

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4-169-176>
УДК 616.36-002:616.366-002



Оригинальная статья / Research article

Ретроспективный анализ экспериментального и клинического изучения флакозида при вирусных гепатитах

В. В. Карабаева¹, Л. В. Крепкова^{1*}, А. Н. Бабенко¹, В. В. Бортникова¹, Т. В. Фатеева¹,
П. Г. Мизина¹, Н. С. Михеева², О. Н. Карабаева³

¹ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ВИЛАР), 117216, Россия, г. Москва, ул. Грина, д. 7, стр. 1

² ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (ФЦЭСМП) Минздрава России), 127051, Россия, г. Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

³ ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (МГМСУ), 127473, Россия, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

*Контактное лицо: Крепкова Любовь Вениаминовна. E-mail: krepkova2011@yandex.ru

ORCID: В. В. Карабаева – <https://orcid.org/0000-0002-0259-5306>; Л. В. Крепкова – <https://orcid.org/0000-0002-3580-336X>; А. Н. Бабенко – <https://orcid.org/0000-0001-9629-5525>;

В. В. Бортникова – <https://orcid.org/0000-0002-0393-1762>; Т. В. Фатеева – <https://orcid.org/0000-0002-8231-0621>; П. Г. Мизина – <https://orcid.org/0000-0001-6510-9603>;

Н. С. Михеева – <https://orcid.org/0000-0001-7494-2365>; О. Н. Карабаева – <https://orcid.org/0000-0003-4928-0894>.

Статья поступила: 28.07.2021

Статья принята в печать: 27.10.2021

Статья опубликована: 25.11.2021

Резюме

Введение. Вирусные гепатиты (ВГ) по своей социально-экономической значимости занимают одно из ведущих мест в инфекционной патологии человека, поэтому разработка принципиально новых методов профилактики, диагностики и лечения, а также создание новых противовирусных лекарственных средств остаются актуальными. В ВИЛАР создан противовирусный лекарственный растительный препарат «Флакозид», который представлен в лекарственной форме – таблетки 0,1 г для приема внутрь.

Цель. Проанализировать экспериментальную и клиническую эффективность и безопасность терапии флакозидом при вирусных гепатитах.

Материалы и методы. Экспериментальное изучение влияния флакозида на вирусный гепатит А (ВГА). В работе использовали культуру клеток AGMK (линия BS-C-1) и адаптированный к ней штамм вируса гепатита А НМ 175. Исследования проведены в двух сериях экспериментов с использованием различных концентраций препарата, который вносили в культуры одновременно с заражением ВГА. Экспериментальное изучение влияния флакозида на вирусный гепатит С (ВГС). В настоящих опытах использовали вирусосодержащую культуральную жидкость, собранную из инфицированных культур фибробластов куриного эмбриона, содержащую 7,0 Ig ТЦД₅₀/мл инфекционного ВГС (генотип 1b). Цитотоксическую, вирулицидную и противовирусную активности флакозида изучали с использованием перевиваемых культур клеток почки эмбриона свиньи (СПЭВ), полученных из коллекции клеточных линий ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д. И. Иванковского» Минздрава России. В опытах использовали однодневный монослой клеток, выращенный в 96-луночных пластиковых культуральных панелях. Определяли ИД₅₀ – концентрацию препарата «Флакозид», ингибирующую развитие вируса в монослой на 50 % и ЦД₅₀ – минимальную его концентрацию, вызывающую цитотоксическую деструкцию 50 % клеток монослоя, а также ХТИ – химиотерапевтический индекс, вычисляемый как отношение ЦД₅₀ к ИД₅₀. В качестве препарата сравнения использовали известное отечественное противовирусное средство – «Рибавирин». Клинические исследования флакозида при вирусном гепатите А. Результаты клинических исследований противовирусного препарата «Флакозид» (таблетки 0,1 г) проанализированы у 258 пациентов с вирусным гепатитом А. «Флакозид» назначали пациентам со среднетяжелым течением заболевания по 0,1 г 3 раза в сутки в течение 20 дней на фоне базисной терапии: диета, щелочное питье, Энтеродез®. Терапевтический эффект оценивали по клиническим (слабость, снижение аппетита, тошнота, рвота) и биохимическим показателям (уровень прямого билирубина, активность трансаминаз), а также по степени выраженности гепатолиенального синдрома. Клинические исследования флакозида при вирусном гепатите В. Результаты клинических исследований противовирусного препарата «Флакозид» (таблетки 0,1 г) проанализированы у 410 пациентов с острым вирусным гепатитом В, который расценивали как среднетяжелый. «Флакозид» назначали на фоне базисной терапии: диета и дезинтоксикационная терапия: 5 % раствор глюкозы, 5 % раствор аскорбиновой кислоты, «Гемодез», в суточной дозе 0,3–0,8 г до 38 дней. Группа сравнения получала такую же базисную терапию без флакозида. Оценивали динамику клинических симптомов (общая слабость, головная боль, нарушение сна, головокружения, тошнота, рвота, нарушение аппетита, зуд кожи, боли в правом подреберье, желтуха и др.), данные лабораторных методов обследования, определяли маркеры гепатита В – HBeAg и австралийский антиген (HBsAg) каждые 10 дней и показатели клеточного иммунитета до назначения и через 21 день лечения; определяли абсолютное число лимфоцитов, общее количество Т-лимфоцитов, а также количество теофиллинрезистентных и теофиллинчувствительных клеток.

Результаты и обсуждение. Результаты экспериментальных исследований выявили противовирусное действие флакозида в отношении вируса гепатита А, подтвержденное при проведении клинических исследований у взрослых пациентов. Лечение флакозидом пациентов с вирусным гепатитом А на фоне базисной терапии в суточной дозе 0,3 г в течение 20 дней приводило к достоверному снижению симптомов интоксикации, сокращению желтушного периода, нормализации размеров печени и селезенки. Лечение флакозидом в составе комплексной терапии пациентов с острым вирусным гепатитом В (ОВГ) средней тяжести в суточных дозах 0,3–0,8 г в течение 38 дней показало его высокую эффективность, способствуя более быстрому исчезновению клинических симптомов заболевания (улучшение общего состояния пациентов, уменьшение выраженности и исчезновение клинических симптомов интоксикации, сокращение желтушного периода), нормализации биохимических показателей (снижение уровня билирубина и активности трансаминаз), а также элиминации из крови HBsAg, стимуляции клеточного иммунитета. «Флакозид» хорошо переносился, не вызывал аллергических реакций. На основании результатов клинических исследований «Флакозид» разрешен для медицинского использования в качестве противовирусного средства (регистрационный номер 90/248/7). Установлена высокая противовирусная активность флакозида в отношении вируса гепатита С в культуре клеток. По степени выраженности лечебного эффекта «Флакозид» не уступал рибавирину, а по ХТИ заметно его превосходил.

Заключение. Лечение флакозидом пациентов с вирусными гепатитами А и В показало его высокую эффективность, способствовало более быстрому исчезновению клинических симптомов заболевания, нормализации биохимических показателей, элиминации из крови HBsAg, хорошую переносимость. «Флакозид» рекомендован в клинической практике в комплексном лечении гепатитов А и В. В опытах *in vitro* установлена высокая противовирусная активность флакозида в отношении вируса гепатита С, что обосновывает возможность проведения клинических исследований препарата у пациентов с вирусным гепатитом С.

© Карабаева В. В., Крепкова Л. В., Бабенко А. Н., Бортникова В. В., Фатеева Т. В., Мизина П. Г., Михеева Н. С., Карабаева О. Н., 2021

© Karabaeva V. V., Krepkova L. V., Babenko A. N., Bortnikova V. V., Fateeva T. V., Mizina P. G., Mikhееva N. S., Karabaeva O. N., 2021

Ключевые слова: «Флакозид», вирусный гепатит А, вирусный гепатит В, вирусный гепатит С, экспериментальные и клинические исследования

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. В. В. Карабаева, Л. В. Крепкова, В. В. Бортникова инициировали и разработали план исследования. А. Н. Бабенко, Т. В. Фатеева, Н. С. Михеева, О. Н. Карабаева собрали и проанализировали клинические данные. В. В. Карабаева, П. Г. Мизина, Л. В. Крепкова разработали концепцию и дизайн рукописи. Все авторы участвовали в написании текста статьи и обсуждении результатов.

Для цитирования: Карабаева В. В., Крепкова Л. В., Бабенко А. Н., Бортникова В. В., Фатеева Т. В., Мизина П. Г., Михеева Н. С., Карабаева О. Н. Ретроспективный анализ экспериментального и клинического изучения флакозида при вирусных гепатитах. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(4):169–176. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4-169-176>

Retrospective Analysis of Experimental and Clinical Studies of Flakozid in Viral Hepatitis

Vera. V. Karabaeva¹, Lubov' V. Krepkova^{1*}, Aleksandra N. Babenko¹, Valentina V. Bortnikova¹, Tatyana V. Fateeva¹, Praskovya G. Mizina¹, Natalya S. Mikheeva², Olga N. Karabaeva³

¹ All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, 7/1, Greena str., Moscow, 117216, Russia

² Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2, Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russia

³ A. I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, 20/1, Delegatskaya str., Moscow, 127473, Russia

*Corresponding author: Lubov' V. Krepkova. E-mail: krepkova2011@yandex.ru

ORCID: Vera. V. Karabaeva – <https://orcid.org/0000-0002-0259-5306>; Lubov' V. Krepkova – <https://orcid.org/0000-0002-3580-336X>;

Aleksandra N. Babenko – <https://orcid.org/0000-0001-9629-5525>; Valentina V. Bortnikova – <https://orcid.org/0000-0002-0393-1762>;

Tatyana V. Fateeva – <https://orcid.org/0000-0002-8231-0621>; Praskovya G. Mizina – <https://orcid.org/0000-0001-6510-9603>;

Natalya S. Mikheeva – <https://orcid.org/0000-0001-7494-2365>; Olga N. Karabaeva – <https://orcid.org/0000-0003-4928-0894>.

Received: 28.07.2021

Revised: 27.10.2021

Published: 25.11.2021

Abstract

Introduction. Viral hepatitis (HV) by its socio-economic significance occupies one of the leading places in human infectious pathology, therefore, the development of fundamentally new methods of prevention, diagnosis and treatment, as well as the creation of new antiviral drugs remain relevant. An antiviral herbal drug "Flakozid" has been created in VILAR, which is presented in a dosage form – 0,1 g tablets for oral administration.

Aim. To analyze the experimental and clinical efficacy and safety of flakozid therapy in viral hepatitis.

Materials and methods. Experimental study of the effect of flakozid on viral hepatitis A (HAV). The AGMK cell culture (BS-C-1 line) and the hepatitis A virus strain HM 175 adapted to it were used in the work. The studies were conducted in two series of experiments using different concentrations of the drug, which was introduced into cultures simultaneously with the infection of HAV. Experimental study of the effect of flakozid on viral hepatitis C (HCV). In the present experiments, a virus-containing culture fluid collected from infected cultures of chicken embryo fibroblasts containing 7,0 lg TCD₅₀/ml of infectious HCV (genotype 1b) was used. The cytotoxic, viricidal and antiviral activity of flakozid was studied using transplanted cultures of pig embryo kidney cells (SPEV) obtained from the collection of cell lines of the D. I. Ivanovsky Research institute of virology of the Ministry of Health of the Russian Federation. In the experiments, a one-day monolayer of cells grown in 96-well plastic culture panels was used. ID₅₀ – the concentration of the drug "Flakozid", which inhibits the development of the virus in the monolayer by 50 %, and CD₅₀ – its minimum concentration, which causes cytotoxic destruction of 50 % of the cells of the monolayer, as well as the CTI – chemotherapeutic index, calculated as the ratio of CD₅₀ to ID₅₀, were determined. A well – known domestic antiviral agent, "Ribavirin", was used as a comparison drug. Clinical studies of flakozid in viral hepatitis A. The results of clinical studies of the antiviral drug "Flakozid" (0,1 g tablets) were analyzed in 258 patients with viral hepatitis A. "Flakozid" was prescribed to patients with a moderate course of the disease, 0,1 g 3 times a day for 20 days against the background of basic therapy: diet, alkaline drinking, Enterodes®. The therapeutic effect was assessed by clinical (weakness, decreased appetite, nausea, vomiting) and biochemical parameters (the level of direct bilirubin, transaminase activity), as well as by the severity of hepatolienal syndrome. Clinical studies of flakozid in viral hepatitis B. The results of clinical studies of the antiviral drug "Flakozid"(0,1 g tablets) were analyzed in 410 patients with acute viral hepatitis B, which was regarded as moderate. "Flakozid" was prescribed against the background of basic therapy: diet and detoxification therapy: 5 % glucose solution, 5 % ascorbic acid solution, "Hemodesi", at a daily dose of 0,3–0,8 g for up to 38 days. The comparison group received the same basic therapy without flakozid. The dynamics of clinical symptoms (general weakness, headache, sleep disorders, dizziness, nausea, vomiting, impaired appetite, itchy skin, pain in the right hypochondrium, jaundice, etc.), data from laboratory examination methods were evaluated, markers of hepatitis B – HBeAg and Australian antigen (HBsAg) were determined every 10 days and indicators of cellular immunity before the appointment and after 21 days of treatment; the absolute number of lymphocytes, the total number of T-lymphocytes, as well as theophylline-resistant and theophylline-sensitive cells.

Results and discussion. The results of experimental studies revealed the antiviral effect of flakozid against the hepatitis A virus, confirmed during clinical studies in adult patients. Treatment with flakozid in patients with viral hepatitis A against the background of basic therapy at a daily dose of 0,3 g for 20 days led to a significant reduction in the symptoms of intoxication, a reduction in the jaundice period, normalization of the size of the liver and spleen. Treatment with flakozid as part of complex therapy of patients with acute viral hepatitis B (AHVB) of moderate severity in daily doses of 0,3–0,8 g for 38 days showed its high effectiveness, contributing to a faster disappearance of clinical symptoms of the disease (improvement of the general condition of patients, reduction of the severity and disappearance of clinical symptoms of intoxication, reducing of the jaundice period), normalization of biochemical parameters (reducing the level of bilirubin and transaminase activity), as well as elimination of HBsAg from the blood, stimulation of cellular immunity. "Flakozid" was well tolerated, did not cause allergic reactions. Based on the results of clinical studies, "Flakozid" is approved for medical use as an antiviral agent (registration number 90/248/7). The high antiviral activity of flakozid against the hepatitis C virus in cell cultures was established. In terms of the severity of the therapeutic effect, "Flakozid" was not inferior to ribavirin, and in terms of CTI it was noticeably superior.

Conclusion. Treatment with flakozid in patients with viral hepatitis A and B showed its high efficiency, contributed to a faster disappearance of clinical symptoms of the disease, normalization of biochemical parameters, elimination of HCV from the blood, good tolerability. "Flakozid" is recommended in clinical practice in the complex treatment of hepatitis A and B. In vitro experiments have established a high antiviral activity of flakozid against the hepatitis C virus, which justifies the possibility of conducting clinical studies of the drug in patients with the viral hepatitis C.

Keywords: "Flakozid", viral hepatitis A, viral hepatitis B, viral hepatitis C, experimental and clinical studies

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Vera V. Karabaeva, Lubov' V. Krepkova, Valentina V. Bortnikova initiated and developed a research plan. Aleksandra N. Babenko, Tatyana V. Fateeva, Natalya S. Mikheeva, Ol'ga N. Karabaeva collected and analyzed clinical data. Vera V. Karabaeva, Praskovya G. Mizina, Lubov' V. Krepkova developed the concept and design of the manuscript. All the authors participated in writing the text of the article and discussing the results.

For citation: Karabaeva V. V., Krepkova L. V., Babenko A. N., Bortnikova V. V., Fateeva T. V., Mizina P. G., Mikheeva N. S., Karabaeva O. N. Retrospective analysis of experimental and clinical studies of flakozid in viral hepatitis. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(4):169–176. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4-169-176>

ВВЕДЕНИЕ

Вирусные гепатиты (ВГ) являются опасными для жизни заболеваниями и по своей социально-экономической значимости занимают одно из ведущих мест в инфекционной патологии человека, что определяется преимущественным поражением лиц трудоспособного возраста, формированием хронических форм болезни с исходами в цирроз печени и гепатоцеллюлярную карциному, высокой смертностью [1–7].

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), предположительно, 325 миллионов человек в мире живут с хронической инфекцией, вызванной вирусом гепатита В (ВГВ) или вирусом гепатита С (ВГС) [2]. Профилактика и лечение вирусных гепатитов требуют безотлагательных мероприятий, которые сводятся к применению вакцин и использованию высокоэффективных противовирусных препаратов прямого действия [2–12].

В России проблема вирусных гепатитов также относится к числу наиболее актуальных. На территории Российской Федерации проживают более 3 млн больных с хроническим гепатитом В (ХГВ), количество больных хроническим гепатитом С (ХГС) варьирует от 1,5 до 2,5 млн человек. Заболеваемость острым гепатитом В (ОГВ) в 2017 году составила 0,87 на 100 тыс. населения. Несмотря на то, что показатели заболеваемости ОГВ снизились до самых низких значений за всю историю регистрации, в том числе за счет проводимых мер профилактики, отмечаются стабильно высокие уровни заболеваемости впервые выявленных хронических форм ВГВ и ВГС. Учитывая такую тенденцию можно ожидать увеличение числа пациентов с циррозом печени и гепатоцеллюлярной карциномой (ГЦК). По данным некоторых авторов вирусные гепатиты ежегодно являются причиной гибели не менее 20 тыс. человек, причем смертность от этой патологии с 2012 по 2016 г. возросла среди всего населения на 40 %, а среди трудоспособного – на 60 % [3, 8–11].

В 2020 году заболеваемость вирусным гепатитом А (ВГА) характеризовалась тенденцией к снижению: показатель составил 1,89 на 100 тыс. населения, а в 2019 году – 2,88. Вместе с тем незначительное количество лиц, ежегодно вакцинируемых в России, недостаточно для обеспечения контроля за возникнове-

нием и распространением ВГА. [13]. В отличие от гепатита ВГВ гепатит ВГА не имеет хронической формы заболевания печени, но может привести к острой печеночной недостаточности [3, 11, 12].

Наряду с проведением комплексных организационных, гигиенических и противоэпидемических мероприятий разработка принципиально новых методов диагностики, лечения и профилактики позволяет приступить к глобальному контролю заболеваемости вирусными гепатитами.

Основная цель терапии вирусных гепатитов – снижение вирусной нагрузки, уменьшение некровоспалительных изменений в печени для замедления печеночного фиброза, прогрессирования болезни в цирроз, предотвращение появления опасных для жизни состояний – развития терминального поражения печени, гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) – и, как следствие, повышение качества и продолжительности жизни пациента.

За последние годы быстрый прогресс в разработке новых подходов к лечению хронических вирусных гепатитов обеспечил возможность излечивать хронический гепатит С более чем у 90 % пациентов и успешно контролировать хроническую инфекцию, вызванную вирусом гепатита В, посредством подавления репликации вируса и снизить заболеваемость и смертность, связанную с вирусными гепатитами.

В настоящее время практическая медицина обладает достаточным количеством противовирусных средств, способных подавлять репродукцию вируса на любой стадии процесса. Однако, несмотря на определенные успехи, достигнутые в вирусной химиотерапии, клиническая практика сталкивается с серьезными проблемами – невозможностью обеспечить эффективное химиотерапевтическое действие в месте репродукции вируса, токсическими эффектами многих препаратов, а также развитию резистентности к уже применяющимся лекарственным средствам [14, 15].

Одним из перспективных направлений в создании противовирусных лекарственных средств является их разработка на основе лекарственного растительного сырья путем выделения индивидуальных биологически активных веществ с доказанной противовирусной активностью.

Изучение лекарственных препаратов растительного происхождения, обладающих противовирусными свойствами, таких как «Алпизарин», «Эпиген», «Гипорамин», «Госсипол», показало наличие у них противовирусного и иммуномодулирующего действия и отсутствие резистентности вирусов к данным лекарственным средствам [16].

Экспериментальные исследования, проведенные сотрудниками ВИЛАР на протяжении нескольких лет, завершились созданием отечественного противовирусного препарата «Флакозид». У флакозида установлена противовирусная активность в отношении возбудителей гепатита А, В и С, простого рецидивирующего герпеса, опоясывающего лишая, ветряной оспы, кори. Кроме того, у препарата доказано гепатопротекторное действие, обусловленное мембраностабилизирующими и противовоспалительными свойствами. «Флакозид» проявляет иммуностимулирующее действие в отношении гуморального звена иммунитета, а также стимулирует индукцию гамма-интерферона [17–19]. Лекарственный препарат разрешен для медицинского применения в виде таблеток 0,1 г для приема внутрь.

Целью наших исследований явился ретроспективный анализ результатов экспериментального и клинического исследования флакозида при вирусных гепатитах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования. «Флакозид» – индивидуальный природный флавоноидный гликозид – феллавин. Источником получения флакозида являются листья бархата амурского – *Phellodendron amurense* Rupr. и бархата Лавалея – *Phellodendron amurense* var. *Lavallei* (Dode) Sprague семейства Рутовые – *Rutaceae*.

Экспериментальное изучение влияния флакозида на ВГА. В работе использовали культуру клеток AGMK (линия BS-C-1) и адаптированный к ней штамм вируса гепатита А НМ 175. Исследования проведены в двух сериях экспериментов с использованием различных концентраций препарата, который вносили в культуру одновременно с заражением ВГА [20, 21].

Экспериментальное изучение влияния флакозида на ВГС. Штамм ВГС (генотип 1b) выделен с помощью метода полимеразной цепной реакции в реальном времени из сыворотки крови пациентки, хронически инфицированной вирусом гепатита С, в сыворотке крови которой обнаруживали антитела к ВГС (РТ-ПЦР – РНК ВГС). Для выделения вируса использовали первичные культуры клеток головного мозга мышей-сосунков. В последствии вирус приобрел способность размножаться в культурах клеток человека и животных, индуцируя цитопатогенный эффект в этих культурах и накапливаясь в них в титрах до $7,5 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{мл}$ [22]. В настоящих опытах использовали вирусосодержащую культуральную жидкость, собранную из инфицированных культур фибробластов куриного эмбриона, содержащую $7,0 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{мл}$ ин-

фекционного ВГС (генотип 1b). С целью изучения цитотоксической, вирулицидной и противовирусной активности флакозида использовали перевиваемые культуры клеток почки эмбриона свиньи (СПЭВ), полученные из коллекции клеточных линий ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России. В опытах использовали однодневный монослой клеток, выращенный в 96-луночных пластиковых культуральных панелях. Линия клеток СПЭВ является высокочувствительной для репликации ВГС генотипа 1b, который вызывает выраженный цитопатогенный эффект в этих культурах и накапливается в них к 5–6-м суткам после заражения в инфекционных титрах до $7,5 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{клетка}$ (тканевая цитопатогенная доза, вызывающая гибель 50 % клеток монослоя). О противовирусной активности флакозида судили по его способности защищать инфицированные ВГС культуры клеток СПЭВ от цитопатогенного действия вируса. По данным опытов определяли ИД_{50} – концентрацию препарата «Флакозид», ингибирующую развитие вируса в монослое на 50 % и ЦД_{50} – минимальную его концентрацию, вызывающую цитотоксическую деструкцию 50 % клеток монослоя. Определяли ХТИ – химиотерапевтический индекс, вычисляемый как отношение ЦД_{50} к ИД_{50} . В качестве препарата сравнения использовали известное отечественное противовирусное средство – «Рибавирин» [20, 22].

Клинические исследования флакозида при вирусном гепатите А

Клинические исследования флакозида в качестве противовирусного средства при вирусном гепатите А проведены в 3 клинических учреждениях – Российскую медицинскую академию последипломного образования (РМАПО), на кафедре инфекционных болезней; 2-м МОЛГМИ им. Н.И. Пирогова, на кафедре клинической фармакологии; Челябинской государственной медицинской академии – с участием 258 пациентов с вирусным гепатитом А [174 человека: 89 (51,1 %) мужчин и 85 (48,9 %) женщин, средний возраст которых составил 27 (18; 60) лет – основная группа, и 84 человека: 49 (58,3 %) мужчин и 35 (47,6 %) женщин, средний возраст – 29 (18; 60) лет – группа контроля]. Пациенты поступали с типичной клинической картиной заболевания: наличием желтухи, интоксикации, гепатоспленомегалии, гипербилирубинемии и гипертрансфераземии. «Флакозид» получали 174 пациента со среднетяжелым течением заболевания, сопровождающимся желтухой, по 0,1 г 3 раза в сутки в течение 20 дней на фоне базисной терапии: диета, щелочное питье, Энтеродез®. Терапевтический эффект оценивали по клиническим (слабость, снижение аппетита, тошнота, рвота и т. д.) и биохимическим показателям (уровень прямого билирубина, активность трансаминаз), а также по степени выраженности гепатолиенального синдрома.

Клинические исследования флакозида при вирусном гепатите В

Результаты клинических исследований флакозида (таблетки 0,1 г) проанализированы у 410 пациентов с острым вирусным гепатитом В, проведенные в 4 клинических учреждениях: Российской медицинской академии последипломного образования (РМАПО), на кафедре инфекционных болезней; Челябинской государственной медицинской академии; Санкт-Петербургском институте усовершенствования врачей-экспертов; ФБУН ЦНИИ эпидемиологии. Пациенты были распределены на 2 равноценные группы: основную [210 пациентов: из них 121 (57,6 %) мужчин и 89 (42,4 %) женщин, средний возраст которых составил 27,1 (18; 60) года] и группу контроля – 200 человек: 114 (57,0 %) мужчин и 86 (43,0 %) женщин, средний возраст 24,3 (18; 60) года. Острый вирусный гепатит В расценивали, как среднетяжелый (выраженная интоксикация, желтуха, гепатоспленомегалия, высокая цитолитическая активность). При распределении больных использовали принцип рандомизации с распределением больных на группы по случайному признаку. «Флакозид» назначали 210 пациентам основной группы в суточных дозах 0,3–0,8 г до 38 дней на фоне базисной терапии: диета с достаточным количеством белков, углеводов, легко эмульгируемых жиров; и дезинтоксикационной терапии: 5%-й раствор глюкозы, 5%-й раствор аскорбиновой кислоты, «Гемодез». Группа сравнения получала такую же базисную терапию без флакозида. Оценивали динамику клинических симптомов (общая слабость, головная боль, нарушение сна, головокружения, тошнота, рвота, нарушение аппетита, зуд кожи, боли в правом подреберье, желтуха и др.), данные лабораторных методов обследования, определяли маркеры гепатита В – HBeAg и австралийский антиген (HBsAg), (Anti-HBc IgM AT – антитела к HBs класса IgM – характеризующие его репликативную активность) каждые 10 дней и показатели клеточного иммунитета до назначения и через 21 день лечения. Определяли абсолютное число лимфоцитов, общее количество Т-лимфоцитов, а также теofilлин-резистентных и теofilлинчувствительных клеток.

Статистическую обработку данных проводили методом вариационной статистики с применением t-критерия Стьюдента. Достоверность различий с контролем считали при $P < 0,05$. Статистические данные обрабатывали с помощью программы Statistica version 10.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. Изучение влияния флакозида на вирус гепатита А в культурах клеток.

В обеих сериях опытов, результаты которых были опубликованы ранее [19, 21], установлено, что «Флакозид» подавлял размножение вируса гепатита А в культурах клеток АГМК (линия BS-C-1) и адапти-

рованный к ней штамм вируса гепатита А НМ 175 по сравнению с зараженными культурами, необработанными этим препаратом. При учете результатов методом непрямой иммунофлюоресценции «Флакозид» в концентрации 0,1 мг/мл вызывал ингибирование размножения ВГА на 30–35 % при внесении препарата в культуру одновременно с заражением вирусом гепатита А. При учете результатов иммуноферментным методом также установлено, что «Флакозид» ингибировал размножение ВГА в концентрациях 1, 0,5 и 0,1 мг/мл в тех случаях, когда препарат вносили в культуры одновременно с ВГА. Ни в одной из примененных концентраций цитотоксического действия препарата не наблюдали. Таким образом, было показано противовирусное действие флакозида в отношении вируса гепатита А [19, 21].

2. Изучение влияния флакозида на вирус гепатита С в культурах клеток.

Ранее проведенные исследования показали, что цитотоксические свойства флакозида для культур клеток СПЭВ слабо выражены. CD_{50} соответствует концентрации препарата, равной 100 мкг/мл, что сравнимо с данными, полученными при изучении цитотоксической активности препарата сравнения – рибавирина для культур клеток СПЭВ [18].

Результаты исследования вирулицидной активности флакозида свидетельствуют о том, что проявления указанной активности в отношении вируса гепатита С у препарата не выявлено, как и у рибавирина [18].

Исследования противовирусной активности флакозида показали, что внесение препарата за 24 часа до заражения, в момент заражения и через 24 часа после заражения монослоя клеток вирусом гепатита С, приводило к выраженному эффекту защиты клеток от цитопатогенного действия вируса, причем максимальный эффект флакозида наблюдали в случае обработки клеток до заражения вирусом гепатита С. Благодаря низкой цитотоксической активности «Флакозид» характеризовался высоким химиотерапевтическим индексом (ХТИ), который был установлен нами ранее [18]. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения противовирусной активности флакозида в комплексной терапии гепатита С.

3. Клинические исследования флакозида при вирусном гепатите А.

Лечение флакозидом пациентов с вирусным гепатитом А на фоне базисной терапии в суточной дозе по 0,3 г в течение 20 дней приводило к достоверному снижению симптомов интоксикации. Длительность желтушного периода у пациентов, получавших «Флакозид», составила 19 дней в отличие от 24 дней в группе контроля. При лечении флакозидом размеры печени и селезенки нормализовались к 15-му дню, а в контрольной группе – к 31-му дню. Содержание прямого билирубина у пациентов после терапии флакозидом снизилось с $96,3 \pm 7,3$ мкмоль/л

до $65,3 \pm 6,5$ мкмоль/л ($P < 0,05$), в контрольной группе до $88,9 \pm 6,8$ мкмоль/л ($P > 0,05$); активность аланинтрансаминазы (АлАТ) и аспартаттрансаминазы (АсАТ) – с 236 ± 6 нмоль/л до 84 ± 11 нмоль/л ($P < 0,05$) и до 160 ± 5 нмоль/л ($P < 0,05$) в контрольной группе, и с 159 ± 3 нмоль/л до 100 ± 9 нмоль/л ($P < 0,05$) при 140 ± 7 нмоль/л у пациентов группы контроля соответственно.

4. Клинические исследования флакозида при вирусном гепатите В.

В результате лечения флакозидом в составе комплексной терапии пациентов с острым вирусным гепатитом В (ОГВ) средней тяжести отмечено выраженное действие на клиническое течение заболевания: быстрое уменьшение выраженности и исчезновение клинических симптомов интоксикации на $4,1 \pm 0,4$ день, в контрольной группе – на $6,3 \pm 0,5$ день ($P < 0,05$); улучшение общего состояния пациентов, сокращение продолжительности желтушного периода до $12,4 \pm 1,5$ дней, а в группе контроля – до $17,8 \pm 2,0$ дней ($P > 0,05$).

При исследовании биохимических показателей и активности некоторых ферментов сыворотки крови до и после лечения флакозидом в течение 3 недель отмечали снижение уровня общего билирубина в 5,9 раз (с $153,3 \pm 22,3$ мкмоль/л до $25,8 \pm 2,7$ мкмоль/л), в контрольной группе – в 4,0 раза (с $146,1 \pm 17,6$ мкмоль/л до $36,8 \pm 2,8$ мкмоль/л) ($P < 0,05$); тимоловой пробы в 2,2 раза (с 9,1 Ед до 4,1 Ед); активности аланинтрансаминазы (АлАТ) на 89,6 %, которая достигла нормы и составила 35 ± 4 Е/л по сравнению с исходным показателем – 336 ± 26 Е/л, в контрольной группе этот показатель уменьшился на 73,8 % и составил 57 ± 8 Е/л ($P < 0,05$). Активность гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ) уменьшилась на 65,7 % (с $176,5 \pm 5,7$ Е/л до $60,6 \pm 10,3$ Е/л) ($P < 0,05$) по сравнению с исходными данными. В контрольной группе этот показатель снизился на 34,6 % (с $164,1 \pm 11,9$ Е/л до $107,3 \pm 11,2$ Е/л) ($P < 0,05$). Белковый спектр сыворотки крови у пациентов с ВГВ, в лечении которых использовали «Флакозид», характеризовался достоверным понижением уровня гамма-глобулина с $24,4 \pm 0,6$ % до $13,7 \pm 0,5$ % ($P < 0,05$) и повышением содержания общего белка с $61,3 \pm 1,8$ г/л до $63,8 \pm 1,8$ г/л (в контрольной группе с $55,0 \pm 1,7$ г/л до $66,7 \pm 1,1$ г/л) и альбумина – с $51,6 \pm 1,5$ % до $51,9 \pm 1,4$ % в основной группе и с $45,6 \pm 1,3$ % до $50,2 \pm 0,9$ % в контрольной группе ($P < 0,05$), что свидетельствовало об улучшении белково-синтетической функции печени.

Комплексная оценка серологических маркеров вируса гепатита В показала, что в разгар заболевания антиген НВsAg был обнаружен у 97 % пациентов основной группы и у 90 % – контрольной группы. Применение флакозида в комплексной терапии ВГВ на 10 сутки лечения в основной группе маркер активности вируса гепатита В (НВsAg) был обнаружен у 84,8 % пациентов, а в контрольной группе –

у 81,7 % ($P > 0,05$). На 20 сутки лечения флакозидом установлено статистически достоверное различие по количеству выявлений указанного антигена между основной и контрольной группами: 68,2 % (основная группа) и 76,7 % (контрольная группа) ($P < 0,05$). Через 10 дней после отмены флакозида антиген НВsAg был выявлен у 53 % пациентов основной группы и у 61 % пациентов контрольной группы ($P < 0,05$).

Антиген вируса гепатита В – НВeAg, был обнаружен у 22 (10,4 %) пациентов основной группы и у 13 (6,5 %) пациентов контрольной группы. Определение содержания anti-НВс IgM антител (АТ) проводилось в те же сроки, что и индикация НВeAg. Anti-НВс IgM АТ до лечения флакозидом были выявлены у 92,4 % пациентов, а в контрольной группе – у 90,3 % пациентов. После лечения флакозидом anti-НВс IgM АТ были обнаружены у всех (100 %) пациентов, а в контрольной группе – у 96,7 % пациентов. Это свидетельствует, что под действием флакозида не изменилась частота выявления anti-НВс IgM АТ в крови пациентов основной группы.

До лечения флакозидом у пациентов отмечали угнетение клеточного иммунитета: существенное снижение абсолютного числа лимфоцитов в основной группе до $1,2 \pm 0,17 \cdot 10^9$ /л, в контрольной группе – $1,5 \pm 0,16 \cdot 10^9$ /л, общего количества Т-лимфоцитов, теофиллинрезистентных и теофиллинчувствительных клеток. После 21-дневного лечения флакозидом наблюдали нормализацию показателей Т-клеточного иммунитета: увеличение абсолютного количества лимфоцитов до $1,8 \pm 0,19 \cdot 10^9$ /л у пациентов основной группы, в контрольной группе – до $1,9 \pm 0,17 \cdot 10^9$ /л, ($P < 0,05$), в том числе Т-лимфоцитов до $0,98 \pm 0,10 \cdot 10^9$ /л, особенно теофиллинчувствительных лимфоцитов до $0,32 \pm 0,04 \cdot 10^9$ /л, которые являются иммунорегулирующими клетками. Полученные данные позволяют сделать вывод о стимулирующем влиянии флакозида на показатели клеточного иммунитета у пациентов с острым вирусным гепатитом В.

При проведении клинических исследований флакозида в комплексной терапии ВГА и ВГВ ни у одного из пациентов не выявлено ухудшения общего состояния и каких-либо нежелательных побочных эффектов по клинико-лабораторным показателям.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты экспериментальных исследований установили противовирусное действие флакозида в отношении вируса гепатита А, подтвержденное при проведении клинических исследований у взрослых пациентов.

Лечение флакозидом пациентов с вирусным гепатитом В показало его высокую эффективность, способствуя более быстрому исчезновению клинических симптомов заболевания, нормализации биохимических показателей, элиминации из крови антигена

HBsAg. «Флакозид» оказывал стимулирующее влияние на клеточный иммунитет. «Флакозид» хорошо переносился, не вызывал каких-либо нежелательных побочных проявлений общего или местного, в том числе аллергического характера. На основании результатов клинических исследований «Флакозид» разрешен для медицинского использования в качестве противовирусного средства (регистрационный номер 90/248/7) [19].

Высокая противовирусная активность флакозида в отношении вируса гепатита С, установленная в опытах *in vitro*, обосновывает возможность проведения клинических исследований препарата у пациентов с вирусным гепатитом С.

ЛИТЕРАТУРА

1. Фазылов В. Х. Этиологические и патогенетические аспекты диагностики и лечения вирусных гепатитов. *Казанский медицинский журнал*. 2013;94(6):785–792. DOI: 10.17816/KMJ1791.
2. Косаговская И. И., Волчкова Е. В. Медико-социальные аспекты вирусных гепатитов с парентеральным путем передачи. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2013;18(1):28–39. DOI: 10.17816/EID40715.
3. Михайлов М. И., Ющук Н. Д., Малинникова Е. Ю., Кюрегян К. К., Исаева О. В., Знойко О. О., Климова Е. А. Вирусные гепатиты – проблема общественного здоровья в Российской Федерации (проект программы по контролю и ликвидации вирусных гепатитов). *ОРГЗДРАВ: новости, мнения, обучение. Вестник ВШОУЗ*. 2018;2(12):20–29.
4. Azeem H. A., Alkabeer A. M., Mohammed A. S. Study of hepatitis B virus infection, reactivation among patients with chronic hepatitis C infection treated by direct antiviral agents (DAAs). *Egyptian Liver Journal*. 2021;11:53. DOI: 10.1186/s43066-021-00121-8.
5. Miguères M., Lhomme S., Izopet J. Hepatitis A: Epidemiology, High-Risk Groups, Prevention and Research on Antiviral Treatment. *Viruses*. 2021;13(10):1900. DOI: 10.3390/v13101900.
6. Westermann C., Wendeler D., Nienhaus A. Hepatitis C in healthcare personnel: follow-up analysis of treatments with direct-acting antiviral agents. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*. 2021;16:34. DOI: 10.1186/s12995-021-00320-4.
7. Pintó R. M., Pérez-Rodríguez F.-J., Costafreda M.-I., Chavarria-Miró G., Guix S., Ribes E., Bosch A. Pathogenicity and virulence of hepatitis A virus. *Virulence*. 2021;12(1):1174–1185. DOI: 10.1080/21505594.2021.1910442.
8. Abutaleb A., Kottillil S. Hepatitis A: Epidemiology, Natural History, Unusual Clinical Manifestations, and Prevention. *Gastroenterology Clinics of North America*. 2020;49(2):191–199. DOI: 10.1016/j.gtc.2020.01.002.
9. Sharapov U. M., Hu D. J. Viral hepatitis A, B, and C: grown-up issues. *Adolesc Med State Art Rev*. 2010;21(2):265–286.
10. Kanda T., Sasaki R., Masuzaki R., Takahashi H., Mizutani T., Matsumoto N., Nirei K., Moriyama M. Co-Occurrence of hepatitis A infection and chronic liver disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(17):6384. DOI: 10.3390/ijms21176384.
11. Pardee M. Diagnosis and Management of Hepatitis B and C. *Nursing Clinics of North America*. 2019;54(2):277–284. DOI: 10.1016/j.cnur.2019.02.004.
12. Чуелов С. Б., Россина А. Л., Учайкин В. Ф. Этиотропная терапия вирусных гепатитов. *Детские инфекции*. 2017;16(3):32–40. DOI: 10.22627/2072-8107-2017-16-3-32-40.
13. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 году». Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. 2021. 256 с. Доступно по: https://www.rosпотребнадзор.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=18266. Ссылка активна на 05.07.2021.

14. Шульженко А. Е. Герпетические инфекции человека. Перспективы диагностики и противовирусной терапии. *Цитокины и воспаление*. 2005;4(3):76–81.
15. Sagnelli E., Pisaturo M., Martini S., Sagnelli C., Filippini P., Coppola N. Advances in the treatment of hepatitis B virus/hepatitis C virus coinfection. *Expert Opin Pharmacother*. 2014;15(10):1337–1349. DOI: 10.1517/14656566.2014.913571.
16. Богоявленский А. П., Турмагамбетова А. С., Березин В. Э. Противовирусные препараты растительного происхождения. *Фундаментальные исследования*. 2013;6–5:1141–1145.
17. Бортникова В. В., Карабаева В. В., Крепкова Л. В., Сидельникова Г. Ф., Мизина П. Г., Карабаева О. Н. Флакозид – лекарственный препарат из листьев бархата амурского, в терапии заболеваний гепатобилиарной системы. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2020;23(2):18–23.
18. Fateeva T. V., Deryabin P. G., Bortnikova V. V., Krepkova L. V., Mizina P. G. Experimental Study of Flakozid Activity in Viral Hepatitis C *In Vitro*. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019;167(4):479–481. DOI: 10.1007/s10517-019-04554-5.
19. Вичканова С. А., Колхир В. К., Сокольская Т. А., Воскобойникова И. В., Быков В. А. Лекарственные средства из растений. М.: Адрис; 2009. 432 с.
20. Методические рекомендации по доклиническому изучению специфической противовирусной активности лекарственных средств. В кн.: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К; 2013. С. 527–551.
21. Вичканова С. А., Багинская А. И., Шипулина Л. Д., Колхир В. К., Бортникова В. В., Городнюк Т. Н. Флакозид – эффективное растительное средство для лечения гепатитов вирусной и не вирусной этиологии, а также вирусных поражений кожи. В кн.: Сборник научных трудов ВИЛАР: химия, технология, медицина. М.: ВИЛАР; 2000. С. 316–323.
22. Дерябин П. Г., Львов Д. К. Высокопродуктивный вариант вируса гепатита С. Выделение, характеристика, идентификация. *Доклады Академии наук*. 1998;358(5):688–691.

REFERENCES

1. Fazylov V. Kh. Etiological and pathogenetic aspects of diagnosis and treatment of viral hepatitis. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal = Kazan Medical Journal*. 2013;94(6):785–792. (In Russ.) DOI: 10.17816/KMJ1791.
2. Kosagovskaya I. I., Volchkova E. V. The medico-social aspects of viral hepatitis with the parenteral way of transmission. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni = Epidemiology and infectious diseases*. 2013;18(1):28–39. (In Russ.) DOI: 10.17816/EID40715.
3. Mikhaylov M. I., Yushchuk N. D., Malinnikova E. Yu., Kyuregyan K. K., Isaeva O. V., Znoyko O. O., Klimova E. A. Viral hepatitis as public health problem in the Russian Federation (a design program for the control and elimination of viral hepatitis). *ORGZDRAV: novosti, mneniya, obuchenie. Vestnik VSHOUZ = ORGZDRAV: news, views, education. Bulletin of VSHOUZ*. 2018;2(12):20–29. (In Russ.)
4. Azeem H. A., Alkabeer A. M., Mohammed A. S. Study of hepatitis B virus infection, reactivation among patients with chronic hepatitis C infection treated by direct antiviral agents (DAAs). *Egyptian Liver Journal*. 2021;11(53). DOI: 10.1186/s43066-021-00121-8.
5. Miguères M., Lhomme S., Izopet J. Hepatitis A: Epidemiology, High-Risk Groups, Prevention and Research on Antiviral Treatment. *Viruses*. 2021;13(10):1900. DOI: 10.3390/v13101900.
6. Westermann C., Wendeler D., Nienhaus A. Hepatitis C in healthcare personnel: follow-up analysis of treatments with direct-acting antiviral agents. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*. 2021;16:34. DOI: 10.1186/s12995-021-00320-4.
7. Pintó R. M., Pérez-Rodríguez F.-J., Costafreda M.-I., Chavarria-Miró G., Guix S., Ribes E., Bosch A. Pathogenicity and virulence of hepatitis A virus. *Virulence*. 2021;12(1):1174–1185. DOI: 10.1080/21505594.2021.1910442.

8. Abutaleb A., Kotttilil S. Hepatitis A: Epidemiology, Natural History, Unusual Clinical Manifestations, and Prevention. *Gastroenterology Clinics of North America*. 2020;49(2):191–199. DOI: 10.1016/j.gtc.2020.01.002.
9. Sharapov U. M., Hu D. J. Viral hepatitis A, B, and C: grown-up issues. *Adolesc Med State Art Rev*. 2010;21(2):265–286.
10. Kanda T., Sasaki R., Masuzaki R., Takahashi H., Mizutani T., Matsu-moto N., Nirei K., Moriyama M. Co-Occurrence of hepatitis A infection and chronic liver disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(17):6384. DOI: 10.3390/ijms21176384.
11. Pardee M. Diagnosis and Management of Hepatitis B and C. *Nursing Clinics of North America*. 2019;54(2):277–284. DOI: 10.1016/j.cnur.2019.02.004.
12. Chuelov S. B., Rossina A. L., Uchaikin V. F. Etiotropic therapy of viral hepatitis. *Detskie infektsii = Children infections*. 2017;16(3):32–40. (In Russ.) DOI: 10.22627/2072-8107-2017-16-3-32-40.
13. Gosudarstvennyy doklad "O sostoyanii sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya naseleniya v Rossiyskoy Federatsii v 2020 godu". *Federal'naya sluzhba po nadzoru v sfere zashchity prav potrebiteley i blagopoluchiya cheloveka* [State report "On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2020". Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare] 2021. 256 p. Available at: https://www.rosпотребнадзор.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=18266 Accessed: 05.07.2021. (In Russ.)
14. Shulzhenko A. E. *Herpeticheskie infektsii cheloveka. Perspektivy diagnostiki i protivovirusnoy terapii* [Herpetic infections in humans. Prospects for diagnostics and antiviral therapy]. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*. 2005;4(3):76–81. (In Russ.)
15. Sagnelli E., Pisaturo M., Martini S., Sagnelli C., Filippini P., Coppola N. Advances in the treatment of hepatitis B virus/hepatitis C virus coinfection. *Expert Opin Pharmacother*. 2014;15(10):1337–1349. DOI: 10.1517/14656566.2014.913571.
16. Bogoyavlenskiy A. P., Turmagambetova A. S., Berezin V. E. Antiviral preparations of plant origin. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2013;6–5:1141–1145. (In Russ.)
17. Bortnikova V. V., Karabaeva V. V., Krepkova L. V., Sidelnikova G. F., Mizina P. G., Karabaeva O. N. Flakozid – drug from the leaves of phellodendron amurense rupestris, in treatment of diseases of the hepatobiliary system. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii = Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2020;23(2):18–23. (In Russ.)
18. Fateeva T. V., Deryabin P. G., Bortnikova V. V., Krepkova L. V., Mizina P. G. Experimental Study of Flakozid Activity in Viral Hepatitis C *In Vitro*. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019;167(4):479–481. DOI: 10.1007/s10517-019-04554-5.
19. Vichkanova S. A., Kolkhir V. K., Sokol'skaya T. A., Voskoboinikova I. V., Bykov V. A. *Lekarstvennye sredstva iz rasteniy* [Medicinal products from plants]. Moscow: Adris; 2009. 432 p. (In Russ.)
20. *Metodicheskie rekomendatsii po doklinicheskomu izucheniyu spetsificheskoy protivovirusnoy aktivnosti lekarstvennykh sredstv. V kn.: Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaya* [Methodical recommendations for the preclinical study of the specific antiviral activity of drugs. In: Guidelines for conducting preclinical studies of drugs]. Part I. Moscow: Grif i K; 2013. P. 527–551 (In Russ.)
21. Vichkanova S. A., Baginskaya A. I., Shipulina L. D., Kolkhir V. K., Bortnikova V. V., Gorodnyuk T. I. *Flakozid – effektivnoe rastitel'noe sredstvo dlya lecheniya gepatitov virusnoy i ne virusnoy etiologii, a takzhe virusnykh porazheniy kozhi. V kn.: Sbornik nauchnykh trudov VILAR: khimiya, tekhnologiya, meditsina* [Flacoside is an effective herbal remedy for the treatment of viral and non-viral hepatitis, as well as viral skin lesions. In: Collection of scientific works VILAR: chemistry, technology, medicine]. Moscow: VILAR; 2000. P. 316–323. (In Russ.)
22. Deryabin P. G., L'vov D. K. *Vysokoproduktivnyy variant virusa gepatita S. Vydelenie, kharakteristika, identifikatsiya* [Highly productive variant of the hepatitis C virus. Isolation, characteristics, identification]. *Doklady Akademii nauk*. 1998;358(5):688–691. (In Russ.)