

Винахід належить до ензимології та вірусології, а саме, - до клітинних ферментів, асоційованих з вірусом, і може бути використаний в медичній вірусології та ветеринарії.

Найбільш близьким до запропонованого технічного рішення є спосіб, який використовується для боротьби з вірусними інфекціями "Ремантадин", та його похідні, до яких включено 1 – (адемантіл) пропіламін, котрі є хімічними речовинами, що є причиною їх рідкого використання у практичній охороні здоров'я [1].

До основи винаходу поставлено задачу визначення можливості використання антивірусного засобу, який інгібує трипсиноподібні протеази, що дозволить створити на його основі ряд препаратів для лікування вірусних інфекцій, при яких розщеплення білка - попередника викликається клітинними протеазами.

Поставлена задача вирішується тим, що, згідно винаходу, інгібітор трипсиноподібної протеази використовують як антивірусний засіб.

Запропонований засіб є інгібітором трипсиноподібних протеаз, які були виділені з легенів дужих мишей і очищені способами іонообмінної хроматографії на ДСАЕ - целюлозі, гел'єфільтрацією на сефадексах, з наступною афінною хроматографією на трипсин - сефарозі 4В, з молекулярною вагою 47500 Д, що являє собою аморфну речовину, добре розчинену у дистильованій воді. Інгібітор пригнічує протеазну активність трипсиноподібних протеаз, пригнічує розмноження вірусу грипу А і В в курячих ембріонах, у культурі клітин МДСК, і який володіє захисними властивостями при експериментальному грипі на білих мишах. Критерієм протівірусного впливу у першому випадку було зниження титрів інфекційної і гемаглютинуючої активності. У другому випадку про протівірусний вплив робили висновок за відсотком виживання тварин та середньою тривалістю їхнього життя.

Приклад 1 (досвід 19): Антипротиолітичну дію запропонованого інгібітору вивчали на трипсиноподібних протеазах білих мишей. З легенів 100 шт. дужих білих мишей, роду "Baiva", вагою 14-16 г було виділено 8 ізоферментів, які володіють протеазною активністю, і один їх інгібітор. Виділений інгібітор придушував протеазну активність ізоферментів трипсиноподібних протеаз в неоднаковій кількості. Наслідки досліджень антипротиолітичної дії препарату (ІПА) зображені на фіг., а.

Приклад II (досвід 3): Вивчення дії клітинного інгібітора трипсиноподібних протеаз на розвиток вірусу грипу у курячих ембріонів. Було вивчено дію інгібітору протеаз на 900 шт. курячих ембріонів, інфікованих вірусом групи А. Одинадцятиденні курячі ембріони було розбито на 5 груп: I група – в ембріони було введено по 0,2 мл вірусу групи А/APR/8/34 з інфекційним титром 5,0-5,5 lg ЕІД 50/0,2 мл і титром гемаглютиніну 1:64, 1:128 в 0,2 мл; II група – вводили вірус грипу А в тій самій дозі з додатком трипсину кристалічного в дозі 2 мкг на ембріон; III група – вводили вірус грипу А з додатком клітинного інгібітору трипсиноподібних протеаз, у дозі 2 мкг на ембріон; IV група – вводили вірус грипу А з додатком інгібітору клітинного і трипсину, в дозі 2 мкг на ембріон; V група – вводили вірус грипу А з додатком вірусіндукованого інгібітору трипсиноподібних протеаз (досвід 18), у дозі 2 мкг на ембріон.

Після зараження курячі ембріони інкубували 48 годин у термостаті зі зволоженням повітря температурою 36-37°C, після чого їх охолоджували 16-18 годин за температурою 3-4°C. Після охолодження відбиралася стерильна аллантаїсна рідина, в якій визначалася протеазна, інгібіторна, інфекційна і гемаглютинуюча активності і загальний білок.

Як показують висновки, зображені на фіг., б (II група), введення трипсину разом з вірусом грипу А, пригноблювало загальний білок і стимулювало інфекційну активність. У II групі, введений клітинний інгібітор пригнічував інфекційну, гемаглютинуючу активність та загальний білок. У IV групі додаток кристалічного трипсину разом з клітинним інгібітором не пригнічував утворення загального білку, але гемаглютинуюча та інфекційна активність різко спадали. У V групі не додавали вірусіндукований інгібітор - виділений з легенів мишей, заражених вірусом грипу APR/8/34 не відічалася пригнічування інфекційної та гемаглютинуючої активності.

Таким чином, інгібітор трипсиноподібних протеаз, виділений з легенів дужих мишей, володіє здібністю пригнічувати розвиток інфекційної і гемаглютинуючої активності вірусу грипу, у той час як інгібітор, виділений з легенів інфікованих мишей, цією здібності не мав.

Приклад 3: Дія клітинного інгібітору на виживання мишей, які інфіковані летальною дозою вірусу грипу APR/8/34. Висновки досліджень оцінювали за відсотком виживання мишей. Дані досліджень наведені в таблиці 1. Вони свідчать про те, що клітинний інгібітор трипсиноподібних протеаз під час інтранозального введення мишам у дозі 18 мкг/мишу 1 раз на день, щоденно, протягом 5 діб, мав висловлений захисний ефект. Крім того, інгібітор трипсиноподібних протеаз не виявляв токсичності у тварин. Вони залишалися живими і на 14 добу після введення інгібітору (термін спостереження).

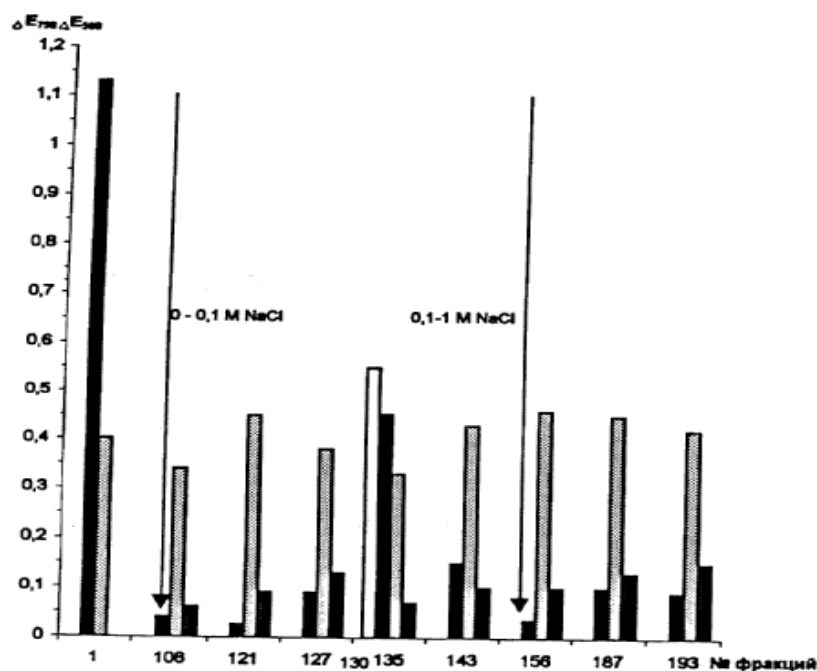
Таким чином, препарат - інгібітор трипсиноподібних протеаз мав високу антивірусну активність і може бути використаний не тільки при грипі, а й при інших вірусних інфекціях, у яких розщеплення білка - попередника виконується клітинними протеазами.

Джерела інформації:

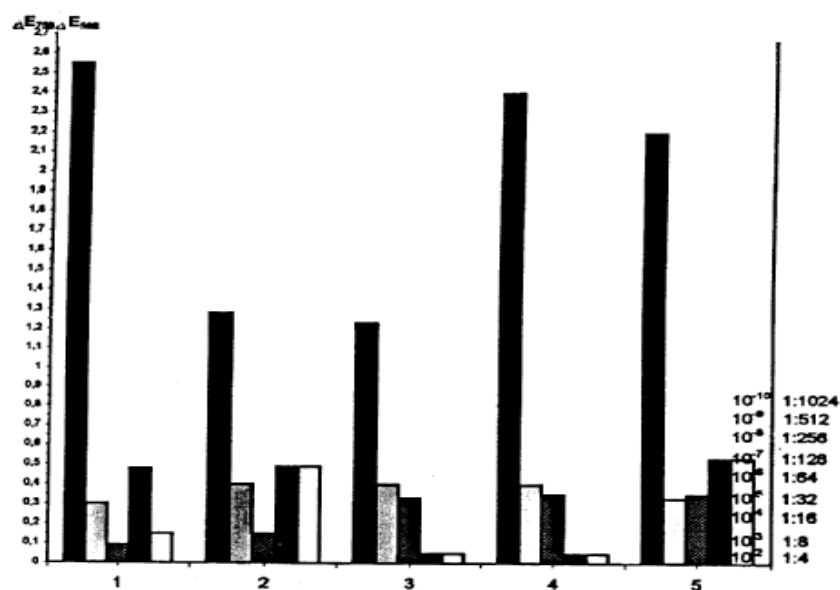
1. Поліс Я.Ю., Грава І.Я., Індулен М.К., Каналь І.А., Дзегузе Д.Р. Лікувальний та профілактичний протигрипозний засіб "Адапромін" // Методичні указання фармакологічного комітету МЗ УРСР, 1971. - С. 5.

Вплив клітинного інгібітору трипсиноподібних протеаз на виживання мишей,
інфікованих летальною дозою вірусу грипу APR/8/34

Назва групи	К-ть тварин у групі	Доза вірусу APR/8/34 (VII пасаж)	Доза інгіб. на мишу щодо білка	Кількість тварин		% захищених тварин
				пало	вижило	
1. Вірус грипу	40	10^{-3}	-	40	-	0
2. Вірус грипу + трипсин кристалічний	40	10^{-3}	18 мкг	40	-	0
3. Вірус грипу + клітинний інгібітор протеази	40	10^{-3}	18 мкг	7	33	82,5
4. Клітинний інгібітор протеази	40	10^{-3}	18 мкг	-	40	100
5. Трипсин	10	-	18 мкг	-	10	100
6. Фосфатний буфер	10	-	0,2	-	10	100



(а) Дія клітинного інгібітору на протеазну активність ізоферментів трипсиноподібних протеаз, виділених з нормальних легенів
 □ інгібітор; ■ білок; ▨ протеаза; ■ протеаза+інгібітор
 1 – вихідний матеріал після діалізу



(б) Дія інгібіторів, виділених з легенів мишей до інфікування і після інфікування вірусом грипу APR 8/34, на розвиток вірусу грипу у курячих ембріонах через 48 годин після інфікування
 ■ білок; ▨ інгібіуюча активність; □ інфекційна активність; ▨ протеаза; ■ гемаглютинуюча активність
 1 – вірус; 2 – вірус+трипсин; 3 – вірус+інгібітор;
 4 – вірус+інгібітор+трипсин (досвід № 16); 5 – вірус+інгібітор (досвід № 18)

Фіг. (а, б)