

## ПОЛУЧЕНИЕ ИНТРАНАЗАЛЬНОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА ИНТЕРФЕРОНА АЛЬФА И ИНДУКТОРА ИНТЕРФЕРОНА И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

С.Г. Гамалей, Е.С. Башкина, С.В. Усова, Г.Г. Шими́на, О.В. Симакова, Т.Г. Ядренкина,  
О.С. Иванова, Г.М. Левагина, Е.Д. Даниленко

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

Мировая статистика заболеваемости сезонным гриппом по-прежнему неутешительна: ежегодно регистрируется до миллиарда случаев инфекции, в том числе, 3–5 миллионов случаев тяжелой формы заболевания, нередко заканчивающихся летальным исходом [1]. Не вызывает сомнения факт, что наиболее эффективным способом профилактики гриппа является вакцинация. Однако известно, что популяционный эффект вакцинации ограничен наличием групп населения, которым вакцинация противопоказана по состоянию здоровья либо у которых не формируется достаточно выраженный иммунный ответ. Эффективность противовирусных средств специфического действия зависит от скорости формирования к ним резистентности в результате генетической изменчивости вирусов. В связи с этим, особый интерес в качестве средств профилактики и лечения гриппа и других острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) представляют неспецифические средства противовирусной защиты, к которым относятся, в частности, интерферон и индукторы интерферона. В ходе экспериментальных исследований было показано, что эффект индуктора интерферона может усиливаться при его сочетанном применении с интерферонами [2,3]. Повышение интерферониндуцирующих и противовирусных свойств фаговой двуспиральной РНК (дсРНК) в композиции с интерфероном-альфа 2b (ИФН-α2b) было продемонстрировано в ходе наших исследований [4]. Эти данные послужили основанием для предположения о том, что сочетание в одном препарате интерферона и его индуктора может быть перспективно с точки зрения создания нового эффективного противовирусного средства.

**Цель работы** – получение композиционных препаратов на основе дрожжевой двуспиральной РНК и интерферона альфа-2b человека для интраназального введения и оценка фармакологической безопасности этих препаратов.

**Материалы и методы.** Интраназальные формы препаратов, содержащих дсРНК и рекомбинантный ИФН-α2b человека, получали путем смешения субстанции натриевой соли двуспиральной рибонуклеиновой кислоты (Na-соль дсРНК) (производства ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Россия), содержащей 21,96 % двуспиральной РНК, ИФН-α2b (АО «Вектор-Медика», Россия) и вспомогательных компонентов в условиях асептики с последующей лиофилизацией [5]. Оценка сохранности структуры дсРНК в композициях проводили методом электрофореза в 1% геле агарозы. ИК-спектры композиционных препаратов регистрировали на Фурье-спектрофотометре Infracum FT-801 в диапазоне длин волн 4000–500 см<sup>-1</sup> в сравнении с исходными компонентами. Противовирусную активность препаратов определяли биологическим микрометодом в 96-луночных планшетах, по подавлению цитопатического действия тест-вируса (вирус энцефаломиокардита мышей штамм «Колумбия», 100 ЦПД50) в культуре клеток в соответствии с [6].

Фармакологическую безопасность композиционных препаратов оценивали на самцах и самках мышей CD-1. Мыши были разделены на 3 группы: контрольную и две опытные. Препараты вводили однократно интраназально. Мыши первой опытной группы получали композиционный препарат состава 2 (композиция 2) в дозе 50 мкг дсРНК и 50 МЕ ИФН-α2b в объеме 25 мкл на мышь, второй опытной группы – композицию состава 3 в дозе 50 мкг дсРНК и 100 МЕ ИФН-α2b на мышь. Контрольным животным вводили физиологический раствор. Спустя 1 и 7 суток после введения проводили физиологическое обследование мышей всех экспериментальных групп, определяли частоту сердечных сокращений, насыщение крови кислородом, измеряли гематологические и биохимические показатели крови, проводили патоморфологическое исследование.

**Результаты исследования.** Образцы композиционных препаратов получали в соответствии с [5]. Содержание дсРНК в препаратах было постоянным и составляло 50 мкг/дозу (на мышь). Содержание интерферона варьировало в пределах от 10 до 100 МЕ/дозу. В качестве вспомогательных веществ были использованы полиэтиленгликоль 400 (ПЭГ 400, поверхностно-активный полимер); динатриевая соль

этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА, антиоксидант); диметилсульфоксид (ДМСО, активатор всасывания); хлорид натрия (стабилизатор). Было получено 3 экспериментальных образца интраназальной формы, содержащей дсРНК и ИФН- $\alpha$ 2b следующего состава (на 1 мл восстановленного раствора): состав 1 – дсРНК -750 мкг, ИФН- $\alpha$ 2b -150 МЕ; состав 2 – дсРНК -750 мкг, ИФН- $\alpha$ 2b -750 МЕ; состав 3 – дсРНК -750 мкг, ИФН- $\alpha$ 2b -1500 МЕ. Электрофоретический анализ показал наличие в составе препаратов L- и M-форм дсРНК, что свидетельствует о сохранности данного активного компонента в составе интраназальных композиций. Результаты ИК-спектроскопии подтвердили, что спектры композиций имеют те же максимумы поглощения, что и исходные компоненты (дсРНК и ИФН- $\alpha$ 2b) в области 500–4000 см<sup>-1</sup>. В культуре мышинных фибробластов L929, клон линии клеток L, а также на линии диплоидных клеток эмбриона легкого человека L-68, полученных из коллекции культур клеток ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, показано, что увеличение концентрации ИФН- $\alpha$ 2b в композиционном препарате приводило к повышению противовирусной активности (табл. 1).

Таблица 1 – Противовирусная активность (титр) интраназальных препаратов, содержащих дсРНК 50 мкг/дозу, с разным содержанием ИФН- $\alpha$ 2b в составе композиции

Клеточная линия	Титры ИФН в композиционных препаратах (L-68) и сыворотке крови мышей, получавших эти препараты (L929), содержащих ИФН в количестве:			
	0	10 МЕ/дозу	50 МЕ/дозу	100 МЕ/дозу
L929	1:1860	1:1498	1:2004	1:2755
L-68	н/о	1:256	1:512	1:928

н/о – не определяли

На основании результатов оценки противовирусной активности *in vitro* для изучения фармакологической безопасности на мышах были выбраны композиционные препараты состава 2 и 3.

Композиции при однократном интраназальном введении в дозах 50 мкг дсРНК и 50 или 100 МЕ ИФН- $\alpha$ 2b на мышь не приводили к гибели животных, изменению их внешнего вида и поведения. Показатели массы тела, динамика ее прироста, температура тела и гематологические показатели крови мышей опытных групп не отличались от показателей контрольной группы через 1 и 7 суток после введения. Не обнаружено отличий в показателях частоты сердечных сокращений и сатурации крови у животных опытных и контрольной группы. Отсутствие существенных изменений уровня маркерных биохимических показателей крови свидетельствует о том, что препарат не оказывал влияния на структуру и функцию сердца, печени, почек, интенсивность белкового, липидного и углеводного обменов. Патоморфологическое исследование не выявило токсического влияния однократного интраназального введения композиционных препаратов дсРНК и ИФН- $\alpha$ 2b на структуру внутренних органов мышей.

Таким образом, полученные данные подтверждают перспективность разработки композиционных препаратов дсРНК и ИФН для интраназального применения в качестве средств профилактики и лечения гриппа и ОРВИ.

**Исследование проведено в рамках работ по выполнению государственного задания ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, тема ГЗ-38/21.**

#### Литература

1. Грипп (сезонный): информационный бюллетень // Всемирная организация здравоохранения. URL: [https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal)) (дата обращения: 25.07.2025).
2. Pantelic L., Sivakumaran H., Urosevic N. Effect of interferon-alpha on hepatitis C virus replication // Journal of Virology. 2005. Vol. 79. № 3. P. 1753–1764. doi: 10.1128/JVI.79.3.1753-1764.2005
3. Morrey J.D., Day C.W., Julander J.G. et al. Effect of interferon-alpha and ribavirin against West Nile virus in vitro // Antiviral Chemistry & Chemotherapy. 2004. Vol. 15. № 2. P. 101–109. doi: 10.1177/095632020401500205
4. Сысоева Г.М., Батенева А.В., Гамалей С.Г. и др. Иммуномодулирующая активность рекомбинантного интерферона альфа-2b в культуре лимфоцитов человека // Российский иммунологический журнал. 2016. Т. 10. № 2. С. 454–456.
5. Иванова О.С., Левагина Г.М., Башкина Е.С. и др. Разработка и характеристика интраназальной лекарственной формы интерферона // Биофармацевтический журнал. 2023. Т. 15. № 4. С. 32–44.
6. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М., 2018. С. 2740–2749. URL: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (дата обращения: 25.07.2025).
7. Гржибовский А.М. Анализ номинальных данных в медико-биологических исследованиях // Экология человека. 2008. № 3. С. 50–58.