

**НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
ИНСТИТУТ БИОТЕХНОЛОГИИ**

**НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
ИНСТИТУТ ГОРНОЙ ФИЗИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ**

Диссертационный совет Д 03.23.680

На правах рукописи
УДК 578.1:606(572.2) (043)

Иванова Людмила Николаевна

**ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ЙОДСОДЕРЖАЩЕГО
КОМПЛЕКСА ФС-1 НА ВИРУС ГРИППА ПТИЦ А И
СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРИМЕНЕНИЯ
ПРОТИВОГРИППОЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ**

03.01.06 – биотехнология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

БИШКЕК – 2025

Работа выполнена в лаборатории вирусологии Института биотехнологии Национальной академии наук Кыргызской Республики и в Акционерном Обществе «Научный центр противоиных препаратов» Министерства здравоохранения Республики Казахстан.

Научный руководитель: **Керимжанова Бахытжан Фазылжановна**
доктор ветеринарных наук, профессор, заместитель начальника отдела международного сотрудничества Акционерное общество «Научный центр противоиных препаратов» Республики Казахстан, г. Алматы.

Официальные оппоненты: **Айтжанов Батырбек Досхожаевич**
доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории бактериологии Казахского Научно-Исследовательского Ветеринарного Института, г. Алматы.

Чекиров Кадырбай Бекбалаевич
кандидат биологических наук, заведующий биологического отдела, факультета естественных наук Кыргызско-Турецкого университета «Манас», Кыргызская Республика.

Ведущая организация: Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К. И. Скрябина, кафедра иммунологии и биотехнологии (109472, г. Москва, ул. Академика Скрябина, д. 23).

Защита диссертации состоится 21 февраля 2025 года в 14:00 часов на заседании диссертационного совета Д 03.23.680 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора (кандидата) биологических наук при Институте биотехнологии Национальной академии наук Кыргызской Республики, соучредитель Институт горной физиологии и медицины Национальной академии наук Кыргызской Республики по адресу: 720071, г. Бишкек, пр. Чуй, 265, 303 ауд. Ссылка доступа к видеоконференции защиты диссертации: <https://vc.vak.kg/b/032-kpg-yve-qhh>

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке Национальной академии наук Кыргызской Республики, по адресу: г. Бишкек, пр. Чуй, 265а и на сайте: <https://stepen.vak.kg>

Автореферат разослан 11 января 2025 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук



А. А. Казыбекова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. Во время ежегодных эпидемий гриппом регистрируется около 1 миллиарда случаев, в том числе 3-5 миллионов случаев тяжелой формы заболевания. По данным экспертов ВОЗ, от респираторных патологий, вызванных вирусом гриппа, умирает от 290 000 до 650 000 человек. Эпидемии гриппа наносят также огромный экономический ущерб обществу в целом [М. И. Гулькин, Е. С. Воронин, 2007; WHO 2023].

Актуальность проблемы борьбы с гриппом как среди людей, так и птиц, являющихся основным источником распространения, заключается в уникальной способности вирусов гриппа А к изменению антигенной структуры. Проблема устойчивости к противогриппозным лекарственным веществам в настоящее время приобрела глобальные масштабы. За последнее десятилетие в мире произошло несколько вспышек гриппа и, более того, развиваются такие новые заболевания, как атипичная пневмония и птичий грипп, требующие принципиально новых подходов и решений при их лечении [В. И. Покровский, 2000; Н. И. Мазнев, 2004; Г. Г. Онищенко, 2010].

Одним из основных направлений в разработке противовирусных соединений является синтез аналогов из известных препаратов. Так йодсодержащие препараты, применяемые в ветеринарии и медицине, проявляют высокую биологическую активность и разностороннее фармакологическое действие, не вызывая устойчивости у возбудителя [В. О. Мохнач, 1984; В. А. Антипов, 2011; Ю. С. Головкин, 2012].

Настоящая работа посвящена изложению полученных результатов исследований, направленных на усиление действия противогриппозных препаратов при комбинированном применении с йодсодержащим лекарственным соединением ФС-1, синтезированным в АО «Научный центр противоиных препаратов».

Связь темы диссертации с приоритетными научными направлениями, крупными научными программами (проектами), основными научно-исследовательскими работами, проводимыми образовательными и научными учреждениями. Диссертационная работа выполнена в Акционерном обществе «Научный центр противоиных препаратов» в рамках утвержденной научно-технической программы «Разработка новых противоиных препаратов» и «Исследование реверсии антибиотикорезистентности патогенных микроорганизмов».

Цель исследования: Совершенствование технологии применения противогриппозных препаратов с йодсодержащим лекарственным соединением, обладающим противовирусным действием, сочетающего в

себе низкую токсичность и оказывающего благоприятное воздействие на макроорганизм.

Задачи исследования:

1. Провести скрининг йодсодержащих лекарственных соединений, обладающих противовирусной активностью с определением безвредности и токсичности.

2. Определить противовирусную активность йодсодержащего лекарственного соединения на примере штаммов вируса гриппа птиц А в эксперименте *in vitro*, *in ovo* и *in vivo* на лабораторных животных.

3. Определить эффективность йодсодержащего лекарственного соединения при сочетанном применении с противовирусными препаратами: осельтамивир, римантадин, рибазол и амиксин.

Научная новизна полученных результатов:

1. Впервые установлена противовирусная активность йодсодержащего лекарственного соединения ФС-1 в отношении вирусов гриппа птиц разных штаммов (А /FPV/Rostock/34 (H7N1), А /FPV/Waybrige/78 (H7N7), А /черноголовый хохотун/Атырау/744/04 (H13N6), в т. ч. резистентных (вируса гриппа птиц штамм А /FPV/Waybrige/78 (H7N7) и вируса свиного гриппа штамм А /Swine/Iowa/15/30 (H1N1).

2. Впервые показано снижение токсичности противовирусных препаратов ремантадина, осельтамивира при комбинированном применении с йодсодержащим лекарственным соединением ФС-1 в эксперименте *in vitro* на культуре клеток почек собаки MDCK (Madin-Darby canine kidney).

3. Впервые в экспериментах *in vitro*, *in ovo*, *in vivo* разработана технология комбинированного применения йодсодержащего лекарственного соединения ФС-1, с противогриппозными препаратами осельтамивир, римантадин, рибазол и амиксин путем усиления ингибирующего воздействия на вирус гриппа повышая их фармакологическую активность.

4. Разработан «Способ повышения фармакологической активности противогриппозных препаратов», защищенный патентом на полезную модель в Национальном институте интеллектуальной собственности Министерства юстиции Республики Казахстан, №7196, 2021.

Практическая значимость полученных результатов.

Комбинированное применение лекарственного средства ФС-1 с противовирусными препаратами, снижающее токсичность и усиливающее терапевтическую активность может быть использовано в ветеринарии и медицине, как с лечебной, так и профилактической целью. По данному способу получен Патент на полезную модель РК №7196,2021. «Способ

повышения фармакологической активности противогриппозных препаратов»;

По результатам исследования разработаны методические рекомендации: «Методы проведения исследований йодсодержащих соединений на антивирусную активность в отношении гриппа птиц». Алматы, 2020. – 64 с.

По материалам исследований выпущена монография «Синергетический эффект нового лекарственного препарата ФС-1 при комбинированном применении с противовирусными препаратами». Алматы, 2023. – 256 с.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Противовирусная активность йодсодержащего лекарственного соединения ФС-1 на примере вируса гриппа птиц А.

2. Степень снижения токсичности противовирусных препаратов противовирусных препаратов при комбинированном применении с йодсодержащим лекарственным соединением ФС-1 в эксперименте *in vitro* на культуре клеток MDCK на примере вируса гриппа птиц А.

3. Фармакологическая активность противовирусных препаратов при комбинированном применении с йодсодержащим лекарственным соединением ФС-1.

Личный вклад соискателя. Весь базовый и экспериментальный материал исследования собран и обработан при личном участии автора: на этапах постановки цели и задач, проведения исследования в результате чего получены основные заключения. Статистическая обработка и анализ полученных данных выполнена автором лично.

Апробации результатов исследований. Материалы диссертации доложены и обсуждены на: XXVIII международной научно-практической конференции, г. Москва, 10-11 апреля 2016 года (Москва, 2016); XVI международной научно-практической конференции, г. Москва, 10-11 мая 2016 года (Москва, 2016); XXXI международная научно-практическая конференция «Вопросы современной науки: проблемы, тенденции и перспективы» г. Москва, 13 декабря 2018 года (Москва, 2018); XVIII международная конференция по науке и технологиям Россия-Корея-СНГ. г. Москва, 26-28 августа 2018 года (Москва, 2018); XXVI Международной конференции Европейской академии наук и исследований, г. Гамбург, 20-23 марта 2022 года (Гамбург, 2022).

Полнота отражения результатов диссертации в публикациях. По теме диссертации опубликовано 13 научных работах, из них 1 – монография, 1 статья - в рецензируемой базе Web of Science, 2 статьи – в журналах входящих в базу данных Scopus, 8 статей – в научных изданиях, рекомендованных Национальной аттестационной комиссией при

Президенте Кыргызской Республики и получен 1 патент на полезную модель от Министерства юстиции Республики Казахстан.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 201 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, глав, методологии и методов исследования, главы результаты собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, списка использованной литературы и шести приложений. Работа иллюстрирована 42 таблицами и 25 рисунками. Список использованной литературы включает 233 источника, в том числе 119 зарубежных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении диссертации раскрыта актуальность научной работы, определены цель и задачи исследования, научная новизна и практическая значимость полученных результатов исследования, представлены основные положения диссертации, выносимые на защиту, личный вклад соискателя, апробация результатов и полнота отражения результатов диссертации в публикациях, а также структура и объем диссертации.

В главе 1 «Обзор литературы» представлены и проанализированы отечественные и зарубежные литературные источники в области актуальности проблем гриппа и вирусных заболеваний приводящих к социальному и экономическому ущербу, проблем устойчивости микроорганизмов к лекарственным препаратам, в области разработки новых лекарственных противовирусных препаратов, создании новых эффективных лекарственных препаратов и разработки новых технологий их производства.

Глава 2 «Методология и методы исследования» приведены объекты исследования, дана характеристика материалов, реактивов, оборудования. Представлены методы исследования научных работ и методы статистического анализа.

Объектами исследования являлись йодсодержащие лекарственные соединения, названные фармацевтическими соединениями ФС-1, ФС-1.1, ФС-1.2, ФС-1.3, ФС-1.4, ФС-1.5, ФС-1.6, ФС-1.7, ФС-1; тест-система: перевиваемая культуры клеток MDCK– клетки почки собаки (Madin-Darby canine kidney); Vero – клетки почки африканской зеленой марышки (African green monkey kidney cells); штаммы вируса гриппа птиц А: штамм А /FPV/Waybrige/78 (H7N7); штамм А /FPV/Rostock/34 (H7N1); штамм А /черноголовый хохотун/Атырау/744/04 (H13N6); штамм А /крячка/Южная Африка/1/61 (H5N3); штамм А /голубая чернеть/Актау/1455/06 (H4N6); штамм А /Astana RG/6:2/2009 (H5N1); штамм А /Swine/Iowa/15/30 (N1H1); штамм А /Алматы/5/98 (H3N2) вирус гриппа человека. Лабораторные

животные и куриные эмбрионы: семидневные цыплята, половозрелые беспородные белые двух-трехмесячные мыши; двух-трехмесячные белые беспородные крысы; 7–18 дневные развивающиеся куриные эмбрионы. Контрольные противовирусные препараты: римантадин (remantadinum Hydrochloridum J05A C02) производство Merck, (США); рибавирин (ribavirin) 1-β-D-rubofuranosyl-1-2-4 triazole-3-carboxamide, Sigma R-9644 50 mg, Lot 111 K4034, C8H12N4O5. FM 244.2; амиксин IC (amixin IC), производство Merck, (США); рибазол (ribazol) Владелец регистрационного удостоверения: GETZ PHARMA, (Pvt.) Limited (Пакистан); осельтамивир (tamiflu) производство Hoffman–La–RocheLtd, (Швейцария); амизон (amizon) производство Farmak (Украина).

Предмет исследования: Характеристика воздействия йодсодержащего комплекса ФС-1 на вирус гриппа птиц А и совершенствование технологии применения противогриппозных препаратов.

2.2 Методы исследования. При выполнении диссертационной работы были использованы следующие методы исследований: физико-химические, микробиологические, радиохимические, фармакологические, молекулярно-генетические, статистический.

Физико-химический анализ лекарственных соединений проводили путем определения биорастворимости и проницаемости соединений. Культивирование культур клеток проводили в монослое с использованием среды DMEM с добавлением 10 % сыворотки крупного рогатого скота. Размножения вирусов гриппа птиц А проводили на девятисуточных куриных эмбрионах, на клеточных культурах.

Определение *фармако-токсикологических* свойств лекарственных соединений проводили путем исследования цитотоксичности соединений в опытах *in vitro* с использованием МТТ-теста (метилтиазолилдифенилтетразолиум бромид); определение противовирусной активности проводили в перевиваемой культуре клеток MDCK путем заражения клеточного монослоя вирусом гриппа птиц А, в куриных эмбрионах путем заражения аллантоисной жидкости вирусом гриппа А, определение острой токсичности лекарственных соединений проводили на половозрелых беспородных мышах, крысах, на семидневных цыплятах согласно рекомендациям OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development); определение хронической токсичности проводили на мышах; *радиохимический метод* изучения фармакокинетики проводили путем перорального введения, меченного радиоактивным йодом-131 соединения ФС-1 цыплятам; получение устойчивых мутантов проводили *микробиологическим методом*, путем культивирования (пассажа) штаммов вирусов гриппа птиц А /FPV/Waybrige/78 (H7N7),

A /Swine/Lowa/15/30 (H1N1) с последовательным увеличением содержания противовирусных препаратов осельтамивира и римантадина; выделения РНК проводили из вирусосодержащей культуральной жидкости, используя набор для экстракции РНК «РИБО-сорб-12» (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия); молекулярно-генетический анализ секвенирование генов NA (нейраминидазы) и МР (м-белка) штаммов вируса гриппа проводили на секвенаторе IonTorrent PGM (Life Technologies, США); изучение влияния йодсодержащего лекарственного соединения ФС-1 на токсичность коммерческих противогриппозных препаратов при моно и комбинированном применении проведены по методу Chou-Talalay, при помощи программного обеспечения CompuSyn 10.1.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием компьютерных программ «Microsoft Office Excel», GraphPad Prism 6.

В главе 3 «Результаты собственных исследований». Синтез лекарственных соединений осуществляли в соответствии с опытно-промышленным регламентом, разработанным согласно Положениям о технологических регламентах производства лекарственных соединений, выпускаемых фармацевтическими производственными предприятиями РК. Приказ Министерства Здравоохранения Республики Казахстан № 371 от 30.07.97 года. На основе синтезированных из углеводов, белков, йода, галогенидов щелочных и щелочноземельных элементов получено девять йодсодержащих лекарственных соединений.

3.1. Технология размножения вируса гриппа птиц А, изучение биофармацевтической растворимости и проницаемости йодсодержащих лекарственных соединений

3.1.1. Технология размножения вируса гриппа птиц А *in vitro* на культуре клеток. Вирусы гриппа размножали на клеточных линиях MDCK и Vero (рисунки 3.1.1).

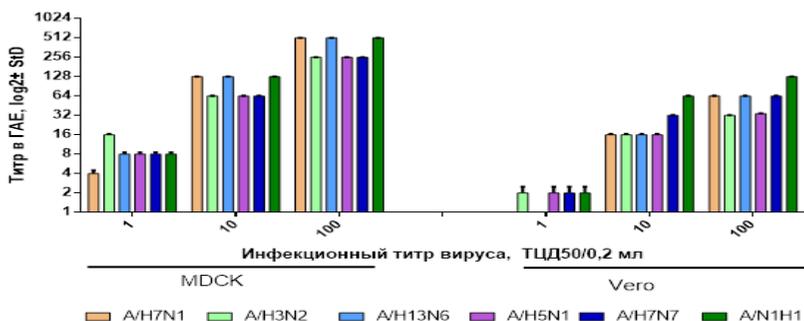


Рисунок 3.1.1 – Размножение вирусов гриппа на культуре клеток MDCK, Vero

Согласно полученных результатов установлено, что перевиваемые линии клеток MDCK более чувствительны к вирусам гриппа птиц в сравнении с линией клеток Vero.

3.1.2. Изучение растворимости и проницаемости йодсодержащих лекарственных соединений. Все соединения растворялись в воде и буферных растворах с pH равной 1,2; 4,5; 6,8. Полная растворимость лекарственных соединений ФС-1.1, ФС-1.2, ФС-1.3 и ФС-1.4 100 % отмечена через 5 мин. Лекарственные соединения ФС-1, ФС-1.7, ФС-1.5 полностью растворились через 15 мин, тогда как соединение ФС-1.6, ФС-1.8 растворились на 100 % только через 30 мин, что свидетельствует о несколько замедленной скорости их растворения.

При растворении йодсодержащих лекарственных соединений, в воде, и буферных растворах с pH 1,2, 4,5 и 6,8 равновесная растворимость была классифицирована как «высокая».

Определение проницаемости йодсодержащих лекарственных соединений проводили на культуре клеток MDCK. Установлено, что через 15 мин инкубации культуры клеток в среде, содержащей соединения, проницаемость составила от 0 до 2,6 %, через 30 мин от 1,0 % до 6,3 %, через час в пределах от 2,3 % до 18,8 %. Через 3 и 6 ч процент проницаемости составил от 4,7 % до 43,8 %, через 24 ч исследования максимальное количество вещества, проникшего в культуру клеток MDCK, находилось в пределах от 23,0 % до 56,3 %.

Таким образом изучение биофармацевтических свойств йодсодержащих лекарственных соединений на основании степени их растворимости в воде, буферных растворах с pH 1,2; 4,5; 6,8 и проницаемости на культуре клеток MDCK соответствуют III классу БКС [1995]. К III классу БКС относятся вещества с «высокой» растворимостью и «низкой» проницаемостью.

3.2. Степень фармакологического действия йодсодержащих лекарственных соединений.

3.2.1. Изучение безопасности йодсодержащих лекарственных соединений *in vitro* на культуре клеток MDCK. Безопасность или цитотоксичность соединений определяли *in vitro* через 48 и 72 часа, с использованием МТТ-теста.

Согласно полученным данным, соединения ФС-1, ФС-1.1, ФС-1.3, ФС-1.4 являются низко токсичными. ЦТК₅₀, которых через 48 ч культивирования находится в концентрациях от 12,5 до 45,5 мг/мл и через 72 ч в концентрациях от 10,0 до 50,0 мг/мл.

Йодсодержащие лекарственные соединения ФС-1.2, ФС-1.5, ФС-1.6, ФС-1.7, ФС-1.8 обладали умеренной токсичностью, ЦТК₅₀ их составляла

от 0,39 до 2,13 мг/мл через 48 ч инкубирования в культуре клеток MDCK и от 0,20 до 1,77 мг/мл через 72 ч инкубирования в культуре клеток MDCK.

3.2.2. Изучение безопасности йодсодержащих лекарственных соединения *in vivo* в эксперименте на мышах. Эксперименты проводили на двух-трехмесячных мышах при однократном способе введения лекарственных соединений животным. Полученные результаты ЛД₅₀ составили: для ФС-1 - 117,74 мг/мл; для ФС-1.1 – 1,01 мг/кг; для ФС-1.2 – 14,50 мг/кг; ФС-1.3 – 6,06 мг/кг; ФС-1.4 – 27,27 мг/кг; ФС-1.5 – 50,70 мг/кг; ФС-1.6 – 51,00 мг/кг; ФС-1.7 – 15,18 мг/кг; ФС-1.8 – 110,70 мг/кг.

Установлено, что введение животным всех йодсодержащих лекарственных соединений, кроме ФС-1, в диапазоне доз от 1,12 до 2472,3 мг/кг вещества вызывают токсический эффект в нарастающем порядке. Токсический эффект по всем изучаемым параметрам развивался по нейротоксическому типу. В то же время для исследуемого соединения ФС-1 в дозах менее 117,74 мг/кг (12,18 и 58,81 мг/кг) не проявляются выраженные токсические действия. Это свидетельствует о безопасности данного соединения. В дозах выше 117,74 мг/кг токсический эффект проявляется по нейротоксическому типу.

3.3. Скрининг наиболее активного йодсодержащего лекарственного соединения, изучение противовирусной активности на модели пандемического вируса гриппа птиц штамм А /FPV/Waybrige/78 (H7N7). На основании проведенных исследований установлено, что йодсодержащие лекарственные соединения ФС-1.1, ФС-1.2, ФС-1.3, ФС-1.5, ФС-1.6, ФС-1.8 не проявили значимой активности в отношении вируса гриппа птиц штамм А /FPV/Waybrige/78 (H7N7), поскольку снижение титра вируса составило 0–2,0 log. Наибольшая антивирусная активность из числа исследованных соединений отмечена у ФС-1, ФС-1.4 и ФС-1.7, которые снижали титр вируса гриппа птиц штамм А /FPV/Waybrige/78 (H7N7) на 5,0–8,0 log. Однако соединения ФС-1.7 и ФС-1.4 показали высокую токсичность в эксперименте на мышах.

Резюмируя результаты проведенных экспериментов по определению токсичности и противовирусной активности, наименее токсичным и обладающим противовирусной активностью оказалось йодсодержащее лекарственное соединение ФС-1. ФС-1 – это сложное по химическому составу многокомпонентное лекарственное соединение, содержащие молекулярный йод, галогениды калия и лития, хлорид магния, α-декстрины и полипептиды. Активные центры лекарственного соединения ФС-1 представлены в декстриновом кольце. Активные центры – это комплекс молекулярного йода с галогенидом лития (LiI₂), биядерный комплекс магния и лития, содержащий молекулярный йод с триоидом [MgI₃LiI₂] + и триоидид (I₃-). Полипептид, находящийся вне

декстриновой спирали, образует водородную связь с декстрином в комплексе с молекулярного йода с галогенидом лития (LiI_2), и координирует молекулярный йод в биядерном комплексе магния и лития, содержащий молекулярный йод и триодид $[\text{MgI}_3\text{LiI}_2]^+$. Такая структура координированного йодсодержащего лекарственного соединения защищает молекулярный йод от взаимодействия с биоорганическими соединениями после перорального потребления и сводит к минимуму токсические эффекты йода в организме человека. Основным механизмом действия ФС-1 заключается в мембранной литической активности, а также исследуемый препарат влияет на экспрессию генов в бактериях.

Активные центры ФС-1 защищены от взаимодействия с биоорганическими лигандами, входящими в состав цитоплазмы клетки α -декстриновой спиралью и взаимодействием с полипептидами. Только нуклеотиды ДНК могут конкурировать с полипептидами за комплексообразование с молекулярным йодом, входящим в состав активного центра ФС-1. Образование комплекса между нуклеотидом ДНК и активным центром ФС-1 является ключевым моментом в механизмах антивирусного и антибактериального действия препарата. В этой структуре молекулярный йод оказывается труднодоступным для взаимодействия с компонентами крови и доносится до клетки патогена в неизменном виде, т. к. конкурировать с полипептидами за комплексообразования с йодом могут только нуклеотиды ДНК клетки патогена [Г. А. Юлдашева, 2011–2012; А. И. Ильин, 2014].

3.4. Воздействия йодсодержащего лекарственного соединения ФС-1 на вирус гриппа птиц А.

3.4.1. Определение острой токсичности ФС-1 в эксперименте на крысах. Проведенными исследованиями определения острой токсичности установили, что ФС-1 в дозах 124,1; 248,3; 397,2; 496,5 мг/кг не приводит к смерти животных. Группа животных, получавшая дозу 596,0 мг/кг вызывала падеж двух крыс из числа десяти животных, в группе вводившей дозу 794,4 мг/кг пали три животных, в группе от дозы 993,0 мг/кг пали четыре крысы. Максимальное количество павших животных наблюдали при введении доз 1191,6 и 1390,0 мг/кг, погибло восемь и девять животных соответственно.

Показатели соматических реакций после приема ФС-1 отмечены в первые сутки наблюдений. Через 7–14 дней наблюдения за животными общее физиологическое состояние организма у крыс опытной группы мало отличались от таковых проявлений у контрольных, не подвергавшихся воздействию ФС-1.

Таким образом, проведенные исследования по определению острой токсичности на крысах показали, что пероральное введение ФС-1

позволило определить летальную дозу LD_{50} равную 922 мг/кг. В соответствии со шкалой токсичности веществ введенных per os [Hodg G., Gleason S., 1975; С. А. Куценко, 2002], исследуемое соединение ФС-1 можно отнести к умеренно токсичным веществам или к третьему классу опасности [ГОСТ 12.1.007–76].

3.4.2. Определение хронической токсичности ФС-1 в эксперименте на мышах. Для изучения хронической токсичности использовали три дозы ФС-1: 0,58 мл/кг, 0,232 мл/кг и 0,116 мл/кг, вещества вводили по 1,0 мл три раза в неделю. Общий срок введения составил два месяц, за тем за животными наблюдали еще месяц для определения отдаленных последствий. Установлено, что введение животным ФС-1 в дозе 0,58 мл/кг приводило к проявлению судорог пароксизмального характера. По окончании второго месяца общее число погибших животных в данной группе, составило 25 %. Дозы ФС-1 0,232 и 0,116 мл/кг, введенные животным, показали их безопасность. Это свидетельствует об оценке безопасности применения животным при многократном введении (24 раза), то есть об отсутствии хронической токсичности.

3.4.3. Изучение кумулятивного эффекта ФС-1 в эксперименте на мышцах. Изучение кумулятивного эффекта проводилось в эксперименте на двух-трехмесячных мышцах. Рассчитаны дозы LD^{1}_{84} , LD^{1}_{50} , LD^{1}_{16} на основании данных однократно вводимых дозировок йодсодержащего лекарственного соединения и количества погибших животных: LD^{1}_{84} составила 8,47 мл/кг (171,94 мг/кг), LD^{1}_{50} – 5,8 мл/кг (117,74 мг/кг), LD^{1}_{16} – 2,41 мл/кг (48,92 мг/кг).

В результате многократного введения исследуемого вещества исходя из динамики гибели животных и введения лекарственных соединений были рассчитаны летальные дозы многократного введения LD^{n}_{84} , LD^{n}_{50} и LD^{n}_{16} необходимые для вычисления коэффициента кумуляции: $LD^{n}_{84} = 6,87$ мл/кг (139,46 мг/кг), $LD^{n}_{50} = 3,80$ мл/кг (77,14 мг/кг), $LD^{n}_{16} = 1,96$ мл/кг (39,79 мг/кг).

Коэффициент кумуляции ($K_{\text{кум}}$) в эксперименте на мышцах составил 1,45, что по международной шкале оценки токсичности препаратов ФС-1 соответствует параметрам препаратов, со слабовыраженным кумулятивным эффектом [ГОСТ 12.1.007–76].

3.4.4. Фармакокинетика ФС-1, меченного радиоактивным йодом-131, в организме цыплят при однократном пероральном применении. Исследование фармакокинетики меченного радиоактивным йодом-131 ФС-1 после перорального введения проводили на семидневных цыплятах. Уже через 30 мин. обследования было отмечено наличие препарата в крови и во всех исследуемых органах. Концентрация ФС-1, в крови через

30 мин составила 0,53 мкг/г, через 3 ч она увеличилась в 1,5 раза и соответствовала 1,4 мкг/г. В последующий период времени наблюдалось его снижение и составило 0,15 мкг/г к концу 24 часам исследования. Наибольшее содержание препарата через 30 мин отмечено в желудке и составило 9,38 мкг/г и через час в кишечнике 1,99 мкг/г.

Максимальная концентрация ФС-1 через три часа была определена в почках, легких, печени, селезенке и в кишечнике и составила 16,67 мкг/г, 2,78 мкг/г, 0,43 мкг/г, 0,24 мкг/г и 1,6 мкг/г соответственно. Через шесть часов наблюдения отмечено снижение концентраций меченного ФС-1 в органах экспериментальных цыплят.

Таким образом, в результате проведенных исследований было установлено, что процесс распределения накопления и выведения меченного ФС-1 при однократном введении в организм цыплят, подчиняется закону линейной кинетики, т. е. скорости и закономерности протекания химических процессов во времени, через которое система переходит из начального состояния в конечное (начальное – исходные вещества, конечное – продукты реакции).

3.4.5. Воздействие ФС-1 на примере вируса гриппа А в эксперименте на куриных эмбрионах с различными штаммами: А /FPV/Rostock/34 (H7N1), А /Алматы/5/98 (H3N2), А /черноголовый хохотун/Атырау/744/04 (H13N6). При определении противовирусной активности лекарственного соединения на 10 дневных куриных эмбрионах выявлено, что ФС-1 уже в концентрации 0,39 мг/мл подавляет репродукцию вируса гриппа А на 2,0 log, а в концентрации 6,6 мг/мл полностью подавляет репродукцию вируса гриппа А подтип H7N1, H3N2, H13N6. Полученные в эксперименте данные позволяют заключить что ФС-1 обладает высокой противовирусной активностью в отношении возбудителей вируса гриппа А подтип H7N1, H3N2, H13N6.

3.4.6. Воздействие ФС-1 на вирус гриппа птиц штамм А/FPV/Rostock/34 (H7N1) в эксперименте на цыплятах. Определение противовирусной активности ФС-1 проводили в эксперименте на семидневных цыплятах. Оценка противовирусной активности показала, что эффективность защиты после приема профилактической дозы ФС-1 у зараженных вирусом гриппа птиц штамм А подтип H7N1 цыплят в концентрациях 6,6; 13,1 и 26,3 мг/кг составила 100 %. Концентрация 3,3 мг/кг ФС-1 проявила наименьшую профилактическую эффективность и составила 42 %. В то же время профилактическая эффективность препарата римантадина у цыплят от инфекции составила только 28 %.

Терапевтическая доза ФС-1 при ежедневном приеме соединения ФС-1 в течение семи дней в концентрации 26,3 мг/кг привела к 100 % сохранению поголовья зараженных вирусом гриппа цыплят, тогда как при приеме противовирусного препарата римантадина в эти же сроки

выживаемость цыплят составила только 43 %. Прием ФС-1 в дозе 13,1 мг/кг на протяжении семи дней показал меньшую терапевтическую эффективность в сравнении с противовирусной активностью первой группы (78 %), доза 6,6 мг/кг эффективность ФС-1 составила 43 %.

Таким образом, проведенные исследования, показали высокую терапевтическую эффективность ФС-1.

3.4.7 Влияние йодсодержащего лекарственного соединения ФС-1 на вирус гриппа А штамм H5N1 при заболевании птиц в производственных условиях. Изучение влияния лекарственного соединения ФС-1 в виде биологической кормовой добавки «Эвритал» на вирус гриппа А штамм H5N1 в производственных условиях проведено на обособленной группе птиц во время вспышки вируса гриппа на базе Бишкульской птицефабрики Северо-Казахстанской области Республики Казахстан. Противовирусную активность препарата оценивали динамике по выживаемости птицы. Расчет выживаемости птицы брали за несколько дней до применения «Эвритал», во время применения и спустя четыре дня после применения.

Согласно полученных результатов изучения противовирусной активности применения препарата «Эвритал» в эксперименте на птицах, зараженных вирусом гриппа птиц H5N1, показало, что лекарственное соединение в виде кормовой добавки проявляет противовирусную активность, способствуя снижению гибели птицы в опытных корпусах на 91,9–98,9 %.

3.5. Моделирование ингибирующего действия ФС-1 на лекарственно устойчивые варианты штаммов вируса гриппа А

3.5.1. Получение мутантных штаммов вируса гриппа А к препаратам римантадин и осельтамивир. Мутантные штаммы вируса гриппа А устойчивые (резистентные) к препаратам римантадин и осельтамивир получены при последовательных длительных пассажах под воздействием данных препаратов. При этом лекарственная устойчивость исходных штаммов вируса гриппа А /FPV/Waybrige/78 (H7N7) и А /Swine/Iowa/15/30 (N1H1) к препаратам несколько различалась в количестве пассажей. Так лекарственная устойчивость к препарату римантадин вируса гриппа штамм А/FPV/Waybrige/78 (H7N7) произошла в течение 12 последовательных пассажей, а вируса гриппа штамм А /Swine/Iowa/15/30 (N1H1) в течение 15 последовательных пассажей при тех же условиях (диапазон концентраций препарата составил от 0,0030 до 0,1000 мг/мл. К препарату осельтамивиру лекарственная устойчивость произошла за 15 последовательных пассажей при постоянном содержании и последовательном увеличении концентрации препарата от 0,009 до 0,300 мг/мл. Таким образом, в результате длительных последовательных

пассажей *in vitro* получены варианты лекарственно устойчивых штаммов названных FPV_RRim, Sw_RRim, FPV_RTam, Sw_RTam.

Молекулярно-генетический анализ резистентных штаммов вируса гриппа А представлен на рисунках 3.5.1, 3.5.2, 3.5.3.

Представленные наблюдения подтверждаются данными полученных результатов исследования методом молекулярно-генетического анализа резистентных штаммов вируса гриппа А, проведенных научными сотрудниками лаборатории вирусологии. Проведено секвенирование участка гена М, ответственного за резистентность к препаратам осельтамивир и римантадин. Сравнительные исследования основных молекулярно-генетических свойств резистентных к ингибиторам мутантов и исходных штаммов вируса гриппа А позволили выявить характерные специфические замены в структуре нуклеиновых кислот (НК) гена М, ответственных за формирование фенотипа устойчивости к препаратам осельтамивиру и римантадину.

Accession	Sequence
FPV/PPV	*S L L T E V I F T T R N G W E C I S C S O S E D P L I V I A A S I I L L F
FPV/PPV	*S L L T E V I F T T R N G W E C I S C S O S E D P L I V I A A A I I L L F
Sw/RRim	*S L L T E V I F T T R N G W E C I S C S O S E D P L I V I A A T S I I L L F
FPV/RTam	*S L L T E V I F T T R N G W E C I S C S O S E D P L I V I A A S I I L L F
Sw/RRim	*S L L T E V I F T T R N G W E C I S C S O S E D P L I V I A A S I I L L F
Sw/RT	*S L L T E V I F T T R N G W E C I S C S O S E D P L I V I A A S I I L L F

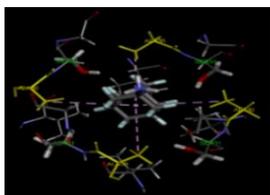
Рисунок 3.5.1. – Аминокислотные замены в структуре гена M2 вируса гриппа

Желтым выделена позиция аминокислотной замены в структуре гена M2 исследуемых штаммов.

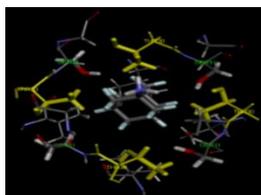
Accession	Sequence
FPV/PPV	*A K A M E Q M A G S S E Q A A E A E M E V A S Q A R Q M V Q A M R T V G I
FPV/PPV	*A K A M E Q M A G S S E Q A A E A E M E V A S Q A R Q M V Q A M R T V G I
FPV/RTam	*A K A M E Q M A G S S E Q A A E A E M E V A N Q A R Q M V Q A M R T V G I
Sw/RTam	*A K A M E Q M A G S S E Q A A E A E M E V A S Q A R Q M V Q A M R T V G I
Sw/RRim	*A K A M E Q M A G S S E Q A A E A E M E V A S Q A R Q M V Q A M R T V G I
Sw/RT	*A K A M E Q M A G S S E Q A A E A E M E V A S Q A R Q M V Q A M R T V G I

Рисунок 3.5.2 – Аминокислотные замены в структуре гена M1 вируса гриппа

Желтым выделена позиция аминокислотной замены в структуре гена M1 исследуемых штаммов.

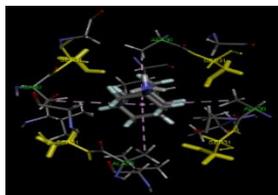


ALA30 (GCA)

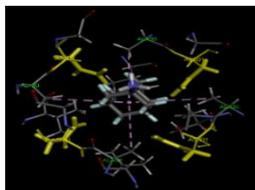


THR30 (ACA)

a



SER31 (AGT)



ASN31 (AAT)

б

Рисунок 3.5.3 – Анализ аминокислотных замен в структуре M2 белка вируса гриппа.

а – активный центр белка M2 штамма FPV_RRim;

б – активный центр белка M2 штамма Sw_RRim.

3.5.2. Изучение ингибирующего действия йодсодержащего лекарственного соединения ФС-1 на полученные в результате селекции лекарственно устойчивые варианты штаммов вируса гриппа А. Полученные результаты показали 100 % подавление репликации мутантных штаммов лекарственным соединением ФС-1 в концентрации равной 25,0 мг/мл. Исследуемые концентрации ФС-1 12,5 и 6,2 мг/мл ингибируют репликацию мутантных штаммов вируса на 2,0–6,0 log. Титр остаточного вируса положительного контроля А /FPV/Waybrige/78 (H7N7) составил 8,0 log, А /Swine/Iowa/15/30 (H1N1) 7,0 log.

3.6. Совершенствование технологии применения противогриппозных препаратов с йодсодержащим лекарственным соединением ФС-1.

3.6.1. Влияние ФС-1 на токсичность противогриппозных препаратов при комбинированном применении. Доза комбинированного эффекта ФС-1 с римантадин, ингибирующая рост клеток на 50 %, составила 0,507 мг/мл активного вещества. Результат показывает снижение токсичности одного вещества за счет другого, токсичность препарата римантадин снизилась в 10 раз, а ФС-1 в 1,2 раза в отношении к монодействию препаратов.

Доза комбинированного эффекта препарата осельтамивир ингибирующая рост клеток на 50 % при комбинации с ФС-1 составила 4,130 мг/мл активного вещества. Сравнительная характеристика токсичности препарата осельтамивир и йодсодержащего лекарственного средства ФС-1 показала значительное его снижение при комбинированном применении препаратов по сравнению с монодействием - в 27,7 раз ниже токсичности осельтамивир и в 9,6 раз ниже токсичности ФС-1.

Доза комбинированного эффекта ФС-1 с ацетилсалициловой кислотой составила 1,300 мг/мл активного вещества, изменения токсичности комбинации не наблюдалось, но по отношению к монодействию токсичность ФС-1 снизилась в 3 раза.

Использование йодсодержащего лекарственного средства ФС-1 совместно с противогриппозными препаратами римантадин и осельтамивир в экспериментах *in vitro* на культуре клеток MDCK по методу Chou-Talalay, при помощи программного обеспечения CompuSyn 10.1 [Bijnsdorp, I.V., 2011] показало, что комбинированное применение лекарственного соединения ФС-1 влияет на токсичность противогриппозных препаратов. Установлено, что применение ФС-1 в комбинации снижает дозы противогриппозных препаратов римантадин и осельтамивир, проявляя выраженный антагонистический эффект.

3.6.2. Комбинированное применение ФС-1 с противогриппозными препаратами в экспериментах *in vitro*. Изучение противовирусной активности ФС-1 совместно с противогриппозными препаратами осельтамивир, римантадин, рибавол и амиксин проводили на культуре клеток MDCK при экспериментальной гриппозной инфекции вирусом гриппа штаммом А /FPV/Waybrige/78 (H7N7) (рисунок 3.6.1).

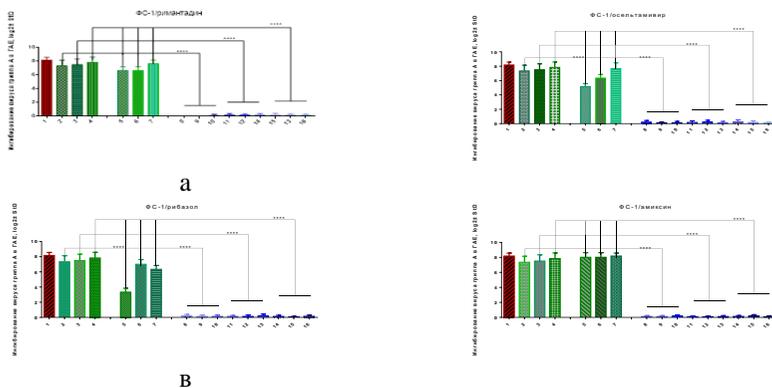


Рисунок 3.6.1 – Ингибирование вируса гриппа штамм А /FPV/Waybrige/78 (H7N7) ФС-1 с противогриппозными препаратами в вирулицидной схеме воздействия на культуре клеток MDCK

а) – ингибирование вируса гриппа штамм А /H7N7 препаратом ФС-1 в концентрациях 0,12 мг/мл; 0,06 мг/мл; 0,03 мг/мл в комбинации с препаратом римантадин в концентрациях 0,0028 мг/мл; 0,0014 мг/мл; 0,0007 мг/мл. б) – ингибирование вируса гриппа штамм А /H7N7 препаратом ФС-1 в концентрациях 0,12 мг/мл; 0,06 мг/мл; 0,03 мг/мл, в комбинации с препаратом осельтамивир в концентрациях 0,0017 мг/мл; 0,0009 мг/мл; 0,0005 мг/мл. в) – ингибирование вируса гриппа штамм А /H7N7 препаратом ФС-1 в концентрациях 0,12 мг/мл; 0,06 мг/мл; 0,03 мг/мл, в комбинации с препаратом рибавол в концентрациях 0,00175 мг/мл; 0,00087 мг/мл; 0,00044 мг/мл. г) – ингибирование вируса гриппа штамм А /H7N7 препаратом ФС-1 в концентрациях 0,12 мг/мл; 0,06 мг/мл; 0,03 мг/мл, в комбинации с препаратом амиксин в концентрациях 0,0014 мг/мл; 0,0007 мг/мл; 0,0005 мг/мл.

Установлено, что комбинированное применение йодсодержащего лекарственного соединения ФС-1 совместно с препаратами римантадин, осельтамивир, рибазол и амиксин в исследуемых концентрациях оказывает выраженное фармакологическое действие на вирус гриппа, повышая противовирусную активность на культуре клеток MDCK.

Таким образом, следует отметить, что йодсодержащее лекарственное соединение ФС-1 обладает синергетическим действием усиливая терапевтическую активность широко используемых на практике противогриппозных препаратов: римантадин, осельтамивир, рибазол и амиксин против вируса гриппа.

3.6.3. Комбинированное применение ФС-1 с противогриппозными препаратами в экспериментах *in ovo*. Изучение противовирусного комбинированного действия йодсодержащего лекарственного соединения ФС-1 и противогриппозных препаратов осельтамивира, рибазола, римантадина и амиксина осуществляли на куриных эмбрионах с использованием вируса гриппа штамм А /Waybrige/78 (H7N7). Оценку противовирусной активности проводили по вирусингибирующей схеме внесения образцов (рисунок 3.6.2).

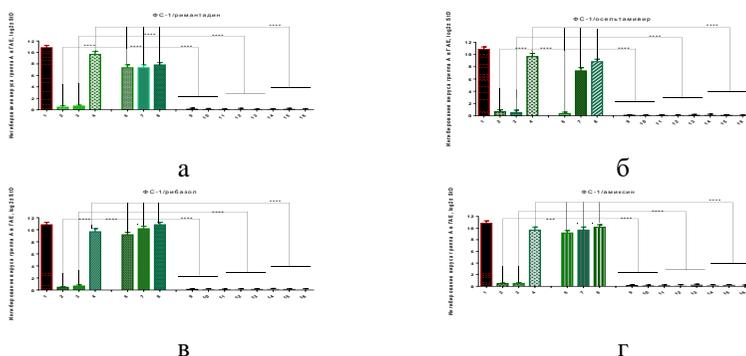


Рисунок 3.6.2 – Ингибирование вируса гриппа штамм А /FPV/Waybrige/78 (H7N7) ФС-1 с противогриппозными препаратами в вирулицидной схеме воздействия в куриных эмбрионах

а) – ингибирование вируса гриппа штамм А /H7N7 препаратом ФС-1 в концентрациях 0,27 мг/мл; 0,14 мг/мл; 0,07 мг/мл в комбинации с препаратом римантадин в концентрациях 2,5 мг/мл; 1,25 мг/мл; 0,625 мг/мл. б) – ингибирование вируса гриппа штамм А /H7N7 препаратом ФС-1 в концентрациях 0,27 мг/мл; 0,14 мг/мл; 0,07 мг/мл, в комбинации с препаратом осельтамивир в концентрациях 0,312 мг/мл; 0,156 мг/мл; 0,078 мг/мл. в) – ингибирование вируса гриппа штамм А /H7N7 препаратом ФС-1 в концентрациях 0,27 мг/мл; 0,14 мг/мл; 0,07 мг/мл, в комбинации с препаратом рибазол в концентрациях 2,5 мг/мл; 1,25 мг/мл; 0,625 мг/мл. г) – ингибирование вируса гриппа штамм А /H7N7 препаратом ФС-1 в концентрациях 0,27 мг/мл; 0,14 мг/мл; 0,07 мг/мл, в комбинации с препаратом амиксин в концентрациях 2,5 мг/мл; 1,25 мг/мл; 0,625 мг/мл.

Совместное действие препаратов римантадин, рибазол и амиксин в концентрациях 2,50; 1,25 и 0,625 мг/мл с йодсодержащим лекарственным соединением ФС-1 в концентрациях 0,27; 0,14 и 0,07 мг/мл приводили к полному подавлению репродукции вируса гриппа, что указывает на высокие терапевтические свойства изучаемых комплексов, когда препарат римантадин при моно действии на вирус гриппа в концентрациях 2,50 и 1,25 мг/мл снижал титр вируса гриппа на 3,6 log, а в концентрации 0,625 мг/мл на 3,2 log, препарат рибазол при индивидуальном действии в концентрациях 2,50; 1,25; 0,625 мг/мл снижал репликацию вируса на 1,0-2,0 log, а препарат при амиксин при моно воздействии в концентрациях 2,50; 1,25 и 0,625 мг/мл снижал репликацию вируса на 1,0-1,8 log.

На основании проведенных экспериментов показано, что применение в комбинации с противогриппозными препаратами йодсодержащее лекарственное соединение ФС-1 проявляет синергетическое действие, повышающее их фармакологическую активность и усиление ингибирующего действия на вирус гриппа А.

3.6.4. Комбинированное применение ФС-1 с противогриппозными препаратами в экспериментах *in vivo*. Комбинированное действие ФС-1 с препаратом римантадин в исследуемых концентрациях на вирус гриппа А штамм А /FPV/Waybrige/78 (H7N7), приводит к полному подавлению репродукции вируса и 100 % выживаемости животных, что указывает на выраженное фармакологическое действие ФС-1 с препаратом римантадин, повышая его противогриппозную активность в опытах *in vivo*. Тогда как зараженные вирусом гриппа цыплята, получавшие только препарат римантадин в концентрациях 8,33 и 4,16 мг/кг выживали только от 10 % до 43 %, а при введении ФС-1 в концентрации 6,6 и 13,1 мг/кг выжило от 43 % до 78 %. Все исследуемые дозы ФС-1 в композиции с противовирусным препаратом римантадин полностью подавляют репродукцию вируса гриппа.

Таким образом, лекарственное соединение ФС-1 обладает выраженным противовирусным действием совместно с представленными коммерческими препаратами.

ВЫВОДЫ

1. Скрининг йодсодержащих лекарственных соединений по биодоступности, по биофармацевтическим характеристикам, цитотоксичности в экспериментах на культуре клеток MDCK, острой токсичности в экспериментах на мышах, изучении противовирусной активности *in vitro* на примере высокопатогенного вируса гриппа птиц штамм А /FPV/Waybrige/78

(H7N7) показал наиболее эффективную из числа исследованных йодсодержащих лекарственных соединений композицию ФС-1.

2. В соответствии со шкалой токсичности веществ, йодсодержащее лекарственное соединение ФС-1 отнесено к умеренно токсичным веществам, к третьему классу опасности ГОСТ 12.1.007–76. Летальная доза ЛД₅₀ йодсодержащего лекарственного соединения ФС-1 при однократном пероральном введении составила для мышей 117,74 мг/кг, а для крыс – 922,0 мг/кг. При этом его коэффициент кумуляции составил 1,45, что соответствует по международной шкале оценки токсичности параметрам препаратов со слабовыраженным кумулятивным эффектом, сочетающих в себе низкую токсичность и оказывающих благоприятное воздействие на макроорганизм.

3. Йодсодержащее лекарственное соединение ФС-1 проявило выраженную противовирусную активность в экспериментах *in vitro*, *in ovo* и *in vivo* к разным штаммам вируса гриппа птиц: А /FPV/Waybrige/78 (H7N7), А /FPV/Rostock/34 (H7N1), А /Алматы/5/98 (H3N2), А /черноголовый хохотун/Атырау/744/04 (H13N6), А /Astana RG/6:2/2009 (H5N1).

4. Динамика распределения, накопления и выведения ФС-1 меченного радиоактивным йодом-131 при однократном введении в организм цыплят подчинялось законам линейной кинетики: лекарственное соединение достаточно быстро всасывалось из желудочно-кишечного тракта в кровь и через 30 минут было определено во всех органах, а максимальное значение его концентрации достигнуто в течение первых трех часов.

5. Терапевтическая доза ФС-1 при ежедневном приеме соединения ФС-1 в течение семи дней в концентрации 26,3 мг/кг привела к 100 % сохранению поголовья зараженных вирусом гриппа цыплят, тогда как при приеме коммерческого препарата римантадина в концентрации 8,3 мг/кг в эти же сроки выживаемость цыплят составила только 43 %. В полученных образцах от цыплят, принимавших ФС-1 в дозе 26,3 мг/кг, показало, что соединение ФС-1 подавляет репродукцию вируса на 8,0 log. Тогда как у цыплят, зараженных вирусом и получавших препарат римантадин подавление репродукции вируса отмечено только на 2,0 log. Титр в РГА остаточного вируса положительного контроля (зараженные и не леченые цыплята) составил 8,0 log.

6. Впервые показано снижение токсичности противовирусных препаратов римантадин, осельтамивир и препарата ацетилсалициловая кислота при комбинированном применении с йодсодержащим лекарственным соединением ФС-1 в эксперименте *in vitro* на культуре клеток MDCK с количественной оценкой по методу Чоу-Талалая. Комбинационный индекс (CI) для всех комбинаций препаратов составил больше единицы – CI > 1: для комбинации ФС-1 – римантадин CI = 2,018; для комбинации ФС-1-осельтамивир CI = 13,726, для комбинации ФС-1-ASA CI = 1.518. Установлены индексы снижения

дозы (DRI) для комбинации: ФС-1 – римантадин составил 9,9:1; для комбинации: ФС-1 – осельтамивир DRI составил 3,4098:1 и для комбинации ФС-1-ASA 1:2.67. А также графические изображения уравнений медианного эффекта и изоболограммы демонстрируют выраженный эффект снижения дозы токсичности противовирусных препаратов римантадин и осельтамивир.

7. Установлено, что применение йодсодержащего лекарственного соединения ФС-1 в экспериментах *in vitro*, *in ovo* и *in vivo* на высокопатогенный штамм А /FPV/Waybrige/78 (H7N7) вируса гриппа птиц в комбинации с противовирусными препаратами осельтамивир, римантадин, рибазол, амиксин оказывало синергетическое действие, характеризующееся повышением их фармакологической активности, усилением ингибирующего действия на вирус. Комбинированное применение ФС-1 сократило продолжительность болезни и повысило сохранность животных.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Ежедневный прием в эксперименте на цыплятах данного соединения ФС-1 в течение семи дней в дозе 26,3 мг/кг обеспечивает 100% сохранение поголовья зараженных вирусом гриппа, свидетельствующий о терапевтической эффективности.

2. Разработан способ повышения фармакологической активности противовирусных препаратов, и можно применять в противовирусной терапии в ветеринарной и медицинской практике.

3. Комбинированное применение лекарственного средства ФС-1 с противовирусными препаратами, снижающее токсичность и усиливающее терапевтическую активность используется в медицине и ветеринарии, как с лечебной, так и профилактической целью.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Характеристика мутантных штаммов H1N1 и H7N7 вируса гриппа устойчивых к коммерческим противовирусным препаратам [Текст] / [И. С. Коротецкий, Н. В. Зубенко, С. В. Шилов и др.] // Биотехнология. Теория и практика. – Алматы, 2015. – № 4. – С. 47-56; То же: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25671737>

2. Антигриппозное действие лекарственного вещества ФС-1 в эксперименте на цыплятах [Текст] / [М. Е. Кулманов, Л. Н. Иванова, Н. Н. Соколова и др.] // Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская. – Алматы, 2015. – № 5 (311). – С. 27-35; То же: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://journals.nauka-nanrk.kz/biological-medical/issue/view/324/185>

3. **Иванова, Л. Н.** Противовирусная активность лекарственного средства ФС-1 в опытах *in ovo* [Текст] / Л. Н. Иванова // Известия НАН КР. Раздел Медицина. – Б., 2015. – № 4. – С 34-41; То же: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=27446266>

4. Биофармацевтические свойства комплексов иода [Текст] / М. Е. Кулманов, Б. Ф. Керимжанова, И. С. Коротецкий, Л. Н. Иванова // Научная дискуссия: Инновации в современном мире. – М., 2016. – № 12 (55). – С. 144-157; То же: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=27182200>

5. Противовирусная активность лекарственного средства ФС-1 в отношении вируса гриппа штамма А [Текст] / [А. И. Ильин, Б. Ф. Керимжанова, Л. Н. Иванова и др.] // Известия НАН КР. – Б., 2016. – № 1. – С 43-51; То же: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=27398111>

6. **Иванова, Л. Н.** Фармакокинетика лекарственного соединения ФС-1 при однократном пероральном применении в организме цыплят [Текст] / Б. Ф. Керимжанова, Л. Н. Иванова, А. И. Ильин // Научная дискуссия: Инновации в современном мире. – М., 2016. – № 4 (47). – С. 109-118; То же: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25868775>

7. **Иванова, Л. Н.** Физико-химическая характеристика качественного и количественного состава новых синтезированных наноструктурированных комплексов, определение их противовирусной активности и токсичности [Текст] / А. И. Ильин, Б. Ф. Керимжанова, Л. Н. Иванова // Научная дискуссия: Инновации в современном мире. – М., 2016. – № 4 (47). – С. 118-131; То же: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25868778>

8. **Иванова, Л. Н.** Оценка эффективности иодсодержащего комплекса в борьбе с гриппом птиц А [Текст] / Б. Ф. Керимжанова, Л. Н. Иванова, А. И. Ильин // Известия НАН РК. Серия аграрных наук. – Алматы, 2019. – № 5. – С.; То же: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/http://agricultural.kz/images/2019-5/1/24.AGRAR_05_2019_32-38.pdf

9. Патент № 7196 Республика Казахстан. МПК 2021/11242. Способ повышения фармакологической активности противогриппозных препаратов [Текст] / Б. Ф. Керимжанова, Л. Н. Иванова, И. С. Коротецкий, С. В. Шилов; Алматы. НИИ связи. – заявл. 13.12.21; опубл. 10.06.22, Бюл. № 45. – 2 с.: ил.

10. Методы исследований йодсодержащих соединений на антивирусную активность в отношении гриппа птиц [Текст]: методическая

рекомендация / Б. Ф. Керимжанова, Н. А. Парецкая, Л. Н. Иванова. – Алматы, 2020. – 64 с.

11. Complete Genome Sequences of Gram-Positive Opportunistic Pathogens Isolated from Hospitals in Almaty, Kazakhstan [Text] / [I. S. Korotetskiy, A. B. Jumagazieva, F. B. Kerimzhanova et al]. Microbiology Resource Announcements. – 2022. – Vol. 91, No.4. – P. 1-3; То же: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=48999218>

12. Whole genome sequence data of Stenotrophomonas maltophilia SCAID WNDI-2022(370) [Text] / [I. S. Korotetskiy, A. B. Jumagazieva, F. F. Kerimzhanova et al] // Data in Brief. – 2022. Vol. 45, 108694. – С.1-9; То же: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=57913898>

13. Analysis of Whole-Genome Sequences of Photogenic Gram-Negative Isolated from the Same Hospital Environment to Investigate Common Evolutionary Trends Associated with Horizontal Gene Exchange, Mutations and DNA Methylation Patterning [Text] / Iliya S. Korotetskiy, Sergey V. Shilov, Tatyana V. Kusnetsova, et al]. Microorganisms, 2023, 11(2), 323; – С. 1-25; То же: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.mdpi.com/2076-2607/11/2/323>

Иванова Людмила Николаевнаын «Канаттуулардын тумоосунун А вирусуна курамында йод кармалган ФС-1 комплексинин таасирине мүнөздөмө жана гриппке каршы дарыларды колдонуунун технологиясын өркүндөтүү» деген темада 03.01.06 – биотехнология адистиги боюнча биология илимдеринин кандидаты окумуштуулук даражасын изденип алуу үчүн жазылган диссертациясынын

РЕЗЮМЕСИ

Негизги сөздөр: скрининг, канаттуулар тумоосунун А вирусу, синергетикалык активдүүлүк, гриппке каршы дарылар.

Изилдөөнүн объекти: ФС-1, ФС-1.1, ФС-1.2, ФС-1.3, ФС-1.4, ФС-1.5, ФС-1.6, ФС-1.7, ФС-1.8 байланыштары; МДСК клеткалары, Vero; канаттуулардын тумоосунун А вирусунун штаммдары; лабораториялык жаныбарлар, тоок эмбриондору.

Изилдөөнүн предмети: Канаттуулардын тумоосунун А вирусуна йод камтыган ФС-1 комплексинин таасиринин мүнөздөмөсү жана гриппке каршы препараттарды колдонуунун технологиясын өркүндөтүү

Изилдөөнүн максаты: Вируска каршы таасири бар, аз уулуулугун айкалыштырган жана макроорганизмге пайдалуу таасир этүүчү йод

камтыган дары-дармек кошулмасы бар гриппке каршы препараттарды колдонуу технологиясын өркүндөтүү.

Изилдөөнүн ыкмалары: физика-химиялык, микробиологиялык, радиохимиялык, фармакологиялык жана молекулярдык генетикалык, статистикалык.

Алынган натыйжалар жана алардын жаңылыгы: Биринчи жолу йод камтыган ФС-1 дарылык кошулмасынын вирууска каршы активдүүлүгү H7N1, H7N7, H13N6, H1N1, H5N1 түрүндөгү канаттуулардын тумоосунун А вирустарына каршы аныкталган. Биринчи жолу ФС-1 кошулмасы менен айкалышканда антивирустук препараттардын уулуулугунун төмөндөшү MDCK клетка культуурасында *in vitro* экспериментинде көрсөтүлгөн; Эксперименттерде *in vitro*, *in ovo*, *in vivo*, гриппке каршы осельтамивир, римантадин, рибазол жана амиксин дарылар менен грипптин вирусунa ингибитордук таасирин күчөтүү аркылуу фармакологиялык активдүүлүктү жогорулаткан ФС-1ди биргелешип колдонуу технологиясы иштелип чыкты.

Колдонуу боюнча сунуштар: «Канаттуулар тумоосуна каршы вируска каршы активдүүлүк үчүн йод камтыган кошулмаларды изилдөө методдору» аттуу методикалык сунуштар басылып чыкты, №7196 2021-ж Казакстан Республикасынын Юстиция министрлигинин илимий изилдөө институтунда пайдалуу моделге патент алынды. ФС-1 таасири астында вируска каршы препараттардын терапиялык эффективдүүлүгүнүн олуттуу жогорулашы практикалык ветеринарияда жана медицинада дарылоо жана профилактикалык максаттарда да колдонулушу мүмкүн.

Колдонуу тармагы: биотехнология, ветеринария, медицина.

РЕЗЮМЕ

диссертации Ивановой Людмилы Николаевны на тему: «Характеристика воздействия йодсодержащего комплекса ФС-1 на вирус гриппа птиц А и совершенствование технологии применения противогриппозных препаратов» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология

Ключевые слова: скрининг, вирус гриппа птиц А, синергетическая активность, противогриппозные препараты.

Объекты исследования: соединения ФС-1, ФС-1.1, ФС-1.2, ФС-1.3, ФС-1.4, ФС-1.5, ФС-1.6, ФС-1.7, ФС-1.8; клетки MDCK, Vero; штаммы вируса гриппа птиц А; лабораторные животные, куриные эмбрионы.

Предмет исследования: Характеристика воздействия йодсодержащего комплекса ФС-1 на вирус гриппа птиц А и

совершенствование технологии применения противогриппозных препаратов.

Цели исследования: Совершенствование технологии применения противогриппозных препаратов с йодсодержащим лекарственным соединением, обладающим противовирусным действием, сочетающего в себе низкую токсичность и оказывающего благоприятное воздействие на макроорганизм.

Методы исследования: физико-химические, микробиологические, радиохимические, фармакологические и молекулярно-генетические, статистические.

Полученные результаты и их новизна: впервые установлена противовирусная активность йодсодержащего лекарственного соединения ФС-1 в отношении вирусов гриппа птиц А подтипов H7N1, H7N7, H13N6, H1N1, H5N1; Показано снижение токсичности противовирусных препаратов при комбинированном применении с соединением ФС-1 в эксперименте *in vitro* на культуре клеток MDCK; Впервые в экспериментах *in vitro*, *in ovo*, *in vivo* разработана технология комбинированного применения ФС-1, с противогриппозными препаратами осельтамивир, римантадин, рибазол и амиксин повышающая фармакологическую активность путем усиления ингибирующего воздействия на вирус гриппа.

Рекомендации по использованию: изданы методические рекомендации: «Методы исследований йодсодержащих соединений на антивирусную активность в отношении гриппа птиц», получен Патент на полезную модель в НИИС МЮ РК №7196, 2021. Значительное усиление терапевтической эффективности противовирусных препаратов под воздействием ФС-1 может быть использовано в практической ветеринарии и медицине, как с лечебной, так и профилактической целью.

Область применения: биотехнология, ветеринария, медицина.

SUMMARY

dissertation by Ivanova Lyudmila Nikolaevna on the topic «Characteristics of the effect of the new coordination compound of iodine FS-1 on the avian influenza A virus and improvement of the technology for the use of anti-influenza drugs» for the scientific degree of candidate of biological sciences, on the specialty 03.01.06 - biotechnology

Keywords: screening, avian influenza A virus, synergistic activity, anti-influenza drugs.

Objects of research: compounds FS-1, FS-1.1, FS-1.2, FS-1.3, FS-1.4, FS-1.5, FS-1.6, FS-1.7, FS-1.8; MDCK, Vero cells; avian influenza A virus strains; laboratory animals, chicken embryos.

Subject of research: Characteristics of the effect of the iodine-containing complex FS-1 on the avian influenza A virus and improvement of the technology for the use of anti-influenza drugs

Objectives of the study: Improving the technology for using anti-influenza drugs with an iodine-containing medicinal compound that has an antiviral effect, combines low toxicity, and has a beneficial effect on the macroorganism.

Research methods: physic-chemical, microbiological, radiochemical, pharmacological, and molecular-genetics.

The results obtained and their novelty: - for the first time, the antiviral activity of the iodine-containing medicinal compound FS-1 has been established against avian influenza A viruses of subtypes H7N1, H7N7, H13N6, H1N1, H5N1. For the first time, a decrease in the toxicity of antiviral drugs has been shown when combined with the FS-1 compound in an in vitro experiment on MDCK cell culture. For the first time in experiments in vitro, in ovo, and in vivo, a technology for the combined use of FS-1 with anti-influenza drug oseltamivir, rimantadine, ribazol and amixin, has been developed that increases pharmacological activity by enhancing the inhibitory effect on the influenza virus.

Recommendations for use: Methodological Recommendations have been published: "Methods of research of iodine-containing compounds for antiviral activity in relation to avian influenza", a Patent for a utility model was obtained in the Research Institute of the Ministry of Justice of the Republic of Kazakhstan No. 7196, 2021. A significant increase in the therapeutic effectiveness of antiviral drugs under the influence of FS-1 can be used in practical veterinary medicine and medicine, both for therapeutic and preventive purposes.

Application area: biotechnology, veterinary medicine, medicine.

Формат 60x84/16. Печать офсетная.
Объем 1,75 п.л. Тираж 20 экз.



Типография «Махprint»
Адрес: 720045, г. Бишкек, ул. Ялтинская 114
Тел.: (+996 555) 57-47-98
(+996 505) 92-12-02
e-mail: maxprint@mail.ru