

ПОЛУЧЕНИЕ НОВОГО СУБЛИНГВАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ИНТЕРФЕРОНА И ДСРНК

О.С. Иванова, Е.С. Башкина, С.В. Усова, Г.М. Левагина, Е.Д. Даниленко

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская область, Россия

Введение. Эволюция вирусов гриппа, приводящая к появлению новых вирусных вариантов, высокий эпидемический потенциал гриппозной инфекции свидетельствуют о том, что поиск новых противовирусных препаратов по-прежнему не теряет своей актуальности. В настоящее время накоплен значительный опыт применения в качестве лечебно-профилактических препаратов при возникновении новых вирусных штаммов неспецифических лекарственных средств, к которым относятся, в частности, интерфероны и индукторы интерферона [1,2]. Применение препаратов интерферонов обеспечивает запуск механизмов противовирусной защиты и препятствует размножению вируса [3]. Индукторы интерферона на основе дсРНК оказывают защитный эффект в отношении широкого спектра вирусов (грипп, герпес, клещевой энцефалит, ВИЧ и т.д.), в том числе, особо опасных (вирус лихорадки долины Рифт, ортопоксвирусы) [1-4]. Данные о повышении противовирусной эффективности интерферонов и индукторов при их сочетанном применении [5] позволяют говорить о перспективности их объединения в составе одного препарата с целью получения высокоэффективного противовирусного лекарственного средства.

Особый интерес представляет сублингвальное введение препаратов, т.к. оно является альтернативным методом системной доставки лекарственных средств [6]. Следовательно, разработка сублингвальной формы лекарственного средства, содержащего в составе интерферон и индуктор интерферона, представляется весьма актуальной задачей.

Цель. Получение и исследование нового противовирусного препарата, содержащего интерферон альфа-2b человека и дрожжевую двуспиральную РНК в сублингвальной форме.

Материалы и методы. Метод получения препаратов для сублингвального применения, содержащих дсРНК и рекомбинантный ИФН- α 2b, включал в себя следующие стадии: смешение сухой смеси лактозы и крахмала, добавление поливинилпирролидона и полиэтиленгликоля, внесение раствора субстанции дсРНК и ИФН- α 2b, формирование однородной влажной массы путем перемешивания, сушка, добавление стеарата магния, прессование. Однородность дозирования дсРНК в сублингвальной форме определяли по ГФ XV, ОФС.1.4.2.0008.15 «Однородность дозирования». Сохранность структуры дсРНК в сублингвальных препаратах оценивали методом электрофореза в 1% геле агарозы. Содержание ИФН- α 2b определяли методом иммуоферментного анализа с использованием тест-системы альфа-ИНТЕРФЕРОН-ИФА-БЕСТ (А-8758). Оценку высвобождения активного вещества (дсРНК) из сублингвальных форм проводили методом диффузии через полупроницаемую мембрану в биорелевантной среде. Противовирусную активность препарата в средстве доставки определяли микрометодом в 96-луночных планшетах по подавлению цитопатического действия тест-вируса в культуре клеток в соответствии с [7].

Результаты. На основании результатов, проведенных ранее исследований [8] выбраны дозы активных компонентов: субстанция дсРНК – 5 мг, субстанция ИФН- α 2b – 5000 МЕ, а также подобран состав вспомогательных веществ и условия получения новой сублингвальной лекарственной формы препарата, содержащего индуктор интерферона двуспиральную РНК и рекомбинантный интерферон-альфа-2b человека. Сублингвальные препараты получали прямым прессованием на ручном однопуансонном таблеточном прессе марки FAST TAB 3000 (Farmalabor, Россия). Полученные таблетки по внешнему виду круглой формы, с плоской гладкой поверхностью, белого цвета, прочные – не крошатся, не слоятся, без сколов. На поверхность таблетки нанесена риска. Подтверждено соответствие сублингвальной лекарственной формы по показателю однородности дозирования активного вещества в таблетках. Методом электрофореза в 1% геле агарозы доказано наличие в составе таблетки дсРНК и сохранность структуры ее индивидуальных форм (L- и M-форма). Методом иммуоферментного анализа с использованием тест-системы альфа-ИНТЕРФЕРОН-ИФА-БЕСТ (А-8758) подтверждено наличие интерферона-альфа-2b в составе сублингвальной формы.

Оценку высвобождения активного вещества (дсРНК) из лекарственной формы проводили методом диффузии через полупроницаемую мембрану в биоревалентной среде. В качестве биоревалентной среды использовали искусственно созданную среду имитирующую среду ротовой полости [9]. Полученные данные показали, что высвобождение активного вещества (дсРНК) из сублингвальной формы начинается с первых минут попадания в биоревалентную среду, а полная диффузия и выход на плато наблюдается через 15 мин от начала эксперимента.

Изучение противовирусной активности сублингвальной формы препарата, содержащего дсРНК и ИФН-альфа-2b, в культуре клеток показало, что титр ИФН в культуре клеток L929 после воздействия препарата в дозе дсРНК 100 мкг/ ИФН-α2b 100 МЕ, что соответствует соотношению дсРНК 5 мг/ИФН-α2b 5000 МЕ на одну таблетку, составлял 1:2496. Полученные данные подтверждают наличие противовирусных свойств у препарата, содержащего дсРНК и ИФН-альфа-2b в сублингвальной форме.

Заключение. Таким образом, получена сублингвальная форма препарата, содержащего индуктор интерферона дсРНК и интерферон альфа-2b. Показано, что препарат обладает противовирусной активностью в культуре клеток L929. Полученные данные подтверждают перспективность создания нового сублингвального лекарственного средства, содержащего в своем составе дсРНК и интерферон альфа-2b.

**Работа выполнена в рамках государственного задания ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»
Роспотребнадзора (ГЗ-38/21).**

Литература

1. Нестерова И.В. Препараты интерферона альфа в клинической практике: когда и как // Лечащий врач. 2017. № 9. С. 66.
2. Ершов Ф.И., Шульдяков А.А., Романцов М.Г. и др. Результаты и перспективы использования индукторов интерферона в лечении инфекционных болезней // Вестник Российской академии медицинских наук. 2013. Т. 68. № 10. С. 46–52.
3. Сологуб Т.В., Эсауленко Е.В., Деева Э.Г. и др. Гамма-интерферон: обоснование и перспективы применения в инфекционной практике // Медлайн-экспресс. 2006. № 2-3. С. 21–23.
4. Zhang P., Samuel C.E. Protein kinase PKR plays a stimulus- and virus-dependent role in apoptotic death and virus multiplication in human cells // Journal of Virology. 2007. Vol. 81. № 15. P. 8192–8200. doi: 10.1128/JVI.00426-07
5. Saravolac E.G., Sabuda D., Crist C. et al. Immunoprophylactic strategies against respiratory influenza virus infection // Vaccine. 2001. Vol. 19. № 17-19. P. 2227–2232. doi: 10.1016/s0264-410x(00)00450-3
6. Шевченко А.М., Погребняк А.В., Крылов Н.Н. и др. Физико-химические и технологические аспекты разработки сублингвальных таблеток // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 2-2. 481. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=22245> (дата обращения: 14.01.2025).
7. ОФС.1.7.2.0002.15 Биологические методы испытания препаратов интерферона с использованием культур клеток // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М., 2018. С. 2740–2749. URL: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (дата обращения: 14.01.2025).
8. Иванова О.С., Левагина Г.М., Телегина Ю.В. и др. Разработка противовирусных препаратов для интраназального применения на основе двухцепочечных РНК и рекомбинантных интерферонов // Биотехнология. 2024. Т. 40. № 4. С. 45–54. doi: 10.56304/S0234275824040033
9. Куликова С.Д., Сокол М.Б., Козлова Ж.М. и др. Биорелевантный тест для таблеток подъязычных с глицином в среде растворения «искусственная слюна» // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2024. Т. 13. № 3. С. 146–155. doi: 10.33380/2305-2066-2024-13-3-1823