

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО СОЕДИНЕНИЯ ИОС-177 – АНАЛОГА ИЗОПРИНОЗИНА

Л.А.Камалян, Н.Г.Джагацпанян, З.Р.Тер-Погосян, М.Г.Гаспарян

*/Онкологический научный центр МЗ Армении/
375052 Ереван, Фанарджяна, 76*

Ключевые слова: интерферон, индуктор интерферона, интерфероногенность, антивирусная активность, стимуляция иммуногенеза

Как известно, высокоочищенные препараты природных и рекомбинантных интерферонов (ИФН) - α , β , γ , а также индукторы ИФН находят все более широкое применение в профилактике и лечении вирусных инфекций и злокачественных новообразований [3–6]. Этому способствуют многочисленные биологические эффекты ИФН и индукторов ИФН, которые обладают антивирусной активностью, являются регуляторами клеточного деления, способствуют дифференциации и активации естественных клеток-киллеров и макрофагов, участвуют в реализации реакций Т-клеточного иммунитета. ИФН и индукторы ИФН рассматриваются как I этап неспецифической противовирусной и противоопухолевой защиты [1,2,7].

В отличие от ИФН индукторы ИФН меньше используются в клинике из-за большей токсичности многих из них и меньшей изученности спектра их биологической активности. В поисках новых малотоксичных индукторов ИФН с широким спектром биологического действия нами были изучены биологические свойства нового соединения ИОС-177, производного инозина, аналога известного иммуномодулятора изопринозина. ИОС-177 получен в Институте органического синтеза АН Латвии.

Материал и методы

Индукция и титрование ИФН. Для индукции ИФН *in vivo* ИОС-177 вводили белым беспородным мышам массой 15–17 г внутривенно (в/в) в дозах 0,5; 1,0; 5,0 мг/мышь.

Интерфероногенную способность ИОС-177 сравнивали с таковой двух природных дсРНК фагового происхождения – ларифана и RFf_2 , а также с вирусом болезни Ньюкастла (ВБН). Ларифан в дозе 25 мг/мышь и RFf_2 в дозе 20 мг/мышь вводили мышам в/б.

Для выявления возможной продукции ИФН *in vitro* в лейкоцитах периферической крови здоровых лиц при воздействии 10 и 100 мкг/мл ИОС-177 использовали суспензии лейкоцитов, культивируемые в течение 24–48 ч в концентрации 2×10^6 кл/мл в среде 199 с 5% бычьей сывороткой.

Титрование ИФН в сыворотках крови мышей, полученных спустя 24, 48 и 72 ч после введения препарата, проводили на клетках гомологичной культуры L-929 по степени подавления цитопатического действия вируса энцефаломиокардита (ВЭМК) в дозе 100 ТЦД₅₀. Для титрования проб лейкоцитарного ИФН использовали клетки лейкозной линии человека L-41, в качестве тест-вируса использовали ВЭМК. Для выражения активности лейкоцитарного ИФН человека в международных единицах (МЕ) в опыты по титрованию включали референс ИФН R69/19.

Определение антивирусной активности ИОС-177. Беспородным мышам в/б вводили препарат ИОС-177 в дозе 5 мг/мышь и спустя 24 ч воспроизводили экспериментальную гриппозную инфекцию интраназальным введением под легким эфирным наркозом вируса гриппа A/Aichi в дозе, обуславливающей гибель более 80% мышей в контроле. Антивирусная активность ИОС-177 была испытана и в отношении ВЭМК. ИОС-177 в дозе 5 мг/мышь вводили в/б за 24 ч до в/б заражения культуральным вирусом в дозе, обуславливающей гибель 80% мышей в течение 14 дней с момента заражения.

Иммуномодулирующее действие ИОС-177 было изучено у мышей, иммунизированных в/б 10% суспензией эритроцитов барана (ЭБ). Препарат вводили за 24 ч до иммунизации ЭБ. Об иммуномодулирующем действии препарата судили по результатам реакции иммунного розеткообразования (Им-РОК) и продукции антителообразующих клеток в селезенке мышей на 5-й день после введения ЭБ.

Результаты и обсуждение

В предварительных опытах было показано, что титры ИФН спустя 24 ч после введения ИОС-177 в дозе 1 мг/мышь были выше по сравнению с 0,5 мг/мышь , но дальнейшее увеличение дозы препарата до 5 мг/мышь не влияло на уровень ИФН. Динамика титров сывороточного ИФН у мышей при введении ИОС-177 (1 мг/мышь) представлена на рисунке.

Как видно из рис., спустя 6 ч после введения ИОС-177 усредненный титр был в пределах $20 \pm 0,3$ ед/мл, что указывает на отсутствие индукции раннего ИФН, который характерен при использовании дсРНК. Наиболее высокие титры ИФН определялись спустя 24 (112 ± 18 ед/мл) и 48 ч (133 ± 21 ед/мл), к 72 ч титр ИФН снижался до $75 \pm 8,7$ ед/мл.

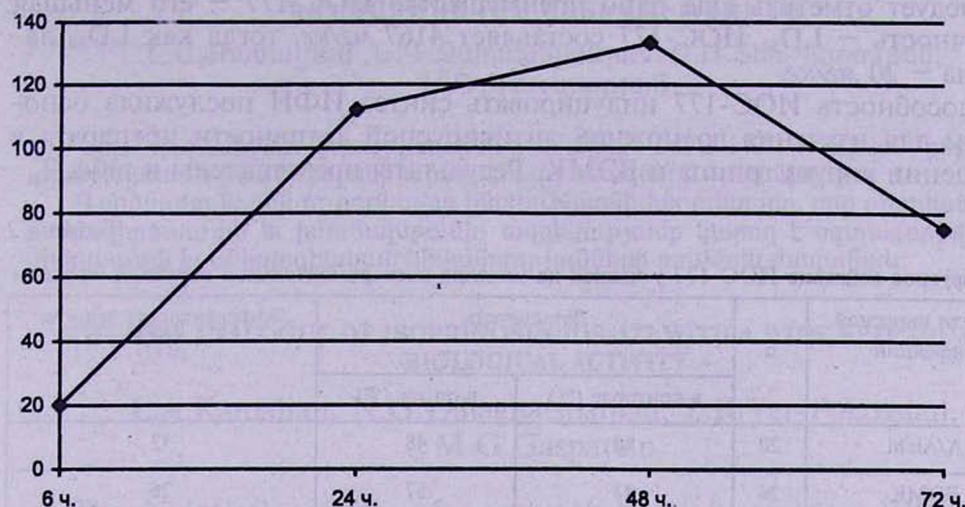


Рис. Индукция сывороточного ИФН у мышей при введении ИОС-177

В следующей серии опытов интерферогенная способность ИОС-177 сравнивалась с таковой известных индукторов ИФН – ВБН, ларифаном и RFf_2 . Уровень индуцируемых различными индукторами титров ИФН у мышей представлен в табл. 1.

Таблица 1

Уровень сывороточного ИФН у мышей при введении ИОС-177

Индукторы ИФН	n	Титры ИФН в ед/мл		
		6 ч	24 ч	P
ИОС-177	15		112±18,0	0,5
ВБН	16		66,2±12,0	
Ларифан	14	60±15,5		<0,5
RFf_2	10	80±5,5		>0,5

Как видно из табл. 1, усредненные титры, индуцируемого ИОС-177 ИФН превышали титры трех других индукторов ИФН, при этом титры, индуцируемые ИОС-177, достоверно превышали таковые при применении ВБН и ларифана.

Согласно полученным данным, ИОС-177 является индуктором ИФН и в лейкоцитах периферической крови человека. Дозы 10 и 100 $мкг/мл$ на 2×10^6 клеток индуцировали лейкоцитарный ИФН соответственно в титрах 200 ± 15 и 250 ± 18 $МЕ/мл$. Следовательно, ИОС-177 в отличие от широко используемых дсРНК обладает способностью продуцировать ИФН не только у животных, но и *in vitro* в лейкоцитах человека.

Следует отметить еще одно преимущество ИОС-177 — его меньшая токсичность — LD_{50} ИОС-177 составляет 4167 мг/кг, тогда как LD_{50} ларифана — 20 мг/кг.

Способность ИОС-177 индуцировать синтез ИФН послужила основанием для изучения возможной антивирусной активности препарата в отношении вируса гриппа и ВЭМК. Результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2

Антивирусное действие ИОС-177 у мышей на моделях экспериментальной вирусной инфекции

Модели вирусной инфекции	n	Летальность		Эффективность защиты (%)
		в контроле (%)	в опыте (%)	
A/Aichi	20	80	48	32
ВЭМК	24	83	57	26

Как видно из табл. 2, при экспериментальной гриппозной инфекции ИОС-177 почти в два раза снижал гибель животных. Об антивирусной активности препарата свидетельствовала и меньшая степень выраженности геморрагической пневмонии у мышей. В контроле у животных, как правило, наблюдалась двусторонняя пневмония при 70–100% поражении легочной ткани. В опыте степень легочных поражений была значительно меньше: у большинства животных выявлена односторонняя пневмония, поражающая около 50% легочной ткани. Защитный эффект ИОС-177 в отношении ВЭМК был несколько меньше (26%).

Учитывая, что ближайшим структурным аналогом ИОС-177 является иммуномодулятор изопринозин, было изучено влияние ИОС-177 на формирование активного иммунного ответа у мышей. Результаты опытов представлены в табл. 3.

Таблица 3

Влияние ИОС-177 на синтез антителообразующих и Им-РОК клеток в селезенке мышей

Число Им-РОК на 10^3 клеток селезенки		Число АОК на 10^6 клеток селезенки	
контроль	опыт	контроль	опыт
42±17	62,5±11	168±31	232±36

Судя по данным табл. 3, ИОС-177 стимулировал иммунный ответ у мышей.

Итак новый практически нетоксичный биологически активный препарат ИОС-177 оказался активным индуктором ИФН пролонгированного действия как в организме мышей, так и в лейкоцитах периферической крови человека, обладающим также антивирусной активностью и способностью стимулировать иммуногенез.

Поступила 15.06.97

**ԻՋՈՊԻՆՈՅԻՆԻ ԱՆԱԼՈԳ ԻՕՍ-177 ՆՈՐ ՄԻԱՅՈՒԹՅԱՆ
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ**

**Լ.Ա.Զամալյան, Ն.Գ.Ջաղացյանյան, Զ.Ռ.Տեր-Պողոսյան,
Մ.Գ.Գասպարյան**

Նոր դեղամիջոց իզոպրինոզինի անալոգ՝ ԻՕՍ-177 3 օրվա ընթացքում առաջացնում է իմունոֆերոնի արտադրություն մկների օրգանիզմում:

Գործնականորեն ոչ թունավոր իմունոֆերոնի ինդուկտորը, որը օժտված է մաեի հակավիրուսային եւ իմունախթանիչ ազդեցությամբ կարող է օգտագործվել մաեի վիրուսային եւ օնկոլոգիական հիվանդությունների բուժման ժամանակ:

**THE NEW ANALOGUE OF ISOPRINOSIN IOS-177 WITH A WIDE SPECTRUM OF
BIOLOGICAL ACTIVITY**

**L.A.Kamalian, N.G.Dzhaghatspanian, Z.R.Ter-Pogossian,
M.G.Gasparian**

The biological activity of a new chemical preparation IOS-177, the analogue of a well-known immunomodulator isoprinosin, has been studied, in particular the ability of the preparation to induce interferon (IFN) in mice.

The preparation in dose 33 mg/kg was used. The induction of IFN was observed during three days and interferonogenic ability of the preparation was not lower than when using such well-known IFN inducers as Newcastle virus or natural ds RNA. Connected with induction of IFN the possible antiviral activity of the preparation on mice with experimental viral infections was studied. The preparation was injected 24 hrs before infection with encephalomyocarditis or influenza viruses. According to received data the preparation statistically reliably increased the survival of experimental mice in comparison with control. The immunomodulating action of the preparation was defined by effecting on the specific immunity. The use of preparation 24 hrs before the injection of sheep erythrocytes caused statistically reliable increase of the number of antibody- and rosette-forming cells in the spleen of mice. Consequently the preparation stimulates the first immune response.

ЛИТЕРАТУРА

1. Земсков В. М., Лидак М. Ю., Земсков А. М., Микстайс У. Я. В кн.: Низкомолекулярная РНК, получение, гидролиз и применение в медицине. Рига, 1985.
2. Еришов Ф. И. Система интерферона в норме и при патологии. М., 1996.
3. Мкртчян Л. Н., Камалян Л. А. Интерфероны в онкологии. Ереван, 1989.
4. Соловьев В. Д., Бектимиров Т. А. Интерфероны в теории и практике медицины. М., 1981.
5. Baron S., Tying S.K., Fleishmann W. R. JAMA, 1991, 266, 10, p. 1375.
6. Dianzani F. J. of Interferon Res., 1992, p 109.
7. Feldmane C., Duks A. Effects of an interferon inducer in patients with metastatic pleuritis. 8th Int. Cong. Immunol., Budapest, 1992, p. 187.