

УДК 576.858.097.22:615.28

Мартинов А.В., доктор фарм. наук, професор*Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечнікова АМН України (м. Харків);****Бабкіна М.М.**, аспірант***Інститут ветеринарної медицини НААНУ (м. Київ);***Жейнова Н.М.**, кандидат вет. наук ©*Харківська обласна асоціація птахівничої промисловості „Харківптахопром”*

АНТИВІРУСНА АКТИВНІСТЬ АЛЬБУВІРУ НА МОДЕЛЯХ ВІРУСУ ВЕЗИКУЛЯРНОГО СТОМАТИТУ ТА ВІРУСУ ГЕРПЕСУ ЛЮДИНИ 1 ТИПУ IN VITRO

У статті наведені результати дослідження протівірусних властивостей інгібітора адгезії вірусів – нового ветеринарного препарату Альбувір. Показана висока антивірусна активність як на моделі вірусу везикулярного стоматиту, так і вірусу герпесу 1 типу. Обробка культури клітин Альбувіром до внесення вірусу захищає рецептори клітин від адгезії на них ВВС та ВПГ1, доповнює механізм гальмування імпортинів гальмуванням адгезії вірусів. Показано високе значення хіміотерапевтичного індексу для Альбувіру, а саме 50, що підтверджує низьку токсичність препарату.

***Ключові слова:** Альбувір, віруси, везикулярний стоматит, вірус герпесу, токсичність, імпортини.*

Вступ. В останній час був розроблений унікальний за своїми властивостями антивірусний засіб Альбувір. Препарат являє собою композицію кислих пептидів, здатних до самоорганізації та самоадаптації в організмі, механізм яких базується на блокаді пептидів ядерного імпорту/експорту і не дозволяють імпортинам з вірусним геномом перетнути ядерну мембрану чи вийти з ядра фрагментам віріону. Ефект від препарату спостерігається вже через 20 хвилин після застосування [1]. До препарату неможлива адаптація з боку вірусу і організму тварини у зв'язку з тим, що він є квазіживою системою і його композитний фармакофор є унікальним для кожної тварини та вірусу. Особливо ефективний цей препарат при лікуванні захворювань, викликаних вірусами, що швидко розмножуються: параміксовірус, ортоміксовірус і бірнавірус (грип, хвороба Ньюкасла, інфекційний ларинготрахеїт, хвороба Марека та ін.). Препарат не має антимікробної та імунотропної властивостей. Відповідно, перед застосуванням препарату обов'язково необхідно встановлювати етіологічний фактор захворювання і не застосовувати препарат при мікробних захворюваннях або слід комбінувати його з антибіотиками. Застосування ж Альбувіру з раннього віку у тварин виключає мікробну контамінацію завдяки відновленню ураженого латентними вірусами імунітету тварин. Крім того, відносно низький кліренс (4 години) і відсутність кумулятивних властивостей сприяють підвищенню якості м'яса тварин, молока та іншої продукції, тому

що препарат вже через 8 годин у м'ясі неможливо буде виявити. Введення препарату в схеми вирощування птиці може сприяти виключенню з раціону антибіотиків групи фторхінолонів і тетрациклінів, оскільки реабілітований імунітет тварин буде в змозі самостійно справлятися з бактеріальними інфекціями [2].

Метою нашого дослідження було вивчення противірусних властивостей Альбувіру на моделях цитопатичних вірусів ссавців *in vitro*.

Матеріали і методи. У своїх дослідженнях ми використовували антивірусний засіб Альбувір (АЛЬ) виробництва НВП „АгроВет” м. Харків та як контрольний референт-стандарт – ацикловір (АЦК) сухий (Fluka, США).

Віруси: як тест-віруси використовували вірус везикулярного стоматиту (ВВС), штам Indiana, який належить до родини Rabdoviridae та штам Л-2 вірусу герпесу людини 1 типу (ВПГ1), наданий для досліджень ІПКіК НАН України. Інфекційний титр ВВС в культурі клітин Vero складав 6,5-7,0 ТЦД_{50/0,1мл}, а ВПГ1 - 5,5-6,6 ТЦД_{50/0,1 мл}.

Клітини: використовували перещеплювану лінію клітин Vero. Культивування проводили за стандартною методикою [3] на одноразових культуральних планшетах.

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням критеріїв Ст'юдента та Мейнелла.

Результати дослідження. Перед тим як вивчати антивірусну дію, встановлювали максимально переносиму концентрацію (МПК) для дослідженого засобу.

Препарати брали в концентраціях 0,005; 0,05; 0,5; 5 та 50 мкг/мл. Для кожної концентрації препаратів використовували не менш 10 лунок з культурою клітин. Як контрольні були лунки, в які не додавали препаратів. Нагляд вели протягом 7-8 діб. За МПК приймали ту концентрацію препарату, яка не приводила до розвитку ЦПД (цитопатичної дії). Встановлено, що всі досліджені препарати мали МПК 50 мкг/мл. Тому в подальших дослідах вивчалася противірусна дія препаратів в дозах 0,05; 0,5; 5 мкг/мл.

На підставі літературних даних, зокрема робіт Schoen P. [4], який вивчав поліаніонні білки, нами була використана методика обробки клітин препаратами за 1 годину до внесення робочої дози тест-вірусу. Модифікація стандартного методу вивчення профілактичної антивірусної дії речовин полягала в тому, що дослідний препарат не зливався перед внесенням вірусу, а залишався у культурі клітин. Це необхідно для встановлення залежності між зменшенням концентрації препарату при його поглинанні клітинами та противірусною дією. В досліді передбачалися два контролі: контроль культури клітин та контроль дії вірусу без внесення препаратів.

Облік результатів проводили через 48-72 години при наявності 70-80% ЦПД в контролі вірусу.

За мінімальну активну концентрацію приймали ту мінімальну дозу препарату, що стримує цитопатичний ефект вірусу на 75%. Результати порівняння МАК представлені на рис. 1. та рис. 2.

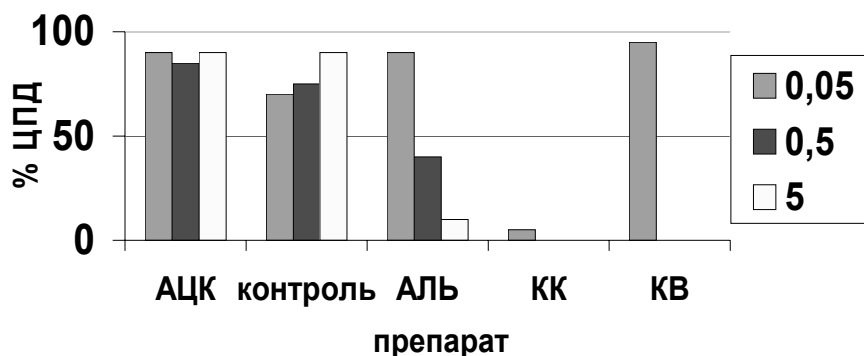


Рисунок 1. Мінімальні активні концентрації дослідних речовин (АЦК- ацикловір, контроль – контроль 0,9% розчин натрію хлориду, АЛЬ- альбувір, КК- контроль культури клітин, КВ - контроль вірусу) на моделі ВВС

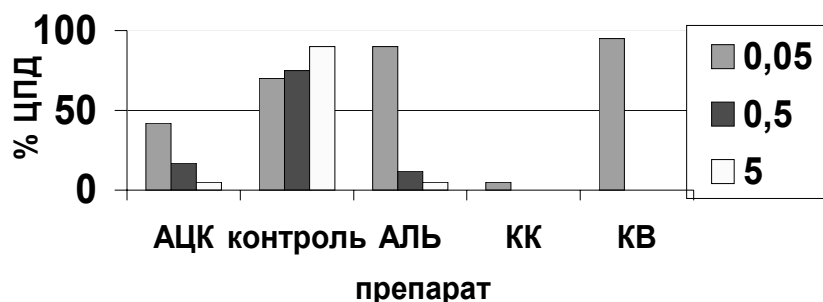


Рисунок 2. Мінімальні активні концентрації дослідних речовин (АЦК- ацикловір, контроль – контроль 0,9% розчин натрію хлориду, АЛЬ- альбувір, КК- контроль культури клітин, КВ - контроль вірусу) на моделі ВПГ1

Середня мінімальна активна концентрація для дослідних речовин отримана слідує: для АЦК МАК=0,5 мкг/мл; для АЛЬ МАК=0,05 мкг/мл для обох вірусів.

Основною характеристикою протівірусної дії препарату є хіміотерапевтичний індекс (ХТІ), що являє собою відношення між МПК та МАК. Для підвищення надійності диференціації антивірусної дії від токсичності при визначенні ХТІ експериментально встановлені значення МПК знижують вдвічі.

Таким чином, МПК для АЛЬ було розраховано як 2,5 мкг/мл. Для порівняння МПК ремантадину 25-50 мкг/мл, ацикловіру – 800 мкг/мл, адамантану 100 мкг/мл [5].

ХТІ для Альбувіру становив 50.

При аналізі отриманих результатів можна сказати, що Альбувір характеризується високою антивірусною активністю щодо ВВС та ВПГ1.

Сильною вважається антивірусна дія препарату, якщо його ХТІ дорівнює 8 та більше.

За літературними даними, ХТІ відносно ВВС для амантадину складає 1-2; для рібавірину 4-8 [5].

Висновки.

Отримані результати дозволяють зробити висновок про значний антивірусний ефект відносно ВВС та ВПГ1 у препараті Альбувір.

Проведені дослідження відкривають перспективу для більш глибокого вивчення як спектру антивірусної активності Альбувіру, так і механізму його дії.

Література

1. Кисличенко, В.С., Квазиживые самоорганизующиеся системы как перспективные лекарственные средств [Текст] / Кисличенко В.С., Мартынов А.В., Упыр Д.В. // Фармація України, Т.1. - 2010. - С. 277.

2. Авдосьева, И. К. Альбувир - первый и единственный антивирусный препарат при профилактике и лечении вирусных болезней животных и птицы [Текст] // Авдосьева И. К., Регенчук В. В., Мельничук И. Л., Басараб О. Б., Жейнова Н. Н., Мартинов А. В. // Эффективне птахівництво. - 2010.- № 7.- С.32-37.

3. Swart, P.J. Lactoferrin. Antiviral activity of lactoferrin [Text] /Swart P.J., Kuipers E.M., Smit C. // Adv. Exp. Med. Biol.- 1998.-Vol. 443.- P.205-213.

4. Schoen, P. Inhibition of influenza virus fusion by polyanionic proteins [Text] / Schoen P., Corver J., Meijer D.K. // Biochem. Pharmacol. - 1997.- Vol. 53. - № 7. - P. 995-1003.

5. Первичное изучение антивирусных свойств синтетических и природных соединений // Методические рекомендации. - Минск. - 1986.

Summary

The results of antiviral properties' studies of the viral adhesion inhibitor, a new veterinary medicine Albuvir was presented. The Albuvir is show a high antiviral activity on a such model virus, as vesicular stomatitis and herpes simplex virus 1 type. Albuvir treatment of cell cultures before viruses added are results in all viral adhesion protection, complementing by viral adhesion the mechanism of importin's inhibition. Shown the high value of the chemotherapeutic index of Albuvir - namely, 50, confirms that the low toxicity of the drug.

Key words: *Albuvir, virus, vesicular stomatitis, herpes simplex virus, toxicity, importin.*

Стаття надійшла до редакції 6.04.2011