

УДК 636.09:578.82/.83:57.083:547.75:616.98

ПРОТИВІРУСНА АКТИВНІСТЬ НОВИХ ІНДОЛ-ВМІСНИХ КОНДЕНСОВАНИХ ТЕТРАЦИКЛІЧНИХ СПОЛУК

*V. S. Tashuta*¹, *Z. S. Klestova*², *A. K. Voronina*³, *S. Dgebuadze*⁴
tashuta.victor@gmail.com, zklestova@yandex.ua

¹Інститут ветеринарної медицини НААН, вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151, Україна

²Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151, Україна

³Інститут фармакології та токсикології НАМН, вул. Ежена Потьє, 14, м. Київ, 03680, Україна

⁴Грузинський технічний університет, вул. Костава, 77, м. Тбілісі, 0175, Грузія

У статті представлено результати досліджень з визначення противірусної активності у 50 нових індол-вмісних конденсованих тетрациклічних сполуках щодо вірусів хвороби Ауескі та трансмісивного гастроентериту свиней у системі in vitro на моделі перещеплюваних культур клітин тварин (ВНК-21, СНЕВ, СК-6). Застосовували 5 схем внесення сполук на моношар клітин, який культивували у 96-лункових планшетках. Дослідними хімічними сполуками обробляли моношар клітин за 24 години до, під час та через 1,5 години після адсорбції вірусу на клітинах. Також у двох схемах до внесення вірусу на моношар клітин його змішували з хімічною сполукою з експозицією 1 година. Відбір хімічних сполук проводили на підставі пригнічення вірусіндукованого цитопатичного ефекту у культурі клітин тварин. Стан клітин на наявність цитопатичної дії контролювали кожні 24 години в інвертованому мікроскопі, а через 96 годин визначали титр інфекційної активності вірусів у дослідних і контрольних лунках. Встановлено, що частина досліджуваних похідних індолу діють тільки в окремих схемах застосування або культурах клітин, а інші — в різних. Визначено, що інфекційна активність вірусу хвороби Ауескі знижувалась (в діапазоні від $1,51 \pm 0,06$ до $5,38 \pm 0,09$ lg ТЦД₅₀/см³) при застосуванні 21 похідних індолу, 13 з яких зменшували титр у двох і більше культурах клітин, що свідчить про достовірний біологічний ефект. Встановлено, що 33 індол-вмісні сполуки знижували титр вірусу ТГС (в діапазоні від $1,52 \pm 0,08$ до $5,16 \pm 0,07$ lg ТЦД₅₀/см³), 12 з яких — у двох і більше культурах клітин. Встановлено, що 18 похідних індолу мають здатність знижувати інфекційну активність як вірусу хвороби Ауескі, так і вірусу трансмісивного гастроентериту свиней, що дає підстави для проведення клінічних випробувань в якості кандидатів у противірусні препарати.

Ключові слова: МДК (МАКСИМАЛЬНО ДОПУСТИМА КОНЦЕНТРАЦІЯ), ЦПЕ (ЦИТОПАТИЧНИЙ ЕФЕКТ), ПРОТИВІРУСНА АКТИВНІСТЬ, ІНДОЛ-ВМІСНІ СПОЛУКИ, ХВОРОБА АУЕСКІ, ТРАНСМІСИВНИЙ ГАСТРОЕНТЕРИТ СВИНЕЙ

ANTIVIRAL ACTIVITY OF NOVEL INDOLE-CONTAINING CONDENSED TETRACYCLIC COMPOUNDS

*V. S. Tashuta*¹, *Z. S. Klestova*², *A. K. Voronina*³, *S. Dgebuadze*⁴
tashuta.victor@gmail.com, zklestova@yandex.ua

¹Institute of Veterinary Medicine Academy of Agricultural Sciences, Donetska st., 30, Kyiv, 03151, Ukraine

²State Scientific Control Institute of Biotechnology and strains, Donetska st, 30, Kyiv, 03151, Ukraine

³Institute of Pharmacology and Toxicology NAMS, Eugène Pottier st., 14, Kyiv, 03680, Ukraine

⁴Georgian Technical University, Kostava st., 77, Tbilisi, 0175, Georgia

The article presents the results of determination in vitro of antiviral activity of 50 novel indole-containing condensed tetracyclenic compounds relatively Aujeszky's disease virus and transmissible

gastroenteritis in model of continuous animal cell cultures (BHK-21 SKEV, SK-6). 5 schemes have been applied to carry compounds in cell monolayers which were cultured in 96-well plates. Cell monolayer has been treated with studied chemicals for 24 hours before, during and in 1.5 hours after adsorption of the virus on the cells. Also in the two schemes before carrying virus in cell monolayer it was mixed with a chemical compound during 1 hour. Selecting of chemical compounds was carried out on the basis of inhibition of virus-induced cytopathic effect in animal cell cultures. Condition for the presence of cell-induced cytopathic effect was observed every 24 hours in the inverted microscope, and after 96 hours the titer of infectious activity of virus was determined in test and control wells. It was determined that some indole derivatives act only in certain schemes of application or cell cultures and other — in different. The infectivity of the Aujeszky's disease virus decreased (ranging from 1.51 ± 0.06 to 5.3 ± 0.09 lg TCD₅₀/cm³) in the application of 21 indole derivatives, 13 of which reduced the virus titer in two or more cell cultures, indicating the authentic biological effect. It was established that 33 indole-containing compounds reduced the titer of TGE virus (in the range of 1.52 ± 0.08 to 5.16 ± 0.07 lg TCD₅₀/cm³), 12 of which — in two or more cell cultures. 18 indole derivatives possess the ability to reduce the infectious activity as Aujeszky's disease virus and the TGE virus, which gives a base for further clinical trials as a candidate antiviral drug.

Keywords: MPC (MAXIMUM PERMISSIBLE CONCENTRATION), CPE (CYTOPATHIC EFFECT), ANTIVIRAL ACTIVITY, INDOLE-CONTAINING COMPOUNDS, AUJESZKY'S DISEASE, TRANSMISSIBLE GASTROENTERITIS

ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ИНДОЛ-СОДЕРЖАЩИХ КОНДЕНСИРОВАННЫХ ТЕТРАЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

*V. S. Tashuta*¹, *Z. S. Klestova*², *A. K. Voronina*³, *Sh. Dzebuadze*⁴
tashuta.victor@gmail.com, zklestova@yandex.ua

¹Институт ветеринарной медицины НААН, ул. Донецкая, 30,
м. Киев, 03151, Украина

²Государственный научно-контрольный институт биотехнологии
и штаммов микроорганизмов, ул. Донецкая, 30, г. Киев, 03151, Украина

³Институт фармакологии и токсикологии НАМН,
ул. Эжена Потье, 14, г. Киев, 03680, Украина

⁴Грузинский технический университет, ул. Костава, 77, г. Тбилиси, 0175, Грузия

В статье представлены результаты исследований по определению противовирусной активности в 50 новых индол-содержащих конденсированных тетрациклических соединениях относительно вирусов болезни Ауески и трансмиссивного гастроэнтерита свиней в системе in vitro на модели переживаемых культур клеток животных (ВНК-21 СПЭВ, SK-6). Применяли 5 схем внесения соединений на монослой клеток, который культивировали в 96-луночных планшетах. Исследуемыми химическими соединениями обрабатывали монослой клеток за 24 часа до, во время и через 1,5 часа после адсорбции вируса на клетках. Также в двух схемах до внесения вируса на монослой клеток его смешивали с химическим соединением с экспозицией 1 час. Отбор химических соединений проводили на основании угнетение вирусиндуцированного цитопатического эффекта в культуре клеток животных. Состояние клеток на наличие цитопатического действия контролировали каждые 24 часа в инвертированном микроскопе, а через 96 часов определяли титр инфекционной активности вирусов в исследуемых и контрольных лунках. Установлено, что часть исследуемых производных индола действуют только в отдельных схемах применения или культурах клеток, а остальные — в разных. Определено, что инфекционная активность вируса болезни Ауески снижалась (в диапазоне от $1,51 \pm 0,06$ до $5,3 \pm 0,09$ lg ТЦД₅₀/см³) при применении 21 производного индола, 13 из которых уменьшали титр в двух и более культурах клеток, что свидетельствует о достоверном биологическом эффекте. Установлено, что 33 индол-содержащих соединения снижали титр вируса ТГС (в диапазоне от $1,52 \pm 0,08$ до $5,16 \pm 0,07$ lg ТЦД₅₀/см³), 12 из которых — в двух и более культурах клеток. Установлено, что 18 производных индола обладают способностью

снижать инфекционную активность как вируса болезни Ауески, так и вируса ТГС, что дает основания для проведения дальнейших клинических испытаний в качестве кандидатов в противовирусные препараты.

Ключевые слова: МДК (МАКСИМАЛЬНО ДОПУСТИМАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ), ЦПЭ (ЦИТОПАТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ), ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ, ИНДОЛ-СОДЕРЖАЩИЕ СОЕДИНЕНИЯ, БОЛЕЗНЬ АУЕСКИ, ТРАНСМИССИВНЫЙ ГАСТРОЭНТЕРИТ СВИНЕЙ

Свинарство в Україні займає важливе місце в тваринництві. Важливу роль у розвитку галузі відіграють досягнення ветеринарної науки і практики в боротьбі, профілактиці та лікуванні інфекційних, інвазійних і незаразних хвороб свиней. Однак, незважаючи на активну роботу ветеринарної служби, деякі інфекційні хвороби становлять серйозну проблему. За епізоотичними даними МЄБ, Україна належить до країн із значним відсотком тварин, інфікованих вірусом хвороби Ауескі. І, незважаючи на досить широку вакцинацію свинопоголів'я проти цієї хвороби протягом тривалого часу, епізоотична ситуація не поліпшується. Хвороба Ауескі завдає значної шкоди країнам з розвиненим свинарством (США, Аргентина, Китай, Польща, Росія, Україна та інші). Економічний збиток визначається великими втратами від хвороби Ауескі (загибель свиней, зменшення приросту) і витратами, пов'язаними з необхідністю вакцинації, проведенням санітарних, протиепізоотичних та карантинних заходів [1–5].

Трансмисивний гастроентерит свиней (ТГС) рееструвався раніше в усіх країнах світу з інтенсивним веденням свинарства. За останні роки кількість спалахів хвороби суттєво зменшилась, але все-таки мають місце в США, Канаді, Перу, Мексиці, Китаї, Росії та інші. Хвороба заподіює великих економічних збитків за рахунок високої захворюваності новонароджених поросят і тотальної їх загибелі, втрат приросту живої маси у відгодівельних свиней і витрат на проведення ветеринарно-санітарних заходів [1, 3, 6, 7].

Ефективні засоби лікування хворих на хворобу Ауескі та ТГС, як вказують

вітчизняні та зарубіжні автори, не розроблені. Створення сучасного арсеналу засобів хіміотерапії вірусних інфекцій потребує комбінування емпіричного скринінгу зі спрямованим пошуком подібних сполук і розвитку нових, можливо, нетрадиційних напрямів [8]. У цьому плані особливу увагу, як потенційні речовини з противірусною активністю, привертають азотисті гетероциклічні сполуки, а саме, індол-вмісні сполуки, які володіють різноманітними властивостями, такими як протипухлинна, антибактеріальна, антигрибкова, протизапальна, протисудомна, протиаритмічна, гіпотензивна, анальгезуюча, антималярійна [9–12] та противірусна [13–22]. Варто зазначити, що у склад першого противірусного препарату — N₁-метилізатин-β-тіосемікарбазон (Metisazon[®], Marboran[®]), з яким і ознаменувався початок ери хіміотерапії вірусних інфекцій, входить біциклічна система похідного індолу [23, 24].

Мета досліджень — встановлення противірусної активності серед 50 нових індол-вмісних конденсованих тетрациклічних сполук у системі *in vitro* щодо вірусів хвороби Ауескі та ТГС.

Матеріали і методи

Дослідження нових похідних індолу, синтезованих групою науковців з Грузинського технічного університету під керівництвом Шоти Дгебуадзе, проводили в системі *in vitro* у 3 перещеплюваних культурах клітин (КК) тварин, таких як ВНК-21 (нирка сирійського новонародженого хом'яка), SK-6 (нирка свині), СНЕВ (нирка ембріона свині версенізована). Культури клітин були

отримані з Клітинного банку ліній з тканин людини та тварин Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України. Виявляли протівірусну активність похідних індолу щодо вірусів хвороби Ауескі (псевдосказ) і трансмісивного гастроентериту свиней (ТГС), які були надані Національним центром штамів мікроорганізмів України Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів. Перещеплювану культуру клітин вирощували в 96-лункових культуральних плоскодонних планшетах у CO₂-інкубаторі за температури 37 °С, 5 % вмісті CO₂ та 88 % вологості повітря. Через 24–48 год при сформуванні моношару клітин використовували 5 різних схем внесення похідних індолу до моношару клітин, що дало змогу спробувати подіяти на різноманітні етапи репродукції вірусів. Дослідними хімічними сполуками обробляли моношар клітин за 24 години до (профілактична схема), під час (лікувально-профілактична схема) та через 1,5 години після (лікувальна схема) адсорбції вірусу на клітинах. Також у двох схемах з виявлення віруліцидної дії до внесення вірусної суспензії на моношар клітин її змішували з хімічною сполукою у співвідношенні 1:1 з експозицією 1 година. У контролях проводили заміну поживного середовища на середовище без речовини та середовище з розчинником. В якості розчинника похідних індолу застосовували диметилсульфоксид.

Схеми введення похідних індолу в культуру клітин:

1. Лікувально-профілактична схема — у ряди лунок (по 4 лунки на розведення) з моношаром клітин вносили з 1 по 8 десятикратне розведення вірусної суспензії в об'ємі 150 мкл на лунку, потім у ці ж лунки вносили по 150 мкл МДК дослідних сполук.

2. Профілактична схема — у ряди лунок (по 4 лунки на розведення) з моношаром клітин вносили по 150 мкл МДК дослідних сполук у лунку, експозиція

24 години, після чого розчин видаляли та вносили з 1 по 8 десятикратне розведення вірусної суспензії в об'ємі 150 мкл в ці ж лунки.

3. Лікувальна схема — у ряди лунок (по 4 лунки на розведення) з моношаром клітин вносили з 1 по 8 десятикратне розведення вірусної суспензії в об'ємі 150 мкл на лунку. Після експозиції протягом 1,5 години з культури клітин видаляли нанесену раніше вірусну суспензію в різних концентраціях, і вносили в ряди лунок з культурою клітин по 150 мкл МДК дослідних сполук.

4. Віруліцидна схема I — експозиція нативної вірусної суспензії та подвійної МДК дослідної речовини протягом години у співвідношенні 1:1, після чого з 1 по 8 десятикратне розведення отриманої суспензії та внесення по 150 мкл на лунку (4 лунки на розведення) з моношаром клітин.

5. Віруліцидна схема II — експозиція подвійної МДК дослідної речовини з 1 по 8 десятикратне розведення нативної вірусної суспензії протягом години у співвідношенні 1:1, після чого внесення отриманої суспензії по 150 мкл на лунку (4 лунки на розведення) з моношаром клітин.

Відбір хімічних препаратів проводили на підставі пригнічення вірусіндукованого ЦПЕ у культурі клітин тварин. Стан клітин на наявність цитопатичної дії контролювали кожні 24 години в інвертованому мікроскопі, а через 96 годин визначали титр інфекційної активності вірусів в дослідних і контрольних лунках [25, 26]. Зниження інфекційної активності вірусів на 1,33 lg ТЦД₅₀/см³ вважали несуттєвим, тому статистичній обробці не піддавали. Статистичну обробку результатів проводили різноманітним методом Стьюдента.

Результати й обговорення

Досліджуючи різноманітними схемами протівірусні властивості 50 похідних індолу (всього 3468

експериментів), встановлено, що індол-вмісні сполуки під номерами GTU (Georgian Technical University): 13, 31, 38, 90, 116, 167, 170, 177, 185, 186, 187, 193, 200, 201 значно не знижували активність вірусів хвороби Ауескі та ТГС. Крім того, сполуки, які не впливали суттєво на зниження титру одного з вірусів, в той же час показували протівірусну дію щодо іншого. Так, похідні індолу під номерами

GTU: 14, 29, 34, 168, 169, 175, 176, 180, 184, 191, 192, 195, 196, 198, 199 взагалі або достатньо не знижували активність вірусу хвороби Ауескі, а, у свою чергу, протівірусну активність щодо вірусу ТГС не виявили лише у 3 похідних індолу: GTU-32, GTU-174, GTU-207. Результати дослідження перших десяти похідних індолу представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Максимальне зниження інфекційної активності *in vitro* вірусів хвороби Ауескі та трансмісивного гастроентериту свиней під дією індол-вмісних сполук (1-10)

Вірус	Зниження титру вірусу, lg ТЦД ₅₀ /см ³ , n=5, M±m									
	GTU 13	GTU 14	GTU 29	GTU 31	GTU 32	GTU 34	GTU 38	GTU 41	GTU 42	GTU 90
Хвороби Ауескі	≤1,33	≤1,33	≤1,33	≤1,33	1,83±0,04	≤1,33	≤1,33	1,94±0,03	1,84±0,07	≤1,33
ТГС	≤1,33	2,18±0,02	2,31±0,04	≤1,33	≤1,33	2,16±0,03	≤1,33	2,34±0,08	2,23±0,06	≤1,33

Сполука GTU-41 при профілактичній схемі в КК ВНК-21 знижувала титр вірусу хвороби Ауескі на 1,50±0,06 lg ТЦД₅₀/см³, в КК СК-6 — на 1,94±0,03 lg ТЦД₅₀/см³. Крім цього, спостерігали зниження активності вірусу ТГС при профілактичній схемі в КК ВНК-21 на 1,83±0,06 lg ТЦД₅₀/см³, в КК СК-6 — на 1,79±0,03 lg ТЦД₅₀/см³, а при лікувальній схемі в КК СНЕВ — на 2,34±0,08 lg ТЦД₅₀/см³.

Серед наступних десяти похідних індолу, представлених у таблиці 2,

привертають увагу сполуки GTU-168 та GTU-169, які в КК ВНК-21 знижували інфекційну активність вірусу ТГС при застосуванні у двох схемах. При лікувально-профілактичній та лікувальній схемах сполука GTU-168 знижувала титр вірусу на 1,97±0,08 та 2,83±0,09 lg ТЦД₅₀/см³ відповідно. Похідне індолу GTU-169 при застосуванні лікувальної та профілактичної схем сприяло зниженню титру вірусу на 2,83±0,11 та 2,94±0,04 lg ТЦД₅₀/см³ відповідно.

Таблиця 2

Максимальне зниження інфекційної активності *in vitro* вірусів хвороби Ауескі та трансмісивного гастроентериту свиней під дією індол-вмісних сполук (11-20)

Вірус	Зниження титру вірусу, lg ТЦД ₅₀ /см ³ , n=5, M±m									
	GTU 116	GTU 167	GTU 168	GTU 169	GTU 170	GTU 173	GTU 174	GTU 175	GTU 176	GTU 177
Хвороби Ауескі	≤1,33	≤1,33	≤1,33	≤1,33	≤1,33	1,67±0,07	2,16±0,05	≤1,33	≤1,33	≤1,33
ТГС	≤1,33	≤1,33	2,83±0,09	2,94±0,04	≤1,33	3,23±0,02	≤1,33	2,56±0,04	2,43±0,07	≤1,33

У результаті застосування щодо вірусу ТГС сполука GTU-176 в КК ВНК-21 при лікувально-профілактичній схемі зменшувала титр вірусу на 1,76±0,03 lg ТЦД₅₀/см³, а при профілактичній схемі в

КК ВНК-21 — на 2,17±0,05 та в КК СНЕВ — на 2,43±0,07 lg ТЦД₅₀/см³.

У таблиці 3 представлені результати досліджень похідних індолу, більшість яких мають протівірусну активність щодо

вірусів ТГС та хвороби Ауескі. Сполука GTU-178 знижувала при лікувальній схемі в КК SK-6 та СНЕВ титр вірусу хвороби Ауескі на $2,73 \pm 0,02$ та $2,68 \pm 0,04$ lg ТЦД₅₀/см³ відповідно. Титр вірусу ТГС знижувався при лікувально-профілактичній схемі в КК ВНК-21 на $3,87 \pm 0,07$ lg ТЦД₅₀/см³, в КК SK-6 — на $2,79 \pm 0,05$ lg

ТЦД₅₀/см³, в КК СНЕВ — на $2,94 \pm 0,11$ lg ТЦД₅₀/см³, при лікувальній схемі в КК ВНК-21 — на $2,98 \pm 0,09$ lg ТЦД₅₀/см³ та в КК СНЕВ — на $4,26 \pm 0,16$ lg ТЦД₅₀/см³, при профілактичній схемі в КК SK-6 — на $1,99 \pm 0,02$ lg ТЦД₅₀/см³.

Таблиця 3

Максимальне зниження інфекційної активності *in vitro* вірусів хвороби Ауескі та трансмісивного гастроентериту свиней під дією індол-вмісних сполук (21-30)

Вірус	Зниження титру вірусу, lg ТЦД ₅₀ /см ³ , n=5, M±m									
	GTU 178	GTU 179	GTU 180	GTU 181	GTU 183	GTU 184	GTU 185	GTU 186	GTU 187	GTU 191
Хвороби Ауескі	$2,73 \pm 0,02$	$3,83 \pm 0,17$	$\leq 1,33$	$4,67 \pm 0,08$	$1,83 \pm 0,02$	$\leq 1,33$	$\leq 1,33$	$\leq 1,33$	$\leq 1,33$	$\leq 1,33$
ТГС	$4,26 \pm 0,16$	$3,94 \pm 0,09$	$2,12 \pm 0,09$	$3,12 \pm 0,08$	$1,83 \pm 0,06$	$1,77 \pm 0,04$	$\leq 1,33$	$\leq 1,33$	$\leq 1,33$	$1,82 \pm 0,15$

Застосування індол-вмісної сполуки GTU-179 призводило до зниження інфекційної активності досліджуваних вірусів. Використовуючи лікувальну схему, відмітили, що титр вірусу хвороби Ауескі в КК ВНК-21 зменшувався на $2,16 \pm 0,13$ lg ТЦД₅₀/см³, в КК SK-6 — на $3,83 \pm 0,17$ lg ТЦД₅₀/см³. При цій же схемі знижувався титр вірусу ТГС, а саме, в КК ВНК-21 — на $3,94 \pm 0,09$ lg ТЦД₅₀/см³, в КК SK-6 — на $3,81 \pm 0,03$ lg ТЦД₅₀/см³, в КК СНЕВ — на $3,06 \pm 0,02$ lg ТЦД₅₀/см³. Інфекційна активність вірусу хвороби Ауескі знижувалась також при застосуванні у профілактичній схемі в КК ВНК-21 на $1,53 \pm 0,02$ та в КК SK-6 — на $3,74 \pm 0,09$ lg ТЦД₅₀/см³. Лікувально-профілактична схема застосування GTU-179 щодо вірусу ТГС виявилась ефективною, при чому титр вірусу в КК ВНК-21 знижувався на $2,96 \pm 0,03$ lg ТЦД₅₀/см³, в КК SK-6 — на $1,52 \pm 0,03$ lg ТЦД₅₀/см³, у КК SK-6 — на $1,97 \pm 0,02$ lg ТЦД₅₀/см³. Суттєво сприяла послабленню інфекційної активності вірусів в 3 схемах сполука GTU-181. Титр вірусу хвороби Ауескі при лікувально-профілактичній схемі в КК ВНК-21 знижувався на $4,23 \pm 0,07$ lg ТЦД₅₀/см³, у КК SK-6 — на $4,14 \pm 0,12$ lg ТЦД₅₀/см³, в КК СНЕВ — на $3,53 \pm 0,08$ lg ТЦД₅₀/см³, при лікувальній

схемі в КК ВНК-21 — на $4,67 \pm 0,08$ lg ТЦД₅₀/см³, у КК СНЕВ — на $3,73 \pm 0,06$ lg ТЦД₅₀/см³. Зниження титру вірусу ТГС спостерігали при лікувально-профілактичній схемі в КК ВНК-21 на $2,11 \pm 0,07$ lg ТЦД₅₀/см³, у КК SK-6 — на $2,94 \pm 0,05$ lg ТЦД₅₀/см³, в КК СНЕВ — на $2,98 \pm 0,02$ lg ТЦД₅₀/см³, при лікувальній схемі в КК ВНК-21 — на $2,16 \pm 0,04$ lg ТЦД₅₀/см³, у КК SK-6 — $3,12 \pm 0,08$ lg ТЦД₅₀/см³, при профілактичній схемі в КК ВНК-21 — на $1,83 \pm 0,04$ lg ТЦД₅₀/см³. Похідне індолу GTU-183 досить суттєво знижувало інфекційну активність обох вірусів. Титр вірусу хвороби Ауескі при лікувально-профілактичній схемі в КК ВНК-21 знижувався на $1,83 \pm 0,02$ lg ТЦД₅₀/см³, у КК СНЕВ — на $1,74 \pm 0,04$ lg ТЦД₅₀/см³, при лікувальній схемі в КК ВНК-21 — на $1,67 \pm 0,09$ lg ТЦД₅₀/см³, у КК СНЕВ — на $1,80 \pm 0,06$ lg ТЦД₅₀/см³. Також відмічали зниження титру вірусу ТГС при лікувальній схемі в КК ВНК-21 на $1,83 \pm 0,06$ lg ТЦД₅₀/см³ та в КК СНЕВ — на $1,59 \pm 0,05$ lg ТЦД₅₀/см³.

Індол-вмісні сполуки, представлені в таблиці 4, володіють противірусною активністю в різній мірі: одні суттєво, інші — незначно (ті, що знижували титр вірусу $\leq 1,33$ lg ТЦД₅₀/см³). Сполука GTU-192 при

лікувально-профілактичній схемі в КК СНЕВ знижувала титр вірусу ТГС на $1,53 \pm 0,07 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ та при профілактичній схемі в КК ВНК-21 — на $2,67 \pm 0,14 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$. Лікувальна схема із застосуванням сполуки GTU-194 виявилась ефективною щодо обох вірусів. У КК ВНК-21 титр вірусу хвороби Ауескі зменшувався на $1,66 \pm 0,03 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, а в КК СНЕВ титр вірусу ТГС — на $1,84 \pm 0,05 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$. Якщо сполука GTU-197 знижувала на $2,77 \pm 0,06 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ титр вірусу хвороби Ауескі тільки в КК СК-6

при профілактичній схемі, то щодо вірусу ТГС сполука була більш ефективною, спричинюючи зменшення титру при лікувально-профілактичній схемі в КК ВНК-21 на $2,33 \pm 0,04 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, у КК СНЕВ — на $2,36 \pm 0,05 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, при лікувальній схемі в КК СНЕВ — на $4,67 \pm 0,21 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, при профілактичній схемі в КК СНЕВ — на $4,41 \pm 0,13 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ та при віруліцидній схемі I — на $3,30 \pm 0,18 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$.

Таблиця 4

Максимальне зниження інфекційної активності *in vitro* вірусів хвороби Ауескі та трансмісивного гастроентериту свиней під дією індол-вмісних сполук (31-40)

Вірус	Зниження титру вірусу, $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, $n=5$, $M \pm m$									
	GTU 192	GTU 193	GTU 194	GTU 195	GTU 196	GTU 197	GTU 198	GTU 199	GTU 200	GTU 201
Хвороби Ауескі	$\leq 1,33$	$\leq 1,33$	$1,66 \pm 0,03$	$\leq 1,33$	$\leq 1,33$	$2,77 \pm 0,06$	$\leq 1,33$	$\leq 1,33$	$\leq 1,33$	$\leq 1,33$
ТГС	$2,67 \pm 0,14$	$\leq 1,33$	$1,84 \pm 0,05$	$2,33 \pm 0,12$	$1,93 \pm 0,07$	$4,67 \pm 0,21$	$2,64 \pm 0,14$	$1,98 \pm 0,06$	$\leq 1,33$	$\leq 1,33$

Застосування похідного індолу GTU-198 в КК СНЕВ при профілактичній схемі та в КК ВНК-21 при віруліцидній схемі I призводить до зниження титру вірусу ТГС на $1,67 \pm 0,04$ та $2,64 \pm 0,14 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ відповідно.

Останні десять досліджених індол-вмісних сполук, представлених у таблиці 5, мають противірусну активність щодо вірусу хвороби Ауескі, та дев'ять з них ефективно діють відносно вірусу ТГС. Сполука GTU-203 проявляла свою активність щодо обох вірусів при лікувальній схемі. Зниження титру вірусу хвороби Ауескі спостерігали в КК ВНК-21 на $2,67 \pm 0,07 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, у КК СК-6 — на $2,10 \pm 0,25 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ та в КК СНЕВ — на $3,34 \pm 0,08 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$. Титр вірусу ТГС зменшувався при дії сполуки в КК ВНК-21 на $2,78 \pm 0,04 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ та в КК СК-6 — на $3,56 \pm 0,14 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$. Найбільш ефективними для похідного індолу GTU-204 виявились лікувальна схема та віруліцидна схема II. Так, при лікувальній схемі титр вірусу хвороби Ауескі в КК ВНК-21 знижувався на $2,67 \pm 0,04 \lg$

$\text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, у КК СНЕВ — на $2,43 \pm 0,05 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, а при віруліцидній схемі II в КК СНЕВ — на $2,32 \pm 0,08 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$. При цьому титр вірусу ТГС зменшувався при лікувальній схемі в КК ВНК-21 на $3,83 \pm 0,08 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, у КК СК-6 — на $2,46 \pm 0,07 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, у КК СНЕВ — на $1,67 \pm 0,02 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, при віруліцидній схемі №2 у КК ВНК-21 — на $2,16 \pm 0,06 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$. Лікувальна схема була ефективною для сполуки GTU-205 щодо вірусу хвороби Ауескі в КК СНЕВ та вірусу ТГС в КК СК-6, знизивши при цьому титр вірусів на $2,94 \pm 0,08$ та $3,11 \pm 0,02 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ відповідно. Похідне індолу GTU-206 при лікувальній схемі в КК ВНК-21 знижало титр вірусу хвороби Ауескі на $1,83 \pm 0,05 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, у КК СК-6 — на $2,47 \pm 0,06 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, при профілактичній схемі в КК ВНК-21 — на $1,92 \pm 0,11 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, при лікувальній схемі в КК СК-6 зменшувало титр вірусу ТГС на $3,23 \pm 0,06 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$. Індол-вмісна сполука GTU-207 сприяла значному зниженню титру лише вірусу хвороби Ауескі, а саме, при профілактичній схемі в

КК ВНК-21 — на $1,88 \pm 0,06 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, у КК SK-6 — на $2,66 \pm 0,08 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$. Знизивши титр вірусу хвороби Ауескі при профілактичній схемі в КК ВНК-21 на $1,82 \pm 0,04$, у КК SK-6 — на $3,16 \pm 0,24 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, а при лікувальній схемі в КК ВНК-21 — на $2,0 \pm 0,02 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, сполука GTU-208 сприяла зниженню титру вірусу ТГС на $2,07 \pm 0,02 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ тільки при лікувальній схемі в КК SK-6. Лікувальна схема виявилась досить ефективною при застосуванні сполуки GTU-209 щодо обох вірусів. Відмічали зниження титру вірусу хвороби Ауескі в КК ВНК-21 на $4,73 \pm 0,05 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, у КК SK-6 — на $3,73 \pm 0,08 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, у КК СНЕВ — на $4,68 \pm 0,16 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$. Титр

вірусу ТГС був знижений на $3,34 \pm 0,09 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ у КК ВНК-21 та на $4,33 \pm 0,12 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ у КК СНЕВ. Крім цього, зниження інфекційної активності вірусу хвороби Ауескі спостерігали при профілактичній схемі в КК СНЕВ на $4,15 \pm 0,08 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ та $2,83 \pm 0,05 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ вірусу ТГС при лікувально-профілактичній схемі в КК SK-6. Застосовуючи сполуку GTU-210 щодо вірусу хвороби Ауескі, титр знижувався при лікувально-профілактичній схемі в КК ВНК-21 на $2,67 \pm 0,06 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, при лікувальній схемі в КК ВНК-21 — на $5,26 \pm 0,14 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, при профілактичній схемі — на $1,94 \pm 0,02 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$.

Таблиця 5

Максимальне зниження інфекційної активності *in vitro* вірусів хвороби Ауескі та трансмісивного гастроентериту свиней під дією індол-вмісних сполук (40-50)

Вірус	Зниження титру вірусу, $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, $n=5$, $M \pm m$									
	GTU 203	GTU 204	GTU 205	GTU 206	GTU 207	GTU 208	GTU 209	GTU 210	GTU 211	GTU 212
Хвороби Ауескі	$3,34 \pm 0,08$	$2,67 \pm 0,04$	$2,94 \pm 0,08$	$2,47 \pm 0,06$	$2,66 \pm 0,08$	$3,16 \pm 0,24$	$4,73 \pm 0,05$	$5,26 \pm 0,14$	$4,21 \pm 0,12$	$5,38 \pm 0,09$
ТГС	$3,56 \pm 0,14$	$3,83 \pm 0,08$	$3,11 \pm 0,02$	$3,23 \pm 0,06$	$\leq 1,33$	$2,07 \pm 0,02$	$4,33 \pm 0,12$	$3,88 \pm 0,07$	$4,73 \pm 0,18$	$5,16 \pm 0,07$

Сполука GTU-210 також виявила противірусну активність щодо вірусу ТГС, знижуючи титр при лікувально-профілактичній схемі в КК ВНК-21 на $1,95 \pm 0,04$, в КК SK-6 — на $2,83 \pm 0,04$, при лікувальній схемі в КК ВНК-21 — на $3,88 \pm 0,07 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, у КК SK-6 — на $2,83 \pm 0,04 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, при лікувальній схемі в КК ВНК-21 — на $3,88 \pm 0,07 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, у КК СНЕВ — на $3,31 \pm 0,23 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, при віруліцидній схемі II — в КК SK-6 — на $3,67 \pm 0,08 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$. Найбільш ефективною схемою застосування похідного індолу GTU-211 виявилась лікувальна, при якій титр вірусу хвороби Ауескі в КК ВНК-21 знижався на $3,56 \pm 0,02 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, у КК SK-6 — на $4,21 \pm 0,12 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, у КК СНЕВ — на $3,26 \pm 0,07 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, а титр вірусу ТГС зменшувався в КК ВНК-21 на $4,73 \pm 0,18 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, у КК SK-6 на $1,52 \pm 0,08 \lg$

$\text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, в КК СНЕВ — на $2,98 \pm 0,04 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$. Зменшення інфекційної активності вірусу ТГС спостерігали також при лікувально-профілактичній схемі в КК SK-6 на $1,83 \pm 0,07 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ та при віруліцидній схемі II в КК ВНК-21 — на $1,59 \pm 0,06 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, у КК SK-6 — на $1,67 \pm 0,04 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$. Індол-вмісна сполука GTU-212 впливала на зниження титру вірусу хвороби Ауескі при лікувальній схемі в КК ВНК-21 на $2,83 \pm 0,11 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, в КК SK-6 — на $5,26 \pm 0,17 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, у КК СНЕВ — на $5,38 \pm 0,09 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, при профілактичній схемі в КК SK-6 — на $1,56 \pm 0,05 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, у КК СНЕВ — на $4,33 \pm 0,14 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, при лікувально-профілактичній схемі в КК SK-6 — на $1,84 \pm 0,03 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, при віруліцидній схемі II у КК ВНК-21 — на $1,67 \pm 0,15 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, у КК SK-6 — на $4,93 \pm 0,25 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$. Крім

цього, сполука GTU-212 зменшувала інфекційну активність вірусу ТГС при лікувальній схемі в КК ВНК-21 на $5,12 \pm 0,09 \text{ lg TЦД}_{50}/\text{cm}^3$, у КК СК-6 — на $4,94 \pm 0,06 \text{ lg TЦД}_{50}/\text{cm}^3$, у КК СНЕВ — на $5,16 \pm 0,07 \text{ lg TЦД}_{50}/\text{cm}^3$, при лікувально-профілактичній схемі в КК ВНК-21 — на $1,96 \pm 0,04 \text{ lg TЦД}_{50}/\text{cm}^3$, у КК СК-6 — на $4,38 \pm 0,13 \text{ lg TЦД}_{50}/\text{cm}^3$, при віруліцидній схемі П — в КК ВНК-21 на $1,83 \pm 0,04 \text{ lg TЦД}_{50}/\text{cm}^3$, у КК СК-6 — на $3,17 \pm 0,02 \text{ lg TЦД}_{50}/\text{cm}^3$, при профілактичній схемі в КК СК-6 — на $2,83 \pm 0,03 \text{ lg TЦД}_{50}/\text{cm}^3$.

Висновки

1) При застосуванні *in vitro* нових індол-вмісних конденсованих тетрациклічних сполук для зниження інфекційної активності збудників (вірусів) трансмісивного гастроентериту свиней і хвороби Ауескі лікувальна схема є найбільш ефективною.

2) Встановлено, що частина досліджуваних похідних індолу діють тільки в окремих схемах застосування або культурах клітин, а інші в різних.

3) Визначено, що інфекційна активність вірусу хвороби Ауескі знижувалась (в діапазоні від $1,51 \pm 0,06$ до $5,38 \pm 0,09 \text{ lg TЦД}_{50}/\text{cm}^3$) при застосуванні 21 похідних індолу, 13 з яких зменшували титр в двох і більше культурах клітин, що свідчить про достовірний біологічний ефект.

4) Встановлено, що 33 індол-вмісні сполуки знижували титр вірусу ТГС (у діапазоні від $1,52 \pm 0,08$ до $5,16 \pm 0,07 \text{ lg TЦД}_{50}/\text{cm}^3$), 12 з яких — у двох і більше культурах клітин.

5) Встановлено, що 18 похідних індолу мають здатність знижувати інфекційну активність як вірусу хвороби Ауескі, так і вірусу трансмісивного гастроентериту свиней, що дає підстави для проведення клінічних випробувань в якості кандидатів у противірусні препарати.

Перспективи подальших досліджень. Отримані дані дають змогу рекомендувати нові досліджені індол-вмісні конденсовані тетрациклічні сполуки

щодо подальшого їх доклінічного (на лабораторних тваринах) і клінічного дослідження з метою відбору найбільш ефективних для створення антивірусних препаратів проти герпесвірусів та коронавірусів, які є збудниками небезпечних захворювань людини і тварин.

Подяка. Висловлюємо щирю вдячність Реуцькій Т. Є., Мельниченко О. М. та Дремух Ю.Ю. за всебічну допомогу при виконанні цієї роботи, яка проведена за фінансової підтримки Українського науково-технологічного центру (проект P450).

1. World Animal Health Information Database (WAHID) Interface. Available at: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap

2. Karysheva A. F. *Specialna epizootologiya* [Special epizootology]. Kyiv, Vyshya Osvita Publ., 2002. 703 p. (In Ukrainian)

3. Tashuta S. G. *Virusna patologiya tvaryn* [Viral pathology of animals]. Kyiv, Agrar Media Grup Publ., 2013. 399 p. (In Ukrainian)

4. Dostoevsky P. Horzheyev V. Sobko A. Ozdorovlenya svynars'kykh gospodarstv vid zbudnyka khvoroby Aueski [Improvement of pig farms on the Aujeszky pathogen]. *Veterynarna Medycyna Ukrayiny — Veterinary Medicine of Ukraine*, 1997, no. 2, pp. 20–21 (in Ukrainian)

5. Konarzhovsky K., A. Tsymbal, V. Babkin. Likvidatsiya khvoroby Aueski v hospodarstvi [The elimination of the Aujeszky's disease on the farm]. *Veterynarna Medycyna Ukrayiny — Veterinary Medicine of Ukraine*, 1999, no. 6, p. 29 (in Ukrainian)

6. Syurin V. N., Samuylenko A. Ya., Solovov B. V., Fomina N. V. *Virusnye bolezni zhyvotnykh* [Virus diseases of animals]. Moscow, VNITIBP Publ, 1998. 928 p. (In Russian).

7. Saif L. J., Sestak K. Transmissible gastroenteritis virus and porcine respiratory coronavirus. In: *Diseases of Swine, 9th ed.* Ames, IA, Blackwell Publ, 2006, pp. 489–516.

8. Kalinina O. S., Panikar I. I, Skybitsky V. G. *Veterynarna virusologiya* [Veterinary Virology]. Kyiv, Vyshya Osvita Publ., 2004, pp. 257–261 (in Ukrainian)

9. Abdel-Rahman Farghaly. Synthesis of some new indole derivatives containing pyrazoles with potential antitumor activity. *Arkivoc*, 2010, 11, pp. 177–187.

10. Srivastava Anupam, S. N. Pandeya. «Indole» a versatile nucleus in Pharmaceutical Field. *International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research*, 2011, 1, (3), p 17.
11. Frederich M., Tits M, Angenot L. Potential antimalarial activity of indole alkaloids. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2008, 102, pp. 11–19.
12. Heda L. C., Rashmi Sharma, Pareek C. and. Chaudhari P. B. Synthesis and antimicrobial activity of some derivatives of 5-substituted indole dihydropyrimidines. *E-Journal of chemistry*, 2009, 6, (3), pp. 770–774.
13. *Antiviral drugs: from basic discovery through clinical trials*. Ed. by Wieslaw M. Kazmierski. Singapore, Wiley Publ., 2011, pp. 149–151.
14. Delekta P. C., Dobry C. J., Sindac J. A., Barraza S. J., Blakely P. K., Xiang J., Kirchhoff P. D., Keep R. F., Irani D. N., Larsen S. D., Miller D. J. Novel indole-2-carboxamide compounds are potent broad spectrum antivirals active against western equine encephalitis virus in vivo. *J. Virol.*, 2014, 88, (19), pp. 11199–214.
15. Pande A., Agarwal S., Saxena V. K., Khan M. M. A. A., Chowdhary B. L. Synthesis and antiviral activity of some new indole derivatives. *Indian J. of Pharmaceutical Sciences*, 1987, 49, (3), pp. 85–88.
16. Nalan Terzioğlu, Nilgün Karah, Aysel Gürsoy, Christophe Pannecouque, Pieter Leysen, Jan Paeshuyse, Johan Neyts, Erik De Clercq. Synthesis and primary antiviral activity evaluation of 3-hydrazono-5-nitro-2-indolinone derivatives. *Arkivoc*, 2006, 2006, (1), pp. 109–118.
17. Situ Xue, Linlin Ma, Rongmei Gao, Yuhuan Li, Zhuorong Li. Synthesis and antiviral activity of some novel indole-2-carboxylate derivatives. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2014, 4, (4), pp. 313–321.
18. Tonelli M. Antiviral activity of benzimidazole derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2010, 18, pp. 2937–2953.
19. Dun Wang, De Sheng YU, Fang QIN, Lin Fang, Ping GONG. Synthesis and In Vitro antiviral activities of some new 2-arylthiomethyl-4-tertiaryaminomethylsubstituted derivatives of 6-bromo-3-ethoxycarbonyl-5-hydroxyindoles. *Chinese chemical letters*, 2004, 15, (1), pp. 19–22.
20. Mehta D. S., Sikotra K. H., and Shah V. H. Synthesis and biological screening of some new novel indole derivatives. *Indian J. Chem.*, 2005, 44, (12), pp. 2590–2597.
21. Taylor D. L., Ahmed P. S., Chambers P., Tyms A. S., Bedard J., Duchaine J., Falardeau G., Lavallée J. F., Brown W., Rando R. F., Bowlin T. Pyrido [1,2a] indole derivatives identified as novel non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors of human immunodeficiency virus type. *Antiviral Chemistry & Chemotherapy*, 1999, 10, pp. 79–86.
22. Giampieri M., Balbi A., Mazzei M., Colla P. La., Ibba C., Loddo R.. Antiviral activity of indole derivatives. *Antiviral Res.*, 2009, 83, (2), pp. 179–185.
23. Shahina Ali. *Synthesis and biological studies of some indole derivatives*. PhD in Pharmacy diss. Lahore, 1999. 269 p.
24. Abdel-Gawad H., Mohamed H. A., Dawood K. M., Badria F. A. Synthesis and antiviral activity of new indole-based heterocycles. *Chem Pharm Bull*, 2010, 58, (11), pp. 1529–1531.
25. *Rukovodstvo po eksperimentalnomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshstv*. Pod red. R.U. Khabrieva. 2-e izd : dop. i pererab. [A Manual on experimental (preclinical) studies of new pharmacological substances]. Moscow, Medicina Publ., 2005, pp. 532–557. (In Russian)
26. *Doklinichni doslidzhennya likarskukh zasobiv*. Za red. O. V. Stephanova [Preclinical studies of drugs]. Kyiv, Avicena Publ., 2001, pp. 371–384. (In Ukrainian)