

УДК 619:576.535
© 2012

З.С. Клестова,
доктор
ветеринарних наук

О.С. Зоз,

Л.В. Бездітко,
кандидати
ветеринарних наук

О.М. Мельниченко

М.І. Марченко

В.С. Ташута

*Інститут ветеринарної
медицини НААН*

ХІМІОПРОФІЛАКТИКА ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ

Установлено цитотоксичні та противірусні властивості хімічних сполук і їх композицій щодо герпесвірусу коней першого типу в системі *in vitro*. Виявлено її більшу інформативність порівняно з системою *in vivo*. Доведено лікувальний ефект препарату комбіферон під час перебігу рота-коліїнфекції у телят.

Віруси займають провідне місце в інфекційній патології людини, тварин і рослин. Вірусні інфекції характеризуються високою контагіозністю, яка спричиняє їх широке розповсюдження, що зумовлює значний рівень захворюваності, а іноді й смертності серед людей і тварин. До вже відомих вірусних захворювань додаються нові, емерджентні інфекції. Тому пошук нових способів боротьби з вірусними захворюваннями є актуальним. Противірусні препарати вже добре себе зарекомендували в боротьбі з рядом вірусних інфекцій [2, 6–8]. Великим досягненням в їх розробці було застосування аналогів нуклеозидів (аномальних нуклеотидів). Незважаючи на інтенсивний скринінг, кількість ефективних противірусних препаратів для лікування багатьох інфекцій обмежена або й зовсім їх немає. Єдиного універсального засобу, здатного діяти на всі віруси, не винайдено. Фармацевтичний ринок України для гуманної медицини наповнений противірусними препаратами, але їх ефективність може бути низькою через високу мінливість збудників, проти яких вони діяли кілька років тому. Здійснюється пошук нових підходів у створенні противірусних препаратів, зокрема в Інституті ветеринарної медицини [1, 3–5].

Мета роботи — перевірка противірусної дії хімічних сполук: 1) дослідження цитотоксичних та антивірусних властивостей нових речовин (похідних порфіринів, індолів) і відомих фармацевтичних препаратів (ацикловіру, амізону, індометацину, тилорону) під час застосування за новим призначенням, у нових комбінаціях, а також для вивчення у порівняльному аспекті; 2) визначення ефективності препарату комбіферон за асоціативного перебігу рота-коліїнфекції у телят, народжених від корів з різним серологічним статусом щодо лейкозу.

Матеріали і методи досліджень. Використано референтні штами ЮЛ та EQ Herpes 040 герпесвірусу коней (ГВК) I типу (родини *Herpes-*

viridae) з колекції Банку штамів мікроорганізмів Інституту ветеринарної медицини НААН, оцінка біологічних властивостей яких, як і цитотоксичної та антивірусної дії хімічних сполук, здійснена в перещеплюваних культурах клітин (КК) нирок тварин: СНЕВ (ембріону свині), ВНК–21 (новонародженого сирійського хом'ячка), Vero (зеленої африканської мавпи). Гостру токсичність речовин визначали на білих лабораторних мишах з масою тіла 16–18 г (n=240) і мурчаків з масою тіла 280–315 г (n=60). Препарат комбіферон застосовували телятам чорно-рябої породи, народженим від корів РІД-негативних і РІД-позитивних щодо лейкозу, до 20-добового віку з ознаками розладів шлунково-кишкового тракту (за асоційованого перебігу ротавірусної та колиїнфекції) з господарств Житомирської області. Використані хімічні сполуки: а) вісмутові комплекси тетрапіридилпорфірину (Vi-ТПП) і протопорфірину IX (Vi-ППІХ), синтезовані науковцями Б.М. Галкіним, Ю.В. Ішковим, надані проф. Т.О. Філіповою (Одеський національний університет ім. І.І. Мечнікова); б) комерційні фармацевтичні препарати гуманної медицини (ацикловір, амізон, індометацин, тилорон); в) препарат комбіферон (рекомбінантний α -, γ -інтерферон), наданий науковцями кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології НУБіП України (ТУУ 424.4.31404814-656–2002, державна реєстрація № 15–14.89). Статистичну обробку результатів здійснювали за Стьюдентом.

Результати та їх обговорення. Порфірини здатні інгібувати інфекційну активність бактеріофагів, впливаючи на ДНК чи на білкову частину, тому нами були застосовані їх нові похідні, які могли бути ефективними проти ДНК-вміщувальних вірусів тварин, а саме — проти герпесвірусів. Визначені біологічні властивості тестових вірусів сприяли їх адаптуванню до зазначених вище КК, в яких вони виявили високу інфекційну активність. Нами відпрацьовано стадії технології випробування антивірусних властивостей обраних хі-

1. МДК, МАК і ХТІ досліджуваних хімічних речовин щодо герпесвірусу коней I типу в культурі клітин СНЕВ через 96 год (n=10), P<0,05

Хімічна речовина	МДК	МАК	ХТІ
	мкг/см ³		
Тилорон	78,0	7,8	10,0
Ацикловір	562	45	12,49
Амізон	443	35,4	12,51
Індометацин	16	3,88	4,12
Амізон-ацикловір	724	60	12
Індометацин-ацикловір	96	7	13,7

мічних сполук, визначено чутливість до них біологічних моделей та здійснено підбір інтервалу їх оптимальних концентрацій для системи *in vitro*. Встановлено максимально допустимі концентрації (МДК), максимально активні концентрації (МАК) та хімотерапевтичні індекси (ХТІ) (табл.1). Діапазон концентрацій такий: 4 — 2250 мкг/мл (ацикловір); 7 — 3540 мкг/мл (амізон); 8 — 3880 мкг/мл (індометацин); 0,1 — 40 мкМ — для похідних порфіринів.

Визначення МДК усіх сполук було вирішальним для подальшого дослідження їхньої антивірусної дії. МДК обох похідних порфіринів у КК тварин СНЕВ, ВНК-21 та Vero становила 0,1 мкМоль, їхня цитотоксичність (СС) — 1 мкМ

(СС95), 0,4 мкМ (СС50), вони інгібували інфекційну активність герпесвірусів тварин (табл. 2).

Дані (табл. 2, 3) свідчать, що всі препарати мали значний протівірусний ефект. Зазначимо, що препарати амізон та індометацин мали схожу активність, на відміну від «золотого стандарту» — препарату ацикловір, який виявив нижчу протівірусну активність серед тестованих препаратів. Нами вперше доведено дію амізону й індометацину щодо зниження інфекційної активності вірусу герпесу (коней) I типу.

Цікавим, з нашого погляду, виявився препарат індометацин, історія відкриття якого припадає на 1963 р. Він належить до групи похідних індолу — індолоцтової кислоти. Він є одним з найактивніших нестероїдних протизапальних препаратів, антивірусної дії якого досі виявлено не було. Отримані результати доклінічних випробувань у системі *in vitro* виявились обнадійливими для визначення їх відповідності у системі *in vivo*. Ми визначили результати з гострої токсичності досліджуваних хімічних речовин та порівняли їх з даними цитотоксичності (табл. 4).

Досліджувані хімічні речовини у концентраціях, які не перевищували МДК, не викликали порушень гематологічних показників і патолого-анатомічних змін у лабораторних тварин порівняно з контролем. Проте виявилось, що система *in vitro* інформативніша та чутливіша, ніж систе-

2. Антивірусна активність ацикловіру, амізону, індометацину, тилорону, композицій амізон- ацикловір, індометацин-ацикловір та синтетичних похідних порфіринів щодо штаму ЮЛ герпесвірусу коней I типу у перещеплюваній культурі клітин ВНК-21 (n=5, M±m)

Досліджувані препарати та хімічні речовини	Титр інфекційної активності штаму ЮЛ, IgTC ₅₀ /см ³	Інгібіція титру інфекційної активності, IgTC ₅₀ /см ³
Вірус+композиція амізон-ацикловір	4,24±0,02*	2,85±0,02
Вірус+композиція індометацин-ацикловір	2,24±0,02	4,85±0,02
Вірус+амізон	4,00±0,08	3,09±0,04
Вірус+ацикловір	4,54±0,06	2,55±0,02
Вірус+індометацин	4,16±0,03	2,93±0,01
Вірус+тилорон	4,82±0,25	2,27±0,21
Вірус+Vi-ТГП	5,30±0,25	1,79±0,21
Вірус+Vi-ППІХ	5,36±0,17	1,73±0,13
Вірус+Vi-ТХП	5,12±0,04	1,97±0,15
Контроль вірусу	7,09±0,04	—

* P<0,05 (до табл. 2, 3).

3. Антивірусна активність ацикловіру, амізону, індометацину і композицій амізон-ацикловір та ацикловір-індометацин у культурі клітин СНЕВ через 96 год (n=3, M+m)

Досліджувані препарати	Титр інфекційної активності штаму ЮЛ, IgTC ₅₀ /см ³	Інгібіція титру інфекційної активності, IgTC ₅₀ /см ³
Вірус+композиція препаратів амізон- ацикловір	3,47±0,02*	3,62±0,02*
Вірус+композиція препаратів індометацин- ацикловір	1,55±0,04	5,54±0,04
Вірус+амізон	4,24±0,12	2,85±0,08
Вірус+ацикловір	5,17±0,07	1,92±0,09
Вірус+індометацин	4,30±0,03	2,79±0,01
Контроль вірусу	7,09±0,04	—

4. Оцінка співвідношення даних цитотоксичності у системі *in vitro* та гострої токсичності препаратів у системі *in vivo*

Речовина (препарат)	Нетоксичні концентрації в системі <i>in vivo</i> , мг/кг	МДК у системі <i>in vitro</i> , мкг/см ³	LD ₅₀ , мг/кг	CC ₅₀ , мкг/см ³	Клас небезпечності
Ацикловір	≤562	562	1125	1125	III
Амізон	≤885	443	1770	885	III
Індометацин	≤970	16	1500	122	III
Тилорон	≤625	78	1250	156	III
Амізон-ацикловір	≤724	724	1447	1447	III
Індометацин-ацикловір	≤383	96	766	383	III
Ві-ТПП, мкМ	≤4	0,1	40	0,4	III
Ві-ППІХ, мкМ	≤4	0,1	40	0,4	III
Ві-ТХП, мкМ	≤4	0,1	40	0,4	III

ма *in vivo*. Дослідні препарати виявили протівірусну дію до ГВК. Однак найефективнішим було застосування композиції препаратів ацикловір — індометацин ($P \leq 0,05$).

Ми вперше застосували 3 вживаних у гуманній медицині препарати для ветеринарної медицини, особливо в таких поєднаннях. Індометацин не є протівірусним засобом, а амізон не застосовують проти герпесвірусів I та II типів, що відрізняє наші результати від уже відомих. Нами встановлено підсилення протівірусної активності амізону й індометацину за одночасного застосування з ацикловіром. Усі досліджувані сполуки нетоксичні в МДК.

Крім того, нами вперше обґрунтовано ефективність застосування препарату комбіферон у

разі асоціативного перебігу рота-коліїнфекції, що була найпоширенішою у новонароджених телят. Виявлено, що серологічний статус щодо лейкозу корів-матерів не впливав на частоту її прояву серед телят (коефіцієнт кореляції $r=0,11$). Установлено, що введення тваринам препарату внутрішньом'язово у дозі по 1 млн МО/гол. двічі на добу протягом 5 днів сприяло пришвидшенню їх одужання в середньому на 2–3 доби та полегшувало перебіг розвитку інфекційного процесу порівняно з базовим лікуванням. Результати досліджень впроваджено у ветеринарну практику господарств Житомирської, Дніпропетровської, Рівненської та Хмельницької областей України, а також господарств Мінської області Республіки Білорусь.

Висновки

Вперше виявлено антивірусну дію ацикловіру, амізону, індометацину, тилорону, їх композицій, а також вісмутових комплексів похідних порфіринів щодо герпесвірусів тварин I тилу та розроблено схему первинного скринінгу та доклінічних випробувань протівірусних властивостей речовин у системі *in vitro*,

яку можна рекомендувати ветеринарній медицині. Розроблено та успішно впроваджено лікувальну схему застосування препарату комбіферон у разі асоціативного перебігу рота-коліїнфекції у телят, народжених від матерів з різним серологічним статусом щодо лейкозу.

Бібліографія

1. Бездітко Л.В. Лікувальна ефективність препарату Комбіферон в умовах змішаної інфекції у телят/Л.В. Бездітко//Наук. вісн. НАУ. — 2003. — Вип. 64. — С. 172–175.
2. Исаков В.А., Сельков С.А., Моштова Л.К., Чернакова Г.М. Современная терапия герпесвирусных инфекций/Руководство для врачей. — СПб., 2004. — 168 с.
3. Клестова З.С., Ташута В.С. Актуальність досліджень протівірусних властивостей похідних індолу/З.С. Клестова, В.С. Ташута//Вет. біотехнологія. — 2012. — № 20. — С. 52–61.
4. Клестова З.С., Філіпова Т.О., Зоз О.С. та ін. Вивчення антивірусної активності синтетичних похідних порфіринів//Тези доповідей XII з'їзду ТМУ ім. С.М. Виноградського. — Ужгород, 2009. — С. 437.
5. Пат. № 54630 Україна. Спосіб зниження інфекційних властивостей герпесвірусу коней/Клестова З.С., Зоз О.С.; № u200911116; заявл. 03.11.2009; опубл. 25.11.2010.
6. Сучасний нестероїдний протизапальний препарат та індуктор інтерферону Амізон: перспективи застосування/Бухтіарова Т.О., Даніленко В.П., Хоменко В.С., Шатиркіна Т.В., Ядловський О.Е.//Укр. мед. часопис. — 2003. — № 1. — С. 72–74.
7. Dunkle L.M., Arvin A.M., Whitley R.J. et al. A controlled trial of acyclovir for chickenpox in normal children//N Engle J. Med. — 1991. — 28, № 325 (22). — P. 1539–1544.
8. Elion G.B. Acyclovir: Discovery, mechanism of action, and selectivity//J. Med. Virology. — 1993. — 41, Is. S1. — P. 2–6.