

ПРЕКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

дсРНК – ЛАРИФАН

ОТЧЁТЫ ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

**МАТЕРИАЛЫ ОБОБЩЕНЫ
в 2009. г.**

РИГА

ПРЕКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СВИДЕТЕЛЬСТВУЕТ О СЛЕДУЮЩЕЙ АРМАКОДИНАМИКЕ, ФАРМАКОКИНЕТИКЕ И МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ ЛАРИФАНА

ФАРМАКОДИНАМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АКТИВНОЙ СУБСТАНЦИИ ЛАРИФАНА (дсРНК)

Ларифан – это двуспиральная РНК (дсРНК) природного происхождения, которую выделяют из клеток *Escherichia coli*, предварительно инфицированных бактериофагом. Ларифан имеет плеiotропную биологическую активность, способность индуцировать интерферон, вызывать противовирусный, иммуномодулирующий, противоопухолевый и антимуtagenный эффекты.

Интерферониндуцирующая активность Ларифана доказана как в исследованиях на человеке, так и в опытах на различных породах животных. Ларифан способен индуцировать интерферон у широкого круга животных – у мышей, кроликов, обезьян, овец, телят и др. и является активным индуктором с максимумом продукции через 4 - 8 часов. Динамика образования и титры индуцированного интерферона зависят от способа введения препарата. Ларифан, как и интерферон, может считаться универсальным противовирусным препаратом, так как он прерывает размножение вирусов на стадиях, общих для всех вирусов.

Противовирусная активность Ларифана подтверждена как *in vitro*, так и *in vivo*. Ларифан тормозит репродукцию вирусов и развитие инфекционного процесса как в культуре ткани, так и в организме экспериментальных животных. Ларифан активен в отношении инфекционных процессов, вызываемых вирусами гриппа, герпеса, клещевого энцефалита, энцефаломиокардита, *Semiliki*, *Sindbis*, Венесуэльского энцефалита, *Aujeski*, бешенства и других вирусных инфекций. Ларифан обладает выраженным профилактическим защитным действием при всех изученных экспериментальных инфекциях, а при экспериментальной рабической инфекции и значительным лечебным действием. Обнаружен тормозящий эффект Ларифана на течение экспериментального хламидиоза у мышей.

Продемонстрировано противоопухолевое действие препарата на различных экспериментальных моделях опухолей – саркоме Молони, лейкемии Раушера, асцитном лимфатическом лейкозе NK/Ly, карциноме Льюиса Ca 3LL, опухоли MX-17, асцитной карциноме Эрлиха, меланоме B-16. Ларифан ингибирует как развитие первичной опухоли, так и количество и время появления метастаз. Обнаружена также способность препарата ингибировать метастатический процесс в условиях конкомитентного иммунитета, т.е., резко затормозить развитие метастазов в постоперационном периоде.

Иммуномодулирующий эффект показан как при местном применении, так и при парентеральном введении препарата. Ларифан заметно стимулирует вакцинальный ответ противовирусных вакцин. Ларифан является активатором первичного иммуногенеза, обычно подавленного при онкопатологии. Ларифан непосредственно активирует Т клетки, НК-клетки, вызывает иммуноадьювантный эффект и активирует специфические нуклеарные энзимные системы. Есть указания на производимую Ларифаном регуляцию экспрессии некоторых генов, играющих роль в реализации противоопухолевого иммунитета. Одновременно Ларифан воздействует на эффекторные клетки, усиливая экспрессию HLA, активируя CD8⁺ лимфоциты, и повышая, таким образом, потенцию клеточной иммунореактивности. Примененный как перед оперативным вмешательством, так и перед курсами лучевой или химиотерапии, этот препарат может дать существенный вклад в уменьшение токсических проявлений, возникших вследствие применения классической терапии, а также в задержке метастазирования опухоли.

В специальных системах обнаружено антимуtagenное действие Ларифана.

Доклинические исследования свидетельствуют об отсутствии у Ларифана канцерогенных, мутагенных, местнораздражающих и аллергенных свойств.

ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Рибонуклеиновые кислоты в организме подвергаются воздействию рибонуклеиназ, которые в природе широко распространены и легко расщепляют односпиральную РНК и только в небольшой мере воздействуют на дсРНК. Однако, специфически дсРНК расщепляет только рибонуклеаза III, которая присуща приматам, но её не находят в организме низших животных. Поэтому судьба дсРНК в организме животных и человека существенно отличается и нет смысла проводить изучение фармакокинетики ларифана на животных. Имеющаяся в организме человека РНК-аза III за короткое время расщепляет дсРНК до олигонуклеотидов, которые не отличаются от естественных метаболитов организма. Установлено, что неэкранизованная, свободная молекула дсРНК при контакте с сывороткой человека в течение первых часов расщепляется в низкомолекулярные фрагменты и теряет интерферониндуцирующую способность. Низкомолекулярным фрагментам не присуща характерная дсРНК молекуле биологическая активность и их невозможно отличить от естественных метаболитов организма.

В связи с вышесказанным, с целью создания лечебного препарата для человека исследования на животных по фармакокинетике не были проведены. Имеются литературные данные по изучению распределения в организме животных другого природного дсРНК препарата. Обнаружено, что наивысшие уровни радиоактивной метки выявляются в сыворотке крови, а значительно более низкие в печени, селезенке и в мозге. Через 24 часа обнаруживаются только следы радиоактивности.

(Mayer V., Stanček D., Doskočil J. Acta virol., 1976, V 20.Nr.2 p.169.)

О МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ дсРНК – ЛАРИФАНА

Одной из основных функций дсРНК – Ларифана является индукция эндогенного интерферона, в связи с чем в действии Ларифана и интерферона много общего. Однако считают, что спектр действия высокоактивного индуктора интерферона значительно шире, чем спектр любого интерферона.

Общим свойством является противовирусная активность, Молекулярный механизм

противовирусного действия интерферона подробно изучен уже в прошлом столетии.

(Markus P.I., Salb J.M., Virology 1966.,20.,502-516). Кроме того, как показали исследования, у Ларифана существует ещё второй путь реализации противовирусного состояния – прямая активация дсРНК- зависимых ферментов. В итоге может суммироваться противовирусный эффект индуцированного интерферона и прямого воздействия молекулы дсРНК.

В отношении второго общего свойства – иммуномодулирующей активности, данных много, но сложность самой иммунной системы делает общую картину менее чёткой.

Однако известно что, в отличие от интерферона, его индукторы, в.т.ч., Ларифан, как правило, активирует гуморальный иммунитет, что делает их перспективными в качестве иммунадьювантов при вакцинации.

Реализация противоопухолевого действия Ларифана также осуществляется посредством индуцированного интерферона, его иммуномодулирующей активности. Всё-таки, иммуномодулирующий эффект интерферона оказывается дозозависимым. Для достижения противоопухолевого эффекта, необходимы критически высокие токсичные дозы интерферона резко подавляющие общий иммунитет. В то же время Ларифан применяется в небольших - иммуностимулирующих дозах. Особая ценность Ларифана заключается именно в том, что он одновременно обладает как противоопухолевыми, так и иммуномодулирующими свойствами.

Прямое воздействие Ларифана на злокачественный процесс следует ожидать при онкопатологии, вызванной вирусами (вирус папилломы при раке шейки матки, мочевого пузыря и.т.п.)

Есть указания на производимую Ларифаном регуляцию экспрессии некоторых генов в клетках меланомы *in vitro*, играющих роль в реализации противоопухолевого иммунитета. Одновременно Ларифан воздействует на эффекторные клетки, усиливая экспрессию HLA, повышая общее количество лимфоцитов, активируя CD8⁺, CD16⁺ и CD38⁺ лимфоциты, стимулируя цитотоксичность Т-лимфоцитов, и, таким образом, повышая потенцию клеточной иммунореактивности. Серьезный интерес заслуживают данные, свидетельствующие о способности Ларифана подавлять развитие метастаз, особенно в послеоперационном периоде (в условиях конкомитентного иммунитета). Имеются наблюдения о том, что Ларифан усиливает противоопухолевое действие отдельных химиопрепаратов

ПЕРЕЧЕНЬ ПРЕДСТАВЛЕННЫХ ОТЧЁТОВ

Преклинические исследования дсРНК препарата – Ларифана проведены в различных научно-исследовательских учреждениях, а именно, в:

- 1) Институте вирусологии им. Д.И.Ивановского АМН СССР,
- 2) Институте микробиологии им. А.Кирхенштейна АН Латвийской ССР,
- 3) Рижском медицинском институте, в отделе иммунологии научно-исследовательской лаборатории прикладной фармакологии и токсикологии.
- 4) Рижском медицинском институте, в отделе фармакологии и токсикологии научно-исследовательской лаборатории прикладной фармакологии и токсикологии
- 5) Научно-исследовательском институте онкологии им. Н.Н.Петрова Санкт-Петербурга
- 6) Институте органического синтеза АН Латвийской ССР

Результаты исследований представлены в следующих далее приложенных отчётах и статьях соответствующих исполнителей:

1. Данные преклинического исследования специфической фармакологической активности дсРНК – Ларифана (Лафарина)
Институт вирусологии им. Д.И.Ивановского АМН СССР. 1985. г.
2. Данные токсикологического исследования острой токсичности
Рижский медицинский институт, научно-исследовательская лаборатория прикладной фармакологии и токсикологии. 1983. г.
3. Данные токсикологического исследования хронической токсичности на белых мышцах
Рижский медицинский институт, научно-исследовательская лаборатория прикладной фармакологии и токсикологии. 1983. г.
4. Данные токсикологического исследования хронической токсичности на кроликах
Рижский медицинский институт, научно-исследовательская лаборатория прикладной фармакологии и токсикологии. 1983. г.
5. Данные о влиянии дсРНК на отдельные системы организма
Рижский медицинский институт, научно-исследовательская лаборатория прикладной фармакологии и токсикологии. 1983. г.
6. Данные о канцерогенности
НИИ онкологии им. Н.Н.Петрова, Санкт-Петербург. 1991. г.
7. О первой помощи при передозировке дсРНК
Рижский медицинский институт, научно-исследовательская лаборатория прикладной фармакологии и токсикологии. 1985. г.
8. Данные по кумулятивным свойствам дсРНК в организме мышей.
Рижский медицинский институт, научно-исследовательская лаборатория прикладной фармакологии и токсикологии. 1983. г.
9. Изучение местно-раздражающих свойств дсРНК на слизистые оболочки
Рижский медицинский институт, научно-исследовательская лаборатория прикладной фармакологии и токсикологии. 1985. г.

10. Данные об аллергенности дсРНК
Рижский медицинский институт, научно-исследовательская лаборатория прикладной фармакологии и токсикологии. 1986. г.
11. Данные о противовоспалительных свойствах дсРНК
Рижский медицинский институт, научно-исследовательская лаборатория прикладной фармакологии и токсикологии. 1985. г.
12. Данные о пирогенных свойствах дсРНК
Рижский медицинский институт, научно-исследовательская лаборатория прикладной фармакологии и токсикологии. 1985. г.
13. Данные о мутагенности дсРНК
Рижский медицинский институт, научно-исследовательская лаборатория прикладной фармакологии и токсикологии. 1985. г.
14. Данные о тератогенности и эмбриотоксичности дсРНК
Институт органического синтеза АН Латвийской ССР. 1989. г.
15. Данные о стимуляции вакцинального ответа – иммуноадыювантный эффект дсРНК
Институт вирусологии им. Д.И.Ивановского АМН СССР. 1985. г.
16. Изучение иммунологических свойств дсРНК
Рижский медицинский институт, отдел иммунологии научно-исследовательской лаборатории прикладной фармакологии и токсикологии. 1986. г.
17. Влияние дсРНК на активность эффекторов естественной и антителозависимой цитотоксичности.
Рижский медицинский институт, отдел иммунологии научно-исследовательской лаборатории прикладной фармакологии и токсикологии. 1989. г.
18. Изучение противоопухолевых свойств дсРНК – Ларифана на экспериментальных моделях саркомы Молони, лейкемии Раушера, асцитном лимфатическом лейкозе НК/Ly,
Институт микробиологии им. А.Кирхенштейна АН Латвийской ССР, 1977. г.
19. Влияние дсРНК – Ларифана на конкомитентный иммунитет
Институт микробиологии им. А.Кирхенштейна АН Латвийской ССР. 1989. г.

Автор дсРНК Ларифан
доктор медицинских наук
ученый *emeritus*
председатель правления
ООО «ЛАРИФАН»



Гуна Фелдмане

01.07.2009.