

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**СУЧАСНІ ДОСЯГНЕННЯ
ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ТЕХНОЛОГІЇ
І БІОТЕХНОЛОГІЇ**

**ЗБІРНИК НАУКОВИХ ПРАЦЬ
Випуск 3**

**ХАРКІВ
2017**

Редакційна колегія:

проф. Котвіцька А.А., академік НАН України, проф. Черних В.П.,
доц. Крутьських Т.В., проф. Гладух Є.В., проф. Стрельников Л.С.,
проф. Половко Н.П., проф. Вишневська Л.І., проф. Стрілець О.П.,
к. фарм. н., ас. Марченко М.В.

С 89 Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології : збірник наукових праць, випуск 3. – Х.: Вид-во НФаУ, 2017. – 363 с.
ISSN 2519-2655

Збірник містить матеріали VI науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології» (13 жовтня 2017 р.).

Розглянуто теоретичні та практичні аспекти розробки, виробництва, контролю якості, стандартизації та реалізації лікарських засобів на сучасному етапі.

Для широкого кола магістрантів, аспірантів, докторантів, співробітників фармацевтичних та біотехнологічних підприємств, фармацевтичних фірм, викладачів вищих навчальних закладів.

Редколегія не завжди поділяє погляди авторів статей.

Автори опублікованих матеріалів несуть повну відповідальність за підбір, точність наведених фактів, цитат, економіко-статистичних даних, власних імен та інших відомостей.

Матеріали подаються мовою оригіналу.

ВПЛИВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ БІЛКОВИХ МОЛЕКУЛ МОЛОЗИВА НА ІМУННУ СИСТЕМУ	41
Бородіна О.О., Заярнюк А.В., Лич І.В.	
АТРОПА BELLADONNA – ПЕРСПЕКТИВНЕ ДЖЕРЕЛО БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН.....	45
Бурий М.П., Конечна Р.Т., Гамада В.Р., Новіков В.П.	
ПЕРЕВІРКА ПРИДАТНОСТІ МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОГО ЧИСЛА ЖИТТЄЗДАТНИХ АЕРОБНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ ТА ДРІЖДЖОВИХ І ПЛІСЕНЕВИХ ГРИБІВ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ЧИСТОТИ ТАБЛЕТОК СУХОГО ПОРОШКУ БІОМАСИ FLAMMULINA VELUTIPES	48
Буткевич Т.А., Попович В.П.	
РОЗРОБКА ПРОВЕДЕННЯ КОМПЛЕКСУ ДОСЛІДЖЕНЬ З ВИВЧЕННЯ РОЗЧИННОСТІ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН ДЛЯ ВСТАНОВЛЕННЯ КЛАСУ ЗГІДНО БІОФАРМАЦЕВТИЧНОЇ СИСТЕМИ КЛАСИФІКАЦІЇ	51
Вісич С.Ю., Фетісова О.Г., Андрюкова Л.М., Доровський О.В.	
ЗАСТОСУВАННЯ ЛАБОРАТОРНОГО ФЕРМЕНТЕРА ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ МІКРООРГАНІЗМІВ	54
Войцеховський С.О., Мельник В.М.	
ВИЗНАЧЕННЯ РАДІУСУ ГРАНУЛИ В ПРОЦЕСІ РОЗЧИНЕННЯ В УМОВАХ ДІЇ УЛЬТРАЗВУКУ	57
Воробйова О.В., Асафтей О.А.	
ВИЗНАЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНОГО МОЛЯРНОГО СПІВВІДНОШЕННЯ МЕЛЯСИ ТА СОНЯШНИКОВОЇ ОЛІЇ ДЛЯ СИНТЕЗУ ПОЛІСАХАРИДУ ЕТАПОЛАНУ.....	60
Вороненко А.А., Івахнюк М.О., Пирог Т.П.	
СТВОРЕННЯ МОДЕЛЬНИХ СИСТЕМ МОДИФІКОВАНОГО КЕРАТИНОВОГО БІОСОРБЕНТУ ДЛЯ ОЧИЩЕННЯ ПРОМИСЛОВИХ СТІЧНИХ ВОД	65
Гавриляк В.В., Швед О.В., Новіков В.П.	
ВИКОРИСТАННЯ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН NOCARDIA VACCINII ІМВ В-7405 ТА RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS ІМВ АС-5017, СИНТЕЗОВАНИХ НА ПЕРЕСМАЖЕНІЙ ОЛІЇ, У ПРИРОДООХОРОННИХ ТЕХНОЛОГІЯХ.....	67
Гершман А.Ю., Костейков Н.Ю., Пирог Т.П.	

УДК 577.112

ВПЛИВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ БІЛКОВИХ МОЛЕКУЛ МОЛОЗИВА НА ІМУННУ СИСТЕМУ

Бородіна О.О., Заярнюк А.В., Лич І.В.

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Вступ. Щорічно в Україні від інфекційних захворювань гине майже 20 тис. осіб, тому одним із головних питань фармацевтичної галузі є боротьба з інфекціями, що викликані стійкими до антибіотиків штамми мікроорганізмів та не піддаються стандартному лікуванню [1].

Первинне молоко, що з'являється у ссавців відразу після пологів, називається молозивом, кілька крапель якого можуть вплинути на нормальне формування імунної системи малюка. Коров'яче молозиво є досить поживним та енергетично цінним продуктом із високим вмістом біологічно активних та захисних чинників, що, в свою чергу, забезпечує надійне пристосування новонародженої дитини до умов оточуючого середовища та захист від цілої низки інфекцій [2]. Крім того, молозиво корів вважається не лише енергетично ефективним продуктом імунного харчування, а й хорошою профілактикою від вірусних захворювань. Воно допомагає нейтралізувати дію шкідливих факторів, тобто є загальнозміцнювальним та імуностимулювальним засобом, який чинить протипухлинну, протизапальну та антимікробну дію, завдяки наявності в своєму складі абзимів (каталітичних антитіл).

На сьогоднішній день абзимологія вважається новим та надзвичайно перспективним напрямком імунології та фармації в основі якого лежить дослідження та вивчення імуноглобулінів, які володіють каталітичною (абзимною) властивістю. Каталітичні імуноглобуліни несуть біологічну функцію антитіл і присутні у великій кількості в молозиві, яке секретується у ссавців для забезпечення пасивного імунітету проти вторгнення патогенів, також вони володіють антибактеріальною, противірусною та протипухлинною активностями і можуть впливати на проліферацію, диференціацію та апоптоз різних клітинних ліній. Адаже з'ясовано, що білки-абзими молозива IgG та sIgA за допомогою Fab фрагментів здатні не лише зв'язуватися з патогенними мікроорганізмами та вірусами, а гідролізувати їх ДНК та РНК [3]. Саме такі специфічні властивості каталітичних імуноглобулінів слід враховувати при створенні біокаталізаторів та профілактичних медичних препаратів нового покоління проти бактеріальних та вірусних захворювань, а також препаратів для боротьби із раковими захворюваннями.

Метою нашого дослідження було вивчення та аналіз впливу суміші біологічно активних білкових молекул молозива корів на неспецифічні фактори імунної системи людини в умовах *in vitro*, а також виявлення антимікробних властивостей біологічно активних білкових фрагментів молозива.

Методи дослідження. Матеріалом дослідження є біологічно активні білкові фрагменти молозива корів. Проби з молозивом відбиралися з першого дня отелення корови і впродовж наступних 3 днів та очищали від домішок (мікроорганізми, вуглеводи та жири) з метою виділення білкових молекул відповідно до схеми (див. рисунок 1).

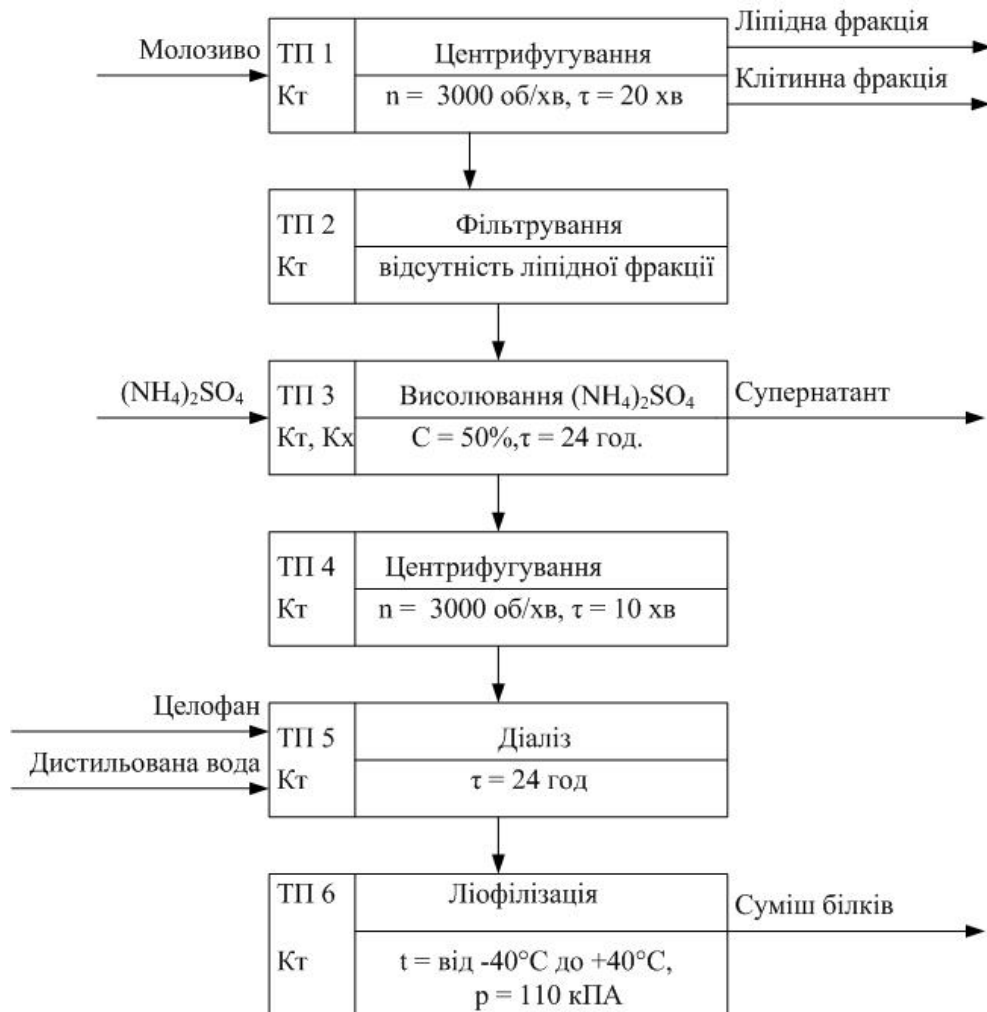


Рис. 1. Схема виділення та очищення біологічно активних білкових молекул з молозива корів

На першому етапі досліджень ми вивчали вплив білків-абзимів молозива корів на функціональну активність клітин імунної захисту. Дослідження проводили в тестах в системі *in vitro*. Відсоток фагоцитувальних клітин визначали методом поглинання часток латексу ($d=1,0 - 1,3$ мкм). Інтенсивність киснезалежного метаболізму нейтрофілів і моноцитів вивчали в НСТ-тесті (за відсотком НСТ-позитивних клітин і за цитохімічним коефіцієнтом). Для визначення розеткоутворювальних клітин використовували метод розеткоутворення з частинками, які покриті моноклональними антитілами.

Наступний етап досліджень спрямований на виявлення впливу суміші білків-абзимів на рівень експресії рецепторів на лімфоцити (Лф) периферичної крові: на Т-Лф ($CD3+$), В-Лф ($CD22+$) та на їх окремих субпопуляціях ($CD4+$ та $CD8+$). Для цього використовували метод розеткоутворення Лф з частинками, які вкриті моноклональними антитілами (МКАТ) проти $CD3+$ (Т-Лф), $CD4+$ (Т-хелпери) та $CD8+$ (Т-цитотоксичні/ефекторні Лф). Для визначення щільності

рецепторів на В-Лф використовували еритроцити, що вкриті МКАТ проти CD22+ після обробки Лф різними концентраціями суміші білків-абзимів.

На третьому етапі ми досліджували протимікробні властивості біологічно активних білкових фрагментів молозива корів на клітини мікроорганізмів за показником мінімальної інгібувальної концентрації (МІК). Для визначення МІК використовували метод серійних поступових двократних розведень у рідкому середовищі МПБ, який для росту бактеріальних культур є оптимальним. В якості тест-культур використовувались бактерії *Escherichia coli* IEM-1 та *Bacillus subtilis* БТ-2.

Основні результати. На першому етапі ми вивчали вплив біологічно активних білкових молекул виділених з молозива корів на функціональну активність клітин імунної захисту. У процесі наших досліджень ми виявили, що відсоток нейтрофілів, які захопили частки латексу при додатковому обробленні сумішшю білків був на 15% вище порівняно з контролем, а моноцити виявилися нечутливими до оброблення сумішшю білків і відповідно відсоток фагоцитозу залишався на рівні контролю. Досліджуючи інтенсивність киснезалежного метаболізму нейтрофілів, необхідно зазначити, що суміш білків-абзимів в концентрації 1,0 мг/мл мала стимулювальний вплив (на 30%) на кількість НСТ-позитивних клітин. Це свідчить про те, що така концентрація суміші каталітичних антитіл позитивно впливає на активність киснезалежного метаболізму нейтрофільних гранулоцитів (НГ). Відсоток НСТ-позитивних моноцитів, як і ЦХК збільшувався на 10% і 30% відповідно при обробленні клітин сумішшю білків-абзимів в концентрації 0,1 мг/мл. Таким чином, отримані результати можуть свідчити, про те, що абзими, завдяки своїм специфічним фізико-хімічним властивостям, можуть відігравати роль активатора певних окисно-відновних реакцій в фагоцитувальних клітинах.

Наступний етап досліджень спрямований на виявлення впливу суміші білків-абзимів на рівень експресії рецепторів на лімфоцити (Лф) периферичної крові: на Т-Лф (CD3+), В-Лф (CD22+) та на їх окремих субпопуляціях (CD4+ та CD8+). Під час дослідження нами з'ясовано, що при додаванні суміші білків-абзимів в концентрації 0,1 мг/мл кількість рецепторів до CD3+ клітин зменшилася на 9% відносно контролю, а кількість рецепторів до CD22+ навпаки збільшилася на 5%. Під впливом суміші білків-абзимів за концентрації 1,0 мг/мл кількість рецепторів до CD3+ клітин збільшилася на 20%, а до CD22+ спостерігалось зниження рівня клітин на 13%.

Під час вивчення впливу суміші каталітичних імуноглобулінів на процес розеткоутворення субпопуляції Т-лімфоцитів встановлено, що при обробленні клітин сумішшю білків в концентрації 1,0 і 0,1 мг/мл відзначалося збільшення субпопуляції CD4+ на 25% і 15% відповідно. При визначенні CD8+ (Т-цитотоксичних/ ефекторних лімфоцитів) відмічено пригнічувальний вплив білків-абзимів в концентраціях 0,1 мг/мл на 43%, а при обробленні в концентрації 1,0 мг/мл спостерігається збільшення експресії рецепторів до CD8+ на 15%. Вивчаючи зміни експресії рецепторів до еритроцитів барана (ЕБ), що вкриті моноклональними антитілами до CD4+ та CD8+ після інкубації лімфоцитів з

сумішами білків-абзимів різної концентрації, слід зазначити, що при обробленні Лф сумішшю білками-абзимами в концентраціях 1,0 мг/мл та 0,1 мг/мл спостерігалось збільшення CD4+ на 27% та 24% відповідно (контроль – 22%), до CD8+ виявлено збільшення на 28% (контроль – 25%) при обробленні сумішшю білків концентрацією 1,0 мг/мл. Отже, білки-абзими мали значний вплив на розеткоутворювальну здатність, як на Т-Лф (CD3+), В-Лф (CD22+) так і на їх окремі субпопуляції (CD4+ та CD8+), а ефективність експресії рецепторів залежала від концентрації оброблюваних білків-абзимів.

Третім етапом досліджень було виявлення антимікробних властивостей біологічно активних білкових фрагментів молозива корів. При дослідженні встановлено, що МІК білкових препаратів на основі молозива щодо *E. coli* IEM-1 становила 39 мкг/мл, а МІК щодо *B. subtilis* БТ-2 – 160 мкг/мл. Отримані дані підтверджують чутливість наведених штамів мікроорганізмів до дії білкового препарату. Крім цього вони є більш чутливими до грамнегативних мікроорганізмів (*E. coli* IEM-1), ніж до грампозитивних (*B. subtilis* БТ-2).

Висновки. Отже, у результаті наших досліджень було виявлено, що суміш білків-абзимів володіє дозозалежним імуностимулювальним ефектом на неспецифічні клітини імунної системи в умовах *in vitro*. Ці результати є перспективним матеріалом для подальшого вивчення взаємодії каталітичних антитіл з макроорганізмом в умовах *in vivo*. Отримані результати щодо антибактеріальних властивостей біологічно активних білків молозива корів дають змогу відзначити, що доведено безпосередній інгібувальний вплив білків-абзимів на клітини грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів.

Таким чином, наукове дослідження доводить перспективність подальшого створення протимікробних білкових препаратів природного походження на основі молозива, до яких не має резистентності та наступне вивчення ефектів абзимів на рівні макроорганізму.

Список літератури

1. Крамарев С.О. Проблемні питання інфекційних хвороб в Україні // Здоров'я України. – 2007. – №2/1– С. 7-8.
2. Korhonen H. J. Production and properties of health-promoting proteins and peptides from bovine colostrums and milk. //Cell. Mol. Biol. –2013 – №59 (1). – Р. 12 – 24.
3. Бунева В.Н., Красноруцкий М.А., Невинский Г.А. Природные антитела к нуклеиновым кислотам // ШАГИ профессионал. –2013. – С. 50-66.