



Противовирусный препарат на основе интерферона альфа-2b для ингаляций: исследование эффективности, субхронической токсичности и токсикокинетики на грызунах

Н.В. Панькова¹, И.А. Ленёва², И.Н. Фалынскова², А.В. Иванина²,
Е.С. Коровкина², О.Э. Хуттунен³, А.С. Кирьянова³, С.В. Шереметьев¹,
Д.В. Лоншаков¹

¹ ООО «Фирн М», ул. Дзержинского, д. 4а, вн. тер. г. пос. Кокошкино, д.п. Кокошкино, Москва, 108804, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», М. Казенный пер., д. 5а, Москва, 105063, Российская Федерация

³ ООО «ФАРМАКОГЕН», ул. Быкова, д. 84б, с. Павлово, Всеволожский р-н, Ленинградская область, 188680, Российская Федерация

✉ Панькова Надежда Владимировна; nadezhda.pankova.nnov@gmail.com

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Актуальность разработки новых высокодозных интерферон-содержащих лекарственных препаратов (ЛП) в виде капель для ингаляций обусловлена необходимостью создания эффективных средств для этиотропной терапии острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ), гриппа и COVID-19, сочетающих прямое действие на слизистую оболочку, мощный иммунный ответ и благоприятный профиль безопасности. В 2021 г. был разработан новый ЛП на основе интерферона альфа-2b в виде капель для ингаляций, предназначенный для лечения гриппа и ОРВИ различной этиологии.

ЦЕЛЬ. Доклиническое исследование эффективности, субхронической токсичности и токсикокинетики нового лекарственного препарата на основе интерферона альфа-2b при ингаляционном пути введения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. ЛП создан на основе человеческого рекомбинантного интерферона альфа-2b. Исследование эффективности ЛП было проведено на самках мышей BALB/c. Животным проводили ингаляцию 3 мл исследуемого ЛП в течение 10 мин ежедневно 2 раза/сут в течение 8 сут. Заражение вирусом гриппа А/Калифорния/04/2009 (А(Н1N1)pdm2009) проводили на 2 сут ингаляций. Оценивали динамику массы тела и смертности животных, а также титр вируса гриппа в тканях легких мышей через 4 сут после заражения. Токсичность ЛП исследовали на белых нелинейных крысах обоих полов. ЛП вводили с помощью ингалятора 1 раз/сут в течение 7 нед. в дозах, превышающих в 5,3 и 53 раза терапевтическую дозу для человека. Патоморфологическое и патогистологическое исследования проводили на 29 и 43 сут от начала введения ЛП. Исследования гематологических и биохимических показателей крови, частоты сердечных сокращений и поведенческих функций проводили до введения ЛП, во время введения (4-я нед.) и после окончания введения ЛП через 2 нед. Изучение токсикокинетики проводили на селлитных группах самцов крыс; схема введения ЛП животным была аналогичной схеме исследования токсичности.

РЕЗУЛЬТАТЫ. В экспериментах установлено, что ингаляционное введение (923 000 МЕ/кг/сут, 2 раза/сут в течение 8 сут) исследуемого ЛП приводило к ингибированию размножения вируса гриппа А/Калифорния/04/2009 (А(Н1N1)pdm2009) в легких мышей, достоверно

снижало смертность и потерю веса животных, увеличивало продолжительность жизни в 1,35–1,50 раза. Введение ЛП животным в изученных дозах не сопровождалось выраженным токсическим, местно-раздражающим и системным действием.

ВЫВОДЫ. В доклинических исследованиях доказана эффективность и безопасность исследуемого ЛП при ингаляционном введении грызунам.







Ключевые слова: интерферон; интерферон альфа-2b; пневмония; грипп; человек; ингаляция; доклиническое исследование; эффективность; токсикокинетика; мыши; крысы; животные; небулайзер; IFN α -2b

Для цитирования: Панькова Н.В., Ленёва И.А., Фалынскова И.Н., Иванина А.В., Коровкина Е.С., Хуттунен О.Э., Кирьянова А.С., Шереметьев С.В., Лоншаков Д.В. Противовирусный препарат на основе интерферона альфа-2b для ингаляций: исследование эффективности, субхронической токсичности и токсикокинетики на грызунах. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2025;25(4):448–460. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-4-448-460>

Финансирование. Работа была выполнена на средства ООО «Фирн М».

Потенциальный конфликт интересов. Панькова Н.В., Шереметьев С.В., Лоншаков Д.В. являются сотрудниками ООО «Фирн М», фирмы-разработчика лекарственного препарата «Гриппферон® форте, капли для ингаляций 10 млн МЕ/мл». Однако при написании рукописи авторы руководствовались соображениями научной ценности полученного материала и заявляют о беспристрастности оценки полученных данных.

Antiviral inhalation medicinal product based on interferon alpha-2b: A study of efficacy, subchronic toxicity, and toxicokinetics in rodents

Nadezda V. Pankova^{1,✉} , Irina A. Leneva² , Irina N. Falynskova² ,
Anna V. Ivanina² , Elena S. Korovkina² , Olga E. Khuttunen³ ,
Anna S. Kiryanova³ , Sergey V. Sheremetyev¹ , Dmitry V. Lonshakov¹ 

¹ Firm M, LLC, 4A Dzerzhinsky St., the inner-city territory of the settlement of Kokoshkino, the suburban settlement of Kokoshkino, Moscow 108804, Russian Federation

² I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, 5A M. Kazenny Ln., Moscow 105063, Russian Federation

³ PHARMACOGEN, LLC, 84B Bykov St., Pavlovo village, Vsevolozhsk district, Leningrad region 188680, Russian Federation

✉ Nadezda V. Pankova; nadezhda.pankova.nnov@gmail.com

ABSTRACT

INTRODUCTION. Developing high-dose interferon-based medicinal products (MPs) is particularly relevant for effective causal treatment of acute respiratory viral infections, influenza, and COVID-19 coronavirus infection. Inhalation drops both act directly on mucous membranes and stimulate powerful immune response and increased safety profile. In 2021, a new medicinal product, interferon alpha-2b-based inhalation drops, was developed to treat influenza and acute respiratory viral infections of various aetiologies.

AIM. This study aimed to assess preclinical efficacy, subchronic toxicity, and toxicokinetics of a new MP based on interferon alpha-2b and administered by inhalation.

MATERIALS AND METHODS. The new MP is based on human recombinant interferon alpha-2b. Its efficacy was studied on female BALB/c mice. The animals inhaled 3 mL of the investigational product for 10 minutes twice a day for 8 days. Animals were infected with A(H1N1)pdm2009 on Day 2 of inhalation. The dynamics of body weight and mortality, as well as influenza titre in the murine lung tissues, were evaluated 4 days after infection. MP toxicity was studied on white non-linear rats of both sexes. MP was administered using an inhaler once a day for 7 weeks at

doses exceeding human therapeutic dose by 5.3 and 53 times. Pathomorphological and histopathological examination was performed on Days 29 and 43 of administration. Haematological and biochemical blood parameters, heart rate, and behavioural functions were measured prior to administration, 4 weeks into administration, and 2 weeks after the last administration. Toxicokinetics was studied on satellite groups of male rats; administration scheme was similar to toxicity studies.

RESULTS. Experiments showed that inhalation of investigational product at 923,000 IU/kg/day twice a day for 8 days inhibited A(H1N1)pdm2009 replication in the murine lungs, significantly reduced animal mortality and weight loss, and increased animal life expectancy 1.35–1.5-fold. The study doses showed no pronounced toxic, local irritant or systemic effect.

CONCLUSIONS. The inhalation investigational product has shown its efficacy and safety in preclinical studies on rodents.

Keywords: interferons; interferon alpha-2b; pneumonia; influenza; human; inhalation; preclinical study; efficacy; toxicokinetics; mice; rats; animals; nebuliser; IFN α -2b

For citation: Pankova N.V., Leneva I.A., Falynskova I.N., Ivanina A.V., Korovkina E.S., Khuttunen O.E., Kiryanova A.S., Sheremetyev S.V., Lonshakov D.V. Antiviral inhalation medicinal product based on interferon alpha-2b: A study of efficacy, subchronic toxicity, and toxicokinetics in rodents. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2025;25(4):448–460. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-4-448-460>

Funding. The study was funded by Firm M, LLC.

Disclosure. Pankova N.V., Sheremetyev S.V., Lonshakov D.V. are employees of Firm M, LLC, the developer of Grippferon® forte, drops for inhalation 10 million ME/mL. However, when writing the manuscript, the authors were guided by considerations of scientific value of the material obtained and declare impartiality in their data assessment.

ВВЕДЕНИЕ

Респираторные вирусы являются основной причиной инфекционных заболеваний у людей. Более 90% вирусов, поражающих дыхательные пути, такие как вирус гриппа, парагриппа, респираторно-синцитиальный вирус, риновирус, аденовирус и коронавирус, могут вызывать тяжелые заболевания [1, 2]. Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) поражают носоглотку, ротоглотку, гортань, трахею, легкие, уши. Респираторные вирусы попадают в организм через дыхательные пути и в основном передаются от человека к человеку путем вдыхания респираторных капель или аэрозолей, выделяемых при кашле и чихании. Нос и рот являются основными местами проникновения вируса. Инкубационный период ОРВИ составляет от 1 до 4 сут в зависимости от конкретного патогена [3]. В настоящее время существующее лечение острой инфекции верхних дыхательных путей является по сути симптоматическим. Осельтамивир – наиболее широко известный противовирусный препарат, однако он специфичен только в отношении вируса гриппа типа А [4].

Интерферон альфа-2b (ИФН α -2b) является биологическим препаратом с иммуномодулирующими свойствами и действует в отношении ДНК- и РНК-содержащих вирусов. Интерферон участвует в иммунном ответе первой линии защиты организма для предотвращения и ис-

коренения инфекций, вызванных любым из известных респираторных вирусов. Интерферон, связываясь со специфическим рецептором на поверхности клеточной мембраны, запускает внутриклеточные сигнальные каскады, главным образом канонический каскад Jak-STAT [5]. Активация каскада приводит к индукции экспрессии генов, содержащих интерферон-стимулированные элементы (interferon-sensitive response element, ISRE), посредством транскрипционного фактора ISGF3 [6]. Синтезированные интерферон-стимулированные белковые факторы нацелены на ингибирование репликации вирусов на разных стадиях их жизненного цикла [7] и активацию иммунитета [8, 9] и участвуют в формировании противовирусной защиты клеток еще до контакта с вирусом.

Применение ИФН α -2b в виде аэрозолей и спреев для лечения и профилактики вирусных инфекций в носоглотке и верхних дыхательных путях имеет такие преимущества, как прямое действие на слизистую оболочку, высокая эффективность и благоприятный профиль безопасности [10]. Такие способы введения интерферона в организм приводят к немедленной и мощной активации иммунной системы, которая не зависит от концентрации интерферона в крови и вызывает минимальные побочные эффекты [11]. Широкий опыт клинического применения препаратов на основе ИФН α -2b и их эффективность позволили рассмотреть

высокодозные формы в качестве перспективного средства этиотропной терапии гриппа и ОРВИ, в том числе COVID-19. Новая лекарственная форма «капли для ингаляций, 10 млн МЕ/мл» позволит расширить возможности лечения тяжелых форм респираторных вирусных инфекций.

Цель работы – доклиническое исследование эффективности, субхронической токсичности и токсикокинетики нового лекарственного препарата на основе ИФН α -2b при ингаляционном пути введения.

Задачи исследования – изучение эффективности лекарственного препарата на модели гриппозной пневмонии мышей, субхронической токсичности (с периодом отсроченного наблюдения), безопасности, местной переносимости и токсикокинетики на крысах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили в соответствии с российскими и международными требованиями, а также в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики (Good Laboratory Practice)¹.

Материалы

В исследовании использовали экспериментальный лекарственный препарат (ЛП) «Гриппферон® форте, капли для ингаляций 10 млн МЕ/мл» (ООО «Фирн М», Россия). Действующим веществом ЛП является человеческий рекомбинантный ИФН α -2b. В качестве плацебо в исследованиях токсичности и токсикокинетики использовали раствор входящих в состав ЛП вспомогательных веществ, то есть без добавления рекомбинантного ИФН α -2b.

Лабораторные животные содержались в стандартных условиях при температуре 18–26 °С и относительной влажности воздуха 30–70% с 12-часовым световым циклом. Корм и воду обеспечивали *ad libitum*. Все процедуры были проведены в соответствии с Директивой Европейского союза 2010/63/EU и Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986).

В ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» изучали эффективность ЛП. При моделировании гриппозной инфекции была про-

ведена адаптация штамма вируса гриппа А/Калифорния/04/2009 (A(H1N1)pdm2009) на самцах мышей линии BALB/c. Данная модель позволяет оценить симптомы пневмонии, в том числе поражение легочной ткани. Животных получали из биопитомника ООО «СМК СТЕЗАР».

Изучение токсичности и токсикокинетики ЛП проводили на самцах и самках беспородных белых крыс возрастом 6–8 нед. в ООО «ФАРМАКОГЕН». Животные были получены из НИЦ «Курчатовский институт» – ПЛЖ «Рапполово».

Методы

Изучение эффективности лекарственного препарата

Схема изучения эффективности ЛП представлена в *таблице S1* (опубликована на сайте журнала²). Мыши были распределены на 5 групп по 15 животных в каждой. При формировании выборок животных руководствовались рекомендациями Организации экономического сотрудничества и развития³. В группы для оценки выживаемости были включены ≥ 10 особей. Препараты вводили животным 2 раза/сут. Животные в группах № 1, 3 и 4 подвергались ингаляционному введению веществ в течение 8 сут с помощью небулайзера. Пять животных из каждой группы помещали в ингаляционную камеру и проводили ингаляцию ЛП в течение 10 мин (объем 3 мл). Животным из групп № 1 и 5 исследуемые препараты вводили внутрижелудочно в течение 5 сут.

Ингаляционную терапию проводили с помощью небулайзера «OMRON C25 компрессорный медицинский» (Omron, Италия) при следующих установках: выход аэрозоля – не менее 0,3 мл/мин (0,9% натрия хлорид); подача аэрозоля – от 0,2 до 0,3 мл (2 мл, 1% натрия фторид); скорость подачи аэрозоля – от 0,05 до 0,08 мл/мин (2 мл, 1% натрия фторид). В рабочую камеру небулайзера вносили 3 мл 0,9% раствора натрия хлорида, нагретого до температуры 28–30 °С, и добавляли лечебную дозу препарата до конечной концентрации 923 000 или 451 000 МЕ/кг. При работе небулайзера ЛП переходил в состояние мелкодисперсного аэрозоля; при контакте с дефлектором крупные частицы разбивались на более мелкие с аэродинамическим диаметром от 2,50 до 2,75 мкм. Согласно методическим рекомендациям⁴ был выбран способ

¹ Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

² <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-4-448-460-table-s1>

³ Organization for Economic Co-operation and Development, OECD.

⁴ Подходы к проведению хронических ингаляционных экспериментов с наноразмерными аэрозолями на мелких лабораторных животных. Методические рекомендации 1.2.0151–19. М.: Роспотребнадзор; 2019.

воздействия «все тело», предполагающий использование камеры для проведения ингаляционной терапии. Ингаляционная камера представляла собой пластиковый контейнер размером 35×20×15 см (длина×ширина×высота) с отверстиями в крышке контейнера, закрытыми фильтровальной бумагой. Камера соединялась с небулайзером посредством силиконовой трубки напрямую без использования вкладышей и насадок. Для терапевтического воздействия в ингаляционную камеру помещали по 5 животных одной группы и проводили ингаляцию различных доз ЛП в объеме 3 мл в течение 10 мин.

На вторые сутки от начала эксперимента мышью интраназально инфицировали вирусом гриппа А/Калифорния/04/2009 (A(H1N1)pdm2009) в дозе $10^{4,5}$ ТЦИД₅₀/0,1мл, адаптированного к мышам; ТЦИД₅₀ – тканевая цитопатическая инфекционная доза, вызывающая гибель 50% клеток. Наблюдение за животными осуществляли в течение 16 сут – оценивали динамику массы тела животных, продолжительность жизни и выживаемость. Эвтаназию животных проводили на 16 сут после заражения путем дислокации шейных позвонков.

Через 4 сут после заражения в каждой группе подвергали эвтаназии 5 мышей. В стерильных условиях извлекали легкие, гомогенизировали и ресуспендировали в 1 мл холодного стерильного 10 мМ фосфатно-солевого буфера pH 7,2 (кат. № В-60201, «Эко-Сервис», Россия). Суспензию осветляли от клеточного дебриса путем центрифугирования при 2000 g в течение 10 мин. Полученный супернатант (проба вируса) использовали для заражения. Для определения инфекционного титра вируса использовали неразведенную пробу вируса и пробы в разведениях до 1×10^{-8} и клетки MDCK⁵ со средней плотностью 30 000–35 000 клеток на лунку. После фиксации и инкубирования измеряли оптическую плотность (ОП) при длине волны 570 нм на мультимодальном планшетном ридере Varioskan™ (Thermo Scientific, США). Образцы в лунках считали положительными, если значения ОП в них были меньше на 20% по сравнению с контролем. Инфекционный титр вируса определяли по методу Рида и Менча при измерениях каждой пробы в 4-кратной повторности и выражали в \log_{10} ТЦИД₅₀/0,1 мл. Затем рассчитывали среднее значение титра для пяти одинаковых проб [12].

Изучение субхронической токсичности лекарственного препарата

Исследование субхронической токсичности ЛП проводили на беспородных белых

крысах обоих полов. Небулайзер компрессионный LD-211 С (Little Doctor International (S) Pte. Ltd., Сингапур) и ингаляционный распылитель LD-N001 тип А (Little Doctor International (S) Pte. Ltd., Сингапур) использовали для проведения ингаляций каждого животного 1 раз/сут в течение 28 сут. Животное помещали в индивидуальный рестрейнер (удерживающее устройство) с конусообразным подвижным фиксатором в области головы и отверстием, что позволяло области носа оставаться свободной. После фиксации головы животного на конус устанавливали небольшую дыхательную маску, подключенную непосредственно к резервуару для ингаляционного раствора небулайзера. В работе использовали распылитель с размером частиц 3,5 мкм (масс-медианный аэродинамический диаметр). После ингаляции животное из рестрейнера помещали в клетку содержания.

Расчет экспериментальных доз основывался на дозах, указанных в проекте инструкции ЛП. Максимальная разовая доза для человека с массой тела 70 кг составляет 5 000 000 МЕ 2 раза/сут или 10 000 000 МЕ/сут. Таким образом, первая экспериментальная доза препарата составляла 880 952 МЕ/кг/сут, или 0,022 мл ЛП, для крысы средней массой 250 г (с учетом межвидового коэффициента переноса для крыс, равного 6,1). Данная доза в 5,3 раза превышала терапевтическую дозу для человека. Вторая экспериментальная доза превышала первую в 10 раз и составила 8 809 520 МЕ/кг/сут, или 0,22 мл ЛП, что в 53 раза превышает терапевтическую дозу для человека. Животные в группах Плацебо и Контроль получали соответствующие объемы веществ. Используя метод простой рандомизации по критерию массы тела, животных распределяли в 5 групп по 12 самцов и 12 самок в каждой группе. Схема эксперимента представлена в *таблице 1*.

Ежедневное наблюдение за животными осуществляли в течение 4-недельного введения препаратов, а также в течение 2 нед. после отмены препаратов. Клинический осмотр животных проводили ежедневно. Динамику массы и температуры тела, а также динамику суточного потребления корма и воды регистрировали еженедельно. Животных взвешивали на весах EW-12Ki (AND, Япония). Температуру тела измеряли с использованием электрического термометра Oakton 10T (Oakton Instruments, США).

Физиологические (*in vivo*) и лабораторные (*in vitro*) исследования проводили до начала введения препаратов для определения фоновых

⁵ Madin–Darby canine kidney.

Таблица 1. Схема изучения субхронической токсичности на основе интерферона альфа-2b
Table 1. Study design of subchronic toxicity of interferon alpha-2b-based medicinal product

Номер группы <i>Group No.</i>	Название группы <i>Group name</i>	Вводимый препарат <i>Medicinal product</i>	Способ введения препарата <i>Route of administration</i>	Количество животных <i>Number of animals</i>	Эвтаназия, количество животных, дни эксперимента <i>Euthanasia: number of animals, days of experiment</i>
1	Контроль <i>Control</i>	Физиологический раствор <i>Saline</i>	Ингаляционно, 0,22 мл/крыса/сут ежедневно в течение 28 сут <i>Inhalation, 0.22 mL/rat/day daily for 28 days</i>	24 (12 ♀+12 ♂)	6 ♀ + 6 ♂, 29 и 43 сут 6 ♀ + 6 ♂, <i>Days 29 and 43</i>
2	Плацебо 0,022 <i>Placebo 0.022</i>	Плацебо <i>Placebo</i>	Ингаляционно, 0,022 мл/крыса/сут ежедневно в течение 28 сут <i>Inhalation, 0.022 mL/rat/day daily for 28 days</i>	24 (12 ♀+12 ♂)	6 ♀ + 6 ♂, 29 и 43 сут 6 ♀ + 6 ♂, <i>Days 29 and 43</i>
3	Плацебо 0,22 <i>Placebo 0.22</i>	Плацебо <i>Placebo</i>	Ингаляционно, 0,22 мл/крыса/сут ежедневно в течение 28 сут <i>Inhalation, 0.22 mL/rat/day daily for 28 days</i>	24 (12 ♀+12 ♂)	6 ♀ + 6 ♂, 29 и 43 сут 6 ♀ + 6 ♂, <i>Days 29 and 43</i>
4	ИФН α -2b 0,022 <i>IFNα-2b 0.022</i>	Гриппферон® форте <i>Grippferon® forte</i>	Ингаляционно, 0,022 мл/крыса/сут (880 952 МЕ/кг/сут) ежедневно в течение 28 сут <i>Inhalation, 0.022 mL/rat/day (880 952 IU/kg/day) daily for 28 days</i>	24 (12 ♀+12 ♂)	6 ♀ + 6 ♂, 29 и 43 сут 6 ♀ + 6 ♂, <i>Days 29 and 43</i>
5	ИФН α -2b 0,22 <i>IFNα-2b 0.22</i>	Гриппферон® форте <i>Grippferon® forte</i>	Ингаляционно, 0,22 мл/крыса/сут (8 809 520 МЕ/кг/сут) ежедневно в течение 28 сут <i>Inhalation, 0.22 mL/rat/day (8 809 520 IU/kg/day) daily for 28 days</i>	24 (12 ♀+12 ♂)	6 ♀ + 6 ♂, 29 и 43 сут 6 ♀ + 6 ♂, <i>Days 29 and 43</i>

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table was prepared by the authors using their own data

Примечание. МЕ – международные единицы; ИФН α -2b – интерферон альфа-2b.

Note. IU, international units; IFN α -2b, interferon-alpha 2b.

значений показателей и на 4-й и 6-й нед. после начала введения препаратов. Для оценки поведения животных проводили тест «Открытое поле» на арене ООО «НПК Открытая наука» (Россия). Систолическое артериальное давление у бодрствующих животных измеряли с помощью системы неинвазивного измерения кровяного давления у грызунов «Систола» (ООО «Нейроботикс», Россия). Электрокардиографию у ненаркотизированных крыс выполняли с помощью электрокардиографа «Поли-Спектр-8В» (ООО «Нейрософт», Россия). Электрокардиограммы анализировали при помощи пакета программ (ООО «Нейрософт», Россия) во втором стандартном отведении: измеряли величину зубцов P, R, S, T и продолжительность интервалов PQ и QT. Частоту дыхательных движений у ненаркотизированных крыс определяли с помощью комплекса оценки кардиореспираторной системы мелких лабораторных животных КОКС-2 (ООО «МКС», Россия).

Гематологический (общий) анализ образцов крови проводили на ветеринарном анализаторе URIT-3020 Vet Plus (URIT Medical Electronic Co., Ltd, Китай). Образцы крови отбирали из хвостовой вены животного в пробирки с K2 ЭДТА Impromini (Guangzhou Improve Medical Instruments

Co., Ltd, Китай). Образцы крови для проведения биохимического анализа собирали в пробирки Improvacuter (Guangzhou Improve Medical Instruments Co., Ltd, Китай), содержащие активатор свертывания, после чего центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 мин на центрифуге медицинской CM-6 MT (ELMI, Латвия) и отбирали фракцию сыворотки крови. Биохимические параметры крови (АЛТ, АСТ, общий белок, альбумин, общий билирубин, щелочная фосфатаза, креатинин, мочевины, триглицериды, холестерин и глюкоза) измеряли на автоматическом биохимическом анализаторе RX Daytona (Randox Laboratories Ltd, Великобритания) с помощью специализированных ветеринарных наборов (АО «Диакон-ДС», Россия). Анализ образцов мочи проводили на ветеринарном экспресс-анализаторе мочи URIT-50 Vet (URIT Medical Electronic Co., Ltd., Китай) с помощью индикаторных полосок URIT 11 Vet. Анализ мочи включал оценку следующих параметров: объем мочи, цвет, прозрачность, удельная плотность, pH; количество лейкоцитов, эритроцитов и кетоновых тел; нитриты, уробилиноген, билирубин, общий белок, глюкоза и аскорбиновая кислота.

Половина животных (12 особей) из группы в равном соотношении полов была подвергнута

этаназии на 29 сут эксперимента. Вторая половина животных была подвергнута этаназии на 43 сут, после дополнительного наблюдения в течение 2 нед. Для патоморфологического и патогистологического исследования отбирали образцы ткани головного мозга, тимуса, щитовидной железы с трахеей, легких с бронхами, сердца, печени, желудка, поджелудочной железы, кишечника, почек, надпочечников, селезенки, семенников, яичников и мочевого пузыря. Препараты, зафиксированные и окрашенные гематоксилином и эозином (ООО «Биовитрум», Россия), анализировали на ротационном микроскопе AxioLab (Zeiss, Германия).

Оценка местно-раздражающего действия ЛП была проведена в рамках патоморфологического и патогистологического исследования тканей в месте введения (слизистые оболочки носовой полости).

Изучение токсикокинетики лекарственного препарата

Нелинейные белые самцы крыс массой 160–190 г были использованы для изучения токсикокинетики ЛП. Препараты вводили с помощью ингалятора компрессорного типа LD-211C при помощи ингаляционного распылителя LD-N001 тип А ежедневно 1 раз/сут в течение 4 нед. Животных распределяли в 5 групп по 5 особей в каждой; препараты вводили животным аналогично схеме исследования субхронической токсичности. На 1 и 28 сут эксперимента у животных забирали кровь из латеральной хвостовой вены до введения препарата и через 30 мин, 2, 6 и 24 ч после введения препарата. Образцы крови центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 мин на центрифуге медицинской CM-6 MT (ELMI, Латвия). Образцы сыворотки крови замораживали при минус 20 °С до проведения анализа.

Определение концентрации ИФН α -2b проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью набора реагентов «Альфа ИНТЕРФЕРОН-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», Россия). Наборы предварительно валидировали с использованием фармацевтической субстанции ИФН α -2b (ООО «Фирн М», Россия) согласно требованиям к валидации биоаналитических методик⁶. Оптическую плотность образцов измеряли с помощью иммуноферментного анализатора Infinite F-50 (Tecan Austria GmbH, Австрия) при длине волны 450 нм.

Статистическая обработка данных

Данные, полученные в исследованиях эффективности и токсичности ЛП, анализировали с помощью статистических пакетов GraphPad Prism 9 (GraphPad Software Inc., США) и Statistica 8.0 (Statistica Inc., США). Статистический анализ данных проводили по группам животных одного пола. Нормальность распределения данных проверяли с помощью теста Шапиро – Уилка. Наличие выбросов в выборке оценивали по методу ROUT [13]. Данные представлены в виде «среднее значение \pm стандартное отклонение». Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Сравнение выживаемости животных проводили с помощью критерия χ^2 -квадрат. Достоверность изменения массы тела устанавливали с помощью теста Вилкоксона. В исследовании токсичности статистический анализ показателей проводили при помощи дисперсионного анализа с последующим тестом Тьюки для нормально распределенных данных. Тест Краскела – Уоллиса использовали при анализе непараметрических данных в выборках. Статистическую обработку фармакокинетических данных проводили в программе OriginPro (OriginLab Corporation, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эффективность лекарственного препарата на модели гриппозной пневмонии мышей

Эффективность ингаляционного применения ЛП на основе интерферона исследовали после заражения животных вирусом гриппа А/Калифорния/04/2009 (A(H1N1)pdm2009). В эксперименте были сформированы две группы вирусного контроля. Животным в первой группе вирусного контроля (Контроль в/ж) перорально вводили физиологический раствор. На 12 сут эксперимента погибли все животные. Средняя продолжительность жизни животных в группе Контроль в/ж после заражения составляла 7,1 сут, при этом на 12 сут животные теряли >25% массы тела (табл. 2; рис. S1, опубликован на сайте журнала⁷).

Животные во второй группе вирусного контроля (Контроль инг) получали ингаляции физиологического раствора до и через 8 ч после заражения, и далее по 2 ингаляции в сутки в течение 7 сут. В группе Контроль инг к концу эксперимента погибли все животные. Средняя продолжительность жизни мышей после заражения составила 6,8 сут. Максимальное

⁶ Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 85 (ред. от 12.04.2024) «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза».

Guideline on bioanalytical method validation. EMEA/CHMP/EWP/192217/2009 Rev. 1 Corr. 2. EMA; 2011.

⁷ <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-4-448-460-fig-s1>

Таблица 2. Исследование эффективности применения препарата на основе интерферона альфа-2b на модели гриппозной пневмонии мышей

Table 2. Treatment efficacy assessment of interferon alpha-2b-based drug in a murine model of influenza pneumonia

Группа <i>Group</i>	Выживаемость / <i>Survival</i>		Средняя продолжительность жизни, сут <i>Average life expectancy, days</i>	Титр вируса в легких на 4 сут, \log_{10} ТЦИД ₅₀ /0,1 мл <i>Virus titre in the lungs on Day 4, \log_{10}TCID₅₀/0.1 mL</i>
	Живые / Всего <i>Alive / Total</i>	Смертность, % <i>Mortality, %</i>		
Контроль инг <i>Control, inhalation</i>	0/10	100	7,1	>6,0
Контроль в/ж <i>Control, intragastric</i>	0/10	100	6,8	>6,0
ИФНа-2b, 1 доза ^a <i>IFNα-2b, 1 dose^a</i>	4/10 ^b	60	9,6	4,60±0,22 ^c
ИФНа-2b, ½ доза <i>IFNα-2b, ½ dose</i>	4/10 ^b	60	10,2	4,25±0,50 ^c
Контроль + <i>Control +</i>	6/9 ^b	34	12,5	2,20±1,35 ^c

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table was prepared by the authors using their own data

Примечание. ТЦИД₅₀ – тканевая цитопатическая инфекционная доза, вызывающая гибель 50% клеток; ИФНа-2b – введение интерферона альфа-2b.

^a 1 доза соответствует 923 000 МЕ/кг/сут лекарственного препарата; «Контроль +» – внутрижелудочное введение 10 мг/кг осельтамивира.

^b достоверное различие ($p < 0,05$, критерий χ^2 -квадрат) по сравнению с группами «Контроль инг» (ингаляционное введение) и «Контроль в/ж» (внутрижелудочное введение).

^c достоверное различие ($p < 0,05$, критерий Краскела – Уоллиса).

Note. TCID₅₀, 50% tissue culture infectious dose. IFN α -2b, interferon alpha-2b administration.

^a 1 dose corresponds to 923,000 IU/kg/day of a medicinal product; “Control+”, intragastric oseltamivir administration, 10 mg/kg.

^b significant difference ($p < 0.05$, Chi-square criterion) compared with “Control inh” (inhalation administration) and “Control i/g” (intragastric administration) groups.

^c significant difference ($p < 0.05$, Kruskal–Wallis test).

снижение массы тела животных (23%) наблюдалось на 10 сут (день полной гибели животных).

В обеих группах вирусного контроля титр вируса в ткани легких животных на 4 сут после заражения превышал $6 \times \log_{10}$ ТЦИД₅₀/0,1 мл (табл. 2), что и обуславливало гибель животных от вирусной пневмонии.

Введение ЛП животным в обеих изучаемых дозах приводило к достоверному снижению смертности (χ^2 -критерий) на 60% в группах ИФНа-2b 1 доза и ИФНа-2b ½ доза, 100% – в контрольных группах. Кроме того, наблюдалась тенденция к снижению потери массы тела животных по сравнению с группой вирусного контроля, в которой животные получали физиологический раствор перорально. Средняя продолжительность жизни животных из групп, получающих ИФНа-2b, была выше в 1,35–1,50 раза по сравнению с группами вирусного контроля. Полученные клинические показатели тяжести инфекции совпадали с вирусологическими данными. При введении животным ИФНа-2b в обеих дозах наблюдалось статистически значимое снижение титра вируса в легких более чем на $2 \times \log_{10}$ ТЦИД₅₀/0,1 мл по сравнению с группами вирусного контроля. Введение животным препарата сравнения (осельтамивир) 2 раза/сут в дозе 10 мг/кг предотвращало

смертность у 66% животных, уменьшало потерю массы тела, увеличивало среднюю продолжительность жизни в 1,7 раза и подавляло размножение вируса в легких животных примерно на $3,8 \times \log_{10}$ ТЦИД₅₀/0,1 мл.

Изучение субхронической токсичности лекарственного препарата

Ежедневный **клинический осмотр** не выявил каких-либо симптомов интоксикации у животных во всех экспериментальных группах. Смертельных исходов не наблюдали. Динамика массы тела (рис. 1), температуры тела и потребления корма животными была одинакова во всех группах. Введение ЛП не оказывало существенного влияния на показатели анализа мочи животных.

Значимых различий в **поведенческой активности животных** (тест «Открытое поле») не обнаружено. У некоторых животных в различных группах наблюдалась тенденция к снижению поведенческой активности относительно фоновых значений. Такая тенденция характерна для животных, повторно попадающих в арену открытого поля и связана с угасанием ориентировочного рефлекса.

Исследование сердечно-сосудистой системы. На 4 нед. ежедневного введения препаратов артериальное давление, частота дыхательных

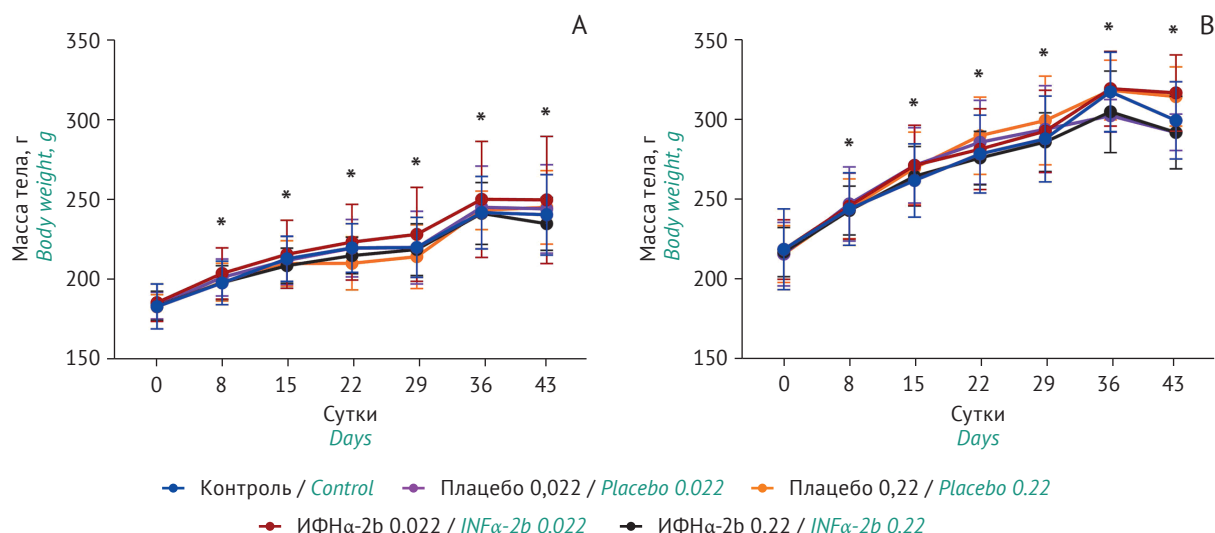


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure was prepared by the authors using their own data

Рис. 1. Изучение динамики массы тела крыс при оценке субхронической токсичности лекарственного препарата на основе интерферона альфа-2b: А – самки, В – самцы. Плацебо 0,022 и Плацебо 0,22 – группы животных, получавших 0,022 и 0,22 мл/крыса/сут плацебо ингаляционно ежедневно в течение 28 сут соответственно; ИФН α -2b 0,022 и ИФН α -2b 0,22 – группы животных, получавших ингаляционно 0,022 и 0,22 мл/крыса/сут лекарственного препарата на основе интерферона альфа-2b ежедневно в течение 28 сут соответственно; Контроль – группа животных, получавших ингаляционно 0,22 мл/крыса/сут физиологического раствора ежедневно в течение 28 сут. * – достоверное различие с днем первого введения препарата (День 0), ($p < 0,05$, тест Вилкоксона).

Fig. 1. Dynamics of rat body weight in the assessment of subchronic toxicity of interferon alpha-2b-based product: A, female rats; B, male rats. Placebo 0.022 and Placebo 0.22, groups of animals receiving placebo 0.022 and 0.22 mL/rat/day by inhalation daily for 28 days, respectively; INF α -2b 0.022 and INF α -2b 0.22, groups of animals receiving 0.022 and 0.22 mL/rat/day interferon alpha-2b-based product by inhalation daily for 28 days, respectively; control group, animals receiving 0.22 mL/rat/day saline solution by inhalation daily for 28 days. *, significant difference with Day 0 ($p < 0.05$, Wilcoxon test).

движений и параметры электрокардиограммы, кроме частоты сердечных сокращений, между группами не различались (рис. 2). У самок группы ИФН α -2b 0,22 частота сердечных сокращений была достоверно ниже по сравнению с группой ИФН α -2b 0,022 – 481 ± 24 и 530 ± 24 уд/мин соответственно ($p < 0,05$). Однако группы животных, получавших ЛП, не отличались от группы Контроль или групп Плацебо; отсутствовали различия в группах самцов. Это может свидетельствовать об отсутствии связи наблюдаемого эффекта с введением ЛП. Таким образом, субхроническое введение ЛП не повлияло на результаты физиологического состояния крыс.

Гематологический и биохимический анализ крови. Выраженных различий показателей гематологического (рис. S2, опубликован на сайте журнала⁸) и биохимического (рис. S3, опубликован на сайте журнала⁹) анализа крови на 4 нед. введения ЛП не выявлено у животных в исследуемых группах. В ряде случаев, в основном у самок крыс, наблюдались умеренные, но статистически значимые различия показателей между

группами, не зависящие от вводимых доз и не выходящие за пределы физиологической нормы, которые, по всей видимости, отражали индивидуальные особенности животных. Количество лейкоцитов и лимфоцитов в крови самок группы Плацебо 0,022 было достоверно ($p < 0,05$) ниже, чем в группах Контроль, Плацебо 0,22 и ИФН α -2b 0,22. Самки в группе Контроль имели меньшее ($p < 0,05$) количество тромбоцитов в крови по сравнению с самками из группы Плацебо 0,022 – $(305 \pm 72) \times 10^9$ и $(409 \pm 35) \times 10^9$ /л соответственно. При этом количество тромбоцитов в крови крыс во всех остальных группах достоверно не отличалось между собой. Аналогичные различия наблюдались по тромбоцитам, причем значение этого показателя в группе Контроль было заметно ниже, чем в остальных группах. Данные различия отсутствовали у самцов. Статистически значимые различия показателей у самок можно объяснить изначально более низким тромбоцитом и количеством тромбоцитов в группе Контроль (рис. S2, опубликован на сайте журнала¹⁰). Кроме того,

⁸ <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-4-448-460-fig-s2>

⁹ <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-4-448-460-fig-s3>

¹⁰ <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-4-448-460-fig-s2>

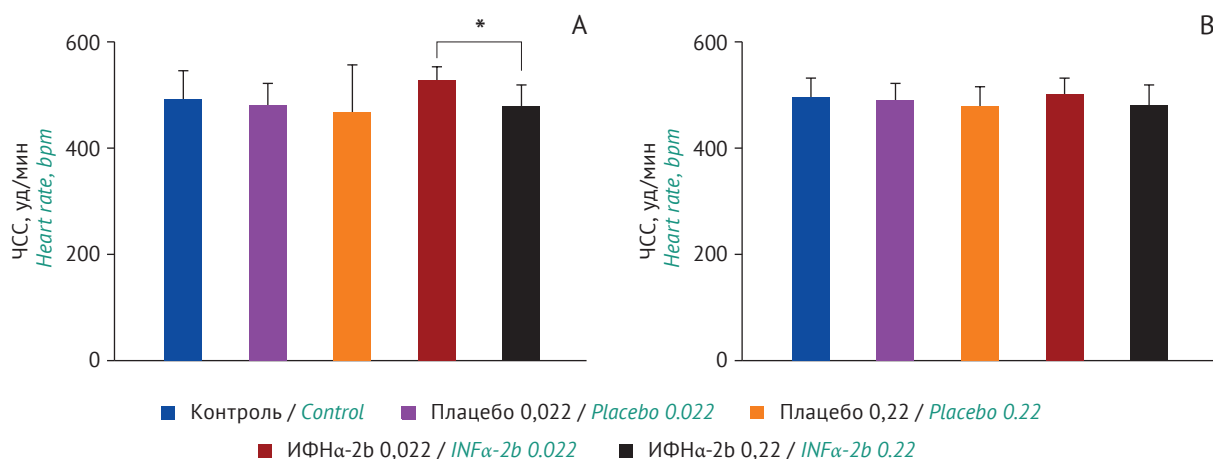


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure was prepared by the authors using their own data

Рис. 2. Изучение частоты сердечных сокращений (ЧСС) крыс на 4 неделе ежедневного введения лекарственного препарата на основе интерферона альфа-2b: А – самки, В – самцы. Плацебо 0,022 и Плацебо 0,22 – группы животных, получавших 0,022 и 0,22 мл/крыса/сут плацебо ингаляционно ежедневно в течение 28 сут соответственно; ИФН α -2b 0,022 и ИФН α -2b 0,22 – группы животных, получавших ингаляционно 0,022 и 0,22 мл/крыса/сут лекарственного препарата на основе интерферона альфа-2b ежедневно в течение 28 сут соответственно; контроль – группа животных, получавших ингаляционно 0,22 мл/крыса/сут физиологического раствора ежедневно в течение 28 сут. * – достоверное различие ($p < 0,05$, дисперсионный анализ с попарным сравнением с использованием теста Тьюки).

Fig. 2. Study of the heart rate of rats at Week 4 of daily administration of the interferon alpha-2b-based drug: A, female rats; B, male rats. Placebo 0.022 and Placebo 0.22 are groups of animals receiving 0.022 and 0.22 mL/rat/day placebo by inhalation daily for 28 days, respectively; INF α -2b 0.022 and INF α -2b 0.22, groups of animals receiving 0.022 and 0.22 mL/rat/day interferon alpha-2b-based drug by inhalation daily for 28 days, respectively; the control group consisted of animals receiving 0.22 mL/rat/day saline solution by inhalation daily for 28 days. *, significant difference ($p < 0.05$, one-way ANOVA, Tukey's multiple comparisons test).

в образцах крови крыс в группе Плацебо 0,022 были обнаружены более низкие уровни глюкозы по сравнению с остальными группами; выявлены достоверные различия ($p < 0,05$) показателей с группами Контроль и ИФН α -2b 0,022. Из данных биохимического анализа крови на 4 нед. следует, что уровень билирубина крови самцов в группе Контроль ($6,85 \pm 1,20$ мкмоль/л) достоверно различался с таковым ($5,75 \pm 0,64$ мкмоль/л) в группе Плацебо 0,22. Не обнаружено достоверных различий уровней билирубина крови самцов в группе Контроль и животных, получавших ЛП (рис. S3, опубликован на сайте журнала¹¹).

Концентрация мочевины в крови самок крыс, получавших исследуемый ЛП, была выше, чем у животных, получавших плацебо. Разница концентрации мочевины в группах с введением ЛП животным в дозе 0,022 и 0,22 мл/крыса/сут была выше на 30 и 14% к уровню показателя в группах Плацебо соответственно. При этом концентрация мочевины в крови животных в группе ИФН α -2b 0,22 была на 12% ниже ($p < 0,05$), чем в группе ИФН α -2b 0,022. Дозозависимость эффекта не наблюдалась. Достоверные различия между животными, которые получали ЛП,

и животными в группе Контроль отсутствовали. В крови самок крыс, получавших плацебо, концентрация мочевины была снижена ($p < 0,05$). Значения концентрации этого показателя в крови самцов крыс в разных группах не различались (рис. S3, опубликован на сайте журнала¹²). Таким образом, введение ЛП не приводило к значительным патологическим изменениям биохимических показателей крови животных.

Патоморфологическая картина внутренних органов животных в разных группах не различалась и соответствовала норме. В редких случаях наблюдались умеренные различия массовых коэффициентов органов (отношение массы органа к массе тела) между группами. Так, относительная масса сердца самок в группе ИФН α -2b 0,022 была ниже, чем в группе Плацебо 0,022, $0,037 \pm 0,003$ и $0,044 \pm 0,001$ г/кг соответственно. Различий между остальными группами, в том числе группой Контроль и группами животных, получавшими большую дозу ЛП, не установлено. Гистологическая картина сердечной мышцы животных во всех группах соответствовала норме: сосуды были умеренно полнокровны; миофибриллы сохраняли поперечную исчерченность; изменений ядер

¹¹ <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-4-448-460-fig-s3>

¹² Там же.

и кардиомиоцитов не выявлено; структура аорты соответствовала норме. Данные различия не повторялись в группах самцов крыс. Относительная масса головного мозга, тимуса, легких, печени, почек, надпочечников, селезенки, семенников и яичников не отличалась у животных в разных группах. Гистологическая картина данных органов, а также поджелудочной и щитовидной желез, кишечника и мочевого пузыря соответствовала норме, различия у животных в разных группах отсутствовали.

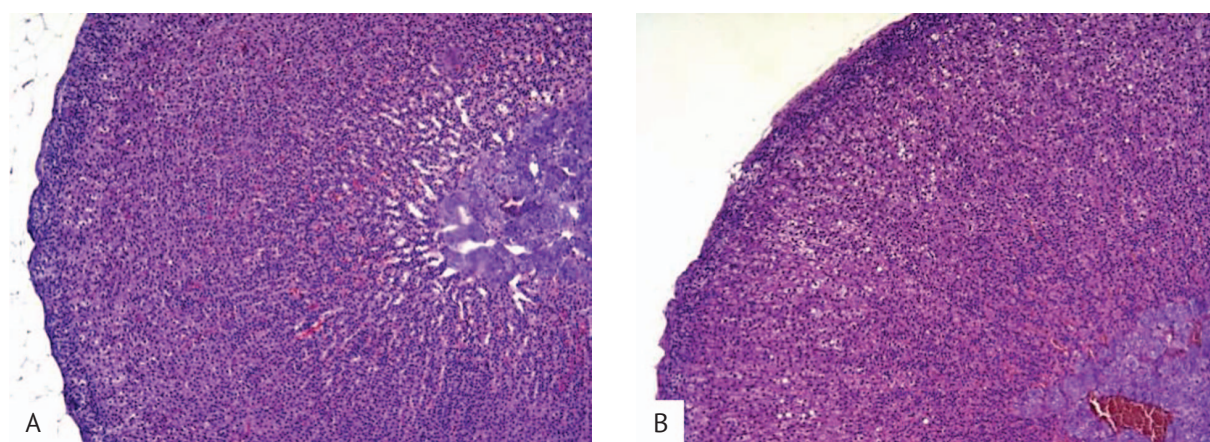
Несмотря на то что сосуды коры и мозгового вещества надпочечников были умеренно полнокровные, а клубочковая, сетчатая и пучковая зоны отчетливо выражены, во всех экспериментальных группах у 1 из 6 самцов крыс наблюдалась умеренная вакуольная дистрофия клеток коры надпочечников (рис. 3).

Для изучения местной переносимости были проведены патоморфологическое и патогистологическое исследования, которые не выявили местно-раздражающего действия ЛП. Слизистая оболочка гортани, трахеи и крупных бронхов была гладкая, блестящая, беловатого цвета. В просвете гортани и трахеи отсутствовало содержимое. Кольца трахеи и хрящи гортани были целостны, эластичны. Легкие были равномерно бледно-розового цвета, умеренно воздушные, эластичные, без уплотнений и новообразований. Эпителий трахеи нормальный, не измененный, ядра четкие. Слизистая оболочка, подслизистая основа и фиброзно-хрящевая оболочка были без изменений. Строение легких соответствовало норме. Кровенаполнение было умеренное, стенки сосудов без изменений. Воздушность

легочной ткани была сохранена. В бронхах отсутствовали признаки склероза. На основании приведенных результатов можно сделать вывод о том, что исследуемый ЛП при многократном ингаляционном введении грызунам не обладает местно-раздражающим действием.

В исследовании токсикокинетики сравнивали аналитические сигналы ИФН α -2b в образцах сыворотки крови животных с минимальными значимыми сигналами градуировочных графиков в соответствующих аналитических циклах (планшеты для ИФА). Анализ полученных данных показал, что сигналы всех испытуемых образцов, взятых в разных временных точках (все группы животных), не являются статистически достоверными. С помощью выборочного контрольного анализа испытуемых образцов сыворотки крови подтверждена правильность результатов первичного контроля образцов. ИФН α -2b в образцах сыворотки крови не определяется методом ИФА, что делает невозможным построение фармакокинетических кривых и расчет фармакокинетических параметров. ИФА считается общепринятым рекомендуемым методом для надежного контроля ИФН α -2b в образцах крови и, как было подтверждено валидацией, характеризуется достаточной чувствительностью. На основе полученных данных можно заключить, что системное действие ЛП при ингаляционном введении животным в изученной дозе отсутствует.

В доступной литературе авторы не обнаружили сведений о доклинических исследованиях интерферон-содержащих ЛП для ингаляций. Однако с началом пандемии COVID-19 китайские



Фотография сделана авторами по собственным данным / The photograph was taken by the authors using their own data

Рис. 3. Надпочечник самца крысы (окраска среза ткани гематоксилином и эозином): А – норма, В – умеренная вакуольная дистрофия клеток коры надпочечников ($\times 100$). Дистрофия наблюдалась у 1 из 6 самцов во всех экспериментальных группах спустя 28 сут приема препарата на основе интерферона альфа-2b.

Fig. 3. Rat adrenal gland (haematoxylin and eosin staining): A, normal; B, moderate vacuole dystrophy of adrenal cortex cells ($\times 100$). Dystrophy was observed in 1 out of 6 males in all experimental groups after 28 days of administration of interferon alpha-2b-based product.

исследователи активно применяли ингаляционное введение интерферона пациентам в инфекционных госпиталях. В работах Q. Zhou с соавт. [14] и R. Jiang с соавт. [15] были изложены результаты исследований безопасности, лечебной и профилактической эффективности разных доз интерферона при лечении легких и среднетяжелых форм COVID-19. В марте 2020 г. Национальной комиссией здравоохранения (National Health Commission) и Национальным управлением традиционной китайской медицины (National State Administration of Traditional Chinese Medicine) был введен в действие «Протокол диагностики и лечения коронавирусной пневмонии»¹³, в соответствии с которым в госпиталях может применяться ингаляционное введение ИФН α -2b для лечения пациентов с COVID-19.

Учитывая опыт авторов в создании препаратов на основе интерферонов в форме спреев и аэрозолей, был разработан ЛП для ингаляций и начат полный цикл доклинических и клинических исследований. Исходя из данных доклинических исследований Министерство здравоохранения Российской Федерации выдало разрешение № 456 от 23.08.2022 на проведение клинического исследования ЛП (фаза I) на здоровых добровольцах.

ВЫВОДЫ

1. Ингаляционное введение лекарственного препарата (ЛП) эффективно в лечении гриппозной

пневмонии у мышей, что следует из достоверного ингибирования размножения вируса в ткани легких животных на 4 сут после инфицирования ($2 \times \log_{10}$ ТЦИД₅₀/0,1мл), увеличения средней продолжительности жизни в 1,35–1,5 раза, снижения потери веса животных, защиты от смертности 40% животных.

- Анализ данных токсикологических исследований показывает, что применение 10 000 000 МЕ/мл ЛП в максимальной суточной дозе не оказывает выраженного токсического и местно-раздражающего действия у крыс при ежедневном введении ЛП в течение 4 нед. Используемая доза в 53 раза превышала максимальную рекомендуемую терапевтическую дозу для человека.
- Анализ данных, собранных в ходе токсикологических исследований (в том числе биохимический и гематологический анализ крови, физиологические исследования) на животных через 2 нед. после последнего введения ЛП, указал на отсутствие каких-либо патологических изменений, связанных с введением ЛП.
- По данным иммуноферментного анализа, в образцах крови крыс, взятых после ингаляционного введения ЛП в дозах 0,022 и 0,22 мл/крыса/сут или плацебо или физиологического раствора, не выявлен ИФН α -2b. Это указывает на отсутствие системного действия ЛП в дозах до 8 809 520 МЕ/кг/сут, которые превышают в 53 раза терапевтическую дозу для человека.

Литература/References

- Gattarello S, Rello J. Severe viral pneumonia in adults: what is important for the ICU physician? *Hosp Pract.* 2017;45(4):131–4. <https://doi.org/10.1080/21548331.2017.1345280>
- Yun KW, Wallihan R, Juergensen A, et al. Community-acquired pneumonia in children: Myths and facts. *Am J Perinatol.* 2019;36(S 02):S54–7. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1691801>
- Wang Z, Ma W, Zheng X, et al. Household transmission of SARS-CoV-2. *J Infect.* 2020;81(1):179–82. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.040>
- Li XG, Chen J, Wang W, et al. Oseltamivir treatment for influenza during the flu season of 2018–2019: A longitudinal study. *Front Microbiol.* 2022;13:865001. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.865001>
- Hu X, Li J, Fu M, et al. The JAK/STAT signaling pathway: from bench to clinic. *Signal Transduct Target Ther.* 2021;6(1):402. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00791-1>
- Haque SJ, Williams BR. Identification and characterization of an interferon (IFN)-stimulated response element-IFN-stimulated gene factor 3-independent signaling pathway for IFN- α . *J Biol Chem.* 1994;269(30):19523–9. PMID: 8034722
- Smart A, Gilmer O, Caliskan N. Translation inhibition mediated by interferon-stimulated genes during viral infections. *Viruses.* 2024;16(7):1097. <https://doi.org/10.3390/v16071097>
- Fu B, Wang D, Shen X, et al. Immunomodulation induced during interferon- α therapy impairs the anti-HBV immune response through CD24⁺CD38^{hi} B cells. *Front Immunol.* 2020;11:591269. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.591269>
- Schuhenn J, Meister TL, Todt D, et al. Differential interferon- α subtype induced immune signatures are associated with suppression of SARS-CoV-2 infection. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2022;119(8):e2111600119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2111600119>
- Mulder K, Patel AA, Kong WT, et al. Cross-tissue single-cell landscape of human monocytes and macrophages in health and disease. *Immunity.* 2021;54(8):1883–900.e5. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.07.007>
- Brice D, Figgins E, Yu F, et al. Type I interferon and interferon-stimulated gene expression in oral epithelial cells. *Mol Oral Microbiol.* 2019;34(6):245–53. <https://doi.org/10.1111/omi.12270>
- Ленева ИА, Леонова ЕИ, Махмудова НР и др. Разработка экспериментальной модели сочетанной вирусно-бактериальной пневмонии. *Вопросы вирусологии.* 2015; 60(5):27–31. Leneva IA, Leonova EI, Makhmudova NR, et al.

¹³ http://www.kankyokansen.org/uploads/uploads/files/jsipc/protocol_V7.pdf

- Experimental model of secondary bacterial pneumonia after influenza. *Problems of Virology*. 2015;60(5):27–31 (In Russ.). EDN: UKSIAN
13. Motulsky HJ, Brown RE. Detecting outliers when fitting data with nonlinear regression – a new method based on robust nonlinear regression and the false discovery rate. *BMC Bioinformatics*. 2006;7:123. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-7-123>
14. Zhou Q, Chen V, Shannon CP, et al. Interferon- α 2b Treatment for COVID-19. *Front Immunol*. 2020;11:1061. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01061>
15. Jiang R, Han B, Song M, et al. Efficacy and safety of aerosol inhalation of recombinant human interferon α 1b (IFN α 1b) injection for noninfluenza viral pneumonia, a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Inflamm*. 2020;17:19. <https://doi.org/10.1186/s12950-020-00249-1>

Дополнительная информация. На сайте журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение» размещены *таблица S1 и рисунки S1–S3*.

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-4-448-460-table-s1>

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-4-448-460-fig-s1>

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-4-448-460-fig-s2>

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-4-448-460-fig-s3>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **Н.В. Панькова** – концепция работы, написание текста рукописи, статистическая обработка, утверждение окончательной версии рукописи для публикации; **И.А. Ленёва, И.Н. Фалынская, А.В. Иванина** – проведение эксперимента по изучению эффективности препарата; **Е.С. Коровкина** – редактирование текста рукописи, построение графиков, статистическая обработка данных, участие в формулировании выводов; **О.Э. Хуттунен, А.С. Кирьянова** – проведение эксперимента по изучению токсичности; **С.В. Шереметьев, Д.В. Лоншаков** – проведение токсикокинетического исследования.

Соответствие принципам этики. Исследование было одобрено на заседании комиссии по биоэтике ООО «ФАРМАКОГЕН», протокол заседания № 5/20 от 13.04.2020.

Additional information. *Table S1 and Figures S1–S3* are published on the website of *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*.

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-4-448-460-table-s1>

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-4-448-460-fig-s1>

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-4-448-460-fig-s2>

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-4-448-460-fig-s3>

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **N.V. Pankova** conceptualised, drafted and performed the statistical analysis, and approved of the final version of the manuscript for publication. **I.A. Leneva, I.N. Falynskova, A.V. Ivanina** conducted the experiments to study effectiveness. **E.S. Korovkina** edited the manuscript, performed plotting and statistical analysis, and formulated the conclusions. **O.E. Khuttunen, A.S. Kiryanova** conducted the experiments to study toxicity. **S.V. Sheremetyev, D.V. Lonshakov** performed a toxicokinetic research.

Ethics approval. The Bioethics Committee at OOO PHARMACOGEN approved the study under meeting minutes No. 5/20 of 13 April 2020.

Об авторах / Authors

Панькова Надежда Владимировна, канд. биол. наук / **Nadezda V. Pankova**, Ph.D. in Biology
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7474-3665>

Ленёва Ирина Анатольевна, д-р биол. наук, проф. / **Irina A. Leneva**, Dr. Sci. (Biol.), Prof.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7755-2714>

Фалынская Ирина Николаевна / **Irina N. Falynskova**
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9836-9620>

Иванина Анна Валерьевна, канд. биол. наук / **Anna V. Ivanina**, Cand. Sci. (Biol.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7289-693X>

Коровкина Елена Сергеевна, канд. мед. наук / **Elena S. Korovkina**, Cand. Sci. (Med.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8896-5808>

Хуттунен Ольга Эрнестовна / **Olga E. Khuttunen**
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0355-9438>

Кирьянова Анна Сергеевна / **Anna S. Kiryanova**
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0763-2735>

Шереметьев Сергей Викторович, канд. хим. наук / **Sergey V. Sheremetyev**, Cand. Sci. (Chem.)
ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-1065-0758>

Лоншаков Дмитрий Владимирович, канд. хим. наук / **Dmitry V. Lonshakov**, Cand. Sci. (Chem.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1866-760X>

Поступила 26.08.2024

После доработки 20.09.2025

Принята к публикации 12.12.2025

Received 26 August 2024

Revised 20 September 2025

Accepted 12 December 2025