. 1599678. DOI: [10.3389/fnut.2025.1599678](https://doi.org/10.3389/fnut.2025.1599678).
37. Recent advances in the science of human milk oligosaccharides / T. Urashima et al. *BBA Advances*. 2025. Vol. 7. P. 100136. DOI: [10.1016/j.bbadv.2024.100136](https://doi.org/10.1016/j.bbadv.2024.100136).
38. Functional effects of human milk oligosaccharides (HMOs) / M. Dinleyici et al. *Gut Microbes*. 2023. Vol. 15(1). DOI: [10.1080/19490976.2023.2186115](https://doi.org/10.1080/19490976.2023.2186115).
39. Human Milk Oligosaccharides Modulating Inflammation in Infants, Adults, and Older Individuals-From Concepts to Applications / R. Häsler et al. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*. 2025. Vol. 16(6). P. 100433. DOI: [10.1016/j.advnut.2025.100433](https://doi.org/10.1016/j.advnut.2025.100433).

ДОДАТОК 1. Публікація за темою роботи

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

YOUTH PHARMACY SCIENCE

МАТЕРІАЛИ
VI ВСЕУКРАЇНСЬКОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ
КОНФЕРЕНЦІЇ З МІЖНАРОДНОЮ УЧАСТЮ

10-11 грудня 2025 року
м. Харків

Харків
НФаУ
2025

УДК 615.1

Редакційна колегія: проф. Кухтенко О. С., проф. Рубан О.А.

Укладачі: Комісаренко М.А., Боднар Л. А., Сурікова І. О., Маслов О.Ю.

Youth Pharmacy Science: матеріали VI Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (10-11 грудня 2025 р., м. Харків). – Харків: НФаУ, 2025. – 648 с.

Збірка містить матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції «Youth Pharmacy Science», які представлені за пріоритетними напрямками науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету. Розглянуто теоретичні та практичні аспекти синтезу біологічно активних сполук і створення на їх основі лікарських субстанцій; стандартизації ліків, фармацевтичного та хіміко-технологічного аналізу; вивчення рослинної сировини та створення фітопрепаратів; сучасної технології ліків та екстемпоральної рецептури; біотехнології у фармації; досягнень сучасної фармацевтичної мікробіології та імунології; доклінічних досліджень нових лікарських засобів; фармацевтичної опіки рецептурних та безрецептурних лікарських препаратів; доказової медицини; сучасної фармакотерапії, соціально-економічних досліджень у фармації, маркетингового менеджменту та фармакоeкономіки на етапах створення, реалізації та використання лікарських засобів; управління якістю у галузі створення, виробництва й обігу лікарських засобів; інформаційних та освітніх технологій у фармації та медицині; суспільствознавства; філології.

УДК 615.1

© НФаУ, 2025

**ОТРИМАННЯ ОЛІГОСАХАРИДІВ ГРУДНОГО МОЛОКА
БІОТЕХНОЛОГІЧНИМ СПОСОБОМ ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ
У ЗАМІННИКАХ ГРУДНОГО МОЛОКА**

Євтушенко А.А.

Науковий керівник: Хохленкова Н.В.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

yewtushenko@gmail.com

Вступ. Грудне молоко відзначається складною структурою та високою біологічною активністю, а одним із його найцінніших компонентів вважають олігосахариди (Human Milk Oligosaccharides, НМО). За кількістю вони поступаються лише лактозі та ліпідам, проте саме ці молекули відіграють критичну роль у становленні здоров'я новонародженого. НМО підтримують формування мікробіоти, впливають на розвиток імунної системи й чинять захисну дію щодо низки патогенних мікроорганізмів. Оскільки грудне вигодовування не завжди можливе, виникає потреба у створенні дитячих сумішей, що відтворюють не тільки харчовий, а й біологічний потенціал природного молока. Найскладнішим завданням у цьому напрямі є саме відтворення НМО – молекул зі значною структурною варіативністю та складною біологічною функціональністю. Біотехнологічні методи синтезу відкрили можливість промислового виробництва олігосахаридів, які за структурою відповідають природним сполукам і можуть бути додані до замінників грудного молока

Мета дослідження. Метою роботи є узагальнення сучасних біотехнологічних підходів до отримання олігосахаридів грудного молока та аналіз можливостей їх використання у виробництві замінників грудного молока.

Матеріали та методи. Для досягнення мети проведено огляд доступних наукових джерел і технологічних рішень, присвячених синтезу НМО та їх застосуванню у дитячому харчуванні. Використано методи структурного та порівняльного аналізу, систематизації технологічних рішень і опису промислових практик.

Результати дослідження. НМО виконують низку функцій, важливих для адаптації новонародженого. Вони є основним субстратом для *Bifidobacterium longum subsp. infantis*, що формує характерну для немовлят на грудному вигодовуванні мікробну екосистему. Фукозилзовані структури запобігають прикріпленню патогенів до епітелію, тоді як сіалізовані олігосахариди беруть участь у розвитку нервової системи, забезпечуючи доступність сіалової кислоти. У сукупності ці властивості пояснюють інтерес до відтворення НМО у промислових умовах.

У ході дослідження розглянуто кілька основних підходів до їх синтезу. Наприклад, ензиматичний синтез, який базується на використанні ферментів глікозилування, що дозволяє отримувати молекули з високою структурною точністю. Однак, найбільшим обмеженням таких систем залишається висока вартість донорів нуклеотидних цукрів та складність масштабування процесу. Разом з тим, удосконалені ферментні каскади дають змогу зменшити витрати та підвищити продуктивність, роблячи цей метод більш привабливим для промисловості.

Найпоширенішим підходом на сьогодні є той, що базується на використанні рекомбінантних культур *E. coli*, *Lactococcus lactis* та *Saccharomyces cerevisiae*. Завдяки генетичним модифікаціям, ці мікроорганізми набувають здатності синтезувати необхідні донорні молекули та глікозилтрансферази безпосередньо всередині клітини, що забезпечує високий вихід продукту та доступність субстратів. Більше того, сучасні підходи дозволяють точково змінювати метаболічні шляхи, оптимізуючи утворення складних НМО і таким чином наближаючи їх до природних

аналогів У результаті, створення таких «клітинних фабрик» дає можливість виробляти комбінації олігосахаридів, які максимально схожі на профіль грудного молока.

Щодо практичного застосування, до складу сучасних дитячих сумішей найчастіше вводять такі НМО, як 2'-фукозиллактозу, 3'-фукозиллактозу, лакто-N-неотетраозу, лакто-N-тетраозу, а також сіалізовані форми – 3'-SL і 6'-SL. Їх концентрація у більшості формул відповідає нижній межі природного діапазону. Результати клінічних спостережень підтверджують, що суміші з додаванням НМО краще підтримують становлення мікробіоти та імунних реакцій, а також можуть знижувати частоту певних інфекцій у порівнянні зі звичайними формулами. Саме тому НМО розглядаються як ключовий елемент у вдосконаленні дитячого харчування.

На сьогодні, синтетичні НМО вже застосовують провідні компанії виробництва дитячих сумішей. Продукти проходять обов'язкову перевірку безпечності та відповідають вимогам, що висуваються до інгредієнтів дитячого харчування. Водночас, зростає інтерес до створення формул з одночасним включенням кількох олігосахаридів, які б відтворювали багатокomпонентний профіль природного молока.

Висновки. Олігосахариди грудного молока є важливими біомолекулами, що суттєво впливають на здоров'я та розвиток немовлят. Біотехнологічні методи синтезу, насамперед мікробні та ферментативні, є ефективними для отримання структурно ідентичних НМО. Використання НМО у складі дитячих сумішей підвищує їхню біологічну цінність і наближає до природного молока. Розвиток метаболічної інженерії відкриває перспективи створення більш складних комбінацій НМО, що дозволить формувати індивідуалізовані харчові продукти для немовлят. Подальші дослідження мають бути зосереджені на оптимізації виробництва та розширенні спектра олігосахаридів, доступних для промислового використання.

АНАЛІЗ СУЧАСНИХ БІОТЕХНОЛОГІЙ У СТВОРЕННІ КУЛЬТИВОВАНОГО М'ЯСА

Жидкова І.О.

Науковий керівник: Хохленкова Н.В.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

hohnatal@gmail.com

Вступ. Традиційне тваринництво характеризується високим рівнем викидів парникових газів, надмірним споживанням водних та земельних ресурсів, що створює значні екологічні виклики у контексті глобальних кліматичних змін. Культивоване м'ясо, яке отримують шляхом культивування клітин *in vitro*, розглядається як перспективна альтернатива традиційному виробництву, здатна забезпечити продовольчу безпеку з мінімальним екологічним впливом.

Мета дослідження. Метою роботи є аналіз даних наукової літератури щодо сучасних біотехнологічних методів виробництва культивованого м'яса та визначити головні технологічні виклики для його масового виробництва.

Матеріали та методи. Для виконання поставлених завдань використовували теоретичні методи скринінгу та аналізу літературних даних.

Результати дослідження. Критичним етапом процесу отримання культивованого м'яса є вибір джерела клітин. Встановлено, що найвищий біотехнологічний потенціал мають

ЗМІСТ

Іванова А.Д.; Н. к.: Боднар Л.А.	150
Клочко Д.М.; Н. к.: Боднар Л.А.	151
Коваль Ю.С., Ковальова Т.М., Буряк М.В.; Н. к.: Олійник С.В.	152
Кучер А.О., Гончаров О.В., Ковальов В.В.; Н. к.: Олійник С.В.	154
Лозовська Ю.О.; Н. к.: Іванюк О.І.	155
Мажуго Є.А.; Н. к.: Семченко К.В.	156
Макарова В.Д.; Н. к.: Боднар Л.А.	158
Мінухіна У.А.; Н. к.: Боднар Л.А.	159
Налізько А.І.; Н. к.: Ковальова Т.М.	160
Орловська О.М.; Н. к.: Боднар Л.А.	162
Пелих А.А.; Н. к-и: Боднар Л.А., Бевз Н.Ю.	163
Петрушенко Є.С.; Н. к.: Боднар Л.А.	166
Полторуха П.А., Грабіна М.Я.; Н. к.: Боднар Л.А.	166
Пономарьова К.Д., Зуйкіна С.С., Іванюк О.І.; Н. к.: Олійник С.В.	168
Пушко А.С.; Н. к.: Вишневська Л.І.	169
Рижук А.М.; Н. к.: Боднар Л.А.	170
Сергієнко Т.В.; Н. к.: Боднар Л.А.	172
Ткаченко В.М., Вишневська Л.І., Боднар Л.А.; Н. к.: Олійник С.В.	174
Фисун Д.М.; Н. к.: Боднар Л.А.	175
Харченко А.М.; Н. к.: Вишневська Л.І.	177
Харчик Н.І.; Н. к.: Боднар Л.А.	178
Шведюк Е.С.; Н. к.: Вишневська Л.І.	179
Шульженко Ю.Є.; Н. к.: Іванюк О.І.	179
Шуриніна К.О.; Н. к.: Боднар Л.А.	180
Яворська В.С.; Н. к.: Боднар Л.А.	182

СЕКЦІЯ 6. СУЧАСНА БІОТЕХНОЛОГІЯ
MODERN BIOTECHNOLOGY

Бабак К.С.; Н. к.: Шаповалова О.В.	186
Гавриленко П.С.; Н. к.: Калюжная О.С.	187
Гаврилічева В.С.; Н. к.: Калюжная О.С.	189
Гороз Р.О.; Н. к.: Двінських Н.В.	190
Дершаско Н.О.; Н. к.: Філіпцова О.В.	192
Дорошенко С.А.; Н. к.: Кравченко В.М.	193
Дроздова А.С.; Н. к.: Філіпцова О.В.	195
Євтушенко А.А.; Н. к.: Хохленкова Н.В.	196
Жидкова І.О.; Н. к.: Хохленкова Н.В.	197
Каплюк В.В.; Н. к.: Хохленкова Н.В.	198
Логвінов М.В.; Н. к.: Хохленкова Н.В.	200