МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій

Кафедра промислової фармації

***РЕФЕРАТ***

до дипломної магістерської роботи (проєкту)

на тему

на тему: «Створення моделі комбінованого лікарського засобу з імуномодулюючою дією для лікування захворювань, що супроводжуються порушенням клітинного імунітету»

 Виконала: студентка II курсу групи МгХФ-19

 Спеціальності 226 Фармація,промислова фармація

 Грицаєнко В. В.

Керівник \_ к.б.н., доц. Любченко Г.А.\_

 (ініціали , прізвище)

Рецензент\_\_ д.б.н., проф. Колибо Д.В.\_

 (ініціали , прізвище)

 Київ 2020

**Актуальність теми:** Інфекційні хвороби та спричинені ними порушення імунітету, становлять загрозу розвитку людства, оскільки є причиною третини загальної щорічної кількості смертей у світі. За даними Всесвітньої організації охорони здоров`я (WHO), смертність внаслідок інфекційних хвороб в деяких країнах світу займає друге місце в структурі загальної смертності. В широкому сенсі інфекційні захворювання — це усі розлади, які спричинюють збудники, зокрема, вогнищеві ураження органів (абсцеси, гнояки, гнійний апендицит, фурункули, бактеріальна пневмонія, тощо). Їх вивчають, діагностують і лікують у складі тих медичних спеціальностей, які опікуються тими чи іншими органами чи системами. Тому актуальним є розробка нових фармацевтичних засобів з імунокорегуючою дією та створення технологій боротьби з захворюваннями, що супроводжуються порушеннями клітинного імунітету в умовах імунодифіциту та імуносупресії організму.

Впровадження в клініку досягнень вітчизняної фармацевтики та біотехнології при створенні лікарських засобів, що володіють імуномоделюючою та імуностимулюючою дією відкриває широкі перспективи в боротьбі з інфекційними, онкологічними, алергічними та аутоімунними захворюваннями, імунодефіцитними станами та ін.. З'ясування причин ослаблення імунологічного захисту організму, імунологічна характеристика станів, що супроводжуються порушенням імунної відповіді, та розробка методів їх імунологічної корекції є важливим завданням діагностики і лікування придбаних імунодефіцитних станів. Найбільш інноваційним методом посилення фармакологічної та імунобіологічної активності є поєднання кількох активних компонентів, що регулюють функціональну активність клітинного та гуморального імунітету.

Таким чином, актуальною є розробка нових фармацевтичних засобів з імунокорегуючою дією та створення технологій боротьби з захворюваннями, що супроводжуються порушеннями клітинного імунітету в умовах імунодефіциту та імуносупресії організму. Вивчення та впровадження для застосування препаратів на основі імунорегуляторних пептидів, в тому числі комбінованих з іншими природними біополімерами, є практично-значимою проблемою, яка зумовлена необхідністю корекції імунодефіцитних станів, що супроводжують більшість захворювань.

**Мета дослідження:** дослідити імунобіологічні впливи та комбіновану дію тималіну і нанорозмірного, низькомолекулярного біополімеру клітинної стінки стафілокока з метою створення моделі комбінованого імунобіологічного препарату. Оцінити вплив запропонованого препарату на синтез ендогенного інтерферону, фактору некрозу пухлин, визначити фагоцитарну активність макрофагів мишей, продукцію цитокінів та вплив на клітинні фактори імунітету.

**Об’єкт дослідження:**

Білок-адгезин клітинної стінки стафілокока, препарат Тималін, який що має імунорегуляторну дію, фармакологічні впливи Тималіну комбінованого з біополімером клітинної стінки стафілокока, вплив запропонованого комбінованого препарату на продукцію цитокінів *in vitro*, дослідження показників фагоцитозу та цитотоксичності нейтрофілів крові, оцінка фагоцитарної активності макрофагів мишей, вплив комбінованого препарату на фактори клітинного імунітету, функціональна активність клітин імунної системи, макрофагів та нейтрофілів.

**Предмет дослідження:**

Імунокорегуючі та фармакологічні впливи Тималіну, закономірності технології розробки імуномодулюючих препаратів для комплексного лікування захворювань, що супроводжуються порушенням клітинного імунітету на фоні імуносупресії, вивчення імунобіологічної активності розробленого комбінованого препарату, розробка складу та технологія виробництва комбінованого лікарського засобу, вибір показників та критеріїв їх стандартизації, розробка та валідація методик контролю якості.

**Методи дослідження:** біохімічні,мікробіологічні (вирощування культур мікроорганізмів), імунологічні (імуномодyлюючa дiя, визначення фагоцитарної активності нейтрофілів та макрофагів), спектрофотометричний та хроматографічний методи дослідження, технологічні аспекти виробництва фармацевтичного препарату Тималін, статистичні.

**Загальна характеристика захворювань, що супроводжуються зниженням рівня клітинного імунітету**

Необхідною умовою виживання людини є здатність підтримувати сталість внутрішнього середовища організму - гомеостаз. Метаболічні процеси всередині організму регулюються нервовою та ендокринною системами, що в кінцевому підсумку забезпечує нормальне функціонування різних тканин і органів. Однак людина живе в середовищі, населеної різними мікробами, взаємодія з деякими з них може призводити до грубих порушень гомеостазу, цілісності тканин організму і навіть до загибелі людини. Стійкість людини до даних мікробів і підтримку антигенного гомеостазу в цілому забезпечується спеціальною системою органів - імунною системою.

Імунна система складається з таких органів, як кістковий мозок, тимус, селезінка, лімфатичні вузли, скупчення лімфоїдної тканини. Розрізняють первинні – центральні (кістковий мозок і тимус) і вторинні – периферичні (селезінка, лімфатичні вузли, скупчення лімфоїдної тканини) органи імунної системи. Всі вони взаємозв’язані системою кровообігу, лімфотоку і єдиною системою імунорегуляції .

Здатність імунної системи організму протистояти різним інфекційним чинникам (бактерії, віруси, грибки) є невід'ємною частиною процесу виживання людини. Загальну систему імунітету можна розділити на два великих відділи (частини, підсистеми), спільне функціонування яких створює дуже потужний, що має декілька ланок, захист: природжений неспецифічний (природний) імунітет (неспецифічні фактори природної резистентності) і набутий специфічний (адаптивний) імунітет .

Умовно-патогенні бактерії та гриби індукують інфекційний процес в організмі з нормальними захисними механізмами лише тоді, коли співвідношення інфікуючої дози на одиницю захисного чинника, наприклад, на один фагоцит, перевищуватиме якийсь критичний рівень, тобто при ***відносному імунодефіциті*** . У такій ситуації фагоцит не в змозі поглинути і переварити дане число мікробів. Зазвичай інфекції, що викликаються умовно-патогенними мікробами, виникають у людей з дефіцитами у системі імунітету, коли для цього достатньо невеликої дози мікроорганізмів, що не інфікує людей з нормальною системою імунітету, тобто за наявності ***абсолютного імунодефіциту.***

У зв'язку з цим з'ясування причин ослаблення імунологічного захисту організму, імунологічна характеристика станів, що супроводжуються порушенням імунної відповіді, та розробка методів їх імунологічної корекції є важливим завданням діагностики і лікування придбаних імунодефіцитних станів.

**Імуностимулятори та імуномодулятори**

Імунотропні препарати це препарати, які мають імунотропну активність на у терапевтичних дозах підсилюють або пригнічують імунні реакції. Препарати розділяють на 3 групи: імуностимулятори, імунодепресанти та імуномодулятори (імунокоректори).

Імуностимулятори підвищують загальну опірність організму або його неспецифічний імунітет, а також впливають на специфічні імунні реакції. Підвищення загальної опірності організму може відбуватися, напр., під впливом деяких стимулювальних препаратів (кофеїну, елеутерококу та ін.), вітамінів (ретинолу, аскорбінової кислоти, вітамінів групи В) та ін. Здатність бендазолу стимулювати імунні процеси вперше була доведена Н.В. Лазаревим. Здатність стимулювати імунні реакції організму (в т.ч. лейкопоез) мають похідні нуклеїнових кислот, а також деякі біогенні препарати (спленін, церулоплазмін, енкад та ін.). Ендогенні сполуки, що утворюються самим організмом (лімфокіни), мобілізують імунні сили організму на боротьбу з патологічними процесами. Важливими ендогенними імуностимуляторами є інтерферони та інтерфероногени, які стимулюють утворення ендогенного інтерферону.

Важливу роль у функціонуванні клітинного і гуморального імунітету відіграє підгрудинна залоза (тимус), в якій відбувається диференціація стовбурових клітин у лімфоцити, а також секреція специфічних речовин (гормонів), які впливають на розвиток та дозрівання певних клітин лімфоїдної тканини.

Імунодепресанти (імуносупресори) — препарати, які гальмують імуногенез, пригнічують продукцію антитіл шляхом стримання проліферативних процесів у лімфоїдних (імунокомпетентних) тканинах та пригнічення біосинтезу нуклеїнових кислот.

Класифікація імунодепресантів: антиметаболіти — антагоністи пурину (меркаптопурин, азатіоприн) та антагоністи фолієвої кислоти (метотрексат); алкілувальні сполуки (цитофосфан, хлорбутин); протипухлинні антибіотики (актиноміцин D, циклоспорин); алкалоїди (вінкристин, вінбластин); глюкокортикостероїди (преднізолон, тріамцинолон, дексаметазон); антилімфоцитарна сироватка (глобулін); різні ЛП, що виявляють імуносупресивний ефект (пеніциламін, фенілбутазон, індометацин, препарати золота, гепарин, кислота амінокапронова, ферментні препарати — рибонуклеаза, дезоксирибонуклеаза, L-аспарагіназа).

***Короткий опис технологічного процесу виробництва препарату Тималін***

Тималін – це комплекс поліпептидних фракцій, виділених з вилочкової залози великої рогатої худоби. Регулює кількість Т-і В-лімфоцитів, стимулює реакцію клітинного імунітету; підсилює фагоцитоз. Застосовують у дорослих і дітей як імуностимулятора і біостимулятора в комплексній терапії захворювань, що супроводжуються зниженням клітинного імунітету, в тому числі при гострих і хронічних гнійних процесах і запальних захворюваннях, при опіковій хворобі, трофічних виразках і ін., А також при пригніченні імунітету і кровотворної функції після променевої або хіміотерапії у онкологічних хворих і при інших патологічних процесах.

Все тимусові препарати надають м'який імуномодулюючий ефект, пов'язаний переважно зі збільшенням числа і функціональної активності Т-лімфоцитів. Але у них є один недолік: вони являють собою нерозділене суміш біологічно активних пептидів і їх досить важко стандартизувати. Прогрес в області імуномодуляторів тимусового походження йшов по лінії створення препаратів 2-го і 3-го покоління, що представляють собою синтетичні аналоги природних гормонів тимуса або фрагментів цих гормонів, що володіють біологічною активністю.

**Наукова новизна роботи :**

1. Вперше проведене дослідження вивченняфармакологічної та імунобіологічної активності комбінованого препарату.
2. Вперше запропоновано поєднання в одному лікарському засобі кількох препаратів для забезпечення імунокорекції та імуномодуляції, і створення нового лікарського засобу для лікування захворювань що супроводжуються порушеннями клітинної ланки імунітету.
3. Науково та експериментально обгрунтовано склад, технологію та методики стандартизації комбінованого протизапального засобу, основними діючими речовинами якого є Тималін та білок-адгезин клітинної стінки стафілокока.

**Практична значущість роботи:** Розробка та застосування комбінованого імунобіологічного препарату на основі Тималіну та біополімеру забезпечує імунокорекцію і відновлення функціональної активності клітин імунної системи.

Результати експериментальних та теоретичних досліджень показали, що комбінація екстракту тимусу телят та нанорозмірного білка клітинної стінки стафілокока індукує продукцію інтерферонів, має імунокоригуючі впливи та забезпечує протекторну дію.

**Рекомендації щодо використання одержаних результатів:** Результатом виконаної магістерської роботи є розробка потенційно високоефективного імунокорегуючого препарату на основі екстракту тимуса телят та нанорозмірного біополімеру клітинної стінки стафілококу EAP для імунотерапії порушень клітинного імунітету.

Проведеними дослідженнями запропоновано ескізний GMP проект виробництва модельного препарату у формі ліофілізату розчину для інєкцій.

Структуру роботи становлять вступ, три розділи, висновки та список використаних джерел літератури (70 найменувань), додатки.

**Публікації.** Основні результати дипломної магістерської роботи:

-апробовані на V міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» : Грицаєнко В.В., Любченко Г.А. «Визначення імуномодулюючої активності комбінованого впливу тималіну та біополімера клітинної стінки Staphylococcus aureus», 26 листопада 2020 року, м.Харків

Ключові слова: поліпептиди, імуномодулятори, лейкоцити, цитокіни, *Staphylococcus aureus*, біополімер ЕАР, клітинний імунітет.