

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202100186 (13) A2

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2022.01.31

(22) Дата подачи заявки  
2021.06.30

(51) Int. Cl. C12N 7/00 (2006.01)  
A61K 39/215 (2006.01)  
A61P 31/14 (2006.01)  
A61P 37/00 (2006.01)

(54) ВАКЦИНА И СПОСОБ ЗАЩИТЫ ОТ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

(31) 2020123856

(32) 2020.07.17

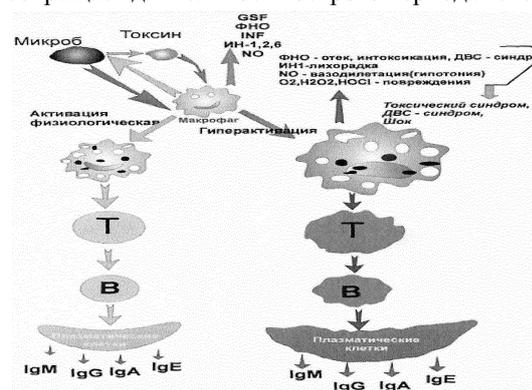
(33) RU

(71) Заявитель:  
АБИДОВ МУСА ТАЖУДИНОВИЧ  
(RU)

(72) Изобретатель:  
Абидов Муса Тажудинович, Аквардар  
Авни (RU)

(74) Представитель:  
Родионов Николай Михайлович (RU)

(57) Изобретение относится к медицине и биологии, предназначено для профилактики и лечения коронавирусных инфекций путем применения производных фталгидразида, включая Тамерит, обладающих иммуномодулирующей активностью самостоятельно или в комбинации с противовирусными препаратами различной химической структуры. Представлен способ профилактики коронавирусной инфекции, отличающийся тем, что для повышения клинической и лабораторной эффективности, достигаемой противовирусными средствами азолоазинового ряда (Триазавирин®, Мактавирин®), противомаларийными средствами и препаратами интерферона, в сочетании с указанными препаратами применяют препарат соли дериватов аминофталгидразида, в виде дигидрата, моногидрата, ангидрата, в любой кристаллической форме, включая Тамерит, в дозе от 0,01 до 4000 мг/кг нуждающемуся субъекту. Такая схема применения препарата (по результатам доклинических исследований) показала, что Тамерит обеспечивает совокупный уровень защиты до 100%, превышающий уровень защиты от использования только противовирусных препаратов на 30-50% и на 1.5-2 недели сокращает длительность острого периода течения и заболевания в целом.



A2

202100186

202100186

A2

## **ВАКЦИНА И СПОСОБ ЗАЩИТЫ ОТ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ**

### **1. Область техники, к которой относится изобретение**

Изобретение относится к медицине и биологии, предназначено для профилактики и лечения коронавирусных инфекций путем применения производных фталгидразида, включая Тамерит, обладающих иммуномодулирующей активностью самостоятельно или в комбинации с противовирусными препаратами различной химической структуры.

### **2. Уровень техники**

Начало XXI века для человечества ознаменовалось появлением двух новых коронавирусов (CoV), обладающих необычайно высокой для данной группы вирусов вирулентностью и патогенностью, а вызываемые ими поражения нередко заканчиваются летальным исходом [1-5]. Впервые коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV) был выявлен в 2003 году [6-9]. В начале появления SARS существовала определенная озабоченность в плане его появления и распространения, однако картина резко изменилась и практически сошла на нет после отсутствия новых случаев заболевания и, как следствие, финансирование исследований в данной области прекратилось. Однако десятилетие спустя появился второй новый коронавирус – возбудитель ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV), впервые выявленный в Саудовской Аравии [3, 10]. За время существования с момента первого выявления SARS-CoV инфицировал около 8000 человек, а летальный исход регистрировался примерно у 10 % инфицированных [11]. Вместе с тем, нельзя не отметить, что хотя MERS-CoV не так широко распространен, как SARS-CoV, по своей активности он более патогенен и вирулентен, а также способствует более высокому проценту летальных исходов, равному 35-50 % от всех диагностированных случаев заражения [3-5, 9, 12-15].

В последнее время в популяциях животных были обнаружены и другие CoV, что не только повышает вероятность повторения подобных вспышек в ближайшем будущем, но и возникновения вспышек, вызванных принципиально новыми CoV [11,16–20]. Оба зоонозных вируса SARS-CoV и MERS-CoV способны вызвать гораздо более тяжелые заболевания, чем те, что обычно наблюдают для CoV, что позволяет их рассматривать как

потенциальные биологические поражающие агенты (БПА), а вызываемые ими поражения – глобальной проблемой современного здравоохранения, а также военной медицины применительно к военнослужащим. Следствием инфицирования SARS-CoV и MERS-CoV является тяжелое поражение легких в виде острого повреждения легочной ткани (ОПЛ), сопровождающееся отеком легких и дыхательной недостаточностью на фоне отсутствия патологии со стороны сердечно-сосудистой системы. В отдельных случаях вышеописанные повреждения не останавливаются и происходит их динамическое развитие в более тяжелую форму ОПЛ - острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) [21-23]. Чтобы выжить в вышеописанных условиях, организм не только должен посредством специфических механизмов блокировать размножение патогенных вирусов в организме, но и активно бороться с повреждениями, ими вызываемыми, на уровне, прежде всего, дыхательной системы, а также нивелировать повреждения со стороны иммунной системы [24-26].

Развитие вышеописанных синдромов имеет место и при новой коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2. При обследовании больных с упомянутой инфекцией выявлено, что расстройства иммунной функции играют ключевую роль в ее патогенезе [27,28,29,30]. При этом, отмечается, наличии лимфопении и отсутствии нейтропении. Лимфоциты периферической крови преимущественно относились к клеткам, имеющим маркеры HLA-DR и CD38. Они относились к субпопуляциям перфорин и/или гранулизиноположительных CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов или воспалительным Th17- клеткам. Поскольку последние обладают выраженными повреждающими тканевыми эффектами, а также иммуносупрессивной активностью, то следствие подобных изменений являлось значительное повреждение легочной ткани в виде диффузного повреждения альвеол, и развитие ОРДС. Подобные изменения согласуются с высокой экспрессией рецептора SARS-CoV-2 на пневмоцитах. Последними исследованиями показано, что одним из биологически правдоподобных механизмов повреждения легких при SARS-CoV-2 является антителозависимое усиление (АЗУ) [29,30]. Этот феномен был также зарегистрирован при заражении вирусами денге, Зика, Эбола и иммунодефицита человека. Антителозависимое усиление вызывается не только нейтрализующими антителами, но и ненейтрализующими антителами. Применительно к SARS-CoV-2 АЗУ обеспечивается клетками с фенотипом CD32, к которым относят моноциты и макрофаги, альвеолярные макрофаги.

Учитывая вышеизложенное, при инфекциях, вызванных коронавирусами, имеет место мощная воспалительная реакция, которая развивается на фоне разбалансировки иммунной системы и опосредуется мощным «цитокиновым взрывом», который

индуцируется повышенным высвобождением провоспалительных цитокинов. В этой связи необходим поиск средств, способных нивелировать эти изменения. При этом внимание должно быть уделено прежде всего средствам с противовоспалительным действием (фиг. 1).

Впервые Абидовым М.Т. (1980-1994 г.) при изучении патогенеза различных по этиологии инфекционных воспалительных заболеваний были выявлены некоторые наиболее общие и обязательные звенья развития воспалительных реакций. Первыми клеточными элементами, которые сталкиваются с микроорганизмом после их проникновения через эпителий и кожные покровы, являются макрофаги. Именно от их дальнейшего «поведения» зависит выраженность и характер ответной реакции организма на внедрение патогена. Избыточная активность макрофагов приводит к выбросу большого количества провоспалительных цитокинов, таких как, фактор некроза опухоли, интерлейкины, нитросоединения, простагландины и реакционно-способные кислородные радикалы. Именно эти вещества дают пара-и эндокринные эффекты, вызывая местные и общие воспалительные реакции. Вовлечение в патологический процесс клеток моноцитарно/макрофагального звена с последующей активацией и выработкой ими целого ряда биологически активных соединений, усугубляющих клеточные и общие нарушения, представляют собой одно из наиболее универсальных звеньев развития воспаления. Поэтому, логичной стратегией в патогенетической терапии острых воспалительных заболеваний, вне зависимости от этиологического фактора, представляется воздействие на ключевое звено с целью ингибирования (обратно) избыточной активности моноцитов/макрофагов. В дальнейшем было подтверждено (диссертация на соискание ученой степени д.м.н. Абидова М., 1993 г.), что острому периоду воспаления всегда соответствует извращенная гиперактивная реакция макрофагов. Так была подтверждена теория о необходимости ингибирования гиперактивированных макрофагов в период острого воспаления. В то время как многие исследователи считали, что воспаление – это снижение функции иммунной системы. Теория Абидова М. была в последующем подтверждена Volk (1999 г.) «Деактивация макрофагов – важная стратегия в лечении сепсиса».

В последствии было подтверждено в эксперименте и в клинике, что регулируя функцию этих клеток, удастся лечить разнообразные заболевания.

Было также выявлено, что наряду с ингибцией гиперактивности макрофагов, Тамерит одновременно активировал микробицидную систему нейтрофилов и тем самым усиливал резистентность организма к микробной инвазии (фиг. 2). Эти предпосылки дали возможность создания лекарственного препарата Тамерит – один из

дариватовфталгидразида с противомикробными свойствами с возможной дозировкой использования в медицине и ветеринарии от 0,01 мг/кг до 4000 мг/кг.

Было выявлено бифункциональное действие тамерита, когда с одной стороны, препарат снижает гиперактивность макрофагов с последующим снижением провоспалительных цитокинов и реакционно способных кислородных радикалов, с другой, активируется фагоцитарная и микробицидная активность нейтрофильных гранулоцитов, находящихся возле очага воспаления.

Применение модулятора функции макрофагов представляет собой новую стратегию в лечении многих воспалительных заболеваний независимо от этиологического фактора.

Формула препарата - аминодигидрофталазиндион натрия (5-амино-1,2,3,4-тетрагидрофталазин-1,4-диона натриевая соль); дериват синтетических производных фталгидразида. Терапевтическими свойствами (в той или иной степени) могут обладать другие дериваты фталгидразида, имеющие схожую формулу, а также другие соли соединения. Поскольку именно структура вещества определяет его свойства. А, следовательно, вещества с близкими структура имеют близкие свойства, различающиеся в деталях. Таким образом, правомерно обобщить, пока не доказано иное, что все дериваты фталгидразида будут обладать схожим терапевтическим эффектом, хотя в различной степени выраженности.

Основные механизмы иммуномодулирующего действия препарата «Тамерит»:

**эффекты на уровне системы неспецифической иммунологической резистентности** - подавляет (обратимо, на 8-12 ч) гиперактивность макрофагов, снижает продукцию активных форм кислорода и других острофазовых белков, участвующих в развитии токсического синдрома; нормализует функциональное состояние макрофагов, восстанавливает регулируемую функцию, увеличивая антибактериальную активность нейтрофильных гранулоцитов, усиливает фагоцитоз и повышает неспецифическую защиту организма;

**эффекты на уровне системы цитокинов** - снижает избыточный синтез ФНО, интерлейкина-1; на уровне Т- и В- систем иммунологической активности эффекты отсутствуют;

**антиинфекционная активность:** эффективность препарата показана при герпетической инфекции, геморрагических лихорадках и других инфекционных заболеваниях протекающих с токсическим и септическим синдромом. (Абидов М.Т. Токсический синдром, патогенез, методы коррекции 1994 г.)

Учитывая опасность коронавирусных инфекций для человека, в том числе SARS-CoV-2, поиск эффективных средств профилактики и терапии этих инфекций представляется значимым, а учитывая дисбаланс в иммунной системе, который вызывается каждым из попавших в организм возбудителей этих инфекций, приоритет в этом плане может быть отдан препаратам с преимущественным иммуотропным действием.

Однако сведения о проведении исследований дериватов синтетических производных фталгидразида (Тамерита) при профилактике и лечении коронавирусной инфекции в уровне техники не обнаружено. Данные исследования проводились нами на протяжении ряда лет. С одной стороны действительно имелся опыт применения Тамерита при лечении ряда вирусных инфекций, но с другой стороны, поскольку воздействие каждого вируса на организм обладает рядом специфических особенностей, поэтому является некорректным экстраполировать данные полученные на одной вирусной инфекции на другую. Нет оснований полагать, что данные по лечению гепатита С можно экстраполировать на лечение коронавирусной инфекции, так как данные заболевания имеют не только разную локализацию, но и вирусы, вызывающие их имеют тропизм к разным клеточным рецепторам, и, соответственно, развиваются внутри разных клеток. А поскольку дериваты синтетических производных фталгидразида воздействуют не столько на вирус, а сколько на клетки организма, то предсказать, как они будут влиять на развитие заболеваний, имеющих тропизм к разным клеткам, не представляется возможным. Тем более в уровне техники отсутствуют сведения, что фталгидразид можно применять для профилактики каких-либо РНК вирусных заболеваний. Таким образом, использование фталгидразида и его дериватов, как например, Галавит (автор и разработчик Абидов М.Т.1994г.) имея схожую формулу, отличается от Тамерита структурными и фармакологическими свойствами (Рыбаков и др.), Тамерон (разработчик Абидов М.Т. Пигулевский А.В.), кристаллический, лиофилизированный порошок, для защиты от коронавирусной инфекции является не только новым, но и неочевидным для среднего специалиста в уровне техники.

Однако при этом нами выявлено, что Тамерит показал более высокую терапевтическую эффективность и безопасность в лечении различных заболеваний. Клинические примеры подтвердили, что Тамерит в отличии от других дериватов не обладает токсическими, куммулятивными, мутагенными и тератогенными свойствами. Нами, так же было выявлено, что при не соблюдении определенных параметров при производстве, все дериваты фталгидразида образуют не безопасные метаболиты и конъюгаты, при введении в организм любым способом, соответственно, образуются

нежелательные побочные эффекты. Так, например, ни одна соль Люминола (3-Аминофталгидразид) не используется в практической медицине из-за широких побочных и нежелательных эффектов, в отличие от Тамерита, Тамерона или Галавита.

Как показали исследования, применение тамерита может быть оправданным как в комбинации с противовирусными средствами, так и в составе физической смеси с упомянутыми препаратами. Последние, как правило, представляют собой физические смеси, в которых присутствуют в определенных весовых соотношениях каждый препарат (один и более) и вспомогательные вещества.

Предлагаемый нами, в данных условиях новый подход позволит сформировать невосприимчивость организма к вирусной инфекции независимо от ее этиологической природы или чувствительности штамма-возбудителя к противовирусным средствам.

Известен способ профилактики и лечения вирусных инфекций с помощью использования комбинаций химиопрепаратов с синергидным механизмом действия: «Способ комбинирования нуклеозидов для достижения синергизма их противовирусного действия» [31], «Способ комбинирования зидовудина с нуклеозидом для достижения синергизма их противовирусного действия» [32], «Способ комбинирования нуклеозидов для достижения синергизма их противовирусного действия» [33], «Способ комбинирования интерферона и гетероциклического соединения для достижения синергидного эффекта препаратов в отношении вирусов» [34], «Изучение комбинированного действия ремантадина и рибавирина на экспериментальную гриппозную инфекцию» [35], «Исследование комбинированного действия ремантадина и рибавирина на репродукцию вируса Синдбис в культуре клеток» [36], «Комбинированное использование противовирусных препаратов» [37]. Способ позволяет повысить резистентность организма к вирусным инфекциям.

Изобретение направлено на решение задач: повышение эффективности способа, расширение показаний к его использованию, расширение ассортимента противовирусных средств. Указанные задачи достигаются путем комбинированного применения иммуномодулирующего средства с противовирусными химиопрепаратами вне зависимости от природы упомянутых фармакологических средств и способов получения. Противопоказаний: не выявлены.

### **3. Сущность изобретения**

Поскольку защита от коронавирусной инфекции является объективно проявляющимся явлением и является свойством дериватов синтетических производных фталгидразида (Тамерита), а согласно Приказу Роспатента N 236 от 27.12.2018

"Об утверждении Руководства по осуществлению административных процедур и действий в рамках предоставления государственной услуги по государственной регистрации изобретения и выдаче патента на изобретение, его дубликата":

К техническим результатам относятся результаты, представляющие собой явление, свойство, а также технический эффект, являющийся следствием явления, свойства, объективно проявляющиеся при осуществлении способа или при изготовлении либо использовании продукта, в том числе при использовании продукта, полученного непосредственно способом, воплощающим изобретение, и, как правило, характеризующиеся физическими, химическими или биологическими параметрами, то

техническим результатом данного изобретения является расширение показаний для применения препарата тамерит (дериват фталгидразида) – с иммунокорректирующим и противовоспалительными свойствами, обладающий противовирусным действием в отношении коронавирусных инфекций при самостоятельном применении или в комбинации с противовирусными препаратами.

Тамерит может явиться фармацевтической платформой для создания высокоэффективных противоинфекционных препаратов для экстренной профилактики и лечения коронавирусных инфекций, и не только..

Как было указано выше, в литературе Тамерит, равно как и фталгидразиды иной химической структуры, такие как Галавит, Тамерон в качестве средств экстренной профилактики и терапии коронавирусных инфекций не описаны.

#### **4. Сведения, подтверждающие сущность изобретения**

Способ предназначен для одновременной профилактики, терапии и реабилитационного этапа лечения организма (защиты), инфицированного коронавирусами. Вакцина предназначена для защиты от коронавирусной инфекции в качестве адъюванта содержит препарат Тамерит в эффективном количестве, а также фармацевтически приемлемые носители и/или разбавители из круга традиционно используемых.

Примеры, подтверждающие эффективность тамерита в профилактике и терапии коронавирусных инфекций.

**Пример 1.** Противовирусная активность тамерита на модели экспериментальной инфекции SARS.

В серии опытов на беспородных белых мышках-самцах массой 16-18 г, полученных из питомника «Столбовая», на модели SARS (штамм SARS-Covktp3) или была изучена эффективность тамерита. Препарат вводили парентерально (подкожно) по единой схеме

(за 24 ч до заражения, через 24 ч, 48 ч, 72 ч, 96 ч и 120 ч после заражения). Животных заражали вирусом SARS-Cov в дозе 10 ЛД<sub>50</sub>. Наблюдение за животными осуществляли в течение 14 суток, ежедневно регистрируя количество живых и павших животных. Результаты исследований приведены в таблице 1 и 2.

Таблица 1 – Защитная эффективность тамерита на модели экспериментальной коронавирусной инфекции, вызванной SARS (SARS-Covktp3)

Препарат	Доза, мг/мл	Заражающая доза возбудителя, ЛД <sub>50</sub>	Количество животных в группе, гол.	Выживаемость, %	Защита, %
Тамерит	0,05	10	10	20 (2÷56)	20 (2÷56)
Тамерит	0,1	10	10	20 (2÷56)	20 (2÷56)
Тамерит	0,15	10	10	40 (12÷74)	40 (12÷74)
Тамерит	0,2	10	10	40 (12÷74)	40 (12÷74)
Тамерит	0,25	10	10	50 (19÷81)	50 (19÷81)
Контроль	-	10	10	0 (0÷31)	-

Как свидетельствуют результаты, представленные в таблицах 1 и 2, тамерит в этих же условиях обеспечивал защиту инфицированных животных от заражения вирусом SARS или вирусом MERSyа уровне от 20 % до 50 % на фоне 100 % летальности в контроле. Изменение использованной дозы препарата заметного положительного эффекта не оказывало, хотя нельзя не признать, что, применяя тамерит в дозах 200-250 мкг/мл, можно было получить эффект защиты на уровне 50 %.

Таблица 2 – Защитная эффективность тамерита на модели коронавирусной инфекции, вызванной вирусом MERS-CovN3/Jordanp3.

Препарат	Доза, мг/мл	Заражающая доза возбудителя, ЛД <sub>50</sub>	Количество животных в группе, гол.	Выживаемость, %	Защита, %
Тамерит	0,05	10	10	20 (2÷56)	20 (2÷56)
Тамерит	0,1	10	10	40 (12÷74)	40 (12÷74)
Тамерит	0,15	10	10	40 (12÷74)	40 (12÷74)
Тамерит	0,2	10	10	50 (19÷81)	50 (19÷81)
Тамерит	0,25	10	10	50 (19÷81)	50 (19÷81)
Контроль	-	10	10	0 (0÷31)	-

Полученные результаты показали наличие у тамерита определенной активности в отношении коронавирусов – возбудителей SARS и MERS, хотя нельзя не отметить, что:

- этот эффект неспецифичен и, по-видимому, обусловлен иммуностропными эффектами тамерита, в частности, противовоспалительным действием;

- уровень защиты от применения препарата составил максимально 50 % на фоне 100 % летальности в контроле. Однако, учитывая отсутствия достоверных различий по

сравнению с контролем, его следует рассматривать как тенденцию к повышению устойчивости организма к использованным в исследовании возбудителям коронавирусной инфекции;

- представляется наиболее объективным местом тамерита в противоинфекционной защите от коронавирусов – комбинированное применение с противовирусными средствами, преимущественно направленными, например, против РНК-вирусов.

**Пример 2.** Противовирусная активность комбинации тамерита с триазавирином и мактавирина с тамеритом на модели экспериментальной инфекции SARS.

В серии опытов на беспородных белых мышках-самцах массой 16-18 г, полученных из питомника «Столбовая», на модели SARS (штамм SARS-Covktp3) была изучена эффективность триазавирина в сочетании с тамеритом и мактавирина в сочетании с тамеритом. Противовирусные средства вводили перорально, а тамерит – парентерально (подкожно) по единым схемам (за 24 ч до заражения, через 24 ч, 48 ч, 72 ч, 96 ч и 120 ч после заражения), зараженным вирусом SARS-CoV в дозе 10 ЛД<sub>50</sub>. Наблюдение за животными осуществляли в течение 14 суток, ежедневно регистрируя количество живых и павших животных. Результаты исследований приведены в таблице 3.

Как следует из представленных данных, противовирусные препараты триазавирин и мактавир обеспечивали формирование у инфицированных животных состояния невосприимчивости к заражению вирусом SARS-CoV в зависимости от использованной дозы каждого из них на уровне от 20 % до 70 %, причем наиболее эффективными из использованных доз противовирусных препаратов оказались 10,0 мг/мл, 100,0 мг/мл и 1000,0 мг/мл.

Таблица 3 – Сравнительная оценка защитной эффективности триазавирина в комбинации с тамеритом и мактавирина в комбинации с тамеритом на экспериментальной модели SARS (SARS-Covktp3)

Препарат	Доза, мг/мл	Заражающая доза возбудителя, ЛД <sub>50</sub>	Количество животных в группе, гол.	Выживаемость, %	Защита, %
Триазавирин + Тамерит	0,01 0,05	10	10	20 (2÷56)	20 (2÷56)
Триазавирин + Тамерит	1,0 0,1	10	10	50 (19÷81)	50 (19÷81)
Триазавирин + Тамерит	10,0 0,15	10	10	70 (35÷93)*	70 (35÷93)
Триазавирин + Тамерит	100,0 0,2	10	10	90 (56÷100)*	90 (56÷100)
Триазавирин +	1000,0	10	10	100 (69÷100)*	100 (69÷100)

Тамерит	0,25				
Мактавирин + Тамерит	0,01	10	10	20 (2÷56)	20 (2÷56)
Мактавирин + Тамерит	0,05	10	10	40 (12÷74)	40 (12÷74)
Мактавирин + Тамерит	0,1	10	10	70 (35÷93)*	70 (35÷93)
Мактавирин + Тамерит	0,15	10	10	90 (56÷100)*	90 (56÷100)
Мактавирин + Тамерит	0,2	10	10	100 (69÷100)*	100 (69÷100)
Мактавирин + Тамерит	100,0	10	10	20 (2÷56)	20 (2÷56)
Мактавирин + Тамерит	1000,0	10	10	20 (2÷56)	20 (2÷56)
Тамерит	0,05	10	10	40 (12÷74)	40 (12÷74)
Тамерит	0,1	10	10	40 (12÷74)	40 (12÷74)
Тамерит	0,15	10	10	40 (12÷74)	40 (12÷74)
Тамерит	0,2	10	10	50 (19÷81)	50 (19÷81)
Тамерит	0,25	10	10	0 (0÷31)	-
Контроль	-	10	10		

\* - различия с контролем достоверны при  $p < 0,05$ .

Сам тамерит в этих же условиях обеспечивал защиту инфицированных животных от заражения вирусом SARS на уровне от 20 % до 50 % на фоне 100 % летальности в контроле. В то же время, при комбинированном применении триазавирина или мактавирина с тамеритом уровень противовирусной защиты заметно возрастал и в зависимости от использованной дозы каждого препарата в комбинации увеличивался на 30-50 % в сравнении с использованием только тамерита и на 30-40 % в зависимости от использования каждого из противовирусных препаратов. Таким образом, выявлена явно выраженная дозозависимая способность тамерита повышать противоинфекционную активность при его использовании в комбинации с традиционными противовирусными средствами в отношении РНК-вируса SARS-CoV со 100% выживаемостью и 100% защитой от заражения.

**Пример 3.** Противовирусная активность комбинации триазавирина с тамеритом и мактавирина с тамеритом на модели экспериментальной инфекции MERS.

В серии опытов на беспородных белых мышках-самцах массой 16-18 г, полученных из питомника, на модели MERS (штамм MERS-CoV<sup>N3/Jordanp3</sup>), была изучена эффективность триазавирина в сочетании с тамеритом и мактавирина в сочетании с тамеритом. Противовирусные средства вводили перорально, а тамерит – парентерально (подкожно) по единым схемам (за 24 ч до заражения, через 24 ч, 48 ч, 72 ч, 96 ч и 120 ч после заражения), зараженным вирусом MERS-CoV в дозе 10 ЛД<sub>50</sub>. Наблюдение за животными осуществляли в течение 14 суток, ежедневно регистрируя количество живых и павших животных. Результаты исследований приведены в таблице 4.

Как свидетельствуют данные таблицы 4, на модели MERS эффективность комбинированного применения противовирусных препаратов с тамеритом заметно

превосходила таковую, регистрируемую в случае применения каждого из них по отдельности. При этом, выявлена явно выраженная дозозависимая способность тамерита повышать противои инфекционную активность при его использовании в комбинации с традиционными противовирусными средствами в отношении РНК-вируса MERS-CovN3 со 100% выживаемостью и 100% защитой от заражения.

Таблица 4 – Сравнительна оценка защитной эффективности триазавирина в комбинации с тамеритом и мактавирина в комбинации с тамеритом на экспериментальной модели MERS (вирус MERS-CovN3/Jordanp3)

Препарат	Доза, мг/мл	Заражающая доза возбудителя, ЛД <sub>50</sub>	Количество животных в группе, гол.	Выживаемость, %	Защита, %
1	2	3	4	5	6
Триазавирин + Тамерит	0,01	10	10	10 (0÷44)	10 (0÷44)
Триазавирин + Тамерит	0,05	10	10	60 (26÷83)	60 (26÷83)
Триазавирин + Тамерит	0,1	10	10	80 (44÷98)*	80 (44÷98)
Триазавирин + Тамерит	10,0	10	10	100 (69÷100)*	100 (69÷100)
Триазавирин + Тамерит	100,0	10	10	100 (69÷100)*	100 (69÷100)
Триазавирин + Тамерит	1000,0	10	10	100 (69÷100)*	100 (69÷100)
Мактавирин + Тамерит	0,01	10	10	20 (2÷56)	20 (2÷56)
Мактавирин + Тамерит	0,05	10	10	40 (12÷74)	40 (12÷74)
Мактавирин + Тамерит	1,0	10	10	70 (35÷93)*	70 (35÷93)
Мактавирин + Тамерит	0,1	10	10	90 (56÷100)*	90 (56÷100)
Мактавирин + Тамерит	10,0	10	10	100 (69÷100)*	100 (69÷100)
Мактавирин + Тамерит	0,2	10	10	100 (69÷100)*	100 (69÷100)
Мактавирин + Тамерит	100,0	10	10	100 (69÷100)*	100 (69÷100)
Мактавирин + Тамерит	1000,0	10	10	100 (69÷100)*	100 (69÷100)
Триазавирин	0,01	10	10	20 (2÷56)	20 (2÷56)
Триазавирин	1,0	10	10	20 (2÷56)	20 (2÷56)
Триазавирин	10,0	10	10	40 (12÷74)	40 (12÷74)
Триазавирин	100,0	10	10	50 (19÷81)	50 (19÷81)
Триазавирин	1000,0	10	10	50 (19÷81)	50 (19÷81)
Мактавирин	0,01	10	10	10 (0÷44)	10 (0÷44)
Мактавирин	1,0	10	10	20 (2÷56)	20 (2÷56)
Мактавирин	10,0	10	10	40 (12÷74)	40 (12÷74)
Мактавирин	100,0	10	10	50 (19÷81)	50 (19÷81)
Мактавирин	1000,0	10	10	50 (19÷81)	50 (19÷81)
Тамерит	0,05	10	10	20 (2÷56)	20 (2÷56)
Тамерит	0,1	10	10	40 (12÷74)	40 (12÷74)
Тамерит	0,15	10	10	40 (12÷74)	40 (12÷74)
Тамерит	0,2	10	10	50 (19÷81)	40 (19÷81)
Тамерит	0,25	10	10	50 (19÷81)	50 (19÷81)
Контроль	-	10	10	0 (0÷31)	-

\* - различия с контролем достоверны при  $p < 0,05$ .

**Пример 4.** Эффективность препарата Тамерит в комплексной терапии больных с новой коронавирусной инфекцией COVID-19.

Клиническая картина заболевания отличается крайним полиморфизмом, наш практический опыт позволяет выделить, как минимум, четыре основных варианта течения инфекции в зависимости от преимущественной локализации поражения:

- гриппоподобный вариант - когда поражены, в основном, верхние дыхательные пути, сопровождающийся температурой, дискомфортом в кишечнике и диареей, потерей обоняния и вкуса, кашлем (чаще сухим), одышкой, затрудненным дыханием, в большинстве случаев (клинически подтвержденных) быстро переходит в первичную вирусную пневмонию;
- инфильтративный вариант - имеющий схожие черты с течением инфильтративной формой туберкулёзной инфекции: с массивной лимфоцитарно – нейтрофильной инфильтрацией лёгких, накоплением в очаге реакционно-способных, кислородных анион-радикалов приводящие в конечном итоге к деструктивным изменениям лёгочной ткани.
- токсический вариант – когда клинические симптомы обусловлены прогрессирующим «цитокиновым штормом», нарушением микроциркуляции, нарушением клеточной мембраны запуском арахидонового каскада, синтезом простагландинов группы E и F2a, дисбаланс простаглицина и тромбосана, нарушением свертывающей системы крови, развитие ДВС-синдрома, развитие респираторного дистресс-синдрома, нарастание отека легких, мозга дальше токсический шок, токсико-септический шок....
- осложнённый вариант – обусловлен гиперэргической ответной реакцией иммунной системы, характеризующийся массивным повреждением паренхимы легких, формирование очагов фиброза, распространенным васкулитом и, как следствие сосудистыми нарушениями в разных органах, в том числе и мозга. Этот вариант подразумевает пролонгированное лечение и реабилитацию больных с коронавирусной инфекцией до полного исчезновения клинических симптомов заболевания с целью предотвращения инвалидизации.

Клиническая картина новой коронавирусной инфекции многолика, однако наши предположения были подтверждены клиническим течением инфекции у наблюдаемых нами пациентов. Это в итоге позволило сформировать новый патогенетический подход к профилактике, лечению инфекции в фазе острых клинических проявлений и на реабилитационном этапе.

С самого начала эпидемического периода под нашим наблюдением находились 26 человек с коронавирусной инфекцией:

**1 группа - 5 пациентов** (семья), находились в прямом контакте с инфицированным больным; у пациентов были минимальные клинические проявления – боли в горле (100%), першение (100%), сухой кашель (100%), ломота в мышцах и суставах (80%), нарушения обоняния и вкуса (60%). Контакт с больными с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 подтверждён небольшими изменениями в крови (лейкопения, нейтропения, лимфоцитоз). На КТ исследовании органов грудной клетки у пациентов патологии не выявлено (100%). Всем пациентам этой группы с целью профилактики заболевания делали инъекции Тамерита по 200 мг 3 раза в день, внутримышечно, 3-4 дня. Через 3-4 дня у пациентов наступил полный регресс симптомов. С профилактической целью ещё 3 недели была продолжено лечение Тамеритом по 100 мг внутримышечно 1 раз в день. Все пациенты находились на амбулаторном лечении, были изолированы. Никто из них после контакта с больными с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 не заболел.

Тамерит в данной группе пациентов применялся в порядке монотерапии как препарат с иммуномодулирующими (индуктор эндогенного интерферона), противовоспалительными свойствами (ингибитор синтеза провоспалительных цитокинов) и обладающий собственным противовирусным действием в отношении коронавирусных инфекций.

**2 группа - 6 пациентов**, у пациентов этой группы в разной степени выраженности были все симптомы заражения новой коронавирусной инфекцией: боли в горле (100%), першение (100%), сухой кашель (84%), ломота в мышцах и суставах (84%), стеснение в груди и одышка (100%), нарушения обоняния и вкуса (100%), температура 37-38°C (100%), головная боль (100%), кровохарканье у одного пациента (16%), в анализах крови – лейкопения, нейтропения, лимфоцитоз (84%). Положительный тест на COVID-19 у 100% пациентов. На КТ исследовании органов грудной клетки поражение от 16% до 25% лёгких в виде «матового стекла», в основном, в периферических отделах легких выявлено у 84% больных, у 32% – увеличение лимфоузлов средостения до 16мм. Общее состояние было легкой степени у 68% больных, у 32% больных – средней степени тяжести. Все пациенты этой группы были изолированы, находились под врачебным наблюдением, лечились амбулаторно. Всем была назначена комбинированная терапия: инъекции Тамерита по 200 мг 3 раза в день, внутримышечно, 15 дней; ингаляции Тамерита по 100 мг 2 раза в день, 15 дней; интерферон-альфа-2-бета по 1 млнЕд два раза в сутки, 15 дней. В течение первой недели у всех пациентов (100%) значительно уменьшились кашель, температура до

субфебрильной, ушли полностью - слабость, одышка, ломота в суставах и мышцах, восстановились обоняние и вкус (у 68%). Через две недели комбинированной терапии все клинические симптомы регрессировали полностью, нормализовались гематологические показатели. На контрольной КТ органов грудной клетки у 68% пациентов патологии не выявлено, у 32% больных – уменьшение инфильтративных изменений, выраженный положительный ответ на проводимую терапию.

При определении тактики амбулаторного лечения, с учётом клинической картины заболевания и степени тяжести состояния пациентов второй группы (с неосложнённым течением новой коронавирусной инфекции), выбор был сделан в пользу эффективной и безопасной комбинации: Тамерит - препарат с иммуномодулирующими (индуктор эндогенного интерферона), противовоспалительными свойствами, обладающий собственным противовирусным действием в отношении коронавирусных инфекций и экзогенный интерферон-альфа-2-бета. Ни одному пациенту второй группы госпитализация не потребовалась.

**- 3 группа – 15 пациентов**, диагноз которым был поставлен на основании клинических данных, КТ-исследования органов грудной клетки и ПЦР диагностики; состояние средней тяжести у 80% пациентов и тяжелое – у 20% больных. До начала лечения отмечались: повышение температуры до 38-39°C (100%), общая слабость (100%), ломота в мышцах и суставах (100%), кашель (чаще сухой) – у 80% больных, у 20% – скудная, с прожилками крови мокрота, потеря обоняния и вкуса у 86% пациентов, головная боль у 100%, ноющие боли в животе, послабление стула у 26% больных, затрудненное дыхание, одышка, стеснения и тяжесть в груди у 80 %, чувство страха у 100%, у 6% кожная геморрагическая сыпь, в анализах крови – выраженная лейкопения у 100%, нейтропения у 100%, лимфоцитоз у 100%, а позже у 28% больных – нейтропения, лимфопения, моноцитоз; значительное повышение СОЭ, уровня интерлейкина-6, ферритина, СРБ. Положительный тест на COVID-19 у всех 100% пациентов. На КТ исследовании органов грудной клетки: поражение лёгких в виде «матового стекла» 25-50% - у 54% пациентов, 50-70% - у 40% пациентов, у одного больного 100% поражение легких. Рентгенологические изменения, в основном, в периферических отделах легких выявлены у 87% больных, у 13% – по всем легочным полям и увеличение лимфоузлов средостения до 14-16мм. 82% пациентов с пневмонией средней степени тяжести были изолированы, находились под врачебным наблюдением на амбулаторном лечении. 18% пациентов, имевшие в анамнезе хронический обструктивный бронхит, хронический панкреатит, в тяжелом состоянии были госпитализированы в стационар.

Трёх пациентам третьей группы, в тяжелом состоянии, находящимся на стационарном лечении, в строгом соответствии с «Временными методическими рекомендациями «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (2019-nCoV)» (утв. Министерством здравоохранения РФ 3 февраля 2020 года, последующими версиями, включая в.б от 24.04.2020 г.) была назначена комплексная терапия (противомаларийный препарат мефлохин 250 мг в сутки, азитромицин 500 мг в сутки, антитромботическая терапия низкомолекулярными гепаринами, блокатором интерлейкина-6 кевзаром). У 14% пациентов на проводимую терапию развились проявления токсического медикаментозного гепатита (тошнота, повторная рвота, в анализах крови – повышение АЛТ, АСТ, СРБ). Ожидаемого клинического эффекта от проводимой терапии не получено, проведена коррекция лечения и всем 100% пациентам, включая трёх стационарных больных, в целях предотвращения катастрофического развития заболевания, токсического шока, ДВС-синдрома, «цитокинового шторма» была назначена комплексная терапия: парентерально - Тамерит - препарат с иммуномодулирующими (индуктор эндогенного интерферона), противовоспалительными свойствами, обладающий собственным противовирусным действием в отношении коронавирусных инфекций; парентерально - антибактериальные препараты широкого спектра действия - респираторные фторхинолоны; ректально - экзогенный интерферон-альфа-2-бета; подкожно - антитромботическая терапия низкомолекулярными гепаринами. Инъекции Тамерита по 200 мг 3 раза в день, внутримышечно, 15 дней; ингаляции Тамерита по 150-200 мг 3 раза в день, 15 дней; интерферон-альфа-2-бета по 1 млнЕд 2 раза в сутки, 15 дней; левофлоксацин 500 мг 1 раз в сутки, внутрь, 15 дней; флуконазол 150 мг на 3-й, 7-й и 15-й день курса; эноксапарин 40 мг 1 раз в сутки, подкожно.

Все пациенты третьей группы получали комбинированную терапию:

- Тамерит назначали по 100-200 мг, 3-4 раза в сутки внутримышечно, в зависимости от тяжести состояния до купирования основных симптомов, затем 1-2 раза в сутки в течение 2 недель, а затем по 100 мг ингаляционно до полного выздоровления, с целью профилактики возможного фиброза лёгких и других осложнений;
- респираторный фторхинолон - левофлоксацин 500 мг 1 раз в сутки, внутрь, 2 недели;
- интерферон-альфа-2-бета по 1 млнЕд 2 раза в сутки, 2 недели;
- антитромботическая терапия - эноксапарин 40 мг 1 раз в сутки, подкожно.

**Пример 4** Применение Тамерита у больного с коронавирусной пневмонией (COVID-19 +) тяжелой степени.

Данные пациента, Диагноз. Тест на COVID19	Жалобы, клинические данные при поступлении и на момент выписки	Результаты инструментальных исследований	Результаты лабораторных исследований	Медикаментозная терапия
<p>Больной Г.Н., 50 лет стабильное течение с 19.04 по 08.05.20 г. Диагноз: U07.1 Новая коронавирусная инфекция РНК SARS-Cov-2(+) от 19.04.20. В34.2 Внебольничная двусторонняя полисегментарная пневмония, тяжёлое течение, ДН -3 степени. Тест на 19.04.2020: 0000521784-XF02 РНК SARS-Cov-2 обнар. 07.05.2020: 2620-XF02 РНК SARS-Cov-2 – не обн.</p>	<p>19.4.2020г: При поступлении жалобы на: ухудшение состояния в течение трех дней в виде затрудненного дыхания, сухого кашля, нарастания выраженной слабости и потливости, t-38.5-39°C. При поступлении состояние средней тяжести, зев гиперемирован. Дыхание жесткое, ЧДД 20 в минуту. Тоны сердца приглушены, SpO<sub>2</sub> 99%, АД 127/90 мм рт. ст. PS 98/мин; живот мягкий, безболезненный, печень не увеличена. Послабление стула. Мочеиспускание в норме.</p>	<p>19.4.2020г.: На МСКТ-лёгких выявлены двухсторонние округлые изменения по типу «матового стекла» (консолидации /ретикулярные), расположенные преимущественно в периферических передних и задних, верхних и нижних отделах легких. Фиброзные тяжи +. 44% поражения Общий балл 11. КТ-2. 24.4.2020г.: На МСКТ-лёгких выявлены двухсторонние четкие округлые изменения по типу «матового стекла» (консолидации /ретикулярные), расположенные в центральных и периферических передних и задних, верхних и нижних отделах легких. Фиброзные тяжи +. 100% поражения Общий балл 25. КТ-4. МСКТ ОГК 08.05.2020: Отмечается выраженная положительная динамика на проводимое лечение. Остаточные явления двусторонней пневмонии. КТ-2.</p>	<p>20.04.2020г: Ан.крови: лейкоциты- 3.32x10<sup>9</sup>/л, эритроциты- 4.95x10<sup>12</sup>/л, тромбоциты- 154x10<sup>9</sup>/л, нейтрофилы - 48%, лимфоциты - 33%, СОЭ - 22 мм/ч. СРБ - 81.5 мг/л (норма &lt; 5), АЛТ - 21 ед/л (норма &lt; 40), АСТ - 39 ед/л (норма &lt; 40); прокальцитонин – 0.141нг/мл (менее 0.5 -низкая вероятность сепсиса), интерлейкин-6 – 26.5 пг/мл (норма менее 7). Фибриноген – 5.0 г/л (1.69-3.92), протромбин - 116% (78-125). 26.04.2020г.: Ан.крови: лейкоциты - 4.07x10<sup>9</sup>/л, эритроциты - 4.35x10<sup>12</sup>/л, тромбоциты - 227x10<sup>9</sup>/л, нейтрофилы -70%, лимфоциты - 21%, СОЭ – 22 мм/ч. АЛТ - 46 ед/л (&lt; 40), АСТ – 93 ед/л (&lt; 40) 28.04.2020г.: АЛТ - 96 ед/л (&lt; 40), АСТ - 126 ед/л (&lt;40); СРБ -335.5 мг/л (&lt; 5), интерлейкин-6 – 130.4 пг/мл, ферритин – &gt; 2000 нг/мл (28-397); прокальцитонин – 0.19 нг/мл. 02.05.2020г: Ан.крови: лейкоциты-3.87x10<sup>9</sup>/л, эритроциты -4.32x10<sup>12</sup>/л, тромбоциты -487x10<sup>9</sup>/л, нейтрофилы - 68%, лимфоциты - 18%, моноциты -10%, эоз-2%, плазматические клетки -1%, СОЭ – 25 мм/ч. СРБ - 36.4мг/л (&lt; 5), интерлейкин-6 – 924,6 пг/мл, ферритин – 973.3 нг/мл (28-397). 07.05.2020: СРБ-3,6 мг/л (&lt; 5).</p>	<p>С 19.04.20 г: мефлохин, кевзара, калетра, лефлбакт, флуконазол, сульперазон, азитромицин, цефтриаксон, фраксипарин (отмена на 3 день лечения из-за выраженного побочного действия – тошноты, рвоты). С 25.04.20г: 1.Тамерит 200мг в/м 3 раза в день; 2.Тамерит ингаляции 150 мг 2-3 раза в день. 3.Виферон-свечи, 1млнед, по 1св 2 раза в день.</p>

У пациента Г.Н., 50 лет, 19.04.2020 г., после поступления в клинику резко выросли дыхательная недостаточность, клинико-лабораторные проявления «цитокинового шторма» (лейкопения до  $3.32 \times 10^9/\text{л}$ , нейтропения – 48% (норма 50-70), резкое увеличение СРБ до 81,5 мг/л (норма менее 5), интерлейкина-6 до 26.5 пг/мл (норма менее 7). Начатая в соответствии с Временными рекомендациями Минздрава РФ (6.0) стандартная терапия (мефлохин, азитромицин, блокатор интерлейкина-6 кевзар) вызвала 21.04.2020 г., на третьи сутки лечения развитие токсического медикаментозного гепатита (сильную тошноту, рвоту, в биохимическом анализе крови от 26.04 и 28.05 последовательный рост АЛТ до 96 ед/л (норма менее 40), АСТ до 126 ед/л (норма менее 40), СРБ – 335.5 мг/л, интерлейкина-6 до 130.6 пг/мл, ферритин – более 2000 нг/мл (норма 28-397)). Проведена коррекция лечения – вышеперечисленные препараты отменены, назначена антигистаминная и гепатопротекторная терапия. К 24.05.2020 г. состояние пациента становится тяжёлым: усилилась слабость, одышка до 24 в мин., сатурация кислорода снизилась до 86-88%, температура тела на уровне  $38^{\circ}\text{C}$ , в анализах крови нейтрофилёз до 70% (норма 50-70), лимфопения до 21% (норма 25-40). С 24.04.2020 г. пациенту на две недели назначены Тамерит 200 мг внутримышечно 3 раза в день и Тамерит-ингаляции 150 мг 2-3 раза в день, интерферон-альфа-2-бета-свечи, 1 мл нед, по 1 свече 2 раза в день; клексан 80 мг в день; левофлоксацин 500 мг в сутки. Изменение проводимой терапии дали быструю положительную динамику клинических и лабораторных данных: нормализовалась температура тела, уменьшились явления дыхательной недостаточности, реже стал кашель, снизились показатели системного воспаления. На контрольной МСКТ органов грудной клетки 08.05.2020 г. выраженная положительная динамика на проводимое лечение. Остаточные явления двусторонней пневмонии. В связи со значительным субъективным улучшением состояния пациент настоял на выписке из клиники.

Следует отметить важные особенности клинического течения новой коронавирусной инфекции РНК SARS-Cov-2 (COVID19) с развитием пневмонии: в начале заболевания рентгенологические изменения (по данным МСКТ органов грудной клетки) опережают на 5-7 дней появление жалоб и ухудшение состояния пациента. После начала лечения картина обратная: жалобы, клинические и лабораторные проявления регрессируют, тогда как рентгенологическая положительная динамика значительно, на 7-10 дней запаздывает. Данная особенность течения новой коронавирусной инфекции РНК SARS-Cov-2 (COVID19) требует продолжительной терапии, направленной на купирование клинических проявлений системного воспаления, профилактики и лечение

вероятных осложнений (фиброз лёгких, васкулит и т.п.). Следует также отметить, что выявленная особенность течения новой коронавирусной инфекции PHK SARS-Cov-2 (COVID19), с большой долей вероятности ведёт к хронизации процесса системного воспаления и, как следствие, к последующей ранней инвалидизации пациентов, переболевших новой коронавирусной инфекцией PHK SARS-Cov-2 (COVID19).

**Пример 5** Противовирусная активность комбинации тамерита с рибавирином на модели экспериментальной инфекции SARS.

В серии опытов на беспородных белых мышках-самцах массой 16-18 г, полученных из питомника «Столбовая», на модели SARS (штамм SARS-Covktp3) была изучена эффективность рибавирина в сочетании с тамеритом. Рибавирин вводили перорально, а тамерит – парентерально (подкожно) по единым схемам (за 24 ч до заражения, через 24 ч, 48 ч, 72 ч, 96 ч и 120 ч после заражения), зараженным вирусом SARS-Cov в дозе 10 ЛД<sub>50</sub>. Наблюдение за животными осуществляли в течение 14 суток, ежедневно регистрируя количество живых и павших животных. Результаты исследований приведены в таблице 1.

Как следует из представленных данных, противовирусные рибавирин обеспечивал формирование у инфицированных животных состояния невосприимчивости к заражению вирусом SARS-CoV в зависимости от использованной дозы на уровне от 10 % до 50 %, причем наиболее эффективной из использованных доз рибавирина оказалась 500,0 мг/кг,

Таблица 1 – Сравнительная оценка защитной эффективности триазавирина в комбинации с тамеритом и мактавирина в комбинации с тамеритом на экспериментальной модели SARS (SARS-Covktp3)

Препарат	Доза	Заражающая доза возбудителя, ЛД <sub>50</sub>	Количество животных в группе, гол.	Выживаемость, %	Защита, %
Рибавирин	100 мг/кг	10	10	10 (0÷44)	10 (0÷44)
Рибавирин	250 мг/кг	10	10	20 (2÷56)	20 (2÷56)
Рибавирин	500 мг/кг	10	10	50 (19÷81)	50 (19÷81)
Рибавирин + Тамерит	100,0 мг/кг + 0,20 мг/мл	10	10	50 (19÷81)	50 (19÷81)
Рибавирин + Тамерит	250 мг/кг + 0,20 мг/мл	10	10	100 (69÷100)*	100 (69÷100)
Рибавирин + Тамерит	500,0 мг/кг + 0,20 мг/мл	10	10	100 (69÷100)*	100 (69÷100)
Тамерит	0,20 мг/мл	10	10	50 (19÷81)	50 (19÷81)
Контроль	-	10	10	0 (0÷31)	-

\* - различия с контролем достоверны при p<0,05.

Сам тамерит в этих же условиях обеспечивал защиту инфицированных животных от заражения вирусом SARS на уровне от 50 % на фоне 100 % летальности в контроле. В то же время, при комбинированном применении рибавирина с тамеритом уровень

противовирусной защиты заметно возрастал и в зависимости от использованной дозы рибавирина комбинации увеличивался на 50-80 % в сравнении с использованием самостоятельно без тамерита. Таким образом, выявлена явно выраженная способность тамерита повышать противoinфекционную активность при его использовании в комбинации с традиционным противовирусным средством рибавирином в отношении РНК-вируса SARS-CoV.

**Пример 6** Противовирусная активность комбинации арбидола с тамеритом на модели экспериментальной инфекции MERS.

В серии опытов на беспородных белых мышках-самцах массой 16-18 г, полученных из питомника «Столбовая» РАН, на модели MERS(штамм MERS-CovN3/Jordanp3) была изучена эффективность арбидола в сочетании с тамеритом. Противовирусные средства вводили перорально, а тамерит – парентерально (подкожно) по единым схемам (за 24 ч до заражения, через 24 ч, 48 ч, 72 ч, 96 ч и 120 ч после заражения), зараженным вирусом MERS-CoV в дозе 10 ЛД<sub>50</sub>. Наблюдение за животными осуществляли в течение 14 суток, ежедневно регистрируя количество живых и павших животных. Результаты исследований приведены в таблице 2.

Как свидетельствуют данные таблицы 2, на модели MERS эффективность комбинированного применения противовирусного препарата с тамеритом заметно превосходила таковую, регистрируемую в случае применения только каждого из них по отдельности. При этом уровень выживаемости под влиянием тамерита в комбинации возрастает на 40-50 % в сравнении с использованием только противовирусных средств.

Таблица 2 – Сравнительная оценка защитной эффективности арбидола комбинации с тамеритом на экспериментальной модели MERS (вирус MERS-CovN3/Jordanp3)

Препарат	Доза	Заражающая доза возбудителя, ЛД <sub>50</sub>	Количество животных в группе, гол.	Выживаемость, %	Защита, %
Арбидол	60 мг/кг	10	10	10 (0÷44)	10 (0÷44)
Арбидол	135 мг/кг	10	10	60 (26÷83)	60 (26÷83)
Арбидол + Тамерит	60 мг/кг 0,2 мг/мл	10	10	80 (44÷98)*	80 (44÷98)
Арбидол + Тамерит	135 мг/кг 0,2	10	10	100 (69÷100)*	100 (69÷100)
Тамерит	0,2	10	10	50 (19÷81)	40 (19÷81)
Контроль	-	10	10	0 (0÷31)	-

\* - различия с контролем достоверны при p<0,05.

Как свидетельствуют данные таблицы 2, на модели MERS эффективность комбинированного применения арбидола с тамеритом заметно превосходила таковую, регистрируемую в случае применения каждого из них по отдельности. При этом уровень

выживаемости под влиянием тамерита в комбинации возрастает на 40-70 % в сравнении с использованием только арбидола.

Далее представлены примеры, демонстрирующие адьювантные свойства тамерита при использовании его в качестве адьюванта при профилактике вирусных заболеваний. Пример 7 демонстрирует эффективность тамерита в качестве адьюванта при использовании его против венесуэльского энцефаломиелита лошадей. Данный пример является корректной экстраполяцией для коронавируса поскольку не только касается профилактики вирусного заболевания, но вируса являющегося одноцепочечным РНК вирусом, как и коронавирус.

**Пример 7** Адьювантный эффект адьюванта Абидова в отношении ИЛП против венесуэльского энцефаломиелита лошадей

Оценку адьювантных свойств адьюванта Абидова в отношении вакцины венесуэльского энцефаломиелита лошадей (ВВЭЛ) проводили в «точечных» экспериментах, в каждой точке использовали по 10 мышей массой от 16 до 18 г. Вирусосодержащий материал вводили животным подкожно в объеме 0,3 мл/мышь. Заражающие дозы вируса составляли 2 и 10 ЛД<sub>50</sub>. Для заражения использовали вирус венесуэльского энцефаломиелита лошадей (ВЭЛ), штамм Тринидад. Исходный титр вируса составил 10<sup>7</sup>-10<sup>8</sup> ЛД<sub>50</sub>/мл. Для иммунизации использовали ВВЭЛ культуральную инактивированную жидкую (ВВЭЛ) (сер. 145; контр. N 1244). Адьювант применяли в дозе 150 мкг/особь, вводили внутримышечно по различным схемам. ИЛП применяли однократно, вводили внутримышечно в объеме 0,5 мл, иммунизирующая доза ИЛП составляла 0,1 человеческой дозы.

Как следует из представленных данных, ВВЭЛ, введенная однократно в дозе равной 0,1 человеческой дозы за 21 сутки до заражения в зависимости от заражающей дозы вируса обеспечивала выживаемость 15 % (10 ЛД<sub>50</sub>) и 70 % (2 ЛД<sub>50</sub>) инфицированных животных.

Результаты проведенных исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Оценка адьювантной активности адьюванта Абидова в отношении ИЛП против венесуэльского энцефаломиелита лошадей

Схема применения адьюванта Абидова относительно ВВЭЛ и заражения	Способ введения адьюванта	Заражающая доза возбудителя (количество ЛД <sub>50</sub> )	Выживаемость, М (M-tm-M+tm), %
Одновременно с	Внутримышечно	10,0	15 (2-45)

ВВЭЛ в одном шприце за 21 сут до заражения		2,0	40 (12-74)
Одновременно с ВВЭЛ в разных шприцах за 21 сут до заражения	Внутримышечно	10,0	40 (12-74)
		2,0	100 (69-100)*
Раздельно с ВВЭЛ за 3, 2, 1 сут до заражения	Внутримышечно	10,0	40 (12-74)
		2,0	100 (69-100)*
Без ВВЭЛ за 21 сут до заражения	Внутримышечно	10,0	40 (12-74)
		2,0	70 (35-93)*
Без ВВЭЛ за 3, 2, 1 сут до заражения	Внутримышечно	10,0	60 (26-83)
		2,0	100 (69-100)*
Не вводили (контроль 1)	-	10,0	15 (2-45)
		2,0	70 (35-93)*
Не вводили (контроль 2)	-	10,0	0 (0-31)
		2,0	15 (2-45)
Контроль 1 – животных иммунизировали только ВВЭЛ; Контроль 2 – ВВЭЛ и адьювант Абидова не вводили; * - различия с показателями в контрольных группах достоверны при $P < 0,05$			

Введение в эти же сроки только адьюванта Абидова обеспечивало выживаемость 40 % (10 ЛД<sub>50</sub>) и 70 % (2 ЛД<sub>50</sub>) инфицированных вирусом ВЭЛ мышей. Более эффективным оказалось использование адьюванта Абидова по многократной схеме. При этом в зависимости от заражающей дозы вируса выживаемость инфицированных мышей составила 60-100 %.

При одновременном введении ВВЭЛ и адьюванта Абидова в одном шприце показатели выживаемости инфицированных животных колебались в диапазоне от 15 до 40 % и были либо на уровне, либо несколько меньшими, чем в группах животных, которым вводили только ВВЭЛ или только адьювант. Более эффективным оказалось одновременное применение ВВЭЛ и адьюванта, но в разных шприцах. В этом случае в зависимости от величины заражающей дозы вируса ВЭЛ показатель выживаемости инфицированных животных составил 40 % и 100 %, соответственно при заражении

вирусом в дозе 10 ЛД<sub>50</sub> и 2 ЛД<sub>50</sub>, что оказалось на 25-30 % выше аналогичного показателя, зарегистрированного в группах животных, иммунизированных только ВВЭЛ.

По результатам проведенных исследований показано, что:

- использование препарата «Тамерит» в комплексной терапии пациентов с COVID-19 способствовало улучшению состояния пациентов и примерно на 1,5-2 недели суток сокращало длительность клинических проявлений острой фазы заболевания в сравнении с использованием терапии, включающей только противомалярийное средство, антибактериальные препараты и препараты интерферона;

- ни у кого из наблюдаемых пациентов, получавших лечение с применением Тамерита, не появились показания к искусственной вентиляции легких;

- по результатам компьютерной томографии ни у одного больного не было отмечено развития раннего фиброза лёгких (фиг. 3а, 3б);

Совокупность представленных данных позволяет рассматривать препарат «Тамерит» как высокоэффективное неспецифическое средство противoinфекционной защиты, целесообразно для включения в схемы профилактики, комплексной терапии противовирусной, как например, коронавирусной инфекции в том числе на восстановительном этапе лечения, предусматривающие использование помимо Тамерита препаратов интерферона, азолазинового ряда, препаратов с противомалярийной, антибактериальной и других комбинаций, в лечении других сопутствующих заболеваний с применением препаратов, как например, антипаразитарной, антигрибковой, антигельминтной активностью и др. За счет своей иммуномодулирующей активности препарат Тамерит способствует повышению защитных сил организма, прежде всего неспецифической иммунологической резистентности, тем самым позволяя более активно проявлять лечебные свойства традиционным противовирусным средствам и примерно на 1.5-2 недели сокращать острый период заболевания.

Приведенные выше примеры однозначно свидетельствуют о промышленной применимости заявленного изобретения, так как показывают как воспроизводимость, так и реализацию назначения. При этом они достоверно подтверждают правомерность широты заявленных притязаний, так как согласно национальному законодательству для обоснования правомерности использованной заявителем степени обобщения при раскрытии существенного признака изобретения предоставляются сведения о частных формах реализации этого существенного признака. Выше представлено достаточное количество примеров осуществления изобретения, подтверждающих возможность получения указанного заявителем технического результата при использовании частных форм реализации существенного признака изобретения.

## Список литературы:

1. Vijay R, Perlman S. ScienceDirect Middle East respiratory syndrome and severe acute respiratory syndrome. *Curr. Opin. Virol.* 2016;16:70–76.
2. Peck KM, Burch CL, Heise MT, Baric RS. Coronavirus host range expansion and Middle East respiratory syndrome coronavirus emergence: biochemical mechanisms and evolutionary perspectives. *Annu. Rev. Virol.* 2015;2(1):95–117.
3. Banik GR, Khandaker G, Rashid H. Middle East respiratory syndrome coronavirus ‘MERS-CoV’: current knowledge gaps. *Paediatr. Respir. Rev.* 2015;16(3):197–202.
4. Chan JFW, Lau SKP, To KKW, Cheng VCC, Woo PCY, Yuen K-Y. Middle East respiratory syndrome coronavirus: another zoonotic betacoronavirus causing SARS-like disease. *Clin. Microbiol. Rev.* 2015;28(2):465–522.
5. Hilgenfeld R, Peiris M. From SARS to MERS: 10 years of research on highly pathogenic human coronaviruses. *Antiviral. Res.* 2013;100(1):286–295.
6. Drosten C, Günther S, Preiser W, et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N. Engl. J. Med.* 2003;348(20):1967–1976.
7. Rota PA, Oberste MS, Monroe SS, et al. Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *Science.* 2003; 300(5624):1394–1399.
8. Kuiken T, Fouchier RAM, Schutten M, et al. Newly discovered coronavirus as the primary cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet.* 2003; 362(9380):263–270.
9. Drosten C, Preiser W, Günther S, Schmitz H, Doerr HW. Severe acute respiratory syndrome: identification of the etiological agent. *Trends. Mol. Med.* 2003; 9(8):325–327.
10. Alshafi AJ, Cheng AC. The epidemiology of Middle East respiratory syndrome coronavirus in the Kingdom of Saudi Arabia, 2012–2015. *Int. J. Infect. Dis.* 2016; 45:1–4.
11. Drexler JF, Corman VM, Drosten C. Ecology evolution and classification of bat coronaviruses in the aftermath of SARS. *Antiviral. Res.* 2014; 101(C):45–56.
12. Milne-Price S, Miazgowicz KL, Munster VJ. The emergence of the Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Pathog. Dis.* 2014;71(2):121–136.
13. Weber DJ, Rutala WA, Fischer WA, Kanamori H, Sickbert-Bennett EE. Emerging infectious diseases: focus on infection control issues for novel coronaviruses (severe acute respiratory syndrome-CoV and Middle East respiratory syndrome-CoV), hemorrhagic fever viruses (Lassa and Ebola), and highly pathogenic avian influenza viruses, A(H5N1) and A(H7N9) *Am. J. Infect. Control.* 2016; 44(Suppl. 5):e91–e100.

14. Drosten C. Is MERS another SARS? *Lancet Infect. Dis.* 2013;13(9):727–728.
15. Berger A, Drosten C, Doerr HW, Stürmer M, Preiser W. Severe acute respiratory syndrome (SARS) – paradigm of an emerging viral infection. *J. Clin. Virol.* 2004; 29(1):13–22.
16. Yang X-L, Hu B, Wang B, et al. Isolation and characterization of a novel bat coronavirus closely related to the direct progenitor of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J. Virol.* 2016; 90(6):3253–3256.
17. Guan Y, Drosten C. ScienceDirect editorial overview: emerging viruses: interspecies transmission. *Curr. Opin. Virol.* 2016;16:v–vi.
18. Yount BL, Debbink K, Agnihothram S, et al. A SARS-like cluster of circulating bat coronaviruses shows potential for human emergence. *Nat. Med.* 2015; 21(12):1508–1513.
19. Pfefferle S, Oppong S, Drexler JF, et al. Distant relatives of severe acute respiratory syndrome coronavirus and close relatives of human coronavirus 229E in bats, Ghana. *Emerging Infect. Dis.* 2009; 15(9):1377–1384.
20. Corman VM, Kallies R, Philipps H, et al. Characterization of a novel betacoronavirus related to Middle East respiratory syndrome coronavirus in European hedgehogs. *J. Virol.* 2014; 88(1):717–724.
21. Yadam S, Bihler E, Balaan M. Acute respiratory distress syndrome. *Crit. Care. Nurs. Q.* 2016;39(2):190–195.
22. Sweeney RM, McAuley DF. Acute respiratory distress syndrome. *Lancet.* 2016 Epub ahead of print.
23. Mackay A, Al-Haddad M. Acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Contin. Educ. Anaesth. Crit. Care. Pain.* 2009;9(5):152–156.
24. Medzhitov R, Schneider DS, Soares MP. Disease tolerance as a defense strategy. *Science.* 2012; 335(6071):936–941.
25. Ayres JS, Schneider DS. Tolerance of infections. *Annu. Rev. Immunol.* 2012; 30:271–294.
26. Herold S, Mayer K, Lohmeyer J. Acute lung injury: how macrophages orchestrate resolution of inflammation and tissue repair. *Front. Immunol.* 2011; 2:65.
27. Darrell Ricke, Robert W. Malone. Medical Countermeasures Analysis of 2019-nCoV and Vaccine Risks for Antibody-Dependent Enhancement (ADE) // SSRN Electronic Journal. — 2020. — ISSN1556-5068. — doi:10.2139/ssrn.3546070.
28. Ватутин Н. Т., Ещенко Е. В. Лимфопения: основные причины развития // Архивъ внутренней медицины. — 2016. — № 2(28). — С. 22-27.

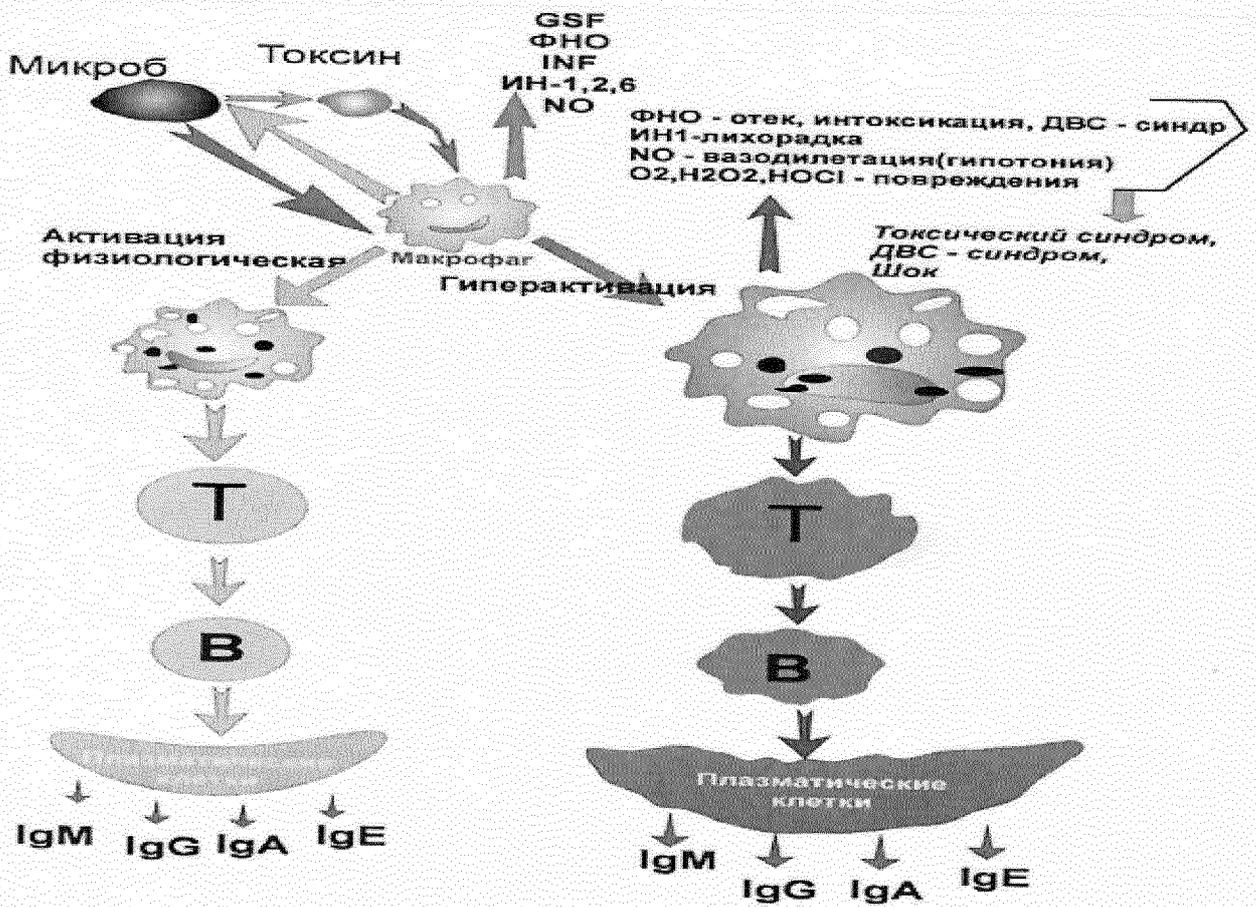
29. Jiang Gu, Clive R. Taylor. Acute Immunodeficiency, Multiple Organ Injury, and the Pathogenesis of SARS // *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. — 2003-12. — С. 281—282. — ISSN 1541-2016. — doi:10.1097/00129039-200312000-00001.
30. Jiang Gu, Clive R. Taylor. Acute Immunodeficiency, Multiple Organ Injury, and the Pathogenesis of SARS // *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. — 2003-12. — С. 281—282. — ISSN 1541-2016. — doi:10.1097/00129039-200312000-00001.
31. Патент Великобритании №0361831, опубликован 04.04.90, МКИ<sup>4</sup> А61К 31/70.
32. Патент Великобритании №0366287, опубликован 02.05.90, МКИ<sup>4</sup> А61К 31/70.
33. Патент Японии, №1-55250, 22.11.89 г., МКИ<sup>4</sup> А61К 31/70/c07H.
34. Патент Франции, №2-12933, 30.03.90, А61К 37/66.
35. «Изучение комбинированного действия ремантадина и рибавирина на экспериментальную гриппозную инфекцию» // *Вопр. Вирусол.*- 1981.- №6. - С.697-701.
36. Исследование комбинированного действия ремантадина и рибавирина на репродукцию вируса Синдбис в культуре клеток // *Вопр. Вирусол.*- 1980.- №5. - С.608-611.
37. Комбинированное использование противовирусных препаратов // *Вопр. Вирусол.*- 1984.- №6. - С.644-656.
38. Абидов М.Т. Токсический синдром, патогенез и методы коррекции. Материалы к докторской диссертации. 1994 г.
39. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, под ред. Абидова М.Т., М., 2000 г.
40. Сообщение Н.Филатова на совещании с В.Путиным по вопросу о санитарно-эпидемиологической обстановке в РФ, 21.04.2020, <https://www.vshouz.ru/news/pravitelstvo/10058/>

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

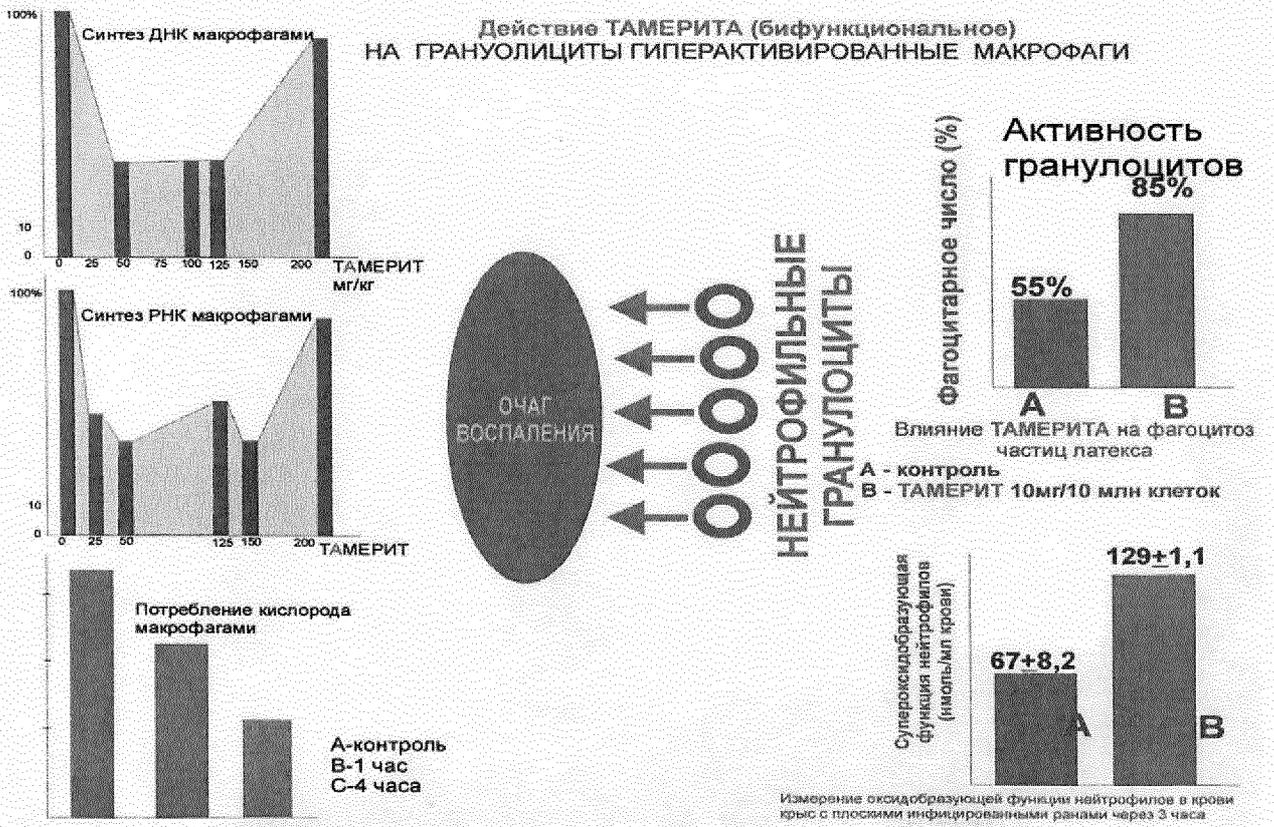
1. Вакцина для защиты от коронавирусной инфекции, отличающаяся тем, что содержит в качестве адъюванта препарат Тамерит в эффективном количестве, а также фармацевтически приемлемые носители и/или разбавители.
2. Способ защиты от коронавирусной инфекции, отличающийся тем, что применяют препараты, содержащие в качестве действующего вещества соли дериватов аминоталгидразида, в виде дигидрата, моногидрата, ангидрата, в любой кристаллической форме, в том числе препарат Тамерит, в дозе от 0,01 до 4000 мг/кг нуждающемуся субъекту.
3. Способ защиты от коронавирусной инфекции, отличающийся тем, что для повышения клинической и лабораторной эффективности, достигаемой противовирусными средствами азолазинового ряда (Триазавирин<sup>®</sup>, Мактавирин<sup>®</sup>), или противомаларийными средствами, или препаратами интерферона, в сочетании с указанными препаратами применяют препараты, содержащие в качестве действующего вещества соли дериватов аминоталгидразида, в виде дигидрата, моногидрата, ангидрата, в любой кристаллической форме, в том числе препарат Тамерит, в дозе от 0,01 до 4000 мг/кг нуждающемуся субъекту.

## Фигуры

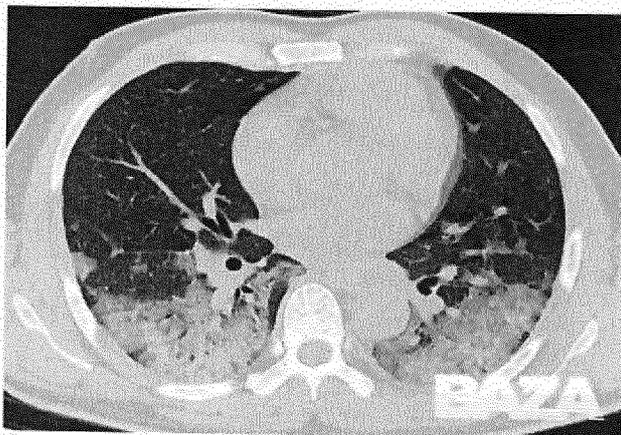
Фиг.1 Роль макрофагов в развитии инфекционного воспаления



Фиг.2 Бифункциональный эффект препарата на макрофаги и нейтрофильные гранулоциты



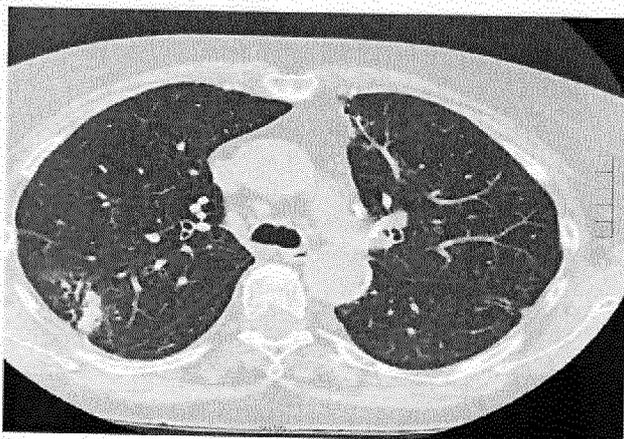
Фиг.3а



Очаги инфильтрации по типу «матового стекла» в периферических задних отделах обоих лёгких.

До лечения препаратом Тамерит (данные больного Е.Н.).

Фиг.3б



После лечения с использованием препарата Тамерит. Очагов инфильтрации нет, остаточные явления патологического процесса (данные больного Е.Н.).