

Изучение профилактической эффективности нового отечественного препарата Ингавирин® в отношении возбудителя гриппа А (H3N2)

С. Я. ЛОГИНОВА¹, С. В. БОРИСЕВИЧ¹, В. А. МАКСИМОВ¹, В. П. БОНДАРЕВ¹, В. Е. НЕБОЛЬСИН²

¹ Филиал ФГУ «48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны Российской Федерации» — «Вирусологический центр», Сергиев Посад

² ОАО «Валента Фармацевтика», Москва

Investigation of Prophylactic Activity of Ingavirin®, a New Russian Drug, Against Grippe A Virus (H3N2)

S. YA. LOGINOVA, S. V. BORISEVICH, V. A. MAKSIMOV, V. P. BONDAREV, V. E. NEBOLSIN

Central Research Institute No. 48 of the Ministry of Defense of the Russian Federation, *Sergiev Posad*
Valenta Farmaceutica, *Moscow*

Экспериментальное изучение эффективности препарата Ингавирин® в отношении вируса гриппа А (H3N2) на интраназально инфицированных белых мышах в сравнении с препаратами (Тамифлю®, Ремантадин® и Арбидол®) выявило, что исследуемое лекарственное средство при применении по схеме профилактики в дозах 5–10 мг/кг эффективно защищает животных от гибели, а также подавляет формирование специфического гемагглютинина и репродукцию вируса (по накоплению) в лёгких.

Ключевые слова: грипп А, Ингавирин®, противовирусная эффективность, профилактика.

Antiviral efficacy of Ingavirin® was studied on albino mice infected intranasally by the grippe A virus (H3N2) vs. Tamiflu®, Remantadin® and Arbidol®. Ingavirin® used prophylactically in doses of 5 to 10 mg/kg was shown to be effective in protecting the animals from death and inhibiting the specific hemagglutinin formation and the virus reproduction in the lungs (by the accumulation).

Key words: grippe A, Ingavirin®, antiviral efficacy, prophylaxis.

Широкая циркуляция в различных регионах мира резистентных штаммов вируса гриппа А к наиболее эффективным противогриппозным препаратам Ремантадину® (римантадин) и Тамифлю® (осельтамивир) свидетельствует об актуальности поиска новых эффективных противовирусных препаратов выбора.

Целью настоящей работы является оценка профилактической эффективности отечественного препарата Ингавирин® в отношении экспериментальной формы гриппозной инфекции у белых мышей, интраназально инфицированных вирусом гриппа, штамм А/Аichi/2/68 (H3N2).

Материал и методы

Вирус. В работе использовали адаптированный к лёгким белых мышей вирус гриппа, штамм А/Аichi/2/68 (H3N2), полученный из ГУ «НИИ вирусологии» им. Д. И. Ивановского РАМН. Штамм А/Аichi/2/68 вируса гриппа, подтип H3N2,

является прототипным по отношению к основным подтипам, циркулирующим в настоящее время, и хранится в специализированной коллекции филиала ФГУ «48 ЦНИИ Минобороны России — ВЦ».

Исследуемый препарат. Ингавирин® — производства ОАО «Валента Фармацевтика», Россия.

Референс-препараты. Тамифлю® (осельтамивир) — производства фирмы Хоффманн — Ла Рош Лтд., Швейцария; Арбидол® — производства ЗАО «Мастерлек», Россия. Ремантадин® (римантадин) — производства ООО «Розфарм», Россия.

Лабораторные животные. Для моделирования экспериментальной формы гриппа А использовали белых мышей массой 10–12 г, полученных из вивария филиала ФГУ «48 ЦНИИ Минобороны России — ВЦ».

Наблюдение за инфицированными животными проводили в течение 14 суток. Титрование возбудителя гриппа А проводили на 9-суточных развивающихся куриных эмбрионах (РКЭ).

Оценка противовирусной эффективности используемых лекарственных препаратов проводилась в соответствии с требованиями Фармакологического государственного комитета РФ [2]. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью критерия Стьюдента [1].

Основными критериями оценки эффективности препаратов *in vivo* являлись:

— показатели защиты лабораторных животных от гибели;

© Коллектив авторов, 2008

Адрес для корреспонденции: 117105 Москва, Нагатинская ул, д. 3а, ГНЦА

Таблица 1. Результаты оценки профилактической эффективности препарата Ингавирин® в отношении экспериментальной гриппозной инфекции у белых мышей, интраназально инфицированных вирусом гриппа*

Препарат	Количество опытов, <i>n</i>	Доза препарата, мг/кг	Гибель животных, %, $X_{cp} \pm \sigma_{xcp}$	Удлинение средней продолжительности жизни в группе, сутки, $X_{cp} \pm \sigma_{xcp}$	Защита от гибели, %, $X_{cp} \pm \sigma_{xcp}$
Ингавирин®	3	5,0	43,3±1,7	4,8±0,1	56,7±1,7
	3	10,0	38,3±1,7	5,1±0,2	61,7±1,7
Тамифлю®	7	13,0	22,9±1,8	6,0±0,1	78,9±1,8
Ремантадин®	5	16,0	22,0±1,4	6,2±0,1	78,0±1,4
Арбидол®	7	30,0	57,1±2,0	3,3±0,1	42,9±2,0

Примечание. * — в каждой группе животных было по 20 мышей.

Таблица 2. Результаты изучения динамики и уровня подавления репродукции вируса в лёгких белых мышей, интраназально инфицированных вирусом гриппа, штамм А/Aichi/2/68 при профилактике препаратом Ингавирин®*

Препарат	Доза препарата, мг/кг	Время отбора проб после инфицирования, ч	Уровень накопления вируса, lgЭИД ₅₀ /мл	Снижение уровня накопления вируса, Δlg	Коэффициент ингибирования, %		
Ингавирин®	5	12	0	2,5	100		
		24	0	3,2	100		
		48	0,5	3,0	99,99		
		72	1,8	3,4	99,97		
		96	2,2	3,3	99,95		
	10	120	2,8	3,4	99,97		
		12	0	2,5	100		
		24	0	3,2	100		
		48	1,0	2,5	99,99		
		72	2,1	3,1	99,95		
		96	2,5	3,0	99,97		
		120	3,0	3,2	99,97		
		Тамифлю®	13	12	0	2,5	100
				24	0	3,2	100
				48	0	3,5	100
72	1,5			3,7	99,98		
96	2,0			3,5	99,97		
Ремантадин®	16	120	2,0	4,2	99,99		
		12	0	2,5	100		
		24	0	3,2	100		
		48	0	3,5	100		
		72	1,2	4,0	99,99		
Арбидол®	30	96	2,3	3,2	99,9		
		120	2,3	3,9	99,98		
		12	0	2,5	100		
		24	0,9	3,2	100		
		48	1,5	2,0	99,0		
Контроль (без препарата)		72	2,5	2,7	99,8		
		96	3,1	2,4	99,8		
		120	4,2	2,0	99,0		
		12	2,5	—	—		
		24	3,2	—	—		
48	3,5	—	—				
72	5,2	—	—				
96	5,5	—	—				
120	6,2	—	—				

Примечание. * — на каждую пробу для определения ЭИД₅₀/мл использовали по 30 РКЭ.

- средняя продолжительность жизни (СПЖ) животных в группе;
- снижение уровня накопления вируса в лёгких (Δlg).

Результаты и обсуждение

Оценку профилактической эффективности Ингавирина® в отношении вируса гриппа,

штамм А/Aichi/2/68 (H3N2), проводили *in vivo* на белых мышках массой 10—12 г, инфицированных интраназально в дозах 10—15ЛД₅₀. Ингавирин® вводили животным перорально в дозах 5,0 и 10,0 мг/кг массы животных. Референс-препараты Тамифлю® вводили животным перорально в дозе 13 мг/кг; Ремантадин® — в дозе 16 мг/кг, Арби-

Таблица 3. Результаты изучения динамики и уровня подавления образования специфического гемагглютинаина на вирусу в лёгких белых мышей, интраназально инфицированных вирусом гриппа, штамм А/Аichi/2/68 ($n=3$)

Препарат	Доза препарата, мг/кг	Коэффициент ингибирования формирования гемагглютинаина вирусом гриппа после инфицирования, %, $X_{ср.} \pm \sigma_{ср.}$ через, ч					
		12	24	48	72	96	120
Ингавирин®	5	100±0	66,7±8,3	87,5±0,0	79,2±4,2	75,0±0,0	75,0±0,0
	10	100±0	66,7±8,3	66,7±8,3	75,0±0,0	75,0±0,0	75,0±0,0
Тамифлю®	13	100±0	100±0,0	89,6±2,1	89,6±2,1	93,8±0,0	100±0,0
Ремантадин®	16	100±0	91,7±8,3	87,5±0,0	87,5±0,0	89,6±2,1	91,7±8,3
Арбидол®	30	100±0	66,7±8,3	66,7±8,3	66,7±8,3	75,0±0,0	66,7±8,3

дол® — в дозе 30,0 мг/кг. Все препараты вводили в течение 5 суток до инфицирования ежедневно, 1 раз в сутки.

Наиболее эффективно (57–62%) Ингавирин® защищает инфицированных животных в дозах 5 и 10 мг/кг соответственно (табл. 1). При этом наблюдали значительное увеличение (4,8–5,1 суток) показателя СПЖ белых мышей по сравнению с контрольной группой нелеченых животных.

Защитная эффективность референс-препарата Тамифлю® в дозе 13 мг/кг составила в среднем 78,9%, увеличение СПЖ — 6,0 суток. Защитная эффективность препарата сравнения Ремантадин® в дозе 16 мг/кг составила в среднем 78%, увеличение СПЖ — 6,2 суток.

Наименьшую профилактическую эффективность в отношении экспериментальной гриппозной инфекции показал Арбидол®. В дозе 30 мг/кг препарат защищает около 43% инфицированных лабораторных животных, увеличение СПЖ — 3,3 суток.

Изучение влияния Ингавирина® на динамику и уровень репродукции вируса гриппа, штамм А/Аichi/2/68, в лёгких белых мышей массой 10–12 г выявило, что Ингавирин® во всех изученных дозах на протяжении всего срока наблюдения эффективно подавлял репродукцию вируса гриппа в лёгких животных (табл. 2). При этом статистически достоверных отличий в эффективности подавления репродукции вируса препаратом в дозах 5 и 10 мг/кг не наблюдалось (с вероятностью 95%).

В первые сутки после инфицирования только в лёгких белых мышей контрольной группы (без применения препарата) был выделен вирус. Во всех опытных группах животных возбудитель выявить не удалось, за исключением группы животных, получавших Арбидол®. В этой группе через 24 ч после инфицирования возбудитель был выявлен в концентрации 0,9 lgЭИД₅₀/мл.

В течение 48 ч после инфицирования животных референс-препараты Тамифлю® и Ремантадин® полностью ингибировали репродукцию вируса гриппа. Наименьшую эффективность — уровень накопления вируса составил 1,5 lgЭИД₅₀/мл, выявил Арбидол®. Особенно в период совпадающий с гибелью животных.

Через 72 ч. снижение уровня накопления вируса в лёгких под воздействием Тамифлю® составило 3,7 lg, Ремантадина® — 4,0 lg, Арбидола® — 2,7 lg, Ингавирина® в дозах 5 и 10 мг/кг — 3,4 lg и 3,1 lg соответственно. На пике инфекции на 4–5 сутки (начало гибели животных) подавление репродукции вируса Ингавирином® в дозе 5 мг/кг и 10 мг/кг составило 99,97%, Тамифлю® и Ремантадином® — 99,99 и 99,98% соответственно, Арбидолом® — 99,00%.

Результаты изучения способности Ингавирина® подавлять формирование специфического гемагглютинаина в лёгких инфицированных белых мышей (табл. 3) свидетельствуют о том, что препарат с целью профилактики более эффективен в дозе 5 мг/кг (соответствует равноэквивалентной дозе для человека 30 мг/сутки), чем в дозе 10 мг/кг. На протяжении всего срока наблюдения отмечено подавление образования вирусспецифического гемагглютинаина в органе-мишени. Коэффициент ингибирования образования гемагглютинаина Ингавирином® был выше, чем Арбидолом®.

Таким образом, выявлена и подтверждена профилактическая эффективность нового отечественного препарата Ингавирин® в отношении гриппа А. Ингавирин® на протяжении всего срока наблюдения статистически достоверно ($p < 0,05$) подавляет репродукцию вируса в органе-мишени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: 1990.
2. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Минздрав РФ, 2005.