

# Оценка токсичности нового отечественного противогриппозного химиопрепарата триазавирин

С. Я. ЛОГИНОВА<sup>1</sup>, С. В. БОРИСЕВИЧ<sup>1</sup>, В. Л. РУСИНОВ<sup>2</sup>, У. Н. УЛОМСКИЙ<sup>2</sup>, В. Н. ЧАРУШИН<sup>2</sup>, О. Н. ЧУПАХИН<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский центр ФБУ «33 Центральный научно-исследовательский испытательный институт Министерства обороны Российской Федерации», *Сергиев Посад*

<sup>2</sup> ГОУ ВПО «Уральский государственный технический университет — УПИ» имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, *Екатеринбург*

## Toxicity of Triazavirin, a Novel Russian Antiinfluenza Chemotherapeutic

S. YA. LOGINOVA, S. V. BORISEVICH, V. L. RUSINOV, U. N. ULOMSKY, V. N. CHARUSHIN, O. N. CHUPAKHIN

Central Research and Experimental Institute No.33, Ministry of Defense of the Russian Federation, *Sergiev Posad*  
B. N. Eltsin Urals State Technical University, *Ekaterinburg*

В ходе изучения токсичности нового противовирусного Триазавирин установлено, что максимальная концентрация препарата, при которой не происходит визуально наблюдаемых под микроскопом изменений в структуре монослоя и в самих клетках, для культуры клеток MDCK составила 128 мкг/мл, для СПЭВ — 100 мкг/мл. Максимальная доза препарата при однократном внутрибрюшинном введении, при которой отсутствуют какие-либо признаки острой интоксикации белых мышей массой 10–12 г, составляет 1000 мг/кг массы животного. В ходе определения хронической токсичности триазавирин установлено, что его пероральное введение (по 0,05 мл) белым мышам массой 10–12 г в дозе 200 мг/кг (максимально возможная по растворимости концентрация) ежедневно в течение 10 суток хорошо переносится лабораторными животными. Максимально переносимая доза триазавирин для белых мышей составляет  $\geq 200$  мг/кг.

*Ключевые слова: токсичность, мыши, триазавирин.*

The study of the toxicity of triazavirin, a new antiinfluenza agent, showed that the maximum concentration of the drug, inducing no microscopically visible changes in the structure of the monolayer and the cells of the MDCK and SKEV cell cultures, was 128 and 100 mcg/ml respectively. The maximum drug dose for single intraperitoneal administration inducing no signs of acute intoxication in albino mice weighing 10–12 g was 1000 mg/kg. In investigation of the chronic toxicity it was shown that oral administration of the drug (by 0.05 ml) to the albino mice in a dose of 200 mg/kg (maximum possible concentration by the solubility) daily for 10 days was well tolerated by the laboratory animals. The maximum tolerable dose of triazavirin for the albino mice was  $\geq 200$  mg/kg.

*Key words: toxicity, mice, triazavirin.*

К настоящему времени методология изучения токсичности существующих и вновь разрабатываемых химиопрепаратов в отношении возбудителей вирусных инфекций описана в руководстве по доклинической оценке фармакологических препаратов [1]. Подобные исследования уже проводились ранее специалистами филиала ФГУ «48 ЦНИИ Минобороны России — ВЦ» в отношении различного класса неспецифических медицинских средств защиты, используемых для профилактики и лечения особо опасных и опасных инфекционных заболеваний вирусной природы [2].

Целью настоящей работы являлось изучение безопасности нового отечественного противогриппозного химиопрепарата Триазавирин на белых мышах.

© Коллектив авторов, 2012

Адрес для корреспонденции: 141306 Московская обл., Сергиев Посад-6.  
33 Центральный НИИ испытательный институт МО РФ

## Материал и методы

**Культуры клеток.** Используются постоянные культуры клеток почек свиньи — СПЭВ и почек собаки — MDCK. В качестве ростовой среды и среды поддержания использовали полусинтетическую среду (ПС-4) на растворе Хенкса, содержащую 7,5 и 2 % сыворотки крупного рогатого скота соответственно.

**Исследуемый препарат** — Препарат триазавирин синтезирован специалистами НИИ органического синтеза Уральского отделения РАН, г. Екатеринбург, Россия. Препарат представляет собой синтетический аналог пуриновых нуклеотидов (гуанина). Обладает широким спектром противовирусной активности в отношении РНК- и ДНК-содержащих вирусов. Эффективен против 15 видов гриппа, включая вирус А/Н1N1 (свиного гриппа) и H5N1 (птичьего гриппа) на любой стадии болезни.

**Лабораторные животные** — для определения острой и хронической токсичности использовали беспородных белых мышей массой 10–12 г. При изучении острой токсичности срок наблюдения составлял 14 суток, а при изучении хронической токсичности — 30 суток.

**Таблица 1.** Оценка токсичности препарата триазавирина при внутрибрюшинном введении белым мышам массой 10–12 г

Исследуемое соединение	Частота гибели белых мышей при концентрации препарата, мг/кг массы животного							
	15,2	31,3	62,5	125	250	500	1000	2000
Триазабирин	0/20 <sup>1</sup>	0/20	0/20	0/20	0/20	0/20	0/20	0/20
Контроль (без препарата)	0/20	0/20	0/20	0/20	0/20	0/20	0/20	0/20

**Примечание.** Здесь и далее представлено общее количество павших/взятых в опыт животных, шт.

**Таблица 2.** Результаты изучения влияния препарата триазавирина при внутрибрюшинном введении белым мышам на прирост массы тела

Доза препарата, мг/кг	Средняя масса мышей (г) на различные сроки (дни) после введения препарата										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
7,5	10,8±0,1	11,9±0,2	12,3±0,2	12,8±0,3	13,4±0,1	13,9±0,1	14,1±0,1	14,8±0,1	15,4±0,1	15,7±0,1	16,1±0,1
15	10,7±0,1	11,7±0,3	12,4±0,1	12,8±0,2	13,2±0,2	13,8±0,1	14,0±0,1	14,8±0,1	15,2±0,2	15,6±0,1	16,1±0,1
31	10,8±0,2	11,7±0,2	12,2±0,1	12,7±0,2	13,2±0,1	13,6±0,1	14,0±0,1	14,6±0,2	15,2±0,2	15,6±0,1	16,3±0,1
62	10,8±0,1	12,1±0,3	12,4±0,3	12,8±0,2	13,4±0,1	13,7±0,1	14,0±0,1	14,8±0,1	15,6±0,2	15,7±0,1	16,3±0,1
125	10,8±0,1	11,2±0,2	12,1±0,1	12,5±0,1	13,2±0,1	13,6±0,2	13,9±0,1	14,7±0,2	15,3±0,1	15,8±0,2	16,4±0,1
250	10,7±0,2	11,9±0,3	12,4±0,2	12,6±0,1	13,2±0,1	13,5±0,1	13,7±0,2	15,1±0,1	15,6±0,1	15,8±0,2	16,5±0,2
500	10,8±0,1	12,1±0,3	12,6±0,2	12,8±0,2	13,3±0,1	13,8±0,1	14,1±0,1	14,9±0,2	15,4±0,1	15,8±0,1	16,3±0,1
1000	10,7±0,2	12,0±0,3	12,4±0,2	12,7±0,2	13,2±0,1	13,8±0,1	14,2±0,1	15,0±0,2	15,5±0,1	15,9±0,2	16,2±0,1
2000	10,8±0,1	10,3±0,1	11,3±0,1	11,5±0,1	12,4±0,1	12,8±0,1	13,2±0,2	13,9±0,1	14,6±0,1	14,8±0,2	15,3±0,1
Контроль (без препарата)	10,8±0,1	11,4±0,1	12,2±0,2	12,5±0,1	13,3±0,1	13,7±0,2	14,0±0,1	14,8±0,1	15,5±0,1	15,7±0,2	16,2±0,2

**Примечание.** Представлены средние величины измерений массы 10 мышей в каждой группе.

## Результаты и обсуждение

Токсичность препарата оценивали в отношении культур клеток MDCK и СПЭВ. Плотность суспензии клеток составляла 250 тыс/мл. Суспензию клеток по 1 мл вносили в стеклянные пробирки, в течение 48 ч инкубировали при (37,0±0,5)°C для формирования монослоя. Готовили исследуемые разведения препарата триазавирина на среде поддержания в концентрации от 2 мкг/мл до 300 мкг/мл и вносили в пробирки с монослоем культуры клеток. На каждую дозу препарата использовали по 10 пробирок. Визуальный учёт с помощью светового микроскопа проводили ежедневно в течение 5 дней. Результаты исследований выявили, что в концентрациях 2–100 мкг/мл триазабирин не вызывал визуально наблюдаемых изменений во всех использованных культурах клеток. В концентрации 300 мкг/мл препарат вызывал разрушение 80% монослоя клеток MDCK и 100% деструкцию клеток СПЭВ. В концентрации 200 мкг/мл препарат вызывал разрушение 50% монослоя клеток MDCK и 60% деструкцию клеток СПЭВ. Следовательно, максимальная концентрация препарата (МПК), при которой не происходит визуально наблюдаемых под микроскопом изменений в структуре монослоя и в самих клетках, для культуры клеток MDCK составила 128 мкг/мл, для СПЭВ — 100 мкг/мл.

Для определения острой токсичности *in vivo* разведения препарата триазавирина в диапазоне от 7,5 до 2000 мг/кг готовили на физиологическом растворе и вводили животным внутрибрю-

шинно по 0,5 мл однократно. На каждое разведение использовали по 20 животных. Ежедневно животных осматривали, взвешивали, наблюдали за поведением.

Результаты, представленные в табл. 1, свидетельствуют о том, что триазабирин в используемых концентрациях не приводит к гибели белых мышей массой 10–12 г. Таким образом, рассчитать величину ЛД<sub>50</sub> препарата для белых мышей массой 10–12 г не представляется возможным. В более высоких концентрациях в малом объёме растворителя препарат не растворим, кашеобразная консистенция не позволяет использовать иглы шприцов для введения животным препарата в такой консистенции.

В таблице 2 представлены данные по изменению массы мышей (средняя величина) контрольной группы (плацебо) и опытных групп, в которых животным вводили препарат триазабирин в дозах от 7,5 мг/кг до 2000 мг/кг. Установлено, что препарат в исследованных дозах при однократном внутрибрюшинном введении нетоксичен для мышей массой 10–12 г. Животные нормально развивались, были активны, не теряли в массе. Исключение составила группа мышей, которым вводили препарат в дозе 2000 мг/кг. Животные, получавшие препарат триазабирин в дозе 2000 мг/кг, были менее подвижны и медленнее прибавляли в весе (в среднем масса тела была ниже приблизительно на 1,0 г), хотя, также как и в случае применения других доз препарата, другие признаки токсичности и летальность отсутствовали.

**Таблица 3. Результаты изучения влияния препарата триазавирина при пероральном введении белым мышам на прирост массы тела**

Доза препарата, мг/кг	Средняя масса мышей (г) на различные сроки (дни) после применения препарата										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	30
200	15,7±0,1	16,1±0,1	16,6±0,2	16,8±0,3	17,4±0,1	17,9±0,1	18,1±0,1	18,8±0,1	19,4±0,1	19,8±0,1	25,4±0,1
Контроль (без препарата)	15,7±0,2	16,2±0,2	16,5±0,2	16,9±0,1	17,3±0,1	17,7±0,2	18,0±0,1	18,8±0,1	19,5±0,1	19,9±0,1	25,0±0,1

Следовательно, максимальная доза триазавирина, при которой отсутствуют какие-либо признаки интоксикации белых мышей массой 10–12 г, составляет 1000 мг/кг массы животного.

Для определения хронической токсичности *in vivo* также использовали белых мышей массой 10–12 г. Препарат триазавирин в дозе 200 мг/кг (максимально возможная по растворимости концентрация) готовили на физиологическом растворе и вводили животным перорально по 0,05 мл (максимально возможный объём) ежедневно в течение 10 дней. Наблюдение за животными осуществляли в течение 30 дней.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р. У. Хабриева. М.: 2005.

Результаты исследований показали (табл. 3), что при пероральном применении триазавирина в дозе 200 мг/кг массы белых мышей в течение 10 дней препарат не оказывал токсического действия на животных (отсутствовали изменения поведения животных, масса тела соответствовала контрольной группе животных, которым не вводили препарат).

Таким образом, триазавирин в дозе 200 мг/кг хорошо переносится при длительном применении у белых мышей массой 10–12 г. МПД составляет  $\geq 200$  мг/кг.

2. Логинова С. Я., Борисевич С. В., Максимов В. А., Бондарев В. П. Оценка токсичности неспецифических медицинских противовирусных средств, предназначенных для профилактики и лечения опасных и особо опасных вирусных инфекций. Антибиотики и химиотер 2009; 54: 3–4: 11–14.