

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 5, Number 323 (2017), 66 – 74

**P. G. Alexyuk, A. P. Bogoyavlenskiy, M. S. Alexyuk,
E. S. Moldahanov, E. I. Anarkulova, A. S. Babenko, V. E. Berezin**

RGE «Institute of microbiology and virology» SC MES RK, Almaty, Kazakhstan.
E-mail: pagenal@bk.ru, anpav_63@mail.ru, madina.a06@gmail.com, ergali86@mail.ru,
Elya-111@mail.ru, lika.babenko@inbox.ru, vberezin359@gmail.com

PRECLINICAL TRIALS OF THE PHARMACOKINETICS OF "GLABILOKS" ADJUVANT WITH INTRANASAL INTRODUCTION

Abstract. Adjuvants are vaccine-assisted biologically active compounds that allow to increase the level of protective immunity without increasing the dose of antigen in the vaccine, and also enable to vaccination of persons with a lowered immune status. The introduction of new adjuvants is necessary to consider such processes as absorption, distribution, metabolism and excretion. These problems are dealt with in preclinical pharmacokinetic studies of drugs, including the bioavailability and bioequivalence of used preparation.

The pharmacokinetic and immunostimulating properties of the immunostimulatory herbal preparation "Glabilox" under intranasal introduction were studied in the presented work. The presence and extent of accumulation of the test preparation was determined in the blood plasma of mice by the method of highly-effective liquid chromatography at certain intervals after introduction. The activity of expression of genes responsible for the synthesis of various classes of cytokines in peritoneal macrophages was determined in real time PCR.

As a result, it was found that the immunostimulating herbal preparation "Glabilox" has sufficient level of bioavailability and can be used as an adjuvant in the development of non-injectable, mucosal vaccines.

Key words: adjuvant, pharmacokinetics, chromatography, preclinical trials, bioavailability.

УДК 578.74

**П. Г. Алексюк, А. П. Богоявленский, М. С. Алексюк,
Е. С. Молдаханов, Э. И. Анаркулова, А. С. Бабенко, В. Э. Березин**

РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы, Казахстан

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ АДЬЮВАНТА «ГЛАБИЛОКС» ПРИ ИНТРАНАЗАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ

Аннотация. Адьюванты представляют собой вспомогательные для вакцин биологически активные соединения, которые позволяют повысить уровень защитного иммунитета без увеличения дозы антигена в вакцине, а также дают возможность осуществлять вакцинацию лиц с пониженным иммунным статусом. При внедрении новых адьювантов необходимо учитывать такие процессы как всасывание, распределение, метаболизм и выведение. Этими проблемами занимаются в рамках доклинических исследований фармакокинетики лекарственных средств, включая изучение биодоступности и биоэквивалентности используемых препаратов.

В представленной работе проводились исследования фармакокинетических и иммуностимулирующих свойств растительного препарата «Глабилокс» при интраназальном введении. Через определённые интервалы времени после введения в плазме крови мышей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определяли наличие и степень накопления, исследуемого препарата, а также методом ПЦР в режиме реального времени определяли активность экспрессии генов отвечающих за синтез различных классов цитокинов в перитонеальных макрофагах.

В результате было установлено, что иммуностимулирующий растительный препарат «Глабилокс» обладает достаточно хорошим уровнем биодоступности и может с успехом применяться в качестве адъюванта при создании инъекционных, мукозальных вакцин.

Ключевые слова: адъювант, фармакокинетика, хроматография, доклинические испытания, биодоступность.

Введение. Начало третьего тысячелетия характеризуется выраженной тенденцией к преобладанию заболеваний инфекционной этиологии в общей структуре патологии человека и животных. Ежегодно суммарный экономический ущерб от инфекционных заболеваний человека и животных оценивается в несколько триллионов долларов. При этом более 50% от этой суммы составляют потери, вызванные гриппом и ОРЗ [1, 2].

В Казахстане данные инфекции также входят в число ведущих по наносимому ущербу для экономики страны (за счет потерь из-за нетрудоспособности населения, ущерба для сельского хозяйства и т.д.) [3].

Наиболее эффективным методом борьбы с инфекционными заболеваниями является вакцинопрофилактика, развивающаяся в двух направлениях, тесно связанных друг с другом. Первое направление – это создание новых типов вакцин, таких как сплит вакцины, субъединичные вакцины, ДНК вакцины или вакцины, созданные на основе обратной генетики [4-6]. Второе направление – это разработка новых, вспомогательных для вакцин соединений – адъювантов, которые позволяют повысить уровень защитного иммунитета без увеличения дозы антигена в вакцине, а также дают возможность осуществлять вакцинацию лиц с пониженным иммунным статусом [7-9].

К числу наиболее перспективных адъювантов нового поколения относятся биологически активные соединения растительного происхождения – тритерпеновые сапонины, способные эффективно стимулировать гуморальный и клеточный иммунный ответ, увеличивая таким образом эффективность вакцинопрофилактики [10-13].

Внедрение подобных препаратов должно учитывать основные процессы, характерные для любого лекарственного соединения, а именно: всасывание, распределение, метаболизм и выведение. Указанные процессы подвержены влиянию множества факторов, включая как лекарственную форму самого препарата, так и пол, возраст, соматическое состояние организма пациента, а также состояние его ферментативных систем, что обусловлено индивидуальными различиями [14, 15]. Этими проблемами занимаются в рамках доклинических исследований фармакокинетики лекарственных средств, включая изучение биодоступности и биоэквивалентности используемых препаратов. Фармакокинетика даёт возможность не только оценить скорость и степень всасывания исследуемых препаратов из места введения, проницаемость через гистогематические барьеры и выведения из организма препарата, и продуктов его превращения, но и саму возможность получения терапевтического эффекта в организме испытуемого с помощью данного препарата [16-19].

Целью проводимых исследований являлось изучение фармакокинетики иммуностимулирующего растительного препарата «Глабилокс», при интраназальном введении.

Материалы и методы

В работе использовали иммуностимулятор «Глабилокс», созданный на основе очищенных тритерпеновых сапонинов, выделенных из корня растения *Glycyrrhizaglabra* (таблица).

Сыворотка лошадиная нормальная для бактериологических питательных сред жидкая (Normalhorseserumforbacteriologicalnutrientmediumliquid), PAA LaboratoriesGmbH, Германия.

В качестве подопытных животных были использованы белые мыши массой 20–25 грамм. Животных содержали в виварии при стандартных условиях, 12 часовом световом режиме и свободном доступе к корму и воде. Исследования проводили на здоровых, бодрствующих животных.

Введение препарата «Глабилокс». Лиофилизированный препарат «Глабилокс» растворяли в фосфатном буфере – pH 7,4и интраназально вводили мышам в дозе 40 мкг/г. Забор крови у подопытных животных производили до введения препарата и через 1, 3, 6 и 24 часа после введения препарата.

Получение сыворотки из крови мышей. Для получения сыворотки образцы крови инкубировали 30 минут при 37°C, после чего центрифугировали 30 минут при 6000 об/мин. Полученную надосадочную жидкость аккуратно собирали.

Иммуностимулирующий растительный препарат «Глабилокс»

Характеристика	Описание
Название	«Глабилокс»
Физико-химические свойства	Иммуностимулирующий препарат «Глабилокс» представляет собой фракцию сапонинов после разделения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Препарат состоит на 70% из тритерпеновых сапонинов, 30% представлено смесью флавоноидов, дубильных веществ и оксикоричных кислот. По внешнему виду представляет собой аморфный, комкующийся порошок бежевого цвета. Препарат растворим в воде, фосфатно-солевом буфере pH 7,2-7,4, 0,9% водном растворе хлорида натрия (физиологический раствор). Малорастворим в диэтиловом эфире. Не растворим в бензоле, хлороформе и абсолютном этиловом спирте.
Специфическая активность	Данные по иммуностимулирующей активности: – Титр антител в РТГА при иммунизации мышей инактивированным вирусом, штамм A/Swine/Iowa/15/30, в сочетании с препаратом «Глабилокс» равен $8 \log_2$, в контроле без препарата иммуногенность составляла $5 \log_2$. – Титр антител в РТГА при иммунизации мышей инактивированным вирусом, штамм A/FPV/Rostock/34, в сочетании с препаратом «Глабилокс» был равен $10 \log_2$, в контроле без препарата иммуногенность составляла $7 \log_2$. – Титр антител в РТГА при иммунизации мышей инактивированным вирусом, штамм A/Алматы/8/98, в сочетании с препаратом «Глабилокс» равен $10 \log_2$, в контроле без препарата иммуногенность составляла $7 \log_2$. Данные по влиянию на протективные свойства вакцин иммуностимулирующего препарата «Глабилокс»: – Иммунизация мышей субъединичной вакциной в сочетании с препаратом «Глабилокс» позволяет защитить от гибели 90% животных после заражения их вирусом гриппа, штамм A/Swine/Iowa/15/30, в дозе 1000 ЭЛД ₅₀ /мышь, в контроле без препарата вакцинация защитила 40% животных.
Данные по острой токсичности	ЛД ₅₀ препарата «Глабилокс» не достигнута при однократном, внутрибрюшинном введении препарата мышам.
Данные по эмбриотоксичности	Препарат «Глабилокс» не обладает острой токсичностью (летальностью) по отношению к куриным эмбрионам в диапазоне доз от 8 до 200 мкг/куриный эмбрион.
Способ введения, доза	Препарат является адъювантом для повышения эффективности вакцин, растворяется в стерильной воде, вводится интраназально в дозе 15 мкг. Содержимое флакона растворяют в 5 мл стерильной воды, затем 50 мкл разведенного препарата вводят интраназально после смешивания с любым вакцинным препаратом, требующим повышения его эффективности. Флакон – 1,5 мг (100 доз) 5 мл, 1 доза – 15 мкг (50 мкл).
Кратность и длительность введения для специфической активности	Препарат вводится однократно или двукратно (с интервалом в 7 дней) в зависимости от типа вакцины.
Упаковка	Пенициллиновый флакон из прозрачного стекла объемом 5 мл, закрытый резиновой пробкой и закатанный алюминиевым колпачком.
Маркировка	На флаконе наклеена этикетка, на которой на русском языке указывается наименование препарата, номер опытной серии, масса препарата нетто (количество доз), срок годности.
Чистая масса содержимого	1,5 миллиграмма (100 доз)
Условия хранения	Препарат хранят в сухом месте при температуре от 15°C до 25°C и относительной влажности воздуха не более 60%.
Стабильность и сроки хранения препарата	При соблюдении условий хранения 4-8°C в сухом состоянии препарат стабилен в течение 36 месяцев, при 15-25°C – в течение 12 месяцев с даты изготовления. После разведения, при температуре от 4°C до 8°C, препарат стабилен в течение суток.

Получение и подготовка образцов к хроматографическому анализу. Для осаждения белков исследуемые сыворотки смешивали с ацетоном в соотношении 1:1 и инкубировали 30 минут при 37°C. Затем сыворотки с ацетоном центрифугировали при температуре +4°C со скоростью 14 000 об/мин в течение 30 минут. Далее отбирали очищенную от белков смесь плазмы с ацетоном и концентрировали в вакуумном концентраторе Concentrator 5301 (Eppendorf) до полного испарения ацетона из раствора. Полученные образцы фракционировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Хроматографический анализ биологических проб проводили на приборе Agilent 1200 Series под управлением компьютера с пакетом программного обеспечения для обчёта хроматограмм ChemStation B.04.03. Мобильная фаза состояла из 0,1% водного раствора трифторуксусной кислоты (А) и 100% ацетонитрила (В). Разделение образца проводили в режиме градиентного элюирования: 0 мин – 0% (В), 20 мин – 80% (В), 30 мин – 80% (В). Объём подвижной фазы составлял 1 мл/мин, объём наносимого на колонку образца – 30 мкл, температура колонки – 25°C. Для хроматографического разделения использовали колонку фирмы Dr. Maisch C18, размером 150 x 4,6 мм, диаметр пор 5 мкм. Спектр поглощения определяли при длине волны 254 нм.

Перитонеальные макрофаги собирали через 24 часа после введения препарата методом промывания брюшной полости охлаждённой средой 199. Клетки дважды отмывали и ресуспендировали в концентрации 2×10^6 клеток/мл в среде культивирования (среда 199).

Суммарную РНК выделяли с помощью набора для экстракции РНК Rneasy MiniKit (“QIAGEN, GmbH”, Германия) согласно методическому руководству.

Обратную транскрипцию осуществляли с помощью M-MLV (“Promega”, США) в 5 мкл реакционной смеси (2,7 мкл пробы, 0,84 мкл воды, 1 мкл 5х буфера для обратной транскриптазы (“Promega”, США), 0,19 мкл 2 мМ смеси dNTPs, 0,25 мкл 20 ОЕ случайного праймера (9 или 18 нуклеотидов) и 0,125 мкл M-MLV). Реакцию проводили при 37°C в течение 60 мин.

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в 20 мкл реакционной смеси (4 мкл ДНК матрицы, 8 мкл SybrGreen, по 1 мкл 20 ОЕ прямого и обратного праймеров, вода). 45 циклов ПЦР на термочиклере “PicoReal” проводили при следующих режимах: 94°C – 1 мин, 48°C – 1 мин, 72°C – 3 мин. Пары праймеров подбирали в соответствии с последовательностью исследуемых интерлейкинов (IL-2, IL-4, IL-10, IFN). Нормализацию экспрессии генов осуществляли с помощью гена актина

Математическая обработка результатов. Для математической обработки результатов использовали стандартные методы нахождения средних значений и их средних ошибок [20].

Результаты и их обсуждение

При изучении фармакокинетических свойств иммуностимулирующего препарата «Глабилоск» методом ВЭЖХ предварительно было необходимо определить на хроматограммах исследуемых образцов пики соответствия искомому соединению, а также построить калибровочную кривую. Для этого препарат «Глабилоск» растворяли в цельной нормальной лошадиной сыворотке в интервале доз от 0 до 100 мкг/мл. После осаждения белка исследуемые образцы фракционировали методом ВЭЖХ. Установлено, что при данном режиме фракционирования пик препарата «Глабилоск» идентифицируется с 14,5 по 15 минуты процесса хроматографии (рисунок 1).

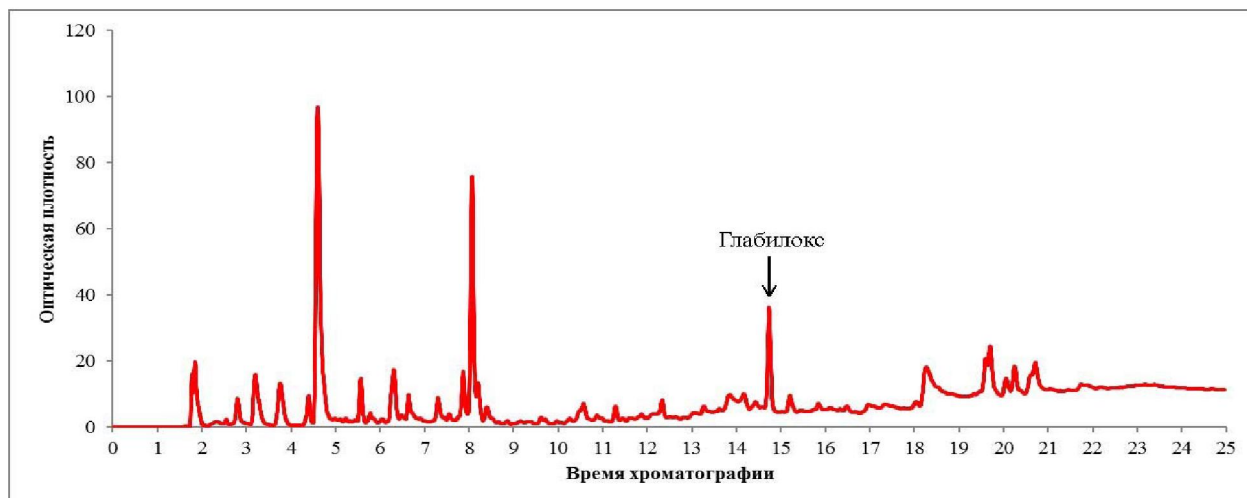


Рисунок 1 – Хроматографический анализ образцов лошадиной сыворотки, содержащей препарат «Глабилоск» в концентрации 15 мкг/мл

Используя диапазон доз препарата «Глабилоркс», была построена калибровочная кривая, позволяющая эффективно выявлять препарат в дозах превышающих 3 мкг/мл (рисунок 2).

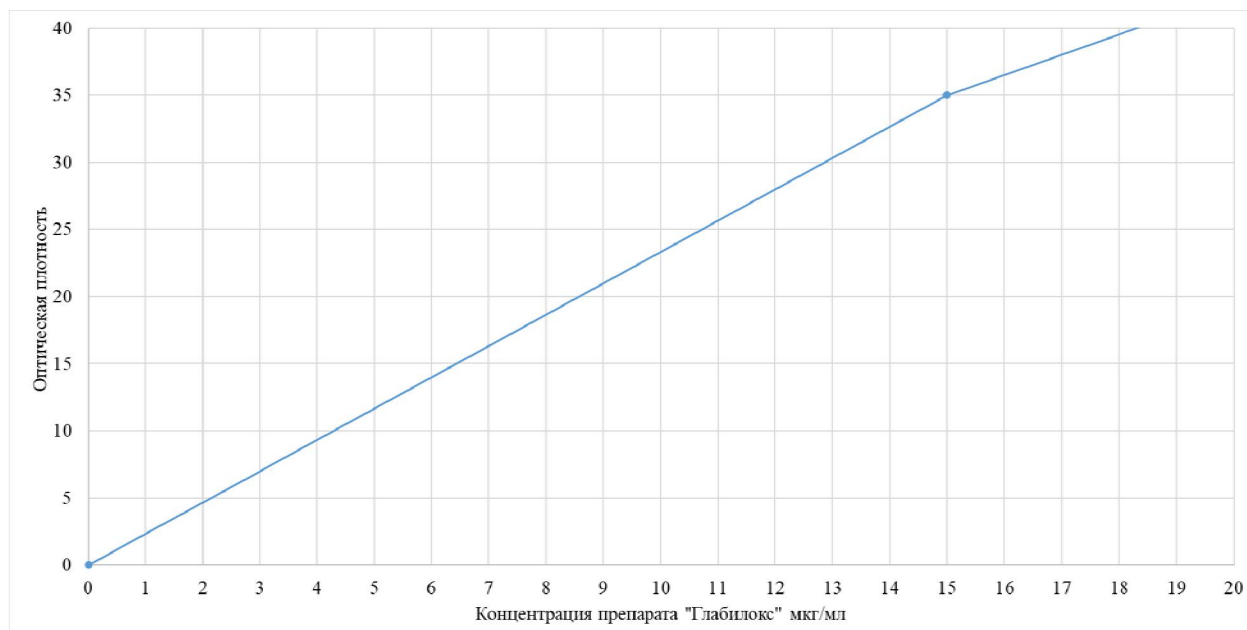


Рисунок 2 – Калибровочная кривая оценки концентрации препарата «Глабилоркс» в плазме крови

Было проведено исследование фармакокинетики препарата «Глабилоркс» при интраназальном введении мышам. Результаты исследования представлены на рисунках 3 и 4. Показано, что при интраназальном способе введения биодоступность препарата «Глабилоркс» составляла не менее 50% от вводимого количества, что соответствовало дозе препарата, необходимой для проявления его терапевтической активности.

При этом уровень терапевтической дозы препарата в сыворотке крови сохранялся не менее 6 часов, что являлось достаточным и полностью соответствовало его назначению (стимуляция факторов клеточного иммунного ответа).

Через 24 часа после введения препарата его уровень не диагностировался, что свидетельствует о его полном выведении из организма и указывает вероятность низкой алергизирующей способности.

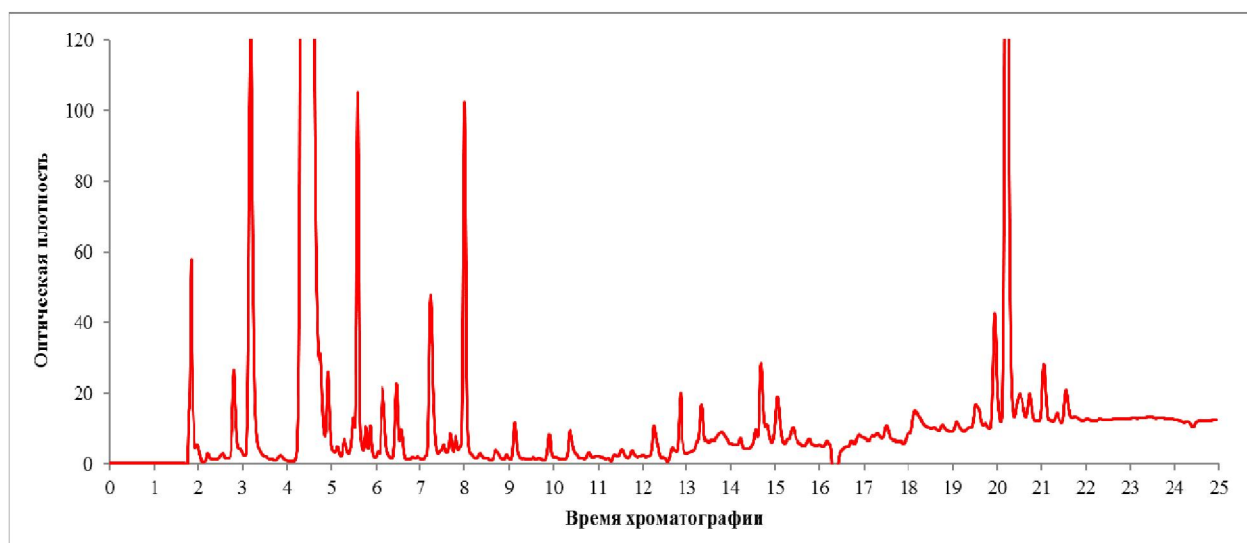


Рисунок 3 – Хроматографический анализ плазмы крови мышей через час после интраназального введения препарата «Глабилоркс»

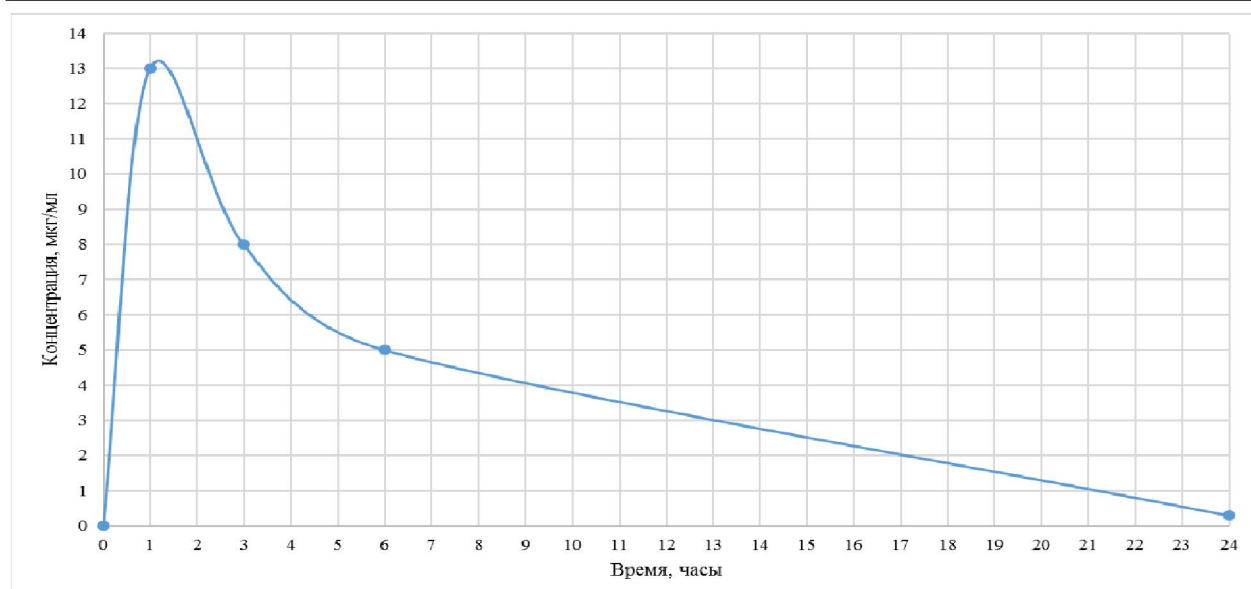


Рисунок 4 – Фармакокинетическая кривая препарата «Глабилокс» после интраназального введения мышам в дозе 40 мкг/г

Иммуностимулирующую активность препарата «Глабилокс» определяли по уровню экспрессии генов, отвечающих за синтез различных классов цитокинов (IL-4, IL-10, IL-2 и IFN- γ). Экспрессию генов фиксировали путём измерения уровня мРНК необходимой для синтеза исследуемых цитокинов в перитонеальных макрофагах подопытных мышей методом ПЦР в режиме реального времени. Активность экспрессии генов исследуемых цитокинов после введения препарата «Глабилокс» сравнивали с экспрессией тех же генов после введения плацебо.

В результате было показано (рисунок 5), что обнаруженный в сыворотке мышей уровень препарата «Глабилокс» индуцирует синтез Th1 и Th2 цитокинов, при этом уровень экспрессии цитокинов в 2-3 раза превышал экспрессию цитокинов в контрольной группе.

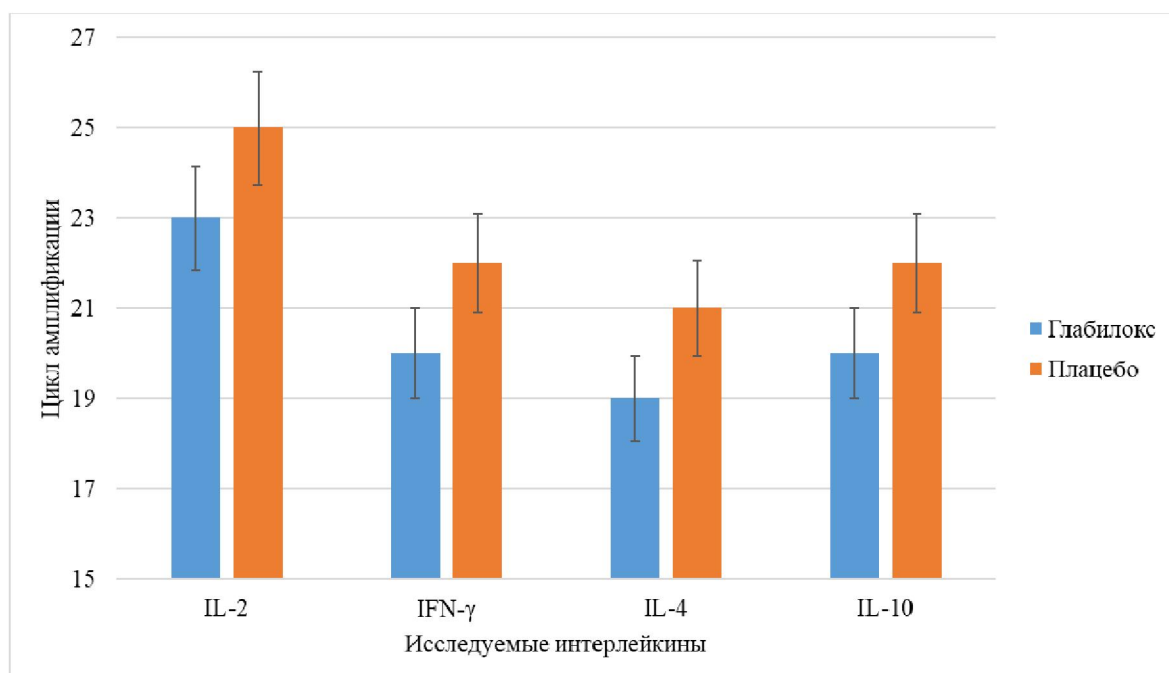


Рисунок 5 – Уровень активности экспрессии генов, отвечающих за синтез Th 1 и Th2 интерлейкинов при интраназальном введении препарата «Глабилокс»

Таким образом, по результатам проведённых исследований можно сделать вывод, что при интраназальном введении иммуностимулирующий растительный препарат «Глабилокс» обладает достаточно хорошим уровнем биодоступности позволяющим в короткий срок индуцировать активный синтез факторов клеточного иммунитета. Благодаря указанным свойствам иммуностимулирующий препарат «Глабилокс» может быть использован в качестве адъюванта для включения в состав вакцин, предназначенных для мукозальной (неинъекционной) иммунизации.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке грантовых проектов 0115PK01098и 0115PK01097, финансируемых Министерством образования и науки Республики Казахстан.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Goswami N.D., Pfeiffer C.D., Horton J.R., Chiswell K., Tasneem A., Tsalik E.L. The State of Infectious Diseases Clinical Trials: A Systematic Review of ClinicalTrials.gov, *PLoS One*, **2013**, 8(10), e77086. DOI: 10.1371/journal.pone.0077086.
- [2] Pinky L., Dobrovolny H.M. Coinfections of the Respiratory Tract: Viral Competition for Resources, *PLoS One*, **2016**, 11(5), e0155589. DOI: 10.1371/journal.pone.0155589.
- [3] World health statistics 2013. *World Health Organization*, **2014**, 170 p.
- [4] Li L., Saade F., Petrovsky N. The future of human DNA vaccines, *J Biotechnol*, **2012**, 162(2-3), 171–182. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2012.08.012.
- [5] Zhang N., Zheng B.J., Lu L., Zhou Y., Jiang S., Du L. Advancements in the development of subunit influenza vaccines, *Microbes Infect*, **2015**, 17(2), 123–134. DOI: 10.1016/j.micinf.2014.12.006.
- [6] Delany I., Rappuoli R., Gregorio E.D. Vaccines for the 21st century, *EMBO Mol Med*, **2014**, 6(6), 708–720. DOI: 10.1002/emmm.20140387.
- [7] Henderson A., Propst K., Kedl R., Dow S. Mucosal Immunization with Liposome-Nucleic Acid Adjuvants Generates Effective Humoral and Cellular Immunity, *Vaccine*, **2011**, 29(32), 5304–5312. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.05.009.
- [8] Mohan T., Verma P., Rao D.N. Novel adjuvants & delivery vehicles for vaccines development: A road ahead, *Indian J. Med. Res*, **2013**, 138(5), 779–795.
- [9] Powell B.S., Andrianov A.K., Fusco P.C. Polyionic vaccine adjuvants: another look at aluminum salts and polyelectrolytes, *Clin. Exp. Vaccine Res.*, **2015**, 4(1), 23–45. DOI: 0.7774/cevr.2015.4.1.23.
- [10] Alving C.R., Peachman K.K., Rao M., Reed S.G. Adjuvants for human vaccines, *Curr. Opin. Immunol*, **2012**, 24(3), 310–315. DOI: 10.1016/j.coi.2012.03.008
- [11] Paepenmüller T., Müller-Goymann C.C. Influence of Quil A on liposomal membranes, *Int. J. Pharm*, **2014**, 475, 138–146. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.08.007.
- [12] Fernandez-Tejada A., Chea E.K., George C., Pillarsetty N.V.K., Gardner J.R., Livingston P.O., Ragupathi G., Lewis J.S., Tan D.S., Gin D.Y. Development of a minimal saponin vaccine adjuvant based on QS-21, *Nat Chem*, **2014**, 6(7), 635–643. DOI: 10.1038/nchem.1963.
- [13] Petrovsky N. Comparative safety of vaccine adjuvants: a summary of current evidence and future needs, *Drug Saf*, **2015**, 38(11), 1059–1074. DOI: 10.1007/s40264-015-0350-4.
- [14] Watanabe T., Kawaoka Y. Influenza Virus-Host Interactomes as a Basis for Antiviral Drug Development, *Curr Opin Virol*, **2015**, 14, 71–78. DOI: 10.1016/j.coviro.2015.08.008.
- [15] Lee S., Nguyen M.T. Recent Advances of Vaccine Adjuvants for Infectious Diseases, *Immune Netw*, **2015**, 15(2), 51–57. DOI: 10.4110/in.2015.15.2.51.
- [16] Kamath A. V., Iyer S. Preclinical Pharmacokinetic Considerations for the Development of Antibody Drug Conjugates, *Pharm Res*, **2015**, 32(11), 3470–3479. DOI: 10.1007/s11095-014-1584-z.
- [17] Жердев В.П., Бойко С.С., Блынская Е.В., Турчинская К.Г., Гудашева Т.А., Иванникова Е.В. Доклиническое изучение фармакокинетики нового анксиолитика дипептидной структуры ГБ-115, *Фармакокинетика и фармакодинамика*, **2015**, 1, 52–59.
- [18] Stephenson R., You H., McManus D., Tot I. Schistosome Vaccine Adjuvants in Preclinical and Clinical Research, *Vaccines (Basel)*, **2014**, 2(3), 654–685. DOI: 10.3390/vaccines2030654.
- [19] Venkatakrishnan K., Liu Y., Noe D., Mertz J., Bargfrede M., Marbury T., Farbakhsh K., Oliva C., Milton A. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of liposomal mifamurtide in adult volunteers with mild or moderate hepatic impairment, *Br J Clin Pharmacol*, **2014**, 77(6), 998–1010. DOI: 10.1111/bcp.12261
- [20] Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. М.: Медицина, 1975. 296 с.

REFERENCES

- [1] Goswami N.D., Pfeiffer C.D., Horton J.R., Chiswell K., Tasneem A., Tsalik E.L. The State of Infectious Diseases Clinical Trials: A Systematic Review of ClinicalTrials.gov, *PLoS One*, **2013**, 8(10), e77086. DOI: 10.1371/journal.pone.0077086 (in Eng.).
- [2] Pinky L., Dobrovolny H.M. Coinfections of the Respiratory Tract: Viral Competition for Resources, *PLoS One*, **2016**, 11(5), e0155589. DOI: 10.1371/journal.pone.0155589 (in Eng.).
- [3] World health statistics 2013. *World Health Organization*, **2014**, 170 p.
- [4] Li L., Saade F., Petrovsky N. The future of human DNA vaccines, *J Biotechnol*, **2012**, 162(2-3), 171–182. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2012.08.012 (in Eng.).
- [5] Zhang N., Zheng B.J., Lu L., Zhou Y., Jiang S., Du L. Advancements in the development of subunit influenza vaccines, *Microbes Infect*, **2015**, 17(2), 123–134. DOI: 10.1016/j.micinf.2014.12.006 (in Eng.).
- [6] Delany I., Rappuoli R., Gregorio E.D. Vaccines for the 21st century, *EMBO Mol Med*, **2014**, 6(6), 708–720. DOI: 10.1002/emmm.20140387 (in Eng.).
- [7] Henderson A., Propst K., Kedl R., Dow S. Mucosal Immunization with Liposome-Nucleic Acid Adjuvants Generates Effective Humoral and Cellular Immunity, *Vaccine*, **2011**, 29(32), 5304–5312. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.05.009 (in Eng.).
- [8] Mohan T., Verma P., Rao D.N. Novel adjuvants & delivery vehicles for vaccines development: A road ahead, *Indian J. Med. Res*, **2013**, 138(5), 779–795 (in Eng.).
- [9] Powell B.S., Andrianov A.K., Fusco P.C. Polyionic vaccine adjuvants: another look at aluminum salts and polyelectrolytes, *Clin. Exp. Vaccine Res.*, **2015**, 4(1), 23–45. DOI: 0.7774/cevr.2015.4.1.23 (in Eng.).
- [10] Alving C.R., Peachman K.K., Rao M., Reed S.G. Adjuvants for human vaccines, *Curr. Opin. Immunol*, **2012**, 24(3), 310–315. DOI: 10.1016/j.coi.2012.03.008 (in Eng.).
- [11] Paepemüller T., Müller-Goymann C.C. Influence of Quil A on liposomal membranes, *Int. J. Pharm*, **2014**, 475, 138–146. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.08.007 (in Eng.).
- [12] Fernandez-Tejada A., Chea E.K., George C., Pillarsetty N.V.K., Gardner J.R., Livingston P.O., Ragupathi G., Lewis J.S., Tan D.S., Gin D.Y. Development of a minimal saponin vaccine adjuvant based on QS-21, *Nat Chem*, **2014**, 6(7), 635–643. DOI: 10.1038/nchem.1963 (in Eng.).
- [13] Petrovsky N. Comparative safety of vaccine adjuvants: a summary of current evidence and future needs, *Drug Saf*, **2015**, 38(11), 1059–1074. DOI: 10.1007/s40264-015-0350-4 (in Eng.).
- [14] Watanabe T., Kawaoka Y. Influenza Virus-Host Interactomes as a Basis for Antiviral Drug Development, *Curr. Opin. Virol*, **2015**, 14, 71–78. DOI: 10.1016/j.coviro.2015.08.008 (in Eng.).
- [15] Lee S., Nguyen M.T. Recent Advances of Vaccine Adjuvants for Infectious Diseases, *Immune Netw*, **2015**, 15(2), 51–57. DOI: 10.4110/in.2015.15.2.51 (in Eng.).
- [16] Kamath A.V., Iyer S. Preclinical Pharmacokinetic Considerations for the Development of Antibody Drug Conjugates, *Pharm Res*, **2015**, 32(11), 3470–3479. DOI: 10.1007/s11095-014-1584-z (in Eng.).
- [17] Zherdev V.P., Boyko S.S., Blyinskaya E.V., Turchinskaya K.G., Gudasheva T.A., Ivannikova E.V. Preclinical study of the pharmacokinetics of the new anxiolytic of the diuretic structure of GB-115, *Pharmacokinetics and pharmacodynamics*, **2015**, 1: 52–59 (In Russian).
- [18] Stephenson R., You H., McManus D., Tot I. Schistosome Vaccine Adjuvants in Preclinical and Clinical Research, *Vaccines (Basel)*, **2014**, 2(3), 654–685. DOI: 10.3390/vaccines2030654 (in Eng.).
- [19] Venkatakrishnan K., Liu Y., Noe D., Mertz J., Bargfrede M., Marbury T., Farbaksh K., Oliva C., Milton A. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of liposomal mifamurtide in adult volunteers with mild or moderate hepatic impairment, *Br J Clin Pharmacol*, **2014**, 77(6), 998–1010. DOI: 10.1111/bcp.12261 (in Eng.).
- [20] Urbah V.Ju. Statistical analysis in biological and medical research. M.: Medicine, 1975. 296 p. (In Russian).

П. Г. Алексюк, А. П. Богоявленский, М. С. Алексюк,
Е. С. Молдаханов, Э. И. Анаркулова, А. С. Бабенко, В. Э. Березин

РМҚ «Микробиология и вирусология институты» ҚР БҒМ ҒК, Алматы, Қазақстан

**КЛИНИКАҒА ДЕЙІНГІ ФАРМАКОКИНЕТИКА АДЬЮВАНТТЫҢ
"ГЛАБИЛОКС" ЗЕРТТЕУ ИНТРАНАЗАЛДІ ТҮРДЕ ДЕНГІЗУ**

Аннотация. Адьюванттар антигенді вакцина дозасын арттыру, қорғаныш жоқ иммунитет деңгейін арттыру вакцина қосалқы биологиялық белсенді қосылыстар болып табылады, сондай-ақ иммунитеті бар адамдарға вакцина жүргізуге мүмкіндік береді. Жаңа адьювантқа сіңіру, бөлу, метаболизм және несеп шыға-

рылуының енгізу сияқты процестер қарастыру қажет. Бұл мәселелермен препараттардың пайдаланылатын биожетімділігін зерттеу және биоэквиваленттілігін қоса алғанда, препараттарды заттарды фармакокинетикасын, клиникаға дейінгі зерттеулер айналысады.

Ұсынылған жұмыста жүргізілген зерттеу фармакокинетикалық қасиеттерін иммунды ынталандырғыш өсімдіктер "Глабилокс" препаратын интраназалды енгізу. Тиімділігі жоғары сұйықтық хроматография әдісінде тышқандардың қан плазмасын енгізуден кейін арнайы нақтылыу ақыт интервалдар арқылы жинақтау, зерттелетін препараттың бар болуы және дәрежесі анықтады, сондай-ақ, ПЦР әдісімен нақтыу ақыт режимін дегендердің белсенділігі экспрессиясын жауапберетін синтез әртүрлі класс цитокиндерін перитонеальды макрофагтарды анықтады.

Нәтижесінде анықталғандай, иммунды ынталандырғыш өсімдік препараты "Глабилокс" жеткілікті жақсы деңгейге ие биожетімділік мүмкіндігіне табысты адыюванта құру кезінде инъекциялық емес, мукозальды вакциналар ретінде қолданылады.

Түйін сөздер: адыювант, фармакокинетика, хроматография, клиникаға дейінгі зерттеу, биожетімділігі.

Сведения об авторах:

П.Г. Алексюк, к.б.н., снс лаборатории противовирусной защиты, РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, ragenal@bk.ru, тел. 8-727-2918497 доб. 105

А.П. Богоявленский, профессор, д.б.н., зав. лабораторией противовирусной защиты, РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, apav_63@mail.ru, тел. 8-727-2918497 доб. 105

М.С. Алексюк, PhD, нс лаборатории противовирусной защиты, РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, madina.a06@gmail.com, тел. 8-727-2918497 доб. 105

Молдаханов Е.С., мнс лаборатории противовирусной защиты, РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, ergali86@mail.ru, тел. 8-727-2918497 доб. 105

Анаркулова Э.И. мнс лаборатории противовирусной защиты, РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Elya-111@mail.ru, тел. 8-727-2918497 доб. 105

Бабенко А.С. лаборант лаборатории противовирусной защиты, РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, lika.babenko@inbox.ru, тел. 8-727-2918497 доб. 105

В.Э. Березин, зав. Отдела вирусологии, РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК д.б.н., профессор, чл.-корр. НАН РК vberezin359@gmail.com, тел. 8-727-2918497 доб. 105