

# НЕЙРОТРОПНЫЙ ПЕПТИД, ОБЛАДАЮЩИЙ АНТИВИРУСНОЙ АКТИВНОСТЬЮ В ОТНОШЕНИИ ГРИППА ЧЕЛОВЕКА И ПТИЦ И ГЕРПЕС-ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

М.В. Мезенцева<sup>1</sup>, Л.А. Андреева<sup>2</sup>, Р.Я. Подчерняева<sup>3</sup>, Е.И. Исаева<sup>3</sup>,  
И.М. Шаповал<sup>1</sup>, В.Э. Щербенко<sup>1</sup>, Н.Ф. Мясоедов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи Минздравсоцразвития России, Москва

<sup>2</sup> Учреждение Российской академии наук Институт молекулярной генетики РАН, Москва

<sup>3</sup> ФГБУ НИИ вирусологии имени Д.И. Ивановского Минздравсоцразвития России, Москва

**Резюме.** Проведены исследования *in vitro* и *in vivo* и получены доказательства противовирусного действия препарата Селанк, относящегося к нейро- и психотропным препаратам, в отношении плохо контролируемых массовых социально опасных инфекций, вызываемых вирусами гриппа человека и птиц, а также — вирусами герпеса 1 и 2 типов. Показано, что препарат Селанк может обладать профилактическим эффектом при гриппе человека (H3N2) и птиц (H5N1), а также — лечебным эффектом при герпес-вирусной инфекции.

**Ключевые слова:** глипролины, Селанк, грипп А человека и птиц, вирусы герпеса 1 и 2 типов.

## NEUROTROPIC PEPTID CALLED SELANK WITH ANTIVIRAL ACTIVITY AGAINST HUMAN AND BIRD INFLUENZA AND HERPES VIRUS INFECTIONS

Mezentseva M.V., Andreeva L.A., Podcherniaeva R.Ya., Isaeva E.I., Shapoval I.M., Scherbenko V.E., Myasoedov N.F

**Abstract.** The antiviral action of Selank which is the neurotropic and psychotropic peptide has been studied. Antiviral characteristics of Selank were evaluated in both *in vitro* and *in vivo* against influenza virus strain H3N2 and H5N1 and Herpes virus 1, 2 types. It was shown that Selank may have the prophylactic effect during influenza infection and therapeutic effect during herpes virus infection. (*Infekciâ i immunitet*, 2011, vol. 1, N 1, p. 81–84)

**Key words:** glycoprolines, Selank, influenza A of human and bird origins, viruses of herpes types 1 and 2.

## Введение

Несмотря на наличие в лечебной практике достаточно большого набора препаратов для лечения вирусных заболеваний, поиск новых эффективных, малотоксичных и недорогих лекарственных средств продолжается [2, 3, 4, 6, 7]. В результате исследований последних лет выделен новый класс регуляторных пептидов — глипролины [1]. Глипролины относятся к олигопептидам, некоторые из которых, пер-

спективны для медицинского применения. Так, лекарственный препарат Семакс уже широко используется в неврологической клинике, а Селанк прошел третью фазу клинических испытаний в качестве анксиолитика [5].

Больные, страдающие различными психоневрологическими расстройствами подвержены частым инфекционным заболеваниям, которые протекают, как правило, в тяжелой форме [8]. В связи с этим, представляется важным изучить возможность использования нейро- и психо-

поступила в редакцию 11.11.2010  
отправлена на доработку 15.11.2010  
принята к печати 17.11.2010

© Мезенцева М.В. и соавт., 2011

### Адрес для переписки:

Мезенцева Марина Владимировна,  
д.м.н., заведующая лабораторией  
иммунологии ФГБУ НИИЭМ  
имени Н.Ф. Гамалеи  
Минздравсоцразвития России

123098, Москва, ул. Гамалеи, 18,  
ФГБУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН  
Минздравсоцразвития России.  
Тел./факс: (499) 193-55-82.  
E-mail: marmez@mail.ru

тропных препаратов, применяемых в клинике, в качестве противоиных средств.

Представленные исследования посвящены экспериментальной проверке противовирусного действия препарата Селанк в отношении плохо контролируемых массовых социально опасных инфекций, вызываемых вирусами гриппа человека и птиц (РНК-содержащие), а также — вирусами герпеса 1 и 2 типов (ДНК-содержащие).

Результаты проведенных исследований, как мы полагаем, позволят расширить клинические показания находящегося на стадии внедрения в клинику препарата Селанк.

## Материалы и методы

Испытания проводились в соответствии с разработанными ранее методами, изложенными в «Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ» [3].

1. Исследования *in vitro* вирулицидного действия препарата Селанк (в концентрациях  $10^{-6}$  М,  $10^{-7}$  М,  $10^{-8}$  М) проводили на модели клеточной культуры MDCK (фибробласты почек собаки) при заражении вирусом А/Aichi 1/68 (H3N2) в дозе 100 ТЦД<sub>50</sub>. Препарат вносили в культуру клеток за 24 часа до заражения вирусом гриппа, одновременно с вирусом и через 24 часа после заражения. Титр вируса определяли в культуральной жидкости через 3 суток по наличию гемагглютининов в реакции гемагглютинации (РГА).

Для изучения *in vitro* противовирусной активности препарата Селанк (в разведении  $10^{-6}$  М) в отношении вируса гриппа птиц проводили в культурах клеток почки эмбриона свиньи (СПЭВ). Использовали высокопатогенный штамм вируса гриппа А птиц А/утки/Новосибирск/56/05 (H5N1), выделенный во время эпизоотии среди домашних птиц в июле 2005 года в Новосибирской области, в дозе 1,0 ТЦД<sub>50</sub>. Препарат применяли за 1 час до заражения клеток, сразу после адсорбции вируса и через 1 час после заражения клеток. Учет результатов проводили по регистрации % жизнеспособных клеток и их пролиферативной активности.

Эксперименты по определению антивирусных свойств Селанка в отношении вируса простого герпеса 2 серотипа (ВПГ-2, штамм ЕС) проводили на культурах клеток почек обезьян (VERO). Инфекционный титр ВПГ-2 составил 6 lg ТЦД<sub>50</sub>/мл. В опыте препарат Селанк (в концентрациях  $10^{-6}$  М,  $10^{-7}$  М,  $10^{-8}$  М) испытывали по профилактической и лечебной схемам и вводили за 24 до заражения, одновременно с введением вируса и спустя 24 часа после введения вируса. Через 72 часа инкубации уровень противовирусной активности препарата регистрировали по снижению титров вируса в сравнении с контролем — ВПГ-2.

2. Исследования *in vivo* противогриппозного действия препарата Селанк проводились на бе-

лых беспородных мышах. Животных инфицировали вирусом А/Aichi 1/68 (H3N2) в дозе 100 LD<sub>50</sub>. Препарат Селанк в концентрациях 100 мкг/кг и 200 мкг/кг вводили животным внутривентриально по 0,2 мл/мышь за 24 часа до заражения вирусом, в момент заражения и через 24 часа после заражения. Противовирусный эффект препаратов оценивали по выживаемости мышей (% выживаемости, % защиты, средняя гармоническая величина времени жизни, индекс эффективности препарата), а также по степени подавления репродукции вируса гриппа в легких мышей (на 3 сутки после инфицирования).

Противовирусный эффект препарата Селанк в отношении вируса простого герпеса 1 типа (ВПГ-1) исследовали *in vivo* на белых беспородных (б/п) мышах. Титр вируса при внутривентриальном заражении был равен 3,5 lg/0,2 мл. Препарат Селанк (200 мкг/кг) вводили животным внутривентриально за 24 часа до заражения, в момент заражения, через 24 часа после заражения. Противовирусный эффект препаратов оценивали по выживаемости мышей (% выживаемости, % защиты, средняя гармоническая величина времени жизни, индекс эффективности препарата), а также в опытах биологического титрования мозга зараженных животных на клетках VERO. Титр ВПГ-1 определяли в ткани мозга опытных и контрольных мышей, взятых на 7 день после инфицирования.

## Результаты

### Антивирусный эффект препарата Селанк в отношении вируса гриппа человека

Результаты воздействия препарата Селанк *in vitro* на способность вируса гриппа к размножению показали, что Селанк во всех исследованных концентрациях обладал противовирусным действием в отношении вируса гриппа, сравнимым с эффектом препарата сравнения —  $\alpha$ -интерфероном (IFN $\alpha$ ). Так, при введении Селанка по профилактической схеме в дозе  $10^{-6}$  М отмечено полное подавление размножения вируса, а при введении вместе с вирусом и через 24 часа после заражения гриппом инфекционный титр вируса снижался в 30 и 10 раз соответственно. Применение препарата в концентрациях  $10^{-7}$  М и  $10^{-8}$  М, как по профилактической, так и по лечебной схемам, также оказывало выраженное вирус-ингибирующее действие.

Результаты экспериментов *in vivo* по проверке противогриппозной активности препарата Селанк представлены в таблице 1. Максимальный эффект обнаружен при введении препарата Селанк по профилактической схеме — защита 40% животных (независимо от дозы препарата). При этом профилактическое и экстренно-лечебное применение Селанка приводило к увеличению средней гармонической величины времени жизни животных на 2,5 дня и 1,5 дня, соответственно. Доказательства

противовирусной активности препарата Селанк были получены в опытах титрования вируса гриппа H3N2 в легких мышей. Титр вируса в легких животных, принимавших Селанк, снижался на 2,25–2,37 lg и 0,87–1,25 lg при введении исследованного препарата по профилактической и по экстренно-лечебной схемам, соответственно.

Расчет индекса эффективности (ИЭ) препарата Селанк при гриппе показал, что при введении препарата по профилактической схеме ИЭ = 40% (при всех дозах препарата), а при применении Селанка в момент заражения (экстренное лечение) ИЭ = 20%.

### Антивирусный эффект препарата Селанк в отношении вируса гриппа птиц (H5N1)

Как видно из таблицы 2, препарат Селанк обладал способностью подавлять репродукцию вируса гриппа А (H5N1) в культурах клеток СПЭВ как в случае обработки клеток за 1 час до заражения клеток вирусом, так и в момент инфицирования, и через 1 час после заражения культур клеток вирусом. Однако максимальный противовирусный эффект препарата Селанк проявлялся в случае, когда его вносили в разведении  $10^{-6}$  М в момент заражения клеток СПЭВ. В этих условиях препарат вызывал более чем 80% подавление репродукции патогенного варианта вируса птичьего гриппа в клетках. Препарат Селанк оказался активным и при профилактическом его применении, когда до 70% клеток было защищено от заражения вирусом гриппа птиц.

### Антивирусное действие препарата Селанк в отношении вирусов простого герпеса 1 и 2 типов

В экспериментах *in vitro* было установлено, что исследуемый препарат обладал значительной противовирусной активностью в отношении вируса простого герпеса 2 типа (штамм ЕС). Противовирусное действие препарата *in vitro* в клетках VERO было зафиксировано в случае использования экстренно-лечебной и лечебной схем. Профилактическое действие препарата было выражено слабо. Установлено, что препарат Селанк в концентрациях  $10^{-6}$  М,  $10^{-7}$  М,  $10^{-8}$  М снижал инфекционный титр ВПГ-2 на 1,0–1,5 lg при использовании его по экстренно-лечебной схеме и на 0,5–1,0 lg при введении препарата по лечебной схеме. При этом препарат подавлял ЦПД вируса герпеса на 50–75% в течение 72 часов. Стойкий 50% ингибирующий эффект в течение 96–120 часов был отмечен только при концентрации  $10^{-6}$  М при введении препарата совместно с ВПГ-2.

Изучение противогерпетической активности препарата Селанк *in vivo* показало, что препарат оказывал преимущественно лечебное действие средней степени выраженности (табл. 3). Профилактическая и экстренно-лечебная схемы введения препарата оказались не достаточно эффективными. Выраженной противовирусной активностью препарат Селанк обладал при использовании его через 24 часа после заражения в дозе 200 мкг/кг — 40% защиты животных, сред-

**ТАБЛИЦА 1. ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА СЕЛАНК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГРИППОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ *IN VIVO***

Схема введения Селанка	Концентрация препарата	% выживаемости	% защиты	$\tau^*$	Титр вируса (lg ТЦД <sub>50</sub> )**
За 24 часа до заражения	100 мкг/кг	40	40	8,8	2,88
В момент заражения		20	20	6,8	4,0
Через 24 часа после заражения		20	20	6,6	5,0
За 24 часа до заражения	200 мкг/кг	40	40	8,8	3,0
В момент заражения		20	20	6,8	4,38
Через 24 часа после заражения		0	0	5,32	5,25
КОНТРОЛЬ — инфицированные вирусом гриппа (100 LD <sub>50</sub> )		0	0	5,26	5,25

**Примечание:** \* $\tau$  — средняя гармоническая величина времени жизни животных; \*\* — титр инфекционности легких мышей под воздействием препарата Селанк (через 3 суток после заражения).

**ТАБЛИЦА 2. ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА СЕЛАНК В ОТНОШЕНИИ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ГРИППА А ПТИЦ (H5N1) В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК СПЭВ**

Схемы введения препарата	Вирус-индуцированная гибель зараженных клеток при применении препарата Селанк (в %)	
	Препарат Селанк ( $10^{-6}$ М)	Контроль вируса H5N1
За 1 час до заражения вирусом гриппа H5N1	30	95
В момент инфицирования клеток	15	95
Через 1 час после заражения клеток	50	85

**ТАБЛИЦА 3. ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА СЕЛАНК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВПГ-1 *IN VIVO***

Схема введения препарата	Доза препарата (мкг/кг)	% выживаемости	% защиты	$\tau^*$	Снижение титра вируса (в lg)**
За 24 часа до заражения	200	60	20	11,0	0,5
В момент заражения	200	60	20	13,7	0,5
Через 24 часа после заражения	200	80	40	20,0	2,0
КОНТРОЛЬ ВПГ-1	100 LD <sub>50</sub>	40	0	9,7	—

**Примечание:** \* $\tau$  — средняя гармоническая величина времени жизни животных; \*\* — титр ВПГ-1 в мозге мышей.

няя продолжительность жизни увеличивалась на 10,3 дня, снижение инфекционности ВПГ-1 на 2,0 lg LD 50 (т.е. в 100 раз) по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ), индекс эффективности — 50%. Таким образом, применение препарата Селанк по лечебной схеме оказалось наиболее эффективным.

## Обсуждение

Исходя из полученных данных, можно заключить, что препарат Селанк обладает противовирусной активностью в малых дозах ( $10^{-6}$  М,  $10^{-7}$  М,  $10^{-8}$  М), подавляя *in vitro* размножение вируса гриппа А человека (H3N2) и птиц (H5N1) или герпеса. В опытах *in vitro* выявлено, что препарат Селанк, применяемый в профилактических целях при гриппе человека или лечебных целях при генитальном герпесе, обладает противовирусной активностью и снижает репродукцию вирусов в 5 и более раз.

Применение препарата Селанк *in vivo* по профилактической схеме при гриппе А человека и лечебной схеме — при герпесе защищает до 40% животных от воздействия вируса по сравнению с контрольными животными. В опытах на животных показано, что препарат Селанк при введении по профилактической схеме при гриппе А человека и лечебной схеме — при герпесе подавляет размножение вирусов в среднем на 2 lg.

Индекс эффективности препарата Селанк при гриппозной инфекции составляет 40% (профилактика), а при герпесвирусной инфекции — 50% (лечение). Соответственно, препарат Селанк можно отнести к эффективным препаратам в отношении вирусов гриппа человека (H5N1) и герпеса.

Препарат Селанк в разведении  $10^{-6}$  М обладает выраженными лечебно-профилактическими свойствами в отношении инфекции, вызванной высокопатогенным штаммом вируса гриппа птиц А (H5N1) *in vitro*. Максимальные противовирусные свойства препарата обнаружены при обработке клеток СПЭВ сразу же после адсорбции вируса (80% защиты клеток).

Таким образом, совокупность полученных данных позволяет сделать заключение, что препарат Селанк может обладать профилактическим

эффектом при гриппе человека и птиц, а также — лечебным эффектом при герпес-вирусной инфекции и, возможно, гриппе птиц (H5N1).

## Список литературы

1. Ашмарин И.П., Каменский А.А., Ляпина Л.А., Мясоедов Н.Ф., Самонина Г.Е. Глипролины как самостоятельные регуляторы и стабилизаторы других пептидов // Вопр. биол. мед. и фармацевт. химии. — 2002. — № 1. — С. 24–27.
2. Ершов Ф.И. Антивирусные препараты: Справочник. — М., Медицина: 1998. — 187 с.
3. Ершов Ф.И., Наровлянский А.Н., Дерябин П.Г., Березина Л.К., Гуськова Т.А., Николаева И.С., Мезенцева М.В., Григорян С.С., Ожерелков С.В., Васильев А.Н., Щербенко В.Э., Ленева И.А. Методические указания по изучению специфической противовирусной активности фармакологических веществ // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ; под ред Р.У. Хабриева. — М., 2005. — С. 532–557.
4. Зверев В.В., Киселев О.И., Стукова М.А., Руденко В.И., Киселев В.И. Лекарственные препараты против герпесвирусных инфекций. — СПб., 2002. — 102 с.
5. Зозуля А.А., Незнамов Г.Г., Сюняков Т.С., Кост Н.В., Габаева М.В., Соколов О.Ю., Серебрякова Е.В., Сираничева О.А., Андрющенко А.В., Телешова Е.С., Сюняков С.А., Смулевич А.Б., Мясоедов Н.Ф., Середенин С.Б. Эффективность и возможные механизмы действия нового пептидного анксиолитика селанка при терапии генерализованного тревожного расстройства и неврастении // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. — 2008. — № 4. — С. 38–48.
6. Каркищенко Н.Н. Лекарственная профилактика. — М.: Воентехлит, 2001. — 752 с.
7. Киселев О.И., Деева Э.Г., Слита А.В., Платонов В.Г. Антивирусные препараты для лечения гриппа и ОРЗ. — СПб., 2000. — 131 с.
8. Уचाкина О.Н., Учакин П.Н., Мясоедов Н.Ф., Андреева Л.А., Щербенко В.Э., Мезенцева М.В., Габаева М.В., Соколов О.Ю., Зозуля А.А., Ершов Ф.И. Иммуномодулирующие свойства Селанка у людей с тревожно-астеническими расстройствами // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. — 2008. — № 5. — С. 71–75.