УДК 576.858.75

# ВИВЧЕННЯ АНТИВІРУСНОЇ ДІЇ ФЛУРЕНІЗИДУ

*Р. Б. Павлій[1], І. К. Авдосєва[2], С. Й. Павлій[1], В. В. Регенчук[2]*

[1]Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
[2]Державний науково-дослідний контрольний інститут
ветеринарних препаратів та кормових добавок

*У статті представлені експериментальні дані про антивірусну дію нового вітчизняного препрату флуренізиду — похідного флуоренів. Проведена порівняльна оцінка впливу флуренізиду з еталонами ремантадином — на репродукцію вірусу грипу птиці (ВГП) та з аміксином — на вірус хвороби Ньюкасла (ВХН) при культивуванні на різних тест-системах (ФЕК та КЕ). Встановлено, що флуренізид має антивірусну дію на РНК-вмісні віруси: ВХН та ВГП і за своєю інгібуючою дією не поступається еталонам — аміксину та ремантадину. Показники антивірусної дії флуренізиду на репродукцію ВГП на ФЕК та КЕ перевищують ці показники для ремантадину — еталону за протигрипозною дією. Зниження інфекційного титру при застосуванні дози 50 і 100 ЕІД$_{50}$ ВХН доводить ефективну дію флуренізиду та аміксину на репродукцію ВХН.*

Хіміотерапія вірусних інфекцій має невеликий арсенал фармацевтичних засобів порівняно з лікуванням бактеріальних захворювань, не дивлячись на численні дослідження, що проводиться у багатьох країнах.

Різноманітність хімічної структури і біологічних властивостей численних вірусів, складність вибіркового пригнічення вірусоспецифічних процесів синтезу макромолекул створюють труднощі при розробці ефективних противірусних препаратів [5]. В останні роки ці зусилля досягнули деяких успіхів, головним чином, у сфері синтезу нових хіміотерапевтичних сполук [10]. Вивчено продукти хімічного синтезу, що мають противірусні властивості, але поки що поодинокі препарати використовуються у практиці при лікуванні окремих вірусних інфекцій [12].

Особлива увага науковців зосереджена на вивченні молекулярних механізмів імунотропної дії індукторів ендогенного інтерферону. Сучасним представником яких є похідний класу флуоренів — аміксин [2, 3, 11]. Він застосовується для лікування вірусних захворювань, викликаних вірусами Herpes simplex 1 і 2 типів, Varicella zoster, цитомегаловірусом та інших вірусних інфекціях [1, 4, 8, 9]. Окрім відомих противірусних ефектів, аміксину притаманні імуномоделюючі властивості, здатність шляхом індукції інтерферону регулювати продукцію цитокінів в організмі, що разом із іншими позитивними ефектами препарату відкриває перспективи його застосування [6, 7, 15]. Як видно з наведених даних, аміксин є перспективним, через це пошук нових засобів боротьби з захворюваннями вірусної етіології серед похідних флуорену є актуальним.

Метою нашої роботи було вивчити антивірусну активність нового лікарського препарату флуренізиду, похідного флуоренів.

**Матеріали і методи**. При дослідженні антивірусної дії було використано сполуку флуоренів — флуренізид, який застосовують для лікування туберкульозу, хламідіозу у медицині та на його основі розроблені супозиторії для ветеринарної медицини. Флуренізид був синтезований на кафедрі фармацевтичної хімії Львівського національного медичного університету ім. Д. Галицького професором Л. І. Петрух та впроваджений у промислове виробництво [13]. Антивірусну активність вивчали згідно з методичними вказівками [14]. Для дослідження використовували вірус хвороби Ньюкасла, штам Ла-Сота та грипу птиці ГП-7А штам Росток /34/ H7N1, отримані у Державному науковому-дослідному контрольному інституті ветеринарних препаратів (Росія). Як еталон антивірусної дії флуренізиду, використовували відомі лікарські препарати — аміксин та ремантадин. Флуренізид розчиняли в димексиді (ДМСО).

Токсичність препарату і максимальну переносиму дозу (МПД) визначали на 10-добових курячих ембріонах (КЕ). Флуренізид у МПК з двократним інтервалом розведення вводили КЕ через 1,5 години після зараження вірусом у дозі 10-50 $ЕЛД_{50}$. Після зараження КЕ інкубували протягом 72–96 год за температури 37,5 °С до встановлення 100 % загибелі КЕ у контролі. Вірулецидну дію флуренізиду, аміксину та ремантадину визначали, виходячи з МПД препаратів, та готували послідовні розведення розчину препаратів в об'ємі 1 мл і вносили по 1 мл вірусу та ставили на контакт у термостат за температури 37,5 °С. На кожну концентрацію використовували 3 зразки. Через 1 год після інкубації суміш титрували на КЕ за загальноприйнятою методикою. Контролем були КЕ, заражені вірусом з розчином ДМСО та інтактні. Ефективність препаратів визначали за різницею титру вірусу в досліді і контролі та за виживанням КЕ.

Стандартні методи визначення параметрів дії досліджуваних зразків флуренізиду, аміксину та рифампіцину проводили на культурі клітин за візуальним спостереженням затримки (ЦПД). Для цього готували ФЕК за загальноприйнятою методикою. Через 24 год інкубації зливали ростове середовище і на сформований мономер клітин вносили по 0,2 мл вірусовмісної суспензії та досліджувані препарати певної концентрації. На кожну концентрацію речовини використовували 4 пробірки з контролем. Ставили на контакт на 30 хв у термостат за температури 37,5 °С. У контролях на ФЕК визначали токсичність препаратів, репродукцію вірусу, ріст культури клітин. В усі пробірки вносили підтримуюче середовище, інкубували за температури 37,5 °С до 100 % ЦПД у пробірках контролю вірусу (36–48 год від моменту інфікування). Антивірусну дію дослідних препаратів визначали згідно зі стандартною методикою. Ступінь зниження ЦПД визначали за 4-бальною шкалою (сильно виражена, виражена, слабо виражена, або без захисного ефекту) за допомогою інвертного мікроскопу.

**Результати та обговорення**. Встановлено, що флуренізид впливає на репродукцію ВГП у системах ФЕК та КЕ. Інфекційний титр ВГП становив 5,8 $ТЦД_{50}$. Протягом 72 год у пробірках з флуренізидом та ремантадином не спостерігалось ЦПД, тоді як у пробірках з контролем ВГП через 24–48 год з'явилось ЦПД.

При інфікуванні клітин ФЕК вірусом у дозі 50 $ТЦД_{50}$ показники захисту (lg) для ремантадину дорівнював 3,50; для флуренізиду — 3,25; у дозі 100 $ТЦД_{50}$ показники захисту (lg) становив для ремантадину 4,80; для флуренізиду — 4,67. Порівняльні дані антивірусної дії досліджуваних препаратів наведені в таблиці 1.

*Таблиця 1*

**Порівняльні дані антивірусної дії досліджуваних препаратів на репродукцію ВГП на тест-системі ФЕК**

| Назва препаратів | Концентрація препаратів, мг/мл | Ефективність препаратів / доза | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 50 $ТЦД_{50}$ | | 100 $ТЦД_{50}$ | |
| | | Показники захисту lg $ІД_{50}$ | Зниження титру вірусу | Показники захисту lg $ІД_{50}$ | Зниження титру вірусу |
| Ремантадин | 2,5 | 3,50 | 2,30 | 4,80 | 1 |
| Флуренізид | 1,6 | 2,55 | 2,55 | 4,67 | 1,13 |

Зниження титру вірусу свідчило про інгібуючу дію досліджуваного препарату. Різниця в 1 lg означає пригнічення репродукції до 90 % вірусу. При збільшенні доз вірусу з 50 до 100 $ТЦД_{50}$ ступінь інгібіції знижується.

При дослідженні антивірусної дії ремантадину та флуренізиду на ВГП при культивуванні на КЕ встановлено, що впродовж 96 год КЕ залишалися живими. При інфікуванні КЕ дозою вірусу 50 $ЕІД_{50}$ показник захисту (lg): для ремантадину — 3,7; для флуренізиду — 3,5; у дозі 100 $ЕІД_{50}$ показники захисту (lg) становив для ремантадину становили — 4,76; для флуренізиду — 4,72.

Порівняльні дані антивірусної дії досліджуваних препаратів на репродукцію ВГП при культивуванні на КЕ наведені в таблиці 2.

*Таблиця 2*

**Порівняльні дані антивірусної дії досліджуваних препаратів на репродукцію ВГП на КЕ**

| Назва препаратів | Концентрація препаратів мг/мл | Ефективність препаратів / доза віруса | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 50 $ЕІД_{50}$ | | 100 $ЕІД_{50}$ | |
| | | Показники захисту lg $ІД_{50}$ | Зниження титру вірусу | Показники захисту lg $ІД_{50}$ | Зниження титру вірусу |
| Ремантадин | 2,5 | 3,7 | 2,1 | 4,76 | 1,04 |
| Флуренізид | 1,6 | 3,5 | 2,3 | 4,72 | 1,08 |

За результатами досліджень встановлено, флуренізид пригнічує репродукцію ВГП при культивуванні на КЕ.

Показники антивірусної дії флуренізиду на репродукцію ВГП на ФЕК та КЕ свідчать про те, що вони перевищують за протигрипозною дією такі ж показники для ремантадину .

Виявлена антивірусна дія флуренізиду на репродукцію ВХН при інфікуванні ФЕК та КЕ. При зараженні ФЕК інфекційним титром ВХН 5,5 $ЕІД_{50}$ у дозі 50 $ТЦД_{50}$ показники захисту (lg) для аміксину дорівнювали 3,65; для флуренізиду — 3,52; у дозі 100 $ТЦД_{50}$ показники захисту (lg) для аміксину становили 4,72; для флуренізиду — 4,53. Порівняльні дані антивірусної дії досліджуваних препаратів на репродукцію ВХН при культивування на ФЕК наведені в таблиці 3.

*Таблиця 3*

**Порівняльні дані антивірусної дії досліджуваних препаратів на репродукцію ВХН при культивуванні на ФЕК**

| Назва препаратів | Концентрація препаратів мг/мл | Ефективність препаратів при інфікуванні ФЕК ВХН | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 50 $ТЦД_{50}$ | | 100 $ТЦД_{50}$ | |
| | | Показники захисту lg $ІД_{50}$ | Зниження титру вірусу | Показники захисту lg $ІД_{50}$ | Зниження титру вірусу |
| Аміксин | 1,6 | 3,65 | 1,85 | 4,72 | 0,78 |
| Флуренізид | 1,6 | 3,52 | 1,68 | 4,53 | 0,98 |

Встановлено, зниження інфекційного титру при 50 $ТЦД_{50}$ ВХН як флуренізидом ,так і аміксином. Обидва препарати різко пригнічують репродукцію ВХН.

При інфікуванні КЕ дозою ВХН 50 $ЕІД_{50}$ показник захисту (lg) для аміксину становив 3,40; для флуренізиду — 3,35; у дозі 100 $ЕІД_{50}$ показники захисту (lg) для аміксину становили 4,82; для флуренізиду — 4,78.

Порівняльні дані антивірусної дії досліджуваних препаратів на репродукцію ВХН на КЕ наведені в таблиці 4.

*Таблиця 4*

**Порівняльні дані антивірусної дії досліджуваних препаратів на репродукцію ВХН на КЕ**

| Назва препаратів | Концентрація препаратів мг/мл | Ефективність препаратів при інфікуванні КЕ | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 50 $ЕІД_{50}$ | | 100$ЕІД_{50}$ | |
| | | Показники захисту lg $Ід_{50}$ | Зниження титру вірусу | Показники захисту lg $Ід_{50}$ | Зниження титру вірусу |
| Аміксин | 2,6 | 3,40 | 2,10 | 4,82 | 0,68 |
| Флуренізид | 1,6 | 3,35 | 2,15 | 4,78 | 0,72 |

Зниження інфекційного титру при застосуванні дози 50 і 100 $ЕІД_{50}$ ВХН доводить ефективну дію флуренізиду та аміксину на репродукцію ВХН.

## В И С Н О В К И

Одержані результати свідчать про антивірусну дію нового вітчизняного препарату флуренізиду, похідного флуренів, щодо РНК-вмісних вірусів: ВГП та ВХН і за своєю інгібуючою дією не поступається еталонам — аміксину та ремантадину.

**Перспективи подальших досліджень**. Будуть продовжені дослідження антивірусної дії вітчизняних сполук флуоренів та розроблені дози і схеми застосування препаратів у ветеринарній медицині.

## ИЗУЧЕНИЕ АНТИВИРУСНОГО ДЕЙСТВИЯ ФЛУРЕНИЗИДА

*Р. Б. Павлий, И. К. Авдосьева, С. Й. Павлий, В. В. Регенчук*

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье представленные экспериментальные данные об антивирусном действии нового отечественного препарата флуренизида — производного флуоренов. Проведена сравнительная оценка влияния флуренизида с эталонами: ремантадином — на репродукцию вируса гриппа птицы (ВГП) и с амиксином — на вирус болезни Ньюкасла (ВБН) при культивировании на разных тест-системах (ФЕК и КЕ). Установлено, что флуренизид имеет антивирусное действие на РНК-содержищие вирусы: ВБН и ВГП и по своему ингибирующему действию не уступает эталонам — амиксину и ремантадину. Показатели антивирусного действия флуренизида на репродукцию ВГП на ФЕК и КЕ превышают такие для ремантадина — эталона по противогриппозному действию. Снижение инфекционного титра при применении дозы 50 и 100 $ЭИД_{50}$ ВХН доводит эффективное действие флуренизида и амиксина на репродукцию ВБН.

## STUDYING OF FLURENIZID ANTI-VIRUS ACTION

*R. B. Pavliy, I. K. Avdosjeva, S. J. Pavily, V. V. Regenchuk*

S U M M A R Y

The experimental data about anti-virus action of new domestic preparation flurenizid — derivative from fluorens are presented in this article. The comparative estimation of flurenizid influence with the standards: remantadin — on a reproduction of a virus of a bird flu (VBF) and with amixin - on a virus of Newcastle disease (VND) at cultivation on different test systems (FCE and CE). It is established, that flurenizid has anti-virus action on RNA-contain viruses: VND and VBF and does not concede by the inhibiting action to standards — amixin and remantadin. Indicators of flurenizid anti-virus action on reproduction of VBF on FCE and CE exceed such as remantadin — the antiflu action standard. Decrease of infectious titre at application of a dose 50 and 100 $EID_{50}$ VND proves effective action of flurenizid and amixin on reproduction of VND.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Аббасова Э. Р.* Эффективность индуктора интерферона амиксина при рецидивирующем генитальном герпесе : 7 Росс. конгресс «Человек и лекарства» / Аббасова Э. Р., Головкин В. И., Ляшенко Ю. И. — М., 2000. —324 с.

2. *Андронати С. А.* Пероральный индуктор интерферона «амиксин» и его аналоги : Обзор литературы и собственные исследования / Андронати С. А. // Журнал академии медицинских наук Украины. — 1999. — № 1. — С. 53–66.

3. *Аленов И. М.* Влияние амиксина на интерферонный статус больных ХВРС : 7 Росс. конгресс «Человек и лекарства» / Аленов И. М., Турьянов М. Ж., Сапронов Г. В. — М., 2000. — С. 389.

4. *Великова С. С.* Амиксин в комплексном лечении клещевого энцефалита / Великова С. С., Богиров Е. Ф. // Актуальные вопросы инфекционной патологи : тез. докл. научно-практ. конфер. врачей. — Новоссибирск, 1999. —36 с.

5. *Галегов А. Г.* Изучение антивирусных свойств препаратов различного происхождения в отношении герпес- и плетивовирусов крупного рогатого скота / Галегов А. Г., Глотова Т. И., Сергеев А. А // Антибиотики и химиотерапия. — 2004. — № 6. — С. 6–9.

6. *Головкин В. И.* Амиксин, как модулятор цитокиновых реакций и антиоксидант при лечении рассеянного склероза / Головкин В. И., Калашникова А. А., Давыдова М. И. // Иммуноопосредованный ремитирующий рассеянный склероз. — СПб. : РИФ «Роза мира», 2000. — 200 с.

7. *Дидковский Н. А.* Влияние индуктора интерферона амиксина на функциональную активность нейтрофилов / Дидковский Н. А. // Современные проблемы аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармокологии : сб. науч. трудов. — М., 1998. — С. 276.

8. *Ершов Ф. И.* Амиксин. Применение в терапии при острых и хронических вирусных заболеваниях / Ершов Ф. И. — М., 1998. — 20 с.

9. *Закиров И. Г.* Амиксин в лечении больных хроническими вирусными гепатитами : 6 Росс. науч.конф. «Инфекционные болезни: диагностика, лечение, профилактика» / Закиров И. Г., Хасртынова И. М., Хуснутдинова И. В. — СПб., 2000. — 91 с.

10. *Логинова С. Я.* Противовирусная активность in vitvo лекарственных препаратов в отношении возбудителя геморрагической лихорадки с почечным синдромом / Логинова С. Я., Борисевич С. В., Ковальчук А. В. // Вопросы вирусологии. — 2007. — № 4. — С. 34–36.

11. *Ляхов С. А.* Механизмы противовирусной активности амиксина (обзор литературы).2. Противовирусная активность и влияние на некоторые биохимические процессы / Ляхов С. А., Литвинова Л. А. // Сучасні інфекції. — 2008. — № 2. — С. 112–116.

12. *Меджидова М. Г.* Противовирусная активность аминокислотных производных фуллерена при цитомегаловирусной инфекции in vitro / Меджидова М. Г., Абдуллаева М. В., Федорова Н. Е. // Антибиотики и химиотерапия. — 2004. — № 8–9. — С. 13–20.

13. *Петрух Л. І.* Актуальність створення та впровадження у промислове виробництво нових лікарських засобів : Збірник описів винаходів / За ред. Л. І. Петрух, В. М. Петрух. — Львів : ЛЦНТІ, 2002. — 128 с.

14. *Щербинская А. М.* Изучение антивирусного действия потенциальных лекарственных средств : Доклинические исследования лекарственных средств : методические рекомендации / Щербинская А. М., Дяченко Н. С., Рыбалко С. Л. ; под ред. А. В. Стефанова. — Киев, 2002. — С. 394–420.

15. *Cheung C. Y.* H5N1 influenza : A protean pandemic threat — PNAS / Cheung C. Y., Poon, L. L., Lau A. S. // Proc Nation.Acad. Scien. USA. — 2004. — Vol. 101, № 21. — P. 8156–8161.

**Рецензент**: кандидат ветеринарних наук, доцент кафедри мікробіології та вірусології О. С. Калініна, ЛНУВМ та Б імені С. З. Ґжицького.