

УДК 578.832; 582.734



## Результаты исследования противовирусной активности субстанции АСД при экспериментальном заражении мышей вирусами гриппа

С.В. Енгашев<sup>1</sup>, О.А. Дорогова<sup>2</sup>, Е.С. Енгашева<sup>2</sup>, И.Ю. Меркулова<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА имени К.И. Скрябина»,

Россия, 109472, г. Москва, ул. Академика Скрябина, д. 23

<sup>2</sup> Общество с ограниченной ответственностью «Научно-внедренческий центр Агроветзащита»,

Россия, 129329, г. Москва, Игарский проезд, д. 4, стр. 2

<sup>3</sup> Частное учреждение образовательная организация высшего образования

«Медицинский университет «Реавиз»»,

Россия, 107564, г. Москва, ул. Краснобогатырская, д. 2, стр. 2

E-mail: kengasheva@vetmag.ru

Получена 29.05.2025

После рецензирования 30.08.2025

Принята к печати 15.09.2025

**Цель.** Оценка противовирусной эффективности препарата АСД на модели летальной гриппозной пневмонии у мышей в отношении вирусов гриппа А подтипов H3N2, H5N2 и H5N8.

**Материалы и методы.** Мышей линии Balb/c инфицировали вирусами гриппа. Оценивали снижение смертности и улучшение динамики веса зараженных животных (по 15 особей в группе), также определяли вирусную нагрузку в легочной ткани на 3 сут после заражения (по 6 особей в группе). Препаратом сравнения служил осельтамивир, животным из группы отрицательного контроля вводили плацебо. Препараты вводили по лечебно-профилактической или лечебной схеме.

**Результаты.** При инфицировании вирусом H5N8 максимальная потеря веса (группа плацебо) составила 16,8% на 12 сут (лечебно-профилактическая схема) и 14,8% на 9 сут (лечебная схема). АСД ухудшал динамику снижения веса, до 21% на 12 сут (лечебно-профилактическая схема) и до 28,4% на 9 сут (лечебная схема). При инфицировании вирусом H5N2 максимальная потеря веса составила 34,6% на 8 сут (лечебно-профилактическая схема) и 31,2% на 7 сут (лечебная схема). Препарат АСД уменьшал динамику снижения веса: до 29,9% на 8 сут (лечебно-профилактическая схема) и до 26,3% на 7 сут (лечебная схема). При инфицировании вирусом H3N2 максимальная потеря веса составила 38,4% на 11 сут (лечебно-профилактическая схема) и на 33,9% на 9 сут (лечебная схема). Препарат АСД улучшал динамику снижения веса до 18,5% на 11 сут (лечебно-профилактическая схема), но при лечебной схеме ухудшал динамику до 34,1% на 9 сут. Обнаружили снижение выживаемости мышей, зараженных вирусом H5N8, при использовании АСД (лечебная схема). У мышей, получавших АСД, и зараженных вирусом H3N2 (лечебно-профилактическая схема) или H5N2 (лечебная схема) отметили тенденцию к протективному действию препарата. Влияния препарата АСД на уровень вирусной нагрузки не отметили.

**Заключение.** Препарат АСД проявляет противовирусные свойства при пероральном введении по лечебно-профилактической схеме в отношении вируса гриппа А (подтипы H3N2 и H5N2).

**Ключевые слова:** вирус гриппа; противовирусная активность; тестирование *in vivo*; летальная гриппозная пневмония

**Список сокращений:** АСД — антисептик-стимулятор Дорогова, фракция 2; ЕД50 — средняя эффективная доза — доза препарата, которая улучшает выживаемость животных на 50%; ИЗ — индекс защиты — расчетный показатель эффективности препарата; МЛД50 — 50% мышьяная летальная доза вируса — доза вируса, вызывающая гибель половины мышей в группе; ОП — оптическая плотность; СОП — стандартная операционная процедура; СПЖ — средняя продолжительность жизни; ТИД50 — 50% тканевая инфекционная доза — доза вируса, вызывающая заражение 50% клеток; ANOVA — Analysis Of Variance, анализ достоверности различий между группами; DPBS — фосфатно-солевой буферный раствор по протоколу Дульбекко; PBS — фосфатно-солевой буферный раствор.

**Для цитирования:** С.В. Енгашев, О.А. Дорогова, Е.С. Енгашева, И.Ю. Меркулова. Результаты исследования противовирусной активности субстанции АСД при экспериментальном заражении мышей вирусами гриппа. *Фармация и фармакология*. 2025;13(5):385-402. DOI: 10.19163/2307-9266-2025-13-5-385-402

© С.В. Енгашев, О.А. Дорогова, Е.С. Енгашева, И.Ю. Меркулова, 2025

**For citation:** S.V. Engashev, O.A. Dorogova, E.S. Engasheva, I.Yu. Merkulova. Results of the study of antiviral activity of ASD substance in experimental infection of mice with influenza viruses. *Pharmacy & Pharmacology*. 2025;13(5): 385-402. DOI: 10.19163/2307-9266-2025-13-5-385-402

# Results of the study of antiviral activity of ASD substance in experimental infection of mice with influenza viruses

S.V. Engashev<sup>1</sup>, O.A. Dorogova<sup>2</sup>, E.S. Engasheva<sup>2</sup>, I.Yu. Merkulova<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology — MBA named after K.I. Skryabin, 23 Akademik Skryabin Str., Moscow, Russia, 109472

<sup>2</sup> Scientific and Innovation Center Agrovetzashita, 4 Igarsky Pass., bldg. 4, Moscow, Russia, 129329

<sup>3</sup> Medical University "Reaviz", 2 Krasnobogatyrskaya Str., bldg. 2, Moscow, Russia, 107564

E-mail: kengasheva@vetmag.ru

Received 29 May 2025

After peer review 30 Aug 2025

Accepted 15 Sep 2025

**The aim.** To evaluate the antiviral efficacy of ASD drug on a model of lethal influenza pneumonia in mice against influenza A viruses of subtypes H3N2, H5N2 and H5N8.

**Materials and methods.** Balb/c mice were infected with influenza viruses. The decrease of mortality and improvement in the weight dynamics of infected animals (15 animals per group) were evaluated, and the viral load in the lung tissue was determined on day 3 after infection (6 animals per group). Oseltamivir was used as a comparator medicine, and placebo was administered to negative control group animals. The medicines were administered according to a therapeutic-prophylactic or therapeutic regimen.

**Results.** The maximum weight loss with the H5N8 virus infected mice (placebo group) was 16.8% on day 12 (therapeutic-prophylactic regimen) and 14.8% on day 9 (therapeutic regimen). ASD worsened the dynamics of weight loss, up to 21% on day 12 (therapeutic-prophylactic regimen) and up to 28.4% on day 9 (therapeutic regimen). The maximum weight loss with the H5N2 virus infected mice was 34.6% on day 8 (therapeutic-prophylactic regimen) and 31.2% on day 7 (therapeutic regimen). The ASD medicine reduced the dynamics of weight loss: up to 29.9% on day 8 (therapeutic-prophylactic regimen) and up to 26.3% on day 7 (therapeutic regimen). The maximum weight loss with the the H3N2 virus was 38.4% on day 11 (therapeutic-prophylactic regimen) and 33.9% on day 9 (therapeutic regimen). The ASD medicine improved the dynamics of weight loss to 18.5% on day 11 (therapeutic-prophylactic regimen), but with the therapeutic regimen, it worsened the dynamics to 34.1% on day 9. A decrease of the survival rate of mice infected with the H5N8 virus using ASD (therapeutic regimen) was revealed. Mice receiving ASD and infected with the H3N2 virus (therapeutic-prophylactic regimen) or H5N2 (therapeutic regimen) showed a tendency towards a protective effect of the drug. No effect of the ASD medicine on the level of viral load was noted.

**Conclusion.** The ASD medicine exhibits antiviral properties when administered orally according to a therapeutic-prophylactic regimen against influenza A virus (subtypes H3N2 and H5N2).

**Keywords:** influenza virus; antiviral activity; in vivo testing; lethal influenza pneumonia

**Abbreviations:** ASD — antiseptic-stimulator Dorogova, fraction 2; ED50 — median effective dose — the dose of the drug that improves the survival rate of animals by 50%; PI — protection index — calculated indicator of drug effectiveness; MLD50 — 50% mouse lethal dose of the virus — the dose of the virus that causes the death of half of the mice in the group; OD — optical density; SOP — standard operating procedure; ALS — average life span; TCID50 — 50% tissue infectious dose — the dose of the virus that causes infection of 50% of cells; ANOVA — Analysis Of Variance; DPBS — Dulbecco's phosphate-buffered saline; PBS — phosphate-buffered saline.

## ВВЕДЕНИЕ

Вирус гриппа вызывает высококонтагиозное респираторное заболевание, которое является причиной ежегодных эпидемий, захватывающих до половины населения земного шара. Каждый год в мире регистрируют около 1 млрд случаев сезонного гриппа, из них 3–5 млн протекают в тяжёлой форме. От респираторных патологий, вызванных вирусами гриппа, ежегодно умирает от 290 до 650 тыс. человек [1]. Грипп приобретает особое значение из-за высокой вирулентности возбудителя, способности к пандемическому распространению, вирусной изменчивости, развития осложнений. Наиболее частое осложнение

гриппа — пневмония, которая составляет 65% всех осложнений и нередко заканчивается летальным исходом [2]. Кроме того, грипп может вызывать ряд нереспираторных осложнений, включая фебрильные судороги, синдром Рея и миокардит [3–5].

Согласно данным крупного метаанализа, проведённого К.Е. Lafond и соавт. (2021), вирусы гриппа ежегодно становятся причиной более 5 миллионов госпитализаций по всему миру. Также выявили, что на грипп приходится в среднем 14,1% случаев госпитализации по поводу острых респираторных заболеваний среди взрослого населения, без существенных различий между возрастными группами [6].

Несмотря на то, что тяжелое течение гриппа может наблюдаться в любом возрасте, наиболее уязвимыми оказываются дети. Уровень заболеваемости остается стабильно высоким в детской популяции [7, 8]. Ежегодно около 870 тыс. детей в возрасте до 5 лет госпитализируются по всему миру по причине гриппа [9]. В метаанализе, проведенном Н. Nair и соавт. (2011), было выявлено, что от 28 тыс. до 111,5 тыс. смертей среди детей в возрасте до 5 лет связаны с причинами, связанными с заболеваемостью гриппом, и подавляющее большинство из них приходится на развивающиеся страны [10]. P.J. Gill и соавт. (2015) оценили, какие дети находятся в группе повышенного риска развития осложнений при гриппе. Было установлено, что недоношенность, неврологические расстройства, серповидноклеточная анемия, иммуносупрессия, диабет и возраст младше 2 лет являются факторами риска госпитализации. Кроме того, наличие более одного из этих факторов увеличивало риск госпитализации с 52 до 74% [11].

К группам риска тяжелого течения гриппа также относятся пожилые люди (в возрасте  $\geq 60$  лет), беременные женщины, люди с хроническими заболеваниями или врожденным/приобретенным иммунодефицитом [12].

Настоящая работа посвящена изучению противовирусной активности препарата АСД-2 *in vivo* на модели летальной гриппозной пневмонии у мышей Balb/c.

В настоящей работе была использована модель летальной гриппозной пневмонии, которая является общепринятой в исследованиях протективной активности химиопрепаратов, предназначенных для лечения и профилактики гриппозной инфекции [13]. При этом основными показателями, по которым проводили оценку эффективности образцов препаратов, являлись динамика смертности подопытных животных и динамика весовых показателей. Также оценивали вирусную нагрузку в легочной ткани для подтверждения специфичности действия препарата в отношении вируса.

**ЦЕЛЬ.** Оценить протективную эффективность *in vivo* препарата АСД на модели летальной гриппозной пневмонии у мышей линии Balb/c в отношении вирусов гриппа А подтипов H3N2, H5N2 и H5N8.

#### **Задачи исследования:**

1. Адаптация к мышам линии Balb/c вируса гриппа A/common duck/Uvs Nuur lake/26/2016 A (H5N8);
2. Адаптация к мышам линии Balb/c вируса гриппа A/Duck/Potsdam/1402-6/86 (H5N2);
3. Адаптация к мышам линии Balb/c вируса гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2);
4. Определение динамики гибели животных

при введении исследуемого препарата по лечебно-профилактической схеме против вирусов гриппа A/common duck/Uvs Nuur lake/26/2016 (H5N8), A/Duck/Potsdam/1402-6/86(H5N2), A/Aichi/2/68(H3N2);

5. Определение динамики гибели животных при введении исследуемого препарата по лечебной схеме против вирусов гриппа A/common duck/Uvs Nuur lake/26/2016 (H5N8), A/Duck/Potsdam/1402-6/86(H5N2), A/Aichi/2/68(H3N2);
6. Определение динамики изменения массы тела животных при введении исследуемых препаратов по лечебно-профилактической схеме против вируса гриппа A/common duck/Uvs Nuur lake/26/2016 (H5N8), A/Duck/Potsdam/1402-6/86(H5N2), A/Aichi/2/68(H3N2);
7. Определение динамики изменения массы тела животных при введении исследуемых препаратов по лечебно-профилактической схеме против вируса гриппа A/common duck/Uvs Nuur lake/26/2016 (H5N8), A/Duck/Potsdam/1402-6/86(H5N2), A/Aichi/2/68(H3N2);
8. Определение вирусной нагрузки в легочной ткани инфицированных животных на 3 сут после заражения.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

### **Дизайн исследования**

Исследование было проведено на базе ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России с декабря 2021 по июнь 2022 гг.

Исследуемый препарат — АСД (антисептик-стимулятор Дорогова, фракция 2), производитель ООО «АВЗ С-П», г. Сергиев Посад. Препарат контроля — осельтамивир (Тамифлю®) LaRoche, Швейцария (положительный контроль). Дата изготовления: 04.2016. Серия: M1030. Срок годности: 04.2023. Лекарственная форма: капсулы по 75 мг. Условия хранения: в холодильнике при температуре 2–8°C. Плацебо (отрицательный контроль) — физиологический раствор.

Исследование было проведено на 423 мышах самках чистой линии Balb/c в возрасте 5–7 недель массой 19,28 $\pm$ 0,29. Выбор данной линии полностью согласуется с методическими документами, используемыми при работе<sup>1, 2, 3</sup>. При определении

<sup>1</sup> Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая // Миронов А.Н., Бунатян А.С. и др.; под ред. А.Н. Миронова. — Москва: Гриф и К, 2012. — 944 с.

<sup>2</sup> ГОСТ 33215-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. [Текст] Правила оборудования помещений и организации процедур — Введ. 1.07.2016 — Москва: Стандартинформ, 2016 — 12 с.

<sup>3</sup> Обработка результатов медико-биологических исследований на микрокалькуляторах по программам // Ю.И. Иванов, О.Н. Погорелюк. — Москва: Медицина, 1990. — 217 с.

протективной активности (снижении смертности и улучшения динамики веса зараженных животных) использовали 15 особей в группе, для определения вирусной нагрузки в лёгочной ткани — 6 особей в группе. Мыши были получены из питомника «Столовая» ФГБУН «НЦБМТ» ФМБА России, Московская область. В период акклиматизации и эксперимента мышей размещали в поликарбонатных клетках BENEX a.s., Чешская республика, тип ТЗА, S=1200 см<sup>2</sup>, группами по 3 особи (на первом этапе) и по 15 особей (на втором этапе), на подстиле (древесные гранулы); клетки покрыты стальными решётчатыми крышками с кормовым углублением. Гранулированный корм для содержания мышей (ООО «Лабораторкорм», Москва) давали *ad libitum* в кормовое углубление стальной решётчатой крышки клетки. Животным давали воду, очищенную методом обратного осмоса на установке для очистки воды «MilliporeRiOs 30». Воду в стандартных поилках со стальными крышками-носиками давали *ad libitum*. В качестве подстилки использовали древесные гранулы. Животных содержали в отдельных помещениях вивария ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России в контролируемых условиях окружающей среды (18–24°C и относительной влажности воздуха 50–80%). Фотопериод составлял 12 часов ночь — 12 часов день при искусственном освещении лампами дневного света. Уход и содержание животных осуществлялся в соответствии с СОП № В/004/01, принятой в ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России.

При определении протективной активности (снижении смертности и улучшения динамики веса зараженных животных) использовали 15 особей в группе, для определения вирусной нагрузки в лёгочной ткани — 6 особей в группе.

### Распределение по группам

Животные были распределены по группам методом простой рандомизации по массе тела так, чтобы индивидуальный вес тела входил в диапазон вариации  $\pm 10\%$  от среднего значения показателя. Данный диапазон был выбран для обеспечения однородности экспериментальных групп и исключения влияния индивидуальных особенностей животных на исход опыта.

С целью идентификации каждое животное в группе было обозначено индивидуальным номером, который записан на карточке клетки. С целью маркировки была использована биологическая краска (бриллиантовый зеленый «Леккер» БЗ-3), безопасная для мышей. Придерживались следующих правил маркировки: 1 — левая верхняя лапа, 2 — левый бок, 3 — левая нижняя лапа, 4 — голова, 5 — спина, 6 — хвост, 7 — правая верхняя лапа, 8 — левый бок, 9 — левая нижняя лапа, 10 — нет окраски, 11 — левая и правая верхние лапы, 12 — левый и правый бок, 13 —

левая и правая нижние лапы, 14 — голова и хвост, 15 — полоса от головы до хвоста.

Лабораторных животных до начала исследования содержали 5 сут для адаптации при групповом содержании в клетках. Во время этого периода у животных каждый день контролировали клиническое состояние путем визуального осмотра. Оценивали такие параметры как: состояние шерсти, наличие повреждений кожного покрова, а также подвижность. Животных с обнаруженными в ходе осмотра отклонениями в экспериментальные группы не включали.

### Эвтаназия и этическая экспертиза

По окончании эксперимента животные были подвергнуты плановой эвтаназии путем передозировки CO<sub>2</sub>. Эвтаназия была завершена смещением шейных позвонков (цервикальная дислокация). Все процедуры с животными в исследовании рассмотрены и утверждены Комиссией по биоэтике ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России на предмет соответствия регулирующим актам (Протокол заседания комиссии по биоэтике ФГБУ НИИ гриппа Минздрава России им. А.А. Смородинцева № 49 от 04.03.2022 г).

### Инфекционные культуры

Для работы были использованы штаммы вирусов гриппа: A/common duck/Uvs Nuur lake/26/2016 (H5N8), A/Duck/Potsdam/1402-6/86(H5N2), A/Aichi/2/68(H3N2). Все штаммы получены из коллекции вирусов гриппа лаборатории химиотерапии вирусных инфекций ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России.

Для определения вирусной нагрузки в легких животных использована клеточная культура почки спаниеля MDCK (Madin-Darby canine kidney), как наиболее чувствительная и перmissive в отношении различных вирусов гриппа человека [14]. Источник клеточной культуры — клеточная линия MDCK London Line (пассаж 8/8) получена из Influenza Reagent Resource, CDC&P, Atlanta, Georgia, США (кат. № FR-58). Клетки культивировали на питательной среде следующего состава: среда Альфа MEM (Биолот, Россия) с добавлением 5% сыворотки крупного рогатого скота (Biowest, США) и смеси антибиотиков пенициллин/стрептомицин в концентрации 1% (Биолот, Россия).

### Дизайн эксперимента по адаптации вирусов гриппа (этап 1)

Для адаптации вируса к животным было проведено 5 пассажей через лёгкие мышей. Для каждого вируса процесс адаптации осуществлялся следующим образом: по три животных заражали



соответствующим штаммом в разведении 10:1, на 3 сут после заражения животных подвергали эвтаназии и отбирали лёгкие, гомогенизировали, полученную суспензию использовали для последующего заражения.

Вирус гриппа после адаптации был размножен в аллантоисной полости 10-дневных развивающихся куриных эмбрионов, после чего жидкость была собрана, осветлена при помощи центрифугирования (центрифуга Eppendorf 5424 [Eppendorf, Германия], 5 мин при 3000 об/мин.) и расфасована по аликвотам объемом 1 мл. Все аликвоты сделаны из единого стока аллантоисной жидкости и одномоментно заморожены при  $-80^{\circ}\text{C}$ . Было проведено предварительное титрование вируса на мышях линии Balb/c для определения 50% мышинной летальной дозы вируса (МЛД50) (табл. 1 и 2).

### Дизайн эксперимента по определению противовирусной активности (этап 2)

Для проведения эксперимента препарат разводили по следующей схеме: 0,1 мл препарата разводят в 39,9 мл теплой воды. Указанная схема разведения позволяет получить необходимую концентрацию раствора при использовании минимального количества исследуемого средства. Доза составила 0,8 мл полученного раствора на мышью весом 20 г. Указанный объем введения соответствовал рассчитанной дозировке препарата, обеспечивающей требуемую нагрузку действующего вещества на массу тела животного и достаточный уровень воздействия для реализации фармакологического эффекта. Исследуемый препарат, или плацебо, (в зависимости от группы рандомизации) вводили дробно перорально при помощи зонда для перорального введения 2 р/сут с интервалом 6 ч в объеме 0,4 мл.

Все препараты вводили по *лечебно-профилактической схеме* (за 10 дней до заражения, далее — в течение 10 дней после заражения) и по *лечебной схеме* (в течение 10 дней после заражения) 2 р/сут с интервалом 6 ч. Данные схемы введения были разработаны и использованы в рамках настоящего исследования для достижения поставленных экспериментальных задач. Наблюдение за животными осуществляли в течение 14 сут после заражения.

Препарат контроля — осельтамивир — применяли для контроля специфичности патологического процесса. Осельтамивир — ингибитор нейраминидазы, обладающий доказанной клинической эффективностью при лечении и профилактике гриппа А и В. Препарат рекомендован к применению при гриппе международными организациями здравоохранения, включая Всемирную организацию здравоохранения

(ВОЗ)<sup>4</sup> и Центры по контролю и профилактике заболеваний США (CDC)<sup>5</sup>. В клинических рекомендациях по лечению гриппа<sup>6,7</sup> в РФ осельтамивир также рекомендован для лечения гриппа у взрослых и детей. Доказано, что осельтамивир сокращает продолжительность заболевания, снижает вирусную нагрузку и риск осложнений, особенно при раннем начале терапии [15, 16]. Эффективность использования препарата при гриппе подтверждена в крупных систематических обзорах и метаанализах [17, 18].

Осельтамивир вводили животным перорально при помощи желудочного зонда (Fisherbrand, США) в объеме 0,2 мл в дозировке 20 мг/кг/сут, по аналогичной схеме, что и исследуемые препараты.

В группах плацебо животным вводили перорально стерильный физиологический раствор.

Мышей под легким эфирным наркозом интраназально заражали вирусом в объеме 50 мкл в дозе 2 МЛД50. Мышей ежедневно взвешивали и фиксировали гибель животных. Количество животных, использованных в эксперименте, составило 45 особей на первом этапе и 378 особей на втором. Количество животных в каждой группе составляло 21 особь, из них 15 особей были предназначены для оценки смертности и динамики веса в ходе инфекции, а 6 особей — для оценки вирусной нагрузки в легких. Общая схема эксперимента представлена в таблицах 1 и 2, манипуляции, проводимые с животными, обозначены в таблицах 3 и 4.

### Забор органов и приготовление гомогенатов

На 3 сут после заражения по 6 животных из каждой группы подвергали эвтаназии, вскрывали, изолировали и взвешивали их лёгкие. Образцы ткани лёгких гомогенизировали в фосфатно-солевом буферном растворе DPBS с помощью прибора TissueLyserII (Qiagen, США).

### Титрование вируса на культуре клеток MDCK

Для оценки уровня репродукции вируса в образцах ткани легких животных проводили титрование его инфекционной активности в культуре клеток MDCK (4 лунки 96-луночного планшета на каждое разведение образца ткани). Рассев клеток MDCK на 96-луночные планшеты

<sup>4</sup> WHO Guidelines for Pharmacological Management of Pandemic Influenza A(H1N1) 2009 and Other Influenza Viruses. Geneva: World Health Organization; 2010. — [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK138515/>

<sup>5</sup> <https://www.cdc.gov/flu/treatment/antiviral-drugs.html>

<sup>6</sup> Клинические рекомендации. Грипп. 2025. Министерство Здравоохранения Российской Федерации. — [Электронный ресурс]. — Режим доступа: [https://cr.minzdrav.gov.ru/view-cr/249\\_2](https://cr.minzdrav.gov.ru/view-cr/249_2)

<sup>7</sup> Клинические рекомендации. Гриппу взрослых. 2022. Министерство Здравоохранения Российской Федерации. — [Электронный ресурс]. — Режим доступа: [https://cr.minzdrav.gov.ru/view-cr/749\\_1](https://cr.minzdrav.gov.ru/view-cr/749_1)

производили в объеме 100 мкл клеточной суспензии с концентрацией клеток  $1 \times 10^5$ /мл, т.о. конечная концентрация клеток составляла  $1 \times 10^4$  кл/лунку. Затем клетки MDCK выдерживали в течение 24 часов в  $\text{CO}_2$ -инкубаторе при  $37^\circ\text{C}$  в атмосфере 5%  $\text{CO}_2$  до формирования монослоя. После этого клетки промывали 5 мин средой альфа-MEM с глутамином и использовали для культивирования вируса. Из гомогената образцов ткани готовили серию 10-кратных разведений (с  $10^{-1}$  до  $10^{-7}$ ) на среде альфа-MEM с глутамином с добавлением трипсина (1 мкг/мл), который необходим для успешного проникновения вируса гриппа в клетки, и 20 мкг/мл ципрофлоксацина (противомикробное средство широкого спектра действия группы фторхинолонов) и вносили их в лунки планшета с клетками MDCK. Планшеты инкубировали в течение 72 часов при  $37^\circ\text{C}$  в атмосфере 5%  $\text{CO}_2$ .

После окончания срока инкубации культуральную жидкость в объеме 100 мкл из каждой лунки планшета переносили в лунки 96-луночных планшетов с круглым дном для иммунологических реакций и добавляли по 100 мкл на лунку 1% суспензии куриных эритроцитов в физиологическом растворе. Суспензия куриных эритроцитов была получена согласно СОП № ЛХТ/019/01 из цельной крови куриц породы леггорн. Планшеты выдерживали 1 час при комнатной температуре, после чего визуально оценивали наличие или отсутствие гемагглютинации в лунках. Титр вируса рассчитывали по методу Риды и Менча [19] и выражали в 50% тканевых инфекционных дозах (ТИД<sub>50</sub>) на 100 мкл объёма.

### Статистическая обработка

Основным критерием оценки противовирусной активности является статистически значимое отличие выживаемости мышей в группе препарата по сравнению с группой плацебо.

Второстепенные критерии оценки противовирусной активности:

- статистически значимое отличие в снижении веса животных в группе плацебо по сравнению с группой препарата,

- статистически значимое снижение вирусной нагрузки в легких мышей в группе препарата по сравнению с группой плацебо.

Критерием адекватности поставленного эксперимента является статистически значимое отличие выживаемости мышей в группе препарата сравнения по сравнению с группой плацебо.

Материалы исследования были подвергнуты статистической обработке с использованием методов параметрического и непараметрического анализа. Накопление, корректировка, систематизация

исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2016. Статистический анализ проводился с использованием свободной программной среды вычислений R v. 4.0.2 в программе RStudio Version 1.3.1056<sup>8</sup>.

На основании данных, полученных при измерении массы мышей после заражения вирусами гриппа, строились таблицы выживаемости, затем для построения кривых выживаемости использовался метод Каплана-Мейера [20]. Сравнение функций выживания по группам проводилось с помощью критерия Гехана-Уилкоксона и с помощью лог-рангового критерия Кокса-Мантеля<sup>9</sup> [21].

Полученные в результате измерений данные объединялись в вариационные ряды, в которых проводился расчет средних арифметических величин (M) и среднеквадратических отклонений (SD). Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению (при  $n=10$ ), для этого использовался критерий Шапиро-Уилка [22, 23]. Для определения значимости различий между групповыми средними в выборках с распределением данных, отличающимся от нормального, использовали критерий Манна — Уитни [24].

Индекс защиты рассчитывали по формуле 1.

$$\text{ИЗ} = (M_c - M_e) / M_c \times 100\% \quad (1),$$

где  $M_c$  и  $M_e$  — проценты гибели животных в группе плацебо и экспериментальной группе, получавшей изучаемый препарат или препарат контроля, соответственно на момент окончания эксперимента (14 сут после заражения). Указанная формула широко используется для расчета индекса защиты в доклинических исследованиях [25, 26].

Для графического представления данных относительного падения массы тела животных для каждого животного вычисляли относительное значение массы тела в % к массе в день заражения (день 0), затем среднее арифметическое по группе и строили кривую зависимости группового среднего от дня после инфицирования. Для определения значимости различий между группами в день наибольшей потери веса в группе плацебо после заражения использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA для группового сравнения, затем критерий Даннетта для апостериорных попарных сравнений с группой плацебо. Статистически значимыми считали различия между группами, если параметр  $p$  не превышал 0,05.

<sup>8</sup> R Development Core Team (2008). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. — [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://www.R-project.org>.

<sup>9</sup> Кокс Д.Р., Оукс Д. Анализ данных типа времени жизни. — Финансы и статистика, 1988.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

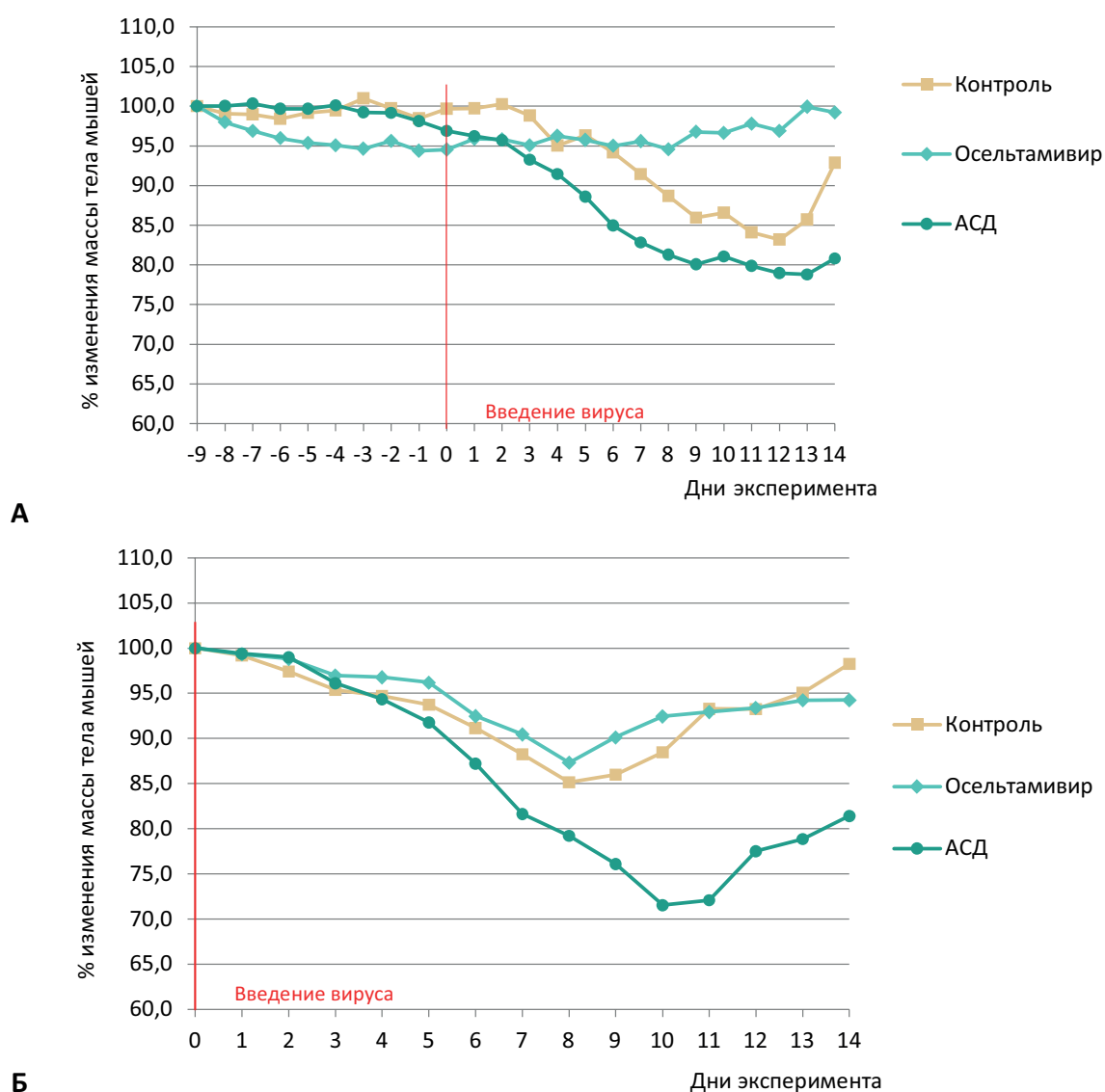
### Динамика снижения массы тела подопытных животных, инфицированных вирусом гриппа A/common duck/Uvs Nuur lake/26/2016 A (H5N8)

В ходе исследования показано, что инфицирование вирусом гриппа привело к развитию у лабораторных мышей патологического процесса. Внешние признаки заболевания проявлялись в ограничении подвижности животных, учащении дыхания, а также в снижении потребления корма и воды. Все перечисленные признаки являются типичными для гриппозной пневмонии. Динамика изменения массы тела животных с моделированной гриппозной пневмонией представлена на рисунке 1.

Максимальная потеря веса в группе плацебо составила 16,8% на 12 сут после заражения при лечебно-профилактической и 14,8% на 9 сут при лечебной схемах применения.

Препарат сравнения осельтамивир позволил уменьшить потерю веса у мышей на 12 сут после заражения по сравнению с группой Плацебо при лечебно-профилактической схеме до 3,1% и при лечебной схеме на 9 сут до 9,9%.

Исследуемый препарат АСД при обеих схемах применения ухудшал динамику снижения веса у подопытных животных, до 21% на 12 сут после заражения и до 28,4% на 9 сут после заражения в лечебно-профилактической и лечебной схемах применения соответственно.



**Рисунок 1 — Динамика изменения массы тела мышей Balb/c с экспериментальной гриппозной пневмонией, вызванной вирусом гриппа A/common duck/Uvs Nuur lake/26/2016 A (H5N8) в условиях применения исследуемых препаратов по лечебно-профилактической схеме (n=15).**

Примечание: А — профилактическая схема; Б — лечебная схема.

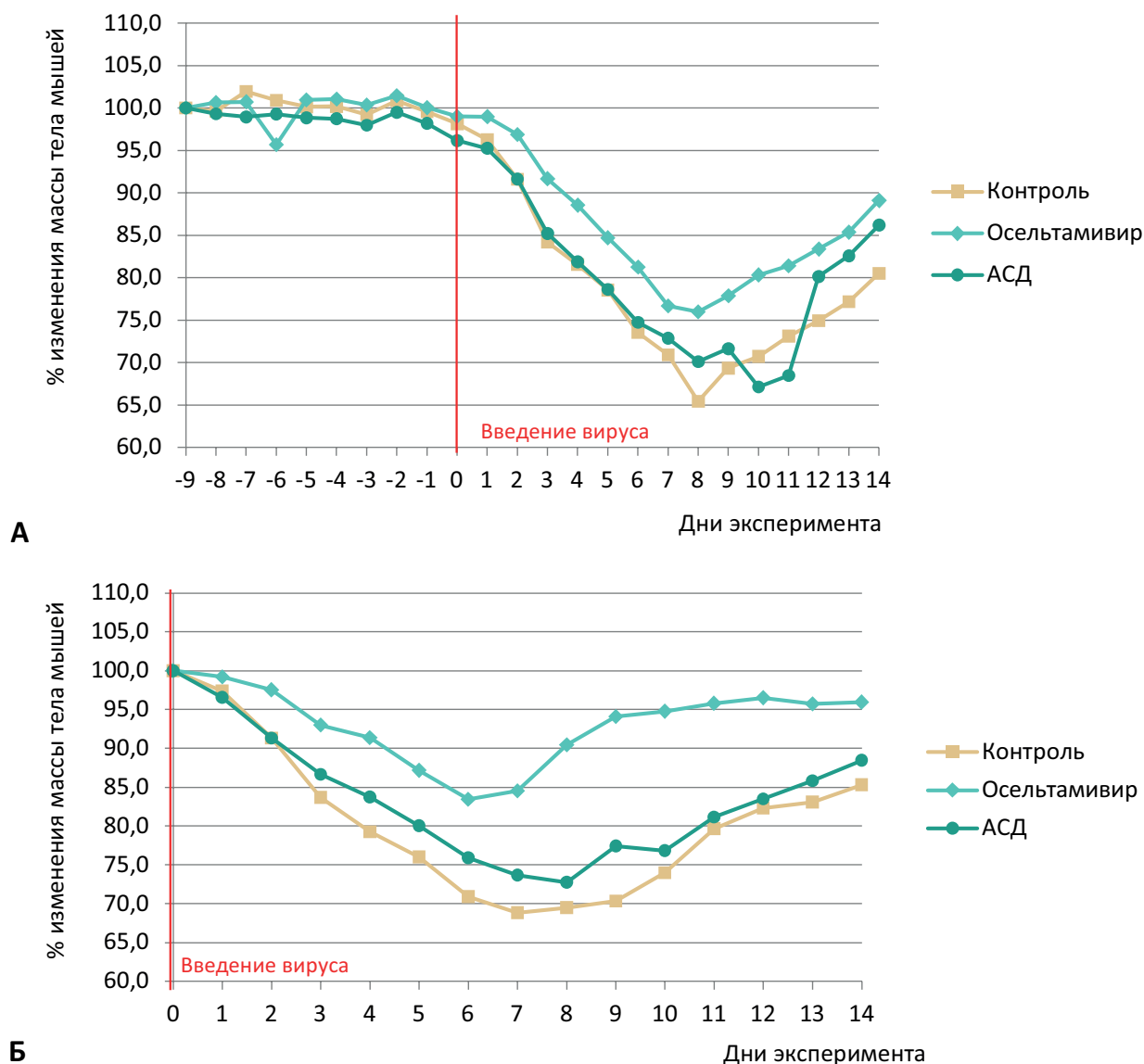
**Динамика снижения массы тела подопытных животных, инфицированных вирусом гриппа A/Duck/Potsdam/1402-6/86 (H5N2)**

В ходе исследования показано, что инфицирование вирусом гриппа привело к развитию у лабораторных мышей патологического процесса. Внешние признаки заболевания проявлялись в ограничении подвижности животных, учащении дыхания, а также в снижении потребления корма и воды. Все перечисленные признаки являются типичными для гриппозной пневмонии [27, 28]. Динамика изменения массы тела животных с моделированной гриппозной пневмонией представлена на рисунке 2.

Максимальная потеря веса в группе плацебо составила 34,6% на 8 сут после заражения при лечебно-профилактической и 31,2% на 7 сут при лечебной схемах применения.

Препарат сравнения осельтамивир позволил уменьшить потерю веса у мышей на 8 сут после заражения по сравнению с группой плацебо при лечебно-профилактической схеме до 24% и при лечебной схеме на 7 сут до 15,5%.

Исследуемый препарат АСД при обеих схемах применения слегка уменьшал динамику снижения веса у подопытных животных, до 29,9% на 8 сут после заражения и до 26,3% на 7 сут после заражения в лечебно-профилактической и лечебной схемах применения соответственно.



**Рисунок 2 — Динамика изменения массы тела мышей Balb/c с экспериментальной гриппозной пневмонией, вызванной вирусом гриппа A/mallard/Pennsylvania/10218/84(H5N2) в условиях применения исследуемых препаратов по лечебно-профилактической схеме (n=15).**

Примечание: А — профилактическая схема; Б — лечебная схема.



### Динамика снижения массы тела подопытных животных, инфицированных вирусом гриппа A/Aichi/2/68(H3N2)

В ходе исследования показано, что инфицирование вирусом гриппа привело к развитию у лабораторных мышей типичных симптомов патологического процесса. Внешние признаки заболевания проявлялись в ограничении подвижности животных, учащении дыхания, а также в снижении потребления корма и воды. Все перечисленные признаки являются типичными для гриппозной пневмонии. Динамика изменения массы тела животных с моделированной гриппозной пневмонией представлена на рисунке 3.

Заражение вирусом гриппа H3N2 привело

к потере массы тела животных из всех опытных групп. Максимальная потеря веса в группе Плацебо составила 38,4% на 11 сут после заражения при лечебно-профилактической схеме и на 33,9% на 9 сут при лечебной схеме.

Препарат сравнения осельтамивир позволил уменьшить потерю веса у мышей на 11 сут после заражения по сравнению с группой Плацебо при лечебно-профилактической схеме до 9,6% и при лечебной схеме на 9 сут до 14,9%.

Исследуемый препарат АСД применения улучшал динамику снижения веса у подопытных животных, до 18,5% на 11 сут после заражения при лечебно-профилактической схеме применения. При лечебной схеме применения препарат АСД



**Рисунок 3 — Динамика изменения массы тела мышей Balb/c с экспериментальной гриппозной пневмонией, вызванной вирусом гриппа A/Aichi/2/68 H3N2 в условиях применения исследуемых препаратов по лечебно-профилактической схеме (n=15).**

Примечание: А — профилактическая схема; Б — лечебная схема.

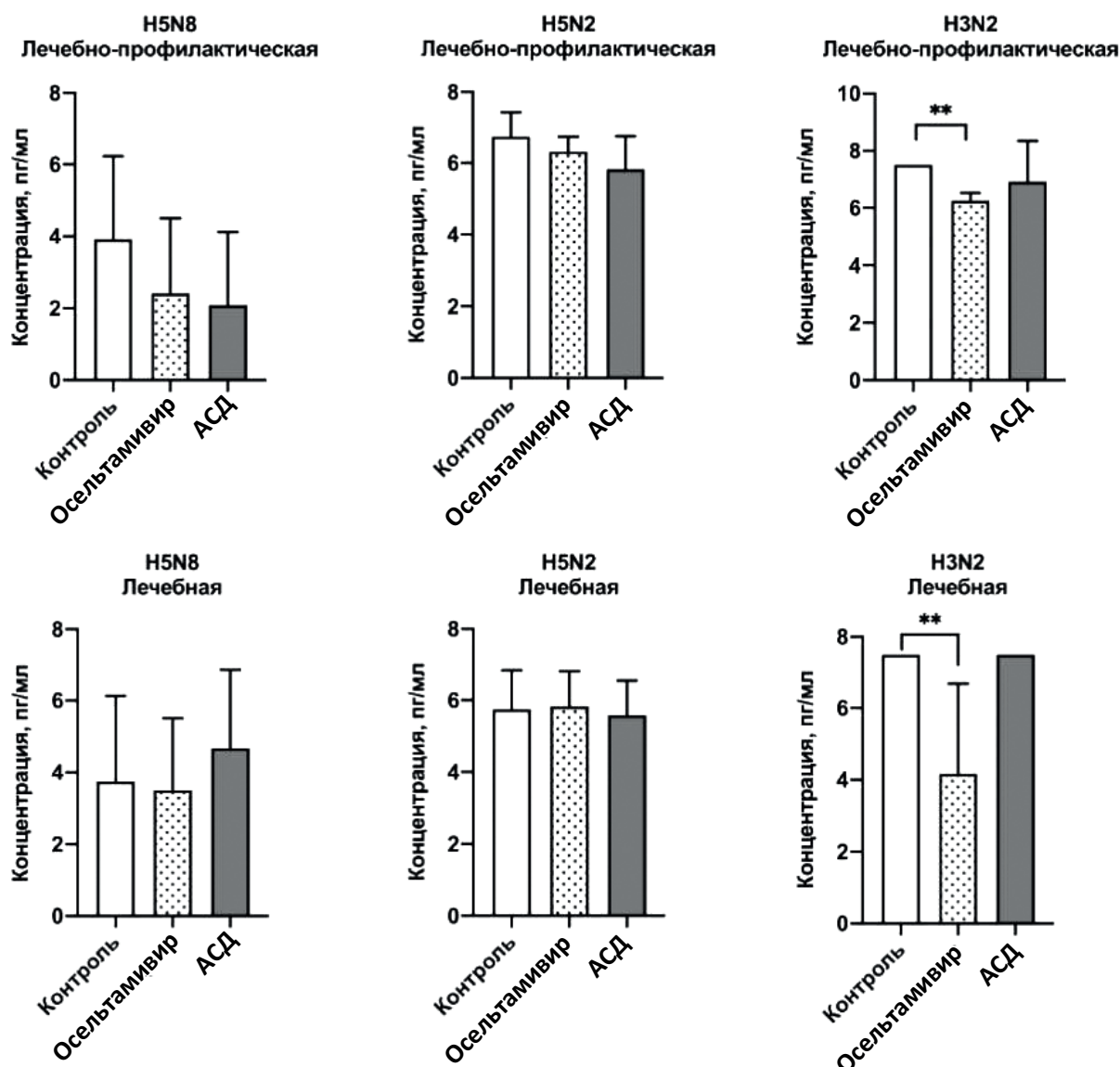
ухудшал динамику снижения веса до 34,1% на 9 сут после заражения.

**Статистический анализ данных, полученных при анализе выживаемости мышей после заражения вирусом гриппа**

В ходе анализа выживаемости осуществлялось фиксированное цензурирование: для каждого сочетания «штамм вируса — схема лечения — препарат» выборка из 15 животных наблюдалась в течение 14 сут после заражения. Выявление отличий между функциями выживания мышей, получавших препараты и плацебо в различных экспериментальных группах, проводили с помощью тестов Гехана-Уилкоксона и Кокса-

Мантеля. Пропорции выживших мышей представлены в таблицах 5–7. Результаты сравнения функций выживания по группам представлены в таблице 8, динамика гибели представлена в таблицах 9–11.

Как видно из таблицы 8, статистически значимые отличия функций выживания в положительную сторону обнаружены при сравнении с группой плацебо препарата осельтамивир при лечебно-профилактической схеме применения в случае заражения мышей вирусом H5N8 и при обеих схемах применения в случае заражения мышей вирусом H3N2. В случае вируса H5N2 отличия также отмечались, хотя и не были статистически достоверны.



**Рисунок 4 — Вирусная нагрузка в легочной ткани животных, зараженных вирусом гриппа (штаммы H5N8, H3N2, H5N2), определенная с помощью титрования на культуре клеток ( $n=6$  в каждой группе).**

Примечание: на диаграмме столбиками с усами обозначены средние  $\pm$  стандартное отклонение ( $M \pm SD$ ).

Над скобками указаны значения  $P$  — результат применения одностороннего теста Даннетта при сравнении с группой Плацебо.

**Таблица 1 — Дизайн эксперимента по адаптации вирусов к мышам линии Balb/c (этап 1), n=45**

| № группы | n животных | Количество пассажей | Вирус | Адаптация вируса                                       |
|----------|------------|---------------------|-------|--------------------------------------------------------|
| 1        | 15         | 5                   | H5N8  | Заражение вирусом, отбор органов — у 15 мышей в группе |
| 2        | 15         | 5                   | H5N2  |                                                        |
| 3        | 15         | 5                   | H3N2  |                                                        |

**Таблица 2 — Манипуляции, проводимые с животными (этап 1)**

| № группы | Проводимые манипуляции |    |    |   |     |   |   |     |   |   |      |    |    |       |    |    |       |    |
|----------|------------------------|----|----|---|-----|---|---|-----|---|---|------|----|----|-------|----|----|-------|----|
|          | -5                     | -4 | -1 | 0 | 1-2 | 3 | 4 | 5-6 | 7 | 8 | 9-10 | 11 | 12 | 13-14 | 15 | 16 | 17-18 | 19 |
| 1        | П, К                   | К  |    | Г | Е   | Б | Г | Е   | Б | Г | Е    | Б  | Г  | Е     | Б  | Г  | Е     | Б  |
| 2        | П, К                   | К  |    | Г | Е   | Б | Г | Е   | Б | Г | Е    | Б  | Г  | Е     | Б  | Г  | Е     | Б  |
| 3        | П, К                   | К  |    | Г | Е   | Б | Г | Е   | Б | Г | Е    | Б  | Г  | Е     | Б  | Г  | Е     | Б  |

Примечание: П — прием животных; К — карантин; Г — заражение; Б — отбор органов; Е — проведение клинического осмотра животных.

**Таблица 3 — Дизайн эксперимента по определению противовирусной активности образцов на модели летальной гриппозной инфекции, у мышей Balb/c при лечебно-профилактической и лечебной схемах применения (этап 2), n=378**

| № группы | n животных | Препарат                              | Схема введения                                                                                         | Вирус | Регистрируемые показатели                                                                                             |
|----------|------------|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1        | 21         | Плацебо (Отрицательный контроль)      | Лечебно-профилактическая. Введение субстанции в течение 10 дней до заражения и 10 дней после заражения | H5N8  | Летальность (2 р/сут), масса тела (1 р/сут) — у 15 мышей в группе, титры вируса в лёгочной ткани — у 6 мышей в группе |
| 2        | 21         | Осельтамивир (Положительный контроль) |                                                                                                        |       |                                                                                                                       |
| 3        | 21         | Субстанция АСД                        |                                                                                                        |       |                                                                                                                       |
| 4        | 21         | Плацебо (Отрицательный контроль)      | Лечебная. Введение субстанции после заражения в течение 10 дней                                        | H5N2  |                                                                                                                       |
| 5        | 21         | Осельтамивир (Положительный контроль) |                                                                                                        |       |                                                                                                                       |
| 6        | 21         | Субстанция АСД                        |                                                                                                        |       |                                                                                                                       |
| 7        | 21         | Плацебо (Отрицательный контроль)      |                                                                                                        | H3N2  |                                                                                                                       |
| 8        | 21         | Осельтамивир (Положительный контроль) |                                                                                                        |       |                                                                                                                       |
| 9        | 21         | Субстанция АСД                        |                                                                                                        |       |                                                                                                                       |
| 10       | 21         | Плацебо (Отрицательный контроль)      |                                                                                                        | H5N8  |                                                                                                                       |
| 11       | 21         | Осельтамивир (Положительный контроль) |                                                                                                        |       |                                                                                                                       |
| 12       | 21         | Субстанция АСД                        |                                                                                                        |       |                                                                                                                       |
| 13       | 21         | Плацебо (Отрицательный контроль)      |                                                                                                        | H5N2  |                                                                                                                       |
| 14       | 21         | Осельтамивир (Положительный контроль) |                                                                                                        |       |                                                                                                                       |
| 15       | 21         | Субстанция АСД                        |                                                                                                        |       |                                                                                                                       |
| 16       | 21         | Плацебо (Отрицательный контроль)      |                                                                                                        | H3N2  |                                                                                                                       |
| 17       | 21         | Осельтамивир (Положительный контроль) |                                                                                                        |       |                                                                                                                       |
| 18       | 21         | Субстанция АСД                        |                                                                                                        |       |                                                                                                                       |

**Таблица 4 — Манипуляции, проводимые с животными (этап 2)**

| № группы | Проводимые манипуляции |     |     |         |            |            |            |         |         |
|----------|------------------------|-----|-----|---------|------------|------------|------------|---------|---------|
|          | -15                    | -14 | -11 | -10     | -1         | 0          | 1-2        | 3       | 4-10    |
| 1        | П, К                   | К   |     | А       | А, Г, В, Д | А, В, Д    | А, Б, В, Д | А, В, Д | В, Д    |
| 2        | П, К                   | К   |     | А       | А, Г, В, Д | А, В, Д    | А, Б, В, Д | А, В, Д | В, Д    |
| 3        | П, К                   | К   |     | А       | А, Г, В, Д | А, В, Д    | А, Б, В, Д | А, В, Д | В, Д    |
| 4        | П, К                   | К   |     | А       | А, Г, В, Д | А, В, Д    | А, Б, В, Д | А, В, Д | В, Д    |
| 5        | П, К                   | К   |     | А       | А, Г, В, Д | А, В, Д    | А, Б, В, Д | А, В, Д | В, Д    |
| 6        | П, К                   | К   |     | А       | А, Г, В, Д | А, В, Д    | А, Б, В, Д | А, В, Д | В, Д    |
| 7        | П, К                   | К   |     | А       | А, Г, В, Д | А, В, Д    | А, Б, В, Д | А, В, Д | В, Д    |
| 8        | П, К                   | К   |     | А       | А, Г, В, Д | А, В, Д    | А, Б, В, Д | А, В, Д | В, Д    |
| 9        | П, К                   | К   |     | А       | А, Г, В, Д | А, В, Д    | А, Б, В, Д | А, В, Д | В, Д    |
| 10       | П, К                   | К   | К   | Г, В, Д | А, В, Д    | А, Б, В, Д | А, В, Д    | В, Д    | В, Д, Э |
| 11       | П, К                   | К   | К   | Г, В, Д | А, В, Д    | А, Б, В, Д | А, В, Д    | В, Д    | В, Д, Э |
| 12       | П, К                   | К   | К   | Г, В, Д | А, В, Д    | А, Б, В, Д | А, В, Д    | В, Д    | В, Д, Э |
| 13       | П, К                   | К   | К   | Г, В, Д | А, В, Д    | А, Б, В, Д | А, В, Д    | В, Д    | В, Д, Э |
| 14       | П, К                   | К   | К   | Г, В, Д | А, В, Д    | А, Б, В, Д | А, В, Д    | В, Д    | В, Д, Э |
| 15       | П, К                   | К   | К   | Г, В, Д | А, В, Д    | А, Б, В, Д | А, В, Д    | В, Д    | В, Д, Э |
| 16       | П, К                   | К   | К   | Г, В, Д | А, В, Д    | А, Б, В, Д | А, В, Д    | В, Д    | В, Д, Э |
| 17       | П, К                   | К   | К   | Г, В, Д | А, В, Д    | А, Б, В, Д | А, В, Д    | В, Д    | В, Д, Э |
| 18       | П, К                   | К   | К   | Г, В, Д | А, В, Д    | А, Б, В, Д | А, В, Д    | В, Д    | В, Д, Э |

Примечания: П — прием животных; К — карантин; А — введение препарата/плацебо; Б — отбор органов; В — взвешивание; Д — фиксация летальности; Г — заражение; Э — эвтаназия.

**Таблица 5 — Пропорции выживших мышей (в процентах), заражённых вирусом H5N8, для двух схем применения препаратов**

| Лечебно-профилактическая схема |         |              |       | Лечебная схема        |         |              |       |
|--------------------------------|---------|--------------|-------|-----------------------|---------|--------------|-------|
| Сутки после заражения          | Плацебо | Осельтамивир | АСД   | Сутки после заражения | Плацебо | Осельтамивир | АСД   |
| 0                              | 100     | 100          | 100   | 0                     | 100     | 100          | 100   |
| 1                              | 100     | 100          | 100   | 1                     | 100     | 100          | 100   |
| 2                              | 100     | 100          | 100   | 2                     | 100     | 100          | 100   |
| 3                              | 100     | 100          | 100   | 3                     | 100     | 100          | 100   |
| 4                              | 100     | 100          | 100   | 4                     | 100     | 100          | 100   |
| 5                              | 100     | 100          | 100   | 5                     | 100     | 100          | 100   |
| 6                              | 100     | 100          | 100   | 6                     | 100     | 100          | 100   |
| 7                              | 100     | 100          | 93,33 | 7                     | 100     | 100          | 100   |
| 8                              | 86,67   | 100          | 80    | 8                     | 100     | 100          | 80    |
| 9                              | 80      | 93,33        | 73,33 | 9                     | 93,33   | 93,33        | 73,33 |
| 10                             | 66,67   | 93,33        | 46,67 | 10                    | 86,67   | 86,67        | 46,67 |
| 11                             | 66,67   | 93,33        | 46,67 | 11                    | 80      | 86,67        | 46,67 |
| 12                             | 66,67   | 93,33        | 46,67 | 12                    | 80      | 86,67        | 40    |
| 13                             | 66,67   | 93,33        | 46,67 | 13                    | 80      | 86,67        | 40    |
| 14                             | 60      | 93,33        | 40    | 14                    | 73,33   | 86,67        | 40    |

**Таблица 6 — Пропорции выживших мышей (в процентах), заражённых вирусом H3N2, для двух схем применения препаратов**

| Лечебно-профилактическая схема |         |              |       | Лечебная схема        |         |              |       |
|--------------------------------|---------|--------------|-------|-----------------------|---------|--------------|-------|
| Сутки после заражения          | Плацебо | Осельтамивир | АСД   | Сутки после заражения | Плацебо | Осельтамивир | АСД   |
| 0                              | 100     | 100          | 100   | 0                     | 100     | 100          | 100   |
| 1                              | 100     | 100          | 100   | 1                     | 100     | 100          | 100   |
| 2                              | 100     | 100          | 100   | 2                     | 100     | 100          | 100   |
| 3                              | 100     | 100          | 100   | 3                     | 100     | 100          | 100   |
| 4                              | 100     | 100          | 100   | 4                     | 100     | 100          | 100   |
| 5                              | 100     | 100          | 100   | 5                     | 100     | 100          | 100   |
| 6                              | 73,33   | 100          | 80    | 6                     | 100     | 100          | 100   |
| 7                              | 46,67   | 100          | 66,67 | 7                     | 66,67   | 100          | 80    |
| 8                              | 46,67   | 100          | 46,67 | 8                     | 53,33   | 100          | 66,67 |
| 9                              | 33,33   | 100          | 46,67 | 9                     | 53,33   | 100          | 60    |
| 10                             | 20      | 100          | 46,67 | 10                    | 40      | 100          | 60    |
| 11                             | 13,33   | 100          | 46,67 | 11                    | 33,33   | 100          | 60    |
| 12                             | 6,67    | 100          | 46,67 | 12                    | 26,67   | 100          | 40    |
| 13                             | 6,67    | 100          | 46,67 | 13                    | 26,67   | 100          | 40    |
| 14                             | 6,67    | 100          | 46,67 | 14                    | 26,67   | 100          | 40    |

**Таблица 7 — Пропорции выживших мышей (в процентах), заражённых вирусом H5N2, для двух схем применения препаратов**

| Лечебно-профилактическая схема |         |              |       | Лечебная схема        |         |              |       |
|--------------------------------|---------|--------------|-------|-----------------------|---------|--------------|-------|
| Сутки после заражения          | Плацебо | Осельтамивир | АСД   | Сутки после заражения | Плацебо | Осельтамивир | АСД   |
| 0                              | 100     | 100          | 100   | 0                     | 100     | 100          | 100   |
| 1                              | 100     | 100          | 100   | 1                     | 100     | 100          | 100   |
| 2                              | 100     | 100          | 100   | 2                     | 100     | 100          | 100   |
| 3                              | 100     | 100          | 100   | 3                     | 93,33   | 100          | 100   |
| 4                              | 100     | 100          | 93,33 | 4                     | 93,33   | 100          | 100   |
| 5                              | 100     | 100          | 93,33 | 5                     | 93,33   | 100          | 93,33 |
| 6                              | 100     | 100          | 80    | 6                     | 93,33   | 100          | 93,33 |
| 7                              | 93,33   | 100          | 73,33 | 7                     | 86,67   | 93,33        | 93,33 |
| 8                              | 93,33   | 93,33        | 73,33 | 8                     | 80      | 80           | 93,33 |
| 9                              | 93,33   | 86,67        | 73,33 | 9                     | 73,33   | 80           | 86,67 |
| 10                             | 86,67   | 80           | 73,33 | 10                    | 66,67   | 80           | 80    |
| 11                             | 86,67   | 80           | 73,33 | 11                    | 53,33   | 80           | 73,33 |
| 12                             | 86,67   | 80           | 60    | 12                    | 53,33   | 80           | 73,33 |
| 13                             | 86,67   | 80           | 60    | 13                    | 53,33   | 80           | 73,33 |
| 14                             | 86,67   | 80           | 60    | 14                    | 53,33   | 80           | 73,33 |



**Таблица 8 — Сравнение функций выживания с группой плацебо в опытах с двумя схемами применения препаратов после заражения мышей тремя штаммами вируса гриппа**

| Лечебно-профилактическая схема |              |                                                |                                            | Лечебная схема |              |                                                |                                            |
|--------------------------------|--------------|------------------------------------------------|--------------------------------------------|----------------|--------------|------------------------------------------------|--------------------------------------------|
| Штамм вируса                   | Препарат     | Критерий Гехана-Уилкоксона, <i>p</i> -значение | Критерий Кокса-Мантеля, <i>p</i> -значение | Штамм вируса   | Препарат     | Критерий Гехана-Уилкоксона, <i>p</i> -значение | Критерий Кокса-Мантеля, <i>p</i> -значение |
| H5N8                           | Плацебо      | —                                              | —                                          | H5N8           | Плацебо      | —                                              | —                                          |
|                                | Осельтамивир | * 0,0380                                       | * 0,0352                                   |                | Осельтамивир | 0,4407                                         | 0,3992                                     |
|                                | АСД          | 0,2954                                         | 0,2865                                     |                | АСД          | * 0,0331                                       | * 0,0478                                   |
| H3N2                           | Плацебо      | —                                              | —                                          | H3N2           | Плацебо      | —                                              | —                                          |
|                                | Осельтамивир | **** <0,0001                                   | **** <0,0001                               |                | Осельтамивир | **** <0,0001                                   | **** <0,0001                               |
|                                | АСД          | 0,1896                                         | 0,0560                                     |                | АСД          | 0,3146                                         | 0,3269                                     |
| H5N2                           | Плацебо      | —                                              | —                                          | H5N2           | Плацебо      | —                                              | —                                          |
|                                | Осельтамивир | 0,6549                                         | 0,6393                                     |                | Осельтамивир | 0,1989                                         | 0,1546                                     |
|                                | АСД          | 0,0927                                         | 0,0992                                     |                | АСД          | 0,2591                                         | 0,2580                                     |

Примечание: представленные значения *P* — результат применения тестов Гехана-Уилкоксона и Кокса-Мантеля. Значимость отличий: \* — *p* < 0,05; \*\*\*\* — *p* < 0,0001.

**Таблица 9 — Динамика гибели мышей Balb/c и показатели протективной активности препаратов в ходе экспериментальной летальной гриппозной пневмонии, вызванной вирусом гриппа H5N8**

| Препарат     | Схема применения | Особей в группе | Смертность по дням |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    | Летальность, % | СПЖ, сут | Индекс защиты, % | <i>p</i> *    |
|--------------|------------------|-----------------|--------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----------------|----------|------------------|---------------|
|              |                  |                 | 1                  | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |                |          |                  |               |
| Плацебо      | Л/П              | 15              |                    |   |   |   |   |   |   | 2 | 1 | 2  |    |    |    | 1  | 40,0           | 12,9     | нд               | нд            |
| Осельтамивир |                  | 15              |                    |   |   |   |   |   |   |   | 1 |    |    |    |    |    | 6,6            | 14,6     | 83,5             | <b>0,0035</b> |
| АСД          |                  | 15              |                    |   |   |   |   |   | 1 | 2 | 1 | 4  |    |    |    | 1  | 60,0           | 11,7     | —                | 0,2865        |
| Плацебо      | Л                | 15              |                    |   |   |   |   |   |   | 1 | 1 | 1  |    |    |    | 1  | 26,7           | 13,7     | нд               | нд            |
| Осельтамивир |                  | 15              |                    |   |   |   |   |   |   | 1 | 1 |    |    |    |    |    | 13,3           | 14,1     | 50,2             | 0,3931        |
| АСД          |                  | 15              |                    |   |   |   |   |   |   | 3 | 1 | 4  |    | 1  |    |    | 60,0           | 11,7     | —                | 0,0554        |

Примечание: \* — Критерий Кокса-Мантеля. СПЖ — средняя продолжительность жизни; нд — недоступно.

**Таблица 10 — Динамика гибели мышей Balb/c и показатели протективной активности препаратов в ходе экспериментальной летальной гриппозной пневмонии, вызванной вирусом гриппа H5N2**

| Препарат     | Схема применения | Особей в группе | Смертность по дням |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    | Летальность, % | СПЖ, сут | Индекс защиты, % | <i>p</i> * |
|--------------|------------------|-----------------|--------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----------------|----------|------------------|------------|
|              |                  |                 | 1                  | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |                |          |                  |            |
| Плацебо      | Л/П              | 15              |                    |   |   |   |   |   | 1 |   | 1 |    |    |    |    |    | 13,3           | 14,1     | нд               | нд         |
| Осельтамивир |                  | 15              |                    |   |   |   |   |   |   | 1 | 1 | 1  |    |    |    |    | 20,0           | 13,8     | —                | 0,6393     |
| АСД          |                  | 15              |                    |   |   | 1 |   | 2 | 1 |   |   |    |    | 2  |    |    | 40,0           | 12,1     | —                | 0,0992     |
| Плацебо      | Л                | 15              |                    |   | 1 |   |   | 1 | 1 | 1 | 1 | 2  |    |    |    |    | 46,7           | 11,5     | нд               | нд         |
| Осельтамивир |                  | 15              |                    |   |   |   |   |   | 1 | 2 |   |    |    |    |    |    | 20,0           | 13,5     | 57,2             | 0,2284     |
| АСД          |                  | 15              |                    |   |   |   | 1 |   |   |   | 1 | 1  | 1  |    |    |    | 26,7           | 13,3     | 42,8             | 0,3607     |

Примечание: \* — Критерий Кокса-Мантеля. СПЖ — средняя продолжительность жизни; нд — недоступно.

**Таблица 11 — Динамика гибели мышей Balb/c и показатели протективной активности препаратов в ходе экспериментальной летальной гриппозной пневмонии, вызванной вирусом гриппа H3N2**

| Препарат     | Схема применения | Особей в группе | Смертность по дням |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    | Летальность, % | СПЖ, сут | Индекс защиты, % | <i>p</i> * |
|--------------|------------------|-----------------|--------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----------------|----------|------------------|------------|
|              |                  |                 | 1                  | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |                |          |                  |            |
| Плацебо      | Л/П              | 15              |                    |   |   |   | 4 | 4 |   | 2 | 2 | 1  | 1  |    |    |    | 93,3           | 8,5      | нд               | нд         |
| Осельтамивир |                  | 15              |                    |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    | 0              | 15,0     | 100,0            | <0,0001    |
| АСД          |                  | 15              |                    |   |   |   | 3 | 2 | 3 |   |   |    |    |    |    |    | 53,3           | 10,7     | 42,9             | 0,0560     |
| Плацебо      | Л                | 15              |                    |   |   |   |   | 5 | 2 |   | 2 | 1  | 1  |    |    |    | 73,3           | 10,3     | нд               | нд         |
| Осельтамивир |                  | 15              |                    |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    | 0              | 15,0     | 100,0            | <0,0001    |
| АСД          |                  | 15              |                    |   |   |   |   | 3 | 2 | 1 |   |    |    | 3  |    |    | 60,0           | 11,5     | 35,7             | 0,3269     |

Примечание: \* — Критерий Кокса-Мантеля. СПЖ — средняя продолжительность жизни; нд — недоступно.

**Таблица 12 — Значения титров вируса гриппа штаммов H5N8, H3N2, H5N2 для двух схем применения препаратов (n=6 для каждой группы)**

| Лечебно-профилактическая схема |              |       |       |       | Лечебная схема |              |       |       |       |
|--------------------------------|--------------|-------|-------|-------|----------------|--------------|-------|-------|-------|
| Штамм вируса                   | Препарат     | M     | SD    | SEM   | Штамм вируса   | Препарат     | M     | SD    | SEM   |
| H5N8                           | Плацебо      | 3,917 | 2,311 | 0,943 | H5N8           | Плацебо      | 3,750 | 2,382 | 0,972 |
|                                | Осельтамивир | 2,417 | 2,084 | 0,851 |                | Осельтамивир | 3,500 | 2,000 | 0,817 |
|                                | АСД          | 2,083 | 2,035 | 0,831 |                | АСД          | 4,667 | 2,206 | 0,901 |
| H5N2                           | Плацебо      | 6,750 | 0,689 | 0,281 | H5N2           | Плацебо      | 5,750 | 1,084 | 0,442 |
|                                | Осельтамивир | 6,333 | 0,408 | 0,167 |                | Осельтамивир | 5,833 | 0,983 | 0,401 |
|                                | АСД          | 5,833 | 0,931 | 0,380 |                | АСД          | 5,583 | 0,971 | 0,396 |
| H3N2                           | Плацебо      | 7,500 | 0,000 | 0,000 | H3N2           | Плацебо      | 7,500 | 0,000 | 0,000 |
|                                | Осельтамивир | 6,250 | 0,274 | 1,429 |                | Осельтамивир | 4,167 | 2,523 | 1,030 |
|                                | АСД          | 6,917 | 0,112 | 0,583 |                | АСД          | 7,500 | 0,000 | 0,000 |

Примечание: представлены средние значения (M), среднеквадратические отклонения (SD) и стандартные ошибки среднего (SEM).

**Таблица 13 – Значения титров вируса гриппа (штаммы H5N8, H3N2, H5N2), тест Шапиро-Уилка**

| Лечебно-профилактическая схема |              |            |              | Лечебная схема |              |            |            |
|--------------------------------|--------------|------------|--------------|----------------|--------------|------------|------------|
| Штамм вируса                   | Препарат     | W значение | p-значение   | Штамм вируса   | Препарат     | W значение | p-значение |
| H5N8                           | Плацебо      | 0,9065     | 0,4140       | H5N8           | Плацебо      | 0,9551     | 0,7815     |
|                                | Осельтамивир | 0,8129     | 0,0765       |                | Осельтамивир | 0,9780     | 0,9410     |
|                                | АСД          | 0,7732     | * 0,0333     |                | АСД          | 0,9805     | 0,9538     |
| H5N2                           | Плацебо      | 0,8606     | 0,1912       | H5N2           | Плацебо      | 0,8672     | 0,2151     |
|                                | Осельтамивир | 0,8216     | 0,0911       |                | Осельтамивир | 0,9241     | 0,5353     |
|                                | АСД          | 0,8616     | 0,1948       |                | АСД          | 0,9124     | 0,4522     |
| H3N2                           | Плацебо      | —          | —            | H3N2           | Плацебо      | —          | —          |
|                                | Осельтамивир | 0,6827     | ** 0,0040    |                | Осельтамивир | 0,8381     | 0,1257     |
|                                | АСД          | 0,4961     | **** <0,0001 |                | АСД          | —          | —          |

Примечание: проверка данных на нормальность, представлены значения W и P — результат применения теста Шапиро-Уилка. Значимость отличий: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; \*\*\*\*  $p < 0,0001$ . “—” — расчёт невозможен, так как все значения в выборке одинаковы.

**Таблица 14 — Значения титров вируса гриппа (штаммы H5N8, H3N2, H5N2), тест Манна-Уитни**

| Лечебно-профилактическая схема |              |            |            | Лечебная схема |              |            |            |
|--------------------------------|--------------|------------|------------|----------------|--------------|------------|------------|
| Штамм вируса                   | Препарат     | U значение | p-значение | Штамм вируса   | Препарат     | U значение | p-значение |
| H5N8                           | Плацебо      | —          | —          | H5N8           | Плацебо      | —          | —          |
|                                | Осельтамивир | 10         | 0,2381     |                | Осельтамивир | 17,50      | 0,9827     |
|                                | АСД          | 8          | 0,1190     |                | АСД          | 13,50      | 0,5238     |
| H5N2                           | Плацебо      | —          | —          | H5N2           | Плацебо      | —          | —          |
|                                | Осельтамивир | 11,50      | 0,3398     |                | Осельтамивир | 16,50      | 0,8658     |
|                                | АСД          | 7          | 0,0887     |                | АСД          | 16         | 0,8030     |
| H3N2                           | Плацебо      | —          | —          | H3N2           | Плацебо      | —          | —          |
|                                | Осельтамивир | 0          | ** 0,0022  |                | Осельтамивир | 0          | ** 0,0022  |
|                                | АСД          | 15         | 0,9999     |                | АСД          | 18         | 0,9999     |

Примечание: результаты теста Манна-Уитни при сравнении препарата и плацебо для двух схем применения препаратов, представлены значения U и P. Значимость отличий: \*\*  $p < 0,01$ .

Для препарата АСД статистически значимые отличия от группы плацебо отмечались в случае вируса H5N8, при использовании по лечебной схеме, причем в сторону ухудшения инфекционного процесса.

Следует также отметить, что в группе,

зараженной вирусом H3N2 и получавшей препарат АСД по лечебно-профилактической схеме, значение  $p$  было пограничным (0,056 vs с 0,05), что свидетельствует о наличии выраженной тенденции к протективному действию препарата. Для вируса H5N2 также была отмечена тенденция

к снижению смертности в группе, получавшей препарат по лечебной схеме, хотя и не достигающей статистической достоверности.

Из данных, представленных в таблицах, видно, что положительные значения ИЗ для препарата АСД были отмечены в группах, зараженных вирусом H3N2 по обоим схемам применения и в группе, зараженной вирусом H5N2 по лечебной схеме.

### Статистический анализ данных, полученных при измерении титров вирусов гриппа

Проведено исследование вирусной нагрузки в лёгочной ткани с помощью титрования на культуре клеток. Для каждого сочетания «штамм вируса — схема лечения — препарат» измерения производили в выборке из 6 животных. Средние значения измеренных титров вируса гриппа (штаммы H5N8, H3N2, H5N2) для лечебной и лечебно-профилактической схемы применения препаратов представлены на рисунке 4 и в таблице 12.

Была проведена проверка данных на соответствие нормальному закону распределения для того, чтобы обосновать выбор теста, выявляющего различия между группами измерений. Для проверки данных на нормальность применялся тест Шапиро-Уилка, результаты которого представлены в таблице 13.

Как видно из таблицы 13, при выбранном уровне значимости в 9 группах в данных наблюдаются отклонения от нормального распределения. Таким образом, параметрические тесты неприменимы, и для выявления различий между группами препаратов и группой плацебо мы применили U-критерий Манна-Уитни, результаты которого представлены в таблице 14.

Как видно из таблицы 14, при выбранном уровне значимости  $\alpha=0,05$  в эксперименте обнаружены отличия между группами осельтамивир и плацебо в случае заражения вирусом H3N2 для обеих схем применения. Статистически значимого влияния препарата АСД на уровень вирусной нагрузки не отмечено ни для одного из исследованных вирусов.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Грипп является одной из наиболее значимых инфекций в мире. По оценкам ВОЗ, ежегодно во всем мире регистрируются миллионы случаев заболевания, а летальность от осложнений может достигать 650 тыс. человек<sup>10</sup>. Сезонная вакцинация против гриппа является наиболее эффективным инструментом защиты от инфекции [29]. Однако вакцинопрофилактика гриппа имеет

ограничения и не всегда применима у пациентов из групп риска, к которым относят детей, лиц старше 60 лет, а также больных с хроническими патологиями, иммунодефицитными состояниями и аллергическими проявлениями [30]. Также у данных групп вакцинация может быть недостаточно эффективной [31].

В качестве дополнительной меры защиты в интервале между вакцинацией и формированием адекватного поствакцинального иммунного ответа, а также у лиц с противопоказаниями к вакцинации показано применение противовирусных препаратов [32]. Однако в последнее время наблюдается относительная устойчивость к некоторым традиционным противовирусным средствам, включая осельтамивир, занамивир, амантадин и римантадин. В связи с этим, критически важным является разработка новых стратегий и препаратов для эффективного контроля вирусной инфекции [31].

В ряде случаев эффективность лечения или профилактики гриппа может быть повышена при использовании комбинированной терапии, состоящей из уже имеющихся и/или новых противовирусных средств с различными механизмами действия [31]. Могут быть использованы этнофармакологические препараты, получаемые из различных растений или других природных ресурсов, которые потенциально способны уменьшить выраженность клинических симптомов и снизить риск осложнений гриппа и других респираторных инфекций [33]. Согласно данным ВОЗ, известно около 21 тыс. лекарственных растений, большинство из которых обладают иммуномодулирующим действием и имеют соответствующий терапевтический потенциал [34].

В исследованиях *in vivo* продемонстрированы протективные эффекты колавирона — биофлавоноида, выделенного из растения *Garcinia kola* Heckel (сем. клузиевые). Действуя как природный антиоксидант и противовоспалительное средство, колавирон способен ингибировать активность ацетилхолинэстеразы в гиппокампе и стриатуме у крыс [35]. В эксперименте на мышах было показано, что колавирон может задерживать появление клинических симптомов гриппа посредством механизма, который отличается от механизмов действия существующих препаратов против гриппа, но при этом тесно связан с антиоксидантным и иммуномодулирующим действием данного вещества [36]. Аналогично, было показано, что экстракт коры корней африканского баобаба (*Adansonia digitata* L.; сем. мальвовые) обладает противовирусной активностью против респираторного вируса птиц и может быть полезен для облегчения симптомов гриппа [37].

В данном исследовании была изучена протективное действие препарата АСД на модели

<sup>10</sup> Global influenza strategy 2019–2030. Geneva: World Health Organization; 2019. — [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/311184/9789241515320-eng.pdf?sequence=18>

летальной гриппозной пневмонии, вызванной вирусами гриппа А. Препарат природного происхождения, антисептик-стимулятор Дорогова фракция-2 (АСД-Ф2) является продуктом высокотемпературной сухой возгонки мясокостной муки, который нашел широкое применение в ветеринарии при лечении животных и птицы от многочисленных заболеваний вирусной и микробной этиологии, в профилактике таких заболеваний, а также в повышении продуктивности крупного рогатого скота и птиц. АСД-Ф2 не имеет ни видовой, ни органной специфичности, т.к. возгонка обеспечивает постепенное расщепление органических веществ до низкомолекулярных компонентов, которые по своей структуре подобны метаболитам клеточного обмена. АСД-Ф2 оказывает многостороннее влияние на организм. Он интенсифицирует обмен веществ, ускоряет окислительные процессы, повышает резервную щелочность в крови, чем способствует нормализации обмена в тканях, улучшает процессы пищеварения, всасывания питательных веществ. Препарат вызывает улучшение функционального состояния механизмов естественной резистентности, усиливает процессы регенерации тканей, стимулирует иммуногенез, вследствие чего повышается сопротивляемость к неблагоприятным воздействиям, в том числе и к возбудителям инфекционных заболеваний [38].

Ранее была продемонстрирована противовирусная активность лекарственных средств, содержащих АСД-Ф2, у мышей при инфекции, вызванной штаммом вируса гриппа A/California/07/09 (H1N1), и у сирийских хомячков, инфицированных вирусом SARS-CoV-2 [39], а в исследованиях *in vitro* зарегистрировали его противомикробное действие [40], в том числе и в отношении *Mycobacterium tuberculosis* [41]. В настоящей работе также наблюдали положительные эффекты при использовании лекарственного средства, содержащего АСД-2, у мышей, инфицированных вирусом гриппа (штаммы H3N2 и H5N2). Несмотря на то, что влияния препарата на уровень вирусной нагрузки не выявлен, следует отметить тенденцию к улучшению выживаемости

мышей, инфицированных гриппом (штаммы H3N2 и H5N2), а также уменьшение потери массы тела на фоне применения исследуемого препарата. Полученные результаты согласуются с ранее опубликованными данными, свидетельствующими о наличии у препарата противовирусных эффектов.

#### Ограничения исследования

В данном исследовании эффективность препарата не была изучена в отношении штаммов вируса гриппа H1N1. Также эффективность препарата изучалась на одном виде животных, что не исключает проявление других фармакологических проявлений.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено исследование протективной активности препарата АСД на модели летальной гриппозной пневмонии, вызванной вирусами гриппа А A/common duck/Uvs Nuur lake/26/2016 (H5N8), A/Duck/Potsdam/1402-6/86 (H5N2), A/Aichi/2/68, у мышей Balb/c при лечебно-профилактической и лечебной схемах применения. В ходе экспериментов оценена динамика гибели и изменения весовых показателей животных в ходе патологического процесса, а также вирусная нагрузка в ткани лёгких на 3 сут после инфицирования.

В отношении вируса гриппа H3N2 отмечено улучшение динамики снижения веса зараженных животных при использовании по лечебно-профилактической схеме. Снижение летальности наблюдалось при обеих схемах применения, но более ярко было выражено для лечебно-профилактической схемы.

Для вируса гриппа H5N2 эффективность препарата была менее выражена, однако протективный эффект также отмечался при использовании по лечебной схеме.

Таким образом, на основе полученных данных можно сделать вывод о том, что препарат АСД обладает протективным эффектом в отношении вируса гриппа *in vivo*, причем эффект зависит от подтипа вируса и наиболее выражен для штамма H3N2.

#### ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование выполнено при поддержке ООО «АВЗ ФАРМ» (Россия). Спонсор не оказывал влияние на выбор материала для публикации, анализ и интерпретацию данных.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ВКЛАД АВТОРОВ

С.В. Енгашев, О.А. Дорогова, Е.С. Енгашева — разработка дизайна исследования, редактирование и окончательное утверждение текста статьи; И.Ю. Меркулова — обработка данных, написание текста статьи.

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).



**БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК**

1. Пшеничная Н.Ю., Лизинфельд И.А., Шипилов М.В. Вакцинация от гриппа как компонент эпидемиологического контроля за инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2025. – Т. 14, № 2. – С. 73–81. DOI: 10.33029/2305-3496-2025-14-2-73-81
2. Костинов М.П., Тюкавкина С.Ю., Харсеева Г.Г., Настаева Н.Ю. Эффективность вакцинации против гриппа в условиях пандемии COVID-19 (материал для подготовки лекции) // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2023. – Т. 12, № 4. – С. 90–99. DOI: 10.33029/2305-3496-2023-12-4-90-99
3. Demicheli V., Jeggason T., Ferroni E., Rivetti A., Di Pietrantonj C. Vaccines for preventing influenza in healthy adults // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2018. – Vol. 2018, No. 2. – P. CD001269. DOI: 10.1002/14651858.CD001269.pub6
4. Treanor J.J. CLINICAL PRACTICE. Influenza Vaccination // *N Engl J Med.* – 2016. – Vol. 375, No. 13. – P. 1261–1268. DOI: 10.1056/NEJMcpr1512870
5. Wiselka M. Influenza: diagnosis, management, and prophylaxis // *BMJ.* – 1994. – Vol. 308, No. 6940. – P. 1341–1345. DOI: 10.1136/bmj.308.6940.1341
6. Lafond K.E., Porter R.M., Whaley M.J., Suizan Z., Ran Z., Aleem M.A., Thapa B., Sar B., Proschle V.S., Peng Z., Feng L., Coulbaly D., Nkwembe E., Olmedo A., Ampofo W., Saha S., Chadha M., Mangiri A., Setiawaty V., Ali S.S., Chaves S.S., Otorbaeva D., Keosavanh O., Saleh M., Ho A., Alexander B., Oumzil H., Baral K.P., Huang Q.S., Adebayo A.A., Al-Abaidani I., von Horoch M., Cohen C., Tempia S., Mmbaga V., Chittaganpitch M., Casal M., Dang D.A., Couto P., Nair H., Bresee J.S., Olsen S.J., Azziz-Baumgartner E., Nuorti J.P., Widdowson M.A.; Global Respiratory Hospitalizations–Influenza Proportion Positive (GRIPP) Working Group. Global burden of influenza-associated lower respiratory tract infections and hospitalizations among adults: A systematic review and meta-analysis // *PLoS Med.* – 2021. – Vol. 18, No. 3. – P. e1003550. DOI: 10.1371/journal.pmed.1003550
7. Ruf B.R., Knuf M. The burden of seasonal and pandemic influenza in infants and children // *Eur J Pediatr.* – 2014. – Vol. 173, No. 3. – P. 265–276. DOI: 10.1007/s00431-013-2023-6
8. Fraaij P.L.A., Heikkinen T. Seasonal influenza: the burden of disease in children // *Vaccine.* – 2011. – Vol. 29, No. 43. – P. 7524–7528. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.08.010
9. Lafond K.E., Nair H., Rasooly M.H., Valente F., Booy R., Rahman M., Kitsutani P., Yu H., Guzman G., Coulbaly D., Armero J., Jima D., Howie S.R., Ampofo W., Mena R., Chadha M., Sampurno O.D., Emukule G.O., Nurmatov Z., Corwin A., Heraud J.M., Noyola D.E., Cojocar R., Nymadawa P., Barakat A., Adedeji A., von Horoch M., Olveda R., Nyatanyi T., Venter M., Mmbaga V., Chittaganpitch M., Nguyen T.H., Theo A., Whaley M., Azziz-Baumgartner E., Bresee J., Campbell H., Widdowson M.A.; Global Respiratory Hospitalizations–Influenza Proportion Positive (GRIPP) Working Group. Global role and burden of influenza in pediatric respiratory hospitalizations, 1982–2012: a systematic analysis // *PLoS Med.* – 2016. – Vol. 13, No. 3. – P. e1001977. DOI: 10.1371/journal.pmed.1001977. Erratum in: *PLoS Med.* – 2016. – Vol. 13, No. 6. – P. e1002060. DOI: 10.1371/journal.pmed.1002060
10. Nair H., Brooks W.A., Katz M., Roca A., Berkley J.A., Madhi S.A., Simmerman J.M., Gordon A., Sato M., Howie S., Krishnan A., Ope M., Lindblade K.A., Carosone-Link P., Lucero M., Ochieng W., Kamimoto L., Dueger E., Bhat N., Vong S., Theodoratou E., Chittaganpitch M., Chimah O., Balmaseda A., Buchy P., Harris E., Evans V., Katayose M., Gaur B., O'Callaghan-Gordo C., Goswami D., Arvelo W., Venter M., Briese T., Tokarz R., Widdowson M.A., Mounts A.W., Breiman R.F., Feikin D.R., Klugman K.P., Olsen S.J., Gessner B.D., Wright P.F., Rudan I., Broor S., Simões E.A., Campbell H. Global burden of respiratory infections due to seasonal influenza in young children: a systematic review and meta-analysis // *Lancet.* – 2011. – Vol. 378, No. 9807. – P. 1917–1930. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61051-9
11. Gill P.J., Ashdown H.F., Wang K., Heneghan C., Roberts N.W., Harnden A., Mallett S. Identification of children at risk of influenza-related complications in primary and ambulatory care: a systematic review and meta-analysis // *Lancet Respir Med.* – 2015. – Vol. 3, No. 2. – P. 139–149. DOI: 10.1016/S2213-2600(14)70252-8 Erratum in: *Lancet Respir Med.* – 2015. – Vol. 3, No. 2. – P. e3. DOI: 10.1016/S2213-2600(14)70312-1
12. Prada G.I., Băjenaru O.L., Chelu G.C., Matei-Lincă C.M., Nuță C.R., Moscu S.G. Protecting the elderly from influenza in the context of immune system senescence. Elderly aged 65 and over are vulnerable to influenza and its associated complications: Position paper by the Romanian Society of Gerontology and Geriatrics // *J Med Life.* – 2024. – Vol. 17, No. 7. – P. 746–754. DOI: 10.25122/jml-2024-0274
13. Gong E.Y. Antiviral methods and protocols. 2<sup>nd</sup> ed. Berlin/Heidelberg, Germany: Springer, 2013. – 452 p. DOI: 10.1007/978-1-62703-484-5
14. Donis R.O.; Influenza Cell Culture Working Group; Davis C.T., Foust A., Hossain M.J., Johnson A., Klimov A., Loughlin R., Xu X., Tsai T., Blayer S., Trusheim H., Colegate T., Fox J., Taylor B., Hussain A., Barr I., Baas C., Louwerens J., Geuns E., Lee M.S., Venhuizen O., Neumeier E., Ziegler T. Performance characteristics of qualified cell lines for isolation and propagation of influenza viruses for vaccine manufacturing // *Vaccine.* – 2014. – Vol. 32, No. 48. – P. 6583–6590. DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.06.045
15. Treanor J.J., Hayden F.G., Vrooman P.S., Barbarash R., Bettis R., Riff D., Singh S., Kinnersley N., Ward P., Mills R.G. Efficacy and safety of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir in treating acute influenza: a randomized controlled trial. US Oral Neuraminidase Study Group // *JAMA.* – 2000. – Vol. 283, No. 8. – P. 1016–1024. DOI: 10.1001/jama.283.8.1016
16. McClellan K., Perry C.M. Oseltamivir: a review of its use in influenza // *Drugs.* – 2001. – Vol. 61, No. 2. – P. 263–283. DOI: 10.2165/00003495-200161020-00011 Erratum in: *Drugs.* – 2001. – Vol. 61, No. 6. – P. 775.
17. Dobson J., Whitley R.J., Pocock S., Monto A.S. Oseltamivir treatment for influenza in adults: a meta-analysis of randomised controlled trials // *Lancet.* – 2015. – Vol. 385, No. 9979. – P. 1729–1737. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)62449-1 Erratum in: *Lancet.* – 2015. – Vol. 385, No. 9979. – P. 1728. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)60892-3 Erratum in: *Lancet.* – 2015. – Vol. 385, No. 9979. – P. 1728. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)60893-5
18. Jefferson T., Jones M.A., Doshi P., Del Mar C.B., Hama R., Thompson M.J., Spencer E.A., Onakpoya I., Mahtani K.R., Numan D., Howick J., Heneghan C.J. Neuraminidase inhibitors for preventing and treating influenza in adults and children // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2014. – Vol. 2014, No. 4. – P. CD008965. DOI: 10.1002/14651858.CD008965.pub4
19. Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints // *Am J Epidemiol.* – 1938. – Vol. 27, No. 3. – P. 493–497. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a118408
20. Bland J.M., Altman D.G. Survival probabilities (the Kaplan-Meier method) // *BMJ.* – 1998. – Vol. 317, No. 7172. – P. 1572. DOI: 10.1136/bmj.317.7172.1572
21. Etikan I., Bukirova K., Yuvali M. Choosing statistical



- tests for survival analysis // *Biometrics & Biostatistics International Journal*. – 2018. – Vol. 7. – No. 5. – P. 477–481. DOI:10.15406/BBIJ.2018.07.00249
22. Shapiro S.S., Francia R.S. An approximate analysis of variance test for normality // *Journal of the American Statistical Association*. – 1972. – Vol. 67, No. 337. – P. 215–216. DOI: 10.1080/01621459.1972.10481232
  23. Shapiro S.S., Wilk M.B. An analysis of variance test for normality (complete samples) // *Biometrika*. – 1965. – Vol. 52, No. 3/4. – P. 591–611. DOI: 10.2307/2333709
  24. Mann H.B., Whitney D.R. On a Test of Whether one of Two Random Variables is Stochastically Larger than the Other // *Ann. Math. Statist.* – 1947. – Vol. 18, No. 1. – P. 50–60. DOI: 10.1214/aoms/1177730491
  25. Смирнов В.С., Гаршинина А.В., Гусева В.М., Калинина Н.А., Штро А.А., Беляевская С.В., Аникин В.Б., Зарубаев В.В. Противовирусная активность комплекса глицирризиновой кислота-глутамил-триптофан при экспериментальной летальной гриппозной инфекции у белых мышей, вызванной озельтамивирустойчивым штаммом вируса // *Вопросы вирусологии*. – 2013. – Т. 58, № 5. – С. 19–26. EDN: RGQWPD
  26. Зарубаев В.В., Васильева С.В., Есаулкова Я.Л., Гаршинина А.В., Вепринцева В.М., Галочкина А.В., Процак Е.С., Теселкин И.В., Морковник А.С., Диваева Л.Н., Лаврентьева И.Н. Протективная активность новых производных бензимидазола при экспериментальной гриппозной инфекции // *Инфекция и иммунитет*. – 2018. – Т. 8, № 2. – С. 195–200. DOI: 10.15789/2220-7619-2018-2-195-200
  27. Kirk N.M., Liang Y., Ly H. Comparative Pathology of Animal Models for Influenza A Virus Infection // *Pathogens*. – 2023. – Vol. 13, No. 1. – P. 35. DOI: 10.3390/pathogens13010035
  28. Bouvier N.M., Lowen A.C. Animal Models for Influenza Virus Pathogenesis and Transmission // *Viruses*. – 2010. – Vol. 2, No. 8. – P. 1530–1563. DOI: 10.3390/v20801530
  29. Solomon D.A. Seasonal influenza vaccination // *JAMA*. – 2020. – Vol. 324, No. 13. – P. 1362. DOI: 10.1001/jama.2020.14772
  30. Маркова Т.П., Ярилина Л.Г. Современная противовирусная терапия гриппа и ОРВИ // *РМЖ. Медицинское Обозрение*. – 2015. – Т. 23, № 4. – С. 211–215. EDN: UBGUKH
  31. Meseko C. Sanicas M., Asha K., Sulaiman L., Kumar B. Antiviral options and therapeutics against influenza: history, latest developments and future prospects // *Front Cell Infect Microbiol.* – 2023. – Vol. 13. – P. 1269344. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1269344
  32. Aoki F.Y., Allen U.D., Mubareka S., Papenburg J., Stiver H.G., Evans G.A. Use of antiviral drugs for seasonal influenza: Foundation document for practitioners-Update 2019 // *J Assoc Med Microbiol Infect Dis Can.* – Vol. 4, No. 2. – P. 60–82. DOI: 10.3138/jammi.2019.02.08
  33. Amber R., Adnan M., Tariq A., Mussarat S. A review on antiviral activity of the Himalayan medicinal plants traditionally used to treat bronchitis and related symptoms // *J Pharm Pharmacol.* – 2016. – Vol. 69, No. 2. – P. 109–122. DOI: 10.1111/jphp.12669
  34. Mahima, Rahal A., Deb R., Latheef S.K., Abdul Samad H., Tiwari R., Verma A.K., Kumar A., Dhama K. Immunomodulatory and therapeutic potentials of herbal, traditional/indigenous and ethnoveterinary medicines // *Pak J Biol Sci.* – 2012. – Vol. 15, No. 16. – P. 754–774. DOI: 10.3923/pjbs.2012.754.774
  35. Ijomone O.M., Obi A.U. Kolaviron, isolated from *Garcinia kola*, inhibits acetylcholinesterase activities in the hippocampus and striatum of wistar rats // *Ann Neurosci.* – 2013. – Vol. 20, No. 2. – P. 42–46. DOI: 10.5214/ans.0972.7531.200203
  36. Awogbindin I.O., Olaleye D.O., Farombi E.O. Kolaviron improves morbidity and suppresses mortality by mitigating oxido-inflammation in BALB/c mice infected with influenza virus // *Viral Immunol.* – 2015. – Vol. 28, No. 7. – P. 367–377. DOI: 10.1089/vim.2015.0013
  37. Sulaiman L.K., Oladele O.A., Shittu I.A., Emikpe B.O., Oladokun A.T., Meseko C.A. In-ovo evaluation of the antiviral activity of methanolic root-bark extract of the African Baobab (*Adansonia digitata* Lin) // *African journal of Biotechnology*. – 2011. – Vol. 10, No. 20. – P. 4256–4258. DOI: 10.5897/AJB10.2225
  38. Енгашев С.В., Сидорин Д.Н., Рогова Н.В., Ремизова Н.Ю., Енгашева И.В. Патент № 2494750 С1 Российская Федерация, МПК А61К 35/12. Способ получения стабилизированной формы антисептика-стимулятора Дорогова – фракции 2 (АСД-2): № 2012125647/15: заявл. 20.06.2012: опубл. 10.10.2013; заявитель Общество с ограниченной ответственностью «Научно-внедренческий центр Агроветзащита». EDN: ASPHZO.
  39. Кукес В.Г., Енгашев С.В., Гребенникова Т.В., Енгашева Е.С., Дорогова О.А. Патент № 2796748 С1 Российская Федерация, МПК А61К 35/32, А61Р 31/12, А61Р 31/14. Средство, обладающее противовирусной активностью в отношении вирусов гриппа А и SARS-CoV-2: № 2022116189: заявл. 16.06.2022: опубл. 29.05.2023; заявитель Общество с ограниченной ответственностью «Научно-внедренческий центр Агроветзащита». EDN: KIUPDM.
  40. Енгашев С.В., Кукес В.Г., Поддубиков А.В., Сидоров Н.Г., Парфенова О.К., Леонова А.Ю., Дорогова О.А. Оценка противомикробной активности АСД-2Ф // *Инфекционные болезни*. – 2021. – Т. 19, № 3. – С. 104–108. DOI: 10.20953/1729-9225-2021-3-104-108
  41. Енгашев С.В., Кукес В.Г., Поддубиков А.В., Сидоров Н.Г., Леонова А.Ю., Парфенова О.К., Газданова А.А., Дорогова О.А. Изучение влияния «Антисептика стимулятора Дорогова» (АСД 2Б-капли) на рост штамма *Mycobacterium tuberculosis* // *Человек и его здоровье*. – 2023. – Т. 26, № 4. – С. 88–92. DOI: 10.21626/vestnik/2023-4/08

#### АВТОРЫ

**Енгашев Сергей Владимирович** — доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБОУ ВО МГАВМиБ — МВА имени К.И. Скрябина; академик РАН. ORCID ID: 0000-0002-7230-0374. E-mail: sengashev@vetmag.ru.

**Дорогова Ольга Алексеевна** — научный эксперт, общество с ограниченной ответственностью «Научно-внедренческий центр Агроветзащита». ORCID ID: 0009-0005-4105-953X. E-mail: oa\_dorogova@mail.ru

**Енгашева Екатерина Сергеевна** — доктор ветеринарных наук, директор по науке, ООО «Научно-внедренческий центр Агроветзащита». ORCID ID: 0000-0002-4808-8799. E-mail: kengasheva@vetmag.ru

**Меркулова Ирина Юрьевна** — ассистент кафедры внутренних болезней, медицинский университет «Реавиз». ORCID ID: 0000-0001-5849-1891. E-mail: irina@merkulovamed.ru