

# Результаты доклинических исследований по оценке влияния препарата Риамилловир на репродуктивную функцию и постнатальное развитие потомства у лабораторных животных

\*А. У. САБИТОВ, Л. П. ЛАРИОНОВ, М. Н. ДОБРИНСКАЯ, О. В. ЛЕДЯНКИНА, А. В. ОСИПЕНКО, И. Е. ВАЛАМИНА, Е. В. ФИЛИППОВА, И. М. ФАТИХОВ

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург, Россия

## The Results of Preclinical Studies Assessing the Effect of Riamilovir on the Reproductive Function and Postnatal Growth of Offspring in Laboratory Animals

\*ALEBAY U. SABITOV, LEONID P. LARIONOV, MARIA N. DOBRINSKAYA, OLGA V. LEDYANKINA, ARTUR V. OSIPENKO, IRENE E. VALAMINA, ELENA V. FILIPPOVA, ILSUR M. FATIKHOV

Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia

### Резюме

В работе представлены результаты расширенных доклинических исследований, показавшие безопасность для организма неполовозрелых белых крыс применения противовирусного препарата прямого действия Риамилловир. Препарат не проявил токсического действия на развитие животных, их фертильность, поведение, на гематологические и биохимические параметры и морфологию висцеральных органов при курсовом применении. По результатам проведенных исследований, препарат Риамилловир может быть рекомендован для организации многоцентровых клинических исследований у подростков и детей младших возрастных групп.

**Ключевые слова:** доклинические исследования; безопасность; лабораторные, неполовозрелые животные; Риамилловир

**Для цитирования:** Сабитов А. У., Ларионов Л. П., Добринская М. Н., Ледянкина О. В., Осипенко А. В., Валамина И. Е., Филиппова Е. В., Фатихов И. М. Результаты доклинических исследований по оценке влияния препарата Риамилловир на репродуктивную функцию и постнатальное развитие потомства у лабораторных животных. *Антибиотики и химиотерапия*. 2023; 68 (5–6): 24–32. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-5-6-24-32>.

### Abstract

The paper presents the results of extended preclinical studies demonstrating the safety using the direct-acting antiviral drug Riamilovir in immature white rats. Riamilovir did not show any toxic effects on the growth of animals, their fertility, behavior, hematological and biochemical parameters, as well as morphology of visceral organs when used in a course. According to the results of the studies, Riamilovir can be recommended for multicenter clinical trials in adolescents and children of younger age groups.

**Keywords:** preclinical studies; safety; immature laboratory animals; Riamilovir

**For citation:** Sabitov A. U., Larionov L. P., Dobrinskaya M. N., Ledyankina O. V., Osipenko A. V., Valamina I. E., Filippova E. V., Fatikhov I. M. The results of preclinical studies assessing the effect of riamilovir on the reproductive function and postnatal growth of offspring in laboratory animals. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2023; 68 (5–6): 24–32. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-5-6-24-32>. (in Russian)

### Введение

Двадцать первый век — это век новых и возвращающихся вирусных инфекционных заболеваний. В структуре первичных заболеваний бесспорными лидерами на протяжении десятилетий остаются острые респираторные вирусные инфек-

ции, в т. ч. грипп, а последние 3 года — новая коронавирусная инфекция. Проблема эффективности этиотропной противовирусной терапии сохраняет свою актуальность, в том числе, благодаря изменчивости вирусов и формированию лекарственной резистентности. В действующих редакциях

© Коллектив авторов, 2023

\*Адрес для корреспонденции: ул. Репина, д. 3, УГМУ, г. Екатеринбург, Россия, 620028. E-mail: postdiplom@usma.ru

© Team of Authors, 2023

\*Correspondence to: 3 Repina st., Ural State Medical University, Yekaterinburg, 620028 Russia. E-mail: postdiplom@usma.ru

клинических рекомендаций Минздрава России по лечению гриппа (2022 г.) и ОРВИ (2021 г.) в качестве препаратов с прямым противовирусным действием для лечения взрослых пациентов указаны: осельтамивир, занамивир, балоксавир, риамилловир, энисамия йодид, умифеновир [1, 2]. Для терапии детей Минздрав России из вышеназванных противовирусных препаратов рекомендует только осельтамивир и занамивир [3], однако эти препараты действуют только в отношении вирусов гриппа. Таким образом, в педиатрической практике существенно ограничен спектр противовирусных препаратов, особенно в части этиотропных препаратов широкого спектра действия. Также актуальной является проблема этиотропной противовирусной терапии больных при гриппе и ОРВИ не только у детей, но и беременных женщин.

Противовирусный препарат из семейства азолоазин Риамиловир в ранее проведенных многоцентровых рандомизированных двойных слепых клинических исследованиях продемонстрировал высокий профиль безопасности и эффективности в лечении взрослых пациентов с диагнозом грипп, ОРВИ, COVID-19 [4–15]. Весьма перспективными могут быть клинические исследования, направленные на снижение возрастных ограничений препарата Риамиловир, расширение области применения в педиатрии, у беременных и кормящих. Однако это будет возможным только в случае подтверждения безопасности препарата Риамиловир на уровне доклинических испытаний на моделях лабораторных животных при отсутствии признаков острой и хронической токсичности, отсутствия признаков влияния на репродуктивную сферу, вынашивание, рождение и развитие в постнатальном периоде.

Цель исследования — в экспериментальных условиях оценить возможную курсовую токсичность применения Риамиловира в отношении репродуктивной функции половозрелых крыс и развития неполовозрелых особей.

**Дизайн эксперимента.** Расширенные исследования проводили в 4 этапа, а именно:

1-й этап — оценка субхронической токсичности 50% раствора Риамиловира при 30-дневном внутрижелудочном его введении 20 половозрелым крысам обоего пола.

2-й этап — оценка курсовой токсичности Риамиловира у половозрелых крыс на репродуктивность, при этом 40 самок поделены на 4 группы: первая — 10 интактных самок были оплодотворены интактными самцами — контрольная группа; вторая — 10 самок оплодотворены самцами, не получавшими Риамиловир, но эти самки во время беременности получили 10-дневный курс внутрижелудочного введения Риамиловира;

третья — 10 самок, не получавшие Риамиловир, но были оплодотворены самцами, получившими 10-дневный курс препарата; четвертая — (по 10 особей) самцы перед случением и самки во время беременности получили 10-дневный курс препарата.

3-й этап — оценка курсовой токсичности Риамиловира у неполовозрелых крысят (120 особей) в возрасте 35–50 дней от момента рождения.

4-й этап — оценка местного раздражающего и сенсибилизирующего действия у кроликов породы Шиншилла (8 особей).

## Материал и методы

Доклинические исследования выполняли согласно правилам, установленным Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств (2005; 2013 гг.), Федеральным законом от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств», приказом Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. № 708н г «Правила лабораторной практики» и в соответствии с правилами Европейской Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (ETS № 123), Strasbourg, 1986).

Лабораторные животные находились в контролируемых условиях окружающей среды: температура воздуха 20–22°C, относительная влажность 60–70%, освещение в помещениях естественно-искусственное. В эксперимент брали лабораторных животных, которые содержались на стандартной диете для указанных особей (ГОСТ Р 50258-92). В перечень регистрируемых показателей входили: оценка общего физиологического состояния половозрелых и неполовозрелых крыс, масса их тела, этологическое состояние (ориентировочно-исследовательские реакции), содержание форменных элементов периферической крови, биохимических показателей крови, оценка гисто-морфологии тканей висцеральных органов (печень, почки, селезенка, миокард).

Проведение исследования было одобрено решением Локального этического комитета при ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, протокол № 10 от 19.12.2022 г.

Выполнение первого этапа исследований вначале было осуществлено на половозрелых крысах обоего пола популяции линии Wistar массой 185±15 г с применением Риамиловира в дозе ½ от ЛД<sub>50</sub> — 8019±393 мг/кг (для самцов), 7932±399 мг/кг (для самок) при его ежедневном внутрижелудочном (в/ж) 30-дневном введении. Эта высокая доза была определена, чтобы в эксперименте можно было бы выявить опасность влияния изучаемого препарата на данный вид половозрелых животных. Препарат вводили в желудок через атравматический зонд в виде раствора 50% концентрации в объемах: для самцов — 8,02 мл/кг; для самок — 7,93 мл/кг. Данная относительная доза в дальнейшем была применена неполовозрелым особям.

Для выполнения второго этапа исследований были также использованы половозрелые крысы популяции линии Wistar массой 185±15 г.

После получения поколения крысят и курсового применения препарата Риамиловир у них через 35–50 дней (неполовозрелый возраст) были изучены следующие показатели: масса тела, ориентировочно-исследовательские реакции, содержание форменных элементов периферической крови и биохимические показатели крови, гисто-морфология интегральных висцеральных органов (печень, почки, селезенка, сердце).

Третий этап исследования выполнен после получения от беременных крыс (через 17–22 дней беременности) помёта, соответствующего по количеству 7–11 крысятам. После чего исследования влияния Риамиловира были проведены на неполовозрелых (инфантильных) особях в возрасте 35–50 дней со средней массой  $90 \pm 13$  г. В начале изучали этологическое состояние крысят при использовании методики «Открытое поле», позволявшей оценить их поведенческие реакции. «Открытое поле» представляет собой квадратную площадку, на которой распределено 25 равных квадратов, в центре их отверстия («норки» диаметром 20 мм) и дополнительным выделением центральной зоны поля. Освещённость — 90 Лк. Тестируемое животное подсаживали под затемнённый колпак в центре площадки на 15 секунд для седации особи. После указанных секунд убирали колпак и регистрировали поведение особи в течение 3 мин наблюдения. В указанный 3-минутный период времени регистрировали следующие показатели: число пересечённых квадратов (горизонтальная двигательная активность — К-во кв.), число вставаний на задние лапы (вертикальная двигательная активность — К-во вст.), число заглядываний в отверстия квадратов поля — «норки» к-во (ориентировочно-исследовательская активность), груминг (количество приёмов чистки — К-во пр.). Весь цикл данного исследования осуществляли до и после внутривентрикулярного введения 50% раствора Риамиловира (через зонд) в ранее указанных дозах (объёмах). Забор периферической крови осуществляли из полостей сердца на фоне эфирного наркоза особей, и при этом же наркозе изымали висцеральные органы (печень, почки, селезёнку, сердце) для гисто-морфологического исследования. Указанные органы фиксировали в 10% нейтральном формалине, заливали в парафин с помощью заливочной станции Microm EC 350. При приготовлении гистологических срезов использовали микротом Leica RM 2245. Гистологические срезы окрашивались гематоксилин-эозином и пикрофуксином, почки окрашивали дополнительно реактивом Шиффа [16].

Изучение микропрепаратов проводили с помощью светового микроскопа Olympus CX41 при увеличении  $\times 50$ ,  $\times 100$ ,  $\times 200$ ,  $\times 400$ . Для документирования морфологических изменений проводили микрофото съёмку с помощью камеры Canon, вмонтированной в микроскоп.

Статистическую обработку результатов проводили на базе пакета стандартных программ Windows (Excel) и Statistica 10.0. Условия нормальности распределения проверялись по критерию Колмогорова–Смирнова, равенство дисперсий по критерию Фишера. При статистическом анализе использовались критерии Манна–Уитни, Уилкоксона, Фридмана. Результаты считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Дополнительную статистическую обработку полученных результатов по влиянию препарата осуществляли с помощью простого сравнения средних по *t*-критерию Стьюдента.

## Результаты и обсуждение

По результатам проведённых исследований массометрии интактной группы половозрелых крыс (10 особей) и опытных по выявлению воз-

можной токсичности  $\frac{1}{2}$  дозы от  $LD_{50}$  Риамиловира, введённого в желудок 20 особям в виде 50% раствора, в ранее указанных объёмах (мл/кг), — в процессе регистрации их массы тела при 30-дневном применении изучаемого препарата, были получены следующие показатели (табл. 1).

Результаты массометрии животных в течение 30 дней показали, что их масса тела равномерно увеличивалась на протяжении всего срока исследования как в интактной, так и в опытных группах. Каких либо различий, связанных с применением изучаемых доз препарата, не выявлено, что нам позволило приступить к изучению влияния препарата на репродуктивную способность, а затем на неполовозрелые особи при курсовом (10-дневном) в/ж его введении.

Продолжительность беременности у самок в контрольной и опытных группах была одинаковой с колебаниями от 17 до 22 дней. Число крысят в помёте колебалось в пределах 7–11 особей. Таким образом, 10-дневный курс Риамиловира не повлиял на репродуктивную способность животных. Масса крысят при достижении ими 35–50-дневного возраста в исследуемых группах и её динамика на фоне 10-дневного введения этого препарата представлены в табл. 2.

Таким образом, результаты массометрии неполовозрелых животных различных групп после курсового введения им препарата Риамиловир показали, что их масса тела не отличалась от массы неполовозрелых крысят интактных особей. Каких-либо различий, связанных с применением изучаемых доз препарата Риамиловир, не выявлено.

В проведённом исследовании была использована методика «Открытое поле». Эксперимент проведён на 70 неполовозрелых крысах обоего пола возрастом 40–50 дней, массой 80–115 г, которые были распределены на две группы: 10 крысят интактных и 60 из экспериментальных (опытных) трёх групп. Этологическое исследование вначале было проведено до применения препарата (как исходные показатели ориентировочно-исследовательских реакций особей) и далее (второй этап исследования) после курсового применения препарата Риамиловир. Индивидуальные показатели крысят трёх поколений были объединены, т. к. активность каждой особи в отдельности в «откры-

**Таблица 1.** Влияние Риамиловира на массу тела белых крыс (г,  $M \pm m$ )  
**Table 1.** The effect of Riamilovir on body weight of white rats (g,  $M \pm m$ )

Сроки исследования (дни)	Экспериментальные группы					
	интактные		50% раствор, 8,02 мл/кг		50% раствор — удвоенный объём	
	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки
До введения	177±6,3	168±4,0	181±4,0	179±5,0	186±5,0	179±4,5
11-й день	210±6,0	200±8,5	214±6,0	211±5,2	214±8,0	208±6,4
30-й день	221±5,0	219±6,4	224±6,1	219±8,0	220±6,5	213±5,8

**Таблица 2. Влияние Риамиловира на массу тела неполовозрелых крыс ( $n=30$ ,  $M\pm m$ )**  
**Table 2. The effect of Riamilovir on body weight of immature rats ( $n=30$ ,  $M\pm m$ )**

Сроки исследования (дни)	Экспериментальные группы					
	интактные		интактные		интактные	
	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки
До введения	77±6,3	68±4,0	81±4,0	79±5,0	86±5,0	79±4,5
11-й день эксперимента	84±6,0	79±5,5	88±6,0	83±5,2	89±8,0	84±6,4
<b>Группа крысят, полученная от самок на фоне курсового применения препарата</b>						
	интактные		50% раствор, 8,02 мл/кг		50% раствор — удвоенный объём	
До введения	69±5,5	70±5,0	84±5,0	80±7,0	80±6,0	73±5,
11-й день на фоне препарата	79±4,0	68±5,5	81±6,5	80±5,5	75±6,0	74±4,4
<b>Группа крысят, полученная от самок, оплодотворённых самцами после курсового применения препарата</b>						
До введения	81±7,3	66±3,2	71±5,0	73±3,5	79±6,0	73±4,0
11-й день на фоне препарата	85±6,5	77±5,0	83±6,5	77±3,5	80±7,0	76±5,0
<b>Группа крысят, полученная от самок и самцов, получавших курсовую дозу препарата</b>						
До введения	77±5,3	71±4,2	73±6,0	78±4,5	79±6,5	69±3,0
11-й день на фоне препарата	80±7,0	69±5,0	85±6,0	80±5,5	83±5,0	79±5,7

**Таблица 3. Показатели ориентировочно-исследовательских реакций в методике «открытое поле» ( $n=70$  крысят,  $M\pm m$ )**

**Table 3. Indicators of orientation-exploratory reactions in the open field test ( $n=70$  young rats,  $M\pm m$ )**

Группы	Уход с центрального круга, с	Количество квадратов, ед.	Вставание, ед.	«Норки», ед.	Груминг, количество приёмов
Интактные	8,8±0,99	80,0±3,63	18,8±1,1	9,4±0,33	7,2±1,1
Опытные	10,66±0,66	75,0±2,57	23,0±2,3	8,6±0,57	9,0±2,4

том поле» мало чем отличалась. Результаты исследований представлены в табл. 3.

Полученные данные свидетельствуют о том, что опытные крысята на фоне введённого им препарата Риамиловир по поведенческим реакциям не отличались от крысят контрольной (интактной) группы. Кроме того, при внешнем осмотре крысята были правильного телосложения с нормально физиологической упитанностью. Шерстный покров опытных животных был блестящим, имел опрятный вид. В дальнейшем развитие крысят от самок опытных групп происходило равномерно с крысятами от самок контрольной группы.

Таким образом, результаты исследований подострой (курсовой) токсичности препарата Риамиловир при внутрижелудочном введении один раз в сутки в течение 10 дней у крысят обоих полов показали, что исследуемый препарат в указанной дозе не изменяет спонтанную двигательную активность этих особей. И полученные результаты, соответственно, свидетельствуют об отсутствии токсичности, что весьма важно при последующем проведении клинических испытаний препарата Риамиловир.

Для дополнительного подтверждения безопасности применения Риамиловира на неполовозрелых животных была проведена оценка форменных элементов периферической крови и отдельных показателей её биохимического состава. Кровь брали из полостей сердца крысят на фоне эфирного наркоза. Результаты представлены как среднее арифметическое±среднеквадратичное отклонение (табл. 4, 5).

Таким образом, не выявлено статистически значимых различий в результатах гематологических и биохимических показателей периферической крови при сравнении опытных групп с контролем, что свидетельствует о безопасности применения препарата Риамиловир в условиях эксперимента на крысах, что предоставляет возможность продолжить изучение его действия на другом виде лабораторных животных.

#### **Оценка местнораздражающего действия**

Согласно руководящим документам по доклиническим исследованиям, необходимо изучить возможное местное раздражающее действие фармакологически активных веществ на лабораторных животных. Данный эксперимент проводили на 8 неполовозрелых крольчатах породы Шиншилла обоего пола (массой 0,95±0,2 кг, возраст 75–95 дней) по четыре особи в каждой группе. Риамиловир использовали в виде 10% и 50% раствора, приготовленного в воде для инъекций. В конъюнктивальный мешок глаза кролика в объёме 0,1 мл раствора вносили 2 раза с интервалом 30 секунд. Степень местнораздражающего действия изучаемого препарата (средние данные 10 исследований) оценивали по четырёхбалльной шкале через 1, 10, 20, 60 мин, 3 ч и 24 ч после их внесения в конъюнктивальный мешок глаза кролика, где 0 баллов означало полное отсутствие проявлений раздражающего действия, 1 балл — слабо выраженная инъекция сосудов конъюнктивы и увеличение капилляров склеры, 2 балла — начальные признаки воспалительной реакции конъюнктивы, сильное покрас-

**Таблица 4. Гематологические показатели у крысят**  
**Table 4. Hematological parameters in young rats**

Показатель	Контроль/опыт	Группа 1	Группа 2	Группа 3
СОЭ мм/ч	Контроль	0,60±0,55	0,80±0,45	0,60±0,55
	Опыт	0,80±0,45	0,60±0,55	1,00±0,00
<i>p</i> , тест Манна–Уитни		0,690	0,690	0,310
Нб, г/л	Контроль	117,4±9,86	132,0±7,31	128,4±3,91
	Опыт	126,0±8,75	127,2±7,29	128,0±3,24
<i>p</i> , тест Манна–Уитни		0,151	0,310	0,841
Эритроциты, ×10 <sup>12</sup> /л	Контроль	5,62±0,78	6,32±0,45	5,70±0,45
	Опыт	6,15±0,39	6,03±0,39	6,10±0,94
<i>p</i> , тест Манна–Уитни		0,222	0,222	0,690
Лейкоциты, ×10 <sup>9</sup> /л	Контроль	4,60±0,86	4,72±0,48	4,36±0,59
	Опыт	3,86±0,32	4,30±0,60	3,84±0,22
<i>p</i> , тест Манна–Уитни		0,222	0,222	0,151
Эозинофилы, %	Контроль	0,052±0,031	0,037±0,039	0,057±0,037
	Опыт	0,054±0,047	0,034±0,039	0,024±0,022
<i>p</i> , тест Манна–Уитни		0,690	0,841	0,095
Базофилы, %	Контроль	0,000±0,000	0,000±0,000	0,010±0,022
	Опыт	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000
<i>p</i> , тест Манна–Уитни				0,690
Палочкоядерные нейтрофилы, %	Контроль	0,018±0,040	0,170±0,060	0,082±0,059
	Опыт	0,008±0,019	0,155±0,028	0,054±0,023
<i>p</i> , тест Манна–Уитни		1,000	0,905	0,310
Сегментоядерные нейтрофилы, %	Контроль	1,002±0,125	0,972±0,256	1,008±0,154
	Опыт	0,851±0,170	1,012±0,380	1,047±0,177
<i>p</i> , тест Манна–Уитни		0,421	0,730	1,000
Лимфоциты, %	Контроль	3,228±0,669	3,236±0,236	2,731±0,430
	Опыт	2,620±0,288	2,730±0,360	1,969±1,014
<i>p</i> , тест Манна–Уитни		0,095	0,063	0,095
Моноциты, %	Контроль	0,275±0,137	0,302±0,063	0,316±0,088
	Опыт	0,238±0,052	0,193±0,075	0,236±0,037
<i>p</i> , тест Манна–Уитни		0,841	0,111	0,151



**Рис. 1. Глаза кролика после введения препарата Риамилловир.**

**Примечание.** Слизистая глаза кролика на фоне 10% (левый) и 50% (правый) концентрации раствора препарата свидетельствует об отсутствии его раздражающего эффекта. Однако на фоне 50% концентрации проявилось незначительное полнокровие сосудов, которое сохранялось не более 5 мин.

**Fig. 1. Eyes of a rabbit after the administration of Riamilovir.**

**Note.** The mucosa of the eye of a rabbit against the background of 10% (left) and 50% (right) concentration of the drug solution indicates the absence of its irritating effect. However, against the background of 50% concentration, a slight vascular congestion appeared, which lasted no more than 5 minutes.

нение, слезотечение и выделение секрета, 3 балла — сильно выраженные воспалительные явления и повреждение поверхностных клеточных слоев роговицы при отсутствии необрати-



**Рис. 2. Состояние кожи на 28-е сутки (левый бок — разрешающий, правый — на фоне аппликации раствора Риамилловир.**

**Fig. 2. Skin condition on the 28<sup>th</sup> day (left side — resolving, right side — against the background of the application of the Riamilovir solution.**

мых изменений, 4 балла — хемоз, резко выраженное раздражение и воспалительная реакция с образованием пустул, возникновением необратимых изменений в виде рубцов, помутнение роговицы, слепота (табл. 6).

При однократном первоначальном внесении раствора зарегистрировано проявление моргания век, которое через 10–20 с прекращалось (рис. 1).

Для оценки кожного раздражающего и сенсибилизирующего действия препарата Риамилловир

**Таблица 5. Биохимические показатели у крысят**  
**Table 5. Biochemical parameters in young rats**

Показатель	Контроль/опыт	Группа 1	Группа 2	Группа 3
Общий белок, г/л	Контроль	65,8±4,1	70,4±5,1	66,4±1,3
	Опыт	66,0±1,9	65,4±4,2	65,8±3,7
<i>p</i> , тест Манна–Уитни		1,000	0,222	0,690
Глюкоза, г/л	Контроль	5,3±1,0	7,4±1,1	6,2±0,9
	Опыт	6,6±0,7	6,2±1,0	7,1±1,0
<i>p</i> , тест Манна–Уитни		0,095	0,095	0,151
Мочевина, ммоль/л	Контроль	5,0±0,7	6,5±0,9	5,5±0,4
	Опыт	5,8±0,6	6,1±0,9	5,9±0,5
<i>p</i> , тест Манна–Уитни		0,151	0,421	0,690
Билирубин, ммоль/л	Контроль	2,0±0,6	2,0±0,4	2,3±0,8
	Опыт	1,9±0,5	1,8±0,6	2,0±1,3
<i>p</i> , тест Манна–Уитни		0,548	0,690	0,548
Холестерин, ммоль/л	Контроль	1,7±0,4	1,2±0,5	1,8±0,3
	Опыт	1,6±0,2	1,8±0,3	1,5±0,4
<i>p</i> , тест Манна–Уитни		0,548	0,151	0,421
АЛТ, Ед/л	Контроль	103,2±7,5	96,0±24,1	105,4±7,3
	Опыт	111,8±7,7	108,8±13,0	109,2±7,0
<i>p</i> , тест Манна–Уитни		0,095	0,222	0,548
АсТ, Ед/л	Контроль	154,0±22,0	238,2±109,6	162,0±22,7
	Опыт	162,4±23,6	187,4±70,6	172,6±32,8
<i>p</i> , тест Манна–Уитни		0,421	0,690	0,421
Лактатдегидрогеназа, Ед/л	Контроль	423,8±53,0	478,4±96,6	473,8±97,9
	Опыт	480,6±103,4	458,0±78,3	432,8±55,5
<i>p</i> , тест Манна–Уитни		0,421	0,690	0,690
Щелочная фосфатаза, Ед/л	Контроль	252,2±81,6	374,2±120,6	171,0±75,2
	Опыт	318,4±90,7	376,8±99,1	161,2±58,4
<i>p</i> , тест Манна–Уитни		0,310	0,841	1,000
С-реактивный белок, г/л	Контроль	0,3±0,1	0,2±0,1	0,1±0,1
	Опыт	0,1±0,1	0,2±0,2	0,1±0,0
<i>p</i> , тест Манна–Уитни		0,095	0,548	0,222

**Таблица 6. Результаты оценки местнораздражающего влияния сравниваемых концентраций препарата Риамиловир**  
**Table 6. Results of assessing the local irritating effect of the compared concentrations of Riamilovir**

Время	Контроль	Раствор 10%	Раствор 50%
1 мин	0-0-0-0-0-0-0-0-0-0	0-0-0-0-0-0-0-0-0-0	1-1-1-1-1-1-1-1-1-1
20 мин	0-0-0-0-0-0-0-0-0-0	1-0-0-1-0-1-0-1-0-1	1-1-0-1-1-1-1-1-0-1
60 мин	0-0-0-0-0-0-0-0-0-0	0-0-0-0-0-0-0-0-0-0	0-0-0-0-0-0-0-0-0-0
3 ч	0-0-0-0-0-0-0-0-0-0	0-0-0-0-0-0-0-0-0-0	0-0-0-0-0-0-0-0-0-0
24 ч	0-0-0-0-0-0-0-0-0-0	0-0-0-0-0-0-0-0-0-0	0-0-0-0-0-0-0-0-0-0

эксперимент проводили на этих же кроликах, по четыре особи в каждой группе. На подготовленный участок кожи от шерсти площадью 3×3 см справа наносили испытуемый 10 и 50% растворы в объёмах одного миллилитра, равномерно нежно распределяли на указанном участке. Результаты исследований показали, что после 3-суточного периода наблюдения изменения цвета кожи обнаружено не было. В этот же день на подобный участок кожи противоположного бока была нанесена разрешающая доза раствора с целью выявления возможного проявления сенсibilизирующего действия. Аллергические реакции не проявились, что позволило продолжить данный эксперимент, и установлено, что на 7-е, 14-е и 28-е сутки аллергические реакции также не проявлялись (рис. 2).

Таким образом, данный эксперимент подтверждает отсутствие раздражающего и сенсibilизирующего эффекта препарата Риамиловир, что является крайне важным критерием его безопасности и возможности для его испытания в условиях клиники.

В процессе заключительного этапа исследований для выявления возможного отрицательного воздействия Риамиловира на висцеральные органы неполовозрелых крысят оценивали гистоморфологию печени, почек, селезёнки и сердца.

**Результаты гисто-морфологического исследования после курсового воздействия препарата Риамиловир**

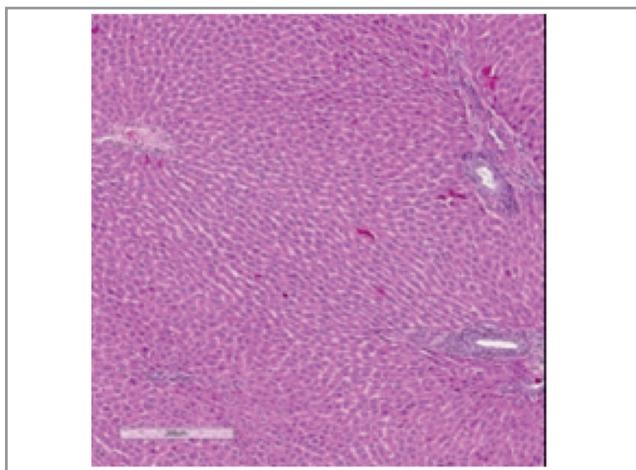
**Печень** — дольковая структура её сохранена, гепатоциты формируют балки, при этом гепатоциты средних размеров с эозинофильной цитоплазмой без дистрофических изменений, ядра округлые. В синусоидах определяются клетки Купфера вытянутой формы, дискретно в синусоидальном пространстве.

В синусоидах определяются клетки Купфера вытянутой формы, дискретно в синусоидальном пространстве.

соидах определяются мононуклеары. Портальные тракты не расширены, без воспалительной инфильтрации, строма без склеротических изменений. Гепатоциты преимущественно одноядерные. Стенка центральной вены не утолщена.

Таким образом, структурных отклонений в печени неполовозрелых крысят, получавших Риамилловир, от гистологической нормы не выявлено (рис. 3).

**Почки** — в корковом слое почек почечные клубочки распределены равномерно, наружный листок капсулы Шумлянско-Боумена выстлан однослойным нефротелием, мочевые пространства свободны. Клубочки нормоклеточны, мезангиальные зоны интактны, не расширены. Проксимальный и дистальный отделы извитых

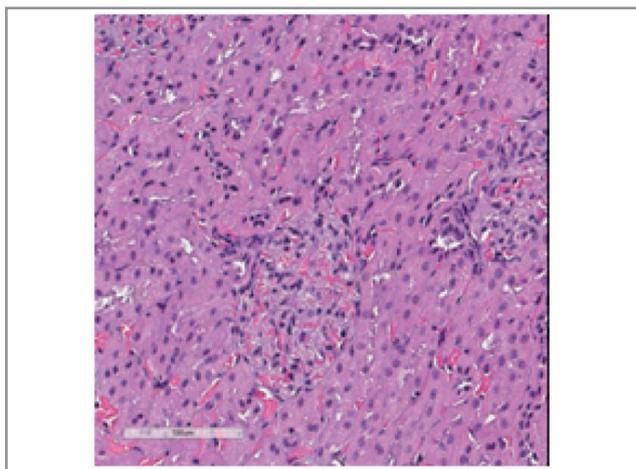


**Рис. 3.** Печень после курса приёма препарата.

**Примечание.** Дольковое строение печени не нарушено. Окраска гематоксилин-эозином, увеличение  $\times 100$ .

**Fig. 3.** Liver after the Riamilovir course.

**Note.** The lobular structure of the liver is intact. Stained with hematoxylin-eosin,  $\times 100$  magnification.



**Рис. 4.** Почки после курсового приёма препарата

**Примечание.** Здесь и на рис. 5, 6. Окраска гематоксилин-эозином, увеличение  $\times 100$ .

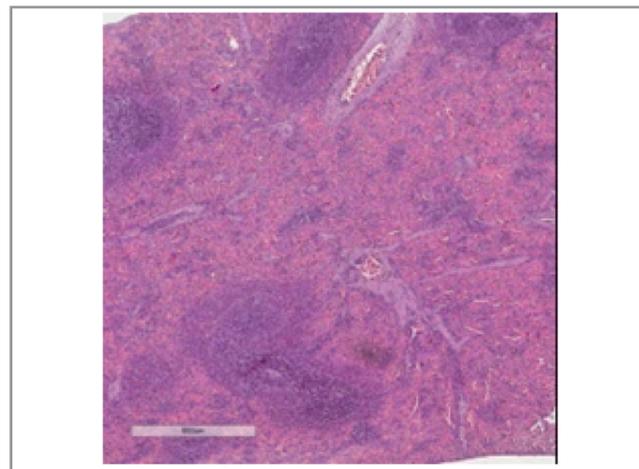
**Fig. 4.** Kidneys after the Riamilovir course.

**Note.** Here and in fig. 5, 6. Hematoxylin-eosin staining,  $\times 100$  magnification.

канальцев без существенных изменений: эпителии канальцев представлены однослойным эпителием со щеточной каёмкой на апикальной поверхности клеток, цитоплазма эпителиоцитов бледно-эозинофильная, гомогенная, ядра округлые, с дисперсным хроматином. Базальная мембрана канальцев и капилляров почечных клубочков не утолщена, одноконтурная, интерстиций не расширен, без фокусов склероза и инфильтрации. В мозговом слое структурные изменения отсутствуют (рис. 4).

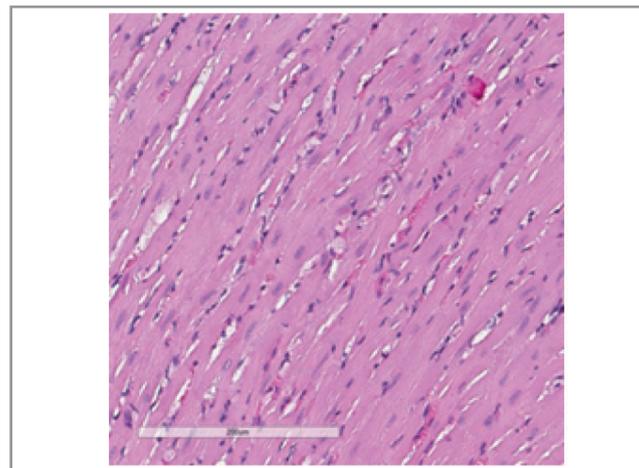
При световой микроскопии строение почечной ткани неполовозрелых опытных крысят не отличается от гистологической нормы.

**Селезёнка** — определяется белая и красная пульпы, белая пульпа селезёнки представлена лимфоидными фолликулами, зональность в лимфоидных фолликулах белой пульпы дифференцируется. Красная пульпа не расширена. Капсула селезёнки не изменена, без наложений и без склероза (рис. 5).



**Рис. 5.** Селезёнка после курсового применения препарата.

**Fig. 5.** Spleen after the Riamilovir course.



**Рис. 6.** Сердце после курсового применения препарата.

**Fig. 6.** Heart after the Riamilovir course.

**Сердце** — строение миокарда в целом соответствует гистологической норме: кардиомиоциты средних размеров, расположены равномерно, между кардиомиоцитами рыхлая соединительная ткань присутствует в минимальном количестве, капилляры. Плазмолемма кардиомиоцитов эозинофильная, однородная. Ядра кардиомиоцитов вытянутой формы, без признаков гипертрофии. В кардиомиоцитах определяется поперечная исчерченность. Очаги склероза в миокарде отсутствуют. Эндокард, перикард без особенностей (рис. 6).

Таким образом, при обзорной световой микроскопии каких-либо структурных изменений в печени, почках, селезёнке и сердце при 10-дневном внутрижелудочном введении Риамиловира не выявлено, что свидетельствует об отсутствии общего токсического действия данного препарата для половозрелых крыс.

## Заключение

В результате данного исследования на половозрелых и половозрелых крысах установлена

безопасность применения препарата Риамиловир, не выявлено отрицательного воздействия его и на репродуктивную функцию животных, процесс оплодотворения, вынашивания и численность рождаемого помета. Крысы от самок опытных групп не отличались по физиологическим (внешним) показателям от крыс контрольных самок. Курсовое внутрижелудочное применение препарата Риамиловир половозрелым животным не оказывало влияния на прирост массы, функциональное состояние ЦНС, показатели периферической крови и её биохимические параметры, а также на морфологическую картину со стороны внутренних органов, что является подтверждением безопасности применения препарата Риамиловир на организм половозрелых крыс.

В результате проведения комплексного исследования подтверждён высокий профиль безопасности препарата Риамиловир, отрицательного воздействия при курсовом приёме не установлено, что даёт основание для перехода на клинический этап исследований препарата у беременных и кормящих женщин, подростков и детей младших возрастных групп.

## Литература/References

1. Клинические рекомендации Минздрава РФ «Грипп у взрослых», 2022 г. (ID:749) Разработаны: Национальная ассоциация специалистов по инфекционным болезням им. В. И. Покровского (НАСИБ) и Российское научное медицинское общество терапевтов (РНМОТ). Утверждены 28.12.22. Одобрены Научно-практическим советом Министерства здравоохранения России 27.12.2022 г. [Klinicheskie rekomendatsii Minzdrava RF «Gripp u vzroslykh», 2022 g. (ID:749) Razrabotany: Natsional'naya assotsiatsiya spetsialistov po infektsionnym bolezniam im. VI. Pokrovskogo (NASIB) i Rossijskoe nauchnoe meditsinskoe obshchestvo terapevtov (RNMOT). Utverzhdeny 28.12.22. Odobreny Nauchno-prakticheskim sovetom Ministerstva zdoravookhraneniya Rossii 27.12.2022 g. (in Russian)]
2. Клинические рекомендации Минздрава РФ «ОРВИ у взрослых», 2021 г. (ID:724) Разработаны: Некоммерческое партнерство «Национальное научное общество инфекционистов» и Общероссийская общественная организация «Российское научное медицинское общество терапевтов». Одобрены Научно-практическим советом Министерства здравоохранения России. [Klinicheskie rekomendatsii Minzdrava RF «ORVI u vzroslykh», 2021 g. (ID:724) Razrabotany: Nekommercheskoe partnerstvo «Natsional'noe nauchnoe obshchestvo infektsionistov» i Obshcherossiyskaya obshchestvennaya organizatsiya «Rossijskoe nauchnoe meditsinskoe obshchestvo terapevtov». Odobreny Nauchno-prakticheskim sovetom Ministerstva zdoravookhraneniya Rossii. (in Russian)]
3. Клинические рекомендации Минздрава РФ «ОРВИ», 2022 г. (ID: 25) Разработаны: Союз педиатров России Одобрены Научно-практическим советом Министерства здравоохранения России 27.12.2022 г. [Klinicheskie rekomendatsii Minzdrava RF «ORVI», 2022 g. (ID: 25) Razrabotany: Sojuz peditrov Rossii Odobreny Nauchno-prakticheskim sovetom Ministerstva zdoravookhraneniya Rossii 27.12.2022 g. (in Russian)]
4. Триазавирин®. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата. Министерство здравоохранения Российской Федерации. [Triazavirin®. Instruksiya po meditsinskomu primeneniyu lekarstvennogo preparata. Ministerstvo zdoravookhraneniya Rossijskoj Federatsii. (in Russian)]
5. Сологуб Т.В., Токин И.И., Мидикари А.С., Цветков В.В. Сравнительная эффективность и безопасность применения противовирусных препаратов в терапии больных гриппом. Инфекционные болезни. 2017; 15 (3): 40–47. doi: <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2017-3-40-47>. [Sologub T.V., Tokin I.I., Midikari A.S., Tsvetkov V.V. A comparative efficacy and safety of using antiviral drugs in therapy of patients with influenza. Infektsionnye Bolezni. 2017; 15 (3): 40–47. doi: <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2017-3-40-47>. (in Russian)]
6. Киселев О. И., Дева Э. Г., Мельникова Т. И., Козелецкая К. Н. Киселев А. С., Русин В. Л., Чарушин В. Н., Чупахин О. Н. Новый противовирусный препарат Триазавирин. Результаты II фазы клинического

- исследования. Вопросы вирусологии. 2012; 57 (6): 9–12. [Kiselev O. I., Deeva E. G., Mel'nikova T. I., Kozeleckaya K. N. Kiselev A. S., Rusinov V. L., Charushin V. N., Chupakhin O. N. Novyj protivovirusnyj preparat Triazavirin. Rezul'taty II fazy klinicheskogo issledovaniya. Voprosy Virusologii. 2012; 57 (6): 9–12. (in Russian)]
7. Тихонова Е.П., Кузьмина Т.Ю., Индронина Н.В. и др. Изучение эффективности противовирусных препаратов (умифеновира, триазавирина) в отношении острых респираторных вирусных инфекций. Казанский медицинский журнал. 2018; 99 (2): 215–223. [Tikhonova E.P., Kuz'mina T.Jyu., Indronova N.V. i dr. Izuchenie effektivnosti protivovirusnykh preparatov (umifenovira, triazavirina) v otnoshenii ostrykh respiratornykh virusnykh infektsij. Kazanskij Meditsinskij Zhurnal. 2018; 99 (2): 215–223. (in Russian)]
  8. Сабитов А.У., Белоусов В.В., Един А.С., Олейниченко Е.В., Гладунова Е.П., Тихонова Е.П., Кузьмина Т.Ю., Калинина Ю.С., Сорокин П.В. Практический опыт применения препарата Риамиловир в лечении пациентов с COVID-19 средней степени тяжести. Антибиотики и химиотер. 2020; 65 (7–8): 27–30. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2020-65-7-8-27-30>. [Sabitov A.U., Belousov V.V., Edin A.S., Olejnicenko E.V., Gladunova E.P., Tikhonova E.P., Kuz'mina T.Jyu., Kalinina Jyu.S., Sorokin P.V. Prakticheskij opyt primeneniya preparata Riamilovir v lechenii patsientov s COVID-19 srednej stepeni tyazhesti. Antibiotiki i Khimioter. 2020; 65 (7–8): 27–30. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2020-65-7-8-27-30>. (in Russian)]
  9. Касьяненко К.В., Козлов К.В., Мальцев О.В. и др. Оценка эффективности риамиловира в комплексной терапии больных COVID-19. Терапевтический архив. 2021; 93 (3): 290–294. [Kas'yanenko K.V., Kozlov K.V., Mal'tsev O.V. i dr. Otsenka effektivnosti riamilovira v kompleksnoj terapii bol'nykh COVID-19. Terapevticheskij Arkhiv. 2021; 93 (3): 290–294. (in Russian)]
  10. Касьяненко К.В., Мальцев О.В., Козлов К.В. и др. Клиническая эффективность и безопасность применения риамиловира при лечении пациентов с инфекцией, вызванной SARS-COV-2. Антибиотики и химиотер. 2020; 65 (11): 16–21. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2020-65-11-12-16-21>. [Kas'yanenko K.V., Mal'tsev O.V., Kozlov K.V. i dr. Klinicheskaya effektivnost' i bezopasnost' primeneniya riamilovira pri lechenii patsientov s infektsiej i Khimioter. 2020; 65 (11): 16–21. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2020-65-11-12-16-21>. (in Russian)]
  11. Сабитов А.У., Сорокин П.В., Дашутина С.Ю. Эффективность и безопасность применения препарата Риамиловир в лечении пациентов с COVID-19. Антибиотики и химиотер. 2021; 66 (1–2): 35–37. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2021-66-1-2-33-37>. [Sabitov A.U., Sorokin P.V., Dashutina S.Jyu. Effektivnost' i bezopasnost' primeneniya preparata Riamilovir v lechenii patsientov s COVID-19. Antibiotiki i Khimioter. 2021; 66 (1–2): 35–37. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2021-66-1-2-33-37>. (in Russian)]

12. *Сабитов А.В., Сорочкин П.В., Дашутина С.Ю.* Опыт профилактического применения препарата Риамиловир в очагах новой коронавирусной инфекции (COVID-19). *Терапевтический архив.* 2021; 93 (4): 435–439. <https://doi.org/10.26442/00403660.2021.04.200751>. [*Sabitov A.U., Sorokin P.V., Dashutina S.Ju.* Opyt profilakticheskogo primeneniya preparata Riamilovir v ochagakh novej koronavirusnoj infektsii (COVID-19). *Terapevticheskij Arkhiv.* 2021; 93 (4): 435–439. <https://doi.org/10.26442/00403660.2021.04.200751>. (in Russian)]
13. *Касьяненко К.В., Львов Н.И., Мальцев О.В., Жданов К.В.* Нуклеозидные аналоги в терапии гриппа: история и опыт. *Журнал инфектологии.* 2019; 11 (3): 20–26. [*Kasyanenko K.V., Lvov N.I., Mal'tsev O.V., Zhdanov K.V.* Nukleozidnye analogi v terapii gripa: istoriya i opyt. *Zhurnal Infektologii.* 2019; 11 (3): 20–26. (in Russian)]
14. *Сабитов А.В., Ковтун О.П., Бацкалевич Н.А., Мальцев О.В., Жданов К.В., Эсауленко Е.В., Тихонова Е.П., Калинина Ю.С., Сорочкин П.В., Чепур С.В., Степанов А.В.* Метаанализ рандомизированных контролируемых клинических исследований эффективности препарата Риамиловир в этиотропной терапии острой респираторной вирусной инфекции. *Антибиотики и химиотер.* 2021; 66 (5–6): 48–57. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2021-66-5-6-48-57>. [*Sabitov A.U., Kovtun O.P., Batskalevich N.A., Mal'tsev O.V., Zhdanov K.V., Esaulenko E.V., Tikhonova E.P., Kalinina Ju.S., Sorokin P.V., Chepur S.V., Stepanov A.V.* Metaanaliz randomizirovannykh klinicheskikh issledovaniy effektivnosti preparata Riamilovir v etiotropnoj terapii ostroj respiratornoj virusnoj infektsii. *Antibiotiki i Khimioter.* 2021; 66 (5–6): 48–57. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2021-66-5-6-48-57>. (in Russian)]
15. *Сабитов А.В., Ковтун О.П., Бацкалевич Н.А., Львов Н.И., Жданов К.В., Эсауленко Е.В., Тихонова Е.П., Калинина Ю.С., Сорочкин П.В., Чепур С.В., Степанов А.В.* Метаанализ рандомизированных клинических исследований эффективности препарата Риамиловир в этиотропной терапии гриппа. *Антибиотики и химиотер.* 2021; 66 (5–6): 58–71. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2021-66-5-6-58-71>. [*Sabitov A.U., Kovtun O.P., Batskalevich N.A., Lvov N.I., Zhdanov K.V., Esaulenko E.V., Tikhonova E.P., Kalinina Ju.S., Sorokin P.V., Chepur S.V., Stepanov A.V.* Metaanaliz randomizirovannykh klinicheskikh issledovaniy effektivnosti preparata Riamilovir v etiotropnoj terapii gripa. *Antibiotiki i Khimioter.* 2021; 66 (5–6): 58–71. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2021-66-5-6-58-71>. (in Russian)]
16. *Понятие нормы в физиологии патофизиологии Б.Г. Юшков, Е.А. Корнева, В.А. Черешнев.* Альфа Принт. Екатеринбург, 2021; 563. [*Ponyatie normy v fiziologii patofiziologii B.G. Jyushkov, E.A. Korneva, V.A. Chereshev. Al'fa Print. Ekaterinburg, 2021; 563.* (in Russian)]

## Информация об авторах

*Сабитов Алейбай Усманович* — д. м. н., профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней и клинической иммунологии ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Екатеринбург, Россия. ORCID ID: 0000-0003-0858-9529

*Ларионов Леонид Петрович* — д. м. н., профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Екатеринбург, Россия. ORCID ID: 0000-0003-3878-9820

*Добринская Мария Николаевна* — к. м. н., ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Екатеринбург, Россия. ORCID ID: 0000-0001-9208-9417

*Ледянкина Ольга Васильевна* — к. фарм. н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики и бактериологии ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Екатеринбург, Россия. ORCID ID: 0009-0003-6799-44-25

*Осипенко Артур Васильевич* — д. м. н., профессор кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Екатеринбург, Россия

*Валамина Ирина Евгеньевна* — к. м. н., доцент кафедры патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России; заведующий Гистологической лаборатории ЦНИЛ, Екатеринбург, Россия. ORCID ID: 0000-0001-7387-5287

*Филиппова Елена Викторовна* — к. м. н., ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Екатеринбург, Россия. ORCID ID: 0000-0001-5794-8132

*Фатихов Илсур Муслимович* — к. м. н., доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Екатеринбург, Россия. ORCID ID: 0009-0004-9132

## About the authors

*Alebay U. Sabitov* — D. Sc. in Medicine, Professor, Head of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology, Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Yekaterinburg, Russia. ORCID ID: 0000-0003-0858-9529

*Leonid P. Larionov* — D. Sc. in Medicine, Professor at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Yekaterinburg, Russia. ORCID ID: 0000-0003-3878-9820

*Maria N. Dobrinskaya* — Ph. D. in Medicine, Assistant at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Yekaterinburg, Russia. ORCID ID: 0000-0001-9208-9417

*Olga V. Ledyankina* — Ph. D. in Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics and Bacteriology, Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Yekaterinburg, Russia. ORCID ID: 0009-0003-6799-4425

*Artur V. Osipenko* — D. Sc. in Medicine, Professor of the Department of Pathological Physiology, Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Yekaterinburg, Russia.

*Irene E. Valamina* — Ph. D. in Medicine, Associate Professor at the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; Head of the Histological Laboratory of the Central Scientific Research Laboratory, Yekaterinburg, Russia. ORCID ID: 0000-0001-7387-5287

*Elena V. Philippova* — Ph. D. in Medicine, Assistant at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Yekaterinburg, Russia. ORCID ID: 0000-0001-5794-8132

*Ilсур M. Fatikhov* — Ph. D. in Medicine, Associate Professor at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Yekaterinburg, Russia. ORCID ID: 0009-0004-9132