МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ УКРАИНЫ

*УКРАИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ХИМИКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ*

Кафедра ХТОВ

КУРСОВАЯ РАБОТА

На тему:

«ПРОТИВОВИРУСНЫЕ ПРЕПАРАТЫ»

Днепропетровск 2005

**СОДЕРЖАНИЕ**

[ВВЕДЕНИЕ 3](#_Toc116207430)

[1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ 5](#_Toc116207431)

[2. ИСТОРИЯ СОЗДАНИЯ ПРОТИВОВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ 9](#_Toc116207432)

[3. КЛАССИФИКАЦИЯ противовирусных средств 12](#_Toc116207433)

[А) Интерферон 13](#_Toc116207434)

[Индукторы интерферона 13](#_Toc116207435)

[Б) Производные амантадина и других групп синтетических соединений 13](#_Toc116207436)

[В) Нуклеозиды 14](#_Toc116207437)

[Г) Противовирусные препараты растительного происхождения 14](#_Toc116207438)

[4. МЕХАНИЗМ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ 15](#_Toc116207439)

[4.1. Противогриппозные препараты [6] 15](#_Toc116207440)

[4.2. Противогерпетические и пртивоцитомегаловирусные препараты [6] 15](#_Toc116207441)

[4.3. Лекарства, влияющие на вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) [6] (зидовузин, фосфоноформат) 16](#_Toc116207442)

[4.4. Противовирусные препараты широкого спектра действия (интерфероны) [6] 16](#_Toc116207443)

[4.5. Амиксин – возможности и перспективы применения в клинической практике 17](#_Toc116207444)

[4.5.1. Название и описание препарата Амиксин 19](#_Toc116207445)

[4.5.2. Противовирусная активность и индукция клеток – продуцентов интерферона. 19](#_Toc116207446)

[4.5.3. Действие на иммунную систему и воспалительный процесс. 20](#_Toc116207447)

[4.5.4. Фармакокинетика 20](#_Toc116207448)

[4.5.5. Доклинические исследования противовирусная активность препарата 20](#_Toc116207449)

[5. ПОЛУЧЕНИЕ противовирусных ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ 21](#_Toc116207450)

[5.1. Новые пути синтеза хлоргидрата тилорона [8, 9] 21](#_Toc116207451)

[5.2. Получение бонафтона (6-бром-1,2-нафтохинон) 22](#_Toc116207452)

[5.3. ГОССИПОЛ 22](#_Toc116207453)

[5.4. ПОЛУЧЕНИЕ ЛЕЙКОЦИТАРНОГО АЛЬФА-ИНТЕРФЕРОНА 24](#_Toc116207454)

[7. ТАБЛИЦА противовирусных ПРЕПАРАТОВ 35](#_Toc116207455)

[ЛИТЕРАТУРА 40](#_Toc116207456)

[СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ 41](#_Toc116207457)

# ВВЕДЕНИЕ

Вирусы [3] – неклеточные формы жизни, обладающие собственным геном и способные к воспроизведению лишь в клетках более высокоразвитых существ. Для вирусов характерны две формы существования: внеклеточная и внутриклеточная (репродуцирующаяся). Вирусы по составу различаются на две большие группы: простые и сложные. Первые состоят только из белка и нуклеиновой кислоты, тогда как вирусы сложные наряду с этими компонентами содержат в своем составе липиды, углеводы в виде гликопротеидов. Для вирусов характерно большое разнообразие форм нуклеиновых кислот, в том числе таких форм РНК и ДНК, которые отсутствуют у клеточных форм жизни.

Размножение вирусов происходит в клетке. Многие вирусы поглощаются клеткой путем пиноцитоза. Попав в клетку, они освобождаются от оболочки. Первые этапы развития вирусов в клетке в общих чертах состоят в том, что строятся так называемые ранние белки, т.е. белки ферменты, необходимые вирусу для репликации их нуклеиновых кислот. Так называемые поздние белки участвуют в образовании белковых оболочек дочерних вироспор. Из ферментов у вирусов содержащих ДНК, одним из первых синтезируется полимераза РНК, которая строит на нити ДНК информационную РНК. Эта РНК попадает на рибосомы нити и происходит синтез других белков вирусной частицы.

Вирусы, содержащие РНК, синтезируют полимеразу, катализирующую синтез новых частиц вирусной РНК; эта РНК переходит на рибосомы и контролирует синтез белка капсида. Вирус, содержащий РНК, не нуждается в ДНК для размножения и передачи генетической информации.

Вирусы вызывают различные болезни. Вирусные болезни весьма разнообразны и зависят от природы вирусов, их вирулентности, путей проникновения в организм и преодоления естественных защитных барьеров организма. Заражение может произойти через воздух, пищу, молоко, воду, через различные предметы, через укус кровососущих членистоногих (комаров, москитов и клещей). Один из факторов естественной защиты клетки от вирусов – выработка клетками интерферона – вещества, создающего резистентность клетки к вирусу, хотя это защитное действие и кратковременно.

Интерферон [3] – низкомолекулярный белок с противовирусными свойствами, содержащий некоторое количество углеводов, включая глюкозамин. Открыт в 1957г. Айзеком и Линденманом [3]. Основное свойство интерферона заключается в противовирусном действии, проявляющемся в подавлении размножения инфекционных и онкогенных вирусов. Самым активным интерфероном является интерферон человека. Интерферон не обладает избирательной противовирусной активностью и действует практически на все вирусы.

Интерферон непосредственно не инактивирует вирусы или их нуклеиновые кислоты, не препятствует адсорбции и проникновению вируса в клетку, а также его депротеинизации. Интерферон проявляет свое действие на внутриклеточном этапе репродукции вируса. Механизм взаимодействия интерферона с клетками, в которых он индуцирует антивирусное состояние, остается неясным. По данным одних авторов, интерферон может индуцировать антивирусное состояние в клетках без обнаружения потери активности, по другим защитное действие интерферона связано с интенсивностью его поглощения.

Допускается действие интерферона на уровне, как трансляции, так и транскрипции. В пользу первого свидетельствуют данные о том, что интерферон, не влияя на синтез вирусоспецифической РНК, ингибирует синтез вирусных белков. Он не только уменьшает количество образующихся вирусоспецифических полипептидов в зараженных клетках, но приводит также к укорочению полипептидных цепей. Предполагают, что интерферон может модифицировать вирусную РНК настолько, что она утрачивает способность участвовать в образовании полисом.

Сторонники действия интерферона на уровне транскрипции опираются на данные об ингибиторном действии интерферона на транскрипцию ранней вирусной РНК. Эта ингибиция связана с подавлением вирусиндуцированного синтеза, обусловленного вирионной РНК – зависимой полимеразой. Наиболее распространенным является предположение о том, что в результате воздействия интерферона нарушается трансляция, что обуславливает невозможность осуществления последующих этапов в репродукции вируса.

Существует множество агентов, которые способствуют образованию интерферона в клетках и тканях. Их называют индукторами интерферона.

# 1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Создание противовирусных средств [2] является одной из наиболее сложных задач химиотерапии инфекций. Связано это с тем, что РНК- и ДНК-содержащие вирусы являются облигатными внутриклеточными паразитами. В процессе размножения вирусы в основном используют аппарат биосинтеза клеток макроорганизма, определенным образом модифицируя его. В связи с этим крайне трудно находить избирательно действующие средства, которые поражали бы вирусы , не повреждая клетки «хозяина». Тем не менее за последние годы появились отдельные противовирусные препараты, которые обладают определенной избирательностью действия в отношении зараженных вирусом клеток и подавляют репликативный цикл вируса. В этом отношении привлекают внимание некоторые аналоги нуклеозидов, обладающие относительно избирательным действием на вирусы. Такая возможность основана на том, что некоторые вирусы (например, вирус простого герпеса, вирус опоясывающего лишая) после проникновения в клетки индуцируют образование своих ферментов, которые могут отличаться по распознанию субстрата по сравнению с аналогичными ферментами самой клетки.

К числу таких ферментов относятся, например, дезокситилендинкиназы и ДНК-полимеразы. Так, напрмер, ацилогуанозин (ацикловир), проникая в клетку, фосфорилируется вирусной дезокситимидинкиназой и в виде трифосфата угнетает ДНК-полимеразу вируса простого герпеса (в большей степени, чем ДНК-полимеразу клетки). Кроме того, это соединение встраивается в ДНК вируса. Рибавирин действует по иному принципу: в виде 5 – трифосфата, он специфически угнетает РНК-полимерную транскриптазу ДНК вирусов. Полученные данные весьма перспективны для создания новых избирательно действующих противовирусных средств.

Направленность действия противовирусных средств может быть различной. Она касается разных стадий взаимодействия вируса с клеткой. Так известны вещества, которые действуют следующим образом[2]:

1. Угнетают адсорбцию вируса на клетке и(или) проникновение его в клетку, а также процесс высвобождения («депротеинизации») вирусного генома (мидонтан, ремантадин).
2. Угнетают синтез «ранних» вирусных белков-ферментов (гуанидин).
3. Угнетают синтез нуклеиновых кислот (зидовудин, ацикловир, видарабин, идоксуридин).
4. Угнетают «сборку» вирионов (метисазон).
5. Повышают резистентность клетки к вирусу (интерфероны).

Одни препараты предназначены для лечебных целей, другие – преимущественно для профилактики вирусных средств.

Мидантан (адамантанамина гидрохлорид, амантадин, вирегит, симметрел) влияет на микровирусы, которые относятся к РНК-содержащим вирусам. Считают, что мидантан затрудняет прохождение вируса в клетку «хозяина», а также ингибирует процесс высвобождения в клетке вирусного генома. Хорошо всасывается из желудочно-кишечного тракта. Выделяется в основном почками.

Основное применение мидантана – профилактика гриппа типа А2. В качестве лечебного средства он неэффективен.

Мидантан может оказывать отрицательное влияние на ЦНС (повышенная возбудимость, сонливость, тремор, атаксия). Возможны диспепсические нарушения, кожные поражения. Аналогичными свойствами и показаниями к применению обладает ремантадин (ремантадина гидрохлорид), сходный по химической структуре с мидантаном.

Глобальной проблемой является лечение синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД). Вызывается он специальным ретровирусом. Терапия СПИДа требует применения противоретровирусной, иммуномодулирующей, а также симптоматической терапии. Из пртивовирусных препаратов применяется только азидотимидин ( 3-азидо-3-дезокситимидин). Коммерческий препарат азидотимидина получил название зидовудин (азидотимидин, ретровир). Принцип действия зидовудина заключается в том, что он, фосфорилируясь в клетках, гингибирует обратную транскриптазу ДНК вирусов. Препарат хорошо всасывается. Биодоступность примерно 65%. Хорошо проникает через гематоэнцефалический барьер. Около 75% препарата метаболизируется в печени (образуется глюкоронид азидотимидина). Часть зидовудина выделяется в неизменном виде почками (по ряду данных 16 – 18%).

Применение зидовудина следует начинать возможно раньше. Терапевтический эффект его проявляется в основном в первые 6-8 мес. от начала лечения. К сожалению, зидовудин не излечивает больных, а лишь задерживает развитие заболевания. Кроме того, к нему развивается лекарственная устойчивость ретровируса. В настоящее время ведутся широкие поиски новых лекарственных препаратов и вакцин, которые остро необходимы для изменения крайне неблагоприятной эпидемиологической ситуации со СПИДом. Из побочных эффектов зидовудина на первое место выступают гематологические нарушения: анемия, нейтропения, тромбоцитопения, панцитемия. Возможны голвная боль, бессоница, миалгия, угнетение функций почек. Значительным достижением является создание высокоэффективного противогерпетического средства анцикловира (зовиракс). Химически является производным геданина. В клетках анцикловир фосфорилируется. В инфицированных клетках анцикловира трифосфат оказывает ингибирующее влияние на ДНК- полимеразу вируса. Из желудочно-кишечного тракта всасывается около 1/5 введеного вещества. Максимальная концентрация накапливается через 1 – 2 часа. Биодоступность около 20%. С белками плазмы связывается 12 – 15% вещества. Вполне удовлетворительно проходит через гематоэнцефалический барьер.

Эффективным противовирусным препаратом является также видоробин (аденин, арабинозид). Проникнув в клетку, видоробин фосфорилируется. Угнетает вирусную ДНК-полимеразу. При этом подавляется репликация крупных ДНК-содержащих вирусов. В организме частично превращается в менее активный в отношении вируса гипоксонтина арабинозид.

С успехом применяется при герпетическом энцефалите (вводят путем внутривенной инфузии), снижая летальность приэтом заболевании на 30 – 75%. Иногда используют при осложненном опоясывающем лишае. Эффективен при герпетическом пиротоконъюктивите.

Идоксуридин (керицид, идуридин, офтон-УДИ), являющийся аналогом тимидина, встраивается в молекулу ДНК. В связи с этим он подавляет репликацию отдельных ДНК-содержащих вирусов. Применяют идоксуридин местнопри герпетической инфекции глаз (кератитах). Может вызывать раздражение, отек век. Для резорбтивного действия мало пригоден, так как токсичность у препарата значительная.

Выраженной противовирусной активностью обладает метисазон (мирборан). Он эффективен в отношении вируса оспы. Механизм действия, повидимому, связан с тем, что метисазон нарушает процесс сборки вирионов, угнетая синтез вирусного структурного белка.

Препарат оксолин обладает умеренной эффективностью при аденовирусном керитоконъюктивите, герпетическом кератите, некоторых вирусных заболеваниях кожи.

Для профилактики вирусных инфекций используют также интерфероны. Это группа биогенных веществ, относящихся к низкомолекулярным гликопротеинам, вырабатываемых клетками организма при воздействии на них вирусов. Они вызывают устойчивость клеток к поражению их вирусами. Образуются интерфероны в самом начале вирусной инфекции. Характеризуются широким противовирусным спектром (специфичностью действия в отношении отдельных вирусов не обладают). Однако они имеют выраженную видовую специфичность в отношении клеток микроорганизмов. Интерфероны иногда называют противовирусными антибиотиками широкого спектра действия. Резистентность к интерферонам у вирусов не возникает. Через несколько недель после выздоровления интерфероны в крови не обнаруживаются. Для организма практически безвредны. Сенсибилизации, по имеющимся данным, как правило, не вызывают. Интерфероны проникают в клетку и прочно с ней связываются. Механизм их противовирусного действия , по-видимому, обусловлен тем, что они вызывают образование рибосомами клеток макроорганизма ряда ферментов, которые ингибируют и РНК и ее трансляцию в вирусный белок. Это приводит к угнетению репродукции вируса. Через гематоэнцефалический барьер интерфероны практически не проходят. В клинической практике используют человеческие лейкоцитарный (α-) и фибробластный (β-) интерфероны. Интерферон получен также методом генной инженерии. Место интерферона в лечении вирусных инфекций точно не определено. Отмечена более или менее выраженная эффективность интерферонов при профилактике гриппа, при герпетических кератитах, герпетических поражениях кожи и половых органов и т.д.

# 2. ИСТОРИЯ СОЗДАНИЯ ПРОТИВОВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Первым препаратом, предложенным в качестве специфического противовирусного средства, был тиосемикарбазон, вирулоцидное действие которого описал Г.Домагк (1946) [1]. Препарат этой группы тиоцетозон обладает некоторой противовирусной активностью, но недостаточно эффективен; его используют в качестве противотуберкулезного средства. Производные этой группы 1, 4-бензохинон-гуанил-гидразинотио-семикарбазон под названием «фарингосепт» (faringosept, Румыния) применяют в виде «перлингвальных» (рассасываемых в полости рта) таблеток для лечения инфекционных заболеваний верхних дыхательных путей (тонзиллит, стоматит и др.)

В дальнейшем был синтезирован метисазон, эффективно подавляющий репродукцию вирусов оспы, а в 1959 г. [1] - нуклеозид идоксуридин, оказавшийся эффективным антивирусным средством, подавляющий вирус простого герпеса и вакцинии (вакцинальная болезнь). Побочные эффекты при системном применении ограничили возможность широкого использования идоксуридина, но он сохранился как эффективное средство для местного применения в офтальмологической практике при герпетических керотитах. Вслед за идоксуридином стали получать другие нуклеозиды, среди которых выявлены высокоэффективные противовирусные препараты, в том числе ацикловир, рибамидин (рибовирин) и другие. В 1964г. [1] был синтезирован амантадин (мидантин), затем ремантадин и другие производные адамантана оказавшиеся эффективными противовирусными средствами. Выдающимся открытием явилось открытие эндогенного интерферона и установление его противовирусной активности. Современная технология рекомбинации ДНК (генетической инженерии) открыла возможность широкого использования интерферонов для лечения и профилактики вирусных и других заболеваний.

Выдающимся событием явилось открытие эндогенного интерферона и установление его противовирусной активности. До 1957 года интерфероны рассматривали как любопытный биологический феномен. Период 1957 – 1967 гг был посвящен исследованию общих закономерностей продукции и действия интерферона. В процессе этой работы установлена универсальность феномена образования этого белка клетками всех позвоночных (от рыб до человека) и разработаны основные методы его получения и очистки.

В 1967 году была доказана ведущая роль высокомолекулярных двунитевых РНК в индукции интерферона и начат поиск наиболее активных препаратов , имеющих перспективу клинического использования [14].

В течении следующих тринадцати лет (1967 – 1980 годы) был изучен антитулюрогенный эффект интерферона и его индукторов, экспериментально обоснованны принципы супериндукции интерферона. В этот же период было теоретически обоснованно существование сложного многокомпонентного механизма продукции и действие интерферона , что в дальнейшем завершилось выявлением генов и информационных РНК для интерферона и ферментов, осуществляющих его действие. 80 – е годы ознаменовались такими крупными событиями в изучении интерферона и его индукторов:

1) окончательно оформилось учение о системе интерферона;

2) с помощью методов генной инженерии получены перспективные для клинического использования препараты интерферона;

3) доказана множественность генов интерферона (у человека их число приближается к 30);

4) определены показания и противопоказания для клинического использования интерферонов и их индукторов.

В 80 – 90 годы установлено, что действие ряда иммуностимулирующих и противовирусных средств (продигнозан, полудан, арбидол и др.) связано с их интерферогенной активностью, т. е. способностью стимулировать образование эндогенного интерферона [14].

Отечественными исследователями разработан ряд синтетических и природных (растительного происхождения) препаратов для системного и местного применения при вирусных заболеваниях (бонафтон, арбидол, оксолин, дейтиформин, теброфен, алпизарин и др.). В настоящее время установлено, что действие ряда иммуностимулирующих и противовирусных средств связано с их интерферонной активностью, т.е. способностью стимулировать образование эндогенного интерферона.

Хронологическая таблица противовирусных событий

| Год | Событие |
| --- | --- |
| 1946 | Предложен в качестве противовирусного средства тиосемикарбазон. Действие описал Г. Домагк |
| 50-е г. | Открыт метисазон |
| 1957 | Открыт интерферон Айзексом и Линденманом |
| 1957–1967 | Исследованы общие закономерности продукции и действия интерферона. Установлена универсальность феномена образования этого белка клетками всех позвоночных (от рыб до человека) и разработаны основные методы его получения и очистки |
| 1959 | Открыт идоксуридин, действующий против вируса простого герпеса |
| 1964 | Синтезирован адамантан, затем ремантадин и другие производные адамантана |
| 1970 | Открыт тилорон, индуктор интерферона |
| 1967–1980 годы | Был изучен антитулюрогенный эффект интерферона и его индукторов, экспериментально обоснованны принципы супериндукции интерферона |
| 80–90 годы | Установлено, что действие ряда иммуностимулирующих и противовирусных средств (продигнозан, полудан, арбидол и др.) связано с их интерферогенной активностью, т. е. способностью стимулировать образование эндогенного интерферона [14] |

# 3. КЛАССИФИКАЦИЯ противовирусных средств

Противовирусные средства, как противогрибковые, противопаразитные средства, относят к антиинфекционным средствам.[2]

Вирусы – внутриклеточные паразиты. Оказать на них влияние с помощью лекарства, не повредит при этом клетки макроорганизма, практически невозможно. В большинстве случаев применение противовирусных препаратов малоэффективно, а опасность возникновения нежелательных эффектов очень велика. Противовирусные средства – препараты с малой широтой терапевтического действия. Максимальной эффективности можно достигнуть при их использовании с профилактической целью или местно, когда удается создать высокую концентрацию.

Направленность действия противовирусных средств может быть различной. Она касается разных стадий взаимодействия вируса с клеткой. Так, известны вещества, которые действуют следующим образом:

1. угнетают адсорбцию вируса на клетке и проникновение его в клетку, а также процесс высвобождения вирусного генома. К ним можно отнести такие препараты как мидантан и ремантадин;
2. угнетают синтез ранних белков вируса. Например, гуанидин;
3. угнетают синтез нуклеиновых кислот (зидовудин, ацикловир, видарабин, идоксуридин);
4. угнетают «сборку» вирионов (метисазон);
5. повышают резистентность клетки к вирусу (интерфероны) [2]

Это была представлена классификация противовирусных средств по механизму действия .

По строению противовирусные средства можно разделить на :

1. Производные адамантана (мидантан, ремантадин)

2. Аналоги нуклеозидов(зидовудин, ацикловир, видарабин, идоксуридин)

3. Производные тиосемикарбазона – метисазон

4. Биологические вещества подуцируемые клетками макроорганизма (интерфироны)[2]

Но более доступно для понимания противовирусные препараты можно разделить, взависимости от рода заболевания, на группы:

1. Противогриппозные препараты (ремантадин, оксолин и т.д.)

2. Противогерпетические и противоцитомегаловирусные (теброфен, риодоксон и т.д.)

3. Лекарство влияющие на вирус иммунодефицита человека (азидотимидин, фосфаноформат)

4. Препараты широкого спектра действия (интерфероны и интерфероногены) [2]

Машковский М.Д.[5] создал такую классификацию противовирусных препаратов:

### А) Интерферон

1. интерферон. Лейкоцитарный интерферон из донорской крови человека.
2. интерлок. Очищенный α-интерферон, полученный из донорской крови.
3. реаферон. Рекомбинантный α2-интерферон, продуцируемый бактериальным штаммом псевдомонады, в генетический аппарат которого встроен ген человеческого лейкоцитарного α2-интерферона.
4. интрон А. Рекомбинантный интерферон альфа-2в.
5. бетаферон. Рекомбинантный человеческий β1-интерферон.

### Индукторы интерферона

1. полудан. Порошок или пористая масса белого цвета, обладает иммуностимулирующей активностью, т.е. способностью стимулировать выработку эндогенного интерферона и оказывает противовирусное действие.
2. неовир. Действие такое как и у полудана.

### Б) Производные амантадина и других групп синтетических соединений

1. Ремантадин. Применяется как антипаркинсоническое средство, указывает профилактическое действие в отношении грипозной инфекции, вызванной определёнными штаммами вирусов.
2. Адапромин. Близок к ремантадину.
3. Дейтифорин. Сходен с ремантадином.
4. Арбидол. Противовирусный препарат, оказывающий ингибирующее действие на вирусы гриппа А и В.
5. Бонафтон. Обладает противовирусной активностью в отношении вируса простого герпеса и некоторых аденовирусов.
6. Оксолин. Обладает вируцидной активностью, эффективен при вирусных заболеваниях глаз, кожи, вирусных ринитах; оказывает профилактическое действие при гриппе.
7. Теброфен. Применяют в виде мази при вирусных заболеваниях глаз, а также при заболеваниях кожи вирусной или предпологаемой вирусной этиологии.Может приминятся также для лечения плоских бородавок у детей.
8. Риодоксол. Обладает противовирусной оптимальностью и оказывает противогрибковое действие.
9. .Флореналь. Открывает нейтрализующее действие в отнашении вирусов.
10. Метисазон. Подавляет репродукцию вируса основной группы: обладает профилактической активностью в отнашении вируса оспы и облегчает течение поствакцинальных осложнений, задерживает распространение кожного процесса, способствует более быстрому подсыханию эффеораций. Имеются данные об эффективности метисазона при лечении рецидивирующего генитального герпеса.

### В) Нуклеозиды

1. Идоксуридин. Применяют при кератитах в офтальмологии.
2. Ацикловир. Эффективен в отношении вирусов простого герпеса и опоясывающего герпеса. Оказывает иммуностимулирующее действие.
3. Ганцикловир. По сравнению с ацикловиром ганцикловир более эффективен и, кроме того, действует не только на вирус герпеса, но и на цитомегаловирус.
4. Фамцикловир. Имеет такие же функции, как и ганцикловир.
5. Рибамидил. Рибамидил, подобно ацикловиру, обладает противовирусной активностью. Ингибирует синтез вирусных ДНК и РНК.
6. Зидовудин. Противовирусный препарат, ингибирующий репликацию ретровирусов, включая вирус иммунодефицита человека (ВИЧ).

### Г) Противовирусные препараты растительного происхождения

1. 1.Флакозид. Получают из листьев бархата амурского семейства рутовых. Препарат эффективен в отношении ДНК-вирусов.
2. Алпидарин. Получена из травы Koneermena альпийского и копеечника желтеющего, семейства бобовых. Эффективен в отношении ДНК-содержащих вирусов группы герпеса. Ингибирующее действие на репродукцию вируса простого герпеса проявляется преимущественно на ранних стадиях развития вируса.
3. Холепин. Очищенный экстракт из части растения мепедеци копеечковой, семейства бобовых. Обладает противовирусной активностью в отношении ДНК-содержащих вирусов группы герпеса.
4. Лигосин. Применяют при герпетических заболеваниях кожи.
5. Госсипол. Продукт получаемый при переработке семян хлопка или из корней хлопчатника, семейства мальвовых. Препарат обладает активностью в отношении различных штаммов вирусов, в том числе дерматотропных штаммов вируса герпеса. Оказывает слабое действие на грамположительные бактерии.

# 4. МЕХАНИЗМ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

## 

## 4.1. Противогриппозные препараты [6]

Все препараты это группы защищают клетки человека от проникновения в них вируса гриппа, т.к. блокируют места связывания вируса с поверхностью клеточной мембраны. На вирусы, проникшие внутрь клетки, они не влияют, поэтому их применяют для индивидуальной или массовой профилактики гриппа у лиц, находящихся в контакте с больными или в период эпидемии. Все препараты (кроме оксолина) назначают внутрь. Из желудочно-кишечного тракта они неплохо всасываются. В очень небольшом проценте они связываются с белками плазмы крови, хорошо проникают во все ткани и жидкости, в том числе и в ликвор. Элиминация осуществляется частично печенью, а в основном почками (90%). Поэтому у больных с нарушением функции почек повторные приемы препаратов могут привести к кумуляции и сопровождаться нежелательными эффектами.

## 

## 4.2. Противогерпетические и пртивоцитомегаловирусные препараты [6]

Противогерпетические (теброфен, риодоксол, идонеуридин, видарабин, оцикловир, валацикловир). Противоцитомегаловирусные (ганцикловир, фосфоноформат).

Все эти препараты блокируют репликацию, т.е. нарушают синтез нуклеиновых кислот вируса. Видарабин применяют местно, а при дисиминированной герпетической инфекции (энцефалит) вводят внутривенно капельно. Но препарат плохо растворяется, поэтому его инфузия в большом количестве жидкости длится около 12 часов, что нежелательно для больного с энцефалитом, отеком мозга. Применение видарабина через гематоэнцефалический барьер составляет примерно 30% от концентрации препарата в плазме крови.

В печени происходит превращение препарата в арабинозин гипоксантин, этот метаболит сохраняет активность и быстро распределяется в тканях. Элиминация происходит с мочой (50%) и калом. Ацикловир, валацикловир, ганцикловир – назначают внутрь во время еды, а также вводят внутримышечно и внутривенно.

Биоусвоение из желудочно-кишечного тракта равно 15 – 20%, тем не менее этого достаточно для оказания эффекта. У препаратов высокая активность, и они обладают способностью избирательно накопляться в клетках, инфицированных вирусом, но не в интактных клетках. Связывание с белками плазмы крови всего 9 – 30%, поэтому препараты хорошо проникают в различные ткани и жидкости. В организме человека валацикловир быстро и почти полностью превращается в ацикловир и валин под действием фермента валацикловиргидролазы. 10 – 15% ацикловира и ганцикловира подвергается биотрансформации в печени. Большая часть препаратов (80 – 90%) в неизменном виде и в виде метаболита 9-карбоксиметоксиметилгуанина выводится почками.

## 

## 4.3. Лекарства, влияющие на вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) [6] (зидовузин, фосфоноформат)

После проникновения лимфотропного ВИЧ в лимфоцит происходит синтез вирусной ДНК на матрице (вирусной РНК) под влиянием обратной транскриптазы (ревертазы), что и приводит к повреждению лимфоцитов. Механизм действия аредотимидина и фосфоноформита заключается в блокаде названного фермента. В основном препараты эффективны у носителей вируса до появления признаков заболевания. Кроме названных препаратов сейчас появились новые противоретровирусные средства: дидеоксимицетин и дидеоксицидин. Азидовудин назначают внутрь или вводят внутривенно. Биоусвояемость из желудочно-кишечного тракта 60%. Связь с белками плазмы крови 35%. Азидотимидин легко проникает в различные ткани и жидкости, включая ликвор. Он подвергается биотрансформации в печени, его главный метаболит 5|-о-глюкуронид. Экскреция – с помощью почек в неизменном виде (90%) и в виде метаболитов.

## 

## 4.4. Противовирусные препараты широкого спектра действия (интерфероны) [6]

Под влиянием индукторов интерферона (многочисленных синтетических и природных агентов) осуществляется индукция, итогом которой является депрессия генов интерферона, которые локализуются во 2-й, 9-й и ,возможно, в 5-й и 13-й хромосомах человека. В ответ на индукцию происходит формирование, синтез интерферона в клетках человеческого организма.

Основным показателем активности индукторов интерферона является продукция так называемого «сыворо-точного» интерферона в крови.

При энтеральном способе введения индукторов в организм, интерфероновый ответ обеспечивается лимфоцитами (эритроцитами) системы GALT лимфоцитной ткани желудочно-кишечного тракта, сконцентрированной в виде вальдеерова кольца, пееровых бляшек, подслизистых монону-клеаров и мемфоцитов тонкой кишки и аппендикса, куда они могут быть доставлены популяцией специализированных мембранных клеток, способных транспортировать макромолекулы из стенки тонкой кишки через эпителиальный барьер. Большая часть продуцируемого при этом интерферона может быть утилизирована окружающими клетками кишечника локально и не достигает циркулирующей крови (паракринный тип). Другая часть продуцированного интерферона попадает в кровь или непосредственно из тканевой жидкости (эндокринный тип), или через мигрирующие лимфомоноциты и макрофаги. Продукция интерферона в кишечнике опережает и превосходит уровень его образования в других органах [12].

При пероральном введении высокомолекулярных индукторов интерферона, заключенных в липосомы (полигуацил, ларифан), преимущественным местом образования интерферона становится печень, а именно – гепатоциты и купферовы клетки. Хотя и в этом случае первой линией взаимодействия индуктора с организмом является кишечник, в нем синтезируется значительное количество интерферона, но в составе липосом более 80% индуктора транспорти-руется в печень, поэтому уровень продукции интерферона в этом органе в 2-4 раза выше, чем в кишечнике [12].

Таким образом, при поступлении индукторов интерферона в организм наряду с продукцией сывороточного интерферона в организме происходит автономная ,локальная продукция интерферона органами .При этом ведущая роль в продукции интерферона тем или иным органом определяется в равной степени как путями индукции интерферона , так и составом индуктора , а , следовательно, и чувствительностью интерферонокомпетентных клеток к использо-ванному индуктору.

После образования интерферона в органах, он поступает в кровь и присоединяется к так называемому «сывороточному» интерферону (синтезировался в крови, сыворотке под влиянием индукторов). Дальнейшее противовирусное действие интерферона может быть представлено в виде схемы [13].

## 

## 4.5. Амиксин – возможности и перспективы применения в клинической практике

Изыскание и изучение новых фармакологических средств является одной из важнейших проблем современной медицины. Успех в производстве нового лекарственного препарата – это результат глобальной долгосрочной стратегии. При этом шансы на успешное завершение работ по созданию нового лекарства весьма незначительны, примерно 1 к 5000 – 10000, а процесс разработки и продвижения на рынок нового препарата занимает 12-15 лет.

Разработка новых лекарственных средств борьбы с заболеваниями 21 века является приоритетным направлением деятельности компании «ЛЭНС-Фарм». Особый интерес вызывают препараты, повышающие сопротивляемость организма к инфекционным факторам. Одним из таких препаратов является Амиксин.

СХЕМА ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИСТЕМЫ ИНТЕРФЕРОН



Путь Амиксина в клиническую практику включал в себя ряд последовательных этапов прохождения разрешительных инстанций. Все параметры эффективности и безопасности подтверждены документально, начиная с исходного состояния до измерений, проводимых в процессе экспериментального лечения (форма дозировки, способ применения, режим приема, план подбора дозы, срок лечения). К настоящему времени сформировалось представление о потенциально эффективных курсах лечения Амиксином и потребности в нем в первую очередь при заболеваниях, для лечения и профилактики которых не существует удовлетворительных методов. При этом уточнялись влияние выбранных заболеваний на пациентов и общество в целом, недостатки, которые присущи существующим способам лечения, характеристики, которыми обладает Амиксин для улучшения любого из имеющихся способов лечения. Экономическая оценка основывалась на данных сравнения с альтернативными действиями. Особое внимание уделялось ответам на вопросы, во что обходится пациенту и (или) обществу получение желаемого результата. Доказательства эффективности и экономической целесообразности лечебно-профилактических возможностей Амиксина явились основанием для включения препарата в стандарты лечения и профилактики, а также компенсации стоимости лечения Амиксином при таких заболеваниях, как вирусные гепатиты, грипп и другие острые респираторные инфекции, геморрагические лихорадки.

Весьма важным явилось создание по результатам исследований информационно-аналитического сборника. При обобщении опыта применения Амиксина определяющая роль отводилась формализованным методам, что позволило выработать наиболее согласованные рекомендации для реальной практики. Ценность представляемой в настоящем сборнике информации определяется с одной стороны - научной обоснованностью, признаваемой ведущими учеными и специалистами, с другой - связью с решением вопросов целенаправленного и рационального использования Амиксина в реальной практике.

### 4.5.1. Название и описание препарата Амиксин

* Регистрационный номер 96/252/1; 96/252/3.
* Международное непатентованное название – **Тилорон** (2,7,-bis 2-(diethylamino) ethoxy-9h-fluoren-9-one-dihydrochloride).
* Низкомолекулярное синтетическое соединение ароматического ряда, относящееся к классу флуоренонов.
* Таблетки, покрытые оболочкой по 6 и 10 штук в упаковке в дозе 0.125 г (взрослая форма) и 0.06 г (детская форма)

### 

### 4.5.2. Противовирусная активность и индукция клеток – продуцентов интерферона.

Амиксин обладает противовирусным действием в отношении широкого круга вирусов.

Амиксин индуцирует образование интерферона как первого (альфа, бета), так и второго (гамма) типов.

Амиксин «включает» синтез интерферона в отличие от поликлональной индукции в определенных популяциях клеток.

Индукция интерферона осуществляется без вспомогательных клеток, что доказано в экспериментах с чистой культурой, в частности - Т клеток.

По интенсивности и продолжительности действия Амиксин проявляет лучшие качества индукторов: «выработка» позднего интерферона, время максимального ответа 10 - 18 часов.

### 

### 4.5.3. Действие на иммунную систему и воспалительный процесс.

* Экспрессия на мембранах клеток молекул HLA 1 класса, антигенов HLA-DR 2 класса.
* Рост и активация NK-клеток.
* Восстановление функциональной полноценности антител.
* Целенаправленная поляризация Th0 Th1.
* Моделирование воспалительной реакции в зависимости от фазы воспаления.

### 

### 4.5.4. Фармакокинетика

* Всасывание. После приема внутрь Амиксин быстро абсорбируется из желудочно-кишечного тракта.
* Распределение. Биодоступность составляет 60%, около 80% препарата связывается с белками плазмы.
* Выведение. 99% препарата выводится в неизмененном виде, период полувыведения составляет 48 часов.

### 

### 4.5.5. Доклинические исследования противовирусная активность препарата

Противовирусная активность Амиксина оценивалась на лабораторных животных, инфицированных возбудителем геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) - вирусом Хантаан. Использовались профилактическая, лечебно-профилактическая и лечебная схемы введения препарата белым мышам. Установлена наибольшая противовирусная активность Амиксина при использовании лечебно-профилактической схемы перорального введения в дозе 10 мг/кг.

Противовирусная активность Амиксина и его влияние на интерфероновый статус при гепатите исследовались на самцах белых нелинейных мышей массой 16-18 г. Вирус (штамм Мещерина) пассировали путем внутрибрюшинного заражения белых мышей. Для воспроизведения энтерального гепатита мышам перорально вводили по 0,2-0,3 мл 30-40% суспензии печени зараженных животных на физиологическом растворе. За 1-7 дней до заражения животным опытной группы перорально вводили Амиксин в дозе 4 мг. За животными наблюдали 14 дней. Однократное введение амиксина 4 мг обеспечивало 40-50% защиту животных от энтерального заражения мышей в течение 72 часов после введения препарата.

Изучено профилактическое и лечебное действие Амиксина в концентрации 0,25 г на кг веса против вируса лихорадки Западного Нила в опытах на белых мышах. Профилактическое введение Амиксина приводило к снижению летальности в опытной группе в среднем на 23,4%.

# 5. ПОЛУЧЕНИЕ противовирусных ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

## 

## Новые пути синтеза хлоргидрата тилорона [8, 9]



(2,7-бис-[2-(диэтиламино)этокси]-флуорен-9-он

Синтезирован двумя способами тилорон-2,7-бис[(диэтиламино)этокси] флуоренон-9(I)

Нитрованием флуоренона-9(II) HNO3 получен 2,7-(O2N)2-II (Т. пл. 289 – 91º), восстановленный ZnCl2 в HCl и AcOH до 2,7-(H2N)2-II (Т. пл. 287 – 9º), диазотированием которого NaNO2 в 50%-ной HBF4 получено соответственно бис-диазосоединение (III) переведенное действием 50%-ной H2SO4 в 2,7-(HO)2-III (IV, т. пл. 320 – 2º). Ацетилированием флуорена (V) AcCl и AlCl3 синтезирован 2,7-Ac2-V (т. пл. 180 – 2º), превращенный действием 3-ClC6H4COOOH в присутствии F3CCOOH в 2,7-(AcO)2-V (VI), который окислен Na2Cr2O7 в AcOH до 2,7-(AcO)2-II (VII). Взаимодействием IV или VII с KOH и Et2NCH2CH2Cl\*HCl получен I.

0,099 моля 85%-ной 3-ClC6H4COOOH прибавляют к охлажденной смеси 0,037 моля 2,7-Ас2-V, 400мл ХЛФ и 0,3мл F3CCOOH, защищают от света, нагревают до 20ºС, выдерживают три дня, хлороформный раствор промывают насыщенным раствором Na2CO3 и насыщенным раствором NaCl, органический слой сушат безводным MgSO4, фильтрат упаривают, получают IV, выход 62%, т. пл. 165 – 7ºС (МеОН – хлф1).

0,034 моля VI, 0,01 моля Na2Cr2O7\*2H2O, 30мл АсОН кипятят 45 минут, раствор охлаждают, прибавляют 50мл воды, выделяют VII, выход 53%, т.пл. 224,5-6,5º (СП).

0,04 моля Et2NCH2CH2Cl\*HCl, 0,08 моля KOH, 0,01 моля IV или VII 0,5г PhCH2NMe3Br, 200мл толуола и 50мл воды кипятят 24 часа, после охлаждения отделяют органический слой, промывают водой, насыщенным раствором NaCl и высушивают безводным MgSO4, толуол упаривают в вакууме, масло растворяют в 5мл МеОН прибавляют к 50 мл эфирн. ненасыщенного HCl. Выделяют ди-ХГ (I) 50%, т.пл. 232 – 4º (изо-PrOH-MeOH, 3:1).

## 

## Получение бонафтона (6-бром-1,2-нафтохинон)



Получение 6-бромнафтохинона-1,2 с нитрозодисульфонатом калия [10]

Реакцией β-нафтол с Br2, в лед АсОН получен с выходом 76% 6-бромнафтол-2(I), т.кип. 200 - 5º /20 т.пл. 128ºС. Взаимодействием I c ON(SO3K)2 в дистиллированной воде при добавлении 1/6 н KH2PO4 приводит к 6-бромнафтохинону-1,2, т.пл. 170º(разл).

**Бонафтон – 14С [11]**

Разработан метод синтеза [8 – 14С]-6-бром-1,2-нафтохинона (I, бонафтона), обладающего противовирусной активностью, взаимодействием 4-MeOC6H4CH2CH2CH2Br с Mg и 14CO2 получают 4- MeOC6H4CH2CH2CH2-14COOH (II). Циклизация (II) ПФК дает [1-14С]-7-метокси-1-тетралон (III), восстановление которого на Pd/С приводит к [1-14С]-7-метокситетралину (IV). Дегидрирование IV при помощи тетрахлор-1,2-бензохинона приводит к [1-14С]-7-метоксинафталину(V-неролину-14С) из V и HBr получают [8-14С]-2-нафтол(VI), бромирование которого дает [1-14C]-3,8-дибром-7-оксинафталин (VII). Из VII получают [8-14C]-6-бром-2-нафтол (VIII). Реакция VIII с ON(SO3K)2 приводит к (I).

## 5.3. ГОССИПОЛ

2,2-бис-(1,6,7-триокси-3-метил-5-изопропил-8-альдегидонафтил)

|  |  |
| --- | --- |
|  | C30H30O8  Мол. масса 518.57  Т.пл. 180-181 |

Госсипол представляет собой кристаллический канареечно-желтый порошок без запаха.

Растворим - в спирте, эфире, ацетоне, хлороформе, пиридине.

Не растворим - воде.

Качественные реакции. Кристаллик госсипола с каплей конц. серной кислоты на часовом стекле дает пурпурно-красное окрашивание.

**Диоксим C30H32O8N2**. В колбе с обратным холодильником нагревают на водяной бане 0.5 г госсипола, 1 г гидроксиламина гидрохлорида, 5 мл пиридина и 5 мл абсолютного спирта. Растворитель концентрируют под тягой, к остатку прибавляют спирт. Выпадают кристаллы; их отделяют и перекристаллизовывают из спирта. Т.пл. 312.

Госсипол является одним из главных пигментов хлопчатника, известен в трех таутомерных формах. Обладает свойствами антиоксиданта, щелочные растворы поглощают свободный кислород воздуха. **Ядовит.**

В ядрах семян и других частях хлопчатника содержание госсипола в среднем составляет 1%. В процессе производства хлопкового масла он превращается в глубокоокрашенные не токсичные соединения, затрудняющие рафинацию масла.

В настоящее время наряду с фармацевтической отраслью применяется для получения полимерных материалов, преимущественно лаков.

ЛАБОРАТОРНЫЙ СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ

**Сырье и реактивы**.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Исходное сырье | Количество | Примечание |
| Кора корней хлопчатника | 250 г | В коре корней хлопчатника содержится больше госсипола, чем в других частях растения. Отсутствие в ней жирных веществ облегчает выделение и очистку. |
| Эфир | 1000 мл | Для удаления перекисей эфир встряхивают с 5% раствором сернокислого железа(II), подкисленного серной кислотой. |
| Уксусная кислота | 25 мл |  |
| Петролейный эфир | 25 мл |  |
| Гидросульфит натрия | 1 г |  |
| Этиловый спирт | 50 мл |  |
| Пиридин | 5 мл |  |
| Гидроксиламин гидрохлорид | 1 г |  |

**1 Стадия. Выделение госсипола в виде госсиполацетата.**

Госсиполацетат - молекулярной комплекс состава C30H30O8\* CH3COOH, легко гидролизуемое горячей водой.

Грубоизмельченную воздушно-сухую кору корней хлопчатника перколируют при пониженной температуре 1 л эфира, свободного от перекисей. Эфирный экстракт концентрируют при небольшом разрежении до объема 40-50 мл, добавляют 15 мл ледяной уксусной кислоты, хорошо перемешивают и, не закрывая колбы, оставляют в холодильнике для кристаллизации. При медленном испарении эфира выпадает госсиполацетат. Первую порцию зеленовато-желтых кристаллов отфильтровывают на стеклянном фильтре и промывают 10 мл смеси эфира и уксусной кислоты в соотношении 3:1.

Фильтрат и промывную смесь объединяют и оставляют в стакане при комнатной температуре, пока не испарится половина объема. В это время выпадает вторая половина госсиполацетата. Соединив вместе полученные осадки, их растворяют в 50 мл эфира, добавляют 5 мл уксусной кислоты и оставляют на сутки. Выпадает чистый госсиполацетат в количестве 3 гр.

**2 Стадия. Получение свободного госсипола.**

На холоду растворяют 3 г госсиполацетата в 50 мл эфира, свободного от перекисей, и переносят в коническую колбу, содержащую равный объем 0.4%-ного водного раствора дитионита натрия (неверно называемый гидросульфитом натрия).

Эфир отгоняют при температуре бани около 60 под умеренным вакуумом. По мере испарения эфира на поверхности воды выделяется свободных госсипол в виде корочки. Для полноты гидролиза госсиполацетата эту операцию повторяют еще раз, т.е. отфильтрованный осадок снова растворяют в эфире, добавляют равный объем воды, эфир отгоняют. Полученный таким образом госсипол высушивают на воздухе. Получают 2 гр.

Для очистки всю порцию госсипола растворяют в 25 мл эфира и добавляют петролейный эфир до помутнения раствора. Раствор оставляют на кристаллизацию. Кристаллический госсипол - канареечно-желтый порошок, хранят в пробирке из темного стекла. Получают чистого госсипола 1-1.2 г, имеющего т. пл. 180-181.

## 5.4. ПОЛУЧЕНИЕ ЛЕЙКОЦИТАРНОГО АЛЬФА-ИНТЕРФЕРОНА

Способность лейкоцитов человека продуцировать интерферон была показана вскоре после открытия системы интерферона Айзексом /Франция/.

Методика заключается в следующем.

Из периферической крови доноров выделяют лейкоцитарную массу и подвергают культивированию в суспензии. Используют среду №1, в которую добавляют 0,0015 ед/мл инсулина и 100-200 ед/мл нативного интерферона. К лейкоцитам в концентрации (5-10)\*106клеток/мл в качестве индуктора добавляют вирус болезни Ньюкасла с инфекционным титром не ниже 108/мл ТЦД50 в культуре куриных фиброластов. Продуцированный интерферон отделяют от культуральной среды путем центрифугирования.

**ПОЛУЧЕНИЕ БЕТА -ИНТЕРФЕРОНА**

Еще в 60-е годы было показано, что интерферон, провоцируемый клетками амниона человека, а также кожно-мышечными фибробластами, по своим свойствам отличается от лекоцитарного интерферона. В настоящее время для получения бета-интерферона используют диплоидные клетки человека. Супериндукцию осуществляют различными воздействиями - дихлоро-1-бета-D-рибафуранозилбенэимидазолом, хлороквином, нейтральным красным, УФ~радиацией и др.

ПОЛУЧЕНИЕ ГАММА-ИНТЕРФЕРОНА

Гамма-интерферон является продуктом Т-лимфоцитов человека. За последнее десятилетие благодаря усиленному изучению иммунного ответа и свойств иммуннокомпетентных клеток значительно расширились представления о функциях Т-лифоцитов, а также о продуктах, выделяемых Т-лимфоцитами - лимфокинах, обладающих свойствами биорегуляторов.

Гамма-интерферон, или иммунный интерферон, также является одним из активных регуляторов иммунного ответа, так как обладает супрессорной активностью в отношении продукции антител, вызывает активацию естественных киллеров.

Гамма -интерферон продуцируют активированные Т-лимфоциты.

Для получения больших количеств гамма-интерферона из периферической крови выделяют Т-лимфоциты и обрабатывают митогеном или антилимфоцитарной сывороткой. Например, к культуре с концентрацией лимфоцитов (I-2)\*105 в 1 мл прибавляют стафилококковый энтеротоксин в концентрации 0,02 мкг/мл.

Культуры инкубируют в среде с человеческим альбумином. Интерферон выделяют из культуральной среды. Возможно повторное стимулирование культуры и повторное продуцирование интерферона.

ЧЕЛОВЕЧЕСКИЙ ЛЕЙКОЦИТАРНЫЙ ИНТЕРФЕРОН

Характеристика готового продукта,

Человеческий лейкоцитарный интерферон является видоспецифическим гликопротеидом, синтезируемым донорскими лейкоцитами в ответ на воздействие интерфероногена.

Специфичность препарата определяется следующими признаками:

А) **противовирусной активностью**. В разведении, соответствующем титру активности, препарат должен защищать культуру человеческих клеток от цитопатического действия индикаторного вируса, взятого в дозе 100 ТЦД50

Б) устойчивостью активности к действию нуклеаз-РНК-азы и ДНК-азы;

В) чувствительностью активности к действию трипсина - при концентрации фермента 300 мкг/мл в течение I часа при 37°С препарат полностью инактивируется;

Г) чувствительностью активности к действию специфической антисыворотки - антиинтерфероновая сыворотка в разведении, соответствующем титру должна снижать защитное действие интерферона, взятого я количестве 10 ед, в реакции нейтрализации.

**Основные требования к препарату.**

Препарат должен быть вирусологически стерильным, нетоксичным и безвредным.

В разведении, соответствующем титру активности, препарат должен защищать культуру человеческих клеток от цитопатического действия индикаторного вируса.

Сухой препарат - пористый порошок серовато-коричневого цвета, легко растворимый в 2 мл дистиллированной воды. Остаточная влажность не должна превышать 2%,

Раствор препарата должен иметь различные оттенки красного цвета и желтоватый оттенок.

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТА

Кровь заготавливают на станциях переливания крови в соответствии с действующими инструкциями, в стерильные многокамерные мешки или флаконы, заполненные консервирующим раствором.

Пластикатные мешки центрифугируют 4 мин при 4°С и из них выжимают последовательно - плазму, а затем 40 мл верхнего слоя с поверхности клеточной фракции (эритромасса) или 40 мл верхнего слоя клеточной фракции (лейкомасса), которые используют в дальнейшем в качестве источника лейкоцитов для биосинтеза препарата.

Образец крови, плазмы, эритромассы или лейкомассы от каждого донора, должен контролироваться на отсутствие инфицирования сифилисом, гепатитом, СПИДом в соответствии с действующими инструкциями. При отрицательных результатах контроля эритромасса и лейкомасса могут использоваться для производства интерферона не позднее, чем спустя сутки после забора крови от донора. Хранение их допускается при температуре не выше 4°С.

Плазма или сыворотка донорской крови входят в состав культуральной смеси на всех стациях биосинтеза интерферона.

**Культивирование и контроль проиизводственных штаммов вирусов, получение культур куриных и человеческих фибробластов.**

В производстве интерферона в качестве интерфероногена используется вакцинный штамм "Н" вируса болезни Ньюкасла. Это представитель группы парамиксовирусов, для которых характерна сферическая форма вирусов, и спиральная структура нуклеокапсида. Вирус легко репродуцируется в куриных эмбрионах и культуре куриных фибробластов, оказывая цитоплазтическое действие. Вирус неопасен для человека, однако может вызвать воспалительные явления при случайном попадании массивной дозы в глаз.

Индикаторным вирусом служит штамм "Индиана" вируса везикулярного стоматита.

Это представитель группы рабдовирусов, также имеющих спиральную структуру нуклеокапсул, но инфекционный вирион по форме напоминает пулю. Вирус хорошо репродуцируется в куриных эмбрионах, а также в культурах куриных и человеческих фибробластов, оказывая цитопатическое действие.

Необходимо соблюдать осторожность при работе с этим вирусом.

Методы культивирования вирусов

Вирус болезни Ньюкасла культивируют в 9-10-дневных куриных эмбрионах. Эмбрионы просматривают через овоскоп, павшие отбраковываются, а у жизнеспособных карандашом обводятся границы воздушной полости.

При исходном титре вируса 108-109ТЦД50/мл заражающая доза составляет 0,2 мл разведения 10-4 . Эта доза вводится в эмбрион шприцем через воздушную полость с соблюдением условий стерильности. Место прокола в скорлупе заливается парафином и эмбрионы инкубируются 2-е суток при 37°С.

После инкубации эмбрионы охлаждают при 4°С в течение 3-4 часов, затем в строго стерильных условиях вскрывают со стороны воздушной полости и визуально оценивают их жизнеспособность. Павшие - отбраковывают, а из остальных пастеровской пипеткой (с помощью вакуума или груши) отсасывают алантоисную жидкость, которая и служит в дальнейшем источником вируса.

Вируссодержащую аллантоисную жидкость контролируют на бактериологическую стерильность. Определяют инфекционный титр в культуре куриных фибробластов и титр гемагглютининов.

Контроль на стерильность. осуществляют высевом I мл аллантоисной жидкости из каждого флакона на питательные cpeды - сахарный бульон и среду Сабуро. Посевы инкубируют в течение 7 суток, на сахарном бульоне при 37°С, а на среде Сабуро - при комнатной температуре.

Инфекционный титр определяют в культуре фибробластов. В 3-х суточную культуру со сформировавшимся монослоем клеток вводятся различные разведения (от 10-7 до 10-10) алантоисной жидкости. Культуры инкубируют 3-е суток при 37°С и затем просматривают под микроскопом.

Максимальные разведения, оказывающие в культуре цитопатическое действие, принимаются за ТЦД вируса (титр цитопатического действия).

\_Титр гемагглютининов определяется стандартным методом постановки реакции гемагллютинации с использованием куриных эритроцитов (0,5%).

Титр гемагглютининов не является ведущей характеристикой вирусов и постановка реакции гемагглютинации не является обязательной для каждой партии вируса.

В производстве допускается использование только бактериологически стерильного вируса с инфекционным титром 10-8-10-9/1 мл ТЦЦ50 и титром гемагглютининов 250 - 1000.

Вирус болезни Ньюкасла представляет большую ценность для производства, поэтому должны быть приняты меры к тому, чтобы сохранить его чистоту и интерфероногенные свойства. Категорически запрещается непрерывное использование пассирование вируса: в качестве исходного материала при заражении используют лучшую партию вируса, которую после контроля разливают по I мл в ампулы и лиофилизируют.

После лиофилизации эта партия в дальнейшем считается рабочим стандартом вируса.

Рабочий стандарт вируса контролируют описанными методами на бактериологическую стерильность, инфекционный титр и титр гемагглютининов. Затем в обязательном порядке вирус идентифицируют.

Идентификацию вируса болезни Ньюкасла проводят постановкой стандартной реакции торможения гемагглютинации с антисывороткой. Антисыворотка в разведении, соответствующем титру, но не ниже, чем 1:1000, должна полностью подавлять агглютинацию куриных эритроцитов /0,5%/ при дозе вируса, равной 4АЕ.

Получение первично-трипсинизированных, культур кожно-мншечной ткани куриных и человеческих эмбрионов.

Культуры кожно-мьшечной ткани куриных и человеческих эмбрионов широко используют в производстве интерферона для контроля вирусов, а также для определения отсутствия токсичности и противовирусной активности препарата. Успешная работа производства в значительной степени зависит от уровня ведения культур клеток.

Для получения культур клеток применяют стандартные методы, основанные на дезинтеграции ткани эмбриона трипсином. При выращивании культур следует обратить самое серьезное внимание на качество сред, сыворотки, вспомогательных растворов и чистоту посуды.

Получение культуры куриных фибробластов

Источником ткани являются 9-10-дневные куриные эмбрионы с соблюдением условий строгой стерильности эмбрион извлекают из скорлупы на стерильную чашку Петри. Отбирается кожно-мышечная ткань, переносится в колбу Эрленмейера и промывается раствором Хенкса с антибиотиками (50 ед/мл пенициллина + 100 ед/мл стрептомицина или 20 ед/мл мономицииа). Промывные воды сливают и ткань измельчают, размеры кусочков 1-5 мм. Затем ткань заливают подогретым до 37°С раствором трипсина (0,2%), разведенным раствором Хенкса (1:1). Колбу с тканью помещают на магнитную мешалку, включают вращение. Через 5 мин. вращение прекращают и после оседания кусочков ткани надосадочную жидкость сливают с соблюдением условий строгой стерильности. В колбу вновь заливают подогретую до 37°С смесь растворов трипсина и Хенкса. Суспензию перемешивают 5-7 мин. Затем вращение останавливают и после оседания крупных кусочков ткани надосадочную жидкость переливают в стерильные центрифужные стаканы с пробкой. Суспензий центрифугируют при 1250 об/мин, в течение 10 мин. Надосадочную жидкость отбрасывают, а осадок клеток суспендируют в культуральной жидкости следующего состава: среда №199 - 30%, гидролизат лактальбумина - 50%, нормальная бычья сыворотка - 20% и антибиотики.

Такую операцию трипсинизации повторяют 4-6 раз, но клетки собирают в один флакон с культуральной жидкостью.

После окончания сбора суспензию тщательно перемешивают и клетки подсчитывают в счетной камере Горяева. Суспензию разводят культуральной жидкостью до такой степени, чтобы в I мл содержалось 650 000 –750 000 клеток. Затем суспензию разливают в стерильные пробирки по I мл и инкубируют при 37°С в течение 2-3 суток, до образования монослоя клеток.

Технологический процесс изготовления лейкоцитарного интерферона подразделяют на 7 стадий и 12 операций,

**Стадия 1- Выделение лейкоцитов.**

Биосинтез интерферона проводят с использованием лейкоцитов, освобожденных от примеси эритроцитов. В тех случаях, когда примесь эритроцитов превышает 100 клеток на I лейкоцит, например, в эритромассе для их отделения необходимо применить фракционирование с последующим гемолизом лейкоцитсодержащей фракций. Если содержание эритроцитов меньше 100 клеток на I лейкоцит, ограничиваются только гемолизом.

**Операция.1. Фракционирование.**

В стерильные стеклянные колбы - отстойники грушевидной формы с герметично закрывающимися верхним и нижним отводами, емкостью не ниже 5 л заливают 2 л стабилизирующего раствора следующего состава: апирогенная дистиллированная вода - I л, глюкоза фармацевтическая - 20 г, аскорбиновая кислота - 0,25 г, хлористый кальций - 5 г, цитрат натрия трехзамещенный - 15 г. Стабилизирующий раствор при 20°С должен иметь плотность 1,05 г/мл. Раствор стерилизуется автоклавированием или фильтрацией и может храниться продолжительное время при температуре 4°С. Однако, концентрированный раствор цитрата натрия целесообразно автоклавировать отдельно и вводить непосредственно в отстойник.

В отстойник со стабилизирующим раствором вводят равный (2л) объем клеточной фракции. Суспензию тщательно перемешивают и добавляют раствор осадителя эритроцитов в количестве 1/10 от суммарного объема суспензии (около 400 мл).

В качестве осадителей используют декстран фармацевтический с молекулярной массой не ниже 80 000 Дальтон (исходный раствор 100г/л), поливиниловый спирт фармацевтический (исходный раствор 50 г/л или смесь 1:1 по объему). Растворы осадителей стерилизуют автоклавированием или фильтрацией и могут храниться продолжительное время при температуре +4°С,

Под действие осадителей происходит агрегация эритроцитов, что ускоряет их выпадение из суспензии, В результате происходит расслоение суспензии на 2 фракции - темно-окрашенную нижнюю (фракция эритроцитов) и светлую верхнюю (фракция лейкоцитов). Через нижний отвод отстойника фракцию эритроцитов сливают. Затем сливают и фракцию лейкоцитов. Клетки отделяют центрифугированием. Надосадочную жидкость отбрасывают, а осадок клеток ресуспедируют в питательной среде с конечной концентрацией 0,5% этилендиаминотетрауксусной кислоты (ЭДТА).

**Операция 2. Гемолиз остаточных эритроцитов.**

Для гемолиза используют 0,83%-ный раствор хлористого аммония в апирогенной дистиллированной воде, охлажденной до 4°С. Раствор стерилизируют автоклавированием. Клеточную суспензию заливают не менее чем 10 объемами гемолитика, выдерживают в течение 10 мин при 4°С, в затем клетки отделяют центрифугированием (600\*Д, 10 мин, 4°С).

Надосадочную жидкость сливают и не используют на последующих стадиях. Осадок клеток суспендируют в питательной среде 199 или минимальной "игла", содержащей 3 ед/мл гепарина, 5% донорской плазмы или сыворотки, 0,1 трилона Б и 5 ед/мл мономицина, среда № I.

**Операция 3. Подсчет жизнеспособных лейкоцитов.**

Для определения количества жизнеспособных клеток используют 1%-ный водный раствор эозината натрия. Эозинатом, окрашиваются в красный цвет только погибшие клетки.

Отбирают 0,5 мл тщательно перемененной суспензии и объединяют ее с 0,5 мл раствора эозината. Выдерживают смесь 30 сек при комнатной температуре и разводят физраствором в 100 раз. Разведение вводят в счетную камеру Горяева и считают количество окрашенных и неокрашенных клеток под микроскопом с увеличением 100 во всей камере, количество жизнеспособных клеток (X) определяют по формуле:

X = А х 200 х 1100, где

А - количество неокрашенных клеток в камере.

Количество нежизнеспособных (окрашенных клеток) не должно превышать 3% от общего числа клеток в суспензии.

**Стадия 2. Стимуляция интерфероногенеза - прайминг.**

На этой стадии преследуют 2 основных цели; активизировать метаболизм лейкоцита (для этого в культуральную среду вводят нативную плазму и инсулин) и стимулировать интерфероногенез действием интерферона. При правильной постановке прайминг обеспечивает повышение выхода активности не менее, чем в 4 раза.

**Операция 4. Составление культуральной среды.**

Лейкоциты, освобожденные от примеси эритроцитов, суспендируют из расчета 10-20 млн клеток в I мл среды №1, в которую добавлены 0,0015 ед/мл инсулина и 100-200 ед/мл нативного интерферона. Суспензию переливают в плоскодонные колбы емкостью 5 л, заполняя только половину объема. В колбу помещают стержень из мягкого железа с некоррозирующим покрытием, который предварительно стерилизуют автоклавированием или прожиганием в пламени горелки.

**Операция 5. Суспензионное культивирование.**

Колбы с клеточной взвесью перекрывают стерильной алюминиевой фольгой и помещают в водяную баню из магнитно-проводящего материала (пластика любого типа или оргстекла), подключенную к ультратермостату. Ультратермостат должен обеспечивать устойчивое поддержания температуры в клеточной взвеси в пределах 37,5°С. Под баней помешают магнитные мешалки, вращение которых передается стержню в культуральной колбе. При скорости вращения 100 об/мин лейкоциты не травмируются, но устойчиво поддерживаются в суспензии.

Клетки инкубируют не менее 2-х часов (биологическое время). Если возникает необходимость, продолжительность прайминга можно увеличить до 12- часов. Однако в этом случат в культуральную среду необходимо добавить 0,005 М сукцината натрия.

**Стадия 3. Индукция интерферона.**

Для индукции используют бактериологический стерильный вирус болезни Ньюкасла с инфекционным титром не ниже 108/мл ТЦД50 в культуре куриных фибробластов. Вирус предварительно подогревают по 37,5°С.

**Операция 6. Введение вируса-интерфероногена.**

Культуральные колбы вскрывают под пламенем горелки и вирусосодержащую аллантоисную жидкость переливают в суспензию из расчета 10-100 ТЦД50 на I лейкоцит. Так, при содержании лейкоцитов 25 млрд. добавляют 250 млн вируса с интерфероногеным титром 109 ТЦД50. Колбу перекрывают алюминиевой фольгой с соблюдением условий стерильности и инкубируют в течение I часа при 37,5°С.

**Стадия 4. Отделение индуцированных лейкоцитов.**

На стадии индукции завершают подготовительные этапы интерфероногенеза.

Для улучшения переносимости препарата, после индукции необходимо удаление культуральной жидкости неадсорбировавшихся частиц вируса-индуктора и антигенов куриной аллантоисной жидкости. Для этих целей оказалось целесообразным отделение индуцированных лейкоцитов и переведение их в среду нового состава.

**Операция 7. Отделение индуцированных лейкоцитов.**

Суспензию индуцированных лейкоцитов центрифугируют при 600хД 15 мин 4°С, или сепарируют в условиях стерильности. Надосадочную жидкость отбирают в отдельную емкость для обеззараживания, а осадок клеток суспендируют в питательной среде следующего состава: среда № 199 или минимальная "Игла", 3 ед/мг гепарина, 5% плазмы или сыворотки донорской крови, мономицин 50 ед/мл, рН 7,2-7,4 /среда №2/.

Стадия 5. Биосинтез

Биосинтез интерферона проводят в стационарной культуре лейкоцитов. При этом происходит весьма прочное прикрепление лейкоцитов к поверхности культурного сосуда. Оказалось, что важнейшим параметром, определявшим выход активности, при стационарном культивировании является плотность посадки, то есть количество клеток на единицу поверхности. Экспериментально установлено, что оптимальным для интерфероногенеза является плотность в 5-7 млн лейкоцитов на I см поверхности. Показательно, что при такой плотности посадки лейкоциты создают пласт толщиной в 3 клетки. Хорошему прикреплению клеток способствует нанесение на внутренние поверхности культурального сосуда гидрофобного покрытия - силикона любой марки.

Для обеспечения питательной потребности культуры совершенно достаточно 0,1 л среды №2 на I млн лейкоцитов. Основой энергетического обмена для лейкоцитов является анаэробный гликолиз. Из-за дефектности ферментных систем начальных стадий цикла Кребса, окисление глюкозы в этих клетках завершается на стадии лактата и лишь небольшое количество (в пределах 3%) подвергается дальнейшему расщеплению. Поэтому, объем воздушной фазы в культуральном сосуде мало влияет на выход активности. Однако, заполнение средой культурального сосуда, более чем на половину его объема не рекомендуется.

Указанные выше рекомендации следует использовать при составлении клеточной взвеси в конкретных условиях.

Для каждого типа культурального сосуда необходимо подобрать оптимальные соотношения количества клеток и среды №2 (сохранив и газовую фазу), учитывая выходы активности и экономичность процесса биосинтеза.

**Операция 8. Стационарное культивирование индуцированных лейкоцитов.**

В матрицы, со строгим соблюдением стерильности, заливают рассчитанное количество среды №2 и вводят необходимое количество лейкоцитов. Перекрывают матрицы стерильными пробками, суспензию клеток тщательно перемешивают и устанавливают матрицы в соответствующе положение (норма "ребро") на стеллажи термального помещения с температурой 37°С. Культивирование продолжают 18-20 часов. Допускается роллерное культивирование лейкоцитов на стации биосинтеза при соблюдении вышеуказанных принципов.

**Операция 9. Отделение отработанных лейкоцитов.**

После завершения синтеза интерферон-содержащую культуральную среду подвергают центрифугированию или сепарированию с соблюдением условий стерильности для отделения отработанных клеток.

Надосадочную жидкость собирают в стерильные бутыли емкостью –10 л. Затем, для инактивации вируса - интерфероногена в каждой бутыли доводят величину рН до 2,5 добавлением при тщательном перемешивании (пипеткой, постепенно) 20%-ного раствора соляной кислоты. Правильность доведения величины рН необходимо контролировать с помощью потенциометра любой системы. Из каждом бутыли отбирают образец (10 мл) для проведения контролей, после чего бутыль перекрывают стерильной резиновой пробкой и запечатывают, на бутыль приклеивают этикетку с указанием номера серии и даты изготовления. Перед розливом по ампулам доводят рН раствора до 7,0-6,5.

**Операция 10. Розлив и лиофильная сушка.**

В ампулы и флаконы емкостью 5-10 мл препарат разливают по 2 мл. Во флаконы емкостью 500 мл по 50 мл.

Препарат вводят мерно с помощью дозатора или бюретки со строгим соблюдением условий стерильности. Ампулы или флаконы с препаратом перекрывают стерильными марлевыми (2 слоя) тампонами и устанавливают вертикально в кассеты сушильного аппарата. Кассеты с препаратом подвергают замораживанию при З6-40°С в течение 48-72 часов,

Лиофилизацию проводят в вакуумсушильных аппаратах любой системы.

Препарат хранят в сухом, защищенном от света месте при температуре от +4 до 10°С. Срок годности препарата 1,5 года с момента изготовления.

# 7. ТАБЛИЦА противовирусных ПРЕПАРАТОВ

| № п/п | Структурная формула | Название, синонимы | Систематическое название | Методы  получения | Анализ | Разное |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 |  | Ремантадин (полирем, флумадин) | альфа-Метил-1-адамантил-метиламина гидрохлорид |  |  |  |
| 2 |  | Дейтифорин | 1-Норборнилэтил-амина гидрохлорид |  |  |  |
| 3 |  | Адапромин | альфа-Метил-1-адамантил-етиламина гидрохлорид |  |  |  |
| 4 |  | Арбидол | этилового эфира 6-бром-5-гидрокси-1-метил-4-диметил-аминометил-2-фенилтиометил-индол-3-карбоновой кислоты гидрохлорид, моногидрат |  |  |  |
| 5 |  | Бонафтон | 6-бром-1,2-нафтохинон | [10], [11] |  |  |
| 6 |  | Оксолин | 1,2,3,4-тетраоксо-1,2,3,4-тетрагидро-нафталина дигидрат |  |  |  |
| 7 |  | Теброфен | 3,5,3׳,5׳-тетрабром-2,4,2׳,4׳-тетраокси дифенил |  |  |  |
| 8 |  | Риодоксол | 2,4,6-трийодрезорцин |  |  |  |
| 9 |  | Флореналь | бисульфитное соединение 2-флуоренонил-глиоксаля |  |  |  |
| 10 |  | Метисазон | тиосемикарбазон N-метилгуанина |  |  |  |
| 11 |  | Идоксуридин (перецид, офтан-IDU, iduviran) | 5-йод-2׳-дезоксиуридан |  |  |  |
| 12 |  | Ацикловир (ацивир, виролекс, зовиракс, цевирин) | 9-(2-гидрокси) этоксиметилгуанин |  |  |  |
| 13 |  | Ганцикловир (цимевен, cymevene) | 9-(1,3-дигидрокси-2-пропоксиметил) цинин |  |  |  |
| 14 |  | Фармцикловир (фамвир, famvir) | 2-[-(2-амино-9H-пурин-9-ил)этил]-1,-1-пропиндиола диацетат |  |  |  |
| 15 |  | Рибамидил (виразол, рибавирин) | 1-бета-Д-рибофуринозил-1H-1,2,4-тиазол-3-карбоксамид |  |  |  |
| 16 |  | Зидовудин (озидотимидин, ретровир) | 1-(3׳-азидо-2׳-дезоксирибозил) тимидин |  |  |  |
| 17 |  | Фланозид | 7-бета-Д-глюкопиранозид-8-(3-метилбут-2-енил)-4׳,5,7-триоксилфливанон |  |  |  |
| 18 |  | альпизарин | 2-С-бета-Д-(глюкопиранозид)-1,3,6,7-тетраоксиксантон |  |  |  |
| 19 |  | Мегосин | 1,1׳,6,6׳-тетраокси-5,5׳-диизопропил-3,3׳-диметил-7,7׳-диоксо-8,8׳-диметиламиноэтан-сульфокислоты динатриевая соль-2,2׳-динафталина |  |  |  |
| 20 |  | Госсипол | 2,2׳-Ди-(1,6,7-триокси-3-метил-5-изопропил-8-нафтальдегид |  |  |  |
| 21 |  | Полудон | полиаденил-уридиловая кислота |  |  |  |
| 22 |  | Камедон (camedon)  неовир | натриевая соль 10-метиленкарбоксилат-9-акридина |  |  |  |
| 23 |  | Тилорон | 2,7-бис-[2-(диэтиламино)этокси]-флуорен-9-он | [7], [8], [9] |  |  |

# 

# ЛИТЕРАТУРА

1. Машковский М.Д. Лекарственные препараты. Т.2. – Москва «Медицина», 1993.367с.

2. Харкевич Д.А.Фармакология. – Москва «Медицина», 1996.425с.

3. БМЭ/ Под ред. Б.В. Петровского. – М. «Сов. Энциклопедия», 1976. БСЭ/Под ред. Прохорова. – М. «Сов. Энциклопедия», 1976.673с.

5. Машковский М.Д. Лекарственные препараты. Т.2. – Харьков «Торсинг»,1997.423с.

6. Михайлов Клиническая фармакология. – М. «Медицина»,1983, 258с.

7. Andrews. Edwin R, Fleming Roberts W, Girisar J. Martin, Kihm James C. ,Wenstup David L, Mayer Gerald D. «J. Med. Chem», 1974, 17, №8 882 – 886 (англ). (РЖХ, 8ж326, 1975).

8. О синтезе 2,7-бис-[2-(диэтиламино)этокси]-флуорен-9-он. Богатский А. В. Грень А. И. Литвинова Л. А. Лемпарт Г. В. «Доклад АН УССР» 1976г, Б, №7 610 – 612 (ред. англ.). (РЖХ, 7ж141, 1977).

9. Новые пути синтеза хлоргидрата тилорона. Burke Sister M., Jeullie Madeleine M. «Synth. Communs», 1976, 6, №5 371 –376 (англ). (РЖХ, 11ж209, 1977).

10. Получение 6-бромнафтохинона-1,2 с нитрозодисульфонатом калия.«Z. Chem». 1973г, 13, №6, 216 (нем). (РЖХ, 6ж203, 1974).

11. Бонафтон – 14С. Кивокурцева Л. Н., Булот А. Д., Боброва Н. С. «Меченные биологически-активные вещества» (Москва), 1982г, №4, 54-59. (РЖХ, 1ж188, 1983).

12. Прикладная иммунология. Под редакцией Сохина А.А. и Чернушенко Е.Ф.- Киев, 1994

13. Современные аспекты применения интерферонов и других иммуномодуляторов. Сборник научный трудов.- Москва, 1994 г.

14. Лоуренс Д.Р., Бенитт П.Н. Клиническая фармакология.- Москва, 1993 г.

# СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

**Адсорбция** – поглощение газов, паров или жидкостей поверхностным слоем твердого тела (адсорбента) или жидкости.

**Белки** – природные высокомолекулярные органические соединения, построенные из остатков 20 аминокислот, которые соединены пептидными связями в длинные цепи.

**Вирусы** (от лат. Virus – яд), мельчайшие неклеточные частицы, состоящие из нуклеиновой кислоты (ДНК и РНК) и белковой оболочки (капсида).

**Вирион** – полностью сформированная вирусная частица, состоящая из нуклеиновой кислоты и белковой оболочки (капсида). Хранит и переносит генетический материал вируса от одной клетки к другой.

**Вирулентность** – степень болезнетворности (патогенности) данного микроорганизма.

**Гликопротеиды** (мукопротеиды), сложные белки, содержащие углеводные компоненты. К гликопротеидам относятся многие белки плазмы крови (иммуноглобулины, трансферрины и др.), гормоны и др.

**Инфекция** – внедрение и размножение в организме человека или животного болезнетворных микроорганизмов, сопровождающееся комплексом реактивных процессов; завершается инфекционным заболеванием, бактерионосительством или гибелью микробов. Источник возбудителя инфекции заражает здоровых при соприкосновении, через рот (с водой и пищей), воздух (с капельками слюны и слизи), членистоногих переносчиков.

**Ингибиторы** – химические вещества, подавляющие активность ферментов. Используют для изучения механизма действия ферментов, для лечения нарушений обмена веществ, а также в качестве пестицидов.

**Интерферон** – защитный белок, вырабатываемый клетками млекопитающих и птиц в ответ на заражение их вирусами; неспецефический фактор противовирусного иммунитета.

**Капсид** – белковая оболочка вируса, предохраняющая его нуклеиновую кислоту от внешних воздействий. Состоит из отдельных одинаковых структурных единиц – капсомеров.

**Транскрипция** - ферментативный процесс передачи генетической информации одной цепи ДНК для синтеза комплиментарной нуклеотидной последовательности в структуре мРНК

**Трансляция** -процесс использования генетической информации мРНК для синтеза белка соответствующей аминокислотной последовательности

**Липиды** – обширная группа природных органических соединений включающая жиры и жироподобные вещества. Содержатся во всех живых клетках, один из основных компонентов биологических мембран.

**Нуклеиновые кислоты** – высокомолекулярные органические соединения, образованные остатками нуклеотидов. Различают ДНК или РНК кислоты. Выполняют функции передачи и хранения генетической информации, учувствуют в механизмах, при помощи которых она реализуется в процессе синтеза клеточных белков.

**Нуклеозиды** – гликозиды в состав которых входят пуриновое или пиримидиновое основание и углевод рибоза или дезоксирибоза. Содержится в нуклеиновых кислотах и нуклеотидах.

**Паразитизм** – форма взаимоотношений между организмами различных видов, из которых один (паразит) использует другого (хозяина) в качестве среды обитания и источника питания, нанося ему вред.

**Репликация** - процесс самоудвоения нуклеиновых кислот. Осуществляется полуконсервативным способом, когда двуспиральная ДНК деспирализуется и каждая ветвь индуцирует синтез комплементарной себе ветви при участии ДНК- или РНК-полимеразы. Ферментативный процесс репликации разделяют на три этапа: инициация, элонгация (рост цепи) и терминацию.

**Сенсибилизация** – повышение чувствительности организма животного и человека к воздействию каких-либо раздражителей.

**Субстрат** – химическое вещество подвергающееся превращению под действием фермента.

**Углеводы** – обширная группа природных органических соединений. Входят в состав клеточной оболочки и других структур, участвуют в защитных реакциях организма.

**Ферменты** – биологические катализаторы, присутствующие во всех живых клетках.

**Пирогенные вещества** (греч. pyr – огонь + gennao – создавать, производить; син. пирогены) – биологически активные вещества экзогенного (бактериального и вирусного) и эндогенного (клеточно-тканевого) происхождения, обладающие свойством вызывать перестройку уровня регуляции температурного гомеостаза, приводящую к повышению температуры тела и развитию лихорадки.

**Пролиферация** (от лат. proles – потомство и ferre – приносить, производить) – новообразование клеток в организме путем их размножения делением. Процессы деления, лежащие в основе пролиферации – амитоз и митоз. Представление о возможности образования клеток из неоформленной бластомы или “живого вещества”, а не путем пролиферации, в современной науке признаны лишенными основания. Пролиферация лежит в основе физиологической регенерации клеток, происходящей в разных тканях на протяжении всей жизни индивидуума, но с особой интенсивностью и закономерностью имеющей место в кроветворной ткани, эпителиальных покровах. Источником пролиферации при этом служат либо специальные недифференцированные материнские клетки, либо камбиальные элементы.

**Простагландины** – биологически активные вещества, представляющие собой производные полиненасыщенных жирных кислот, молекула которых содержит 20 углеродных атомов.

**Противовоспалительные средства** – лекарственные средства, подавляющие проявления воспалительных процессов.

**Регенерация** (позднелат. regeneratio – возрождение, возобновление) – обновление структур организма в процессе жизнедеятельности и восстановление тех структур, которые утрачены в результате патологических процессов.

**Репарация** – полная или неполная регенерация внутриклеточных структур, клеток, участков ткани или органа, поврежденных в результате какого-либо патологического процесса.

**Таксисы** (греч. taxis – построение, расположение) – двигательные реакции свободно подвижных низших растений, простейших животных, отдельных клеток многоклеточных организмов и микроорганизмов в ответ на действие раздражителя. Движение по направлению к раздражителю называется положительным таксисом, от раздражителя – отрицательным; движение не ориентированное по отношению к раздражителю, обозначают как фоботаксис.

**Фагоцитоз** (phagocytosis; греч. phagos пожирающий + kytos вместилище, здесь – клетка + -osis) – процесс узнавания, активного захвата и поглощения микроорганизмов, разрушение клеток и инородных частиц специализированными клетками иммунной системы. Объектом фагоцитоза являются микробы, чужеродные и измененные собственные клетки или их ферменты, комплексы антиген-антитело и др. Неотъемлемую часть фагоцитоза составляет направленное движение – хемотоксис – фагоцитов к месту локализации чужеродных частиц.

**Цитостатические средства** (cytostatica; греч. kytos вместилище, здесь – клетка + statikos останавливающий; син. цитостатики) – лекарственные средства, подавляющие деление клеток; используется главным образом для лечения злокачественных опухолей.

**Эндокринная система** – система, состоящая из специальных структур, расположенных в центральной нервной системе, различных органах и тканях, а также желез внутренней секреции, вырабатывающих специфические биологически активные вещества (гормоны). Наряду с нервной системой эндокринная система участвует в регуляции функций различных систем, органов и метаболических процессов.

**Протромбин** – предшественник фермента троибина, содержащийся в плазме крови. Под действием протромбина растворенный в крови белок фибриноген превращается в сгустки фибрина, тромбообразующие сосуды. Как и ряд других факторов свертывания крови (факторы VII; IX; X), протромбин синтезируется в печени под влиянием витамина К. Снижение содержания этих факторов в крови, определенное по протромбиновому времени, сопровождается выраженной кровоточивостью и возникает вследствие тяжелых заболеваний печени, недостатка в организме витамина К или нарушения его всасывания в кишечнике, при передозировке или отравлении антикоагулянтами – антагонистами витамина К.

**Хромосома-**(от греч. *хрома* – цвет, краска и *сома*- тело) термин предложен в 1888 году немецким морфологом В.Вальдейером, который обозначал внутриядерные структуры эукариотической клетки, хорошо окрашивающиеся основными красителями. Основной носитель наследственного материала (комплекса генов) в эукариотической клетке. Химическая организация хромосом основана на ДНК и белках, образующих нуклеопротеиновый комплекс. ДНК является материальным носителем свойств наследственности и изменчивости и содержит биологический алгоритм развития клетки, организма. Белки составляют около 65% массы хромосом и выполняют структурирующую и регуляторную функции.

**Эукариоты** -(от греч. eu - хорошо, полностью и karyon - ядро, орех) - организмы, обладающие сформировавшимся клеточным ядром, ограниченного от цитоплазмы оболочкой. Генетический материал заключен в хромосомах. Характерен половой процесс размножения