

УДК578.832

П.Г. Алексюк*, И.А. Зайцева, М.С. Алексюк, Н.С. Соколова,
 А.С. Турмагамбетова, А.П. Богоявленский, В.Э. Березин
 РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, г. Алматы, Казахстан,
 *e-mail: pagenal@bk.ru

Изучение терапевтической и профилактической активности комплексного растительного препарата «Иммувир»

Вирусные инфекции до сих пор являются одной из основных проблем человечества, угрожая здоровью и жизни человека, а также причиняя огромный экономический ущерб. Одним из путей решения данной проблемы, поиск и разработка принципиально новых, высокоэффективных противовирусных препаратов.

Целью настоящей работы являлось сравнительное изучение в опытах на цыплятах профилактической и терапевтической активности комплексного растительного препарата «Иммувир» и коммерческих препаратов: рибавирин, гевиран, ремантадин по отношению к вирусу гриппа штамм А/FPV/Rostock/34.

В результате проведенных исследований, было установлено, что активность препарата «Иммувир» сопоставима с терапевтической активностью препарата рибавирин и превышает терапевтическую и профилактическую активность препаратов гевиран и ремантадин.

Ключевые слова: растительный противовирусный препарат, профилактическая, терапевтическая активность.

П.Г. Алексюк, И.А. Зайцева, М.С. Алексюк, Н.С. Соколова, А.С. Турмагамбетова,
 А.П. Богоявленский, В.Э. Березин

"Иммувир" кешенді өсімдік препаратының терапиялық және алдын- ала емдеу белсенділігін байқау

Вирустық инфекциялар қазіргі уақытқа дейін адамзаттың негізгі мәселесі болып отыр, адам денсаулығының және адам өмірінің экономикалық шығынын тигізіп отыр. Ең негізгі мәселелердің бірі болып, жаңа әрі жоғары вирусқа қарсы препараттарды өндіру басты мәселе болып отыр.

Жұмыстың ең басты мақсаты- салыстырмалы түрде зерттей келе балапандарды алдын- ала емдеу және терапиялық емдеу өсімдіктестес препараттарының белсенділігі арқылы, «Иммувир» және коммерциялық препарат: рибавирин, гевиран, ремантадин препараттарының тұмау вирусының А/FPV/Rostock/34 штаммының қосылысымен зерттеу.

Жүргізілген зерттеулер нәтижесі бойынша, «Иммувир» препаратының терапиялық белсенділігі сәйкес келеді, рибавирин препараты болса терапиялық және алдын- алу белсенділігі гевиран және ремантадин препаратына сәйкес.

Түйін сөздер: өсімдіктестес вирусқа қарсы препарат, алдын-ала емдеу, терапиялық белсенділік.

P.G. Alexyuk, I.A. Zaitseva, M.S. Alexyuk, N.S. Sokolova, A.S. Turmagambetova, A.P. Bogoyavlenskiy, V.E. Berezin

Study of therapeutic and prophylactic activity of complex herbal preparation "Immuvir"

Viral infections are still one of the main problems of humanity, threatening human health and life, as well as causing enormous economic damage. One way to solve this problem is the search for and development of fundamentally new, highly effective antiviral preparations.

The aim of this work was the comparative study preventive and therapeutic activity of complex herbal preparation "Immuvir" and commercial drugs: ribavirin, geviran, rimantadine against influenza virus A/FPV/Rostock/34 strain in experiments on chickens.

As a result of studies, it was found that the activity of the preparation "Immuvir" is comparable with therapeutic activity of preparation ribavirin and exceeds the therapeutic and prophylactic activity of geviran and rimantadine preparations.

Keywords: plant antiviral preparation, preventive, therapeutic activity.

Доля вирусных заболеваний в структуре инфекционной патологии в Республике Казахстан составляет более 50%, а суммарный экономический ущерб от гриппа и ОРЗ

достигает не менее 85,5% от общих потерь, вследствие инфекционных заболеваний. В последние годы отмечена четкая тенденция к увеличению частоты этой патологии, все чаще

приходится сталкиваться с этой проблемой не только у детей подросткового возраста, но и молодых людей в возрасте 20-30 лет. Болезни проявляют себя затяжными и рецидивирующими формами, нередко резистентными к общепринятым методам терапии, включающим противовирусные и антибактериальные препараты [1].

На сегодняшний день, несмотря на имеющиеся многочисленные работы в области создания безвредных и эффективных противовирусных средств широкого спектра действия, лишь единичные препараты используются в химиотерапии вирусных инфекций (тамифлю, рибавирин, ремантадин, азидотимидин) [2-3].

Поиск антивирусных препаратов, специфически блокирующих вирусную инфекцию, но не повреждающих клетки организма, является весьма сложной задачей, поэтому результаты многолетних поисков антивирусных веществ оказались весьма скромными и увенчались открытием единичных химиопрепаратов, обладающих узким спектром действия. Кроме того, до сих пор остается малоизученной проблема взаимодействия соединений, обладающих антивирусными свойствами, с мишенями клетки-хозяина, а также зависимости антивирусной активности от структурных характеристик лекарственных препаратов [4].

Изучение уникальных соединений, выделенных из растений флоры Казахстана и создание на их основе новых высокоэффективных препаратов, обладающих противовирусными и иммуномодулирующими свойствами, является весьма перспективным направлением.

Огромное разнообразие биологически активных соединений, находящихся в растениях, позволяет рассчитывать на возможность получения новых высокоактивных препаратов, способных блокировать различные вирусы, в том числе, резистентные к существующим коммерческим химиопрепаратам. Обнаружение в составе некоторых растений биологически активных веществ, обладающих как антивирусной активностью, так и иммуностимулирующими свойствами, позволяет рассчитывать на создание нового класса лекарственных препаратов, сочетающих способность

подавлять репродукцию вирусов со стимуляцией естественных иммунных защитных механизмов организма. Подобные препараты, сочетающие в себе иммуностимулирующие и противовирусные свойства, можно рекомендовать для лечения и профилактики инфекционных заболеваний, ассоциированных с иммунодефицитным состоянием, в том числе таких, как грипп, ВИЧ, гепатит С и др. [5, 6].

Целью настоящих исследований является сравнительное изучение в опытах на цыплятах профилактической и терапевтической активности комплексного растительного препарата «Иммувир» и коммерческих препаратов: рибавирин, гевиран, ремантадин по отношению к вирусу гриппа штамм A/FPV/Rostock/34.

Материалы и методы

Инфекционность вирусов. Инфекционный титр ортомиксовирусов определяли титрованием на куриных эмбрионах методом предельных разведений. О наличии вируса судили по реакции гемагглютинирующей активности. Титр инфекционности вирусов высчитывали по методу Рида и Менча [7].

Гемагглютинирующую активность вирусов определяли по стандартной методике с использованием 1% взвеси куриных эритроцитов или эритроцитов морской свинки [8].

Определение концентрации белка. Концентрацию белка определяли по методу Bradford с использованием красителя Кумасси G-250. Оптическую плотность определяли при длине волны 595нм [9].

Концентрация и очистка вирусов. Вирусосодержащую аллантоисную жидкость осветляли центрифугированием при 4500 об./мин. в течение 30 мин. Вирусы концентрировали осаждением из аллантоисной жидкости путем центрифугирования при 29000 об./мин. (80000g) в течение 120 мин. при 4 0С. Концентрированные вирусы очищали центрифугированием в ступенчатом градиенте сахарозы 20%-40%-60% на фосфатно-солевом буфере (ФСБ), при 29 000 об./мин в течение 120 мин. при 4 0С. Вирусосодержащий материал на границе раздела между 20% и 40% растворами сахарозы собирали, разводили ФСБ в 5-10 раз и вирус пересаждали центрифугированием при 29000

об./мин. в течение 90 мин при 4 0С. Полученный осадок вируса растворяли в ФСБ, определяли гемагглютинирующую активность и концентрацию белка [10].

Математическая обработка результатов. Для математической обработки результатов использовали стандартные методы нахождения средних значений и их средних ошибок [11].

Результаты и их обсуждение

Изучение профилактического и терапевтического действия комплексного растительного препарата «Иммувир» в отношении вируса гриппа птиц, штамм А/FPV/Rostock/34 проводили в опытах *in vivo* на модели цыплят. Профилактическую и терапевтическую активность препарата «Иммувир» сравнивали с активностью коммерческих препаратов рибавирин, гевиран и ремантадин, в качестве контроля цыплятам вводили изотонический раствор хлорида натрия (плацебо). Доза препарата «Иммувир» составляла 1,8 мг/цыплёнок, дозы коммерческих препаратов высчитывались в соответствии с инструкцией по их применению и составляли: рибавирин – 5 мг/цыплёнок;

гевиран – 6,66 мг/цыплёнок; ремантадин – 8,33 мг/цыплёнок.

При изучении профилактической активности экспериментальной группы цыплят состоящей из 7 особей в течение 3 дней интраназально давали препарат «Иммувир», остальные группы цыплят из 10 особей также в течение 3 дней получали коммерческие противовирусные препараты рибавирин, гевиран, ремантадин. Контрольной группе цыплят интраназально в объёме 0,1 мл/цыпленок вводили плацебо.

Через 3 дня всех цыплят заражали вирусом А/FPV/Rostock/34 в дозе 100 ЭИД₅₀/0,1мл на цыпленка. Наблюдения за цыплятами вели в течение 7 дней.

Результаты эксперимента показали (таблица 1), что выживаемость цыплят, после заражения вирусом А/FPV/Rostock/34 в дозе 100 ЭИД₅₀/0,1мл в группе которой интраназально вводили комплексный растительный препарат «Иммувир» составила не менее 85%. В группах которым вводили коммерческие препараты ремантадин, рибавирин и гевиран, выживаемость составила 30%.

Таблица 1 - Изучение профилактического действия препаратов на модели вируса гриппа штамм А/FPV/Rostock/34

Препарат (доза на цыпленка)	Число павших цыплят / Общее количество цыплят	% выживания
плацебо	10/10	0,0
Иммувир	1/7	85,7
Рибавирин, 5,000мг	7/10	30,0
Гевиран, 6,660мг	7/10	30,0
Ремантадин, 8,330мг	7/10	30,0
контроль	0/10	100,0

Для изучения терапевтического действия комплексного растительного препарата «Иммувир» в отношении вируса гриппа штамм А/FPV/Rostock/34 подопытных цыплят вначале заражали вирусом А/FPV/Rostock/34 в дозе 100 ЭИД₅₀/0,1мл на цыпленка. После заражения вирусом гриппа цыплятам в течение последующих 3 дней наблюдения интраназально вводили исследуемые препараты в указанных выше дозах, контрольной группе заражённых цыплят вводили плацебо.

В результате проведённого эксперимента было показано (таблица 2), что в группе, которой давали растительный препарат «Иммувир», выживаемость цыплят после заражения вирусом А/FPV/Rostock/34 в дозе 100 ЭИД₅₀/0,1мл составила 100%. В свою очередь, выживаемость цыплят в группах, которым давали коммерческие препараты рибавирин составила 60%, гевиран и ремантадин 30%.

Таблица 2 – Изучение терапевтического действия препаратов на модели вируса гриппа штамм A/FPV/Rostock/34

Препарат (Доза на цыпленка)	Число павших цыплят/ Общее количество цыплят	% выживания
плацебо	10/10	0,0
Иммувир	0/10	
5,000 мг рибавирин	4/10	60,0
6,660 мг гевиран	7/10	30,0
8,330 мг ремантадин	7/10	30,0
контроль	0/10	100,0

В результате сравнительного изучения профилактического и терапевтического действия комплексного растительного препарата «Иммувир» и коммерческих препаратов (рибавирин, гевиран, ремантадин) было установлено, что активность препарата «Иммувир» сопоставима с терапевтической активностью препарата рибавирин и превышает

терапевтическую и профилактическую активность препаратов гевиран и ремантадин. Поэтому комплексный растительный препарат «Иммувир» является весьма интересным и перспективным средством применяемым для эффективного лечения и профилактики респираторных вирусных инфекций

Литература

- 1 Парамонова Н.С., Волкова О.А. Проблемы острых респираторных вирусных заболеваний в педиатрии // Ж-л Медицина. – 2006. – №4. – С.66-67.
- 2 Bernet J., Mullick J., Singh A.K., Sahu A. Viral mimicry of the complement system // J. Biosci. – 2003. – №3. – P. 249-264.
- 3 Monto A.S. Antivirals and influenza: frequency of resistance // *Pediatr Infect Dis J.* – 2008. – Vol. 10. – P. 110-122.
- 4 Yamashita M., Tomozawa T., Kakuta M., Tokumitsu A., Nasu H., Kubo S. CS-8958, a prodrug of the new neuraminidase inhibitor R-125489, shows long-acting anti-influenza virus activity // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2008. – Vol.5. – P. 343-350.
- 5 Chen C., Ron Y. New strategies for immune-mediated anti-viral drug and vaccine development // *Curr. Pharm. Des.* – 2006. – Vol.12, №11. – P.1391-401.
- 6 Alcamí A. Viral mimicry of cytokines, chemokines and their receptors // *Nat. Rev. Immunol.* – 2003. – Vol.3, №1. – P. 36-50.
- 7 Reed L., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints // *Amer.J. Hyg.* – 1938. – Vol. 27. – P. 493-497.
- 8 Закстельская Л.Я., Шендерович С.Ф. Метод удаления неспецифических ингибиторов гемагглютинации из диагностических и постинфекционных сывороток // *Вопросы вирусологии.* – 1979. – №5. – С. 560-561.
- 9 Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding // *Anal.Biochem.* – 1976. – Vol.72. - № 1. – P. 248-254.
- 10 Chucholowius H., Rott R. A new method for purification of myxoviruses by zonal centrifugation with two different sucrose density gradients // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* – 1972. – Vol. 8. – P. 295-297.
- 11 Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. - М.: Медицина, 1975. – 296 с.