

эпидемиологических испытаний со специфическими вакцинами при КЭ, ВсЭЛ и желтой лихорадке у инфицированных лиц. Таким образом, выявлена достоверная эффективность сочетанного действия ИМ ридостина, ПРТ, ГМДП, ПГ-160 и специфических вакцин на выживаемость мышей при арбовирусных инфекциях. При альфа-вирусной инфекции сочетанное действие специфической вакцины и ридостина сопровождалось повышением уровня специфического гуморального иммунитета (специфические антитела) и клеточного иммунитета (адоптивный перенос иммунных лимфоцитов). Сочетанное использование специфической вакцины и ридостина может быть рекомендовано для клинических испытаний при КЭ в очагах инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баринский И.Ф., Шубладзе А.К. Этиология хронических вирусных нейроинфекций. М.: Медицина; 1980.
2. Баринский И.Ф., Ершов Ф.И., Ионова О.И., Тазулахова Э.Б. Сочетанное применение специфической вакцины и индукторов интерферона для профилактики и лечения экспериментального клещевого энцефалита. Вопросы вирусологии. 1984; 2: 214–7.
3. Баринский И.Ф., Лазаренко А.А., Алимбарова Л.М., Давыдова А.А. Эффективность сочетанного применения иммуномодуляторов и вакцины при клещевом энцефалите в эксперименте. Вопросы вирусологии. 2011; 56 (4): 45–7.
4. Баринский И.Ф., Лазаренко А.А., Алимбарова Л.М. Изучение эффективности использования отечественных иммуномодуляторов, а также их сочетанного действия со специфическими вакцинами при экспериментальных арбовирусных инфекциях. Иммунология. 2012; 33 (4): 181–3.
5. Баринский И.Ф., Лазаренко А.А., Алимбарова Л.М., Давыдова А.А. Экспериментальное изучение защитного эффекта сочетан-

ного действия отечественных иммуномодуляторов индукторов интерферона и специфических убитых вакцин при альфа- и флавивирусных инфекциях. В кн.: Интерферон 2011: Сборник научных статей. М.; 2012: 455–60.

6. Баринский И.Ф., Алимбарова Л.М., Лазаренко А.А., Дига В.И. Эффективность препаратов на основе *Fusarium sambucinum* в отношении вируса желтой лихорадки. В кн.: Тезисы докладов 3-го съезда микологов России. М.; 2012: 404–5.
7. Ершов Ф.И. Современный арсенал противовирусных препаратов. Вопросы вирусологии. 2012; Приложение 1: 169–79.

REFERENCES

1. Barinsky I.F., Shubladze A.K. Etiology of chronic viral infections. Moscow: Meditsina; 1980 (in Russian).
2. Barinsky I.F., Ershov F.I., Ionova O.I., Tazulakhova A.B. The combined application of specific vaccine, interferon inducers for the prevention, treatment of experimental tick-borne encephalitis. *Voprosy virusologii*. 1984; 2: 214–7 (in Russian).
3. Barinsky I.F., Alimbarova L.M., Lazarenko A.A., Davydova A.A. The effectiveness of combined application of immunomodulators, vaccines at a tick энцефалите in the experiment. *Voprosy virusologii*. 2011; 56 (4): 45–7 (in Russian).
4. Barinsky I.F., Alimbarova L.M., Lazarenko A.A. Studying the efficiency of the domestic immunomodulator, as well as their combined action with specific vaccines in experimental арбовирусных infections. *Immunology*. 2012; 33 (4): 181–3 (in Russian).
5. Barinsky I.F., Alimbarova L.M., Lazarenko A.A., Davydova A.A. Experimental study of the protective effect of the combined action of the domestic immunomodulator interferon inducers, specific killed vaccines in the alpha, flavivirus infections. In: *Interferon 2011: Proc. collection of scientific articles*. Moscow; 2012: 455–60 (in Russian).
6. Barinsky I.F., Alimbarova L.M., Lazarenko A.A., Diga V.I. Effectiveness of drugs on the basis of *Fusarium sambucinum* in respect of the yellow fever virus. In: *Proc. 3-th Russia Congress of the mycology*. Moscow; 2012: 404–40 (in Russian).
7. Ershov F.I. Modern arsenal of antiviral drugs. *Voprosy virusologii*. 2012 (Suppl. 1): 169–79 (in Russian).

Поступила 24.01.13

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 615.281.8:578.821.5].076.9

А.С. Кабанов¹, Ал.А. Сергеев¹, Л.Н. Шишкина¹, Л.Е. Булычев¹, М.О. Скарнович¹, Ар.А. Сергеев¹, Н.И. Бормотов¹, О.В. Пьянков¹, О.А. Серова¹, С.А. Боднев¹, Б.А. Селиванов², А.Я. Тихонов², А.П. Агафонов¹, А.Н. Сергеев¹

Сравнительное изучение противовирусной активности химических соединений в отношении ортопоксвирусов в экспериментах *in vivo*

¹ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», 630559, пос. Кольцово, Новосибирская область;

²ФГБУН Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения РАН, 630090, Новосибирск

В экспериментах при интраназальном (и/н) заражении мышей вирусом экстремелии (ВЭ) в дозе 10 ПД₅₀/гол. (10 · 50 % летальных доз/голову) или вирусом оспы обезьян (ВОО) в дозе 10 ИД₅₀/гол. (10 · 50 % инфицирующих доз/голову) оценивали противовирусную эффективность химических соединений – конденсированных производных пирролидин-2,5-диона, а также их предшественников и ближайших аналогов, синтезированных в Новосибирском институте органической химии Сибирского отделения РАН (НИОХ СО РАН). В качестве положительного контроля использовали противооспенный химический препарат ST-246, разработанный компанией «SIGA Technologies Inc.» (США) и синтезированный в НИОХ СО РАН по описанной авторами методике. Было показано, что соединение НИОХ-14 (7-[N'-(4-трифторметилбензоил)-гидразинокарбонил]-трицикло[3.2.2.0_{2,4}]нон-8-ен-6-карбоновая кислота) обладает сравнимой с ST-246 противовирусной активностью в отношении ВЭ и ВОО по всем исследованным показателям. Так, при заражении мышей ВЭ (штамм К-1) и пероральном введении НИОХ-14 и ST-246 в дозе 50 мкг на 1 г массы мыши (12–14 г) в течение 10 сут выживаемость и средняя продолжительность жизни мышей достоверно превышали контрольные уровни. В этих же группах титры ВЭ в легких через 6 сут после инфицирования были ниже, чем в контроле. Кроме того, через 7 сут после заражения мышей ВОО (штамм V79-1-005) и ежедневного перорального введения НИОХ-14 и ST-246 в дозе 60 мкг на 1 г массы мыши (9–11 г) наблюдалось достоверное снижение доли инфицированных животных и титров ВОО в легких.

Ключевые слова: мыши; ортопоксвирусы; вирус оспы обезьян; вирус экстремелии; противовирусная активность; конденсированные производные пирролидин-2,5-диона.

A Comparative Study of the Antiviral Activity of Chemical Compounds Concerning the Orthopoxviruses Experiments in vivo

A. S. Kabanov¹, Al. A. Sergeev¹, L. N. Shishkina¹, L. E. Bulychev¹, M. O. Skarnovich¹, Ar. A. Sergeev¹, N. I. Bormotov¹, O. V. Pyankov¹, O. A. Serova¹, S. A. Bodnev¹, B. A. Selivanov², A. Ya. Tikhonov², A. P. Agafonov¹, A. N. Sergeev¹

¹ State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", 630559, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia; ² Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, 630090, Novosibirsk, Russia

In the experiments using intranasal (i/n) infection of mice with the ectromelia virus (EV) in a dose 10 LD₅₀/head (10 × 50% lethal dose/head) or with the monkeypox virus (MPXV) in a dose 10 ID₅₀/head (10 × 50% infective dose/head) it was demonstrated that the antiviral efficiency of chemical compounds – the condensed derivatives of pyrrolidin-2,5-dion, as well as their predecessors and the nearest analogues, synthesized in Novosibirsk Institute of Organic Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (NIOCH SB RAS) was observed. As a positive control we used the antipoxvirus chemical preparation ST-246 available from SIGA Technologies Inc. (USA), synthesized in NIOCH SB RAS by the technique suggested by the authors. It was demonstrated that the compound NIOCH-14 (7-[N'-(4-Trifluoromethylbenzoyl)-hydrazidocarbonyl]-tricyclo[3.2.2.0.2,4]non-8-en-6-carbonic acid) possessed comparable with ST-246 antiviral activity concerning EV and MPXV on all indicators used. Therefore, at infection of mice with EV (strain K-1) and peroral administration of NIOCH-14 and ST-246 in a dose 50 mkg/g of mouse weight (12-14 g) within 10 days the survival rate and average life expectancy of mice authentically exceeded the control levels. EV titers in lungs through 6 days after infection in the same groups were lower than in the control. In addition to that, after 7 days of infection of mice with MPXV (strain V79-1-005) and daily peroral administration of NIOCH-14 and ST-246 in a dose 60 mkg/g of mouse weight (9-11 g) authentic decrease in a part of infected animals and MPXV titers in lungs was observed.

Key words: mice, orthopoxviruses, monkeypox virus, ectromelia virus, antiviral activity, condensed derivatives of pyrrolidin-2,5-dion

Ортопоксвирусы могут вызывать у людей заболевания с широким диапазоном клинических проявлений: от серьезных диссеминированных повреждений в случае заражения вирусом натуральной оспы (ВНО) до локальных повреждений при инфекции, вызванной вирусом оспы коров. После завершения программы «глобальной ликвидации оспы» на Земле благодаря массовой иммунизации населения и отмены вакцинации против оспы в 1980 г. в мире сложилась опасная ситуация, когда более половины людей на планете не имеют иммунитета против ортопоксвирусных инфекций. Несмотря на то что ВНО элиминирован из окружающей среды, другие ортопоксвирусы, например вирусы оспы обезьян и оспы коров, существуют, эволюционируют, распространяются и вызывают вспышки заболеваний среди людей [1, 2]. Также нельзя забывать о возможности использования ВНО биотеррористами, поскольку нет гарантии отсутствия его нелегального хранения или реконструкции на основе структуры ДНК [3]. В связи с этим особую важность приобретает поиск и разработка противовирусных препаратов, эффективных в отношении ВНО и других патогенных для человека ортопоксвирусов.

Применение существующих средств профилактики и лечения ортопоксвирусных инфекций ограничено высоким риском осложнений при вакцинации, особенно у людей с дефектами иммунной системы [4], а также быстрым формированием невосприимчивости вирусов к химиотерапии [5, 6]. Среди субстанций, пригодных для лечения ортопоксвирусных инфекций, названы тиосемикарбазоны, аналоги нуклеозидов, нуклеотидов, ациклические нуклеозиды и нуклеотиды, интерфероны и их индукторы [6]. К настоящему времени наиболее исследованными и перспективными противооспенными средствами являются разрабатываемые в США препараты гексадецил-оксипропил сидофовир (СМХ001) и ST-246 [5, 7, 8]. Тем не менее

надежные лекарственные средства для профилактики и лечения натуральной оспы и других ортопоксвирусных инфекций у человека до сих пор отсутствуют, поэтому проблема их создания является по-прежнему актуальной.

Целью данной работы было изучение противовирусной активности отечественных химически синтезированных соединений в отношении вирусов эктромелии и оспы обезьян в экспериментах на лабораторных животных.

Материалы и методы

Животные. В экспериментах использовали аутобредных мышей ICR обоего пола, полученных из питомника ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Животные содержались при естественном освещении на стандартном рационе со свободным доступом к воде. При выполнении исследований соблюдали «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.77 № 755) и придерживались «Руководства по содержанию и использованию лабораторных животных» [9].

Вирусы. В работе использовали вирус эктромелии (ВЭ, штамм К-1) и центрально-африканский штамм вируса оспы обезьян (ВОО, штамм V79-1-005), полученные из Государственной коллекции возбудителей вирусных инфекций и риккетсиозов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (пос. Кольцово, Новосибирская область). Вирусы нарабатывали в культуре клеток Vero. Концентрацию вирусов в культуральной жидкости определяли путем титрования методом бляшек в культуре клеток Vero, рассчитывали и выражали в десятичных логарифмах бляшкообразующих единиц в 1 мл (lg БОЕ/мл) [10]. Концентрация вируса в использованных в работе образцах ВЭ и ВОО составляла от 5,6 до 6,7 lg БОЕ/мл. Нароботанные и использованные серии вирусов с указанным титром хранили при -70°C.

Контактная информация:

Кабанов Алексей Сергеевич, науч. сотр.; e-mail: kabanov@vector.nsc.ru

В экспериментах с ВОО использовали изолирующие пневмокостюмы в лаборатории ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» с максимальным уровнем биологической защиты BSL-4.

Инфицирование мышей ВЭ и ВОО. Перед заражением мышей наркотизировали с помощью эфирного наркоза. Было установлено, что 50% летальная доза (LD_{50}) при интраназальном (и/н) введении ВЭ мышам массой 12–14 г равна 1,57 lg БОЕ/голову (37,2 БОЕ/гол.). При изучении противовирусной активности препаратов заражение мышей ВЭ производили путем введения и/н по 40 мкл суммарно в обе ноздри в дозе 10 LD_{50} /гол.

Ранее нами было показано, что мыши массой 9–11 г чувствительны к ВОО, который начиная с 7-х суток после и/н введения в дозе 4,8 lg БОЕ/гол. вызывает у 50 % мышей появление клинических признаков заболевания (гнойный конъюнктивит, блефарит, взъерошенность шерсти), исчезающих через 11–13 сут после заражения в отсутствие гибели мышей [11]. При наличии размножения ВОО в легких через 7 сут после и/н заражения мышей разными дозами ВОО была определена 50% инфицирующая доза (ID_{50}), равная 2,35 lg БОЕ/гол. (224 БОЕ/гол.). При изучении противовирусной активности препаратов мышей и/н заражали ВОО из расчета 30 мкл суммарно в обе ноздри в дозе 10 ID_{50} /гол.

Химические соединения. В работе были использованы 4 химических соединения, конденсированные производные пирролидин-2,5-диона, синтезированные в Новосибирском институте органической химии (НИОХ) им. Н.Н. Ворожцова СО РАН и ранее проявившие противовирусную активность в отношении ортопоксвирусов *in vitro*: {3,5-диоксо-4-азатетрацикло[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]додец-11-ен-4-ил}тиомочевина (НИОХ-3); полугидрат 4-{3,5-диоксо-4-азатетрацикло[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]додец-11-ен-4-ил}-4-азатетрацикло[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]додец-11-ен-3,5-диона (НИОХ-4); 7-[N⁷-(4-трифторметилбензоил)-гидразинокарбонил]-трицикло[3.2.2.0^{2,4}]нон-8-ен-6-карбоновая кислота (НИОХ-14); гидрат N-{3,5-диоксо-4-азатетрацикло[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]додец-11-ен-4-ил}-2-гидроксibenзамид (НИОХ-32) [12]. В качестве положительного контроля использовали химическое соединение с установленной противооспенной активностью 4-трифторметил-N-(3,4а,4,4а,5,5а,6,6а-октагидро-1,3-диоксо-4,6-етеноциклопроп[f]изоиндол-2(1H)-ил)-бензамид (ST-246), синтезированное в НИОХ им. Н.Н. Ворожцова СО РАН по описанной методике [13]. Все лабораторные образцы химических соединений были охарактеризованы и паспортизованы.

Введение химически синтезированных препаратов при инфицировании мышей ВЭ. Для исследования использовали препараты НИОХ-3, НИОХ-4, НИОХ-14, НИОХ-32 и ST-246. Все препараты вводили перорально 1 раз в сутки в дозе 50 мкг/г через 1 ч после заражения и далее в течение 9 сут после заражения ВЭ. Доза и схема введения препаратов были выбраны на основании литературных данных, согласно которым ST-246 в диапазоне доз от 30 до 100 мкг/г был эффективным в отношении летальных ортопоксвирусных инфекций у мышей [5, 7, 8, 14].

После заражения ВЭ за животными наблюдали в течение 21 сут, определяли долю павших животных,

подсчитывали коэффициент защиты (КЗ равно % павших в контроле – % павших в опыте) и среднюю продолжительность жизни (СПЖ) в каждой группе. За максимальную продолжительность жизни выживших животных принимали 21 сут после заражения ВЭ, т. е. гарантированное время прекращения специфической гибели инфицированных мышей, что было установлено эмпирически при многократном повторении аналогичных экспериментов. Через 6 сут после заражения 10 LD_{50} ВЭ у 5 животных из каждой группы брали легкие для определения титров ВЭ.

Введение химически синтезированных препаратов при инфицировании мышей ВОО. Для исследования использовали химически синтезированные соединения НИОХ-14, НИОХ-32 и ST-246. Все препараты вводили перорально 1 раз в сутки в дозе 60 мкг/г за 1 сут до заражения и далее в течение 7 сут после заражения ВОО. Доза препаратов была выбрана с учетом увеличения отношения площади поверхности к массе тела у мыши массой 9 г по сравнению с мышью массой 12 г [15] и опубликованных данных об эффективных дозах ST-246 в отношении ВОО, находящихся в диапазоне от 3 до 100 мкг/г массы обезьяны циномогус [16, 17]. Через 7 сут после заражения ВОО во всех группах мышей определяли долю инфицированных животных по наличию ВОО в легких и титры ВОО в легких. Затем на основании полученных результатов подсчитывали коэффициент защиты (КЗ равно % инфицированных в контроле – % инфицированных в опыте) и индекс подавления продукции вируса (ИПВ равно титр ВОО в контроле – титр ВОО в опыте, lg).

Определение титров ВЭ и ВОО в гомогенатах легких. Концентрацию ВЭ и ВОО в полученных от инфицированных мышей гомогенатах легких определяли стандартным для ортопоксвирусов методом подсчета количества блюшек при внесении в монослой культуры клеток Vero разведений образцов [10]. В случаях, когда ВОО в гомогенатах легких инфицированных мышей не выявлялся, т. е. был ниже порога чувствительности метода титрования, использовали минимальное значение титра, которое можно было определить при данном методе (1,1 lg БОЕ/мл).

Статистическая обработка. Статистическую обработку и сравнение результатов осуществляли стандартными методами [18] с помощью пакета компьютерных программ Statistica 6,0 («StatSoft Inc.», 1984–2001) [19]. Сравнение доли выживших или инфицированных животных в группах проводили по критерию χ^2 . Нормальность распределения титров вируса в легких и СПЖ мышей проверяли с помощью критерия Колмогорова–Смирнова для вероятности ошибки $p > 0,10$. Титры ВЭ в легких представлены как среднее значение \pm ошибка среднего ($M \pm m$). Их сравнение проводили с использованием t -критерия Стьюдента [18]. СПЖ мышей и титры ВОО в легких представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение ($M \pm S_M$). Для сравнения этих показателей в опыте и контроле применяли непараметрический U -критерий Манна–Уитни [18].

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что при заражении мышей 10 LD_{50} ВЭ (штамм К-1) количество выживших животных достоверно превышало контрольный уровень только при введении препа-

Противовирусная активность препаратов НИОХ-3, НИОХ-4, НИОХ-14, НИОХ-32 и ST-246 в отношении ВЭ *in vivo*

Группа мышей, получавших препараты в дозе 50 мкг/г	Показатели выживаемости и титры вируса в легких мышей массой 12–14 г, зараженных 10 ЛД ₅₀ ВЭ				
	количество выживших мышей	количество погибших мышей	КЗ, %	СПЖ, сут ($M \pm S_M$)	титры ВЭ в легких, lg БОЕ/мл ($M \pm m$)
НИОХ-3 ($n = 19$)	1 (5,3)	18 (94,7)	-5,2	9,50 ± 2,87	5,75 ± 0,18
НИОХ-4 ($n = 18$)	2 (11,1)	16 (88,9)	0,6	11,33 ± 3,98	4,17 ± 0,45*
НИОХ-14 ($n = 18$)	16** (88,9)	2** (11,1)	78,4	20,22 ± 2,26***	5,00 ± 0,36*
НИОХ-32 ($n = 17$)	2 (11,8)	15 (88,2)	1,23	10,06 ± 4,32	5,87 ± 0,29
ST-246 ($n = 19$)	18** (94,7)	1** (5,3)	84,2	20,84 ± 0,69***	4,68 ± 0,22*
Контроль ВЭ ($n = 19$)	2 (10,5)	17 (89,5)	–	10,67 ± 4,1	6,15 ± 0,10

Примечание. * – отличие от контроля по t -критерию Стьюдента при $p \leq 0,05$; ** – отличие от контроля по критерию χ^2 при $p < 0,00001$; *** – отличие от контроля по U -критерию Манна–Уитни при $p < 0,00001$; коэффициент защиты (КЗ) = % павших в контроле - % павших в опыте; СПЖ рассчитывали, принимая за максимальный срок жизни выживших животных 21 сут; титры ВЭ в легких определяли через 6 сут после инфицирования; n – число животных, M – среднее, m – ошибка среднего, S_M – стандартное отклонение, здесь и в табл. 2 в скобках процент

ратов НИОХ-14 и ST-246 в дозе 50 мкг/г (табл. 1). В этих же группах мышей СПЖ тоже была выше, чем в контроле (см. табл. 1), причем по показателям КЗ и СПЖ инфицированных мышей НИОХ-14 проявил такую же эффективность, как ST-246, тогда как препараты НИОХ-3 и НИОХ-4 не оказывали влияние на выживаемость мышей, зараженных ВЭ (см. табл. 1). В данной работе приведены результаты, полученные при введении мышам, инфицированным ВЭ, препаратов в дозе 50 мкг/г, поскольку пероральное введение НИОХ-14 и ST-246 в дозах 25 и 12,5 мкг/г было менее эффективным в отношении исследуемых показателей (результаты не представлены).

Было обнаружено, что под влиянием НИОХ-14 и ST-246 титры вируса в легких через 6 сут после инфицирования мышей ВЭ достоверно снижались относительно контрольного уровня (см. табл. 1). Вместе с тем в группе мышей, получавших НИОХ-4, продукция ВЭ была также ниже контрольного уровня (см. табл. 1). По-видимому, ингибирование наработки ВЭ в легких не является единственным и достаточным условием проявления защитного эффекта препаратов *in vivo*. Так, в отличие от НИОХ-14 и ST-246 введение НИОХ-4, НИОХ-3 и НИОХ-32 не препятствует размножению ВЭ в носовой полости, трахее, головном мозге, селезенке, поджелудочной железе, печени и почках (результаты не представлены). Есть данные, свидетельствующие о том, что ST-246 в дозе 100 мг/кг при заражении мышей вирусом вакцины (штамм WR)

ингибирует его диссеминацию и размножение в легких, печени, селезенке и головном мозге [14].

Далее в экспериментах при заражении мышей 10 ИД₅₀ ВОО (штамм V79-1-005) оценивали противовирусное действие препаратов НИОХ-14 и ST-246, а также НИОХ-32 как препарата сравнения, не давшего эффекта *in vivo* в отношении ВЭ. В табл. 2 приведены данные, полученные при заражении мышей ВОО и введении препаратов в дозе 60 мкг/г, поскольку НИОХ-14 и ST-246 в дозе 30 мкг/г не влияли на инфекционность ВОО (результаты не представлены). Достоверные различия в проценте не инфицированных ВОО животных и титрах ВОО в легких через 7 сут после заражения наблюдались только в группах, получавших препараты НИОХ-14 и ST-246. При этом противовирусное действие НИОХ-14 и ST-246 было практически одинаковым, а НИОХ-32 оказался неэффективным в отношении ВОО в экспериментах *in vivo* (см. табл. 2).

Таким образом, проведенные исследования показали, что химическое соединение НИОХ-14 обладает высокой противовирусной эффективностью в отношении ВЭ и ВОО *in vivo*. Более того, противоопухолевая эффективность НИОХ-14 сопоставима с противоопухолевой эффективностью ST-246 по всем исследованным показателям. Это позволяет сделать заключение о перспективности дальнейшего исследования химического соединения НИОХ-14 с целью разработки на его основе нового отечественного противоопухолевого препарата. По-видимому, соеди-

Противовирусная активность препаратов НИОХ-14, НИОХ-32 и ST-246 в отношении ВОО *in vivo*

Группа мышей, получавших препараты в дозе 60 мкг/г	Показатели инфицируемости и титры вируса в легких мышей массой 9–11 г, зараженных 10 ИД ₅₀ ВОО			
	количество неинфицированных мышей	количество инфицированных мышей	КЗ, %	титры ВОО в легких, lg БОЕ/мл ($M \pm S_M$)
НИОХ-14 ($n = 6$)	6* (100,0)	0* (0,0)	100,0	1,10 ± 0,00**
НИОХ-32 ($n = 6$)	0 (0,0)	6 (100,0)	0,0	3,86 ± 0,69
ST-246 ($n = 6$)	5*** (83,3)	1*** (16,7)	83,3	1,32 ± 0,53**
Контроль ВОО ($n = 12$)	0 (0,0)	12 (100,0)	–	4,28 ± 0,09

Примечание. * – отличие от контроля по критерию χ^2 при $p < 0,00001$; ** – отличие от контроля по U -критерию Манна–Уитни при $p = 0,00075$; *** – отличие от контроля по критерию χ^2 при $p = 0,0002$; коэффициент защиты (КЗ) = % инфицированных в контроле - % инфицированных в опыте; титры ВОО в легких определяли через 7 сут после инфицирования; n – число животных, M – среднее, S_M – стандартное отклонение.

нение НИОХ-14 имеет такой же механизм противовирусного действия в отношении ортопоксвирусов, что и препарат ST-246, аналогом которого он является [12]. ST-246®, или Tecovirimat™ разработан компанией «SIGA Technologies Inc.» по лицензии «ViroPharma Inc.» (Корваллис, штат Орегон, США) [7]. Полагают, что ST-246 является ингибитором оболочечного белка р37 ортопоксвирусов и подавляет выход вирионов на поверхность инфицированной клетки за счет воздействия на ортологи белка р37 ортопоксвирусов [5, 8, 20].

Работа была выполнена при поддержке ГК № 59-Д и ГК № 78-Д в рамках федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2013 годы)».

ЛИТЕРАТУРА

- Parker S., Nuara A., Buller R.M., Schultz D.A. Human monkeypox: an emerging zoonotic disease. *Future Microbiol.* 2007; 2: 17–34.
- Vorou R.M., Papavassiliou V.G., Pierroutsakos I.N. Cowpox virus infection: an emerging health threat. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2008; 21: 153–6.
- Whitley R.J. Smallpox: a potential agent of bioterrorism. *Antivir. Res.* 2003; 57: 7–12.
- Fulginiti V.A., Papier A., Lane J.M., Neff J.M., Henderson D.A. Smallpox vaccination: a review, part II. Adverse events. *Clin. Infect. Dis.* 2003; 37: 251–71.
- Quenelle D.C., Kern E.R. Treatment of vaccinia, cowpox virus infections in mice with CMX001, ST-246. *Viruses.* 2010; 2 (12): 2681–95.
- Smee D.F., Sidwell R.W. A review of compounds exhibiting anti-orthopoxvirus activity in animal models. *Antivir. Res.* 2003; 57 (1–2): 41–52.
- SIGA Technologies Inc. Advisory Committee Briefing Book. Human BioArmor. Background Package for FDA Advisory Committee Meeting on December 14–15, 2011. vol. 1. USA; 2011.
- Yang G., Pevear D.C., Davies M.H., Collett M.S., Bailey T., Rippen S. et al. An orally bioavailable antipoxvirus compound (ST-246) inhibits extracellular virus formation, protects mice from lethal orthopoxvirus challenge. *J. Virol.* 2005; 79 (20): 13 139–49.
- Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных: Пер. с англ. Washington, D.C.: National Academy Press; 1996.
- Mahy B.W., Kangro H.O., eds. *Virology methods manual*. San Diego: Academic Press; 1996.
- Сергеев А.А., Бульчев Л.Е., Пьянков О.В., Сергеев Ар.А., Боднев С.А., Кабанов А.С. и др. Чувствительность различных видов животных к вирусу оспы обезьян. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2012; 111 (1): 88–91.
- Селиванов Б.А., Беланов Е.Ф., Бормотов Н.И., Балахнин С.М., Серова О.А., Святченко В.А. и др. Производные трицикло[3.2.2.0^{2,4}]нон-8-ен-6,7-дикарбоновой кислоты высокоэффективно ингибируют репликацию различных видов ортопоксвирусов. *Доклады академии наук.* 2011; 441 (3): 414–8.
- Jordan R., Bailey T.R., Rippen S.R. Compounds, compositions, methods for treatment, prevention of orthopoxvirus infections, associated diseases. Patent WO, N 2004/112718 A3; 2005.
- Berhanu A., King D.S., Mosier S., Jordan R., Jones K.F., Hraby D.E., Grosenbach D.W. ST-246 Inhibits in vivo poxvirus dissemination, virus shedding, systemic disease manifestation. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009; 53 (12): 4999–5009.
- Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Оникиенко Ф.А. Проблема нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы). М.: Медицина; 1991.
- Jordan R., Chinsangaram J., Bolken T.C., Tyavanagimatt S.R., Tien D., Jones K.F. et al. Safety, pharmacokinetics of the antiorthopoxvirus compound ST-246 following repeat oral dosing in healthy adult subjects. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010; 54 (6): 2560–6.
- Jordan R., Goff A., Frimm A., Corrado M.L., Hensley L.E., Byrd C.M. et al. ST-246 antiviral efficacy in a nonhuman primate monkeypox model: determination of the minimal effective dose, human dose justification. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009; 53 (5): 1817–22.
- Sachs L. *Statistische Auswertungsmethoden*. Translated from German. Moscow: Statistica; 1976 (in Russian).
- Khalafyan A.A. *Statistica 6*. Statistical analysis of data. Moscow: Binom-Press; 2010 (in Russian).
- Duraffour S., Andrei G., Snoeck R. Tecovirimat, a p37 envelope protein inhibitor for the treatment of smallpox infection. *IDrugs.* 2010; 13 (3): 181–91.
- Parker S., Nuara A., Buller R.M., Schultz D.A. Human monkeypox: an emerging zoonotic disease. *Future Microbiol.* 2007; 2: 17–34.
- Vorou R.M., Papavassiliou V.G., Pierroutsakos I.N. Cowpox virus infection: an emerging health threat. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2008; 21: 153–6.
- Whitley R.J. Smallpox: a potential agent of bioterrorism. *Antivir. Res.* 2003; 57: 7–12.
- Fulginiti V.A., Papier A., Lane J.M., Neff J.M., Henderson D.A. Smallpox vaccination: a review, part II. Adverse events. *Clin. Infect. Dis.* 2003; 37: 251–71.
- Quenelle D.C., Kern E.R. Treatment of vaccinia, cowpox virus infections in mice with CMX001, ST-246. *Viruses.* 2010; 2 (12): 2681–95.
- Smee D.F., Sidwell R.W. A review of compounds exhibiting anti-orthopoxvirus activity in animal models. *Antivir. Res.* 2003; 57 (1–2): 41–52.
- SIGA Technologies Inc. Advisory Committee Briefing Book. Human BioArmor. Background Package for FDA Advisory Committee Meeting on December 14–15, 2011. vol. 1. USA; 2011.
- Yang G., Pevear D.C., Davies M.H., Collett M.S., Bailey T., Rippen S. et al. An orally bioavailable antipoxvirus compound (ST-246) inhibits extracellular virus formation, protects mice from lethal orthopoxvirus challenge. *J. Virol.* 2005; 79 (20): 13 139–49.
- The guide to the care, use of laboratory animals. Washington, D.C.: National Academy Press; 1996 (in Russian).
- Mahy B.W., Kangro H.O., eds. *Virology methods manual*. San Diego: Academic Press; 1996.
- Sergeev A.I.A., Bulychev L.E., P'yankov O.V., Sergeev Ar.A., Bodnev S.A., Kabanov A.S., Tumanov Yu.v., Yurganov I.A., Shishkina L.N., Agafonov A.P., Sergeev A.N. Sensitivity of Different Animal Species to Monkeypox Virus. *Problemy osobo opasnykh infektsij.* 2012; 111 (1): 88–91 (in Russian).
- Selivanov B.A., Belanov E.F., Bormotov N.I., Balakhnin S.M., Serova O.A., Svyatchenko V.A. et al. Tricyclo[3.2.2.0^{2,4}]non-8-en-6,7-dicarboxylic acid derivatives efficiently inhibits the replication of different orthopoxvirus species. *Doklady akademii nauk.* 2011; 441 (3): 414–8 (in Russian).
- Jordan R., Bailey T.R., Rippen S.R. Compounds, compositions, methods for treatment, prevention of orthopoxvirus infections, associated diseases. Patent WO, N 2004/112718 A3; 2005.
- Berhanu A., King D.S., Mosier S., Jordan R., Jones K.F., Hraby D.E., Grosenbach D.W. ST-246 Inhibits in vivo poxvirus dissemination, virus shedding, systemic disease manifestation. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009; 53 (12): 4999–5009.
- Trachtenberg I.M., Sova R.E., Shefiel V.O., Onikienko F.A. The problem of the norm in Toxicology (modern concepts, methodological approaches, the main parameters, constants). М.: Meditsina; 1991 (in Russian).
- Jordan R., Chinsangaram J., Bolken T.C., Tyavanagimatt S.R., Tien D., Jones K.F. et al. Safety, pharmacokinetics of the antiorthopoxvirus compound ST-246 following repeat oral dosing in healthy adult subjects. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010; 54 (6): 2560–6.
- Jordan R., Goff A., Frimm A., Corrado M.L., Hensley L.E., Byrd C.M. et al. ST-246 antiviral efficacy in a nonhuman primate monkeypox model: determination of the minimal effective dose, human dose justification. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009; 53 (5): 1817–22.
- Sachs L. *Statistische Auswertungsmethoden*. Translated from German. Moscow: Statistica; 1976 (in Russian).
- Khalafyan A.A. *Statistica 6*. Statistical analysis of data. Moscow: Binom-Press; 2010 (in Russian).
- Duraffour S., Andrei G., Snoeck R. Tecovirimat, a p37 envelope protein inhibitor for the treatment of smallpox infection. *IDrugs.* 2010; 13 (3): 181–91.

Поступила 20.09.12