

УДК 577.113.3 : 577.15 : 615.281.8

Фавипиравир и его структурные аналоги: антивирусная активность, способы синтеза

И. Д. Константинова^{1*}, В. Л. Андропова^{1,2}, И. В. Фатеев¹, Р. С. Есипов¹¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, 117997 Россия²Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Министерства здравоохранения России, Москва, 123098 Россия

*E-mail: kid1968@yandex.ru

Поступила в редакцию 08.12.2021

Принята к печати 27.04.2022

DOI: 10.32607/actanaturae.11652

РЕФЕРАТ Противовирусные соединения на основе 1,4-пиазин-3-карбоксамидов активно изучаются последние 20 лет. Одно из соединений этого класса – фавипиравир (6-фтор-3-гидроксипиазин-2-карбоксамид, T-705) – в ряде стран разрешен к применению против гриппозной инфекции. В настоящее время фавипиравир используют в качестве средства против COVID-19. В обзоре описаны метаболизм фавипиравира *in vivo*, механизм его противовирусного действия, результаты клинического изучения, токсические свойства, химические подходы к его получению. Приведены данные о синтезе и противовирусной активности структурных аналогов фавипиравира, в том числе нуклеозидов и нуклеотидов на их основе.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА 6-фтор-3-гидроксипиазин-2-карбоксамид, фавипиравир, пиазин-2-карбоксамид, грипп, SARS-CoV-2.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ БОЕ – бляшкообразующая единица; ГТФ – гуанозин-5'-трифосфат; ТЦИД₅₀ – 50% тканевая цитопатическая инфекционная доза; ИВЛ – искусственная вентиляция легких; КТ – компьютерная томография; АРРТ – аденин-фосфорибозилтрансфераза; Vz – бензоильная защитная группа; СНІKV – вирус Чикунгунья; СС₅₀ – 50% цитотоксическая концентрация; DCI – дицианоимидазол; DENV – вирус денге; EBOV – вирус Эбола; ЕС₅₀ – 50% ингибирующая концентрация; HCV – вирус гепатита С; HEK293 – клеточная линия, полученная из эмбриональных почек человека; HGPRT – гипоксантингуанин-фосфорибозилтрансфераза; HPRT – гипоксантин-фосфорибозилтрансфераза; HGXPRT – гипоксантингуанинксантин-фосфорибозилтрансфераза; HMDS – гексаметилдисилазан; MDCK – линии клеток почки собаки Madin-Darby; NCS – N-хлорсукцинимид; NMNAT – никотинамидмононуклеотид-аденилтрансфераза; PNP – пури-нуклеозидфосфорилаза; PRPP – 5-фосфорибозил-1-альфа-пирофосфат; RdRp – РНК-зависимая РНК-полимераза; RDP – рибозо-5'-пирофосфат; RMP – рибозо-5'-монофосфат; RTP – рибозо-5'-трифосфат; SARS – тяжелый острый респираторный синдром; SI – индекс селективности (СС₅₀/ЕС₅₀); SOC – стандарт терапии; T-1105 – 3-гидроксипиазин-2-карбоксамид; T-1106 – 3-оксо-4-(β-D-рибофуранозил)-2-пиазинкарбоксамид; T-705 – 6-фтор-3-гидроксипиазин-2-карбоксамид; TSA – *n*-толуолсульфонамид; YFV – вирус желтой лихорадки.

ВВЕДЕНИЕ

Инфекционные заболевания, вызванные как новыми ранее не известными вирусами, так и периодически возвращающимися известными вирусами, в том числе новыми их вариантами, являются одной из главных причин высокой смертности, массовых эпидемий и пандемий. Ежегодно регистрируется появление трех-четырёх ранее неизвестных вирусов, опасных для человека [1]. Из-за свободного перемещения людей повышается опасность быстрого рас-

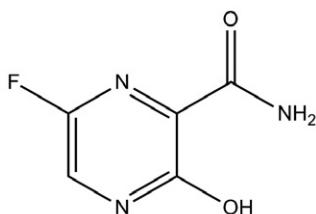
пространения вирусной инфекции среди населения. Кроме того, вирусы, опасные для человека, могут переноситься насекомыми или грызунами, прибывающими вместе с товарами. Кроме того, постоянно растущее взаимодействие человека с природой периодически приводит к появлению заболеваний, вызванных зоонозными вирусами, способными инфицировать человека, т.е. преодолевать видовой барьер, или новыми вариантами зоонозных вирусов, приобретших в результате генетической измен-

чивости способность заражать человека. К таким вирусам относятся вирус иммунодефицита человека, вирус гриппа (H1N1), высокопатогенный вирус птичьего гриппа (H5N1), вирус Хендра (ХеВ), вирусы Зика, денге и желтой лихорадки, вирус Эбола (EBOV), SARS-CoV-1 (вирус тяжелого острого респираторного синдрома) [2] и SARS-CoV-2 (COVID-19) [3]. Вирусы, которые могут не только инфицировать, но и эффективно передаваться от человека к человеку, способны вызывать серьезные вспышки заболеваний и/или эпидемии / пандемии [1].

Очевидно, что для борьбы с новыми и устойчивыми формами уже известных вирусных инфекций необходимо разрабатывать безопасные и высоко-селективные противовирусные соединения широкого спектра действия. С этой точки зрения особый интерес представляют синтетические аналоги природных нуклеозидов и нуклеотидов, поскольку они достаточно давно применяются для диагностики и лечения различных инфекционных заболеваний, а также обладают широкими биологическими и фармацевтическими возможностями [4, 5].

Фавипиравир (6-фтор-3-гидроксипирозин-2-карбоксамид, или Т-705) (**1**) (рис. 1) является синтетическим аналогом 1,4-пирозин-3-карбоксамид. Его активность против вируса гриппа А/PR/8/34(H1N1) обнаружена в исследовательской лаборатории Toyama Chemical Co., Ltd [6].

В дальнейшем было установлено, что фавипиравир проявляет селективную активность в отношении широкого круга неродственных РНК-содержащих вирусов, включая социально значимые и особо опасные, в том числе ортомиксовирусы (вирусы гриппа А, В и С), флавивирусы (вирусы желтой лихорадки, Западного Нила, Зика), тогавирусы (вирусы Восточного, Западного, Венесуэльского энцефалитов лошадей, Чикунгунья), аренавирусы (вирусы лихорадки Ласса, Хунин), филовирусы (вирус Эбола), парамиксовирусы (респираторно-синцитиальный вирус и метапневмовирус человека), рабдо-



1

Рис. 1. Химическая структура фавипиравира (Т-705, 6-фтор-3-гидроксипирозин-2-карбоксамид)

вирусы (вирус бешенства) и другие, но не активен против ДНК-вирусов [7–10].

ПРОТИВОГРИППОЗНОЕ ДЕЙСТВИЕ ФАВИПИРАВИРА

Фавипиравир – эффективный ингибитор репродукции вирусов гриппа человека типов А, В и С, проявляет активность против штаммов, резистентных ко всем имеющим практическое значение противовирусным препаратам – ингибиторам нейраминидазы – осельтамивиру, занамивиру, ланинамивиру, пирамивиру; ингибиторам белка М2 – амантадину и ремантадину со значением минимальной эффективной концентрации (EC_{50}) в диапазоне от 0.014 до 0.55 мкг/мл [11–13], а также против вирусов свиней А/Н2N2, А/Н4N2, высокопатогенных вирусов птиц А/Н5N1 и новых вирусов А/Н7N9. Токсическое воздействие фавипиравира на культуру клеток MDCK незначительно, а показатель CC_{50} не был достигнут даже при его использовании в концентрации 2000 мкг/мл, что говорит о способности соединения высокоселективно ингибировать репликацию вирусов гриппа [12–15].

Высокая активность фавипиравира *in vivo* подтверждена на модели летальной гриппозной инфекции у мышей, которым препарат вводили перорально (табл. 1). Показано, что введение фавипиравира животным, инфицированным вирусом гриппа типа А, обеспечивает дозозависимое снижение титра вируса в легких и смертности животных. Терапевтическая эффективность фавипиравира варьирует в зависимости от подтипа и штамма вируса гриппа.

Важно, что защитный эффект фавипиравира не зависит от чувствительности вируса к осельтамивиру [14]. Потенцирующий эффект взаимодействия фавипиравира и осельтамивира показан на мышках, инфицированных подтипами вируса А/Н1N, А/Н3N2 и А/Н5N1 [16, 17]. Кроме того, что комбинация фавипиравира и осельтамивира эффективна также против инфекции, вызванной высокорезистентным к осельтамивиру штаммом вируса гриппа А/Mississippi/03/2001 (H1N1) H274Y. В этом случае осельтамивир оказался не эффективным даже при использовании в дозе 100 мг/кг/день (введение 2 раза в день в течение 5 дней). При одновременном введении осельтамивира (50 мг/кг/день) и фавипиравира (12.5 мг/кг/день) в дозах, которые по отдельности не вызывали защитного эффекта (100% смертность), выживали все животные [18].

Показан также усиливающий эффект фавипиравира и другого ингибитора нейраминидазы вируса гриппа – пирамивира, в опытах на мышках, инфицированных пандемическим вирусом гриппа А/California/04/2009 (H1N1) [19].

Таблица 1. *In vivo* активность фавипиравира против некоторых штаммов вируса гриппа при пероральном введении

Штамм вируса гриппа	Активность
A/Victoria/3/75 (H3N2)	Введение фавипиравира (30 и 100 мг/кг/день, 4 раза в день в течение 5 дней) обеспечивает 70 и 100% выживаемость мышей (при 100% гибели животных в контрольной группе). Вирусная нагрузка в легких мышей через сутки после начала лечения (100 мг/кг/день 4 раза в день) снижается более чем на 1 lg ТЦИД ₅₀ /г. В группе, получавшей осельтамивир (20 мг/кг/день, 2 раза в день в течение 5 дней), выживаемость составила 50%, а снижение титра вируса в легких – 0.1–0.2 lg [11]
A/Duck/MN/1525/81(H5N1)	В условиях 100% гибели в контрольной группе введение фавипиравира (30 мг/кг/день, 4 раза в день в течение 5 дней) обеспечивает 100% выживаемость мышей, а осельтамивира (20 мг/кг/день, 2 раза в день в течение 5 дней) – 20% выживаемость мышей. 100% защитный эффект фавипиравира в дозе 300 мг/кг/день полностью сохраняется при отсрочке начала лечения на 36 ч и снижается до 90% при отсрочке на 48–72 ч [11]
A/ PR/8/34 (H1N1)	Повышение выживаемости мышей с 21.4 до 87.5% по сравнению с контрольной не леченной группой, снижение титра вируса в легких на 3 lg БОЕ/легкое (100 мг/кг/день по схеме 4 раза в день в течение 5 дней); предотвращение гибели мышей достигалось при увеличении разовой дозы (200 мг/кг/день), у 80% мышей титры вируса в легких были ниже предела обнаружения [6]
A/Vietnam/UT3040/04 (VN3040) (H5N1) высокопатогенный для мышей	Смертность в контрольной группе – 100%. Введение фавипиравира (300 мг/кг/день, 2 раза в день) обеспечивало 50 и 100% выживаемость при 5- и 8-дневном курсе соответственно. При 8-дневном курсе инфекция протекала бессимптомно, а эффективность защиты животных сохранялась даже при отложенном на 72 ч первом введении препарата. При снижении дозы фавипиравира до 100 мг/кг/день (8-дневный курс) выживаемость животных снижалась до 90%, а при отложенном старте на 48 и 72 ч – до 60 и 25%. При введении фавипиравира купируется развитие трахеита и бронхита, дозозависимым образом снижается выработка провоспалительных цитокинов и площадь пораженных участков легких, существенно снижается инфекционный титр вируса в легких и мозге [14]
VN1203-H274Y – высокопатогенный для мышей вариант вируса A/Vietnam/UT3040/04 (VN3040), резистентный к осельтамивиру	Введение фавипиравира мышам (100 и 300 мг/кг/день 2 раза в день) в течение 8 дней обеспечивало выживаемость 50 и 100% животных соответственно, при 100% гибели животных в контроле [14]

МЕХАНИЗМ АНТИВИРУСНОГО ДЕЙСТВИЯ ФАВИПИРАВИРА

Механизм действия фавипиравира досконально изучен на примере вируса гриппа. Так показано, что действие фавипиравира направлено на РНК-зависимую РНК-полимеразу (RNA-dependent RNA polymerase, RdRp) вируса гриппа типа А, компонентами которой являются кодируемые вирусом белки PB1, PB2, PA. Биологической активностью обладает метаболит фавипиравира – фавипиравир-4-рибофуранозил-5'-трифосфат (Т-705-RTP). Во внутриклеточной трансформации фавипиравира с образованием активного метаболита участвуют только клеточные ферменты. Фавипиравир сначала превращается HGPRT в рибозо-5'-монофосфат (Т-705-RMP), а затем клеточными киназами метаболизируется до трифосфатной формы [20, 21]. Т-705-RTP распознается вирусной RdRp, эффективно конкурируя с природными субстратами GTP и в меньшей степени АТФ, и включается в растущую цепь РНК [11, 14, 22], а также ингибирует активность RdRp, что приводит к тоталь-

ной супрессии вирусспецифического синтеза РНК (транскрипции и репликации вирусного генома). Схема метаболических превращений фавипиравира приведена на рис. 2 [20]. Важно подчеркнуть, что на синтез ДНК и клеточных РНК фавипиравир не оказывает существенного влияния, что объясняется отсутствием супрессирующего эффекта Т-705 в отношении клеточных ДНК-полимераз (α , β и γ) и ДНК-зависимой РНК-полимеразы II [11].

До недавнего времени было опубликовано только два сообщения о небольшом снижении противовирусного действия Т-705 в отношении вирусов гриппа А/Н3N2 и А/Н5N1 (в 1.8 и 1.5 раза) с мутацией V43I в полимеразной субъединице PB1 (одного из белков, формирующих рибонуклеопротеин) [23, 24].

Goldhill D. и соавт. удалось получить вариант вируса гриппа А/Н1N1, глубоко резистентного к фавипиравиму (чувствительность вируса снижена в 30 раз) [25]. Снижение чувствительности обусловлено комбинацией двух мутаций в RdRp – K229R в субъединице PB1 и P653L в PA. Замена K229R вызывает резистентность к фавипиравиму, но кри-

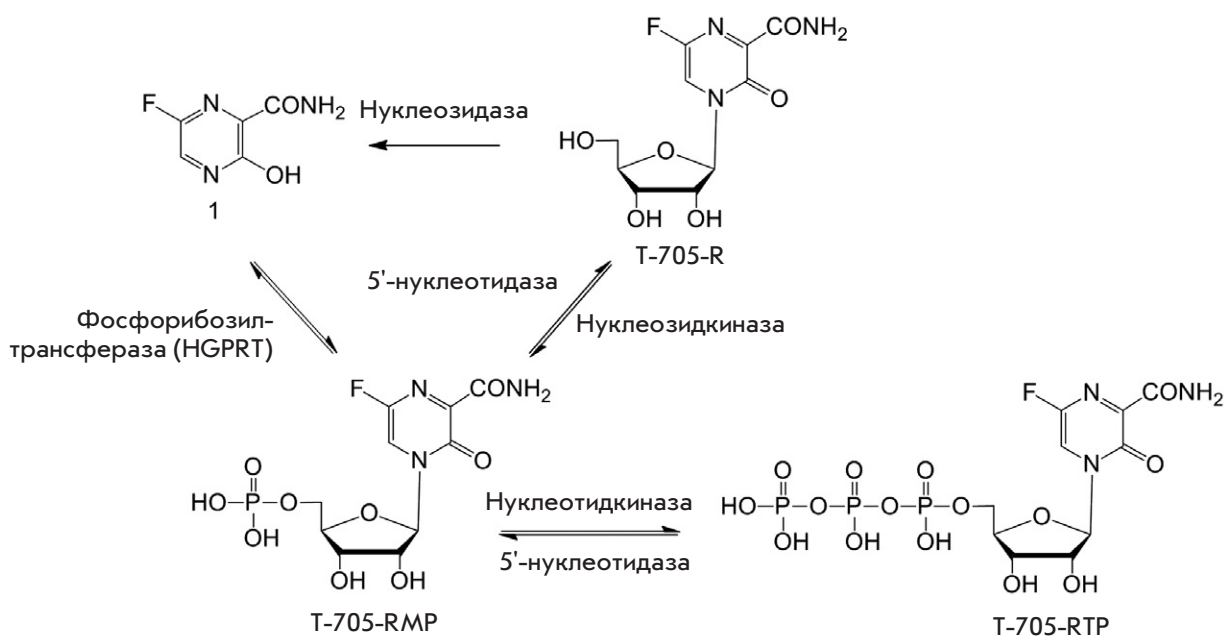


Рис. 2. Схема образования активной формы фавипиравира

тически (в 30 раз) снижает активность RdRp и эффективность репродукции вируса. Замена P653L в субъединице PA носит компенсаторный характер и восстанавливает полимеразную активность, ассоциированную с PB1, без снижения уровня резистентности и нормализует кинетику репродукции мутантного варианта вируса. Роль комбинации мутаций K229R + P653L в формировании резистентности к фавипиравиру подтверждена еще на двух подтипах вируса гриппа А (H3N2 и H7N9). Интересно, что при введении замены K229R в PB1 или комбинации замен PB1/K229R+PA/P653L мутагенный эффект фавипиравира снижается, т.е. повышается точность воспроизведения вирусного генома RdRp: продуцируемая РНК содержит существенно меньше мутаций даже в присутствии Т-705 в высокой концентрации 100 мкМ по сравнению с RdRp дикого типа, также снижается включение Т-705 в растущую вирусную РНК во время репликации *in vitro* [25].

Противовирусное действие фавипиравира против большого числа РНК-вирусов частично можно объяснить его способностью после превращения в Т-705-RTP встраиваться в синтезируемую вирусную РНК и связываться с консервативными доменами RdRp, тем самым ингибируя процесс репликации вируса. Так, при использовании других вирусных моделей с РНК-позитивным геномом получены варианты вирусов, резистентные к фавипиравиру, и установлен молекулярный механизм лекарственной резистентности. Ключевая мутация

K291R у вируса Чикунгунья (тогавирус) локализовалась в nsP4 (RdRp) и, как мутация K229R вируса гриппа, находилась в высококонсервативном мотиве F nsP4, обладающего активностью РНК-полимеразы [26]. Подобная мутация K159R в мотиве F в 3D (RdRp) вируса Коксаки В3 (пикорнавирус), полученная генно-инженерным способом, фатально снизила активность очищенной вирусной RdRp и оказалась летальной. Как и в случае вируса гриппа, для восстановления жизнеспособности соответствующего мутантного вируса потребовалась компенсаторная мутация A239G в RdRp [27].

С другой стороны, ряд исследователей считает, что для прекращения элонгации РНК необходимо по меньшей мере два последовательных включения Т-705-RMP. Следовательно, при высоких концентрациях фавипиравира основным механизмом ингибирования репродукции вируса может быть терминация синтеза РНК, тогда как при низких концентрациях соединения – способность индуцировать летальный мутагенез [28]. Это было показано в опытах с вирусами гриппа типа А (H1N1) [17, 29], гепатита С [30], Западного Нила [31], денге [32] и Эбола [33].

Механизм летального мутагенеза объясняется концепцией пороговой ошибки, в соответствии с которой превышение порогового значения количества мутаций в процессе репликации генома равносильно потере наследственной информации [34]. Большинство РНК-содержащих вирусов характеризуется высокой скоростью возникновения

мутаций из-за отсутствия механизма, корректирующего ошибки в процессе репликации вирусного генома [35]. Гипермутабельность способствует быстрой адаптации вирусов к тем или иным неблагоприятным изменениям окружающей среды, например, позволяет быстро развивать устойчивость к противовирусным препаратам. Однако в присутствии гипермутатора в процессе копирования вирусного генома скорость мутагенеза превышает пороговый уровень, синтезируются дефектные геномы, что приводит к образованию нежизнеспособных вирусных частиц. Фенотипически это выражается в значительном снижении инфекционности новой генерации вируса (отношения титра инфекционных вирусных частиц к числу копий вирусного генома) [36].

Так, в опытах *in vitro* установлено, что в присутствии фавипиравира снижение количества инфекционных частиц вируса гриппа А/Н1N1 не коррелирует с уменьшением количества копий РНК (вирусных геномов), что указывает на сохранение активности транскрипционного комплекса и увеличение содержания (%) дефектных вирусных частиц в популяции. Анализ последовательности гена *NP* показал дозозависимое увеличение частоты мутаций, главным образом транзиций (G→A и C→U), и сдвиг нуклеотидных профилей отдельных клонов [29]. Явление гипервариабельности вируса гриппа А/Н5N1 наблюдали также в опытах *in vivo* при инфекции у мышей, получавших фавипиравир, по сравнению с контрольной группой и мышами, лечеными осельтамивиром [17].

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФАВИПИРАВИРА ПРОТИВ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ SARS-CoV-2

В 2014 г. под торговым названием Авиган® фавипиравир был разрешен в Японии для лечения новых или возвращающихся пандемических инфекций вируса гриппа, хотя его использование должно ограничиваться случаями, когда лицензированные противогриппозные препараты неэффективны или недостаточно эффективны (<http://www.toyama-chemical.co.jp/eng/news/news140324e.html>) [37].

После вспышки в Китае в конце декабря 2019 г. эпидемии, вызванной новым типом коронавируса SARS-CoV-2, и ее быстрого распространения по всему миру в качестве возможных терапевтических средств для лечения пациентов с COVID-19 были протестированы десятки известных фармпрепаратов, обладающих антивирусным действием [38–40], в том числе и фавипиравир [3, 41].

In vitro SARS-CoV-2 оказался существенно менее чувствительным к фавипиравису, чем вирус гриппа. Активность фавипиравира против клинического

изолята nCoV-2019BetaCoV/Wuhan/WIV04/2019 проявлялась при его использовании в концентрации 61.88 мкМ (EC_{50}), максимальная исследованная концентрация 400 мкМ была нетоксичной для культуры клеток Vero E6 ($CC_{50} > 400$ мкМ, индекс селективности $SI > 6.46$) [42]. В другом исследовании фавипиравир оказался неэффективным против клинического изолята SARS-CoV-2, BetaCoV/HongKong/VM20001061/2020, даже при использовании в концентрации 100 мкМ [43].

Важно, что изучение влияния фавипиравира на животных в дозах, эквивалентных предлагаемым схемам лечения людей, выявило эмбриотоксичность препарата: у крыс наблюдалась гибель плода на ранних стадиях эмбриогенеза, а также снижение массы тела живого плода и количества живых плодов, снижение выживаемости помета через 4 дня после рождения и снижение прироста массы тела. Кроме того, фавипиравир проявил тератогенность в опытах на мышах, крысах, кроликах и обезьянах [3]. Учитывая высокий риск тератогенности и эмбриотоксичности фавипиравира, ни одно клиническое исследование на людях не включало беременных или кормящих женщин, а от участников испытаний требовалось исключить незащищенные половые контакты во время проведения испытаний и в течение 90 дней с момента приема последней дозы препарата. Поэтому риски для человека остаются неизвестными, а применение фавипиравира находится под строгим контролем, ограничивающим его использование особенно беременными женщинами [10].

Известно также, что рибозо-5'-трифосфатная форма фавипиравира является субстратом для митохондриальной РНК-полимеразы человека [44]. *In vitro* показано, что включение T-705-RTP в митохондриальную РНК не оказывает токсического действия на митохондрии человека, т.е. не приводит к обрыву цепи или ингибированию активности ДНК-зависимой РНК-полимеразы. Тем не менее, необходимо с осторожностью применять фавипиравир, поскольку возможно его опосредованное токсическое воздействие на митохондрии [44].

На сайте Clinicaltrials.gov по состоянию на 27 ноября 2020 г. [Accessed 2021 Nov 27 Available at <http://www.clinicaltrials.gov>] зарегистрировано 47 клинических исследований эффективности фавипиравира в качестве средства для лечения COVID-19 (из которых 17 завершены). В протоколах испытаний фавипиравира при COVID-19 у взрослых обычно указывается следующая дозировка: в 1-й день ударная доза 1600 или 1800 мг 2 раза в день, затем поддерживающая суточная доза – 1200–2000 мг в 2, 3 или 4 приема в течение следующих 4–13 дней.

Результаты ряда клинических испытаний фавипиравира при COVID-19 указывают на критические факторы, влияющие на исход лечения, такие, как использование ударных доз <45 мг/кг в день, старший возраст, исходная тяжесть заболевания.

Приведем результаты нескольких клинических испытаний, проведенных в Китае и Российской Федерации.

Открытое рандомизированное многоцентровое исследование с участием 236 взрослых с пневмонией COVID-19 в средней, тяжелой или критической форме проведено в Китае (ChiCTR2000030254): 116 пациентов получали фавипиравир (1-й день 1600 мг перорально 2 раза, затем 600 мг перорально 2 раза в день в течение 7–10 дней), а 120 – умифеновир (Арбидол®; 200 мг 3 раза в сутки в течение 7–10 дней). Скорость клинического выздоровления на 7-й день у пациентов с пневмонией COVID-19 средней степени тяжести составила 61% (71/116) в группе фавипиравира против 52% (62/120) в группе умифеновира; у пациентов с тяжелой или критической COVID-19 – 16% против 0% соответственно. В группе фавипиравира быстрее достигалось снижение температуры и прекращение кашля [45].

С 30 января по 14 февраля 2020 г. в Третьей народной больнице Шэньчжэня (Шэньчжэнь, Китай) проведено открытое контролируемое исследование эффективности лечения COVID-19 с помощью фавипиравира (зарегистрировано в Китайском реестре клинических испытаний (ID: ChiCTR2000029600) [46]. В исследование были включены пациенты в возрасте от 16 до 75 лет с лабораторно подтвержденным диагнозом коронавирусной инфекции с клиническими проявлениями заболевания не более 7 дней (N = 35). Пациенты, которые изначально получали противовирусную терапию лопинавиром/ритонавиром до 30 января 2020 г., были включены в контрольную группу (N = 45). Все исходные характеристики клинического состояния пациентов в группах были сопоставимыми. Фавипиравир использовали перорально по схеме (1-й день по 1600 мг 2 раза в день; затем со 2-го по 14-й дни – 600 мг 2 раза в день + α -интерферон (5 млн МЕ дважды ежедневно в виде аэрозольной ингаляции)). Пациенты контрольной группы получали лопинавир/ритонавир (14 дней по 400 мг/100 мг 2 раза в день + α -интерферон (5 млн МЕ дважды ежедневно в виде аэрозольной ингаляции)). В группе пациентов, получавших фавипиравир, среднее время клиренса вируса (4 дня) было короче, чем в контрольной группе (11 дней), установлено также значительное улучшение КТ-картины грудной клетки по сравнению с контрольной группой со степенью улучшения 91% по сравнению с 62% в контрольной группе. В этом

исследовании фавипиравир показал лучший терапевтический эффект, оцениваемый по прогрессированию COVID-19 и выведению вируса.

В Российской Федерации при проведении промежуточного пилотного этапа открытого, рандомизированного, многоцентрового клинического исследования фазы II/III сравнительной эффективности препарата «Авифавир» (фавипиравир) и стандартного лечения (SOC) с участием 60 госпитализированных взрослых пациентов (в возрасте 60 лет и старше) с умеренной пневмонией COVID-19 (Россия, NCT04434248) использовали следующие режимы дозирования: фавипиравир перорально по 1600 мг 2 раза в день в 1-й день, затем по 600 мг 2 раза в день на 2–14 дни (группа 1, N = 20) или по 1800 мг дважды в 1-й день, затем по 800 мг 2 раза в день на дни 2–14 (группа 2, N = 20). В группе 3 (SOC, контроль) 15 пациентам вводили гидроксихлорохин или хлорохин, одному – лопинавир/ритонавир, а четыре пациента не получали этиотропного лечения [47]. Вирусологический ответ в группах 1 и 2: фавипиравир обеспечил выведение вируса SARS-CoV-2 в течение 4 дней у 25/40 (63%) пациентов, к 10-му дню у 37/40 (93%) пациентов. Аналогичные показатели в группе 3 (SOC) составили 6/20 (30%) и 16/20 (80%) соответственно. Среднее время до нормализации температуры тела (<37°C) в группах 1 и 2 составило 2 и 4 дня в группе SOC. К 15-му дню результаты КТ грудной клетки улучшились у 90% (36/40) пациентов, получавших фавипиравир, против 80% (16/20) у пациентов, получавших SOC. Неблагоприятные лекарственные реакции на фавипиравир (диарея, тошнота, рвота, боль в груди и повышение уровня печеночных трансаминаз) от легкой до умеренной степени зарегистрированы у 7/40 (18%) пациентов, у 2/40 (5%) пациентов они привели к преждевременному прекращению приема исследуемого препарата. Таким образом, фавипиравир вводили в среднем в течение 10.9 ± 2.8 дней.

С 21 мая по 10 августа 2020 г. в Российской Федерации проведено открытое, рандомизированное, многоцентровое исследование 3-й фазы [48] с целью оценки эффективности и безопасности фавипиравира в виде таблетированной лекарственной формы (Арепливир, ООО «ПРОМОМЕД РУС», Россия) по сравнению со Стандартом медицинской помощи у пациентов, госпитализированных с умеренной пневмонией COVID-19 (Идентификатор ClinicalTrials.gov: NCT04542694). Исследования проводили в четырех медицинских учреждениях: Государственная клиническая больница № 50 (г. Москва), Областная клиническая больница (г. Рязань), Городская больница № 40 Курортного района (г. Санкт-Петербург), Смоленская клиническая больница № 1 (г. Смоленск).

Двести пациентов в возрасте от 18 до 80 лет с установленным диагнозом «коронавирусная инфекция, вызванная SARS-CoV-2, средней степени тяжести» рандомизированы в соотношении 1:1. Пациенты группы 1 в 1-й день терапии дважды получили по 1600 мг фавипиравира (восемь таблеток одновременно, всего 16 таблеток за сутки), а затем со 2-го по 14-й день по 600 мг (три таблетки) 2 раза в сутки (шесть таблеток в сутки). Пациенты группы 2 получали стандартную терапию, но не фавипиравир (гидроксихлорохин с азитромицином или без него, хлорохин, лопинавир/ритонавир или другие рекомендуемые схемы). Скорость улучшения клинического статуса пациентов к 10-му дню по категориальной порядковой шкале улучшения клинического статуса ВОЗ составила 27% (группа 1) и 15% (группа 2). Скорость выведения вируса к 10-му дню – процент пациентов с элиминацией COVID-19 по данным ПЦР – составила 98% (группа 1) и 79% (группа 2). Изменение степени повреждения легких по данным КТ (уменьшение объема очага) в сравнении с исходным уровнем – 60% (группа 1) и 40% (группа 2). Смертность в обеих группах – 0%. При проведении лечения в обеих группах (200 пациентов) не возникло необходимости в переводе пациентов в отделение интенсивной терапии, в использовании неинвазивной вентиляции легких или механической вентиляции (ИВЛ).

Несмотря на имеющиеся побочные действия, эффективность и широкий спектр противовирусного действия фавипиравира делают его перспективным противовирусным соединением.

Полученные результаты послужили основанием для получения фавипиравиром одобрения для лечения коронавирусной инфекции (COVID-19) в ряде стран, в том числе в Китае [49] и Индии [50].

В Российской Федерации фавипиравир с 2020 г. используется в качестве этиотропного препарата при коронавирусной инфекции (COVID-19) с легким и среднетяжелым течением [51, 52], он также включен в «Перечень жизненно необходимых и важней-

ших лекарственных препаратов для медицинского применения на 2021 год» [53] (<https://mine-med.ru/archive/p2021p1.pdf>). Выпускается в форме таблеток, покрытых пленочной оболочкой под торговыми названиями АВИФАВИР (ООО «Хромис»), Арепливир (ООО «ПРОМОМЕД РУС»), ФАВИПИРАВИР (АО «АЛИУМ»), КОВИДОЛЕК (ООО «Нанолек»), Фавибирин (АО «Фармасинтез»), КОРОНАВИР (ООО «Технология лекарств») [54]. Кроме того, в 2021 г. первый отечественный препарат для внутривенного введения (Арепливир, ООО «ПРОМОМЕД РУС») получил регистрационное удостоверение Минздрава России [55].

В настоящее время проходят исследования антивирусной активности структурных аналогов фавипиравира. Это особенно важно в тех условиях, когда против многих заболеваний, вызванных РНК-вирусами, нет одобренных противовирусных препаратов или эффективных вакцин, а большая часть мероприятий направлена лишь на поддерживающее лечение заболевших.

СТРУКТУРНЫЕ АНАЛОГИ ФАВИПИРАВИРА, ОБЛАДАЮЩИЕ АНТИВИРУСНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

Среди структурных аналогов фавипиравира можно выделить следующие соединения (рис. 3):

Особый интерес представляют Т-1105 (4) и Т-1106 (5), синтезированные исследовательской лабораторией Toyama Chemical Co., Ltd. Противовирусная активность этих аналогов против вируса гриппа А/PR/8/34(H1N1) обнаружена в 2009 г. при скрининге химической библиотеки соединений *in vitro* [7].

Как и фавипиравир, Т-1105 ингибирует RdRp вируса в виде активной формы нуклеозид-5'-трифосфата (Т-1105-RTP). Известно, что по сравнению с фавипиравиром эффективность активации *in vitro* 3-гидроксипирозин-2-карбоксамид до его рибозо-5'-трифосфатной формы в большей степени зависит от клеточной линии, в которой происходит эта активация. Так Т-1105 показал более высокую противовирусную активность в клетках MDCK

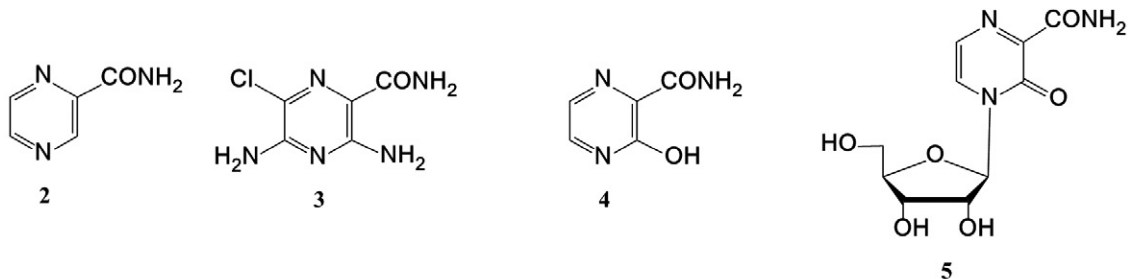


Рис. 3. Некоторые структурные аналоги фавипиравира: 2 – 2-пирозинкарбоксамид; 3 – 3,5-диамино-6-хлор-2-пирозинкарбоксамид; 4 – 3-гидроксипирозин-2-карбоксамид (Т-1105); 5 – 3-оксо-4-(β-D-рибофуранозил)-2-пирозинкарбоксамид (Т-1106)

(уровень T-1105-RTP составил 841 и 1228 пмоль/10⁶ клеток через 24 ч инкубации с 0.5 и 1 мМ T-1105 соответственно). В контрольном опыте на этой клеточной линии при использовании фавипиравира в эквимольных концентрациях 0.5 и 1 мМ уровень T-705-RTP в 4 раза ниже, чем уровень T-1105-RTP. Противовирусная активность T-1105-RTP не обнаружена в клетках A549 и Vero (меньше 50 пмоль/10⁶ клеток), а также в клетках HEK293T (65 и 171 пмоль/10⁶ клеток через 24 ч инкубации с 0.5 и 1 мМ T-1105 соответственно). В трех последних клеточных линиях активацию T-1105 затрудняло неэффективное превращение T-1105-RMP в T-1105-RDP. Данное явление связывают с тем, что наряду с основным метаболическим путем идет параллельная реакция, в ходе которой T-1105-RMP превращается с помощью фермента NMNAT в метаболит T-1105-RAD (рис. 4) [56].

Поскольку T-705-RAD и T-1105-RAD обнаружены во всех описанных выше клеточных линиях, их изучают в качестве аналогов никотинамидадениндинуклеотида (NAD).

Обнаружена активность нефторированного аналога фавипиравира T-1105 против вируса CHIKV *in vitro*. T-1105 оказался селективным ингибитором цитопатогенного эффекта, индуцированного клиническими изолятами CHIKV, а также другими альфавирусами. Противовирусная активность T-1105 была в 2–5 раз выше, чем у фавипиравира. Например, для лабораторного штамма Indian Ocean 899 вируса CHIKV значение EC₅₀ у T-705 составило 25 ± 3 мкмоль/л, а у T-1105 – 7.0 ± 1 мкмоль/л [27].

В опытах с вирусом ящура *in vivo* T-1105 эффективно подавлял клинические признаки заболевания у инфицированных свиней, уменьшал виремию и выделение вируса (пероральная доза: 400 мг/кг/день в течение 6 дней). Также на модели морских свинок сравнивали эффективность 3-гидроксипиразин-2-карбоксамида и профилактической вакцины O₁ Manisa против вируса ящура. Показано, что эффективность профилактической терапии T-1105 (морские свинки, перорально – 400 мг/кг/день в течение 5 дней) сравнима с эффективностью вакцинирования животных [57].

T-1106 оказался эффективнее, чем фавипиравир, против вируса желтой лихорадки (YFV) на модели сирийских хомячков с минимальной эффективной дозой 32 мг/кг/день при внутривенном или пероральном введении. T-1106 не продемонстрировал противовирусное действие в экспериментах по снижению цитопатогенного эффекта, индуцированного вирусом желтой лихорадки в клеточной линии Vero (EC₅₀ больше 100 мкг/мл) и CV-1 (EC₅₀ больше 369 мкмоль/л) [58, 59].

Фавипиравир был более эффективным, чем T-1106, при тестировании препаратов против ряда представителей рода Phlebovirus *in vitro*. В то же время эффективность T-1106 на модели сирийских хомячков, зараженных вирусом PTV, характерной особенностью которого является поражение печени, оказалась в 9.4 раза выше, чем у фавипиравира (на основании определения ED₅₀). На мышинной модели лучшую противовирусную активность показал фавипиравир [60].

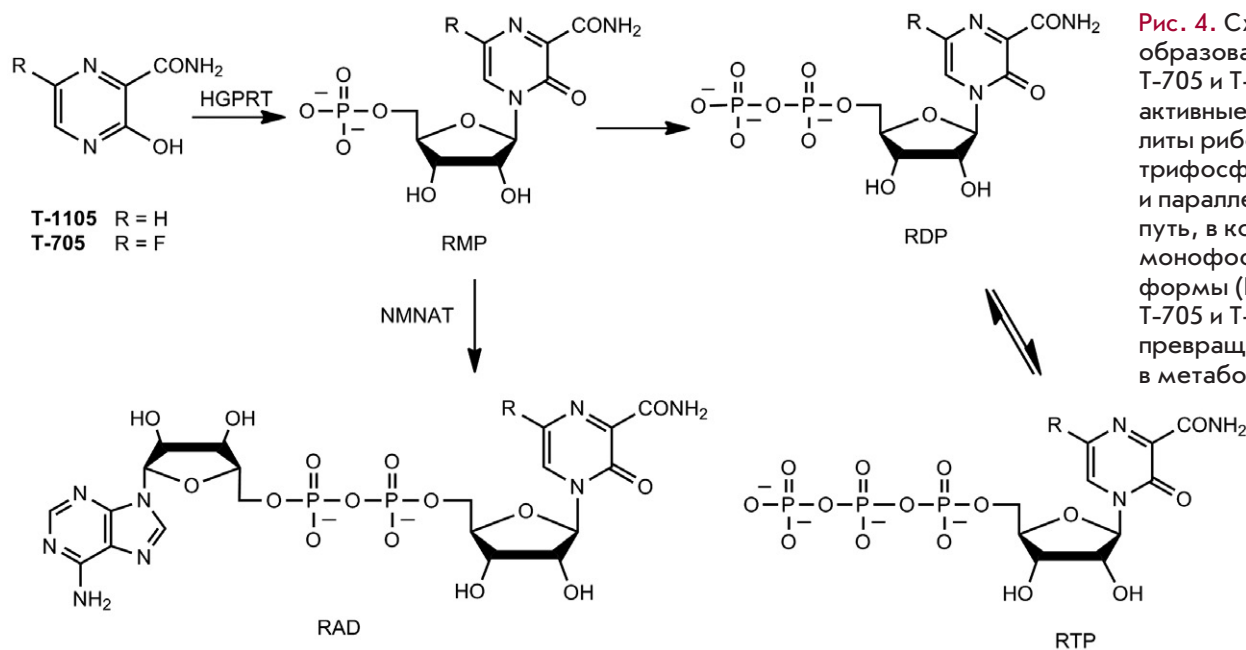


Рис. 4. Схема преобразования T-705 и T-1105 в их активные метаболиты рибозо-5'-трифосфаты (RTP) и параллельный путь, в котором монофосфатные формы (RMP) T-705 и T-1105 превращаются в метаболит RAD

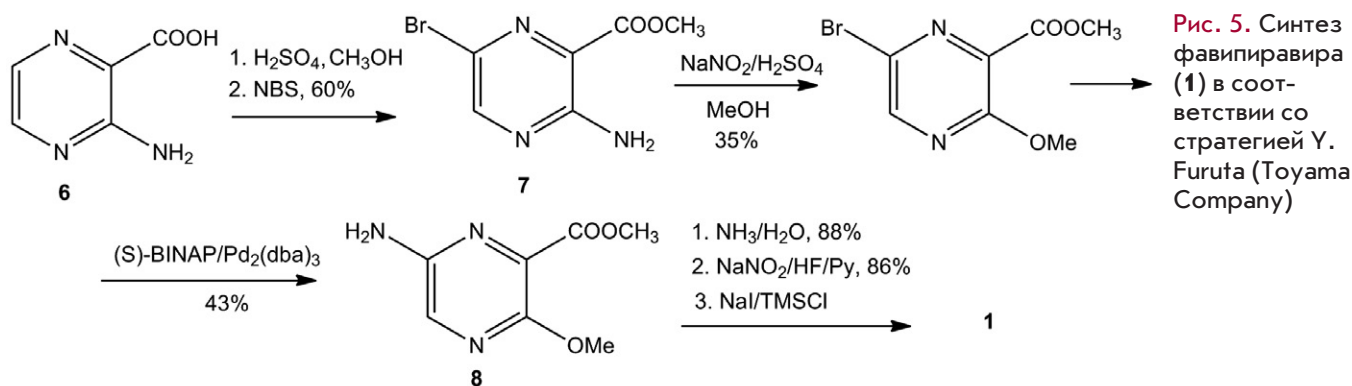


Рис. 5. Синтез фавипиравира (1) в соответствии со стратегией Y. Furuta (Toyama Company)

Проведено сравнение активности T-1105 и нуклеозида T-1106 против DENV *in vitro* [32]. Эффективность T-1105 была в 5 раз выше у фавипиравира ($\text{EC}_{50} 21 \pm 0.7$ мкмоль/л и 110 ± 30 соответственно). Почти во столько же раз она превосходила активность T-1106 ($\text{EC}_{50} 113 \pm 11$ мкмоль/л). Кроме того, и T-1105, и его нуклеозид способны индуцировать летальный мутагенез генома вируса из-за неправильного спаривания оснований при формировании вторичной структуры РНК.

Очевидно, что высокая активность против РНК-вирусов присуща не только фавипиравису, но и его структурным аналогам. В ряде исследований T-1105 и T-1106 показали даже более высокую эффективность по сравнению с фавипирависом как в условиях *in vitro*, так и *in vivo*, что говорит о необходимости их клинического изучения с целью дальнейшего использования в качестве противовирусных препаратов.

СИНТЕЗ ФАВИПИРАВИРА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ

Классические синтетические подходы к получению фавипиравира подробно описаны в трех недавно опубликованных обзорах Y. Titova [61], N. Al Vujug [62] и W. Hu [63].

Первый вариант синтеза фавипиравира запатентован и впоследствии опубликован Y. Furuta и соавт. из Toyama Chemical Company, Ltd. (рис. 5) [64]. Исходную 3-аминопиридин-2-карбоновую кислоту (6) этерифицировали, затем бромировали, получая аминокарбоксилат (7). Образование аминопиридина (8) с использованием дорогого катализатора Pd_2 /дифенилфосфинодинафтила (BINAP) протекало с невысоким выходом 43%. Второй узкий момент этой технологии – использование специфичного реактива Олаха (HF/Py) для введения атома F в положение 6 основания. Совокупный выход фавипиравира не превышал 1%. Эту технологию очень сложно масштабировать.

Другой вариант синтеза фавипиравира предложен тем же коллективом авторов в 2001 г. (рис. 6) [65].

Исходным соединением в синтезе был доступный диэтиловый эфир аминмалоновой кислоты (9), который в две стадии переводили в 3-гидрокси-пиридин-2-карбоксамид (10). Последний в результате последовательных трансформаций функциональных групп превращали в фавипиравир (1). Общий выход продукта составил 17%.

Измененный вариант последнего синтеза фавипиравира разработан компанией Тоуама в содру-

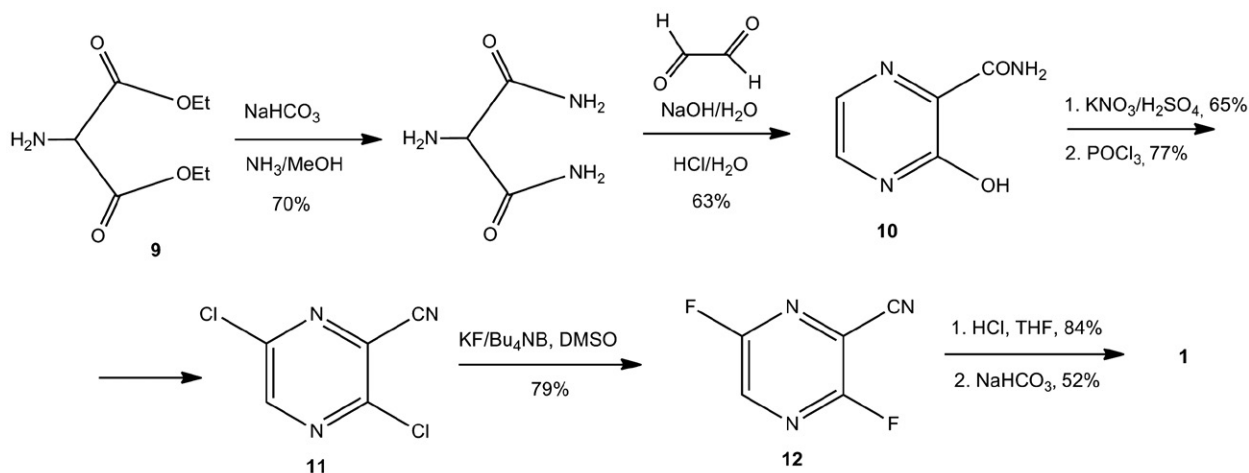


Рис. 6. Усовершенствованный синтез фавипиравира (1) в соответствии со стратегией Y. Furuta (Toyama Company)

Рис. 7. Измененный вариант синтеза фавипиравира (**1**) в соответствии со стратегией Nippon Soda & Toyama Company 2011 г.

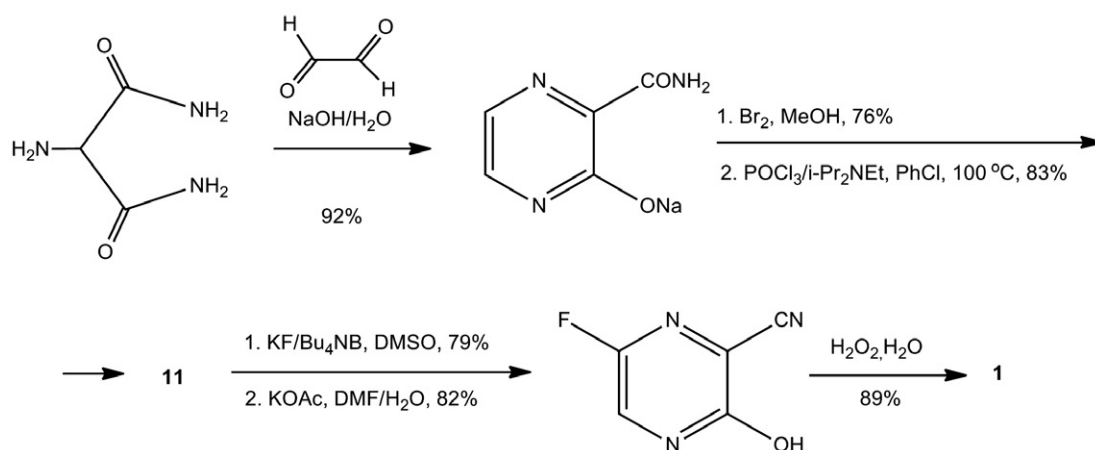


Рис. 8. Синтез фавипиравира (**1**) по методу Liu Feng

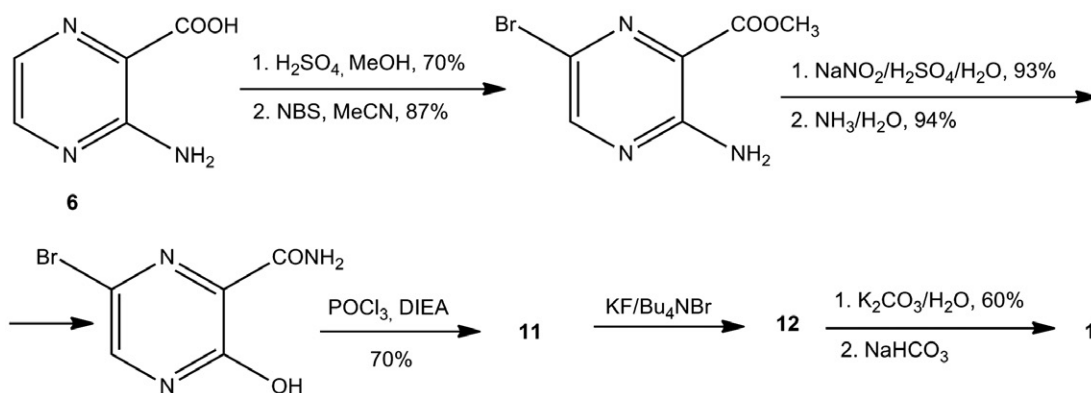
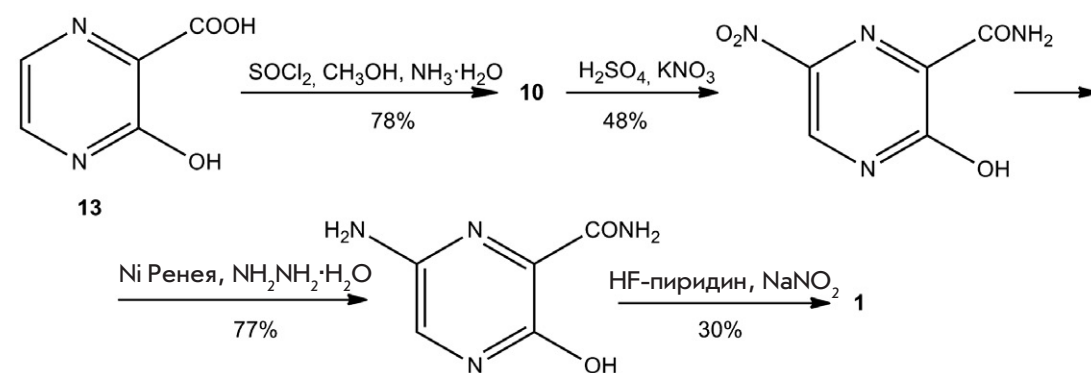


Рис. 9. Синтез 6-фтор-3-гидрокси-пирозин-2-карбоксамида (**1**) по способу Zhang и соавт.



жестве с корпорацией Nippon Soda [66, 67] (рис. 7). Этим способом удалось синтезировать фавипиравир с общим выходом 33%.

Четвертый вариант синтеза фавипиравира предложен Liu Feng и соавт. в 2017 г. [68] (рис. 8). Все промежуточные полупродукты очищали кристаллизацией, последнюю стадию проводили «one pot», фавипиравир (**1**) легко выделяется перекристаллизацией. Однако в синтезе используется большое количество хлорокси фосфора, которая представляет проблему при масштабировании процесса, выступая фактором загрязнения окружающей среды.

Кроме того, 3,6-дихлорпирозин-2-нитрил (**11**) является сильным аллергеном, вызывая раздражение

на коже. Из-за этих факторов технология Liu Feng не была масштабирована до промышленного получения фавипиравира.

Получение фавипиравира может быть осуществлено четырехстадийным способом, предложенным Zhang и соавт., из коммерчески доступной 3-гидрокси-пирозин-2-карбоновой кислоты (**13**) через этапы амидирования, нитрования, восстановления и фторирования (рис. 9) [69].

Еще один подход к синтезу фавипиравира предложен Xie и соавт. [70]. Этот подход и заключался в получении T-705 из недорогого и доступного 2-аминопирозина (**14**). Разработан синтез промежуточного соединения 3,6-дихлорпирозин-2-

Рис. 10. Синтез фавипиравира по методу Хие 2019 г.

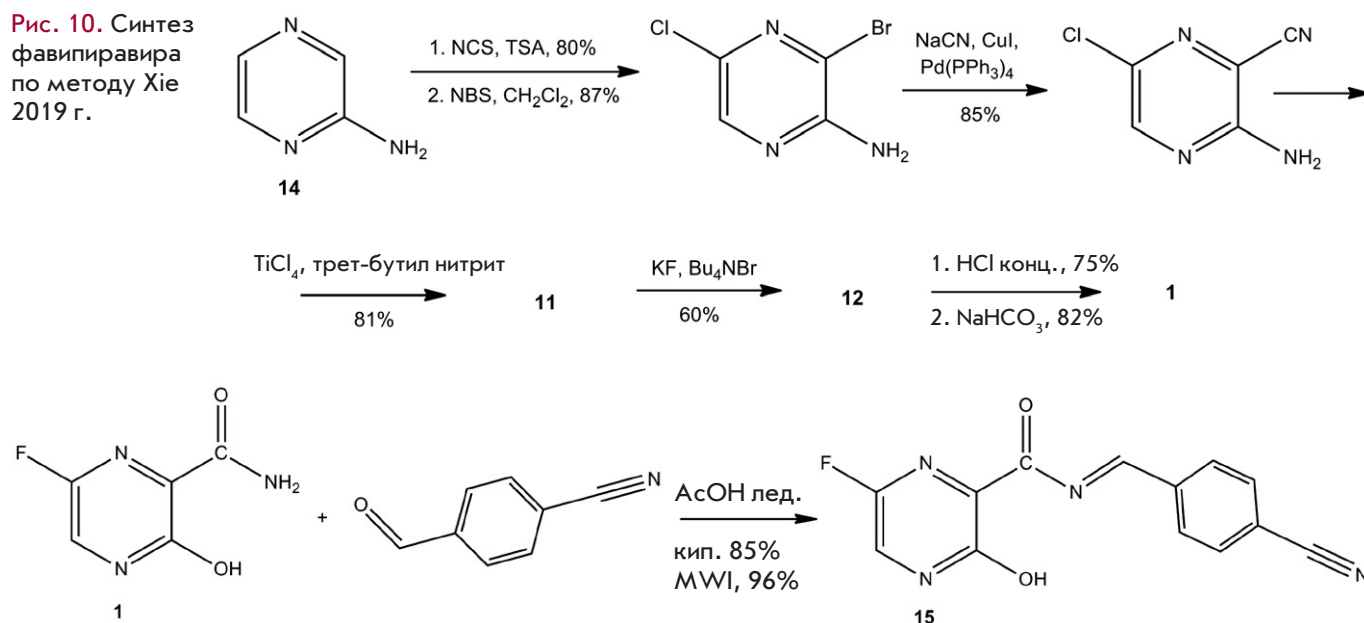


Рис. 11. Синтез 4-цианобензилиденового аналога фавипиравира (15) (MWI – инициация реакции с помощью микроволнового излучения)

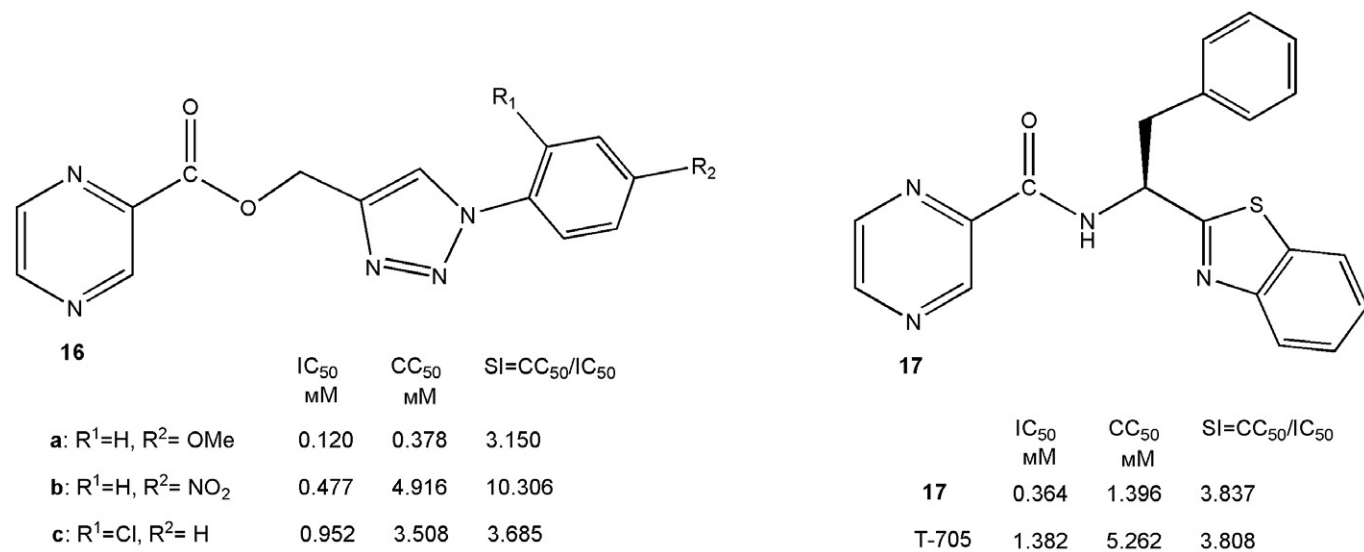


Рис. 12. Представители серии пиразин-триазольных (16) и бензотиазольный аналог (17) фавипиравира (15), обладающие противовирусной активностью в отношении SARS-CoV-2

карбонитрила (11) в четыре стадии, который не требует использования POCl₃ и обеспечивает хороший выход продукта (рис. 10).

В 2021 г. появилось сообщение о синтезе (E)-N-(4-цианобензилиден)-6-фтор-3-гидропиразин-2-карбоксамид ((15), Суаногона-20) [71] (рис. 11). Авторы утверждают, что это первый селективный ингибитор RdRp SARS-CoV-2 в 209 раз более эффективный, чем фавипиравир *in vitro* (EC₅₀ = 0.45 мкМ, EC_{50 (T-705)} = 94.09 мкМ).

Предшествовавшие синтезу компьютерные расчеты предсказали, что соединение (15) может выступать в роли ингибитора RdRp SARS-CoV-2 через образование его рибозид-5'-трифосфата по механизму, описанному для фавипиравира. Кроме того, циано-группа является цинкофором, т.е. может быть переносчиком ионов цинка, снижая его внутриклеточную концентрацию. Тогда как Zn²⁺ является кофактором RdRp SARS-CoV-2 и снижение его концентрации драматическим образом сказывается

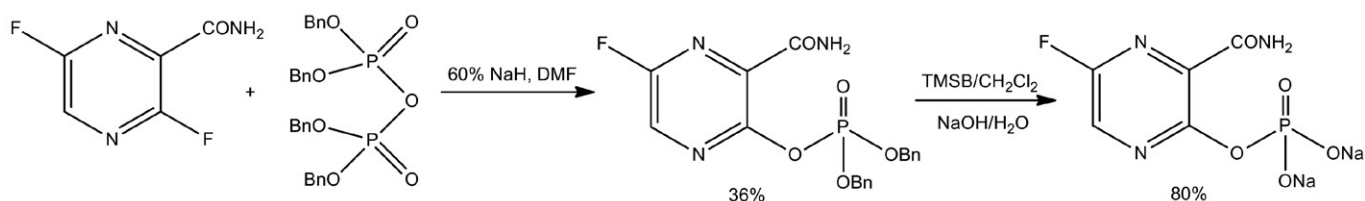


Рис. 13. Схема синтеза фосфата фавипиравира

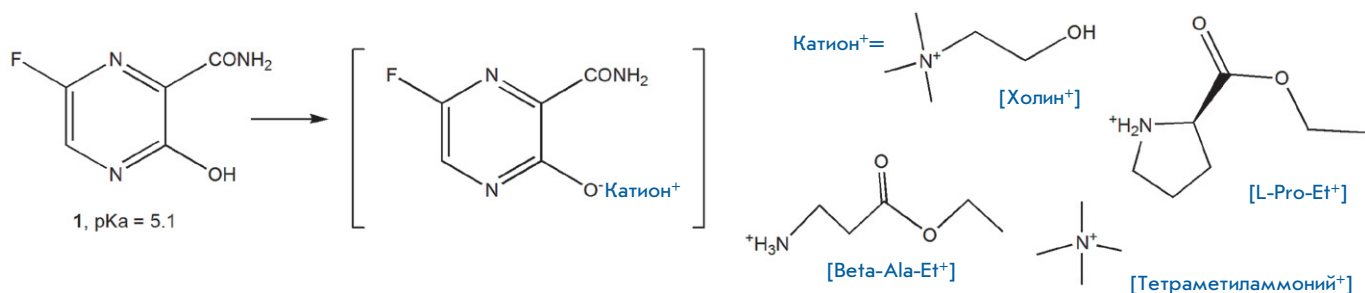


Рис. 14. Солевые формы фавипиравира (1)

ся на работе RdRp. Липофильный бензилиденный фрагмент Суаногона-20 способствует лучшему прохождению через цитоплазматическую мембрану клеток. Правда, данные по изменению растворимости основания (15) по сравнению с Т-705 в работе не приведены, только утверждается, что результаты изучения растворимости Суаногона-20 в воде были превосходными [71].

Проведены попытки синтеза новых аналогов 2-пиазинкарбоксамидов для усиления противовирусной активности в отношении SARS-CoV-2 [72]. Синтезирована серия из семи пиазин-триазольных (16) и 11 пиазин-бензотиазольных (17) гетероциклических оснований. На рис. 12 приведены аналоги, обладающие сравнимыми с фавипиравиром (1) или лучшими противовирусными свойствами.

Была предпринята попытка улучшить растворимость и биодоступность фавипиравира путем синтеза его фосфата (рис. 13) [73]. Однако данные по противовирусной активности полученных соединений отсутствуют.

Иной подход к улучшению растворимости фавипиравира использовала группа японских исследователей [74]: они попытались солюбилизировать плохо растворимый фавипиравир с использованием противоионов этиловых эфиров L-пролина (L-Pro-Et⁺) и бета-аланина (Beta-Ala-Et⁺), холина хлорида, тетраметиламмония гидрохлорида (рис. 14). Этот метод сейчас применяется в фармацевтике для получения сбалансированных различными противоионами плохо растворимых активных фармацевти-

ческих субстанций или белковых препаратов [75]. Стехиометрическое соотношение Т-705 и противоионов составляло 1:1 по данным ЯМР. Полученные солевые формы фавипиравира были аморфными (по данным рентгеноструктурного анализа) и обладали значительно лучшей растворимостью в водных растворах по сравнению с исходным кристаллическим фавипиравиром: наилучшей растворимостью характеризовался холиновый противоион (739 мг/мл для Cho-T-705 против 7.0 мг/мл для Т-705, рис. 14).

Все солевые формы фавипиравира обладали лучшими фармакокинетическими и фармакодинамическими характеристиками, чем исходный фавипиравир в опытах *in vivo* [74].

Проведены попытки синтезировать на основе 3-оксопиазин-2-карбоксамидов эффективные препараты против вируса Зика [76] (рис. 15). 3-Гидроксипиазин-2-карбоксамид и фавипиравир проявили противовирусную активность в отношении вируса Зика на клеточной линии Vero. Т-1105 значительно снижал уровень гибели клеток со значением средней эффективной концентрацией (EC₅₀), равной 97.5 ± 6.8 мкмоль/л.

При тестировании аналогов (18)–(20) наблюдали очень низкую (у соединений (18f–i) CC₅₀ 200–300 мкмоль/л) или отсутствующую (CC₅₀ >1000 мкмоль/л) противовирусную активность [76].

Wang и соавт. [77] синтезировали серию пиримидиновых, пиридазиновых и пиримидиновых С-нуклеозидов – аналогов фавипиравира (рис. 16).

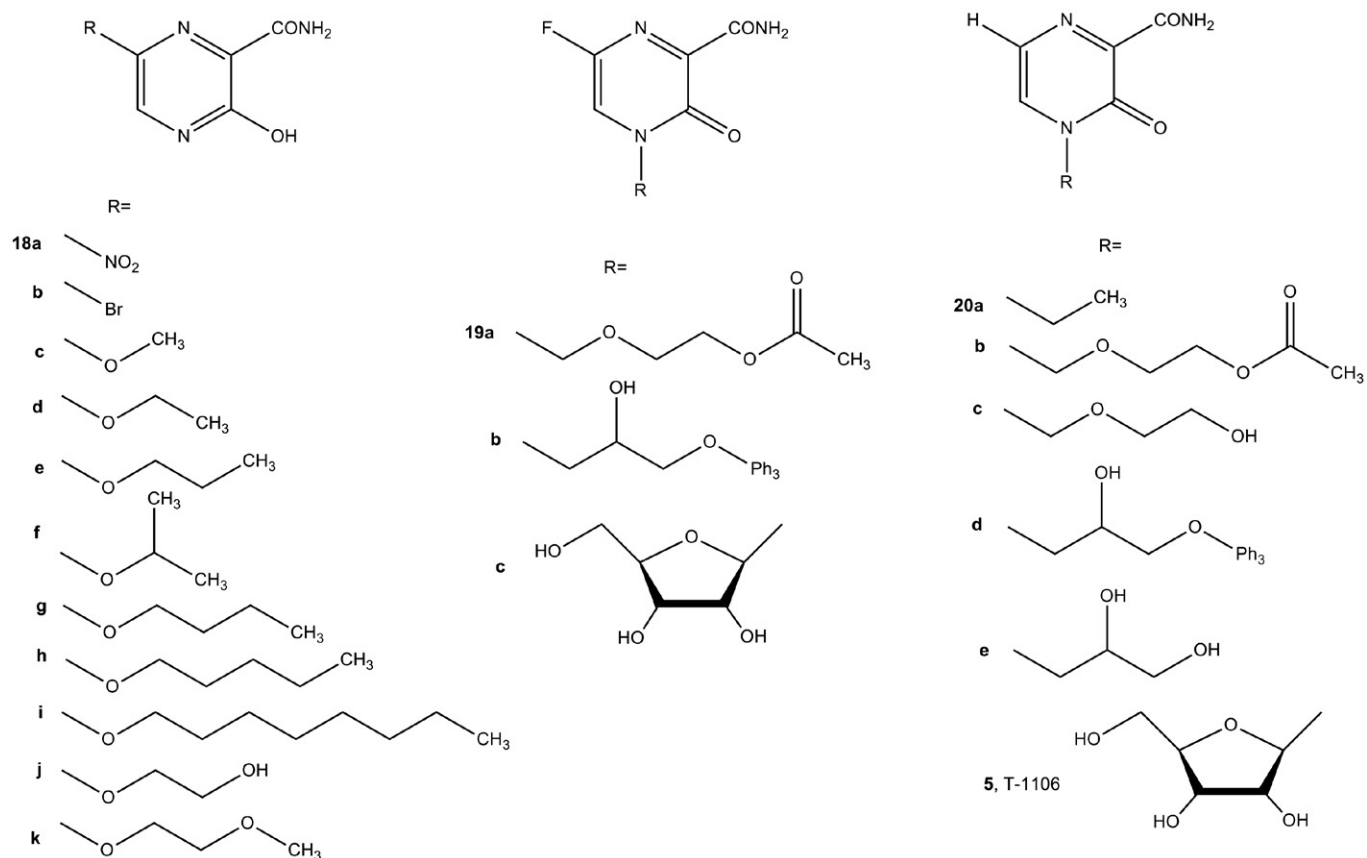


Рис. 15. Аналоги фавипиравира для изучения активности против вируса Зика

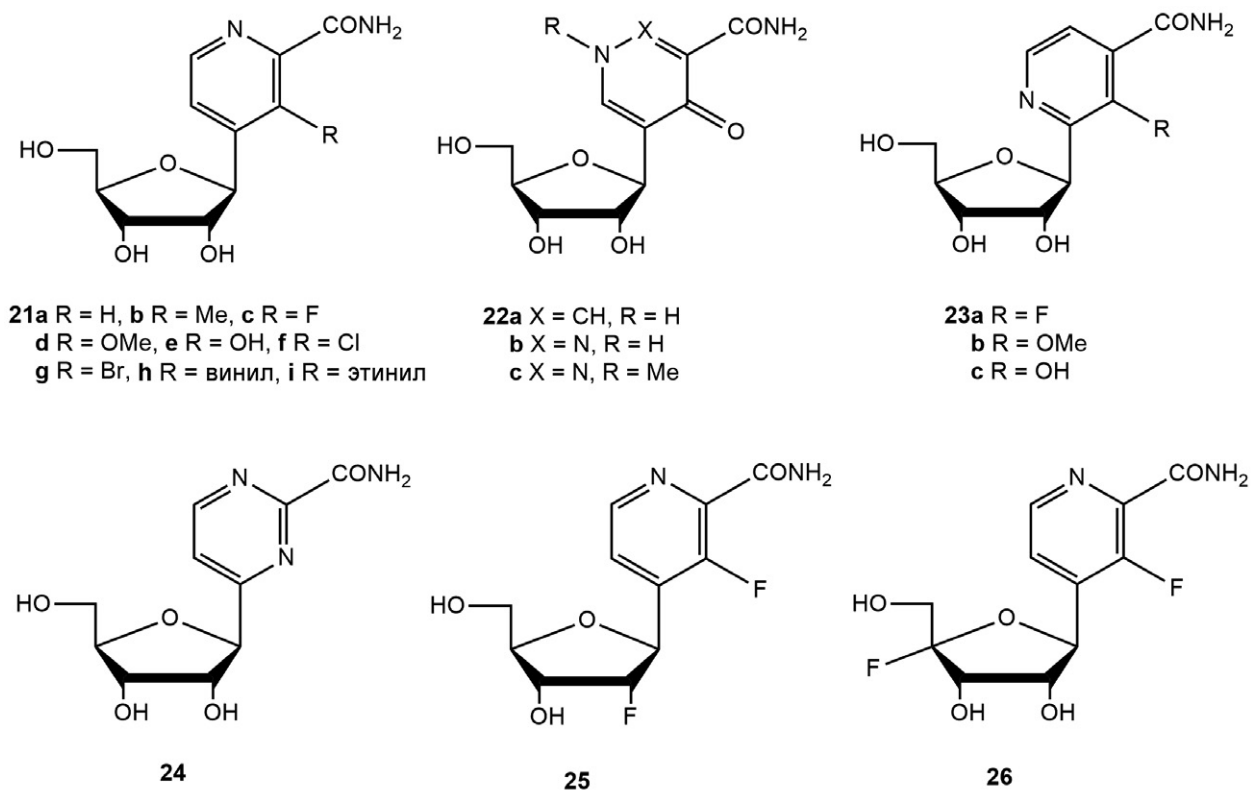


Рис. 16. С-нуклеозидные производные пиридина, пиридазина и пириимидина

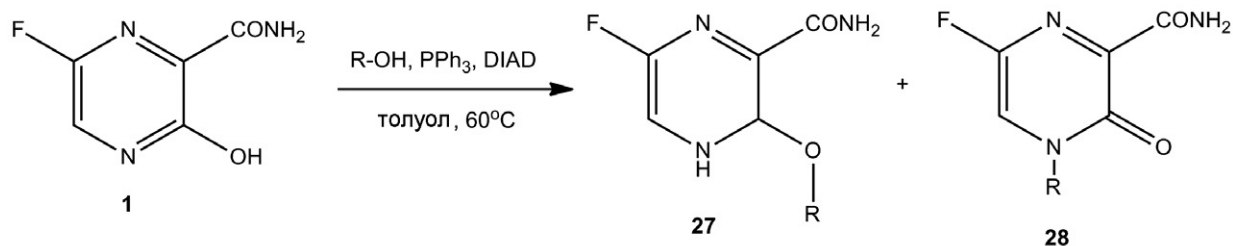


Рис. 17. Общая схема алкилирования фавипиравира в условиях реакции Мицунобу, R-OH – различные гидроксид-алкилфосфонаты

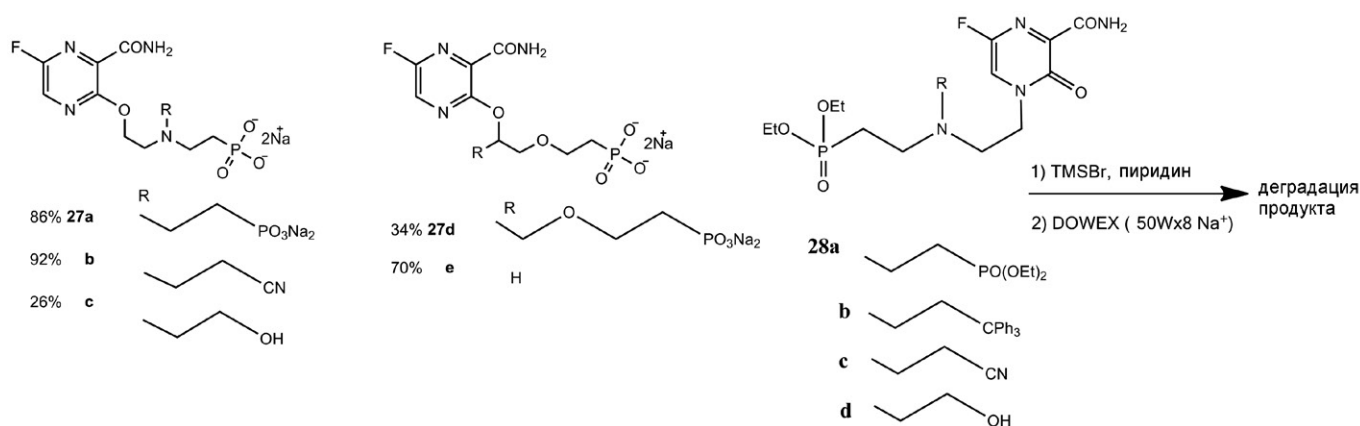


Рис. 18. Ациклические нуклеотидные производные фавипиравира

Изучена противовирусная активность всех соединений в клетках MDCK, инфицированных вирусом гриппа A/WSN/33 (H1N1). Самая высокая активность обнаружена у соединения (21e) со значением EC₅₀, равным 1.3 мкмоль/л. В то же время данное вещество имело высокий показатель цитотоксичности: значение 50% цитотоксической концентрации (CC₅₀) составило 2.0 мкмоль/л. Противовирусная активность соединения (21c) была сравнимой с T-705 – значение EC₅₀ составило 1.9 мкмоль/л, а значение CC₅₀ превысило 400 мкмоль/л. Остальные C-нуклеозиды проявили небольшую или слабую противовирусную активность, даже соединения (25) и (26) с модификацией по положению 2'-ОН и 4'-Н-группы рибозы имели невысокую активность [77].

Предложен синтез ациклических нуклеотидных аналогов фавипиравира в качестве возможных ингибиторов гипоксантингуанинксантин-фосфорибозилтрансферазы (HGXPRT) малярийного плазмодия *Plasmodium falciparum* [78]. HGXPRT катализирует магнийзависимый синтез нуклеозид-5'-монофосфатов из пуриновых оснований (гуанина или гипоксантина). Синтез ациклических нуклео-

тидных аналогов (27) и (28) проводили по реакции Мицунобу из фавипиравира. Алкилирование проходило в положения N⁴ или O³ гетероциклического кольца с образованием N- (28) или O-региоизомера (27) (рис. 17).

По схеме, представленной на рис. 18, получены O-алкилированные ациклические нуклеотидные производные фавипиравира (27). К сожалению, в условиях удаления защитных групп N-алкилированные производные T-705 оказались нестабильными.

Исследование O-алкилированных ациклических нуклеотидных производных фавипиравира в качестве ингибиторов HGXPRT и PfHGXPRT человека показало, что ни одно соединение не ингибировало ни один фермент в диапазоне концентраций от 100 до 150 мкмоль/л. Ациклические нуклеотидные производные гуанина или гипоксантина с теми же заместителями являются эффективными ингибиторами ферментов HGXPRT и PfHGXPRT со значением константы ингибирования в диапазоне от 0.07 до 5 мкмоль/л [78].

Синтез пролекарств на основе нуклеозидов является современным подходом к получению но-

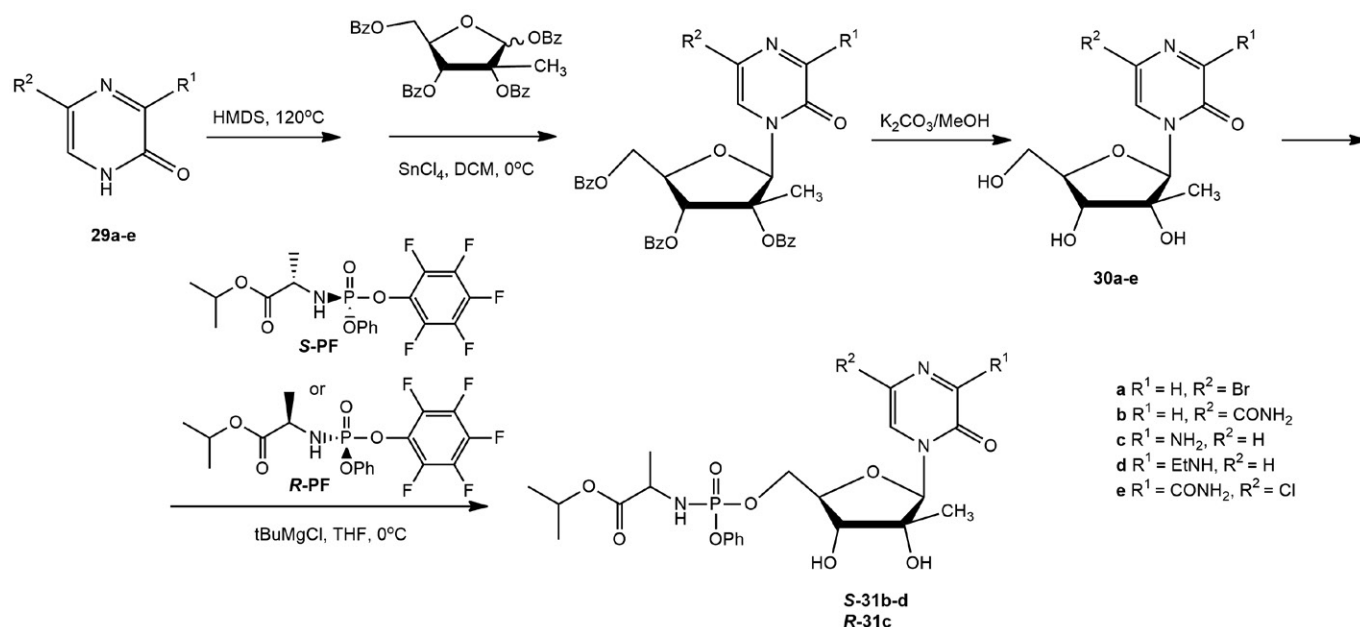


Рис. 19. Синтез 3-оксо-4-(2'-С-метил-β-D-рибофуранозил)-пиазинов и их 5'-фосфорамидатных пролекарств

вых противовирусных препаратов [79]. Описан синтез ряда нуклеозидов пиазина и пролекарств на их основе в виде фосфорамидатов (рис. 19) [80]. Оценивали активность полученных нуклеозидов в отношении вируса гепатита С (HCV). Синтез 3-оксо-4-(2'-С-метил-β-D-рибофуранозил)-пиазинов и их 5'-фосфорамидатных пролекарств осуществляли силильным методом, гликозилируя основания (29а-е) 1,2,3,5-тетра-О-бензоил-2-С-метил-β-D-рибофуранозой в присутствии тетраоксида олова (SnCl₄). После удаления бензоильных (Bz) защитных групп синтезировали фосфорамидатные производные по реакции с S-PF или (R)-2-((R)-(2,3,4,5,6-пентафторфенокси)фенокси)фосфориламино)изопропиловым эфиром пропионовой кислоты (R-PF).

Похожим способом из соответствующих оснований были синтезированы 3-оксо-4-(4'-С-метил-β-D-рибофуранозил)-пиазины, а также их 5'-фосфорамидатные пролекарства (рис. 20).

Исследование активности синтезированных соединений анти-HCV в условиях *in vitro* показало, что из соединений (30а-д) только (30с) продемонстрировало низкую степень ингибирования вируса, равную 22.3%, при концентрации 100 мкмоль/л. Наличие этиламинной группы в положении С3 гетероциклического кольца привело к потере противовирусной активности соединения (30д) и его (S)-фосфорамидата (S-31д). Соединение (30е) показало хорошую активность с EC₅₀ 7.3 мкмоль/л, однако по-

лучить на его основе фосфорамидатное пролекарство не удалось [80].

Предполагалось, что изменение положения метильной группы в остатке рибозы (соединения (33а-с)) позволит снизить их цитотоксичность. Однако среди этих соединений только (S)-изомерное фосфорамидатное пролекарство (S-34b) не было цитотоксичным при концентрации 100 мкмоль/л, но показало слабую активность (EC₅₀ = 19.5 мкМ) [80].

На основе нефторированного основания Т-1105 синтезирован 3-оксо-4-(2'-С-метил-β-D-рибофуранозил)-2-пиазинкарбоксамида (рис. 21) в виде смеси α- и β-аномеров. После аммонолиза бензоильных (Bz) защитных групп целевой β-аномер продукта (35а) смогли выделить с выходом всего 10%, также был выделен и α-аномер (35b) с выходом 80% [81].

К сожалению, нуклеозиды (35а) и (35b) не показали ни противовирусной активности против РНК-вирусов, ни цитотоксичности *in vitro* в концентрации до 100 мкмоль/л [81].

Обычно в синтезе модифицированных нуклеозидов и нуклеотидов на основе Т-705 и Т-1105 используются классические химические способы гликозилирования. Например, синтез 3-оксо-4-(β-D-рибофуранозил)-2-пиазинкарбоксамида (5) (рис. 22) проводят по реакции Форбрюггена обработкой 3-гидроксипиазин-2-карбоксамида (Т-1105) 1,2,3,5-тетра-О-ацетил-β-D-рибофуранозой в безводном ацетонитриле (CH₃CN) в присутствии

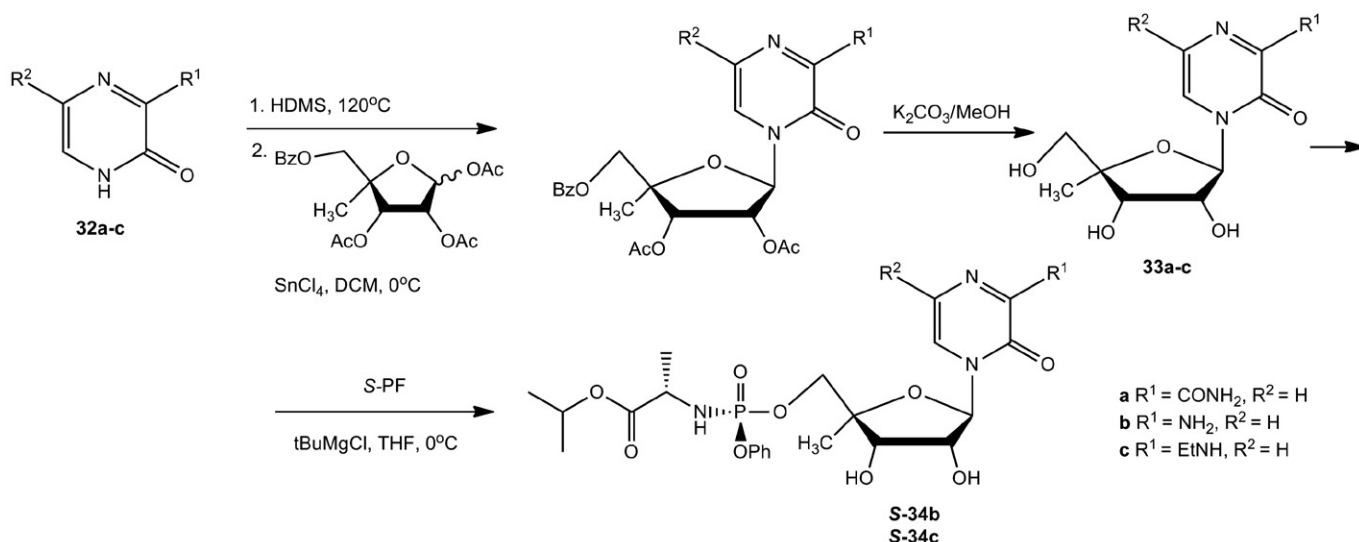
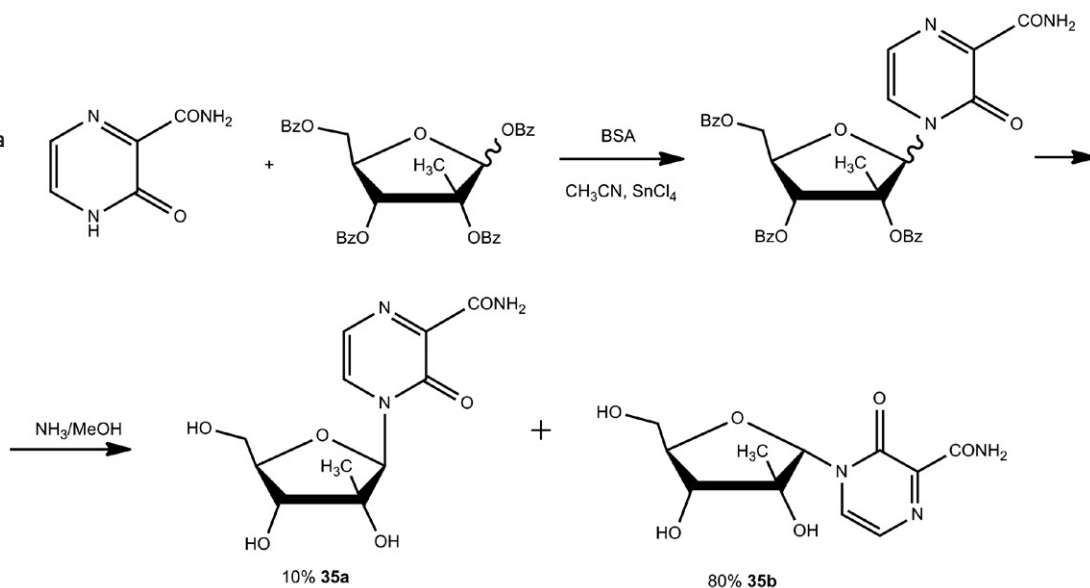


Рис. 20. Синтез 3-оксо-4-(4'-С-метил-β-D-рибофуранозил)-пиразинов и пролекарств, содержащих 5'-фосфорамидатный фрагмент

Рис. 21. Синтез 3-оксо-4-(2'-С-метил-β-D-рибофуранозил)-2-пиразинкарбоксамида (BSA – N,O-бис(триметилсилил)-ацетамид)



N,O-бис(триметилсилил)ацетамида при комнатной температуре с последующим добавлением триметилсилилтрифторметансульфоната. Выход целевого продукта по данной методике составляет 55% [82].

Химический синтез 6-фтор-3-оксо-4-(β-D-рибофуранозил)-2-пиразинкарбоксамида (**19c**) (рис. 23) можно осуществить обработкой С6-замещенного 3-гидропиразин-2-карбоксамида сульфатом аммония $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ в гексаметилдисилазане при 140°C.

Полученный силилированный пиразинкарбоксамид вводят во взаимодействие с перацелированной рибофуранозой в присутствии тетраоксида олова (SnCl_4). Выход чистого нуклеозида после хромато-

графической очистки составляет 40%. Перенос оптимизированных условий синтеза 6-фтор-3-оксо-4-(β-D-рибофуранозил)-2-пиразинкарбоксамида для 6-бромзамещенного аналога фапиравира позволил получить соединение (**37**) с выходом 68% [82].

В 2018 г. J. Huchting представила схему синтеза фосфата рибозида Т-1105 (**38**) (рис. 24) и аналогичный способ синтеза нуклеотида фапиравира [83]. Huchting и соавт. удалось химическим способом синтезировать нуклеозид 5'-моно-, ди- и трифосфатную форму Т-1105.

Наиболее эффективным путем синтеза 3-оксо-4-(β-D-рибофуранозил-5'-фосфат)-2-пиразинкарбоксамида (**33**) оказалось фосфорилирование

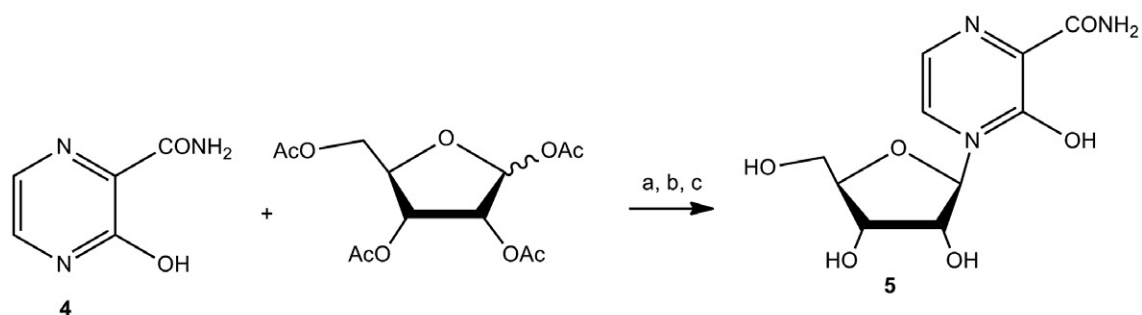


Рис. 22. Синтез 3-оксо-4-(β-D-рибофуранозил)-2-пиразинкарбоксамида (**5**). а) 1,2,3,5-тетра-О-ацетил-β-D-рибофураноза, N,O-бис(триметилсилил)ацетамид, ацетонитрил, 30 мин, $t_{\text{комн.}}$; б) триметилсилилтрифторметансульфонат, ацетонитрил, 44 ч, $t_{\text{комн.}}$; с) метанол, вода, триэтиламин, 6 ч, $t_{\text{комн.}}$.

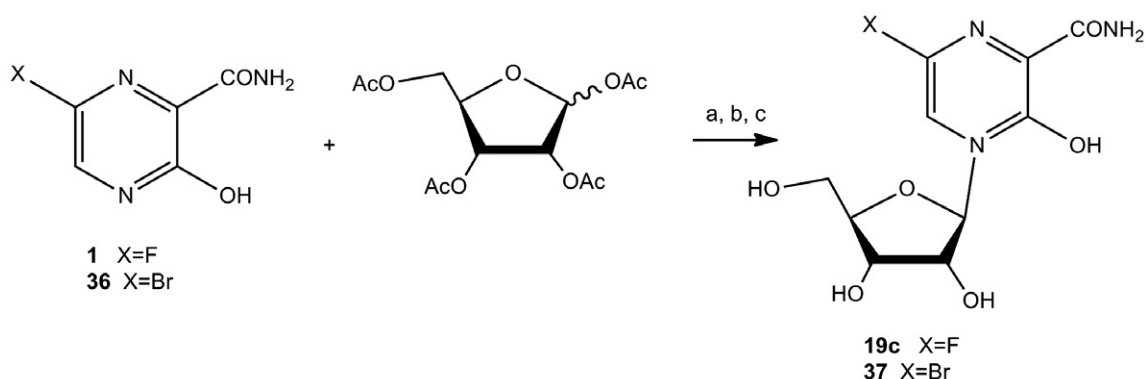


Рис. 23. Синтез 6-фтор-3-оксо-4-(β-D-рибофуранозил)-2-пиразинкарбоксамида (**19c**) и 6-бром-3-оксо-4-(β-D-рибофуранозил)-2-пиразинкарбоксамида (**37**): а) гексаметилдисилазан, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 140°C; б) SnCl_4 , ацетонитрил, $t_{\text{комн.}}$; с) Bu_2SnO , метанол, 80°C

соединения (**5**) с предварительной защитой 2'- и 3'-ОН-групп рибозы. Выход целевого соединения (**38**) составил 47% [83].

Синтез нуклеозид 5'-ди- и трифосфатной формы T-1105 осуществляли последовательным двухступенчатым синтезом с применением флуоренилметильных (Fm) защитных групп (рис. 25).

Для улучшения липофильности и экранирования отрицательно заряженных групп нуклеотидов T-1105 и T-705 синтезированы депо-формы в виде *cycloSal*-пронуклеотидов, *DiPPro* и *TriPPPro* (рис. 26). *CycloSal*-пронуклеотиды являются пролекарствами, контролируемое высвобождение активных нуклеотидов происходит рН-зависимым образом. Их получали с использованием фосфорамидатного синтеза. Активация *DiPPPro* и *TriPPPro* пролекарств включает в себя основной и второстепенный путь. Основной путь заключается в активации этих соединений эстеразами и последующим эффективным высвобождением нуклеотидов [83].

Второстепенный метаболический путь включает гидролитическое расщепление фосфоанги-

дрида в пронуклеотиде, что приводит к образованию нежелательного нуклеотида [83]. Изучена противовирусная активность данных соединений в клетках MDCK и MDCK-TG^{res} (клеточная линия, обедненная HGPRT) с использованием двух штаммов гриппа A/X-31 (подтип A/H3N2) и B/Ned/537/05. Цитотоксичность соединений оценивали в неинфицированных клетках. Наибольшая противовирусная активность и минимальная токсичность обнаружены у соединения (**36**). Среднее значение EC_{50} составило 0.91 мкмоль/л в клетках MDCK. Все *DiPPPro* и *TriPPPro* соединения сохраняли противовирусную активность в клетках MDCK-TG^{res}. Например, среднее значение EC_{50} для соединения (**36**) в клетках MDCK-TG^{res} составило 0.80 мкмоль/л [83].

Очевидно, что разработка простых и эффективных ферментативных способов синтеза модифицированных нуклеозидов и нуклеотидов на основе 3-гидроксипиразин-2-карбоксамида и его 6-фторзамещенного аналога крайне актуальна.

На данный момент опубликовано только одно краткое сообщение, посвященное ферментатив-

Рис. 24. Схема синтеза фосфата рибозиды Т-1105; DCl – дигидрохлорид дицианоимидазола; TEA – триэтиламин

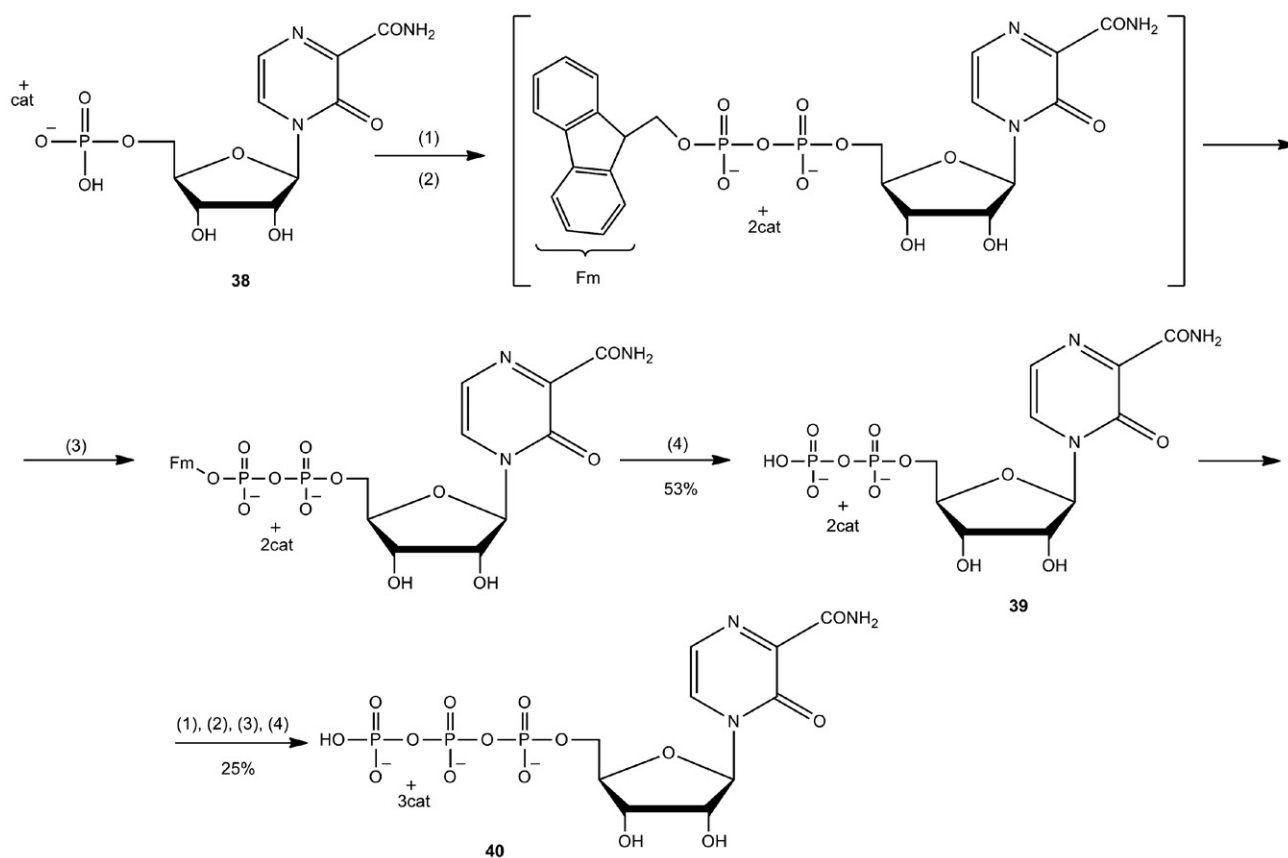
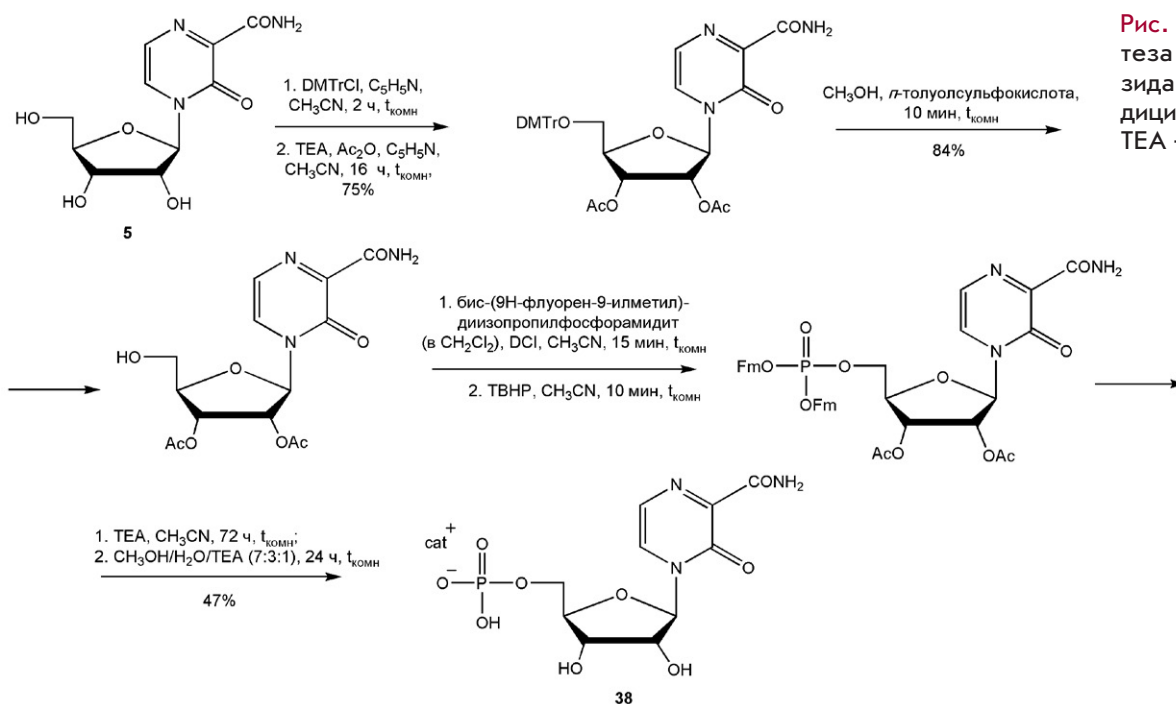


Рис. 25. Синтез 3-оксо-4-(β-D-рибофуранозил-5'-дифосфат)-2-пиразинкарбоксамида (**39**) и 3-оксо-4-(β-D-рибофуранозил-5'-трифосфат)-2-пиразинкарбоксамида (**40**): (1) бис(9H-фтор-9-илметил)диизопропиламинофосфорамидит в CH₂Cl₂, дицианоимидазол, DMF; (2) трет-бутилгидроксипероксид (ТВНР), DMF; (3) TEA, CH₃CN; (4) TEA, H₂O, CH₃CN

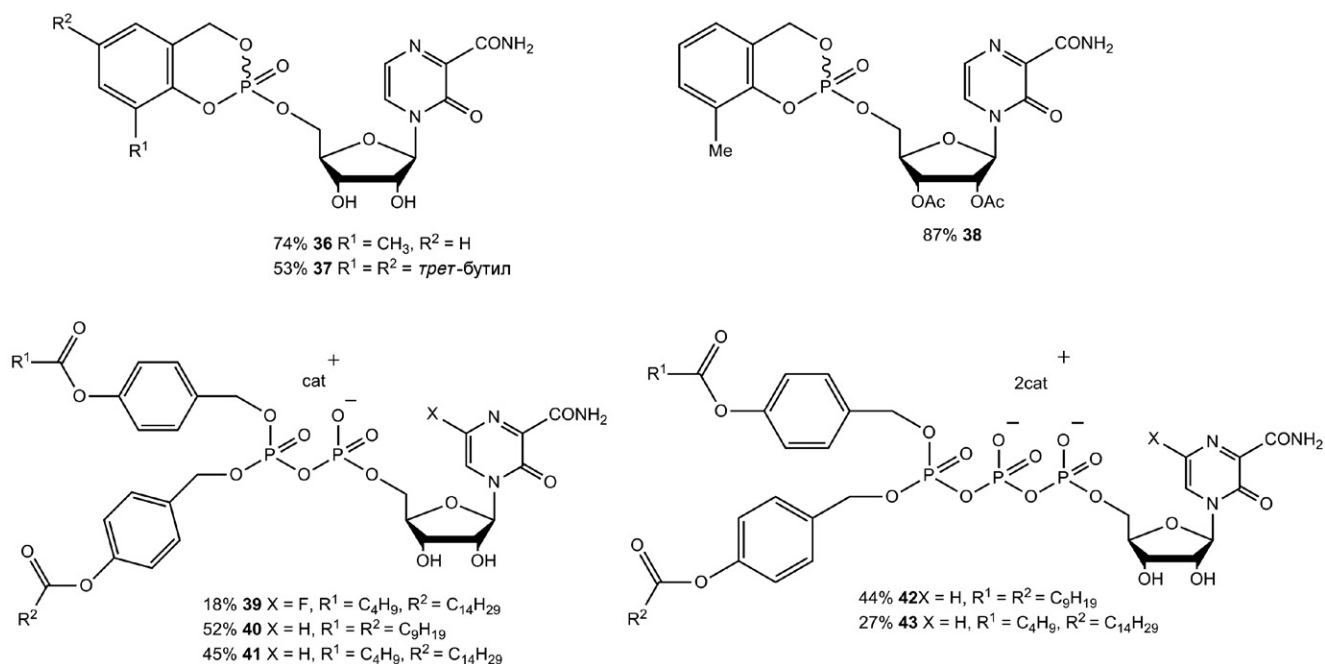
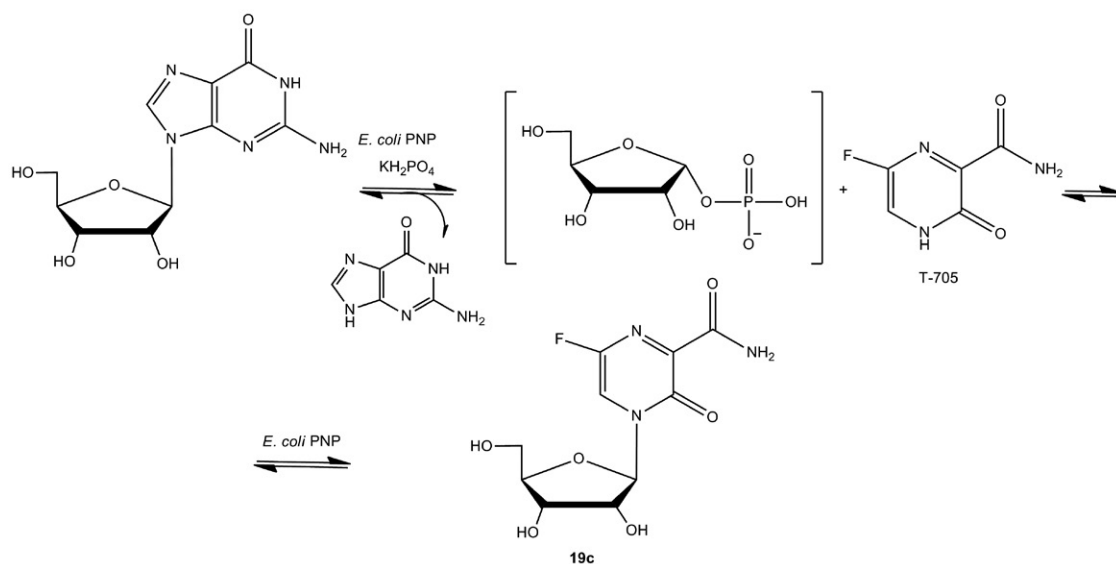


Рис. 26. Структурные формулы *сус*loSal-пронуклеотидов (**28**)–(**30**), DiPPPro и TriPPPPro соединений (**31**)–(**35**)



ному синтезу модифицированных нуклеозидов на основе замещенных 3-гидрокси-пиримидин-2-карбоксамидов с помощью пурин-нуклеозидфосфорилазы *E. coli* (PNP) [84]. Эффективность переноса основания Т-705 на остаток рибозы составила 43% за 4 ч (рис. 27). Однако в работе не указан выход и не приведены спектральные характеристики продукта.

Рибозилтрансферазы участвуют в образовании всех С-*N*-гликозидных связей нуклеозидмонофосфатов в пути биосинтеза *de novo*. Пуриновые

фосфорибозилтрансферазы катализируют обратимый перенос 5-фосфорибозильной группы с PRPP на азот по положению 9 в 6-амино- или 6-оксопуринах в присутствии Mg²⁺ с образованием соответствующих рибозо-5'-монофосфатов [85].

В соответствии с субстратной специфичностью, пуриновые фосфорибозилтрансферазы делятся на два основных класса: 6-аминопуриновые (APRT) и 6-оксопуриновые (HPRT, HGPRT и т.д.). APRT строго специфичны к 6-аминопуринам, таким, как аденин, 2-фтораденин или 2-хлораденин.

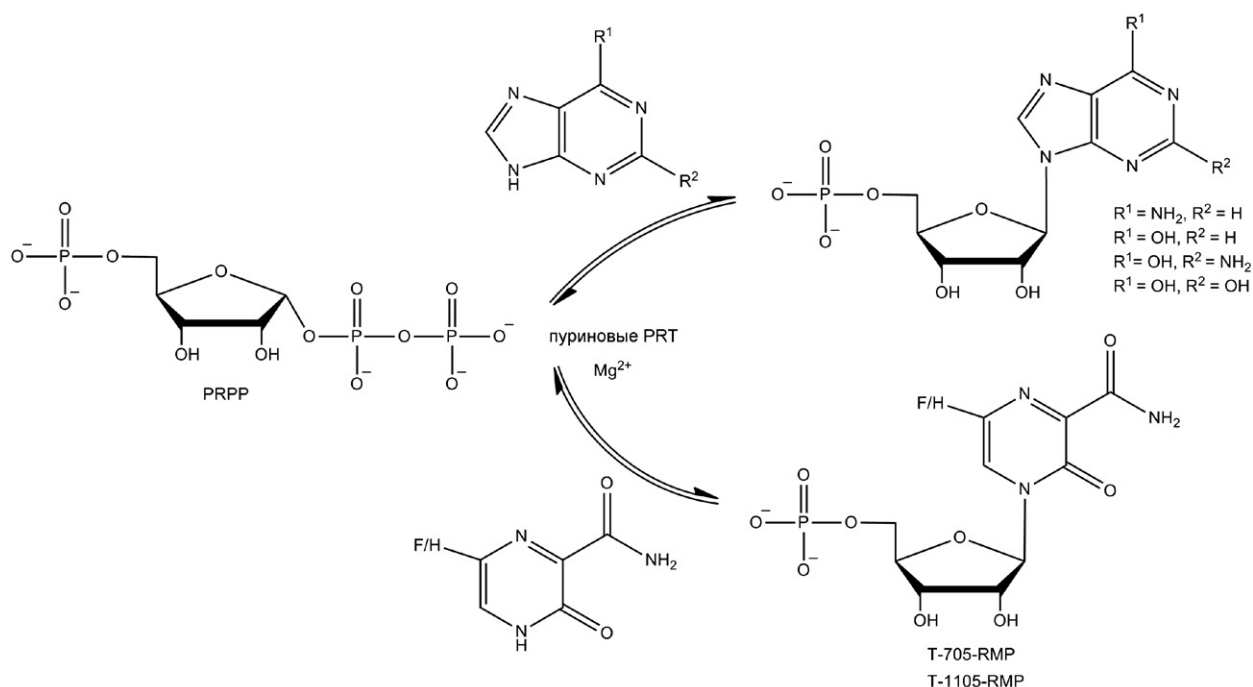


Рис. 28. Ферментативный синтез рибозо-5'-монофосфатов, катализируемый фосфорибозилтрансферазами (PRT)

6-Оксопуриновые PRT могут распознавать различные 6-оксопурины, такие, как гипоксантин, гуанин, ксантин и другие 6-оксо- и 6-меркаптопуриновые аналоги [85].

Как уже известно, активным метаболитом фавипиравира и 3-гидроксипирозин-2-карбоксамидом является их рибозо-5'-трифосфатная форма, участвующая в подавлении активности РНК-вирусов. Naesens и соавт. [21] удалось установить, что на первом этапе, при попадании Т-705 и Т-1105 в клетку HGPRT человека фосфорилирует Т-705 до 6-фтор-3-оксо-4-(β-D-рибофуранозил-5'-фосфат)-2-пирозинкарбоксамид (Т-705-RMP), а Т-1105 в 3-оксо-4-(β-D-рибофуранозил-5'-фосфат)-2-пирозинкарбоксамид (Т-1105-RMP) (рис. 28). Однако как в условиях синтеза, так и в условиях внутриклеточного фосфорилирования Т-705 и Т-1105 проявляют низкое сродство к активному центру HGPRT. Обнаружено, что APRT человека катализирует фосфорилирование Т-705 и Т-1105 в 40 раз менее эффективно, чем HGPRT в аналогичных условиях. Кроме того, этой же группой ученых установлено, что Т-705 и Т-1105 являются плохими субстратами для PNP человека [21].

Известно использование экстракта клеток линии MDCK для оценки профилей метаболической активации фавипиравира и 3-гидроксипирозин-2-карбоксамидом [83]. Фосфорилирование

фавипиравира в клеточном экстракте MDCK протекает менее эффективно по сравнению с 3-гидроксипирозин-2-карбоксамидом. Образование метаболита Т-705-RMP в клеточном экстракте MDCK при инкубировании Т-705 с 5-фосфорибозил-α-1-пирофосфатом (PRPP) составило 35% после 25 ч инкубации. Образование метаболита Т-1105-RMP в клеточном экстракте MDCK при инкубировании Т-1105 с PRPP после 19 ч инкубации составило 90%. Дальнейшее инкубирование Т-1105-RMP с экстрактом клеток MDCK в течение 15 ч не привело к образованию ни Т-1105-RDP, ни Т-1105-RTP даже при добавлении высокой концентрации АТФ (донора фосфата). Однако, когда Т-1105-RDP инкубировали с в 10 раз более высокой концентрацией АТФ, его фосфорилирование оказалось эффективным: Т-1105-RTP образовывался через 2 мин после инкубации и оставался основным метаболитом в течение следующих 2 ч.

Единичные примеры биосинтеза нуклеозидов и нуклеотидов пирозинкарбоксамидом свидетельствуют о том, что основными способами их синтеза остаются классические химические методы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Фавипиравир Т-705 и некоторые его структурные аналоги обладают выраженным противовирусным действием в отношении РНК-вирусов. Однако боль-

шая дозовая нагрузка (до 3.6 г фавапиривира в сутки при лечении COVID-19), плохая биодоступность вследствие низкой растворимости, высокая системная токсичность и тератогенная активность препарата побуждают исследователей синтезировать все новые и новые структурные аналоги с целью увеличения селективности действующей молекулы и снижения ее токсичности.

Вероятнее всего, применение нуклеозидов фавапиривира и его структурных аналогов может снизить дозовую нагрузку на организм человека и уменьшить токсический эффект от применения препарата. На сегодняшний день синтезировано множество нуклеозидов пиразинкарбоксамидов, модифицированных по гетероциклическому основанию и углеводному остатку. Получена серия ациклических линейных аналогов, а также нукле-

озидов, модифицированных по 5'-гидроксильной группе рибозы. Однако эффективность таких соединений в терапии вирусных поражений организма человека еще только предстоит доказать.

Таким образом, структурные аналоги 1,4-пиразин-3-карбоксамидов могут стать основой для разработки новых селективных и высокоэффективных противовирусных препаратов, применяемых в периоды пандемий вирусных заболеваний и в ряде случаев крайне тяжелого течения вирусных инфекций. ●

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 21-13-00429).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Woolhouse M., Scott F., Hudson Z., Howey R., Chase-Topping M. // *Philosophical Transactions Royal Soc. B-Biol. Sci.* 2012. V. 367. № 1604. P. 2864–2871. doi: 10.1098/rstb.2011.0354
- Carrasco-Hernandez R., Jácome R., López Vidal Y., Ponce de León S. // *ILAR J.* 2017. V. 58 № 3. P. 343–358. doi: 10.1093/ilar/ilx026
- Pilkington V., Pepperrell T., Hill A. // *J. Virus Eradication.* 2020. V. 6(2). P. 45–51. doi: 10.1016/S2055-6640(20)30016-9
- Kolb V.M. // *Progress Drug Res.* 1997. V. 48. P. 195–232. doi: 10.1007/978-3-0348-8861-5_8
- Mahmoud S., Hasabelnaby S., Hammad S., Sakr T. // *J. Adv. Pharmacy Res.* 2018. V. 2. № 2. P. 73–88. doi: 10.21608/aprh.2018.5829
- Furuta Y., Takahashi K., Fukuda Y., Kuno M., Kamiyama T., Kozaki K., Nomura N., Egawa H., Minami S., Watanabe Y., et al. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002. V. 46. № 4. P. 977–981. doi: 10.1128/AAC.46.4.977-981.2002
- Furuta Y., Takahashi K., Shiraki K., Sakamoto K., Smee D.F., Barnard D.L., Gowen B.B., Julander J.G., Morrey J. D. // *Antiviral Res.* 2009. V. 82. P. 95–102. doi: 10.1016/j.antiviral.2009.02.198
- Furuta Y., Komeno T., Nakamura T. // *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* 2017. V. 93. № 7. P. 449–463. doi: 10.2183/pjab.93.027
- De Clercq E., Li G. // *Clin. Microbiol. Rev.* 2016. V. 29. № 3. P. 695–747. doi: 10.1128/CMR.00102-15
- Delang L., Abdelnabi R., Neyts J. // *Antiviral Res.* 2018. V. 153. P. 85–94. doi: 10.1016/j.antiviral.2018.03.003
- Furuta Y., Gowen B.B., Takahashi K., Shiraki K., Smee D.F., Barnard D.L. // *Antiviral Res.* 2013. V. 100. № 2. P. 446–454. doi: 10.1016/j.antiviral.2013.09.015
- L'Huillier A.G., Abed Y., Petty T.J., Cordey S., Thomas Y., Bouhy X., Schibler M., Simon A., Chalandon Y., van Delden C., et al. // *J. Infect. Dis.* 2015. V. 212. № 1. P. 1726–1734. doi: 10.1093/infdis/jiv288
- Sleeman K., Mishin V.P., Deyde V.M., Furuta Y., Klimov A.I., Gubareva L.V. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010. V. 54. № 6. P. 2517–2524. doi: 10.1128/AAC.01739-09
- Kiso M., Takahashi K., Sakai-Tagawa Y., Shinya K., Sakabe S., Le Q.M., Ozawa M., Furuta Y., Kawaoka Y. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107. № 2. P. 882–887. doi: 10.1073/pnas.0909603107
- Watanabe T., Kiso M., Fukuyama S., Nakajima N., Imai M., Yamada S., Murakami S., Yamayoshi S., Iwatsuki-Horimoto K., Sakoda Y., et al. // *Nature.* 2013. V. 501. № 7468. P. 551–555. doi: 10.1038/nature12392
- Smee D.F., Hurst B.L., Wong M.H., Bailey K.W., Tarbet E.B., Morrey J.D., Furuta Y. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010. V. 54. № 1. P. 126–133. doi: 10.1128/AAC.00933-09
- Marathe B., Wong S.S., Vogel P., Garcia-Alcalde F., Webster R.G., Webby R.J., Najera I., Govorkova E.A. // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. P. 26742. doi: 10.1038/srep26742
- Smee D.F., Tarbet E.B., Furuta Y., Morrey J.D., Barnard D.L. // *Future Virol.* 2013. V. 8. № 11. P. 1085–1094. doi: 10.2217/fvl.13.98
- Tarbet E.B., Maekawa M., Furuta Y., Babu Y.S., Morrey J.D., Smee D.F. // *Antiviral Res.* 2012. V. 94. № 1. P. 103–110. doi: 10.1016/j.antiviral.2012.03.001
- Furuta Y., Takahashi K., Kuno-Maekawa M., Sangawa H., Uehara S., Kozaki K., Nomura N., Egawa H., Shiraki K. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005. V. 49. № 3. P. 981–986. doi: 10.1128/AAC.49.3.981-986.2005
- Naesens L., Guddat L.W., Keough D.T., van Kuilenburg A.B., Meijer J., Vande Voorde J., Balzarini J. // *Mol. Pharmacol.* 2013. V. 84. № 4. P. 615–629. doi: 10.1124/mol.113.087247
- Sangawa H., Komeno T., Nishikawa H., Yoshida A., Takahashi K., Nomura N., Furuta Y. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013. V. 57. № 11. P. 5202–5208. doi: 10.1128/AAC.00649-13
- Davidson S. // *Front. Immunol.* 2018. V. 9. P. 1946. doi: 10.3389/fimmu.2018.01946
- Cheung P.P.H., Watson S.J., Choy K.-T., Sia S.F., Wong D.D.Y., Poon L.L.M., Kellam P., Guan Y., Peiris J.S.M., Yen H.-L. // *Nat. Commun.* 2014. V. 5. № 1. P. 1–13. doi: 10.1038/ncomms5794
- Goldhill D.H., Te Velthuis A.J., Fletcher R.A., Langat P., Zambon M., Lackenby A., Barclay W.S. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018. V. 115. № 45. P. 11613–11618. doi: 10.1073/pnas.1811345115

26. Delang L., Segura Guerrero N., Tas A., Querat G., Pastorino B., Froeyen M., Dallmeier K., Jochmans D., Herdewijn P., Bello F., et al. // *J. Antimicrob. Chemother.* 2014. V. 69. № 10. P. 2770–2784. doi: 10.1093/jac/dku209
27. Abdelnabi R., Morais A.T.S., Leyssen P., Imbert I., Beaucourt S., Blanc H., Froeyen M., Vignuzzi M., Canard B., Neyts J., et al. // *J. Virol.* 2017. V. 91. № 1–2. pii: e00487-17. doi: 10.1128/JVI.00487-17
28. Jin Z., Smith L.K., Rajwanshi V.K., Kim B., Deval J. // *PLoS One.* 2013. V. 8. № 7. P. e68347. doi: 10.1371/journal.pone.0068347
29. Baranovich T., Wong S.S., Armstrong J., Marjuki H., Webby R.J., Webster R.G., Govorkova E.A. // *J. Virol.* 2013. V. 87. P. 3741–3751. doi: 10.1128/JVI.02346-12
30. de Avila A.I., Gallego I., Soria M.E., Gregori J., Quer J., Esteban J.I., Rice C.M., Domingo E., Perales C. // *PLoS One.* 2016. V. 11. № 10. P. e0164691. doi: 10.1371/journal.pone.0164691
31. Escribano-Romero E., Jimenez de Oya N., Domingo E., Saiz J.C. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2017. V. 61. № 11. pii: e01400-17. doi: 10.1128/AAC.01400-17
32. Qiu L., Patterson S.E., Bonnac L.F., Geraghty R.J. // *PLoS Neglected Trop. Dis.* 2018. V. 12. № 4. P. e0006421. doi: 10.1371/journal.pntd.0006421
33. Guedj J., Piorkowski G., Jacquot F., Madelain V., Nguyen T.H.T., Rodallec A., Gunther S., Carbonnelle C., Mentre F., Raul H., et al. // *PLoS Med.* 2018. V. 15. № 3. P. e1002535. doi: 10.1371/journal.pmed.1002535
34. Schuster P. // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2016. V. 392. P. 61–120. doi: 10.1007/82_2015_469
35. Pauly M.D., Procaro M.C., Lauring A.S. // *Elife.* 2017. V. 6. e26437. doi: 10.7554/eLife.26437.001
36. Perales C., Martin V., Domingo E. // *Curr. Opin. Virol.* 2011. V. 1. P. 419–422. doi: 10.1016/j.coviro.2011.09.001
37. Hayden F.G., Shindo N. // *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2019. V. 32. № 2. P. 176–186. doi: 10.1097/QCO.0000000000000532
38. de Almeida S.M.V., Soares J.C.S., dos Santos K.L., Alves J.E.F., Ribeiro A.G., Jacob Í.T.T., da Silva Ferreira C.J., dos Santos J.C., de Oliveira J.F., de Carvalho Junior L.B. // *Bioorganic & Med. Chem.* 2020. V. 28. № 23. P. 115757. doi: 10.1016/j.bmc.2020.115757
39. Lima W.G., Brito J.C.M., Overhage J., da Cruz Nizer W.S. // *Arch. Virol.* 2020. V. 165. P. 1729–1737. doi: 10.1007/s00705-020-04693-5
40. Danta C.C. // *ACS Chem. Neurosci.* 2020. V. 11. № 15. P. 2137–2144. doi: 10.1021/acschemneuro.0c00335
41. Konstantinidou S.K., Papanastasiou I.P. // *Exp. Ther. Med.* 2020. V. 20. P. 1845–1855. doi: 10.3892/etm.2020.8905
42. Wang M., Cao R., Zhang L., Yang X., Liu J., Xu M., Shi Z., Hu Z., Zhong W., Xiao G. // *Cell Res.* 2020. V. 30. № 3. P. 269–271. doi: 10.1038/s41422-020-0282-0
43. Choy K.-T., Wong A.Y.-L., Kaewpreedee P., Sia S.F., Chen D., Hui K.P.Y., Chu D.K.W., Chan M.C.W., Cheung P.P.-H., Huang X., et al. // *Antiviral Res.* 2020. V. 178. P. 104786. doi: 10.1016/j.antiviral.2020.104786
44. Jin Z., Kinkade A., Behera I., Chaudhuri S., Tucker K., Dyatkina N., Rajwanshi V.K., Wang G., Jekle A., Smith D.B. // *Antiviral Res.* 2017. V. 143. P. 151–161. doi: 10.1016/j.antiviral.2017.04.005
45. Chen C., Zhang Y., Huang J., Yin P., Cheng Z., Wu J., Chen S., Zhang Y., Chen B., Lu M., et al. // *Front. Pharmacol.* 2021. V. 21. Art. 683296. doi: 10.3389/fphar.2021.683296
46. Cai Q., Yang M., Liu D., Chen J., Shu D., Xia J., Liao X., Gu Y., Cai Q., Yang Y., et al. // *Engineering.* 2020. V. 6. P. 1192–1198. doi: 10.1016/j.eng.2020.03.007
47. Ivashchenko A.A., Dmitriev K.A., Vostokova N.V., Azarova V.N., Blinow A.A., Egorova A.N., Gordeev I.G., Ilin A.P., Karapetian R.N., Kravchenko D.V., et al. // *Clin. Infect. Dis.* 2021. V. 73. P. 531–534. doi: 10.1093/cid/ciaa1176
48. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT04542694?term=favipiravir&draw=2&rank=47>
49. <https://www.pharmaceutical-technology.com/news/china-approves-favilavir-covid-19/>
50. Agrawal U., Raju R., Udwardia Z.F. // *Med. J. Armed. Forces India.* 2020. V. 76. № 4. P. 370–376. doi: 10.1016/j.mjafi.2020.08.004
51. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). 7-е изд. М.: МЗ РФ, 2020. 166 с. http://edu.rosminzdrav.ru MR_COVID-19_v7.pdf.
52. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 13.1 (17.11.2021). 236 с. <https://static-0.minzdrav.gov.ru BMP-13.1-from-17-11-2021.pdf>
53. Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения на 2021 год (<https://mine-med.ru/archive/p2021p1.pdf>).
54. Государственный реестр лекарственных средств – <https://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx?RegNumber=&MnnR=фавипиравир&lf=таблетки&TradeNmR=&OwnerName=&MnfOrg=&MnfOrgCountry=&isfs=0®type=1%2c6&pageSize=10&order=RegDate&orderType=desc&pageNum=1>
55. <https://lenta.ru/news/2021/11/12/lecheniecovid/>
56. Huchting J., Vanderlinden E., van Berwaer R., Meier C., Naesens L. // *Antiviral Res.* 2019. V. 167. P. 1–5. doi: 10.1016/j.antiviral.2019.04.002
57. De Vleeschauwer A.R., Lefebvre D.J., Willems T., Paul G., Billiet A., Murao L.E., Neyts J., Goris N., De Clercq K. // *Transboundary Emerging Diseases.* 2016. V. 63. № 2. P. e205–e212. doi: 10.1111/tbed.12255
58. Julander J.G., Furuta Y., Shafer K., Sidwell R.W. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007. V. 51. № 6. P. 1962–1966. doi: 10.1128/AAC.01494-06
59. Julander J.G., Shafer K., Smee D.F., Morrey J.D., Furuta Y. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009. V. 53. № 1. P. 202–209. doi: 10.1128/AAC.01074-08
60. Gowen B.B., Wong M.-H., Jung K.-H., Smee D.F., Morrey J.D., Furuta Y. // *Antiviral Res.* 2010. V. 86. № 2. P. 121–127. doi: 10.1016/j.antiviral.2009.10.015
61. Titova Y.A., Fedorova O.V. // *Chem. Heterocycl. Comp.* 2020. V. 56. № 6. P. 659–662. doi: 10.1007/s10593-020-02715-3
62. Al Bujug N. // *Synthesis.* 2020. V. 52. № 24. P. 3735–3750. doi: 10.1055/s-0040-1707386
63. Qin N., Min Q., Hu W. // *J. Compar. Chem.* 2020. V. 4. № 1. P. 1–11. doi: 10.12677/CC.2020.41001
64. Furuta Y., Egawa H. Патент № WO2000/010569. Япония. C07D 237/24 2006.1. 2000.
65. Egawa H., Furuta Y., Sugita J., Uehara S., Hamamoto S., Yonesawa K. Патент № WO 2001/060834. Япония. C07H 19/04 2006.1. 2001.
66. Hara H., Norimatsu N., Kurushima H., Kano T. Патент № 2011.0275817A1. США. C07D 241/16 2006.1. 2011.
67. Takamatsu T., Yonezawa K. Патент № WO 2009/041473. Япония. C07D 241/24 2006.1. 2009.
68. Liu F.-L., Li C.-Q., Xiang H.-Y., Feng S. // *Chem. Papers.* 2017. V. 71. № 11. P. 2153–2158. doi: 10.1007/s11696-017-0208-6
69. Shi F., Li Z., Kong L., Xie Y., Zhang T., Xu W. // *Drug Discov. Therapeut.* 2014. V. 8. № 3. P. 117–120. doi: 10.5582/ddt.2014.01028

70. Guo Q., Xu M., Guo S., Zhu F., Xie Y., Shen J. // *Chem. Papers*. 2019. V. 73. № 5. P. 1043–1051. doi: 10.1007/s11696-018-0654-9
71. Rabie A.M. // *Chem. Papers*. 2021. V. 75. № 9. P. 4669–4685. doi: 10.1007/s11696-021-01640-9
72. Seliem I.A., Girgis A.S., Moatasim Y., Kandeil A., Mostafa A., Ali M.A., Panda S.S. // *ChemMedChem*. 2021. V. 16. № 22. P. 3418–3427. doi: 10.1002/cmdc.202100476
73. Wu Y. Патент № 105884827. Китай. C07F 9/6509 2006.1. 2016.
74. Moshikur R.M., Ali M.K., Wakabayashi R., Moniruzzaman M., Goto M. // *Mol. Pharmaceut.* 2021. V. 18. № 8. P. 3108–3115. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.1c00324
75. Moshikur R.M., Chowdhury M.R., Wakabayashi R., Tahara Y., Moniruzzaman M., Goto M. // *Internat. J. Pharmaceut.* 2018. V. 546. № 1–2. P. 31–38. doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.05.021
76. Cai L., Sun Y., Song Y., Xu L., Bei Z., Zhang D., Dou Y., Wang H. // *Arch. Virol.* 2017. V. 162. № 9. P. 2847–2853. doi: 10.1007/s00705-017-3436-8
77. Wang G., Wan J., Hu Y., Wu X., Prhac M., Dyatkina N., Rajwanshi V.K., Smith D.B., Jekle A., Kinkade A. // *J. Med. Chem.* 2016. V. 59. № 10. P. 4611–4624. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b01933
78. Klejch T., Pohl R., Janeba Z., Sun M., Keough D.T., Guddat L.W., Hocková D. // *Tetrahed.* 2018. V. 74. № 40. P. 5886–5897. doi: 10.1016/j.tet.2018.08.014
79. Pertusati F., Serpi M., McGuigan C. // *Antiviral Chem. Chemother.* 2012. V. 22. № 5. P. 181–203. doi: 10.3851/IMP2012
80. Guo S., Xu M., Guo Q., Zhu F., Jiang X., Xie Y., Shen J. // *Bioorg. Med. Chem.* 2019. V. 27. № 5. P. 748–759. doi: 10.1016/j.bmc.2019.01.007
81. Pierra C., Counor C., Storer R., Gosselin G. // *Collect. Czech. Chem. Com.* 2011. V. 76. № 11. P. 1327–1333. doi: 10.1135/cccc2011089
82. Huchting J., Winkler M., Nasser H., Meier C. // *ChemMedChem*. 2017. V. 12. № 9. P. 652–659. doi: 10.1002/cmdc.201700116
83. Huchting J., Vanderlinden E., Winkler M., Nasser H., Naesens L., Meier C. // *J. Med. Chem.* 2018. V. 61. № 14. P. 6193–6210. doi: 10.1021/acs.jmedchem.8b00617
84. Bulatovski A., Zinchenko A. // *Biotehnologii moderne-soluții pentru provocările lumii contemporane*. 2021. C. 133–133. doi.org/10.52757/imb21.075
85. Arco J.D., Fernandez-Lucas J. // *Cur. Pharm. Des.* 2017. V. 23. № 45. P. 6898–6912. doi: 10.2174/1381612823666171017165707