

1 – Научно-исследовательский институт гриппа Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 15/17

2 – Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, 620002, Россия, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19

3 – Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, Россия, 620041, г. Екатеринбург, ул. Софьи Ковалевской, 22 / Академическая, 20

4 – ООО «Уральский центр биофармацевтических технологий» (резидент Фонда «Сколково»), Россия, 624130, г. Новоуральск, ул. Подгорная, 11

1 – Research Institute of Influenza of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 15/17, Prof. Popov st., Saint-Petersburg, 197376, Russia

2 – Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, 19, Mira str., Ekaterinburg, 620002, Russia

3 – I.Y. Postovsky Institute of Organic Synthesis of Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 22, S. Kovalevskay / 20, Akademicheskaya str., Ekaterinburg, 620041, Russia

4 – LLC «Ural center of biopharmaceutical technologies» (resident of Foundation «Skolkovo»), 11, Podgornaya str., Novouralsk, 624130, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: edeeva@hotmail.com

ПРОТИВОВИРУСНЫЙ ПРЕПАРАТ ТРИАЗАВИРИН®: ОТ СКРИНИНГА ДО КЛИНИЧЕСКОЙ АПРОБАЦИИ

Э.Г. Деева^{1*}, В.Л. Русинов^{2,4}, В.Н. Чарушин^{2,3}, О.Н. Чупахин^{2,3},
О.И. Киселев¹

Резюме. Представлены результаты доклинического и клинического изучения I, II фаз нового отечественного противовирусного препарата Триазавирин®. Результаты изучения фармакокинетики и безопасности препарата Триазавирин® показали, что его максимальная концентрация в плазме крови достигается в среднем через 1–1,5 ч, кривая убывания концентраций двухфазна, период полувыведения в первой фазе составляет 0,5–1,4 ч. Использование Триазавирина® в этиотропной терапии гриппа способствует сокращению продолжительности основных симптомов заболевания (интоксикации, лихорадки, катаральных симптомов), снижению частоты развития осложнений и объема симптоматической терапии. На фоне приема Триазавирина® снижается уровень повторного выделения вирусов гриппа.

Ключевые слова: триазавирин®, грипп, доклинические исследования, специфическая активность, токсичность, клинические исследования, эффективность, фармакокинетика, безопасность.

NEW ANTIVIRAL DRUG TRIAZAVIRIN®: FROM SCRINING TO CLINICAL TRIALS

E.G. Deyeva¹, V.L. Rusinov^{2,4}, V.N. Charushin^{2,3}, O.N. Chupakhin^{2,3}, O.I. Kiselev¹

Abstract. Results of pre-clinical and clinical trials I, II phases for a new anti-influenza drug Triazavirin® are presented. Pharmacokinetic studies have revealed that maximal concentration of Triazavirin® in plasma is achieved in a relatively short time (1–1,5 h), and it is maintained in adequate concentrations. Elimination curve is biphasic, T_{1/2} in the 1st phase equals 0,5–1,4 h. Treatment of patients with oral Triazavirin® proved to reduce significantly the duration of main clinical symptoms of influenza (intoxication, fever, respiratory symptoms), thus decreasing a number of incidents of influenza-related complications, and avoiding use of symptomatic drugs. The re-isolation rate of the influenza viruses was significantly lower for patients administrating Triazavirin®.

Keywords: triazavirin®, influenza, preclinical trials, clinical trials, specific activity, toxicity, pharmacokinetics, safety, efficacy.

ВВЕДЕНИЕ

Разработка препарата Триазавирин® является примером совместной работы двух отечественных академий – РАН и РАМН и университетских ученых. В Институте органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, Уральском федеральном университете и Институте гриппа многие годы проводились исследования оригинального класса соединений, принадлежащих к семейству азолоазинов [1, 2]. Эти гетероциклические соединения структурно напоминают азотистые основания, из которых строятся нуклеиновые кислоты нашего организма – ДНК и РНК. Сильный импульс к возобновлению исследований по Триазавирину® придали инициативы Правительства РФ в лице Минобрнауки РФ, когда в мире возникла угроза распространения пандемии «птичьего» гриппа. Фи-

нансирование по проекту было открыто в апреле 2005 года. В течение 3 лет были проведены основные работы для получения разрешения на проведение клинических испытаний препарата Триазавирин® (зано-во проведен полный цикл доклинических испытаний, разработана документация, необходимая для промышленного производства). В 2009 году были проведены клинические исследования I фазы, в 2010–2011 гг. во время пандемии «свиного» гриппа A(H1N1)pdm2009 были начаты клинические испытания фазы II по оценке эффективности Триазавирина® при лечении пациентов с диагнозом «грипп». В настоящее время завершается III фаза многоцентровых клинических исследований.

На основных результатах и принципиально важных достоинствах препарата Триазавирин® мы и хотим остановиться.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемый препарат

Препарат **Триазавирин**[®] (натриевая соль 7-метилтио-3-нитро-4-оксо-1,4-дигидро[1,2,4] триазоло[5,1-С] [1,2,4]-триазин-1-ид дигидрата) выпущен ООО «Завод Медсинтез» в капсулах по 250 мг. **Плацебо** (капсулы, 250 мг) представляет собой основу, состоящую из вспомогательных веществ (крахмал, кальция стеарат).

Изучение противовирусной активности

Изучение противовирусной активности препарата проводили в системах *in vitro* и *in vivo*. При изучении противовирусной активности в системе *in vitro* использовали штаммы вируса гриппа типов А (H3N2, H1N1, H5N1, H5N2, H9N2) и В, а также респираторно-синцитиальный вирус, вирус кори, вирус парагриппа, аденовирус. Использованы культуры клеток карциномы гортани человека Нер-2, почки кролика RK-13, почки обезьяны макака-резус МА-104, почки зеленой мартышки Vero, MDCK. Вирусингибирующее действие Триазавирина[®] оценивали по снижению инфекционного титра вируса (lg ИД₅₀) в опыте по сравнению с контролем. За титр вируса принимали величину, противоположную десятичному логарифму наибольшего разведения вируса, способного вызвать положительную реакцию гемагглютинации, и выражали в логарифмах минимальной 50% дозы вируса (lg ИД₅₀).

При изучении противовирусной активности *in vivo* препарат в исследуемом диапазоне доз вводили животным перорально и внутрибрюшинно по лечебной, профилактической и лечебно-профилактической схемам. В качестве референс-препаратов использовали римантадин и осельтамивир. Вирус вводили животным интраназально в дозе 1 и 10 LD₅₀. Наблюдение за оставшимися животными осуществляли в течение 14 дней, ежедневно фиксируя смертность животных в контрольных и опытных группах. На основании показателей смертности в каждой группе рассчитывали процент смертности (М), индекс защиты (IP) и среднюю продолжительность жизни животных (DL) из расчета 14 дней наблюдения.

Доклиническое изучение безопасности

Доклиническое изучение безопасности препарата Триазавирин[®] проводилось в соответствии с Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств.

Изучение *острой токсичности* препарата проводилось на белых беспородных мышах и крысах при пероральном и внутрибрюшинном способах введения, на собаках – при введении внутрь. Общая про-

должительность наблюдения за животными составила 14 дней. Регистрируемые показатели: летальность, время гибели, симптоматика отравления, общее состояние и поведение животных, потребление корма и воды, изменение массы тела, вскрытие и макроскопическое исследование всех погибавших и выживших животных в конце исследования, определение массовых коэффициентов внутренних органов.

Изучение *хронической токсичности* проводили в опытах на грызунах (крысы обоего пола) и не грызунах (собаки). Препарат вводили в 3 дозах: оптимальной эффективной дозе, дозах, многократно превышающих терапевтическую. В ходе проведения опыта изучали влияние Триазавирина[®] на общее состояние и вес подопытных животных, функциональное состояние печени и почек, картину периферической крови, состояние сердечно-сосудистой системы, патоморфологическую картину внутренних органов.

Изучение *специфических видов токсичности* препарата Триазавирин[®] включало в себя изучение аллергенности и иммунотоксичности, изучение возможного эмбриотоксического и мутагенного действия, изучение возможного канцерогенного действия. Также в рамках доклинического исследования проведено фармакокинетическое исследование в полном объеме оригинального противовирусного соединения, не используемого ранее в качестве фармакологических средств. В ходе работы были установлены количественные характеристики процессов всасывания препарата, его распределения и элиминации.

Клиническое исследование I фазы

Клиническое исследование по изучению безопасности и фармакокинетики препарата Триазавирин[®] проводилось в НИИ гриппа (г. Санкт-Петербург) в соответствии с этическими нормами, определенными Правилами проведения качественных клинических испытаний в РФ и Хельсинской декларацией, на основании разрешения на проведение клинического исследования от 04 августа 2008 года № 367, выданного Федеральной службой по надзору в сфере здравоохранения и социального развития Министерства здравоохранения и социального развития РФ [3, 4].

В исследование были включены здоровые добровольцы обоего пола в возрасте от 18 до 45 лет, которые были разделены на 3 группы по 10 человек в каждой. В ходе исследования была проведена оценка переносимости и безопасности препарата Триазавирин[®] в дозах, покрывающих интервал 5–20 мг/кг. Проанализировано 9 схем приема с эскалацией суточных доз от 250 до 1500 мг (таблица 1). Режим дозирования препарата составил 1, 2 и 3 раза в сутки.

Таблица 1.

Дозовые режимы использования Триазавирина®

Группы	Схемы		
I группа	250 мг однократно (1 схема)	250 мг 1 раз в день 7 дней (2 схема)	250 мг 2 раза в день 7 дней (3 схема)
II группа	500 мг однократно (4 схема)	500 мг 1 раз в день 7 дней (5 схема)	250 мг 3 раза в день 7 дней (6 схема)
III группа	1000 мг однократно (7 схема)	1000 мг 1 раз в день 7 дней (8 схема)	750 мг 2 раза в день 7 дней (9 схема)

Основными показателями безопасности и переносимости являлись частота возникновения и тип нежелательных явлений, их тяжесть и связь с приемом препарата, динамика лабораторных показателей, результаты клинического и инструментального обследования.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием непараметрических и параметрических методов.

При изучении фармакокинетических параметров Триазавирин® определяли в плазме крови и моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Использовалась хроматографическая система BioLogicDuoFlow Pathfinder 20, колонка Synergi MAX RP C12, подвижная фаза – линейный градиент ацетонитрила 0-100% в 20 мМ Na-ацетатном буфере, pH=8,6. Скорость потока элюента составляла 0,5 л/мин. Температура колонки 25±0,1 °С. Калибровочную кривую строили по 10 точкам (препарат Триазавирин®, концентрации 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 30, 60, 100, 200 и 300 мкг/мл). Нижний предел количественного определения составлял 100 нг/мл. Детекцию вещества осуществляли проточным УФ-детектором (поглощение на длинах волн 260, 280 и 360 нм). Любой достоверно определяемый пик концентрации меньше 100 нг/мл условно считался в расчетах как минимально определяемый, т.е. 100 нг/мл. Время удержания составляло 8,7 мин. Калибровочная кривая была линейна в интервале от 0,1 до 200 мкг/мл. Вариация в течение дня не превышала 2,5%. Вариация в последовательные дни не превышала 7% [5].

В ходе исследования оценивались следующие фармакокинетические параметры: максимальная концентрация (C_{max}), время достижения максимальной концентрации (T_{max}), константа элиминации (k_{el}), период полувыведения ($T_{1/2}$), площадь под кривой концентраций за время наблюдения (AUC_{0-t}), площадь под кривой концентраций, экстраполированная до бесконечного времени ($AUC_{0-\infty}$), минимальная концентрация (C_{min}), фактор кумуляции (f_c), фракция, выводимая в неизменном виде (f_e), почечный клиренс (CLR).

Оценка фармакокинетических параметров проводилась модельно-независимым способом. Анализ выполнен с помощью программного обеспечения Statistica и GraphPad Prizm для персонального компьютера.

Клиническое исследование II фазы

Клиническое исследование II фазы по изучению эффективности и безопасности препарата Триазавирин® с участием пациентов с диагнозом «грипп» проводилось в период эпидемии гриппа 2010 года в 2 исследовательских центрах г. Санкт-Петербурга на основании разрешения на проведение клинического исследования от 30 декабря 2009 года № 581, выданного Министерством здравоохранения и социального развития РФ.

В исследование было включено 114 пациентов от 18 до 60 лет с лабораторно подтвержденным диагнозом «грипп». Длительность заболевания до включения в исследование не превышала 2 суток.

Участники были разделены на 3 группы – 38 пациентов в опытной группе I (Триазавирин®), 38 пациентов в опытной группе II (Триазавирин®) и 38 пациентов в контрольной группе (Плацебо). Пациенты принимали препараты по следующим схемам:

- группа I – Триазавирин® внутрь по 250 мг (1 капсула) 2 раза в сутки,
- группа II – Триазавирин® внутрь по 250 мг (1 капсула) 3 раза в сутки,
- группа III – Плацебо по 250 мг (1 капсула) 2 раза в сутки.

Всем больным предусматривалось назначение симптоматической терапии по показаниям: жаропонижающие (парацетамол), отхаркивающие, противорвотные препараты.

Основными показателями безопасности и переносимости являлись частота возникновения и тип нежелательных явлений, их тяжесть и связь с приемом препарата, динамика лабораторных и инструментальных показателей.

Эффективность препарата оценивалась по следующим параметрам: длительность основных симптомов заболевания (температурная реакция, основные симптомы интоксикации, катаральные симптомы). Дополнительными параметрами эффективности препарата служили уровень повторного выделения вируса (5-е сутки от начала терапии), частота развития осложнений, длительность и объем симптоматической терапии.

Анализ результатов исследования проводился в соответствии со стандартными алгоритмами вариационной статистики с помощью программы SPSS. В качестве статистических характеристик групп использовали средние величины, медианы, стандартные ошибки средних. Для сравнительного анализа

длительности симптомов использовали анализ выживаемости Каплана – Мейера. Для статистической обработки количественных признаков – методы дисперсионного анализа и непараметрические методы (критерии Фридмана и Вилкоксона, критерии Краскала – Уоллиса и Манна – Уитни). Для анализа качественных и ранговых признаков был применен точный критерий Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Скрининг, проведенный для представительной серии соединений азолазинового ряда, позволил выявить ряд наиболее перспективных соединений с высокой противовирусной активностью. Особое место среди них занимает Триазавирин®, представляющий собой натриевую соль 2-метилтио-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она, дигидрата (рисунок 1). По результатам доклинических исследований препарат показал высокую противовирусную активность в отношении различных штаммов вируса гриппа, в том числе «птичьего» и «свиного» происхождения, вирусов клещевого энцефалита и ряда других вирусов [2, 6–8].

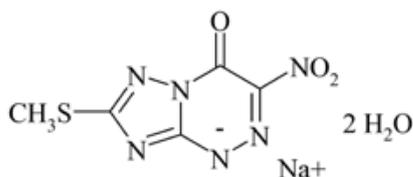


Рисунок 1. Структурная формула триазавирина

Так, в результате проведенных исследований в системе *in vitro* была установлена противовирусная активность Триазавирина® в отношении широкого спектра вирусов – вируса гриппа, респираторно-синцитиального вируса, вируса кори, вируса парагриппа, аденовируса и других. Высокая противовирусная активность препарата Триазавирин® продемонстрирована также в экспериментах *in vitro* и *in vivo* для возбудителей клещевого энцефалита и геморрагических лихорадок.

На модели летальной гриппозной инфекции мышей показано, что введение Триазавирина® обеспечивает высокую степень защиты инфицированных мышей и значительно увеличивает продолжительность их жизни. При этом индекс эффективности в отношении вирусов гриппа типов А и В составил 65–80% (рисунок 2). Препарат был эффективен как при лечебно-профилактической, так и при профилактической и лечебной схемах введения.

Заражение животных вирусом гриппа вызывало репликацию инфекционного агента в легких до уровня 4,0–5,0 lg ЭИД50/0,2 мл. Применение препарата Триазавирин® снижало репликацию вирусов гриппа в легких инфицированных мышей на 1–3 порядка в зависимости от использованной дозы вируса.

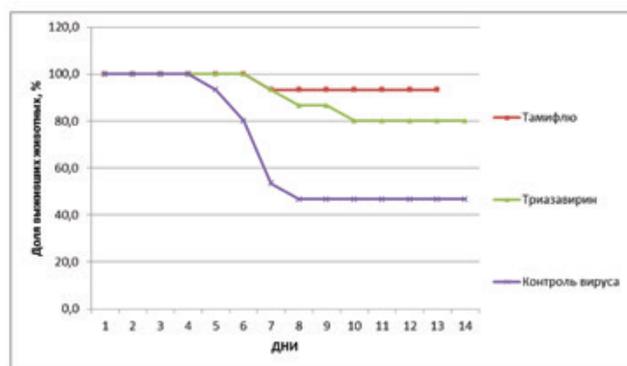


Рисунок 2. Динамика смертности животных в условиях экспериментальной гриппозной инфекции, вызванной вирусом гриппа A/California/7/09 (H1N1)pdm, при применении препарата Триазавирин®

Существенным преимуществом триазавирина является способность защищать животных от геморрагических пневмоний. Активность триазавирина была сопоставима с активностью осельтамивира, римантадина, а для римантадинрезистентных штаммов значительно превышала действие референс-препарата римантадина. Данное свойство препарата чрезвычайно важно в условиях появления и распространения устойчивых к римантадину штаммов вируса гриппа [9].

Проведенные экспериментальные исследования общей токсичности (острой, подострой, хронической) показали, что препарат Триазавирин® (капсулы, 250 мг) в условиях изучения острой и подострой токсичности и при длительном применении в течение 3 месяцев является малотоксичным для грызунов (мыши, крысы) и не грызунов (собак). Величины ЛД50 при внутрижелудочном (в/ж) введении у мышей и крыс разного пола колеблются от 8000 до 9500 мг/кг. Пероральное введение беспородным собакам препарата в дозе 400 мг/кг, что в 20 раз превышает суточную дозу для человека, не вызывало каких-либо существенных изменений структуры внутренних органов, общего состояния и поведения животных. Это позволило отнести Триазавирин® к малотоксичным лекарственным веществам IV класса [10].

Подострое (30 дней) и хроническое (90 дней) ежедневное введение лекарственной формы препарата Триазавирин® экспериментальным животным в дозах 10, 500 и 1000 мг/кг не оказывало вредного воздействия на основные адаптационные системы (нервную, сердечно-сосудистую, кроветворную, выделительную, дыхательную), обмен веществ, общее состояние и развитие, основные гомеостатические параметры организма. При введении препарата в дозах, в 6–12 раз превышающих рекомендуемые для клинического изучения, Триазавирин® не оказывал летального действия, вызывая ряд сдвигов, не выходящих за пределы варьирования физиологической нормы ($\pm 20\%$). Кроме этого, выявленные изменения развивались через 90 дней ежедневного введения препарата в мак-

симальной дозе. Следует отметить также отсутствие у препарата Триазавирин® раздражающего действия на слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта.

В ходе исследования специфических видов токсичности было показано, что препарат Триазавирин® не оказывает алергизирующего и иммунотоксического действия, а также негативного воздействия на репродуктивную функцию самцов и самок крыс. Изучение возможной мутагенности и риска канцерогенного действия Триазавирина® показало безопасность препарата в плане развития отдаленных неблагоприятных последствий.

В результате проведенного клинического исследования I фазы по изучению безопасности и фармакокинетики препарата Триазавирин® было показано, что исследуемый препарат хорошо переносился участниками исследования во всех изучаемых дозовых режимах. Применение Триазавирина® не вызывало субъективных жалоб у волонтеров. Анализ всей совокупности данных показал, что Триазавирин® не вызывал каких-либо изменений общеклинического статуса волонтеров, не нарушал функциональной активности систем организма, не оказывал негативного влияния на оцениваемые параметры [11].

При сравнении лабораторных показателей с исходными значениями были выявлены статистически значимые различия для некоторых из них. Однако колебания величин лабораторных показателей не выходили за пределы физиологической нормы ни в одной из 9 испытанных схем применения препарата и не были клинически значимыми.

Полученные в ходе исследования фармакокинетические данные свидетельствуют о нелинейном характере фармакокинетики Триазавирина® с быстрой 1-й и медленной 2-й фазой элиминации. Было показано, что с увеличением дозы Триазавирина® пропорционально увеличивается максимальная концентрация, а также несколько сокращается время достижения максимальной концентрации, что может указывать на возрастание биодоступности. Также имеется тенденция к увеличению периода полувыведения и площади под кривой концентраций. Отмеченные индивидуальные различия фармакокинетических кривых у волонтеров могут свидетельствовать о полиморфном метаболизме Триазавирина®, что обуславливает различия в биодоступности и характере первой фазы элиминации препарата, в ходе которой выводится большая часть абсорбированной дозы. Уменьшение выраженности индивидуальных различий и очевидное увеличение биодоступности при увеличении дозы препарата может быть связано с насыщением метаболизирующих систем. При длительном приеме Триазавирина® фармакокинетические параметры изменялись незначительно. Ожидаемое, несколько замедленное выведение препарата свидетельствует о том, что длительный прием не вызывает существенной кумуляции. Анализ различных режимов приема Триазавирина® показывает, что

только величина дозы влияет на максимально достижимые концентрации препарата в плазме крови, в то время как более длительному удержанию концентрации способствует регулярный прием и большая кратность дозирования. Различия заключались в скорости первой фазы элиминации, за счет чего изменялась площадь под кривой концентрации препарата в плазме крови до 3,5 раз. Указанные различия в группах исчезали при увеличении кратности приема препарата.

Для отработки различных режимов дозирования Триазавирина® для дальнейшего клинического использования было проведено непосредственное сравнение режимов многократного длительного приема в дозах разной величины – 250 и 750 мг (рисунок 3).

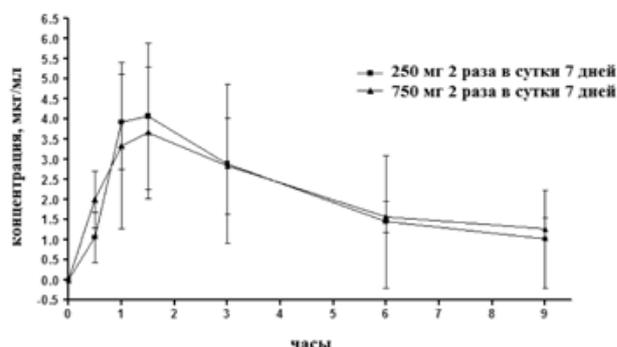


Рисунок 3. Фармакокинетические кривые Триазавирина® в режимах многократного длительного приема в дозе 250 мг и 750 мг

Сравнительный анализ двух групп по концентрациям препарата в каждый момент измерения проводился с использованием критерия Манна – Уитни и дисперсионного анализа. Статистически значимых различий между группами выявлено не было ни в один момент измерения (таблица 2).

Таким образом, показано, что различия между фармакокинетическими кривыми не значимы для пациентов двух групп. Различия между максимальными концентрациями в группах сравнения были статистически не значимы, причем в обеих группах они были в несколько раз выше эффективных концентраций (таблица 2).

Таким образом, в ходе проведенного исследования установлена безопасность и хорошая переносимость препарата Триазавирин®. Изучение фармакокинетики препарата показало, что после приема внутрь Триазавирин® быстро всасывается в желудочно-кишечном тракте. Максимальные концентрации достигаются в среднем через 1–1,5 ч и возрастают пропорционально принятой дозе. Период полувыведения в среднем составляет 1–1,5 ч. Фармакокинетика Триазавирина® носит нелинейный двухфазный характер. Анализ различных режимов приема Триазавирина® свидетельствует, что только величина дозы влияет на максимально достижимые концентрации препарата в

Уровни статистической значимости при сравнении групп по концентрациям Триазавирина® в разных временных точках

Группа	0,5 ч	1,0 ч	1,5 ч	3,0 ч	6,0 ч	9,0 ч	12,0 ч	24,0 ч	C _{max}
Дисперсионный анализ (p)	0,08	0,58	0,30	0,44	0,65	0,44	0,24	0,08	0,07
Критерий Манна – Уитни (p)	0,08	0,93	0,46	0,41	0,63	0,94	0,33	0,08	0,17

плазме крови, в то время как более длительному удержанию концентрации способствует регулярный прием и большая кратность дозирования.

Результаты изучения эффективности и безопасности препарата Триазавирин®, проведенного в рамках клинического исследования II фазы, показали, что группы лечения были репрезентативны по демографическим (возраст, пол), клиническим характеристикам (пиковая температура тела за время исследования) и этиологической структуре заболевания. У всех пациентов до начала терапии было получено лабораторное подтверждение диагноза грипп. Из 114 пациентов методом экспресс-диагностики у 20 был подтвержден грипп типа В (17,5%) и у 94 (82,5%) – «грипп» типа А [12].

При анализе влияния препарата Триазавирин® на длительность основных симптомов заболевания установлено сокращение продолжительности лихорадочного периода, интоксикационного и катарального синдромов, а также острого периода заболевания. Так, сроки нормализации температуры и лихорадочный период (температура тела $\geq 37,7$ °C) в группах лечения сокращались более чем в 2 раза по сравнению с группой Плацебо. Продолжительность лихорадочного периода у пациентов с гриппом А в группе I составила 1,83 дня, в группе II – 1,60 дня, у пациентов с гриппом В эти показатели составили 1,85 дня и 1,51 дня, соответственно. При анализе процентного соотношения пациентов с нормальной температурой тела ($\leq 37,0$ °C) через 1 сутки и 2 суток после начала приема препарата, выявлены статистически значимые различия (точный критерий Фишера) между группами I и III ($p=0,005$), группами II и III ($p=0,001$), а также между группами I и II ($p=0,011$). Через сутки после начала приема препарата в группе I удельный вес пациентов с нормальной температурой тела составил 45,9%, в группе II – 51,35%, в группе Плацебо – 13,5% (рисунок 4).

Через 2 суток после приема препарата этот показатель составил 54,05%, 83,78% и 21,62%, соответственно. Таким образом, использование Триазавирина® по схеме 250 мг 3 раза в день (группа II) приводит к более быстрой нормализации температуры по сравнению с пациентами группы Плацебо и группы I, получавшими Триазавирин® 2 раза в день. Для пациентов, получавших Триазавирин®, было отмечено статистически значимое сокращение продолжительности следующих симптомов интоксикации: головной боли, миалгий, резей в глазных яблоках. Катаральные симптомы

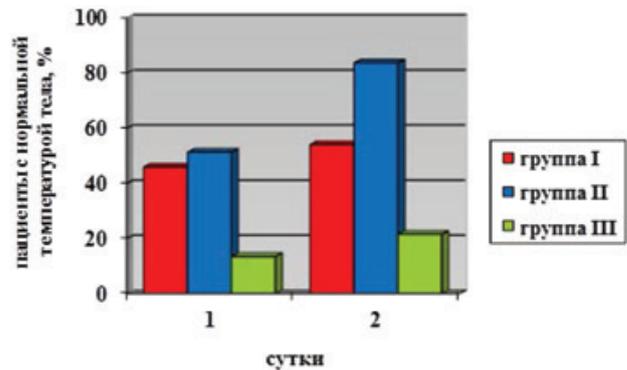


Рисунок 4. Динамика нормализации температуры тела пациентов. (Группа I – Триазавирин®, 250 мг 2 раза в сутки, Группа II – Триазавирин®, 250 мг 3 раза в сутки, группа III – Плацебо)

были ярко выражены у всех пациентов, в большей степени – у пациентов с гриппом А. Основным проявлением катарального синдрома был сухой кашель. Анализ влияния проводившейся терапии на сроки обратного развития симптомов поражения верхних дыхательных путей показал сокращение средней продолжительности кашля и першения в горле у пациентов, получавших препарат Триазавирин®.

В качестве дополнительного параметра эффективности оценивали частоту развития осложнений. Суммарная частота осложнений в группе III (19,4%) значительно отличалась от таковой в группах I и II (2,7%).

Установлено, что применение препарата Триазавирин® существенно сокращает продолжительность использования средств симптоматической терапии. Пациенты, получавшие Триазавирин®, принимали парацетамол на 60% меньше, чем пациенты группы Плацебо, а длительность приема сократилась в среднем на 2 дня.

Вирусы гриппа до начала терапии были выделены у 80 пациентов (70,2%), в том числе вирусы гриппа типа В – у 12 человек (15%), вирусы гриппа А(H1N1)pdm – у 68 пациентов (85%). Уровень повторного выделения вирусов гриппа (5-е сутки) у пациентов, получавших Плацебо, существенно превышал данный показатель в группе пациентов, получавших Триазавирин® (рисунок 5), – статистически значимые различия (точный критерий Фишера) между группами I и III и группами II и III.

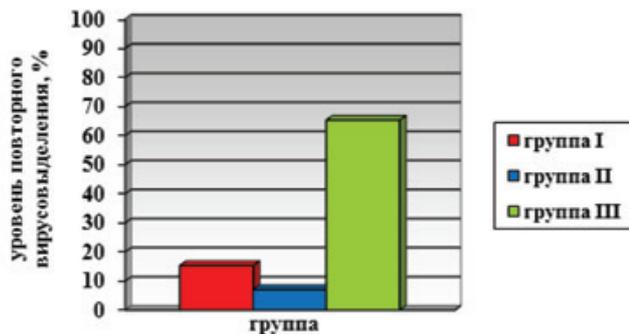


Рисунок 5. Уровень повторного вирусывыделения на 5-е сутки после начала терапии препаратом Триазавирин®. (Группа I – Триазавирин®, 250 мг 2 раза в сутки, Группа II – Триазавирин®, 250 мг 3 раза в сутки, группа III – Плацебо)

Результаты исследования показали, что средняя продолжительность приема Триазавирин® составила 5 дней. Триазавирин® хорошо переносился участниками исследования. Не отмечено нежелательных явлений, связанных с приемом препарата.

Таким образом, использование Триазавирин® в этиотропной терапии гриппа способствовало сокращению продолжительности основных симптомов заболевания (интоксикации, лихорадки, катаральных симптомов), снижению частоты развития осложнений и объема симптоматической терапии. Обращает на себя внимание быстрая нормализация температуры в терапевтических группах. На фоне приема Триазавирин® снижался уровень повторного выделения вирусов гриппа как типа А, так и В. Анализ групп пациентов, получавших Триазавирин®, показал, что предпочтительной схемой использования является прием препарата по 250 мг 3 раза в день (группа II) [12].

В настоящем исследовании показана эффективность препарата Триазавирин® в этиотропной терапии гриппа, вызванного как вирусами типа А, так и типа В. Данное исследование являлось плацебо-контролируемым. Однако, обращаясь к исследованиям ингибиторов нейраминидазы, рекомендованных ВОЗ для лечения гриппа типов А и В, можно отметить ряд преимуществ Триазавирин®. По литературным данным, осельтамивир («Тамифлю») наиболее эффективен в терапии гриппа А. В клинических исследованиях [13–15] показано, что продолжительность лихорадочного периода при терапии «Тамифлю» значительно короче у пациентов с гриппом А. В нашем исследовании мы не зафиксировали значимой разницы в продолжительности лихорадочного периода у пациентов с гриппом А или В. Так, длительность лихорадки у пациентов с гриппом А при использовании Триазавирин® составила $1,6 \pm 0,69$ дней, у пациентов с гриппом В – $1,5 \pm 0,57$ дней. Для «Тамифлю» этот период составил $35,5 \pm 23,9$ часов ($1,5 \pm 1,0$ дня) и $52,7 \pm 31,3$ часов ($2,2 \pm 1,3$ дня), соответственно [15].

Также в исследовании по изучению эффективности Триазавирин® показано, что уровни повторного выделения вирусов гриппа типа А и В в группе II (на 5-е сутки от начала терапии) составляли 8% и 0%, со-

ответственно. В опубликованных ранее сообщениях [13, 14] указывается, что изоляция вируса на 4–6-й дни от начала терапии «Тамифлю» была значительно выше для гриппа В (по разным источникам 33,3% и 51,6%), чем для гриппа А (12,8% и 15,9%). Однако в этих исследованиях преобладал вирус гриппа А (H3N2). В нашем исследовании основным этиологическим агентом, изолированным от пациентов, был вирус гриппа А(H1N1)pdm (85%), который реизолировали на 5-е сутки терапии у 8% пациентов. Уровень повторного выделения вируса гриппа А(H1N1)pdm в этот же срок при терапии «Тамифлю» составляет 26% [16] по данным метода РТ-ПЦР. Несмотря на разные методы, используемые для выявления вируса в этих исследованиях, их результаты позволяют судить о степени воздействия препаратов на снижение пула инфекционного вируса. Таким образом, полученные данные позволяют рассматривать Триазавирин® как универсальный препарат для лечения гриппа, обладающий отчетливыми преимуществами по сравнению с ингибиторами нейраминидазы, эффективность которых напрямую зависит от изменений в структуре нейраминидазы вирусов гриппа типов А и В [17].

В настоящее время завершается проведение многоцентрового клинического исследования по сравнительному изучению эффективности Триазавирин® и «Тамифлю», которое станет завершающим этапом перед выходом этого перспективного отечественного противовирусного препарата на фармацевтический рынок России.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Создание новых лекарственных средств, эффективных в отношении вирусных инфекций, является одной из актуальных задач современной медицины. Это продиктовано полиэтиологичностью и контагиозностью вирусных инфекций, высокой изменчивостью вирусов и появлением новых особо опасных агентов. Так, появление новых высокопатогенных вирусов гриппа [вирус гриппа птиц А(H5N1), пандемический вирус гриппа А(H1N1)pdm 2009 года, вирус гриппа птиц А(H7N9)] стало серьезной проблемой вследствие ограниченного выбора средств противовирусной терапии, отсутствия инъекционных лекарственных форм для лечения тяжелых случаев заболевания, развития резистентности. Это диктует необходимость разработки и практического внедрения новых эффективных средств профилактики и лечения вирусных заболеваний. Анализируя в целом соединения ряда азолоазинов, к которым принадлежит Триазавирин®, можно с уверенностью сказать, что это первый противовирусный препарат данного класса, который в будущем должен стать родоначальником целой группы соединений, обладающих широким спектром противовирусной активности. Данные, полученные при исследовании Триазавирин®, стали основой для формирования принципиально новой фармакологической платформы создания широкого спектра лекарственных средств для лечения гриппа, гепатита, ВИЧ и, возможно, онкологических заболеваний.

Работы выполнены при финансовой поддержке Федерального агентства по науке и инновациям (Государственный контракт № 02.435.11.3017 от «05» сентября 2005 г.), Министерства промышленности и торговли Российской Федерации (Государственный контракт № 02.522.11.2003 от «27» апреля 2007 г.), ООО «Уральский центр биофармацевтических технологий», ООО «Завод Медсинтез».

ЛИТЕРАТУРА

- В.Л. Русинов, Е.Н. Уломский, О.Н. Чупахин, В.Н. Чарушин. Азоло[5,1-с]-1,2,4-триазины – новый класс противовирусных соединений // Известия АН, Серия химическая. 2008. № 5. С. 967–995.
- О.Н. Чупахин, В.Л. Русинов, Е.Н. Уломский, В.Н. Чарушин, А.Ю. Петров, О.И. Киселев. Натриевая соль 2-метилтио-6-нитро-7-оксо-[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-(4Н)-она, дигидрат, обладающая противовирусной активностью. 2007. Патент RU2,294,936; О.Н. Чупахин, В.Л. Русинов, Е.Н. Уломский, С.Л. Деев, Л.И. Русинова, Т.В.Шестакова, О.И. Киселев, Э.Г.Деева 4-(Аллилоксиметил)-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4н)-оны и 4-(пропаргилоксиметил)-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4н)-оны, обладающие противовирусным действием. 2008. Патент RU2,340,614; В.Л. Русинов, О.Н. Чупахин, Е.Н. Уломский, В.Н.Чарушин, Т.В.Шестакова, Л.С. Лукьянова, С.Л. Деев, О.И. Киселев, Э.Г.Деева, Л.И. Русинова 4-(4'-Гидроксибутил)-6-фенил-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-он. 2009 Патент RU2,345,080; О.Н. Чупахин, В.Л. Русинов, Е.Н. Уломский, В.Н. Чарушин, Т.С. Шестакова, С.Л. Деев, Л.И. Русинова, В.Л. Андропова, Г.А. Галегов, И.Л. Карпенко, М.В. Ясько, М.К. Куханова 4-((Z)-4'-Гидроксибутен-2'-ил)-2-R-6-фенил-1,2,4-триазоло[5,1-с][1,2,4] триазин-7-оны. 2009. Патент RU2,376,307; О.Н. Чупахин, В.Л. Русинов, Е.Н. Уломский, В.Н. Чарушин, Н.Р. Медведева, О.Г. Синяшин, В. Мамедов, О.И. Киселев, Э.Г. Деева. Натриевая соль 2-алкилтио-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она. 2010. Патент RU2,402,552; О.Н. Чупахин, В.Л. Русинов, Е.Н. Уломский, В.Н. Чарушин, Н.Р. Медведева, О.И. Киселев, Э.Г. Деева, С.Я. Логинова, С.В. Борисевич, В.П. Бондарев Натриевая соль 2-этилтио-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она, дигидрат. 2010. Патент RU2,404,182.
- Приказ Минздрава России № 266 от 19.06.2003 «Об утверждении правил клинической практики в Российской Федерации».
- Национальный стандарт РФ от 04.01.2006 «Надлежащая клиническая практика».
- А.А. Тумашов, Г.А. Артемьев, В.Л. Русинов, Е.Н. Уломский, О.Н. Чупахин, В.Н. Чарушин, Д.С. Копчук. Количественное определение противовирусного препарата Триазавирин с использованием метода ВЭЖХ // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2014. № 3. С. 70.
- Э.Г. Деева. Грипп. На пороге пандемии. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 208 с.
- С.Я. Логинова, С.В. Борисевич, В.А. Максимов, В.П. Бондарев, С.К. Котовская, В.Л. Русинов, В.Н. Чарушин. Изучение противовирусной активности триазавирин в отношении возбудителя гриппа А(H5N1) в культуре клеток // Антибиотики и химиотерапия. 2007. № 52. С. 18–20.
- I. Karpenko, S. Deev, O. Kiselev, V. Charushin, V. Rusinov, E. Ulomskiy, E. Deeva et al. Antiviral properties, Metabolism, and Pharmacokinetics of a novel Azolo 1,2,4-Triazine derived inhibitor of influenza A and B virus replication // Antimicrobial agents and chemotherapy. 2010. V. 54. № 5. P. 2017–2022.
- Update: Drug Susceptibility of Swine-Origin Influenza A (H1N1) Viruses // JAMA. 2009. V. 301. № 20. P. 2086–2087.
- H. Hodge et al. Clinical Toxicology of Commercial Products. Acute Poisoning. Ed. IV. – Baltimor. 1975. 427 p.
- Э.Г. Деева, О.И. Киселев, Т.И. Мельникова, А.А. Шалджан, П.А. Некрасов, А.С. Киселев, К.А. Загородникова, В.Н. Чарушин, В.Л. Русинов, Е.Н. Уломский, О.Н. Чупахин. Новый противовирусный препарат Триазавирин. Результаты I фазы клинического исследования // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2013. № 5. С. 20–26.
- О.И. Киселев, Э.Г. Деева, Т.И. Мельникова, К.Н. Козелецкая, К.Н. Киселев, В.Л. Русинов, В.Н. Чарушин, О.Н. Чупахин. Новый противовирусный препарат Триазавирин. Результаты II фазы клинического исследования // Вопросы вирусологии. 2012. Т. 57. № 6. С. 9–12.
- N. Kawai, H. Ikematsu, N. Iwaki et al. Longer virus shedding in influenza B than in influenza A among outpatients treated with oseltamivir // J. Infect. 2007. V. 3. P. 267–272.
- N. Kawai, H. Ikematsu, N. Iwaki et al. A comparison of the effectiveness of oseltamivir for the treatment of influenza A and influenza B: a Japanese multicenter study of the 2003-2004 and 2004-2005 influenza seasons // Clin Infect Dis. 2006. V. 43. № 4. P. 439–444.
- N. Kawai, H. Ikematsu, N. Iwaki et al. A comparison of effectiveness of zanamivir and oseltamivir for the treatment of influenza A and B // J. Infect. 2008. V. 56. P. 51–57.
- S. Kanchana, C. Chuntrakul, K. Malathum et al. Pandemic (H1N1)2009 virus infection: persistent viral shedding after oseltamivir treatment // J. Infect. 2011. V. 4. P. 295–299.
- T. Stoner, S. Frauss, R. DuBois et al. Antiviral susceptibility of avian and swine influenza virus of the N1 Neuraminidase subtype // J Virol. 2010. V. 84. № 19. P. 9800–9809.