

В. М. ШОБУХОВ, Г. А. ГАЛЕГОВ,  
действительный член АМН СССР В. М. ЖДАНОВ

**ИНГИБИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ 1-АДАМАНТАМИНА  
И  $\alpha$ -МЕТИЛ-1-АДАМАНТАН-МЕТИЛАМИНА НА РАЗВИТИЕ  
САРКОМЫ РАУСА**

Изыскание химиотерапевтических средств, препятствующих распространению РНК-онкогенных вирусов в тканях животных, связано с испытанием ингибиторов разных этапов репродукции этих вирусов. В исследованиях ряда авторов были получены данные о выраженном подавлении РНК-онкогенных вирусов производными адамантана (<sup>1-3</sup>), активность которых, по-видимому, обусловлена нарушением стадии проникновения вирусов в клетку (<sup>4</sup>).

Целью настоящего исследования являлось изучение ингибирующего действия двух соединений в ряду адамантана на развитие вирусиндуцированной саркомы Рауса у цыплят.

Работу проводили на цыплятах породы белый леггорн («кросс-288», Центральная инкубаторно-птицеводческая станция Министерства сельского хозяйства РСФСР). Цыплят заражали в возрасте 4 и 11 дней. Срок наблюдения за животными составил 2 мес. Развитие сарком определяли при помощи пальпации. Возникновение опухолей и гибель животных регистрировали ежедневно. Все подопытные животные были подвергнуты вскрытию и макроскопическому обследованию.

Вирус саркомы Рауса (в.с.Р., штамм Шмидт — Руппин) был любезно предоставлен доктором И. Б. Обух (Институт эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалея АМН СССР). Для приготовления исходного вирусосодержащего материала был использован 20% гомогенат свежей ткани саркомы в солевом растворе Хенкса. После 3-кратного центрифугирования при 3000 об/мин по 10 мин. надосадочную жидкость разводили в соотношении 1:10 в растворе Хенкса и фильтровали через стерилизующий мембранный фильтр VUFS (диаметр пор 0,3 м; ХЕМАПОЛ, Чехословакия). Все манипуляции по приготовлению вирусосодержащего материала проводили при 0° — +4°; образцы его до использования в экспериментах сохраняли при -196°. При испытании инфекционной активности на 4-дневных цыплятах титр исходной суспензии вируса составил  $3,2 \cdot 10^5$  ЛД<sub>50</sub>. Вирус вводили в правую грудную мышцу в объеме 0,1 мл или, в опыте № 8, — в перепонку крыла в объеме 0,05 мл.

Солянокислый 1-адамантанамин (амантадин) и солянокислый  $\alpha$ -метил-1-адамантан-метиламин (римантадин) были получены из Института фармакологии АМН СССР и Института органического синтеза АН ЛатвССР. Стерильные растворы амантадина и римантадина, приготовленные на физиологическом растворе, хранили при +4°. Препараты вводили внутримышечно вблизи области заражения из расчета разовой дозы амантадина 50 мг/кг и римантадина 30 мг/кг. Цыплятам контрольных групп вводили по 0,05 мл физиологического раствора по схеме введения ингибиторов в соответствующих им опытных группах. В опытах №№ 1—6 заражали 4-дневных цыплят, в №№ 7,8—11-дневных. Амантадин и римантадин вводили за 1,5 часа до заражения, непосредственно после заражения и затем препараты вводили 1 раз в сутки: в опытах №№ 1—3 — на протяжении всего срока наблюдения, в опытах №№ 4—8 — в первые 6 дней.

Т а б л и ц а 1

Влияние производных адамантана на развитие саркомы Рауса у цыплят при разных дозах в. с. Р.

№№ п.п.	Доза в. с. Р. (в ЛД <sub>50</sub> )	Препарат	Зараженные	Выжившие	Выжившие, %	Р*	Сроки**, дни	
							появления сарком	гибели животных
1	32 000	Амантадин	25	0	0,0	—	10	22
		Контроль	23	0	0,0		6	15
2	3200	Амантадин	28	0	0,0	—	10	26
		Контроль	30	0	0,0		7	17
3	64	Амантадин	19	2	10,5	93,9	13	27
		Контроль	14	0	0,0		9	21
4	64	Амантадин	15	3	20,0	99,7	14	28
		Контроль	30	0	0,0		10	22
5	640	Римантадин	18	3	16,7	96,7	12	23
		Контроль	10	0	0,0		8	18
6	64	Римантадин	31	9	29,0	99,9	16	31
		Контроль	30	0	0,0		10	22
7	64	Римантадин	24	9	37,5	99,9	18	34
		Контроль	10	0	0,0		12	27
8	64	Римантадин	15	8	53,3	99,9	20	34,7***
		Контроль	15	0	0,		11	28

\* Уровень вероятности защитного действия препарата в процентах, полученный при помощи  $\Phi$ -преобразования (4).

\*\* Срок первой пальпации сарком у 50% зараженных и срок гибели 50% зараженных.

\*\*\* Средний срок гибели, так как более 50% зараженных выжили.

Результаты испытания амантадина и римантадина на цыплятах, зараженных различными дозами в.с.Р., представлены в табл. 1. Из таблицы видно, что при всех дозах в.с.Р. у цыплят опытных групп возникновение сарком задерживалось на 3—9 дней по сравнению со сроками появления сарком у цыплят соответствующих контрольных групп, и период выживания был на 5—9 дней продолжительнее. При дозах в.с.Р. 640 и 64 ЛД<sub>50</sub> у 34 из 122 цыплят опытных групп мы не обнаружили саркомных узелков по истечении двух месяцев после заражения. При вскрытии этих животных только у 4 (3 из опыта № 7 и 1 из опыта № 8) были обнаружены в печени и в легком единичные очаги опухолевого роста диаметром от 1 до 2 мм. У остальных цыплят при макроскопическом обследовании области заражения и внутренних органов никаких признаков опухолевого роста мы не обнаружили. Все животные контрольных групп погибли от саркомы Рауса в течение периода наблюдения.

При введении цыплятам производных адамантана мы отмечали у части животных выраженную местную реакцию и некоторые особенности распространения опухолевого инфильтрата в области заражения. Так, у 6% животных через неделю от начала введения препаратов мы наблюдали образование гематом. У 10% животных саркомные узелки первоначально были пропальпированы на расстоянии 1—2 см от места заражения и даже с противоположной стороны кля. Нередко саркомы имели форму сосочков с контуром основания, резко отграниченным от прилежащих тканей. В отдельных случаях опухоли меняли локализацию. У 12 животных возникшие саркомы претерпели полную инволюцию на протяжении периода наблюдения, 9 из них находились в составе групп с коротким курсом введения препаратов.

Четкий ингибирующий эффект производных адамантана в отношении вирусов саркомо-лейкозного комплекса птиц был установлен преимущественно в опытах с культурой ткани (1-3). Однако при испытании амантадина *in vivo* на модели в.с.Р. финские исследователи (2) получили значительный процент выживания цыплят только при работе с низкими дозами вируса, когда и в контрольных группах погибли менее 100% зараженных. При увеличении дозы в.с.Р. в 20 раз авторы отметили увеличение периода

выживания у животных, которым вводили амантадин, но случаев выздоровления не было. Нам представлялось, что более расширенное испытание защитного действия производных адамантана на модели в.с.Р. *in vivo* позволит определить такие условия постановки эксперимента, при которых ингибирующий эффект препаратов проявлялся бы не только в удлинении временных характеристик заболевания, но и в выживании зараженных животных. С этой целью мы провели испытание двух соединений, структурное ядро которых составляет адамантан; испытания проводили как при массивных дозах в.с.Р., так и при минимальной дозе, которая обеспечивала гибель всех цыплят в контрольных группах; кроме того, мы использовали в опытах цыплят двух возрастных периодов, меняли место заражения и продолжительность курса введения препаратов.

В опытах с испытанием амантадина, когда препарат вводили в течение двух месяцев после заражения (опыты №№ 1—3), мы обнаружили, что сроки возникновения сарком у цыплят, зараженных большими дозами в.с.Р. (32 000 и 3200 ЛД<sub>50</sub>), были равны и даже продолжительнее, чем у цыплят контрольных групп с низкой дозой заражения (64 ЛД<sub>50</sub>). Мы предположили, что удлинение периода выживания у цыплят опытных групп было обусловлено не введением препарата на протяжении всего срока наблюдения, а является следствием его воздействия на ранние этапы заболевания, возможно, еще до образования опухоли на месте заражения и до распространения процесса на весь организм. Результаты экспериментов №№ 4—8, где испытываемые препараты вводили только в течение первых шести дней после заражения, подтвердили такое представление. Несмотря на сокращение цикла введения амантадина и римантадина, защитное действие препаратов выражалось и в удлинении временных характеристик заболевания, и в снижении числа заболевших и погибших от саркомы животных.

Мы не выявили существенного различия между ингибирующим действием амантадина и римантадина (опыты №№ 4 и 6); при испытании препаратов на цыплятах, зараженных в 4-дневном возрасте дозой 64 ЛД<sub>50</sub>, мы получили эффект защиты 20 и 29% соответственно. Более выраженный эффект защиты (50%) мы получили при постановке опытов на 11-дневных цыплятах, что, видимо, было обусловлено своеобразной комбинацией превентивного действия препаратов с возросшим иммунологическим ответом животных. Представляло бы интерес испытание препаратов в комбинации с другими факторами противовирусной защиты организмов, например с интерфероном. Полученные нами данные о высокой эффективности амантадина и римантадина при вирусиндуцированной саркоме Рауса указывают на целесообразность дальнейших испытаний антивирусной активности в ряду адамантана при инфекции РНК-онкогенными вирусами.

Таким образом, испытание амантадина и римантадина на модели в.с.Р. у цыплят выявило способность препаратов не только пролонгировать течение заболевания, но и предотвращать развитие сарком в среднем у 28,4% зараженных. При испытании препаратов в наиболее благоприятных условиях эффект защиты превышает 50%.

Институт вирусологии им. Д. И. Ивановского  
Академии медицинских наук СССР  
Москва

Поступило  
7 XII 1971

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> A. M. Wallbank, R. E. Matter, N. G. Klinikowski. *Science*, **152**, 1760 (1966). <sup>2</sup> N. Oker-Blom, L. Andersen, *Ann. Med. Exp. Fenn.*, **45**, 186 (1967). <sup>3</sup> A. M. Wallbank, *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **131**, 1025 (1969). <sup>4</sup> N. Kato, H. I. Eggers, *Virology*, **37**, 632 (1969). <sup>5</sup> В. Ю. Урбах, Математическая статистика для биологов и медиков, 1963, стр. 178.