

# Изучение активности противовирусных препаратов в отношении возбудителя лихорадки Чикунгунья в культуре клеток

С. Я. ЛОГИНОВА, В. Н. ЩУКИНА, С. В. САВЕНКО, Р. В. САХАРОВ, \*С. В. БОРИСЕВИЧ

ФГБУ «48 Центральный НИИ» Минобороны России», Московская область, Сергиев Посад, Россия

## Study of the Activity of Antiviral Drugs Against the Causative Agent of Chikungunya Fever in Cell Culture

SVETLANA YA. LOGINOVA, VERONIKA N. SCHUKINA, SERGEY V. SAVENKO, ROMAN V. SAKHAROV, \*SERGEY V. BORISEVICH

48<sup>th</sup> Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia

### Резюме

Вирус Чикунгунья является представителем вирусов рода *Flavivirus*, семейства *Flaviviridae*, и относится к зоонозным арбовирусным инфекциям, переносимым комарами рода *Aedes*. В организме человека этот флавивирус вызывает заболевание, известное как лихорадка чикунгунья, этиологически родственное жёлтой лихорадке, лихорадке денге, Западного Нила и Зика. Специфического лечения лихорадки чикунгунья нет, вакцина или же химиопрепараты на сегодняшний день также отсутствуют. Проведённый сравнительный анализ эффективности химиопрепаратов, индукторов интерферона и двух классов интерферона  $\alpha$ -,  $\beta$ -, и  $\gamma$ - показал, что препараты интерферона эффективно подавляют репродукцию вируса в культуре клеток Vero в широком диапазоне концентраций. Химиопрепараты Триазавирин®, Триазид® и Ингавирин® не влияли на репродукцию вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток Vero. Рибавирин® в концентрации 100 мкг/мл практически полностью подавлял репродукцию вируса Чикунгунья при внесении препарата в культуральную среду как до, так и после инфицирования.

**Ключевые слова:** вирус Чикунгунья; Триазавирин®; Рибавирин®; Ингавирин®; Реаферон-ЕС®; Rebif (β1a)®; противовирусная эффективность; культура клеток

**Для цитирования:** Логина С. Я., Щукина В. Н., Савенко С. В., Сахаров Р. В., Борисевич С. В. Изучение активности противовирусных препаратов в отношении возбудителя лихорадки Чикунгунья в культуре клеток. *Антибиотики и химиотер.* 2022; 67: 11–12: 10–15. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-11-12-10-15>.

### Abstract

Chikungunya virus (CHIKV) is a member of the *Flavivirus* genus, *Flaviviridae* family. It belongs to the zoonotic arbovirus infections transmitted by mosquitoes of the genus *Aedes*. In humans, this flavivirus causes a disease known as Chikungunya fever, etymologically related to yellow fever, dengue, West Nile, and Zika. There is no specific treatment for Chikungunya fever, as there is no vaccine or preventive measures to date. A comparative analysis of the effectiveness of chemotherapy drugs, interferon inducers and two classes of interferon  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and  $\gamma$ - showed that interferon drugs effectively inhibit the reproduction of CHIKV in the Vero cell culture in a wide range of concentrations. Chemotherapy drugs Triazavirin® and Ingavirin® did not affect the reproduction of CHIKV strain FN198/66 in Vero cell culture. Ribavirin® at a concentration of 100 µg/ml almost completely suppressed the reproduction of the CHIKV virus when the drug was introduced into the culture medium both before and after infection.

**Keywords:** Chikungunya virus; Triazavirin®; Ribavirin®; Ingavirin®; Reaferon-EU®; Rebif (β1a)®; antiviral efficacy; cell culture

**For citation:** Loginova S. Ya., Schukina V. N., Savenko S. V., Sakharov R. V., Borisevich S. V. To study the activity of antiviral drugs against the causative agent of Chikungunya fever in cell culture. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2022; 67: 11–12: 10–15. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-11-12-10-15>.

### Введение

Новые и вновь возникающие вирусные инфекции представляют собой серьёзную проблему

для здравоохранения и ветеринарии. Вирус Чикунгунья (CHIKV), артротогенный альфавирус, вызывает взрывоопасные эпидемии с участием миллионов случаев. Глобально расширяющиеся

пандемии CHIKV с ревматическими расстройствами и постинфекционные осложнения усиливают проблемы общественного здравоохранения. Однако противовирусная терапия или вакцины для борьбы с инфекцией CHIKV ещё не одобрены. Инфекция, вызванная вирусом Чикунгунья, является постоянной проблемой во всём мире благодаря эффективной адаптации вирусных векторов *Aedes aegypti* и *Aedes albopictus mosquitoes*. Для борьбы с тяжёлыми случаями лихорадки необходимы эффективные противовирусные средства.

В последние годы в клинических испытаниях оценивали несколько противовирусных препаратов; однако для клинической терапии не было зарегистрировано ни одно из изученных средств. *In vitro* выявили потенциальные анти-CHIKV-препараты. Были идентифицированы четыре соединения: никлозамид, нитазоксанид, нифлумовая кислота, тольфенамовая кислота [1].

Выявлен новый класс малых молекул ([1,2,3] триазоло [4,5-d] пиримидин-7 (6H)-триазинонов) с высокой активностью *in vitro* против изолятов CHIKV из разных географических регионов [2]. Изучение активности класса тиено [3,2-b] пирролов и открытие тризамещённого тиено [3,2-b] пиррол-5-карбоксамид 15с показало, что оно проявляет высокую ингибирующую активность против инфекции CHIKV *in vitro*. Соединение 15с демонстрирует низкую микромолярную активность (значение  $EC_{50}$  около 2 мкМ) и ограниченное цитотоксическое действие ( $CC_{50} > 100$  мкМ), поэтому оно даёт индекс селективности, превышающий 32. Примечательно, что 15с не только контролирует продуцирование вирусной РНК, но и эффективно ингибирует экспрессию белков CHIKV nsP1, nsP3, капсидов и E2 с концентрацией до 2,5 мкМ. Что более важно, соединение 15с также выявило антивирусную активность широкого спектра действия против других клинически важных альфавирусов, таких как вирус О'нон-Ньон и вирус Синдбиса [3].

Соединения природного происхождения, такие как флавоноиды [4], известные лекарственные средства, такие как никлозамид [1] и сурамин [5], синтетические соединения [6–8] ингибируют репродукцию CHIKV в опытах *in vitro*.

Доклинические исследования показали, что монотерапия препаратом Рибавирин® задерживает репродукцию CHIKV, но не полностью его подавляет. Кроме того, высокие концентрации препарата Рибавирин® были необходимы для достижения существенного противовирусного эффекта, с  $EC_{50}$  и  $EC_{90}$  значениями 142,70 мкг/мл и 238,35 мкг/мл, соответственно. Эти концентрации выходят за пределы терапевтического окна для препарата Рибавирин® и считаются токсичными для человека [9].

CHIKV очень чувствителен к противовирусной активности интерферонов типа I (ИФН- $\alpha/\beta$ ). Мо-

нотерапия ИФН альфа была эффективной против CHIKV при высоких концентрациях. Уровни ИФН альфа, по меньшей мере 100 МЕ/мл, подавляют продукцию CHIKV на 1-й день после терапии, но необходимы 10 000 МЕ/мл для поддержания противовирусной активности через 3 дня [10].

Комбинированная химиотерапия с 2 и более противовирусными агентами является привлекательной терапевтической стратегией для обеспечения повышенной противовирусной активности [11, 12]. Рибавирин® и ИФН альфа обладают противовирусной активностью против CHIKV и проявляют синергетический эффект при использовании в качестве комбинированной химиотерапии.

Favipiravir (T-705), противовирусное средство, одобренное в Японии для лечения вируса гриппа, вместе с его дефторированным аналогом T-1105, ингибировал репликацию CHIKV *in vitro* [13]. Кроме того, у инфицированных CHIKV мышей AG129, получавших перорально T-705, было выявлено менее тяжёлое неврологическое заболевание и более 50% снижение смертности [13].

RNAi-опосредованное ингибирование репликации вируса стало многообещающей антивирусной стратегией. Небольшая интерферирующая РНК (siRNA) и небольшие молекулы РНК (shRNA) шпильки являются основными для интерференции РНК [14].

Цель работы — изучение *in vitro* активности некоторых химиопрепаратов, индукторов интерферона и рекомбинантных человеческих интерферонов в отношении вируса Чикунгунья.

## Материал и методы

**Вирус.** В работе использовали вирус Чикунгунья, штамм FN198/66, хранящийся в Специализированной коллекции ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России.

**Исследуемые препараты.** Рибавирин® — химиопрепарат (1- $\beta$ -D-рибофуранозил-1,2,4-триазол-3-карбоксамид) производства Dragon Hwa ChemPharm Co. Limited. Ингавирин® — противовирусный химиопрепарат ОАО Валента Фармацевтика, Россия. Триазавирин® — противовирусный химиопрепарат, производства «Медсинтез», Россия. Триазид — экспериментальный образец, предоставленный ФГБУН Института органического синтеза им. И. Я. Постовского УО РАН. Реаферон ЕС® — человеческий рекомбинантный  $\alpha$ -2b-интерферон производства ЗАО «Вектор-Медика», Россия. Rebif® ( $\beta$ 1a) — человеческий рекомбинантный  $\beta$ -1a интерферон производства Serono, Италия. Роферон-А® — человеческий рекомбинантный интерферон  $\alpha$ -2a производства Ф. Хоффманн-Ля рош Лтд., Швейцария. Гаммаферон® — генно-инженерный человеческий  $\gamma$ -интерферон производства НПО «Фермент» «Санитас». Ларифан® — высокомолекулярный индуктор интерферона, дц РНК фага f2 *E.coli*, производства Института микробиологии им. Кирхенштейна, Латвия. Ридостин® — высокомолекулярный индуктор интерферона, дц РНК дрожжей, производства ЗАО «Вектор-Медика», Россия.

Для изучения влияния препаратов на репродукцию вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, лекарственные препараты вносили в культуру клеток по следующим схемам: за 24 ч до инфицирования в среду поддержания и через 2 ч

**Таблица 1. Результаты оценки влияния химиопрепаратов на репродукцию вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток Vero Cl008**

**Table 1. The results of assessing the effect of chemotherapy drugs on the reproduction of the Chikungunya virus, strain FN198/66, in Vero Cl008 cell culture**

Препарат	Доза препарата, мкг/мл	Схема внесения препарата	Подавление репродукции вируса, $\Delta lg$	Коэффициент ингибирования, КИ, %
Ингавирин®	250	За 1 ч до инфицирования	0,0	0,00
Триазавирин®	100		0,0	0,00
Триазид	100		0,1	20,00
Рибавирин®	100		4,7	99,99
	25	Через 1 ч после инфицирования	1,2	93,18
Ингавирин®	250		0,2	40,00
Триазавирин®	100		0,1	20,00
Триазид	100		0,1	20,00
Рибавирин®	100		4,9	99,99
	25		1,5	97,09

**Таблица 2. Результаты оценки влияния интерферона на репродукцию вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток КЛ-17**

**Table 2. The results of assessing the effect of interferon on the reproduction of the Chikungunya virus, strain FN198/66, in KL-17 cell culture**

Препарат	Доза препарата, мкг/мл	Схема внесения препарата	Подавление репродукции вируса, $\Delta lg$	Коэффициент ингибирования, КИ, %
Реаферон ЕС®	10 <sup>5</sup>	За 24 ч до инфицирования	6,3	100,00
Роферон-А®	10 <sup>5</sup>		6,3	100,00
Ребиф®	10 <sup>4</sup>		4,6	99,99
Гаммаферон®	10 <sup>5</sup>		4,1	99,99
Реаферон ЕС®	10 <sup>5</sup>	Через 1 ч после инфицирования	4,5	99,99
Роферон А®	10 <sup>5</sup>		5,5	99,99
Ребиф®	10 <sup>4</sup>		3,1	99,90
Гаммаферон®	10 <sup>5</sup>		1,8	98,50

после инфицирования. Препараты вносили в культуральную среду, инкубировали в течение 24 ч при температуре 37°C. После удаления среды, содержащей исследуемый препарат, вносили вирус при инфицирующей дозе 0,0001 БОЕ на клетку (Vero Cl008) и 0,3 БОЕ на клетку (КЛ-17). На каждую дозу препарата использовали не менее 4 пробирок с монослоем клеток суточного возраста. После адсорбции вируса в течение 60 мин при температуре 37°C монослой трижды промывали питательной средой, содержащей по 100 ед/мл пенициллина и стрептомицина, вносили свежую среду (по второй схеме — среду с исследуемыми препаратами) и инкубировали 48 ч (Vero Cl008) и 72 ч (КЛ-17). По окончании инкубации проводили криодеструкцию клеток: трёхкратным быстрым замораживанием в криостате и быстрым оттаиванием (водяная баня при комнатной температуре).

**Культура клеток.** Использована постоянная культуры клеток почек африканской зелёной мартышки — Vero Cl008, диплоидные клетки лёгкого эмбриона человека КЛ-17. В качестве ростовой среды и среды поддержания использовали полусинтетическую среду (ПС-4) на растворе Ирля, содержащую 7,5 и 2,0% фетальной сыворотки крупного рогатого скота, соответственно.

**Оценка биологических свойств вируса.** Биологическую активность вируса Чикунгунья оценивали титрованием в культуре клеток Vero Cl008 по формированию негативных колоний (lg БОЕ/мл).

**Оценка противовирусной эффективности** экспериментальных субстанций осуществлена в соответствии с рекомендациями ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России [15].

**Основными критериями оценки эффективности препаратов *in vitro*** являются подавление уровня накопления вируса ( $\Delta lg$ ) и показатель коэффициента ингибирования репродукции вируса (КИ, процент).

Коэффициент ингибирования (КИ, %) рассчитывали по формуле:

$$КИ = [(A_{\text{контр}} - A_{\text{оп}}) / A_{\text{контр}}] \times 100\% (1),$$

где:  $A_{\text{контр}}$  — биологическая активность вируса, определённая в клетках без внесения химиопрепарата, БОЕ/мл;  $A_{\text{оп}}$  — биологическая активность вируса, определённая в клетках с внесением химиопрепарата, БОЕ/мл.

**Статистический анализ.** Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием программы Microsoft Office Excel 2007. Полученные результаты представляли в виде среднего и ошибки репрезентативности ( $\bar{X} \pm \delta_x$ ) [16].

## Результаты и обсуждение

Проведённые ранее исследования по оценке уровня накопления вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, показали, что возбудитель в широком диапазоне инфицирующих доз в культуре клеток Vero Cl008 накапливается в высоких концентрациях в культуре клеток КЛ-17 только при высокой множественности инфицирования.

Результаты оценки влияния химиопрепаратов на репродукцию вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток Vero Cl008 представлены в табл. 1. Показано, что пептидомиметик Ингавирин®, препараты триазолового ряда Триазавирин® и Триазид в изученных концентрациях не выявили противовирусную активность ни по одной схеме применения.

**Таблица 3. Результаты оценки влияния  $\alpha$ -интерферона на репродукцию вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток Vero C1008**

**Table 3. The results of assessing the effect of  $\alpha$ -interferon on the reproduction of the Chikungunya virus, strain FN198/66, in Vero C1008 cell culture**

Схема внесения препарата	Препарат	Доза препарата, МЕ/мл	Подавление репродукции вируса, $\Delta Ig$	Коэффициент ингибирования, КИ, %
За 24 ч до инфицирования	Реаферон ЕС®	10 <sup>4</sup>	4,9	99,99
		10 <sup>3</sup>	4,7	99,99
		10 <sup>2</sup>	2,3	99,46
		10 <sup>1</sup>	1,4	95,96
	Роферон-А®	10 <sup>4</sup>	4,7	99,99
		10 <sup>3</sup>	4,7	99,99
		10 <sup>2</sup>	3,2	99,94
		10 <sup>1</sup>	3,2	99,93
Через 1 ч после инфицирования	Реаферон ЕС®	10 <sup>4</sup>	4,9	99,99
		10 <sup>3</sup>	4,9	99,99
		10 <sup>2</sup>	4,7	99,99
		10 <sup>1</sup>	2,1	99,21
	Роферон-А®	10 <sup>4</sup>	4,7	99,99
		10 <sup>3</sup>	4,7	99,99
		10 <sup>2</sup>	4,7	99,99
		10 <sup>1</sup>	4,7	99,99

**Таблица 4. Результаты оценки влияния индукторов интерферона на репродукцию вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток КЛ-17**

**Table 4. The results of assessing the effect of interferon inducers on the reproduction of the virus Chikungunya, strain FN198/66, in KL-17 cell culture**

Препарат	Доза препарата, мкг/мл	Схема внесения препарата	Подавление репродукции вируса, $\Delta Ig$	Коэффициент ингибирования, КИ, %
Ларифан®	250	За 24 ч до инфицирования	1,5	96,8
Ридостин®	250		1,5	96,8
Ларифан®	250	Через 1 ч после инфицирования	0,4	61,9
Ридостин®	250		0,3	52,5

Рибавирин® в концентрации 100 мкг/мл практически полностью подавлял репродукцию вируса Чикунгунья при внесении препарата в культуральную среду как до, так и после инфицирования. При снижении концентрации препарата в 4 раза эффективность также значительно снизилась. В концентрации 25 мкг/мл Рибавирин® при внесении до инфицирования выявил низкую эффективность, после инфицирования — умеренную эффективность. Таким образом, из изученных химиопрепаратов только Рибавирин® в большой концентрации высокоэффективно подавляет репродукцию вируса Чикунгунья.

Проведённые исследования влияния двух типов человеческого рекомбинантного интерферона на репродукцию вируса, представленные в табл. 2, свидетельствуют, что в высоких концентрациях интерфероны как I типа ( $\alpha$ -ИФ,  $\beta$ -ИФ), так и II типа ( $\gamma$ -ИФ) практически полностью подавляют репродукцию вируса Чикунгунья в диплоидной культуре клеток лёгкого эмбриона человека. Зависимость эффективности препаратов от времени их применения не выявлена.

Было также изучено влияние различных концентраций рекомбинантных человеческих интер-

феронов I типа на репродукцию вируса Чикунгунья в перевиваемых клетках почки африканской зелёной маргаритки Vero C1008.

Результаты, представленные в табл. 3, показывают, что изученные препараты в широком диапазоне концентраций эффективно подавляют размножение вируса Чикунгунья. Даже в очень низкой концентрации (10 МЕ/мл) препарат Роферон-А® выявил высокую противовирусную активность: практически полностью подавлял репродукцию вируса по обоим изученным схемам применения.

Реаферон ЕС® в концентрации 10 МЕ/мл умеренно эффективно подавлял размножение вируса при внесении до инфицирования и высокоэффективно — после заражения клеток.

Результаты оценки влияния высокомолекулярных индукторов интерферона на репродукцию вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток КЛ-17 представлены в табл. 4.

Показано, что при внесении препаратов за 24 ч до инфицирования клеток Ларифан® и Ридостин® выявили умеренную противовирусную активность. При внесении препаратов через 1 ч после инфицирования — эффективность не установлена. Полу-



**Таблица 5.** Изучение влияния сочетанного применения  $\alpha$ -интерферона и Рибавирина® на репродукцию вируса чикунгунья, штамм FN198/66 в монослое культуры клеток Vero C1008 ( $n=3$ )  
**Table 5.** Study of the effect of the combined use of  $\alpha$ -interferon and Ribavirin® on the reproduction of the Chikungunya virus, strain FN198/66 in the monolayer of Vero C1008 cell culture ( $n=3$ )

Схема внесения препарата	Препарат	Доза препарата, МЕ/мл	Подавление репродукции вируса, $\Delta\lg$	Коэффициент ингибирования, КИ, %
За 24 ч до инфицирования	Рибавирин®	25	2,3	99,46
	Реаферон ЕС®*	100		
	Рибавирин®	25	1,5	96,40
	Реаферон ЕС®*	10		
	Рибавирин®	25	1,2	93,18
	Реаферон ЕС®*	100	2,3	99,46
Через 1 ч после инфицирования		10	1,4	95,96
	Рибавирин®	25	5,3	99,99
	Реаферон ЕС®*	100		
	Рибавирин®	25	2,7	99,79
	Реаферон ЕС®*	10		
	Рибавирин®	25	1,6	97,09
	Реаферон ЕС®*	100	4,7	99,99
		10	2,1	99,21

ченные результаты согласуются с научным положением, что для создания индукторами интерферона антивирусного состояния клеток необходимо время. Максимум синтеза интерферона, индуцированного дц РНК, приходится на 6–8 ч после внесения препаратов. В культуре клеток Vero C1008 антивирусная активность препаратов Ларифан® и Ридостин® не выявлена ни по одной из применяемых схем.

По-видимому, в ближайшей перспективе отдельные препараты не решат проблему борьбы с той или иной вирусной инфекцией. Комбинированное применение противовирусных препаратов с различным механизмом действия открывает несомненные перспективы в профилактике и терапии вирусных инфекций.

Терапевтически эффективная концентрация рибавирина (600 мг препарата Рибавирин® на приём) вызывает токсическое действие [17]. Снижение дозы препарата приводит к снижению его эффективности. Представляет интерес изучение влияния сочетанного применения препарата Рибавирин® и препарата Реаферон ЕС® ( $\alpha$ 2-интерферон). Рибавирин® в концентрации 25 мкг/мл оказывает низкую противовирусную активность. В сочетании с препаратом Реаферон ЕС® и при применении за 24 ч до инфицирования не выявлен ни аддитивный, ни синергидный эффект. При комбинированном применении после инфицирования препарата Рибавирин® (в концентрации 25 мкг/мл) и препарата Реаферон ЕС® (в концентрации 10 МЕ/мл и 100 МЕ/мл) отмечено статистически достоверное (с вероятностью 95%) увеличение подавления репродукции вируса Чикунгунья.

## Заключение

Резюмируя изложенное можно заключить, что из всех изученных химиопрепаратов значимую

эффективность выявил только Рибавирин® в высокой концентрации. Препараты двух типов человеческого рекомбинантного интерферона как I типа ( $\alpha$ -ИФ,  $\beta$ -ИФ), так и II типа ( $\gamma$ -ИФ) практически полностью подавляют репродукцию вируса Чикунгунья в широком диапазоне концентраций.

При комбинированном применении противовирусных препаратов с различным механизмом действия Рибавирина и Реаферона выявлен аддитивный эффект при применении препаратов после инфицирования. Таким образом, из всех изученных лекарственных средств только рекомбинантные интерфероны выявили высокую противовирусную эффективность и являются перспективными препаратами в отношении вируса Чикунгунья.

## 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, сбор и обработка материала, написание текста, редактирование статьи; Шукина В. Н. — сбор и обработка материала, статистический анализ; написание текста; Савенко С. В. — сбор и обработка материала; Сахаров Р. Н. — сбор и обработка материала; Борисевич С. В. — написание текста, редактирование статьи.

**Funding.** The study was not sponsored.

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

**Contribution:** Loginova S. Ya. — research concept and design, literature data collection, material collection and processing, writing of the text, editing of the article; Shchukina V. N. — material collection and

processing, statistical analysis, writing of the text; Savenko S. V. — material collection and processing; Sakharov R. V. — material collection and processing;

Borisevich S. V. — writing of the text, editing of the article.

## Литература/References

1. Wang Y.M., W.J. Lu, Lin C.C. *et al.* Antiviral activities of niclosamide and nitazoxanide against chikungunya virus entry and transmission. *Antiviral Res.* 2016; 135: 81–90. doi: 10.1016/j.antiviral.2016.10.003.
2. Delang L., Li C., Tas A., Quérat G. *et al.* The viral capping enzyme nsP1: a novel target for the inhibition of chikungunya virus infection. *Sci Rep.* 2016; 6: 31819. doi: 10.1038/srep31819.
3. Ching K.C., Kam Y.W., Merits A. *et al.* Trisubstituted thieno[3,2-b]pyrrole 5-carboxamides as potent inhibitors of alphaviruses. *J Med Chem.* 2015; 58 (23): 9196–9213. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b01047.
4. Lani R., Hassandarvish P., Shu M.-H. *et al.* Antiviral activity of selected flavonoids against Chikungunya virus. *Antivir Res.* 2016; 133: 50–61. doi: 10.1016/j.antiviral.2016.07.009.
5. Albulescu I.C., van Hoolwerff M., Wolters L.A. *et al.* Suramin inhibits chikungunya virus replication through multiple mechanisms. *Antivir Res.* 2015; 121: 39–46. doi: 10.1016/j.antiviral.2015.06.013.
6. Staveness D., Abdelnabi R., Near K. E. *et al.* Inhibition of Chikungunya virus-induced cell death by salicylate-derived bryostatin analogues provides additional evidence for a PKC-independent pathway. *J Nat Prod.* 2016; 79 (4): 680–684. doi: 10.1021/acs.jnatprod.5b01017.
7. Mishra P., Kumar A., Mamidi P. *et al.* Inhibition of chikungunya virus replication by 1-[(2-Methylbenzimidazol-1-yl) methyl]-2-oxo-indolin-3-ylidene] amino] thiourea (MBZM-N-IBT). *Sci Rep.* 2016; 6: 20122.
8. Varghese F.S., Thaa B., Amrun S.N. *et al.* The antiviral alkaloid berberine reduces chikungunya virus-induced mitogen-activated protein kinase signaling. *J Virol.* 2016; 90: 9743–9757. doi: 10.1128/JVI.01382-16.
9. Preston S.L., Drusano G.L., Glue P. *et al.* Pharmacokinetics and absolute bioavailability of ribavirin in healthy volunteers as determined by stable-isotope methodology. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999; 43: 2451–2456. doi: 10.1128/AAC.43.10.2451.

10. Food and Drug Administration (FDA). Interferon alfa-2a (Roferon-A) product approval information. Solution for injection — vials. 3/14/2003 ed Nutley, NJ: FDA, 2003; 12.
11. Gallegos K.M., Drusano G.L., D Argenio D.Z., Brown A.N. Chikungunya virus: *in vitro* response to combination therapy with ribavirin and interferon Alfa 2a. *J Infect Dis.* 2016; 214 (8): 1192–1197. doi: 10.1093/infdis/jiw358.
12. Scagnolari C., Caputo B., Rezza G., Antonelli G. Antiviral activity of the combination of interferon and ribavirin against Chikungunya virus: are the results conclusive? *J Infect Dis.* 2017; 215 (3): 492–493. doi: 10.1093/infdis/jiw579.
13. Delang L., Segura Guerrero N., Tas A. *et al.* Mutations in the Chikungunya virus non-structural proteins cause resistance to favipiravir (T-705), a broad-spectrum antiviral. *J Antimicrob Chemother.* 2014; 69 (10): 2770–2784. doi: 10.1093/jac/dku209.
14. Kaur P., Thiruchelvan M., Lee R.C.H. *et al.* Inhibition of Chikungunya virus replication by Harringtonine, a novel antiviral that suppresses viral protein expression. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013; 57 (1): 155. doi: 10.1128/AAC.01467-12.
15. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1, М.: Минздрав РФ, 2013; 942. [Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1, Москва: Минздрав РФ, 2013; 942. (in Russian)]
16. 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)]
17. Ravichandran R., Manian M. Ribavirin therapy for Chikungunya arthritis. *J Infect Developing Countries.* 2008; 2 (2): 140–142.

## Информация об авторах

Логинова Светлана Яковлевна — д. б. н., ведущий научный сотрудник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России», Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID: 0000-0001-6732-8404. eLibrary Spin: 8764-7946

Шукина Вероника Николаевна — к. б. н., научный сотрудник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России», Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID: 0000-0002-5461-3641. eLibrary Spin: 1504-4433

Савенко Сергей Владимирович — научный сотрудник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России», Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID: 0000-0002-5175-916X. eLibrary Spin: 6353-7075

Сахаров Роман Владимирович — старший научный сотрудник отдела опасных вирусных инфекций, ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, Сергиев Посад-6, Россия. ORCID: 0000-0001-6155-1365

Борисевич Сергей Владимирович — д. б. н., профессор, академик РАН РФ, начальник института ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России», Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID: 000-0002-6742-3919

## About the authors

Svetlana Ya. Loginova — D. Sc. in Biology, leading researcher at the 48<sup>th</sup> Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID: 0000-0001-6732-8404. eLibrary Spin: 8764-7946

Veronika N. Schukina — Ph. D. in Biology, researcher at the 48<sup>th</sup> Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID: 0000-0002-5461-3641. eLibrary Spin: 1504-4433

Sergey V. Savenko — researcher at the 48<sup>th</sup> Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID: 0000-0002-5175-916X. eLibrary Spin: 6353-7075

Roman V. Sakharov — Senior researcher at the Department of Dangerous Viral Infections, 48<sup>th</sup> Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID: 0000-0001-6155-1365

Sergey V. Borisevich — D. Sc. in Biology, professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the Institute, 48<sup>th</sup> Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID: 0000-0002-6742-3919. eLibrary Spin: 5753-3400