

Сравнительный анализ противовирусной активности различных препаратов на основе 6-фтор-3-гидрокси-2-пиразинкарбоксамида (фавипиравир) в отношении возбудителя COVID-19

С. Я. ЛОГИНОВА¹, В. Н. ЩУКИНА¹, С. В. САВЕНКО¹, В. В. РУБЦОВ¹,
*С. В. БОРИСЕВИЧ¹, Д. Л. ЧИЖОВ², Г. Л. РУСИНОВ², Е. В. ВЕРБИЦКИЙ²,
В. Н. ЧАРУШИН², С. К. КОТОВСКАЯ³, В. Л. РУСИНОВ³

¹ ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России», Московская область, Сергиев Посад, Россия

² Институт органического синтеза им. И. Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия

³ Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

Резюме

Введение. Пандемия COVID-19, вызванная коронавирусом SARS-CoV-2, унесла миллионы жизней по всему миру. В связи с этим актуальной задачей стал поиск эффективных препаратов, в том числе перепрофилирование уже существующих. Многообещающая стратегия лечения, по-видимому, заключается в нарушении препаратами репродукции вируса. РНК-зависимая РНК-полимераза (RdRp) является центральной субъединицей процесса синтеза РНК для всех РНК-вирусов с положительной цепью и поэтому является привлекательной мишенью для противовирусных ингибиторов. **Цель работы** — экспериментальное изучение противовирусной активности различных препаратов на основе 6-фтор-3-гидрокси-2-пиразинкарбоксамида (фавипиравир) *in vitro* и *in vivo* в отношении коронавируса SARS-CoV-2 (COVID-19). **Материал и методы.** Эксперименты проводили на постоянной культуре клеток почки африканской зелёной мартышки — Vero C1008. Эффективность препаратов оценивали по подавлению репродукции вируса *in vitro*. Биологическую активность оценивали титрованием вирусосодержащей суспензии в культуре клеток Vero C1008 по формированию негативных колоний. Использовали сирийских золотистых хомячков, перорально инфицированных вирусом SARS-CoV-2, вариант В. Эффективность препарата оценивали по коэффициенту лечебного действия. **Результаты.** Результаты исследования выявили, что соединения FP-1 и Авифавир в диапазоне концентраций 100–400 мкг/мл/ практически полностью подавляют репродукцию вируса SARS-CoV-2, показатель ХТИ для препарата FP-1 составил 4, Авифавира — 2. Величина ЕД₅₀ для препарата FP-1 составила 26 мкг/мл, Авифавира — 36 мкг/мл. Препараты Т-705 и Коронавир выявили противовирусную активность только в предельно высоких концентрациях. ХТИ составил 1. На сирийских золотистых хомяках, перорально инфицированных вирусом SARS-CoV-2 вариант В в дозе 5×10⁵ БОЕ, показано, что применение Авифавира и FP-1 оказывает высокую протективную эффективность, Коронавир и Т-705 вызывает умеренное купирование размножения вируса в органе-мишени. По комплексу клинико-вирусологических, биохимических и гематологических показателей рассчитаны показатель тяжести течения заболевания (ИТЗ) и коэффициент лечебного действия (КЛД). Для препарата Авифавир ИТЗ составил 0,269; КЛД — 71,3% с вероятностью 99,9%. **Заключение.** Из изученных соединений наиболее высокую противовирусную активность выявили препараты Авифавир и FP-1.

Ключевые слова: COVID-19; SARS-CoV-2; Vero; *in vitro*; противовирусная активность; Фавипиравир; Авифавир; FP-1; культура клеток; коэффициент лечебного действия

Для цитирования: Логинова С. Я., Щукина В. Н., Савенко С. В., Рубцов В. В., Борисевич С. В., Чижов Д. Л., Русинов Г. Л., Вербицкий Е. В., Чарушин В. Н., Котовская С. К., Русинов В. Л. Сравнительный анализ противовирусной активности различных препаратов на основе 6-фтор-3-гидрокси-2-пиразинкарбоксамида (фавипиравир) в отношении возбудителя COVID-19. *Антибиотики и химиотер.* 2024; 69 (3–4): 21–30. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-3-4-21-30>. EDN: ESBHYA.

Comparative Analysis of the Antiviral Activity of Various Drugs Based on 6-Fluoro-3-Hydroxy-2-Pyrazinecarboxamide (Favipiravir) Against COVID-19

SVETLANA YA. LOGINOVA¹, VERONIKA N. SCHUKINA¹, SERGEY V. SAVENKO¹,
VLADIMIR V. RUBTSOV¹, *SERGEY V. BORISEVICH¹, DMITRII L. CHIZHOV²,

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: 48cnii@mail.ru



EDN: ESBHYA

*Correspondence to:
E-mail: 48cnii@mail.ru



Abstract

Background. The COVID-19 pandemic, caused by the SARS-CoV-2 coronavirus, originated in Wuhan, China, has claimed millions of lives around the world. In this regard, the search for effective drugs, including the repurposing of existing ones, has become an urgent task. A promising treatment strategy appears to be drug disruption of viral reproduction. RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) is the central subunit of the RNA synthesis process for all positive-strand RNA viruses and is therefore an attractive target for antiviral inhibitors. *The aim of this work* is an experimental study of the antiviral activity of various drugs based on 6-fluoro-3-hydroxy-2-pyrazinecarboxamide (Favipiravir) *in vitro* and *in vivo* against the SARS-CoV-2 coronavirus (COVID-19). **Material and methods.** The experiments were carried out on a permanent culture of African green monkey kidney cells — Vero C1008. The effectiveness of the drugs was assessed by suppressing the reproduction of the virus *in vitro*. Biological activity was assessed by titration of the virus-containing suspension in Vero C1008 cell culture by the formation of negative colonies. Syrian golden hamsters orally infected with the SARS-CoV-2 virus, variant B, were used in the study. The effectiveness of the drug was assessed by the coefficient of therapeutic action. **Results.** The results of the study revealed that the compounds FP-1 and Avifavir in the concentration range of 100–400 µg/ml almost completely suppress the reproduction of the SARS-CoV-2 virus; the CTI index for the drug FP-1 was 4, for Avifavir it was 2. The ED₅₀ value for FP-1 was 26 µg/ml, for Avifavir it was 36 µg/ml. Preparations T-705 and Coronavir revealed antiviral activity only at extremely high concentrations. The CTI was 1. During the study on Syrian golden hamsters orally infected with the SARS-CoV-2 virus, variant B, at a dose of 5×10⁵ PFU, it was shown that the use of Avifavir and FP-1 has a high protective efficacy, while Coronavir and T-705 cause a moderate suppression of virus reproduction in the target organ. According to the complex of clinical-virological, biochemical, and hematological indicators, the disease severity index (DSI) and the therapeutic index (TI) were calculated. For the drug Avifavir, the DSI was 0.269; the TI was 71.3% with a probability of 99.9%. **Conclusion.** Of the studied compounds, Avifavir and FP-1 showed the highest antiviral activity.

Keywords: COVID-19; SARS-CoV-2; Vero; *in vitro*; antiviral activity; Favipiravir; Avifavir; FP-1; cell culture; therapeutic index

For citation: Loginova S. Ya., Shchukina V. N., Savenko S. V., Rubtsov V. V., Borisevich S. V., Chizhov D. L., Rusinov G. L., Verbitskiy E. V., Charushin V. N., Kotovskaya S. K., Rusinov V. L. Comparative analysis of the antiviral activity of various drugs based on 6-fluoro-3-hydroxy-2-pyrazinecarboxamide (favipiravir) against COVID-19. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2024; 69 (3–4): 21–30. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-3-4-21-30>. EDN: ESBHYA.

Введение

Стратегия лекарственной терапии вирусных инфекций направлена на использование противовирусных веществ избирательного действия, полученных в результате направленного синтеза, в том числе биотехнологическими методами, и нацеленных на блокирование одной или нескольких стадий вирусной репликации. Достижения молекулярной биологии вирусов позволили выявить общие пути направленного вмешательства в репродукцию возбудителей, найти основные мишени, на которые нацелены противовирусные вещества. Многообещающая стратегия лечения, по-видимому, заключается в нарушении препаратами репродукции вируса либо через их предполагаемый режим действия (например, ингибирование РНК-зависимой РНК-полимеразы) или за счёт их хорошо описанных нецелевых эффектов (подобно беспорядочной связи ингибиторов киназ).

РНК-зависимая РНК-полимераза (RdRp) является центральной субъединицей процесса синтеза РНК для всех РНК-вирусов с положительной цепью и поэтому является привлекательной мишенью для противовирусных ингибиторов. В SARS-CoV-2 ns12 функционирует как RdRp [1] и играет центральную роль в вирусной репликации

и транскрипции, катализируя синтез вирусной РНК с помощью ns7 и ns8, которые служат кофакторами [2]. Полимераза РНК-вирусов склонна к ошибкам репликации, в то время, как её аналог ДНК-вирусов не может считать ошибки. Эта высокая частота мутаций (от 10⁻³ до 10⁻⁵ мутаций / нуклеотид / цикл репликации) позволяет РНК-вирусам лучше адаптироваться к изменениям окружающей среды, но также вносит повреждающие мутации, которые нарушают основные функции, процесс, называемый летальным мутагенезом [3, 4]. В коронавирусах ns14 выполняет функции как 3'-5'-экзорибонуклеазы (ExoN), так и гуанин-N7-метилтрансферазы (N7-MТаза). Действие на вирусную РНК-зависимую РНК-полимеразу оказалось успешной стратегией при лечении различных вирусных инфекций [5], но затруднено в случае CoV из-за активности ExoN [6, 7]. ExoN может гидролизовать РНК, действуя как корректирующий фермент, способный удалять несовпадающие нуклеотиды [8]. Важно отметить, что каталитический сайт RdRp имеет структурное сходство с ns5b RdRp вируса гепатита С (HCV) [9], что открывает перспективу использования противовирусных препаратов ns5b HCV в качестве терапии COVID-19. Результаты доклинического

исследования показывают, что Тенофовир и Софосбувир, два одобренных противовирусных препарата против ВГС, прочно связываются с RdRp SARS-CoV-2 [10]. Таким образом, предполагается, что поиск ингибиторов активности E_hN может стать будущим направлением для лечения COVID-19 [4]. Ряд соединений с доказанным ингибирующим действием на RdRps других вирусов были протестированы против SARS-CoV и SARS-CoV-2. Анализ данных литературы по клиническому опыту ведения пациентов с атипичной пневмонией, связанной с коронавирусами SARS-CoV и MERS-CoV позволяют предположить возможность применения для этиотропной терапии препарата Рибавирин ((1-β-D-рибофуранозил-1,2,4-триазол-3-карбоксамид)), который является противовирусным средством широкого спектра. Противовирусный механизм сложен, наиболее важными эффектами являются ингибирование инозинмонофосфатдегидрогеназы клеток человека (IMPDH) монофосфатным производным препарата и включение рибавирин-5'-трифосфата в зарождающийся вирусный геном с помощью RdRp [11]. Рассматриваются подходы для лечения SARS-CoV с использованием противовирусных препаратов широкого спектра, таких как Фавипиравир и Ремдесивир [12], TMPRSS2 [13], ADAM17 [14].

Фавипиравир (Avigan™), (Т-705), (6-фтор-3-гидрокси-2-пиразинкарбоксамид), представляет собой производное пиразинкарбоксамидов и аналог гуанина, разработанное Toyama Chemical, Япония, которое избирательно и эффективно ингибирует РНК-зависимую РНК-полимеразу (RdRp) РНК-вирусов и индуцирует летальные трансверсионные мутации РНК, тем самым создавая нежизнеспособный вирусный фенотип [15–17]. Фавипиравир — это пролекарство, которое активируется фосфорилированием клеточного фермента до фавипиравир-рибофуранозил-5'-трифосфата (фавипиравир-РTP) [18]. Фавипиравир подавляет репликацию большого количества РНК-вирусов, включая вирус гриппа А, флави-, альфа-, фило-, бунья-, арена- и норовирусы, а также вирус Западного Нила, вирус жёлтой лихорадки, ящур вирус, вирус Эбола и вирус Ласса [19, 20]. Фавипиравир-РTP действует как аналог гуанозина и аденозина, его противовирусная активность значительно ингибируется пуриновыми нуклеотидами и нуклеозидами, но не пиримидиновыми нуклеотидами. Фавипиравир имеет аналогичную структуру, а также соответствующий противовирусный спектр как Рибавирин, увеличивая количество летальных мутаций в вирусном геноме; этот эффект вызывает опасения по поводу потенциального тератогенного риска [21].

В открытом неслучайном контролируемом исследовании фавипиравир показал высокие

эффекты лечения COVID-19 с точки зрения прогрессирования заболевания и вирусного клиренса. Эти результаты являются важной информацией для установления стандартных рекомендаций по лечению для борьбы с инфекцией SARS-CoV-2 [22]. Из-за тератогенности и рисков эмбриотоксичности фавипиравир был одобрен в Японии со строгими правилами для использования только в условиях эпидемий [23].

Цель работы — экспериментальное изучение противовирусной активности различных препаратов на основе 6-фтор-3-гидрокси-2-пиразинкарбоксамидов (фавипиравир) *in vitro* и *in vivo* в отношении коронавируса SARS-CoV-2 (COVID-19).

Материал и методы

Вирус. В работе использовали вирус SARS-CoV-2, вариант В, полученный в 2020 г. из ФГБУ ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора и хранившийся в Специализированной коллекции ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России.

Культура клеток и среды. Эксперименты проводили на постоянной культуре клеток почки африканской зелёной мартышки — Vero C1008. В качестве ростовой и поддерживающей применяли среду Игла (MEM) на солевом растворе Хенкса, содержащую, соответственно, 7,5 и 2% фетальной телочной сыворотки.

Исследуемый препарат. FP-1 (фавипиравир), синтезированный Институтом органического синтеза им. И. Я. Постовского, УрО РАН; Т-705 (Avigan™, фавипиравир), Carbosynth Ltd, Япония; Авифавир (фавипиравир), ООО «КРОМИС» ХимРар; Коронавир (фавипиравир), АО «Р-Фарм».

Лабораторные животные. В работе были использованы сирийские золотистые хомяки (массой 50–60 г), полученные из филиала «Столбовая» (Московская обл.) ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Акклиматизация животных проходила в течение 3 дней.

Содержание и обслуживание животных осуществляли в соответствии с СП №1045 73 по содержанию, обустройству вивариев (ГОСТ Р 53434-2009) и Руководству по лабораторным животным (2010); Правилами по защите животных.

Кормление грызунов осуществлялось полноценным гранулированным комбикормом, исключающем необходимость введения дополнительных ингредиентов — «Комбикорм для содержания крыс, мышей, хомячков». ГОСТ Р 50258-92 ПК-121-10 ООО «Лабораторкорм», Москва и «Полноценный комбикорм для лабораторных животных (для разведения крыс, мышей, хомячков) ПК-120-1 847 ООО «Лабораторкорм», Москва. Перед вскармливанием корм стерилизуют автоклавированием 121°C, 1,2 АТ, 20 мин.

Животных инфицировали перорально в дозе 3×10⁵ БОЕ. За инфицированными животными наблюдение проводили в течение 6 сут, при этом контролировали уровень накопления возбудителя в лёгких в начальном периоде инфекции (1 сут), на пике инфекции (2-, 4-е сутки) и на 6-е сутки после заражения. Выделение вируса проводили в культуре клеток Vero, C1008 по формированию негативных колоний (БОЕ).

Клинический осмотр. Отклонения от физиологической нормы.

Масса тела. После инфицирования взвешивание ежедневно.

Эвтаназия. Умерщвление методом цервикальной дислокации.

Макроскопический анализ лёгких. Макроскопическое исследование лёгких проводили при визуальном осмотре. Фиксировали следующие факторы: структура ткани, цвет, видимые повреждения и пр. Рейтинговая оценка поражения лёгких, инфицированных животных приведена в табл. 1.

Критерии оценки тяжести течения инфекции у лабораторных животных рассматривают по показателям: клинико-вирусологическим (обнаружение вируса в лёгких, патолого-анатомические изменения в лёгких инфицированных животных, поведение, внешний вид), биохимическим (активность аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы, креатинкиназы, концентрации мочевины и креатинина), гематологическим (изменение элементов формулы крови).

Оценка биологических свойств возбудителя SARS-CoV-2. Биологическую активность оценивали титрованием вирус-содержащей суспензии в культуре клеток Vero C1008 по цитопатическому действию вируса и формированию негативных колоний.

Оценка противовирусной эффективности экспериментальных субстанций осуществлена в соответствии с рекомендациями ФГБУ «НЦЭСМП» Минздравсоцразвития России [24].

Критерии оценки эффективности препарата *in vivo*. Коэффициент лечебного действия (КЛД) рассчитывают по совокупности клинико-вирусологических показателей (снижение уровня вирусной нагрузки в органе-мишени (лёгком), не менее чем на 1,25–2,00 lg на пике развития инфекции [17]; купирование патологоанатомических изменений в лёгких инфицированных животных; отсутствие внешних признаков заболевания в соответствии с рекомендациями ФГБУ «НЦЭСМП» Минздравсоцразвития России [17]), биохимических (активность аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, креатинкиназы, лактатдегидрогеназы, уровень креатинина, мочевины в плазме крови животных), гематологических (изменение относительного количества форменных элементов крови. Все опыты на животных были проведены в строгом соответствии с рекомендациями Национального стандарта Российской Федерации — ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

Основным критерием оценки эффективности препаратов *in vitro* является снижение уровня накопления, Δ lg, коэффициент ингибирования репродукции вируса (КИ, %).

Статистическая обработка данных. Статистическая обработка полученных результатов проведена с использова-

нием программы Microsoft Office Excel 2007. Полученные результаты представлены в виде среднего $\pm$ ошибка репрезентативности ($\bar{x} \pm \delta_x$) [25].

Результаты и обсуждение

При проведении изучения противовирусной активности соединений оценивали их токсичность для культуры клеток Vero C1008 и сирийских золотистых хомяков. В процессе исследования цитотоксичности соединения изучали влияние различных концентраций препарата на морфологию клеток и острую токсичность для животных по проявлению клинических признаков интоксикации. Оценку токсичности препаратов T-705, FP-1, Коронавир и Авифавир изучали для культуры клеток Vero C1008. Навески препаратов растворяли в 50 мкл DMSO и далее до нужной концентрации средой ПС для культуры клеток. Результаты исследования представлены в табл. 2.

Меньшей токсичностью для культуры клеток обладает фавипиравир (FP — 1), ФГБУН Институт органического синтеза им. И. Я. Постовского УрО РАН.

Проведена оценка токсичности исследуемых соединений при пероральном применении в дозе 700 мг/кг (химические соединения не растворимы в водных растворителях, поэтому применяли перорально в виде суспензии в 2% растворе крахмала) в течение 6 дней, однократно. Поведение хомяков, принимавших исследуемые соединения, и интактных животных соответствовало физиологическому развитию. Гибель животных отсутство-

Таблица 1. Оценка поражения лёгких
Table 1. Assessment of lung damage

Степень поражения, балл	Оценка в знаках	Патологоанатомические изменения
0 (без поражения)	—	Лёгкие имеют нормальное анатомо-физиологическое состояние. Цвет лёгких бледно-розовый, сосудистый рисунок не выражен. Лёгкие по объёму и консистенции в норме, края органа ровные.
1 (лёгкая)	+	Лёгкие наполнены, в бронхиальной части сосуды расширены. Края верхних долей, как правило, ровные, серо-розового цвета. Нижние доли лёгких ровные, как правило, с серым оттенком. Сочетание нормальных участков без патологий (розовый цвет лёгких) и с патологическими очаговыми воспалительными изменениями (красный, серый цвет лёгких). Могут присутствовать мелкие (около 1 мм) геморрагические очажки. Лёгкие в большинстве случаев нормального объёма и консистенции.
2 (умеренная)	++	Среднеочаговая, редко крупноочаговая пневмония. По краям лёгкие имеют красно-серый оттенок. На вскрытии регистрируют средних размеров (2–3 мм) геморрагические очаги в обоих лёгких. Лёгкие отёчны. Консистенция органа несколько дряблая, в некоторых случаях тестоватая.
3 (среднетяжелая)	+++	Крупноочаговая, лобарная (долевая), сливная (в некоторых случаях множественная) полудолевая пневмония. Цвет патологических участков лёгких — насыщенный красный, либо вишнево-красный с грязно серым оттенком. Наблюдается выраженное поражение лёгких. Регистрируют геморрагии, как правило, среднего (2–3 мм) и крупного (более 3 мм) размера в обоих лёгких. Сосудистый рисунок патологически изменен. Консистенция тестоватая с лёгким уплотнением. Имеются признаки диффузного альвеолярного повреждения.

Таблица 2. Оценка цитотоксичности препаратов на основе 6-фтор-3-гидрокси-2-пиразинкарбоксамида (Фавипиравир) для культуры клеток Vero C1008

Table 2. Assessment of the cytotoxicity of preparations based on 6-fluoro-3-hydroxy-2-pyrazinecarboxamide (Favipiravir) in Vero C1008 cell culture

Препарат	Токсическая концентрация препарата, ЦПД ₅₀ , мкг/мл в опыте (№)			МПК, мкг/мл в опыте (№)			МПК, мкг/мл $\bar{x} \pm \sigma_x$
	1	2	3	1	2	3	
FP-1	≥1000	≥1000	≥1000	≥1000	≥1000	≥1000	≥1000±0
T-705	≥1000	≥1000	1000	1000	1000	500	833,3±165,5
Коронавир	1000	≥1000	1000	500	1000	500	666,7±165,5
Авифавир	≥1000	≥1000	1000	1000	1000	500	833,3±165,5
Контроль среды	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	—	—	—	—
Контроль среды с 0,5% DMSO	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	—	—	—	—

Таблица 3. Оценка влияния препаратов на репродукцию вируса SARS-CoV-2 в культуре клеток Vero C1008

Table 3. Assessment of the effect of chemotherapy drugs on the reproduction of the SARS-CoV-2 virus in Vero C1008 cell culture

Препарат	Концентрация препарата, мкг/мл	Уровень накопления вируса, lg БОЕ/мл, $\bar{x} \pm \sigma_x$	Снижение уровня накопления вируса, Δ , lg	Коэффициент ингибирования, КИ, %	ЕД ₅₀ , мкг/мл
FP-1 (фавипиравир)	400	3,09±0,04	3,35	99,96	26
	200	3,45±0,04	3,04	99,91	
	100	5,23±0,13	1,21	93,83	
	50	5,89±0,07	0,55	71,82	
T-705 (фавипиравир)	400	5,09±0,07	1,35	98,00	92
	200	5,89±0,07	0,55	71,82	
	100	5,95±0,06	0,49	67,64	
	50	6,01±0,06	0,43	62,85	
Авифавир	400	4,59±0,06	1,85	98,59	36
	200	5,23±0,06	1,21	93,82	
	100	5,35±0,06	1,09	91,85	
	50	5,91±0,07	0,53	70,43	
Коронавир	400	5,00±0,07	1,44	96,36	76
	200	5,50±0,06	0,94	88,51	
	100	5,93±0,07	0,51	69,05	
	50	6,15±0,06	0,29	48,73	
Контроль дозы 0,0001 БОЕ на клетку			6,44±0,09		

вала. Двигательная активность и аппетит опытной и контрольной групп не различались. Физиологической норме соответствовала упитанность, волосяной и кожный покров (волос блестящий, эластичный, хорошо удерживается в волосяной луковице). Масса тела животных, которым вводили синтезированные химические препараты на протяжении всего срока наблюдения, статистически достоверно не отличалась от такового показателя для контрольных плацебо сирийских золотистых хомяков (с вероятностью 95%).

Проведена сравнительная оценка эффективности препаратов на основе соединения 5-фтор-2-оксо-1Н-пиразин-3-карбоксамида (фавипиравир) от различных производителей в культуре клеток Vero C1008 в отношении вируса SARS-CoV-2, вариант В (Ухань). Множественность инфицирования 0,0001 БОЕ на клетку, 37°C в течение 60 мин. Схема внесения препаратов — через 1 ч после инфицирования (табл. 3).

В результате проведенных исследований показано, что все изученные препараты на основе фавипиравира эффективно подавляют репродукцию вируса SARS-CoV-2 в высоких концентрациях. В более широком диапазоне концентраций высокую активность выявило экспериментальное соединение, синтезированное специалистами ФГБУН ИОС им. И. Я. Постовского УрО РАН — FP-1. В концентрации 400 мкг/мл препарат FP-1 снижал накопление вируса в клетках на 3,4 lg, 200 мкг/мл — на 3,1 lg, 100 мкг/мл — на 1,2 lg, с коэффициентами ингибирования 99,96%; 99,91% и 93,83%, соответственно. Авифавир в концентрации 400 мкг/мл снижал накопление вируса в клетках на 1,85 lg, 200 мкг/мл — на 1,21 lg, 100 мкг/мл — на 1,09 lg, с коэффициентами ингибирования 98,59%; 93,82% и 91,85%, соответственно. Величина ЕД₅₀ (расчёт по Першину) для FP-1 составила 26 мкг×мл⁻¹, T-705 — 92 мкг/мл, Авифавира — 36 мкг/мл; Коронавируса — 76 мкг/мл.

Таблица 4. Результаты наблюдения изменения в лёгких при вскрытии леченных сирийских золотистых хомяков, инфицированных вирусом SARS-CoV-2

Table 4. Results of observing the lung changes during an autopsy of treated Syrian golden hamsters infected with the SARS-CoV-2 virus

Группа животных	Доза препарата, мг/кг	Поражение лёгких, $\bar{x} \pm \sigma_x$ после инфицирования, сут			
		1-е	2-е	4-е	6-е
Коронавир	700	0,0±0,0	0,3±0,6	1,0±1,0	0,3±0,6
Авифавир	700	0,0±0,0	0,6±0,2	0,6±0,2	0,2±0,2
FP-1	600	0,0±0,0	0,3±0,3	0,6±0,2	0,3±0,6
T-705	700	0,0±0,0	0,6±0,2	0,8±0,2	0,4±0,2
Контроль инфицированных животных	—	0,0±0,0	0,6±0,3	1,0±0,0	2,0±0,0

Изучение активности препаратов в отношении экспериментальной формы COVID-19 у сирийских золотистых хомяков проводили по схеме экстренной профилактики — через 1 ч после инфицирования и далее 1 раз в сутки в течение 5 дней. Препараты применяли перорально.

Сирийских золотистых хомяков перорально инфицировали вирусом SARS-CoV-2, вариант B (Ухань), в дозе 3×10^5 БОЕ в 50 мкл. Наблюдение за инфицированными животными осуществляли в течение 6 дней. Через 3 и 6 сут после инфицирования по 3 хомяка из каждой группы умерщвляли методом цервикальной дислокации.

Была проведена оценка протективной эффективности препаратов фавипиравир: FP-1, T-705, Коронавир, Авифавир по показателю подавления репродукции вируса в лёгких животных (табл. 4).

При применении Коронавира в суточной дозе 700 мг/кг через 48 ч после инфицирования у 1/3 животных выявлена слабовыраженная пневмония, у 2/3 — поражения не выявлены. У принимавших Авифавир в дозе 700 мг/кг выявлена слабовыраженная катаральная пневмония у 60% животных, у 40% — поражения не выявлены. При применении FP-1 — у 1/3 животных выявлена слабовыраженная пневмония, у 2/3 — поражения не выявлены; T-705 — выявлена слабовыраженная катаральная пневмония у 60% животных, у 40% — поражения не выявлены. В контрольной группе — у 1/3 животных — выраженная распространённая (диффузная) катаральная пневмония и у 2/3 — поражения лёгких не выявлены.

Через 4 сут у сирийских хомяков, принимавших Коронавир у 100%, наблюдали выраженную катаральную пневмонию; Авифавир — у 60% животных отмечена слабовыраженная распространённая (диффузная) катаральная пневмония, у 40% — поражения не выявлены; FP-1 — у 60% животных отмечена слабовыраженная распространённая (диффузная) катаральная пневмония, у 40% — поражения не выявлены; T-705 — у 2/3 животных наблюдали выраженную катаральную пневмонию, у 1/3 — слабовыраженную катаральную пневмонию. Наиболее выраженные, визуально наблюдаемые изменения ткани лёгких были отмечены в группе контрольных животных: отёчные, локальное поражение гра-

натового цвета, цвет неровный «мраморный», тёмно-красный.

На 6-е сутки после заражения в опытной группе животных, принимавших Авифавир, у 20% выявлена слабовыраженная распространённая катаральная пневмония и у 80% патологические изменения в ткани лёгких отсутствовали; Коронавир и FP-1 — у 1/3 животных выявлена слабовыраженная пневмония, у 2/3 — поражения не выявлены; T-705 — у 2/3 сирийских золотистых хомяков наблюдали выраженную катаральную пневмонию. В контрольной группе — лёгкие наполнены, отёчные, локальные поражения, цвет неровный «мраморный». Видимые изменения наблюдаются во всех долях.

Патологоанатомическая картина поражения лёгких у животных преимущественно характеризовалась развитием пневмонии. При применении фавипиравира на пике развития инфекции у сирийских золотистых хомяков поражение лёгких было менее выражено, чем в контрольной группе.

Проведены исследования по оценке вирусной нагрузки в органе-мишени при применении препаратов по схеме экстренной профилактики у сирийских золотистых хомяков, инфицированных вирусом SARS-CoV-2 (табл. 5).

Через 48 ч у хомяков, принимавших Авифавир, вирусная нагрузка в лёгких составила 4,79 БОЕ/г, коэффициент ингибирования — 92,64%. Вирусная нагрузка в лёгких контрольной группы животных через 48 ч составила 5,92 БОЕ/г. В контрольной группе сирийских золотистых хомяков, не принимавших лекарственные препараты, наибольший уровень накопления вируса выявлен через 4 сут после инфицирования и составил 6,86 БОЕ/г. Через 96 ч снижение вирусной нагрузки в лёгких животных, принимавших Авифавир, составило 99,98%. Через 6 сут после инфицирования уровень накопления вируса в лёгких контрольной группы животных составил 4,51 lg БОЕ/г. У животных, принимавших препарат Авифавир, в терминальной фазе изучения отмечено снижение репродукции вируса SARS-CoV-2 в лёгких золотистых сирийских хомяков на 99,9%. При применении препарата Авифавир снижение репродукции вируса в ткани лёгких золотистых сирийских хомяков выявлено

Таблица 5. Результаты оценки уровня инфекционного титра вируса SARS-CoV-2 в лёгких сирийских хомяков при применении препаратов по схеме экстренной профилактики ($n=3$)

Table 5. Results of assessing the level of infectious titer of the SARS-CoV-2 virus in the lungs of Syrian hamsters when using medications according to the emergency prophylaxis scheme ($n=3$)

Препарат	Суточная доза, мг/кг	Параметры	Сутки после инфицирования		
			2-е	4-е	6-е
Авифавир	700	Накопление вируса в лёгких, lg БОЕ/г	4,79±0,02*	3,20±0,13*	1,38±0,04*
		Снижение уровня накопления	1,13	3,66	3,13
		Коэффициент ингибирования, %	92,64	99,98	99,93
Контроль дозы	—	Накопление вируса в лёгких, lg БОЕ/г	5,92±0,02	6,86±0,06	4,51±0,03
T-705	700	Накопление вируса в лёгких, lg БОЕ/г	6,44±0,03	5,55±0,09	3,78±0,05
		Снижение уровня накопления, Δ , lg	Отсутствует	0,09	0,14
		Коэффициент ингибирования, %	0,00	19,34	26,99
Контроль дозы	—	Накопление вируса в лёгких, lg БОЕ/г	4,97±0,24	5,64±0,10	3,92±0,15
FP-1	600	Накопление вируса в лёгких, lg БОЕ/г	4,23±0,05	4,07±0,06	1,54±0,09
		Снижение уровня накопления, Δ , lg	1,81	2,20	1,96
		Коэффициент ингибирования, %	98,3	99,35	98,9
Контроль дозы	—	Накопление вируса в лёгких, lg БОЕ/г	6,04±0,05	6,27±0,04	3,50±0,09
Коронавир	700	Accumulation of the virus in the lungs, lg PFU/g			
		Накопление вируса в лёгких, lg БОЕ/г	6,44±0,03	5,55±0,09	3,78±0,05
		Снижение уровня накопления, Δ , lg	Отсутствует	0,09	0,14
Контроль дозы	—	Коэффициент ингибирования, %	0,00	19,34	26,99
Контроль дозы	—	Накопление вируса в лёгких, lg БОЕ/г	4,97±0,24	5,64±0,10	3,92±0,15

Примечание. * — различия достоверны с вероятностью 99% при сравнении с контролем.

Note. * — differences are significant with a probability of 99% when compared with control.

на протяжении всего срока наблюдения с вероятностью 99%.

Применение T-705 и Коронавира практически не оказывало влияния на уровень репродукции вируса в лёгких, на пике развития заболевания в его терминальной фазе снижение вирусной нагрузки в лёгких составило 19 и 27%, соответственно.

При применении FP-1 через 48 ч вирусная нагрузка в лёгких составила 4,23 БОЕ/г, коэффициент ингибирования 98,3%. Через 96 ч — снижение вирусной нагрузки в лёгких животных, принимавших препарат, составило 99,35%. У животных, принимавших препарат FP-1, в терминальной фазе изучения выявлено снижение репродукции вируса SARS-CoV-2 в лёгких золотистых сирийских хомяков на 98,9%. Таким образом, при применении препарата, синтезированного УИОС, на протяжении всего наблюдения отмечено значительное снижение вирусной нагрузки в лёгких сирийских золотистых хомяков, инфицированных вирусом SARS-CoV-2, вариант B.

Проведён сравнительный анализ биохимических и гематологических показателей крови леченых и контрольных животных. Препарат Авифавир применяли перорально по схеме экстренной профилактики в суточной дозе 700 мг/кг. Для определения коэффициента лечебного действия провели оценку следующих показателей: вирусологические (степень поражения лёгкого, уровень вирусной нагрузки в лёгких), биохимические (активность аланин- и аспартатаминотрансферазы, креатинина, мочевины, креатинкиназы, лактатдегидрокиназы) и гематологические (уровень лейкоцитов, относительное количество лимфо-

цитов, соотношение сегменто- и палочкоядерных нейтрофилов, уровень молодых гранулоцитов).

При применении препарата Авифавир на 3-и сутки после инфицирования статистически достоверных отличий показателей крови интактных хомяков не выявлены. На 6-е и 10-е сутки после инфицирования отмечено статистически достоверное увеличение миелоцитов. По сравнению с контрольной группой животных в крови леченых животных лимфопения не выявлена и отмечен статистически более низкий уровень палочкоядерных нейтрофилов. Для инфицированных животных показатель лейкоцитарный индекс интоксикации по Кальф-Калифу (ИИ) и индекс ядерного сдвига нейтрофилов (ИЯС) на 3-и сутки после инфицирования составил 0,31; 1,63, соответственно; на 6-е сутки: ИИ — 0,29, ИЯС — 1,9; на 10-е сутки: ИИ — 0,37, ИЯС — 1,5; для интактных: ИИ — 0,18, ИЯС — 0,27. Для животных, принимавших Авифавир, на 3-и сутки после инфицирования ИИ составил 0,16; ИЯС — 0,26; на 6-е сутки: ИИ — 0,17, ИЯС — 0,25; на 10-е сутки: ИИ — 0,18, ИЯС — 0,35. Выявлено увеличение в крови количества молодых форм нейтрофилов, что говорит о ядерном сдвиге влево. Выявлен реактивный сдвиг (увеличение в крови содержания миелоцитов) на 6-е и 10-е сутки наблюдения. Появление такого сдвига не является неблагоприятным фактором течения инфекционного процесса.

Через 72 ч после инфицирования вирусная нагрузка в лёгких хомяков, принимавших фавипиравир (Авифавир), составила 3,28 lg БОЕ/г, коэффициент ингибирования — 99,4%. Вирусная нагрузка в лёгких контрольной группы животных составила 5,48 lg БОЕ/г. Через 6 сут — вирусная

Таблица 6. Результаты изучения влияния препарата Авифавир на тяжесть течения экспериментальной формы COVID-19 у сирийских золотистых хомяков, перорально инфицированных вирусом SARS-CoV-2

Table 6. Results of studying the effect of Avifavir on the severity of the course of the experimental form of COVID-19 in Syrian golden hamsters orally infected with the SARS-CoV-2 virus

Показатель	До инфицирования	Контроль дозы инфицирования	Экстренная профилактика
Клинико-вирусологические показатели			
Накопление вируса в лёгких, lg БОЕ/г, $X_{cp} \pm \sigma_x$	—	5,48±0,07	1,85±0,10
Степень поражения лёгких, $X_{cp} \pm \sigma_x$	—	2,0±0	0,2±0,2
Биохимические показатели			
Аланинаминотрансфераза, мМ/(ч×л)	0,33±0,17	0,86±0,23	0,58±0,18
Аспартатаминотрансфераза, мМ/(ч×л)	0,48±0,09	1,10±0,12	0,73±0,24
Лактатдегидрогеназа, Е/л	207,9±101,3	532,7±283,4	485,2±120,9
Креатинкиназа, Е/л	308,19±56,53	1303,21±46,61	1056,37±1019,87
Мочевина, мМ/л	5,94±0,11	8,00±0,17	7,44±0,13
Креатинин, мкМ/л	157,1±41,2	161,9±1,4	159,8±1,9
Гематологические показатели			
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	2,0±0,3	1,3±0,3	1,9±0,2
Миелоциты, %	0,3±0,3	3,7±0,3	0±0
Юные нейтрофилы, %	0,0±0,0	2,3±0,3	3,0±0,6
Палочкоядерные нейтрофилы, %	3,3±0,3	10,7±0,3	3,0±0,6
Сегментоядерные нейтрофилы, %	19,0±0,6	9,3±0,3	16,0±0,0
Эозинофилы, %	1,0±0,6	1,7±0,3	1,0±0,0
Моноциты, %	1,0±0,0	2,0±0,0	0,7±0,3
Базофилы, %	0,7±0,8	3,0±0,0	1,3±0,3
Лимфоциты, %	75±0,6	67,0±0,0	77,3±0,3

нагрузка в лёгких составила 1,85 lg БОЕ/г, коэффициент ингибирования — 99,97%.

Применение Авифавира способствовало нормализации биохимических показателей крови сирийских золотистых хомяков (табл. 6).

По комплексу показателей рассчитан индекс тяжести заболевания (ИТЗ) сирийских золотистых хомяков при пероральном заражении вирусом SARS-CoV-2. Для инфицированных нелеченых животных ИТЗ составил 1,0. При применении препарата Авифавир ИТЗ составил 0,269, КЛД — 73,1% с вероятностью 99,9%.

Заключение

В культуре клеток Vero Cl008 соединения FP-1 и Авифавир в диапазоне концентраций 100–400 мкг/мл практически полностью подавляют репродукцию вируса SARS-CoV-2, показатель ХТИ для препарата FP-1 составил 4, Авифавир — 2. Величина ЕД₅₀ для препарата FP-1 составила 26 мкг/мл, Авифавир — 36 мкг/мл. Препараты Т-705 и Коронавир выявили противовирусную активность только в предельно высоких концентрациях, ХТИ составил 1.

Резюмируя изложенное можно заключить, что из всех изученных препаратов фавипиравира, высокую противовирусную активность выявили препарат Авифавир и экспериментальная субстанция FP-1.

Изучение терапевтической активности эффективности препаратов Авифавир, Коронавир, Т-705 и FP-1 на сирийских золотистых хомяках, перорально инфицированных вирусом SARS-CoV-2, ва-

риант В, в дозе 5×10⁵ БОЕ, показало, что применение Авифавира и FP-1 оказывает высокую протективную эффективность, Коронавир и Т-705 вызывает умеренное купирование размножения вируса в органе-мишени. Патологоанатомические исследования выявили, что наиболее тяжёлые формы поражения лёгких регистрируются у сирийских хомяков, не принимавших лекарственные препараты. Патологоанатомическая картина поражения лёгких у животных преимущественно характеризовалась развитием пневмонии. Применение Авифавира способствовало нормализации биохимических и гематологических показателей крови по сравнению с нелечеными хомяками. По комплексу клинико-вирусологических, биохимических и гематологических показателей рассчитаны ИТЗ и КЛД. Для препарата Авифавир ИТЗ составил 0,269; КЛД — 71,3% с вероятностью 99,9%.

Дополнительная информация

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов. Логинова С. Я. — концепция и дизайн исследования, сбор данных литературы, написание текста, сбор и обработка материала, редактирование; Щукина В. Н. — сбор и обработка материала, статистический анализ; Савенко С. В. — сбор и обработка материала; Рубцов В. В. — сбор и обработка материала; Борисевич С. В. — написание текста, редактирование, Чижов Д. Л. — синтез препарата; Русинов Г. Л. —

синтез препарата; *Вербицкий Е. В.* — синтез препарата; *Чарушин В. Л.* — редактирование; *Котовская С. К.* — сбор данных литературы; *Русинов В. Л.* — редактирование.

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Contribution. *Loginova S. Ya* — research concept and design, literature data collection, material collec-

tion and processing, text writing, text editing; *Shchukina V. N.* — material collection and processing, text writing, statistic analysis; *Savenko S. V.* — material collection and processing; *Rubtsov V. V.* — material collection and processing; *Borisevich S. V.* — text writing, text editing; *Chizhov D. L.* — drug synthesis, *Rusinov G. L.* — drug synthesis, *Verbitskiy E. V.* — drug synthesis, *Charushin V. N.* — text editing, *Kotovskaya S. K.* — literature data collection, *Rusinov V. L.* — text editing.

Литература/References

- Agostini M.L., Andres E.L., Sims A.C., Graham R.L., Sheahan T.P., Lu X., Smith E.C., Case J.B., Feng J.Y., Jordan R. et al. Coronavirus susceptibility to the antiviral remdesivir (GS-5734) is mediated by the viral polymerase and the proofreading exoribonuclease. *mBio*. 2018; 9: e00221–e18. doi: 10.1128/mBio.00221-18.
- Gao Y., Yan L., Huang Y., Liu F., Zhao Y., Cao L., Wang T., Sun Q., Ming Z., Zhang L. et al. Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus. *Science*. 2020 Apr 10; doi: 10.1126/science.abb7498.
- Smith E.C. The not-so-infinite malleability of RNA viruses: Viral and cellular determinants of RNA virus mutation rates. *PLoS Pathog*. 2017; 13: e1006254–e1006254. doi: 10.1371/journal.ppat.1006254.
- Smith E.C., Blanc H., Surdel M.C., Vignuzzi M., Denison M.R. Coronaviruses lacking exoribonuclease activity are susceptible to lethal mutagenesis: Evidence for proofreading and potential therapeutics. *PLoS Pathog*. 2013; 9: e1003565–e1003565. doi: 10.1371/journal.ppat.1003565.
- De Clercq E., Li G. DC approved antiviral drugs over the past 50 years. *Clin Microbiol Rev*. 2016; 29: 695–747. doi: 10.1128/CMR.00102-15.
- Agostini M.L., Andres E.L., Sims A.C., Graham R.L., Sheahan T.P., Lu X., Smith E.C., Case J.B., Feng J.Y., Jordan R. et al. Coronavirus susceptibility to the antiviral remdesivir (GS-5734) is mediated by the viral polymerase and the proofreading exoribonuclease. *mBio*. 2018; 9: e00221–e18. doi: 10.1128/mBio.00221-18.
- Smith E.C., Blanc H., Surdel M.C., Vignuzzi M., Denison M.R. Coronaviruses lacking exoribonuclease activity are susceptible to lethal mutagenesis: Evidence for proofreading and potential therapeutics. *PLoS Pathog*. 2013; 9: e1003565–e1003565. doi: 10.1371/journal.ppat.1003565.
- Becares M., Pascual-Iglesias A., Nogales A., Sola I., Enjuanes L., Zúñiga S. Mutagenesis of Coronavirus nsp14 reveals its potential role in modulation of the innate immune response. *J Virol*. 2016; 90: 5399–5414. doi: 10.1128/JVI.03259-15.
- Gao Y., Yan L., Huang Y., Liu F., Zhao Y., Cao L., Wang T., Sun Q., Ming Z., Zhang L. et al. Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus. *Science*. 2020 Apr 10; doi: 10.1126/science.abb7498.
- Elfiky A.A. Ribavirin, Remdesivir, Sofosbuvir, Galidesivir, and Tenofovir against SARS-CoV-2 RNA dependent RNA polymerase (RdRp): A molecular docking study. *Life Sci*. 2020; 253: 117592. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117592.
- Ferron F., Subissi L., Silveira De Moraes A.T., Le N.T.T., Sevalet M., Gluais L., Decroly E., Vonnheim C., Bricogne G., Canard B. et al. Structural and molecular basis of mismatch correction and ribavirin excision from coronavirus RNA. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2018; 115: E162–E171. doi: 10.1073/pnas.1718806115.
- Li G., De Clercq E. Therapeutic options for the 2019 novel coronavirus (2019-nCoV). *Nat Rev Drug Discov*. 2020; 19: 149–150. doi: 10.1038/d41573-020-00016-0.
- Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S. et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*. 2020; 181 (2): 271–280. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
- Xu J., Sriramula S., Xia H., Moreno-Walton L. et al. Clinical relevance and role of neuronal AT1 receptors in ADAM17-mediated ACE2 shedding in neurogenic hypertension. *Circ Res*. 2017; 121: 43–55. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.310509.
- Furuta Y., Takahashi K., Fukuda Y., Kuno M., Kamiyama T., Kozaki K. *In vitro* and *in vivo* activities of anti-influenza virus compound T-705. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002; 46 (4): 977–981. doi: 10.1128/AAC.46.4.977-981.2002.
- Furuta Y., Komono T., Nakamura T. (T-705) Favipiravir (T-705), a broad spectrum inhibitor of viral RNA polymerase. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. 2017; 93(7): 449–463. doi: 10.2183/pjab.93.027.
- Jin Z., Smith L.K., Rajwanshi V.K., Kim B., Deval J. The ambiguous base-pairing and high substrate efficiency of T-705 (favipiravir) ribofuranosyl 5'-triphosphate towards influenza A virus polymerase. *PLoS One*. 2013; 8 (7): e68347.
- Furuta Y., Gowen B.B., Takahashi K., Shiraki K., Smee D.E., Barnard D.L. Favipiravir (T-705), a novel viral RNA polymerase inhibitor. *Antiviral Res*. 2013; 100: 446–454. doi: 10.1016/j.antiviral.2013.09.015.
- Delang L., Abdelnabi R., Neyts J. Favipiravir as a potential countermeasure against neglected and emerging RNA viruses. *Antiviral Res*. 2018; 153: 85–94. doi: 10.1016/j.antiviral.2018.03.003.
- Furuta Y., Takahashi K., Shiraki K., Sakamoto K., Smee D.E., Barnard D.L. T-705 (favipiravir) and related compounds: novel broad-spectrum inhibitors of RNA viral infections. *Antiviral Res*. 2009; 82 (3): 95–102. doi: 10.1016/j.antiviral.2009.02.198.
- Jordan P.C., Stevens S.K., Deval J. Nucleosides for the treatment of respiratory RNA virus infections. *Antivir Chem Chemother*. 2018; 26: 2040206618764483. doi: 10.1177/2040206618764483.
- Cai Q., Yang M., Liu D. et al. Experimental treatment with favipiravir for COVID-19: an open-label Control Study. *Engineering (Beijing)*. 2020; 6 (10): 1192–1198. doi: 10.1016/j.eng.2020.03.007.
- Nagata T., Lefor A.K., Hasegawa M., Ishii M. Favipiravir: A new medication for the Ebola virus disease pandemic. *Disaster Med Public Health Prep*. 2015; 9: 79–81. doi: 10.1017/dmp.2014.151.
- Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: ФГБУ «НЦЭСМП» Минздравсоцразвития России, 2012. [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Moscow: FGBU «NTsESMP» Minzdrazvotsrazvitiya Rossii, 2012. (in Russian)]
- Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Ленинград: Медгиз., 1962; 180. *Ashmarin I.P., Vorob'ev A.A. Statisticheskie metody v mikrobiologicheskikh issledovaniyakh. Leningrad: Medgiz., 1962; 180. (in Russian)]*

Поступила / Received 10.03.2024

Принята в печать / Accepted 05.04.2024

Информация об авторах

Логонова Светлана Яковлевна — д. б. н., ведущий научный сотрудник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России», Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID ID: 0000-0001-6732-8404

Щукина Вероника Николаевна — к. б. н., научный сотрудник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России», Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID ID: 0000-0002-5461-3641

Савенко Сергей Вадимович — научный сотрудник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России», Московская

About the authors

Svetlana Ya. Loginova — D. Sc. in Biology, Leading Researcher at the 48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID ID: 0000-0001-6732-8404.

Veronika N. Schukina — Ph. D. in Biology, Researcher at the 48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID ID: 0000-0002-5461-3641.

Sergey V. Savenko — Researcher at the 48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian

область, Сергиев Посад, Россия. ORCID ID: 0000-0002-5175-916X

Рубцов Владимир Васильевич — к. в. н., научный сотрудник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России», Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID ID: 0000-0003-4387-0367

Борисевич Сергей Владимирович — д. б. н., профессор, академик РАН РФ, начальник института ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России», Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID ID: 0000-0002-6742-3919

Чижов Дмитрий Леонидович — к. х. н., старший научный сотрудник, Институт органического синтеза им. И. Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия. ORCID ID: 0000-0002-2877-6148

Русинов Геннадий Леонидович — к. х. н., ведущий научный сотрудник, Институт органического синтеза им. И. Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия. ORCID ID: 0000-0001-8567-9435

Вербицкий Егор Владимирович — д. х. н., директор института, Институт органического синтеза им. И. Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия. ORCID ID: 0000-0002-9613-8738

Чарушин Валерий Николаевич — д. х. н., заведующий лабораторией, Институт органического синтеза им. И. Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия. ORCID ID: 0000-0002-9140-358X

Котовская Светлана Константиновна — к. х. н., ведущий научный сотрудник, Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия. ORCID ID: 0000-0002-3213-9838

Русинов Владимир Леонидович — д. х. н., профессор, член-корр. РАН РФ, Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия. ORCID ID: 0000-0002-1705-4078

Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID ID: 0000-0002-5175-916X.

Vladimir V. Rubtsov — Ph. D. in Veterinary Sciences, Researcher at the 48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID ID: 0000-0003-4387-0367

Sergey V. Borisevich — D. Sc. in Biology, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the 48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID ID: 0000-0002-6742-3919.

Dmitrii L. Chizhov — Ph. D. in Chemistry, Senior Researcher, Postovsky Institute of Organic Synthesis of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-2877-6148

Gennady L. Rusinov — Ph. D. in Chemistry, Leading Researcher, Postovsky Institute of Organic Synthesis of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia. ORCID ID: 0000-0001-8567-9435

Egor V. Verbitskiy — D. Sc. in Chemistry, Director of the Postovsky Institute of Organic Synthesis of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-9613-8738

Valery N. Charushin — D. Sc. in Chemistry, Head of the Laboratory, Postovsky Institute of Organic Synthesis of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-9140-358X

Svetlana K. Kotovskaya — Ph. D. in Chemistry, Leading Researcher, Ural Federal University named after the first President of Russia B.N.Yeltsin, Ekaterinburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-3213-9838

Vladimir L. Rusinov — D. Sc. in Chemistry, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin, Ekaterinburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-1705-4078