

Рекомендована д. мед. наук, проф. С. І. Климнюком  
УДК 615.453.6:615.322:615.281.8  
DOI

## ВИВЧЕННЯ ПРОТИВІРУСНОЇ АКТИВНОСТІ ТАБЛЕТОК АЛЬТАБОР

©С. Л. Рибалко<sup>1</sup>, Т. В. Крутських<sup>2</sup>, А. С. Шаламай<sup>3</sup>

*Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л. В. Громашевського Академії медичних наук України<sup>1</sup>, Київ*

*Національний фармацевтичний університет<sup>2</sup>, Харків*

*ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ»<sup>3</sup>, Київ*

**Резюме:** вивчено протівірусну активність таблеток Альтабор. Визначено, що препарат проявляє протигрипозну активність та пригнічує репродукцію вірусу Епштейна-Барр.

**Ключові слова:** альтабор, протівірусна активність, грип, вірус Епштейна-Барр.

**Вступ.** Сьогодні різні захворювання вірусної етіології становлять серйозну проблему для охорони здоров'я всіх країн. Послідовний розвиток діагностики гепатиту В (в 70-ті роки), ВІЛ-інфекції (в 80-ті), гепатиту С та герпесу (в 90-ті роки) продемонстрував розповсюдження цих захворювань у всьому світі.

Серед всіх інфекційних захворювань грип та ГРВІ займають перше місце за частотою та кількістю випадків в світі і складають 95 %. За даними ВООЗ грипом та грипозними захворюваннями у світі хворіє 5 – 30 % населення, що складає до 500 млн чоловік [1, 2]. В Україні щорічно фіксують від 11 до 15 млн випадків захворювання на грип та ГРВІ [3, 4]. За 400 років в світі зареєстровано більш 100 епідемій та 18 пандемій грипу, які призвели до десятків мільйонів смертей [1]. Сьогодні втрати від глобальних епідемій грипу значно поступаються масштабам минулих пандемій завдяки можливості сучасної діагностики вірусу, наявності протівірусних та антибактеріальних препаратів і покращенню медичного обслуговування населення. Але проблема лікування захворювання все ж залишається актуальною.

На фоні гострих вірусних інфекцій віруси герпесу можна сказати і непомітні, але не менш загрозливі. Герпес вперше був зафіксований за тисячу років до нашої ери, але проблемою, яка привертає до себе увагу, став тільки в ХХ столітті, після появи ВІЛ. На сьогодні відкрито більш 80 представників сімейства вірусів герпесу, з яких 8 типів патогенні для людини [5,6]. Одним з патогенних типів є вірус Епштейна-Барр, до якого, за даними сероепідеміологічних досліджень, антитіла виявляються у 95 % населення. Сьогодні даному вірусу відводиться важлива роль у формуванні пухлинних клітин в організмі людини, що викликає необхідність в підвищенні уваги з боку медичного та фармацевтичного співтовариства.

Створення протівірусних засобів є однією з найбільш складних задач хіміотерапії інфекцій. Пов'язано

це з тим, що віруси, що містять РНК- і ДНК-складові, є obligatними внутрішньоклітинними паразитами. В процесі розмноження віруси в основному застосовують апарат біосинтезу клітин макроорганізму, визначним чином модифікуючи його. В зв'язку з цим дуже важко знаходити вибірково діючі засоби, які б знешкоджували віруси не пошкоджуючи при цьому клітини «хазяїна» [7]. Тим не менш, за останні роки з'явилися окремі протівірусні препарати, які проявляють визначну вибірково дію щодо заражених вірусом клітин і пригнічують реплікативний цикл вірусу. Одним з таких лікарських засобів є оригінальний вітчизняний препарат – таблетки Альтабор.

Мета роботи – дослідження з визначення протівірусної активності таблеток Альтабор, а саме з вивчення їх впливу на репродукцію вірусів грипу та Епштейна-Барр.

**Методи дослідження.** Вивчення протигрипозної активності таблеток Альтабор проводили на моделі грипозної інфекції *in vitro* [8]. Для цього використовували культуру клітин MDCK (клітини нирки собаки, що перевивались). Подрібнену масу таблеток в дозах від 100 до 1,6 мкг/мл вносили до лунок планшетів, в яких вирощували клітини. Через 1 год в лунки, оброблені та необроблені препаратом, вносили вірус грипу в дозі 100 ІД<sub>50</sub>. Через 72 год інкубації клітин при 37 °С культуральну рідину збирали і в ній визначали активність гемаглютиніну та інфекційний титр вірусу грипу з подальшим титруванням на культурі клітин.

Дослідження впливу таблеток Альтабор на вірус Епштейна-Барр проводили в системі лімфобластодних клітин Raji інфікованих зазначеним вірусом. Культури клітин Raji являють собою В-лімфоцити людини, які трансформовані ВЕБ і містять в складі клітинної ДНК 63 копії вірусного геному на клітину, але ніколи не продукують віріони. Культуру клітин вирощували в 24 лункових планшетах для суспензійних культур в середовищі, яке містить 90 % RPMI

1640, 10 % ембріональної телячої сироватки і антибіотиків при 37 °С з 5 % CO<sub>2</sub>. Для суперінфікування лімфобластоїдних клітин використовували вірусний препарат, отриманий з супернатанта клітин В 95-8 (ці клітини продукують вірус) в концентрації 0,150 мкл на 1 млн клітин Raji.

Антивірусну активність альтабору вивчали з використанням концентрації препарату 1000, 750, 500, 250, 125, 64, 32, 16, 4, 2, 1, 0,5, 0,1 мкг/мл при його внесенні відразу після інфікування клітин вірусом Епштейна-Барр. Максимально переносиму концентрацію визначали за пригнічення життєздатності клітин (метод підрахунку живих та мертвих клітин при забарвленні 0,1 % трипановим синім, а також альтернативним методом з використанням препарату МТТ. Трипановий синій застосовується для детекції мертвих клітин при їх огляді в мікроскопі. Цей барвник має властивість проникати крізь мембрану мертвих клітин, при цьому живі клітини залишаються інтактними до нього. Застосування препарату МТТ – 3-(4,5-диметилтіазол-2-іл) дифенілтетразоліум бромід) засновано на тому, що нормально функціонуюча дегідрогеназна система мітохондрій інтактних клітин перетравлює МТТ як штучний субстрат в формазан, в свою чергу, може бути зафіксований спектрофотометрично. Перетворення МТТ в формазан значно дозозалежно зменшується при загибелі клітин під впливом вірусу або досліджуваних токсичних для клітин речовин. Результат аналізу визначався спектрофотометрично на ридері «Dynamech» (Швеція) при довжині хвилі 540 нм.

**Результати й обговорення.** Протигрипозна активність таблеток Альтабор ґрунтується на інгібуванні вірусної нейрамінідази, фермента, який відповідає за здатність вірусного віріону проникати в клітину хазяїна і виходити з неї після розмноження [9, 10]. Результати проведених досліджень з вивчення протигрипозної активності таблеток Альтабор наведено в таблиці 1.

Аналіз наведених даних свідчить, що таблетки Альтабор активно інгібують репродукцію вірусу грипу в дозах від 100 до 6,75 мкг/мл на 7,5-3,0 lg ID<sub>50</sub>,

**Таблиця 1.** Вплив таблеток Альтабор на вірус грипу

Доза в мкг/мл	Титр гемаглютининів у РГА	Інфекційний титр вірусу в lg ID <sub>50</sub>	Показник інгібування lg ID <sub>50</sub>
100	-	0	7,5
50	-	0	7,5
25	4 8	2,0	5,5
12,5	16 32	3,0	4,5
6,75	64 64	4,5	3,0
3,37	128 128	6,0	1,5
1,6	128 128	6,0	1,5

що свідчить про виражену протигрипозну активність препарату.

Щодо дослідження впливу таблеток Альтабор на вірус Епштейна-Барр, для визначення терапевтичного індексу препарату була визначена його максимальна переносима концентрація. Вивчено рівень проліферації культури клітин Raji при внесенні речовин без інфікування вірусом і з інфікуванням. За результатами проведених досліджень було встановлено максимальну переносиму концентрацію, яка склала – 750 мкг/мл. Репродукцію вірусу Епштейна-Барр під впливом таблеток Альтабор вивчали молекулярним методом шляхом визначення числа вірусних геномних еквівалентів на клітину методом ПЛР (полімеразна ланцюгова реакція) [11]. Визначено, що мінімально активна концентрація для препарату склала 0,1 мкг/мл. Виходячи зі значення максимальної переносимої та мінімально активної концентрації, терапевтичний індекс таблеток Альтабор встановили на рівні 5000, що свідчить про виражений вплив препарату на репродукцію вірусу.

**Висновки.** Результати проведених досліджень з вивчення антивірусної активності таблеток Альтабор встановили, що препарат має протигрипозну активність, активно інгібують репродукцію вірусу грипу в дозах від 100 до 6,75 мкг/мл на 7,5-3,0 lg ID<sub>50</sub>. Препарат пригнічує репродукцію вірусу Епштейна-Барр, про що свідчить терапевтичний індекс таблеток Альтабор встановлений на рівні 5000.

### Список літератури

1. Генетический анализ вируса гриппа А Н1N1 "пандемический" в условиях эпидемии / Е. С. Костюкова, Н. Б. Захаржевская, П. А. Костин [и др.] // Терапевтический архив. – 2012. – № 3. – С. 48–54.
2. Гриневич О. Й. Огляд епідемічної ситуації у світі щодо захворюваності на сезонний і пташиний грип на початку 2012 року / О. Й. Гриневич, І. Г. Маркович // Сімейна медицина. – 2012. – № 1. – С. 32–34.
3. Голубка О. С. Оцінка ефективності системи дозорного епідеміологічного нагляду за грипом в Україні : автореф. ... канд. мед. наук, спец.: 14.02.02 - епідеміологія / О. С. Голубка. – К. : ДУ "Ін-т епідеміології

та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН Укр.", 2013. – 20 с.

4. Маркович І. Г. Аналіз захворюваності на грип населення України за 2009-2013 роки / І. Г. Маркович, О. Й. Гриневич // Україна. Здоров'я нації. – 2013. – № 2. – С. 118–124.

5. Исаков В. А. Герпесвирусные инфекции человека: руководство для врачей / В. А. Исаков, Е. И. Архипова. – СПб. : СпецЛит., 2006. – 303 с.

6. Хахалин Л. Н. Герпесвирусные заболевания человека [Электронный ресурс] / Л. Н. Хахалин, Е. В. Соловьева. – Режим доступа: <http://www.clinpharma.com/magazine/>

[journal5/gerp1.htm](http://journal5/gerp1.htm).

7. Жаркова Л. Д. Молекулярно-біологічна основа адаптації вірусів грипу А (H1N1) та А (H3N2) до нового хазяїна та нові вітчизняні антигрипозні препарати : автореф. ... канд. біолог. наук, спец.: 03.00.06 - вірусологія / Л. Д. Жаркова. – К. : НАН Укр. Ін-т мікробіології та вірусології ім. Д. К. Заболотного, 2012. – 23 с.

8. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. реком. / за ред.: чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.

9. Обертинська О. В. Сучасна етіотропна терапія грипу інгібіторами нейрамінідази / О. В. Обертинська //

Сімейна медицина. – 2014. – № 1. – С. 111–114.

10. Пат. на винахід 99317 Україна, МПК А61К 36/18, А61К 9/20, А61Р 31/12, Фармацевтична композиція у формі таблеток для лікування вірусних захворювань / Тищенко Р. О., Кобилянська В. І., Крутських Т. В., Безпалько Л. В., Сова Є. О., Шаламай А. С.; – № а201007829; заявл. 22.06.2010; опубл. 10.08.2012, Бюл. № 15.

11. Киселев О. И. Герпесвирусные инфекции: лекарственные препараты и ПЦР–мониторинг терапии [Электронный ресурс] / О. И. Киселев, Г. Р. Виноградская, М. А. Струкова. – Режим доступа: <http://www.influenza.spb.ru/Herpes/book/herpes.htm>.

## **ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ ТАБЛЕТОК АЛЬТАБОР**

**С. Л. Рыбалко<sup>1</sup>, Т. В. Крутських<sup>2</sup>, А. С. Шаламай<sup>3</sup>**

*Институт эпидемиологии и инфекционных болезней имени Л. В. Громашевского Академии медицинских наук Украины<sup>1</sup>, Киев*

*Национальный фармацевтический университет<sup>2</sup>, Харьков*

*ПАО НПЦ «Борщаговский ХФЗ»<sup>3</sup>, Киев*

**Резюме:** изучена противовирусная активность таблеток Альтабор. Определено, что препарат обладает противогриппозной активностью и подавляет репродукцию вируса Эпштейна-Барр.

**Ключевые слова:** альтабор, противовирусная активность, грипп, вирус Эпштейна-Барр.

## **STUDY OF ANTIVIRAL ACTIVITY OF TABLETS ALTABOR**

**S. L. Rybalko<sup>1</sup>, T. V. Krutskyykh<sup>2</sup>, A. S. Shalamay<sup>3</sup>**

*Institute of Epidemiology and Infectious Diseases by L. V. Hromashevskyyi of Academy of Medical Sciences of Ukraine<sup>1</sup>, Kyiv*

*National University of Pharmacy<sup>2</sup>, Kharkiv*

*JSC SIC "Borshchahivka CPP"<sup>3</sup>, Kyiv*

**Summary:** there was studied antiviral activity of tablets Altabor. It was determined that the drug has antiviral activity and inhibits the reproduction of Epstein-Barr virus.

**Key words:** altabor, antiviral activity, influenza, Epstein-Barr virus.

Отримано 15.05.2015