



Противовирусная активность новых фосфорорганических соединений *in vitro*

Зимин М. С., Лилеева Е. Г.

ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет», Ярославль, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. Поиск новых противовирусных соединений остаётся приоритетной задачей в связи с ростом резистентности патогенов. Фосфонаты, характеризующиеся стабильной связью углерод–фосфор, представляют собой перспективный класс фосфорорганических производных. Однако данные о противовирусной активности новых синтетических фосфонатов в отношении альфагерпесвирусов ограничены.

Цель исследования. Оценка цитотоксичности и противовирусной активности пяти новых фосфонатов (SAN-1, SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2) в отношении вируса псевдобешенства (SuHV-1) на культуре клеток Vero.

Методы. Инфекционный титр вируса определяли по методу Рида и Менча. Цитотоксичность оценивали с помощью визуальной микроскопии и количественного МТТ-теста через 72 ч инкубации. Противовирусную активность изучали по снижению вирус-индуцированного цитопатического действия (ЦПД) и уменьшению титра вируса ($\lg$ ТЦД₅₀/мл) с расчётом по методу Спирмена–Кербера. Все соединения тестировали в диапазоне концентраций 100–0,0001 мкг/мл.

Результаты. Титр вируса SuHV-1 составил $7,08 \pm 0,17 \lg$ ТЦД₅₀/мл, что подтвердило пригодность вирусной суспензии для скрининга. Ни один из тестируемых фосфонатов не проявил цитотоксичности в концентрациях до 100 мкг/мл; жизнеспособность клеток варьировала от 92 до 96 % по сравнению с интактным контролем. Четыре соединения (SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2) показали выраженную противовирусную активность, обеспечивая защиту клеточного монослоя на уровне 72–82,5 % и снижение титра вируса на 2,25–2,63 $\lg$. Соединение SAN-1 продемонстрировало слабую активность (защита клеток 20 %). Наилучший эффект зафиксирован для DII-C2 (82,5 % защиты).

Заключение. Фосфонаты SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2 обладают низкой цитотоксичностью и значимой противогерпесвирусной активностью *in vitro*. Данные соединения являются перспективными кандидатами для дальнейшего доклинического изучения в качестве потенциальных противовирусных средств.

Ключевые слова: фосфонаты; цитотоксическая активность; противовирусное действие; вирус псевдобешенства (болезнь Аujeszky); клетки Vero

Для цитирования:

Зимин М. С., Лилеева Е. Г. Противовирусная активность новых фосфорорганических соединений *in vitro*. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2026;(2): 30–36. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-30-36>. EDN: MQAWNPN

Поступила: 09.06.2026. **В доработанном виде:** 25.06.2026. **Принята к печати:** 28.06.2026. **Опубликована:** 30.06.2026.

Antiviral activity of new organophosphorus compounds *in vitro*

Maxim S. Zimin, Elena G. Lileeva

Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation

Abstract

Background. The search for new antiviral compounds is a priority due to growing pathogen resistance. Phosphonates, characterized by a stable carbon–phosphorus bond, represent a promising class of organophosphorus derivatives. However, data on the antiviral activity of newly synthesized phosphonates against alphaherpesviruses remain limited.

Objective. To evaluate the cytotoxicity and antiviral activity of five novel phosphonates (SAN-1, SAN-2, SAN-3, SAN-4, and DII-C2) against pseudorabies virus (SuHV-1) in Vero cell culture.

Methods. The infectious virus titer was determined using the Reed–Muench method. Cytotoxicity was assessed by visual microscopy and quantitative MTT assay after 72 h of incubation. Antiviral activity was evaluated by measuring the reduction of virus-induced cytopathic effect (CPE) and calculating virus titer reduction ($\log_{10}$ TCID₅₀/mL) using the Spearman–Kärber method. All compounds were tested at a concentration range of 100–0.0001 $\mu\text{g/mL}$.

Results. The SuHV-1 virus titer was $7.08 \pm 0.17 \lg$ TCID₅₀/mL, confirming its suitability for screening. None of the tested phosphonates exhibited cytotoxicity at concentrations up to 100 $\mu\text{g/mL}$, with cell viability ranging from 92 to 96 % relative to untreated controls. Four compounds (SAN 2, SAN 3, SAN 4, and DII C2) showed pronounced antiviral activity, providing 72–82.5 % cell protection and reducing virus titers by 2.25–2.63 $\log_{10}$. SAN 1 demonstrated weak activity (20 % protection). The highest efficacy was observed for DII C2 (82.5 % protection).

Conclusion. SAN 2, SAN 3, SAN 4, and DII C2 exhibit low cytotoxicity and significant anti SuHV 1 activity *in vitro*. These compounds are promising candidates for further preclinical studies as potential antiviral agents.

Keywords: phosphonates; cytotoxicity; antiviral activity; pseudorabies virus (Aujeszky's disease); Vero cells

For citations:

Zimin MS, Lileeva EG. Antiviral Activity of New Organophosphorus Compounds *in vitro*. *Farmakokinetika i farmakodinamika* = Pharmacokinetics and pharmacodynamics. 2026;(2):30–36. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-30-36>. EDN: MQAWNPN

Received: 09.06.2026. **Revision received:** 25.06.2026. **Accepted:** 28.06.2026. **Published:** 30.06.2026.

Введение / Introduction

Несмотря на успехи современной фармакологии, поиск новых противовирусных препаратов остаётся одной из приоритетных задач, особенно на фоне роста резистентности патогенов к существующим лекарственным средствам. Среди перспективных классов соединений особое место занимают фосфорорганические производные. Фосфонаты представляют собой класс соединений, содержащих стабильную связь углерод–фосфор (C–P), что обуславливает их высокую устойчивость к химическому и ферментативному гидролизу по сравнению с природными фосфатами. Благодаря структурному сходству с метаболитами клетки они способны выступать в качестве ингибиторов различных ферментов, участвующих в синтезе нуклеиновых кислот [1–3]. Ряд соединений фосфонатов уже нашёл применение в клинической практике в качестве противовирусных (например, цидофовир, тенофовир) и антибактериальных средств. В связи с этим синтез и изучение новых фосфонатов с целью поиска соединений, обладающих выраженной противовирусной активностью и низкой токсичностью, является актуальным направлением [4, 5].

Цель исследования — изучение цитотоксичности и противовирусной активности пяти новых фосфонатов (SAN-1, SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2) в отношении вируса псевдобешенства. В работе определяли инфекционный титр вируса, оценивали цитотоксическое действие соединений визуальным методом и с помощью МТТ-теста, а также анализировали их способность защищать клеточный монослой от цитопатогенного эффекта. Полученные данные позволяют выявить наиболее перспективные соединения для дальнейших исследований.

Материалы и методы / Materials and methods

Для проведения исследований были использованы:

- Пять соединений фосфонатов, синтезированные сотрудниками Химического института имени А.М. Бутлерова Казанского (Приволжского) федерального университета: О-диэтил(гидроксиметил)фосфонат (SAN-1), О-диизопропил(гидроксиметил)фосфонат (SAN-2), О-калий, О-бутил(гидроксиметил)фосфонат (SAN-3), О-калий, О-изобутил(гидроксиметил)фосфонат (SAN-4), йодид N,N,N-триэтил-(О,О-диизопропилфосфорилметил) аммония (DII-C2). Растворение всех исследуемых соединений производилось в среде DMEM с содержанием глюкозы 1 г/л. Для веществ, находящихся в твёрдой форме (SAN-3, SAN-4, DII-C2), навеску добавляли в указанную среду, доводя концентрацию исходного раствора до 100 мкг/мл. Жидкие вещества (SAN-1, SAN-2) отбирали по объёму с последующим разбавлением в среде DMEM. Приготовленные таким образом исходные растворы

подвергали стерилизации методом фильтрации с использованием мембранных фильтров, диаметр пор которых составлял 0,22 мкм, после чего применяли свежеприготовленными [6].

- Культура клеток Vero (почка африканской зелёной мартышки), получена из коллекционного фонда лаборатории иммунобиологических препаратов Ярославского филиала ФГБУ «Информационно-методический центр по экспертизе, учёту и анализу обращения средств медицинского применения» Росздравнадзора (сокращенно — ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора) [6, 7].

- Вирус псевдобешенства (Ауески) SuHV-1, полученный из государственной коллекции штаммов микроорганизмов, принадлежащей ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (сокращенно — ФГБУ «ВНИИЗЖ»), наработку вирусной суспензии проводили на перевиваемой линии клеток Vero [7].

Проведение испытания. Определение инфекционной активности вируса проводили на сформированном монослое перевиваемых клеток Vero, выращенных в 96-луночных планшетах. Для посева в каждую лунку добавляли 100 мкл клеточной суспензии в концентрации 10^5 клеток/мл. Культивирование проводили в течение 24–72 часов при температуре 37 °C в атмосфере 5 % углекислого газа и влажности более 80 %. В работе использовали вирус 5-го пассажа. Из размороженной вирусной суспензии готовили последовательные десятикратные разведения от 10^{-1} до 10^{-10} . Из планшетов с сформированным монослоем удаляли питательную среду и вносили по 100 мкл каждого разведения вируса, используя по 4 лунки на одно разведение. Контроль — 16 лунок с поддерживающей средой. Через 48 ч инкубации оценивали ЦПД (цитопатическое действие) под микроскопом. Титр рассчитывали по Риду и Менчу и выражали в $\lg \text{TCID}_{50}/\text{мл}$ (десятичный логарифм 50 % тканевой цитопатогенной дозы в 1 мл суспензии вируса). Титрование вируса выполняли два оператора, каждый в двух повторах, на одном пассаже и одной серии питательной среды. Статистическую обработку данных выполняли с использованием программного обеспечения MS Excel [7–9].

Для последующей оценки противовирусной активности фосфонатов предварительно определяли их цитотоксичность. Испытание проводили на монослое культуры клеток Vero, выращенном в 96-луночном планшете. В первый вертикальный ряд лунок вносили 180 мкл ростовой среды и 20 мкл исследуемых соединений в концентрации 100 мкг/мл. Далее методом последовательных разведений готовили растворы фосфонатов с конечными концентрациями 100, 10, 0,1, 0,01, 0,001 и 0,0001 мкг/мл. Из планшета с монослоем удаляли среду, промывали фосфатно-солевым буфером (PBS), вносили по 180 мкл разведений веществ. Контроль — 8 лунок со средой. Инкубировали 72 ч, затем исследовали под инвертированным микроскопом. Испытание проводили в трёх повторах [6].

Для количественного подтверждения провели МТТ-тест. Клетки обрабатывали фосфонатами в концентрации 100 мкг/мл, инкубировали 72 ч. В лунки с монослоем вносили по 100 мкл раствора фосфонатов (100 мкг/мл, три повтора). Контроль клеток (КК+) — 6–8 лунок с клетками и средой без фосфонатов (приняты за 100% жизнеспособности). Контроль растворителя — фосфонаты 100 мкг/мл (три повтора). Бланк — 4 лунки только со средой, без клеток. После внесения образцов планшет инкубировали 72 ч при 37 °С.

Затем готовили маточный раствор МТТ 5 мг/мл в PBS, стерилизовали через фильтр 0,22 мкм, защищали от света. Из лунок (кроме бланка) удаляли среду, вносили 100 мкл свежей среды без сыворотки и 10 мкл МТТ (конечная концентрация красителя 0,5 мг/мл). Инкубировали 4 ч при 37 °С. Надосадочную жидкость удаляли, кристаллы формазана растворяли в 150 мкл ДМСО на шейкере 10–15 мин. Оптическую плотность (ОП) измеряли при 540–570 нм (референс 620–650 нм). Из значений ОП опытных и контрольных лунок вычитали среднее значение ОП бланка. Жизнеспособность = (ОП опыта / ОП контроля клеток) × 100 % [10].

Противовирусные свойства фосфонатов изучали на модели вируса псевдобешенства (Ауески) в культуре клеток Vero, с дополнительным проведением МТТ-теста. В первый ряд лунок вносили 160 мкл поддерживающей среды, 20 мкл фосфонатов (100 мкг/мл) и 20 мкл вируса Ауески, после чего проводили титрование. Для теста использовали монослой Vero в 96-луночном планшете. После удаления культуральной жидкости из планшета с монослоем клетки отмывали фосфатно-солевым буфером (PBS), после чего вносили по 200 мкл приготовленных разведений соединений, смешанных с вирусом. В качестве контроля клеточного роста использовали лунки, содержащие 200 мкл поддерживающей среды без добавления веществ и вируса. Контролем репликации вируса служили лунки, в которые вносили 180 мкл питательной среды и 20 мкл вирусной суспензии. Планшеты инкубировали 72 ч, затем просматривали под микроскопом для оценки снижения титра вируса. Титр рассчитывали по методу Спирмена–Кербера в $\lg \text{ТЦД}_{50}/0,1 \text{ мл}$ [11–13].

Для количественного подтверждения провели МТТ-тест. За 3–4 дня до эксперимента клетки Vero посеяли в 96-луночный планшет. Приготовили десятикратные разведения вируса (от 10^{-1} до 10^{-8}) в среде с 2 % FBS, внесли по 100 мкл на лунку (4–6 лунок на разведение). Контроль — лунки без вируса. Через 72 ч провели МТТ-тест, определили рабочее разведение вируса, вызывающее гибель 90–100 % клеток.

Для оценки противовирусной активности использовали фосфонаты в концентрации 100 мкг/мл. Из планшета с монослоем Vero удалили среду, внесли по 50 мкл препарата (три повтора) и по 50 мкл рабочего разведения вируса. Контроли (по три повтора):

контроль клеток (КК) — 100 мкл среды с клетками; контроль вируса (КВ) — 50 мкл среды + 50 мкл вируса; контроль токсичности препарата — 100 мкл фосфонатов 100 мкг/мл без вируса. Планшет инкубировали 72 ч в CO_2 -инкубаторе. Затем провели МТТ-тест: удалили среду, добавили свежую среду без сыворотки с МТТ, через 4 часа кристаллы формазана растворили в ДМСО и измерили оптическую плотность при 540–570 нм (референс 620–650 нм).

Результаты и обсуждения / Results and discussions

Определение значения титра вируса псевдобешенства (Ауески). На первом этапе определили титр вируса SuHV-1 на культуре Vero и проверили пригодность вирусных суспензий для дальнейших исследований по оценке активности новых фосфонатов.

Через 48 часов после инкубации вирус SuHV-1 вызывал в культуре клеток Vero характерные цитопатические изменения: интактный монослой, представленный клетками с типичной фибробластоподобной морфологией (веретенновидная форма, чёткие границы), полностью разрушался, клетки утрачивали вытянутую форму, приобретали округлые очертания, слипались между собой, а монослой дезинтегрировался с образованием множественных разрывов [7].

При титровании вирусной суспензии установлено, что в разведениях от 10^{-1} до 10^{-5} включительно цитопатический эффект регистрировался во всех лунках (100%) в каждой из четырёх повторностей (два оператора, два повтора). В разведении 10^{-6} доля поражённых лунок варьировала от 50 до 75 % в зависимости от повтора, тогда как в разведениях 10^{-7} и выше признаки цитопатического действия отсутствовали.

На основании полученных данных по методу Рид-Менча индивидуальные значения титра для каждого повтора составили 7,0; 7,33; 7,0 и 7,0 $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$.

Средний титр вирусной суспензии достиг $7,08 \pm 0,17 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$ (95 % доверительный интервал: $\pm 0,26$), что подтвердило пригодность вирусного материала для проведения дальнейших испытаний противовирусной активности исследуемых фосфонатов.

Переработано авторами на основе данных, ранее опубликованных работ в [7].

Определение цитотоксичности новых фосфонатов. На следующем этапе оценивали цитотоксическое действие пяти новых фосфонатов (SAN-1, SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2) на культуре клеток Vero в диапазоне концентраций от 100 до 0,0001 мкг/мл. Через 72 часа инкубации при микроскопическом исследовании во всех лунках с фосфонатами клеточный монослой сохранял плотную структуру, а клетки имели типичную для линии Vero угловатую и вытянутую форму с чёткими границами. Визуальная картина полностью соответствовала интактному контролю: клетки формировали равномерный покров, отсутствовали признаки

дегенерации, межклеточные контакты сохранялись, а цитоплазма оставалась прозрачной без включений или грануляций.

Признаков цитотоксичности — округления клеток, их отслоения от субстрата, вакуолизации цитоплазмы, истончения или разрывов моно-слоя не наблюдалось ни в одной из исследованных концентраций. На основании визуальной оценки максимальная переносимая концентрация (МПК) для всех пяти соединений была установлена как >100 мкг/мл. В трёх независимых повторностях значения $ЦТД_{50}$ также превышали 100 мкг/мл для каждого из фосфонатов, что свидетельствует о широком диапазоне безопасных концентраций и низкой общей токсичности данных соединений в условиях *in vitro*.

Переработано авторами на основе данных, ранее опубликованных работ в [6].

Для количественного подтверждения результатов визуального наблюдения был проведён МТТ-тест, позволяющий оценить метаболическую активность клеток. В ходе МТТ-теста были получены значения оптической плотности, зарегистрированные на длине волны 570 нм, а также рассчитанные показатели жизнеспособности клеток представлены в табл. 1.

Как видно из представленных данных, все исследуемые фосфонаты в концентрации 100 мкг/мл продемонстрировали низкую цитотоксичность в отношении клеток Vero, что полностью согласуется с результатами микроскопического контроля.

Определение противовирусного действия новых фосфонатов в отношении вируса псевдобешенства. На заключительном этапе оценивали способность пяти фосфонатов (SAN-1, SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2) подавлять репликацию вируса SuHV-1 в культуре клеток Vero при концентрации 100 мкг/мл.

Через 72 часа инкубации в контрольных лунках, инфицированных вирусом в отсутствие соединений, наблюдалась характерная картина цитопатического действия: монослой подвергался тотальной деструк-

ции, клетки утрачивали типичную эпителиоподобную морфологию, округлялись, отслаивались от субстрата и формировали агрегаты, а на месте бывшего моно-слоя визуализировались множественные разрывы и участки полной дегенерации. Напротив, в лунках, обработанных соединениями SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2, монослой сохранял свою целостность: клетки оставались прикрепленными к субстрату, имели характерную вытянутую форму с четкими границами, а степень деструкции была значительно ниже по сравнению с вирусным контролем. Соединение SAN-1 не обеспечивало выраженной защиты монослоя — визуальная картина приближалась к контрольным лункам с вирусом, хотя отдельные участки сохраняли частичную целостность.

Для количественной оценки противовирусного эффекта титр вируса в присутствии фосфонатов рассчитывали по методу Спирмена—Кербера. В контрольных образцах без соединений титр SuHV-1 составлял от 4,95 до 5,95 $\lg TCD_{50}/0,1$ мл в зависимости от серии эксперимента. Добавление фосфонатов приводило к снижению инфекционной активности вируса. Наименьший эффект зафиксирован для SAN-1 — снижение титра составило лишь 1,13 $\lg$. Соединения SAN-2 и SAN-3 обеспечили сопоставимое снижение титра на 2,38 $\lg$ каждое. SAN-4 снижал титр на 2,25 $\lg$, тогда как DII-C2 продемонстрировал максимальное снижение — на 2,63 $\lg$ по сравнению с вирусным контролем.

Переработано авторами на основе данных, ранее опубликованных работ в [11].

В ходе проведения МТТ-теста были получены первичные данные, зарегистрированные на длине волны 570 нм, а также рассчитанные показатели противовирусной активности представлены в табл. 2.

Результаты МТТ-теста, отражающие долю сохранивших жизнеспособность клеток в инфицированной культуре, подтвердили данные титрования. Показатели защиты клеток, рассчитанные относительно интактного контроля (100 %), составили: для SAN-1 — 20,0 %, SAN-2 — 75,0 %, SAN-3 — 75,5 %, SAN-4 — 72,0 %, DII-C2 — 82,5 % (табл. 3). Таким образом, четыре

Цитотоксичность фосфонатов концентрации 100 мкг/мл в отношении клеток Vero

Таблица 1

Table 1

Cytotoxicity of phosphonates at a concentration of 100 $\mu\text{g/ml}$ against Vero cells

Образец	Оптическая плотность (570 нм)			Средняя ОП	Жизнеспособность, %
	Повтор 1	Повтор 2	Повтор 3		
Контроль клеток (КК+)	0,935	0,921	0,947	0,874	100,0
Контроль растворителя	0,902	0,891	0,915	0,843	96,5
SAN-1 (100 мкг/мл)	0,872	0,858	0,881	0,810	92,7
SAN-2 (100 мкг/мл)	0,891	0,877	0,898	0,829	94,9
SAN-3 (100 мкг/мл)	0,868	0,853	0,876	0,806	92,2
SAN-4 (100 мкг/мл)	0,882	0,867	0,891	0,822	94,1
DII-C2 (100 мкг/мл)	0,895	0,882	0,904	0,834	95,4
Бланк (фон)	0,079	0,082	0,078	—	—

Таблица 2

Противовирусная активность фосфонатов (100 мкг/мл) в отношении вируса псевдобешенства

Table 2

Antiviral activity of phosphonates (100 µg/ml) against the pseudorabies virus

Образец	Оптическая плотность (570 нм)			Средняя ОП	Защита клеток, %
	Повтор 1	Повтор 2	Повтор 3		
Контроль клеток (КК+)	0,921	0,947	0,934	0,874	100
Контроль вируса (КВ)	0,152	0,138	0,145	0,075	0
SAN-1 (100 мкг/мл)	0,312	0,298	0,305	0,235	20,0
SAN-2 (100 мкг/мл)	0,742	0,758	0,736	0,675	75,0
SAN-3 (100 мкг/мл)	0,748	0,735	0,762	0,678	75,5
SAN-4 (100 мкг/мл)	0,712	0,728	0,721	0,650	72,0
DII-C2 (100 мкг/мл)	0,812	0,798	0,807	0,735	82,5
Контроль токсичности препарата (100 мкг/мл)	0,903	0,915	0,891	0,853	97,6
Бланк (фон)	0,078	0,082	0,080	—	—

соединения — SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2 — продемонстрировали выраженную противовирусную активность, обеспечивая высокий уровень защиты клеточного монослоя и значительное снижение титра вируса. Наибольшая эффективность отмечена для DII-C2, который как по визуальной оценке сохранности монослоя, так и по количественным показателям (максимальная защита клеток и наибольшее снижение титра) превосходил остальные исследованные фосфонаты. Для наглядного сопоставления всех количественных параметров цитотоксичности и противовирусной активности исследованных фосфонатов данные сведены в табл. 3.

Таблица 3

Сводные показатели цитотоксичности и противовирусной активности фосфонатов в концентрации 100 мкг/мл

Table 3

Summary of cytotoxicity and antiviral activity of phosphonates at a concentration of 100 µg/ml

Соединение	Жизнеспособность клеток, %*	Защита клеток от ЦПД, %**	Снижение титра вируса, lg***
SAN-1	92,7	20,0	1,13
SAN-2	94,9	75,0	2,38
SAN-3	92,2	75,5	2,38
SAN-4	94,1	72,0	2,25
DII-C2	95,4	82,5	2,63

Примечания: * — жизнеспособность клеток рассчитана относительно интактного контроля (100 %) по данным МТТ-теста; ** — защита клеток от ЦПД — процент жизнеспособных клеток в инфицированной культуре в присутствии соединения; *** — снижение титра вируса — разница между вирусным контролем и образцом с фосфонатом, рассчитанная по методу Спирмена—Кербера.

Notes: * — cell viability calculated relative to the intact control (100 %) according to the MTT test; ** — cell protection from CPE — percentage of viable cells in the infected culture in the presence of the compound; *** — reduction in virus titer — difference between the virus control and the sample with phosphonate, calculated using the Spearman-Kaerber method.

Выводы / Conclusions

В ходе исследования определили титр вируса псевдобешенства (SuHV-1) на культуре клеток Vero, который составил $7,08 \pm 0,17 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$, что подтверждает пригодность вирусной суспензии для испытаний. Все изученные фосфонаты (SAN-1, SAN-2, SAN-3, SAN-4, DII-C2) не проявили цитотоксичности: жизнеспособность клеток при 100 мкг/мл составила 92–96 %. При оценке противовирусной активности четыре соединения (SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2) в концентрации 100 мкг/мл обеспечили защиту клеток на уровне 72–82,5 % и снижение титра вируса на $2,25\text{--}2,63 \lg_{10}$, тогда как SAN-1 показал низкую эффективность (20,0 %). Таким образом, SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2 являются перспективными для дальнейшего изучения в качестве противовирусных средств.

Ограничения исследования / Study limitations

При интерпретации полученных результатов необходимо учитывать следующие ограничения проведенного исследования:

1. Тестирование только одной концентрации. Противовирусная активность фосфонатов оценивалась только в концентрации 100 мкг/мл. Не изучалась зависимость «концентрация—эффект», что не позволяет определить минимальную эффективную концентрацию (МЭК) и вычислить индекс селективности ($SI = \text{ЦТД}_{50} / \text{ИК}_{50}$) для каждого соединения.

2. Отсутствие позитивного контроля. В работе не использовался референс-препарат с известной противогерпесвирусной активностью (например, ацикловир или цидофовир), что ограничивает возможность прямого сравнения эффективности исследуемых фосфонатов с клинически применяемыми средствами.

3. Ограниченный набор клеточных линий и вирусов. Исследование выполнено только на одной линии клеток (Vero) и только на одной модели вируса (SuHV-1). Полученные данные не позволяют экстраполировать противовирусную активность на другие клеточные линии (например, Hep-2, MDCK) или другие виды вирусов (включая клинически значимые HSV-1, HSV-2, CMV).

4. Отсутствие изучения механизма действия. В работе не проводилось исследований молекулярных механизмов противовирусного эффекта (например, ингибирование вирусной ДНК-полимеразы, блокирование входа вируса в клетку или нарушение сборки

вирионов). Это не позволяет отнести соединения к определённому классу противовирусных агентов.

5. Ограниченный временной диапазон наблюдения. Учёт результатов проводился только через 72 часа инкубации. Возможные отсроченные эффекты (например, рецидив вирусной репликации после удаления соединений) не оценивались.

6. Статистические ограничения. В работе не проводилось формального межгруппового статистического сравнения противовирусной активности между соединениями (например, ANOVA с post-hoc тестами), что не позволяет сделать вывод о статистически значимых различиях между SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

Все авторы внесли существенный вклад в подготовку работы, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

Финансирование

Исследование выполнено без спонсорской поддержки.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interest.

Authors' participation

All authors made a significant contribution to the preparation of the work, read and approved the final version of the article before publication.

Funding

The study was conducted without sponsorship.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Зимин Максим Сергеевич — аспирант кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет», Ярославль, Российская Федерация
e-mail: maxim.simin2000@mail.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-7041-8194>
РИНЦ SPIN-код: 6130-1730

Лилеева Елена Георгиевна — к. м. н., доцент, зав. базовой кафедрой инновационной фармации ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет», Ярославль, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку

e-mail: elileeva2006@yandex.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6048-8974>
РИНЦ SPIN-код: 4287-6652

Maxim S. Zimin — postgraduate student, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation
e-mail: maxim.simin2000@mail.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-7041-8194>
RSCI SPIN code: 6130-1730

Elena G. Lileeva — PhD, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Innovative Pharmacy Department at the Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation

Corresponding autor

e-mail: elileeva2006@yandex.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6048-8974>
RSCI SPIN code: 4287-6652

Список литературы / References

1. Никитина А.В. Соединения на основе фосфорильного фрагмента с четырехкоординированным атомом фосфора — оптимальная платформа для создания лекарственных препаратов с различным спектром психотропной активности: диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Москва; 2024. 116 с. [Nikitina AV. Compounds based on a phosphoryl fragment with a tetracoordinated phosphorus atom — creating an optimal platform for drugs with a diverse spectrum of psychotropic activity: dissertation for the degree of candidate of medical sciences. Moscow; 2024. (In Russ.)].
2. Михайлова А.К., Симакова О.И. Фосфорорганические соединения и их основные свойства, перспективы их применения. В: Горюхов АА, (ред.) Проблемы и перспективы развития России: Молодежный взгляд в будущее: сборник научных статей Всероссийской научной конференции. Курск, 17–18 октября 2018 г. Том 4. Курск: Университетская книга; 2018. С. 109–111 [Mikhailova AK, Simakova OI. Organophosphorus compounds and their main properties, prospects for their application. In: Gorokhov AA, (ed.) Problems and Prospects of Development of Russia: A Youth Look into the Future: Collection of scientific articles from the All-Russian Scientific Conference. Kursk, October 17–18, 2018. Vol. 4. Kursk: University Book; 2018. Pp. 109–111. (In Russ.)]. EDN: VLOEEE
3. Нифантьев Э.Е. Химия фосфорорганических соединений. Москва: Изд-во Моск. ун-та; 1971. 350 с. [Nifantiev EE. Chemistry of organophosphorus compounds. Moscow: Publishing house Mosk. university; 1971. 350 p. (In Russ.)].
4. Кравченко А.В., Куимова У.А., Ефремова О.С. и др. Сравнение эффективности и безопасности схем антиретровирусной терапии первой линии, включавших фосфазид или тенофовир. *Журнал инфектологии*. 2018;10(4):37–41. [Kravchenko AV, Kuimova UA, Efremova OS, et al. Comparison of efficacy and safety of antiretroviral first-line therapy with phosphazide or tdf. *Journal Infectology*. 2018;10(4):37–41. (In Russ.)]. doi: 10.22625/2072-6732-2018-10-4-37-41.
5. Демин М.В., Тихомиров Д.С., Туполева Т.А., Филатов Ф.П. Устойчивость к противовирусным препаратам у вирусов человека из подсемейства *Betaherpesvirinae*. *Вопросы вирусологии*. 2022;67(5):385–394. [Demin MV, Tikhomirov DS, Tupoleva TA, Filatov FP. Resistance to antiviral drugs in human viruses from the subfamily *Betaherpesvirinae*. *Problems of Virology*. 2022;67(5):385–394. (In Russ.)]. doi: 10.36233/0507-4088-136.
6. Лилеева Е.Г., Давлетшин Р.Р., Лысенко А.С. и др. Определение цитотоксичности новых фосфонатов на культуре клеток Vero. *Медицина. Социология. Философия. Прикладные исследования*. 2025(6):358–359. [Lileeva EG, Davletshin RR, Lysenko AS, et al. Determination of cytotoxicity of new phosphonates on Vero cell culture. *Medicine. Sociology. Philosophy. Applied Research*. 2025(6):358–359. (In Russ.)]. EDN MLRXXE
7. Галеев Р.Р., Лилеева Е.Г., Пузина О.А. и др. Валидация методики определения титра вируса болезни Ауески на культуре клеток Vero B. *Вестник Росздравнадзора*. 2024;(6):83–87. [Galeev RR, Lileeva EG, Puzina OA, et al. Validation of the methodology for determining the titer of the Aujeszky disease virus on Vero B cell culture. *Vestnik Roszdravnadzora*. 2024;(6):83–87. (In Russ.)]. EDN: OOHCTT
8. Каа К.В., Игнатьев Г.М., Синюгина А.А., Ишмухаметов А.А. Чувствительность клеточных линий к вирусу Чикунгунья и подбор метода наработки вирусного материала в промышленных объемах. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2023;23(1):111–120. [Kaa KV, Ignatyev GM, Sinyugina AA, Ishmukhametov AA. Susceptibility of various cell lines to the Chikungunya virus and method selection for commercial-scale production of viral material. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2023;23(1):111–120. (In Russ.)]. doi: 10.30895/2221-996X-2023-23-1-111-120.
9. Миронов А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / А. Н. Миронов [и др.]. М. : Гриф и К, 2012. — 944 с. [Mironov AN. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one. / AN. Mironov [et al.]. M.: Grif i K, 2012. (In Russ.)].
10. Шишацкая Е.И., Николаева Е.Д., Шумилова А.А. и др. Культивирование мультипотентных мезенхимных стромальных клеток костного мозга на носителях из резорбируемого Биопластотана. *Гены и Клетки*. 2013;8(1):57–65. [Shishatskaya EI, Nikolaeva ED, Shumilova AA, et al. Cultivation of multipotent mesenchymal bone marrow cells on matrixes made of resorbable Bioplastotan. *Genes & Cells*. 2013;8(1):57–65. (In Russ.)]. doi: 10.23868/gc121612. EDN: QAKUPN
11. Лилеева Е.Г., Давлетшин Р.Р., Зимин М.С. и др. Определение противовирусного действия новых фосфонатов с концентрацией 100 мкг/мл на модели герпетической инфекции, с использованием вируса псевдобешенства (Ауески) на культуре клеток Vero. *Международный журнал медицины и психологии*. 2026;9(2):65–70. [Lileeva EG, Davletshin RR, Zimin MS, et al. Determination of the antiviral activity of new phosphonates at a concentration of 100 µg/ml in a herpes infection model using the Aujeszky's virus in Vero cell culture. *International Journal of Medicine and Psychology*. (In Russ.)]. doi: 10.58224/2658-3313-2026-9-2-65-70.
12. Абрамова Е.Г., Гаврилова Ю.К., Генералов С.В. и др. Разработка стандартного образца предприятия активности антирабического иммуноглобулина для применения в реакции нейтрализации вируса на культуре клеток Vero. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2022;22(1):38–48. [Abramova EG, Gavrilova YuK, Generalov SV, et al. Development of an in-house reference standard for anti-rabies immunoglobulin potency, to be used in the virus neutralisation test in a Vero cell culture. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2022;22(1):38–48. (In Russ.)]. doi: 10.30895/2221-996X-2022-22-1-38-48.
13. ОФС.1.7.2.0002.15. Общая фармакопейная статья. Биологические методы испытания препаратов интерферона с использованием культур клеток: утверждена Приказом Минздрава России № 771 от 29.10.2015: введена в действие с 01.01.2016 // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. [OFS.1.7.2.0002.15. General Pharmacopoeia Article. Biological Testing Methods for Interferon Preparations Using Cell Cultures: approved by Order of the Ministry of Health of Russia No. 771 dated October 29, 2015: entered into force on January 1, 2016. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIII edition. (In Russ.)]. Режим доступа: URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia-projects/izdanie-13/1/1-7/1-7-2/1-7-2-2/?vers=959>.