на правах рукописи

Мордвинова Екатерина Денисовна

ПСЕВДОВИРУСНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ПОИСКА ИНГИБИТОРОВ КОРОНАВИРУСОВ

1.5.3– молекулярная биология
1.5.10 – Вирусология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Кольцово – 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова сибирского отделения российской академии наук и Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Научные руководители:	**Яровая Ольга Ивановна,** доктор химических наук, ведущий научный сотрудник Лаборатории физиологически активных веществ ФГБУН Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН **Щербаков Дмитрий Николаевич,** кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела биофизики и экологических исследований ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора
Официальные оппоненты:	**Кривицкая Вера Зорьевна**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории изучения факторов риска при гриппе и ОРВИ ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, г. Санкт-Петербург. **Дымова Майя Александровна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
Ведущая организация:	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»

Защита состоится «5» февраля 2027 г. в 9-00 на заседании диссертационного совета 64.1.001.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по адресу: 630559, р.п. Кольцово, Новосибирская область, тел.: +7(383)363-47-00.
С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора http://www.vector.nsc.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета, д.б.н, доцент — Т.Н. Ильичёва

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Вирусные заболевания представляют собой не только серьезную проблему здравоохранения, но и несут серьезные экономические вызовы. За последние двадцать лет человечество столкнулось с несколькими вирусными вспышками. К наиболее серьезным можно отнести вспышки: тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV) в 2002–2003 гг, ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV) в 2012 г, лихорадку Эбола в Западной Африке в 2014-2015 гг, лихорадку Ласса в Нигерии в 2018 году и пандемию COVID-19 (SARS-CoV-2) в 2020-2023 гг. Большую роль при этом, сыграли коронавирусы. Их высокая изменчивость и возможно перехода от животных к человеку указывают на большую вероятность возникновения новых вспышек в будущем. Это указывает на необходимость разработки превентивных мер, в частности создания подходов для быстрого поиска профилактических и терапевтических препаратов.

Поиск терапевтических противовирусных препаратов значительно усложняется в случае высокопатогенных вирусов, работа с которыми возможна лишь при соблюдении специальных требований. Решением данной проблемы может быть разработка суррогатных систем, позволяющих проводить скрининговые исследования без инфекционных рисков. Одной из такой систем является псевдовирусные частицы, которые могут имитировать процесс заражения клеток живым вирусом.

Цель работы: разработка псевдовирусной системы и ее использование для поиска ингибиторов проникновения.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи:**

1. Конструирование рекомбинантных плазмид, обеспечивающих сборку коронавирусных псевдовирусов;
2. Разработка клеточных линий, чувствительных к коронавирусам;
3. Анализ функциональных свойств псевдовирусов;
4. Анализ биологической активности библиотек низкомолекулярных органических соединений с использованием разработанной суррогатной системы.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы

В работе получены плазмиды, содержащие гены поверхностного S белка коронавирусов: SARS-CoV-2 (Wuhan-Hu-1, Delta, Omicron и XBB.1.5), SARS-CoV, MERS-CoV, обеспечивающие синтез и сборку функциональных псевдовирусных частиц.

Впервые были сконструированы оригинальные плазмидные вектора pVEAL3-ACE2, pVEAL4-ACE2-TMPRSS2, pVEAL3-DPP4, содержащие в своем составе гены рецепторов входа коронавирусов ACE2 и TMPRSS2 (SARS подобные), и DPP4 (MERS подобные) и обеспечивающие интеграцию в геном клеток млекопитающих.

С использованием полученных плазмидных конструкций разработаны трансгенные клеточные культуры, содержащие на своей поверхности рецепторы ACE2, TMPRSS2 (SARS подобные) и DPP4.

Разработан протокол получения и функционального анализа псевдовирусных частиц с использованием лентивирусной системы и трансгенных клеточных культур, содержащих на своей поверхности ACE2, TMPRSS2 (SARS подобные) и DPP4.

Впервые с использованием разработанной суррогатной системы отработана методика скрининга и проведен анализ активности 109 соединений: производные различных терпеноидных и стероидных скелетов, органические красители, производные усниновой кислоты, а также производные адамантана, содержащие монотерпеновые фрагменты. Были идентифицированы ингибиторы (**11**, **21**, **2a**, **4b**, **5a**), активные в отношении как патогенного вируса, так и псевдовирусных частиц, со значениями IC_{50} в низкомикромолярном диапазоне (от 2.6 до 10 мкМ).

Для производных усниновой кислоты установлен мультитаргетный характер ингибирования SARS-CoV-2. Показана активность в отношении псевдовирусов и основной протеазы 3CL.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Плазмидная конструкция, содержащая ген S-белка SARS-CoV-2 с делецией участка, кодирующего последние восемнадцать аминокислот С-конца, обеспечивает сборку лентивирусных псевдовирусных частиц, обладающих наибольшей функциональной активностью.

2. Трансфекция клеточной линии HEK293T плазмидами pVEAL3-ACE2, pVEAL4-ACE2-TMPRSS2 и pVEAL3-DPP4 обеспечивает получение трансгенных клеточных линий, стабильно экспонирующих на своей поверхности рецепторы ACE2, TMPRSS2 и DPP4.

3. Клеточные линии HEK293T-ACE2-TMPRSS2 обладает большей чувствительностью к псевдовирусным частицам SARS-CoV-2 по сравнению с линией, экспрессирующей только HEK293T-ACE2.

4. Сложноэфирные производные борнеола (соединения **11** и **21**) и конъюгаты адамантана и монотерпенов (соединения **2a**, **4b**, **5a**), проявляют противовирусную активность в отношении широкого спектра псевдотипированных частиц и патогенных штаммов SARS-CoV-2 (Wuhan-Hu-1, Delta, Omicron) с IC_{50} в низкомикромолярном диапазоне (3,5 – 10 мкМ) и высоким индексом селективности (SI >10).

Степень достоверности и апробация результатов

Положения и выводы являются научно обоснованными. Полученные результаты являются достоверными и опираются на экспериментальные и литературные данные. Результаты диссертационной работы были представлены на Всероссийской молодежной научной школы-конференции «Актуальные проблемы органической химии» (Шерегеш, 2024 г.), Всероссийской научной конференция с международным участием, посвященная 65-летию со дня основания НИОХ СО РАН «Современные проблемы органической химии» (Новосибирск, 2023 г.), Всероссийской конференции с международным участием «Идеи и наследие А.Е. Фаворского в органической химии» (Санкт-Петербург, 2023 г.), I междисциплинарной всероссийской молодежной научной школы-конференции с международным участием «Молекулярный дизайн биологически активных веществ: биохимические и медицинские аспекты» (Казань, 2023), международной конференции OpenBio (Кольцово, 2022 г.), международной научной студенческой конференции (Новосибирск, 2021).

Результаты работы отражены в 11 публикациях в отечественных и зарубежных изданиях, из которых: 5 статей в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для защиты диссертаций, 6 тезисов докладов на всероссийских и международных конференциях.

Личный вклад автора

Основная часть экспериментальной работы (клонирование, работа с клеточными культурами, иммуноферментный анализ, тестирование соединений) была выполнена лично автором. Секвенирование нуклеотидных последовательностей было проведено в ЦКП «Геномика» (ИХБФМ, Новосибирск). Анализ образцов методом электронной микроскопии был выполнен заведующим отделом микроскопических исследований ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора Тарановым О.С. и в.н.с. Зайцевым Б.Н. Проточную цитофлуориметрию клеточных культур проводила научный сотрудник отдела биоинженерии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора к.б.н. Старостина Е.В. Синтез библиотек соединений был выполнен сотрудниками лаборатории физиологически активных веществ к.х.н. Соколовой А.С., д.х.н. Яровой О.И., к.х.н. Ковалевой К.С. и др., и лаборатории направленных трансформаций природных соединений к.х.н. Можайцевым Е.С., к.х.н. Сусловым Е.С., к.х.н. Понамаревым К.Ю. НИОХ им. Н.Н. Ворожцова СО РАН. Тестирование соединений на вирусе SARS-CoV-2 проведено к.б.н. Зайковской А.В. (отдел «Коллекции микроорганизмов» ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора). Определение ингибирующей активности соединений в отношении ферментов выполнено совместно с сотрудниками

лаборатории ингибиторов вирусных протеаз НИОХ им. Н.Н. Ворожцова СО РАН к.х.н. Мешковой Ю.В., к.б.н. Марениной М.К. Молекулярное моделирование выполнено совместно с д.х.н. Борисевич С.С. и Мустаевым Е.А. (ЦКП «Скиф»).

Структура и объём диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и обсуждения, заключения, выводов, списка используемой литературы и приложений. Работа изложена на 128 страницах, включает 44 рисунка, 11 таблиц и 3 приложения. Список литературы включает 141 источник.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Разработка псевдовирусной системы SARS-CoV-2

Одним из элементов необходимых для сборки псевдовирусных частиц является ДНК-плазмидная конструкция, содержащая ген поверхностного белка S SARS-CoV-2 штамма Wuhan-Hu-1. Эффективность сборки псевдовирусов коронавирусов может зависеть от наличия сигналов удержания в цитоплазматическом домене белка S, а также от его лидерной последовательности. В связи с этим был разработан дизайн трех различных вариантов белка S SARS-CoV-2 (рис.1):

1. полноразмерный белок S (плазмида ph-S);
2. усеченный вариант белка S с делецией 18 С-концевых аминокислот (плазмида ph-SΔ18);
3. белок S с заменой нативной лидерной последовательности на сигнальную последовательность тканевого активатора плазминогена и делецией 18 С-концевых аминокислот (плазмида ph-lid-SΔ18).

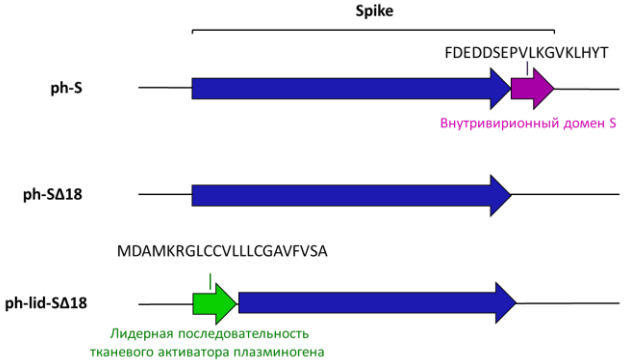


Рисунок 1. Схематическое представление фрагмента плазмид в области гена, кодирующего поверхностный белок S.

Следующим этапом работы стало получение псевдовирусных частиц, экспонирующих на своей поверхности белок S SARS-CoV-2. Для их сборки использовали две системы: рабдовирусную на основе рекомбинантного вируса везикулярного стоматита (VSV) и лентивирусную на основе вируса иммунодефицита человека 1-го типа (HIV-1).

Для получения псевдовирусных частиц на основе VSV клетки HEK293T трансфицировали плазмидой, кодирующей белок S. Через 16–20 ч добавляли препарат рекомбинантного VSV-ΔG(G), а сбор частиц проводили через 2 суток после трансфекции.

Для получения лентивирусных псевдовирусных частиц клетки HEK293T котрансфицировали тремя плазмидами: репортёрной pLV, упаковочной psPX2 и одной из плазмид, кодирующих поверхностный белок (ph-S, ph-SΔ18, ph-lid-SΔ18 или ph-G-VSV). Урожай собирали через 48 ч.

С использованием обеих систем были получены псевдовирусные частицы с тремя вариантами белка S (S, SΔ18 и lid-SΔ18). Их функциональную активность оценивали на клетках HEK293T (рис. 2A). Уровень сигнала составлял 1×10^4–10^5 RLU. Удаление 18 С-концевых аминокислотных остатков белка S повышало эффективность сборки примерно в 2 раза. При использовании лентивирусной системы регистрировали более высокий сигнал. Средний диаметр лентивирусных псевдовирусных частиц, определённый методом электронной микроскопии, составил 92 нм, что сопоставимо с размером вирионов SARS-CoV-2 (60–120 нм) (рис. 2B).

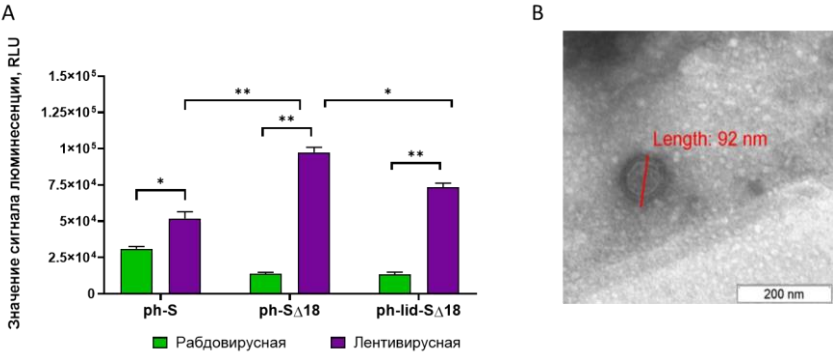


Рисунок 2. Функциональный анализ псевдовирусных частиц. **A**. Трансдуцирующая активность псевдовирусных частиц, экспонирующих поверхностный белок SARS-CoV-2, с использованием конструкций S, SΔ18, lid-SΔ18 и двух систем сборки. Данные представлены как средние ± стандартное отклонение для трех повторов. Статистическую значимость определяли с помощью непарного t-теста с поправкой Бонферрони для трёх множественных сравнений (α` = 0,0167). (*p < 0,05, **p <

0,01 до поправки). После поправки различия между ph-SΔ18 и ph-lid-SΔ18 в лентивирусной системе остаются значимыми (p = 0,0004), а в рабдовирусной системе различия между усечёнными вариантами незначимы (p = 0,71). **B**. Электронная микрофотография лентивирусных псевдовирусных частиц, несущих поверхностный белок S SARS-CoV-2.

В дальнейшей работе были использованы псевдовирусные частицы, собранные с помощью лентивирусной системы и плазмид с архитектурой, подобной ph-SΔ18.

Псевдовирусные частицы SARS-CoV-2 использовали для изучения чувствительности к различным клеточным культурам: Caco-2, Vero E6, Tzm-bl, HEK293T, Huh7 и CHO-K1. Во всех случаях сигнал люминесценции не превышал 10^4 RLU, тогда как контрольные псевдовирусы VSV-G давали 1,5–2,5×10^6 RLU, что подтвердило низкую естественную восприимчивость тестируемых линий к псевдовирусам SARS-CoV-2.

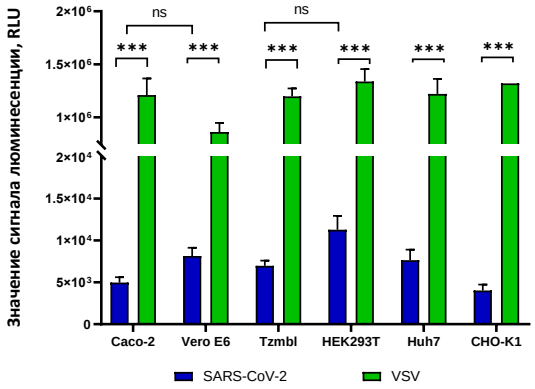


Рисунок 3.

Трансдуцирующая активность псевдовирусных частиц, экспонирующих поверхностные белки S вируса SARS-CoV-2 и G вируса VSV, на клеточных линиях Caco-2, Vero E6, Tzmbl, HEK293T, Huh7, CHO-K1. Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение (n=3). Статистический анализ: для каждой линии сравнивали SARS-CoV-2 и VSV с помощью непарного t-теста с поправкой Бонферрони для 6 сравнений (α' = 0,00833). Для всех шести линий различия между псевдовирусами SARS-CoV-2 и VSV статистически значимы (p<0,0001). Попарное сравнение уровней сигнала значения люминесценции функциональной активности псевдовирусных частиц SARS-CoV-2 между шестью клеточными линиями (Caco-2, Vero E6, Tzmbl, HEK293T, Huh7, CHO-K1) проводили с помощью непарного t-теста с поправкой Бонферрони на множественные сравнения (α'=0,0033).

Данные эксперимента показали, что статистически значимых различий между сигналами, полученными от каждой использованной в эксперименте клеточной линии, не наблюдалось. Для проникновения коронавируса в клетку необходимо взаимодействие с соответствующими клеточными рецепторами (в случае SARS-CoV-2 и SARS-CoV-1 – это ACE2, а для MERS-CoV – DPP4). Так как исследуемые клетки не позволили получить достаточные значения уровня люминесценции, было

решено получить клеточные линии содержащие на своей поверхности рецепторы необходимые для входа коронавирусов – DPP4, ACE2 и TMPRSS2. Для этого были сконструированы интеграционные плазмиды pVEAL3-ACE2, pVEAL3-DPP4, pVEAL4-ACE2-TMPRSS2, содержащие гены белков ACE2, DPP4, TMPRSS2. С использованием этих конструкций были получены стабильные клеточные линии HEK293T-ACE2, HEK293T-DPP4 и HEK293T-ACE2-TMPRSS2. Наличие целевых рецепторов в них было подтверждено методом проточной цитофлуориметрии, после чего линии использовали для анализа функциональной активности псевдовирусных частиц.

Полученные линии использовали для анализа функциональной активности псевдовирусных частиц SARS-CoV-2, SARS-CoV и MERS-CoV (рис. 4). Согласно полученным результатам, наибольшая трансдуцирующая активность псевдовирусов SARS-CoV-2 наблюдалась для клеточной линии HEK293T-ACE2-TMPRSS2. Для клеток HEK293T-ACE2 трансдуцирующая активность псевдовирусов была в несколько раз ниже, а для нативных клетках HEK293T практически отсутствовала. Значение сигнала люминесценции для псевдовирусных частиц SARS-CoV был ниже (в 6 раз), чем для SARS-CoV-2 и составил 3×10^4 RLU на клеточной линии HEK293T-ACE2-TMPRSS2. Высокий сигнал люминесценции регистрировали для псевдовирусных частиц MERS-CoV со значением $2{,}5\times10^5$ RLU на клеточной линии HEK293T-DPP4.

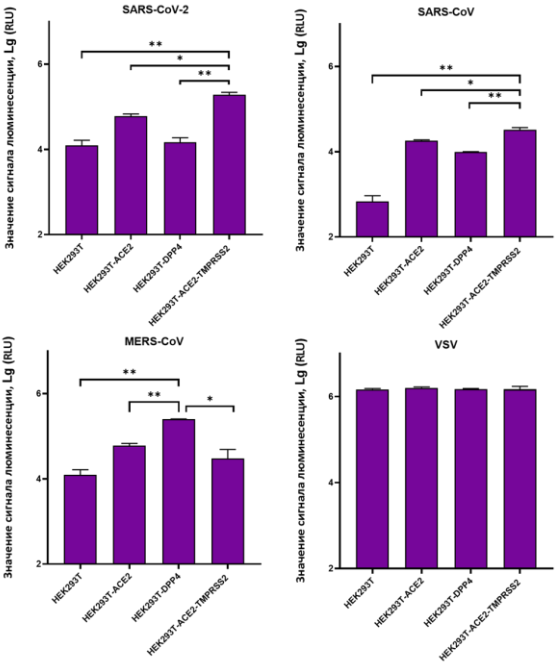


Рисунок 3.

Трансдуцирующая активность псевдовирусных частиц, экспонирующих поверхностные белки S вируса SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV, VSV на клеточных линиях HEK293T, HEK293T-ACE2, HEK293T-ACE2-TMPRSS2 и HEK293T-DPP4. Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение для трех повторов. Статистическую значимость определяли с помощью непарного t-теста

с поправкой Бонферрони для трёх множественных сравнений (критический уровень α' = 0,017). (GraphPad Prism). (*p <0.05, **p <0.01).

Для подтверждения антигенных свойств полученных псевдовирусных частиц были использованы два рекомбинантных моноклональных антитела – Nb6 и W25. В качестве отрицательного контроля было выбрано моноклональное антитело MR191, специфично связывающееся с гликопротеином GP вируса Марбург. В результате проведенного анализа было показано, что оба антитела демонстрируют дозозависимую нейтрализацию псевдовирусов SARS-CoV-2 штамм Wuhan-Hu-1 (Nb6 с IC_{50}=25±8 нг/мл, W25 с IC_{50}=58±10 нг/мл). В то же время в присутствии антитела MR191 нейтрализации не наблюдалось. Полученные данные свидетельствуют о том, что полученные псевдовирусные частицы несут функционально активный S белок в нативной конформации, сохраняющий антигенную структуру рецептор-связывающего домена.

Тестирование библиотек соединений

Следующим этапом исследования стало тестирование низкомолекулярных ингибиторов с использованием разработанной псевдовирусной системы. В рамках данной работы была проведена оценка противовирусной активности широкого спектра соединений, включающих: производные различных терпеноидных скелетов, производные усниновой кислоты, а также производные адамантана, содержащие монотерпеновые фрагменты.

Для всех соединений была исследована цитотоксичность для клеточной линии HEK293T-ACE2-TMPRSS2, определена их 50% цитотоксическая концентрация (CC_{50}). Исследование противовирусной активности проводили с использованием полученных лентивирусных частиц, экспонирующих на своей поверхности белок S вируса SARS-CoV-2 штамма Wuhan-Hu-1. На основании полученных значений IC_{50} и CC_{50} был рассчитан индекс селективности (SI), отражающий отношение между цитотоксичностью и противовирусной активностью. Согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ», перспективный кандидат для противовирусной терапии должен характеризоваться высоким значением CC_{50}, низким IC_{50} и индексом селективности SI > 8. В качестве препарата сравнения был использован коммерчески доступный противовирусный агент - умифеновир, относящийся к ингибиторам проникновения вирусов.

Производные монотерпеноидов

Среди производных монотерпеноидов были исследованы следующие группы соединений: сложноэфирные производные борнеола; амиды на основе изоборниламина; гетероциклические производные 10-камфоросульфокислоты; борнановые производные тиазолидин-4-она; стероидные соединения; пентациклические тритерпеноиды; производные адамантана; спироциклические производные камфоры и фенхона; производные смоляных кислот; сложноэфирные производные (+)-фенхола склареол и его производное. Большинство классов соединений (производные камфоры, камфоросульфокислоты, стероиды, тритерпеноиды, смоляные кислоты) не проявили активности или имели SI < 8.

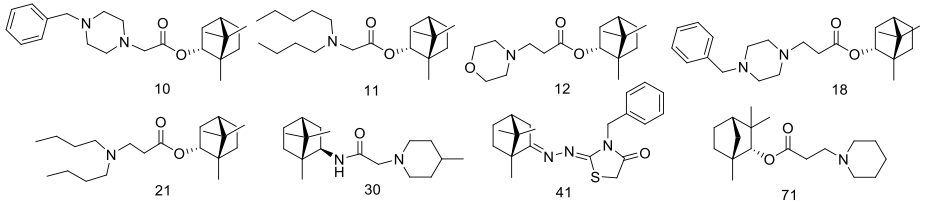


Рисунок 5. Структуры наиболее активных природных производных, содержащих монотерпеновый фрагмент в отношении псевдовирусных частиц SARS-CoV-2 штамма Wuhan-Hu-1.

Структуры наиболее активных соединений, продемонстрировавших значительную ингибирующую активность, представлены на рисунке 5, а их значения IC_{50} и CC_{50} приведены в таблице 1.

Таблица 1. Ингибирующая активность соединений **10**, **11**, **12**, **18, 21**, **30**, **41** и **71** в отношении псевдовирусных частиц SARS-CoV-2 штамма Wuhan-Hu-1. Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение.

Соединение	CC_{50}, мкМ	IC_{50}, мкМ	SI
10	110.5±11.4	15.4±1.2	7
11	186.5±12.7	18.6±2.5	10
12	396.7±32.5	21.4±2.6	18
18	292.6±21.6	17.1±2.4	17
21	742.4±22.5	9.3±1.1	80
30	417.4±16.6	41.8±3.5	10
41	1890.5±125.2	72.1±5.6	26
71	351.4±41.3	2.5±1.1	140
Умифеновир	20.4±5.4	7.1± 3.5	3

Наибольшую ингибирующую активность в ходе скрининга проявили сложноэфирные производные (+)-фенхола (**65**–**73**) и борнеола (10–21). Среди производных фенхола лидером стало соединение **71** (IC_{50} 2.5 мкМ, SI 175), при этом практически все соединения этой группы были активны с IC_{50} 2–14 мкМ. Среди производных борнеола наибольший интерес представляют соединения **11** и **21**: удлинение линкерного фрагмента повышало активность (IC_{50} снижался с 18.6 до 9.3 мкМ) и цитотоксичность (CC_{50} возрастала с 186 до 742 мкМ). Показано также, что активность зависела от заместителя при третичном атоме азота: ингибирующую активность проявляло только производное с бутильным заместителем, тогда как диэтильные и диметильные аналоги были неактивны. Также ингибирующая активность выявлена у соединений **10**, **12** и **18**, содержащих 4-фенилпиперазиновый и морфолиновый заместители.

Для оценки способности соединений блокировать взаимодействие поверхностного белка S с рецептором ACE2 использовали конкурентный иммуноферментный анализ. В качестве положительного контроля использовали моноклональное нанотело Nb6, специфически связывающееся с RBD S SARS-CoV-2, и органический краситель эритрозин. Для эритрозина значения IC_{50} составили, для RBD штамма Wuhan-Hu-1 - 42 мкМ, а для RBD штамма Delta — 43 мкМ. Для полноразмерного тримера S белка значения IC_{50} составили 8,5 мкМ (Wuhan-Hu-1) и 3,4 мкМ (Delta) (рис. 6). Согласно полученным данным, природные производные блокировали взаимодействие между RBD и ACE2 менее чем на 20%. Эти данные позволяют предположить, что монотерпены не взаимодействуют с RBD или не влияют на возможность взаимодействия RBD с рецептором.

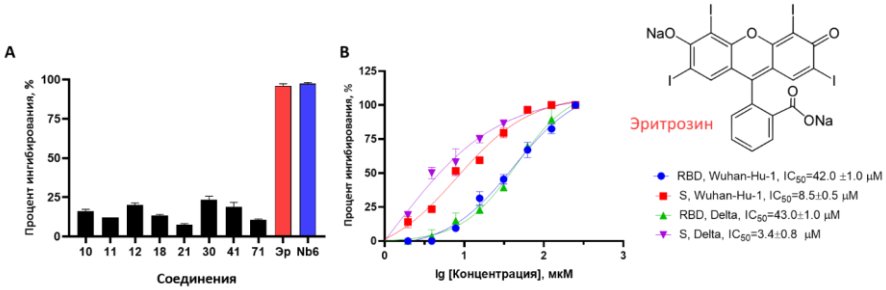


Рисунок 6. **А**. Ингибирующее действие соединений на связывание тримера S SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 с ACE2–HRP в конкурентном ИФА. Значения процента ингибирования, полученные при концентрации 250 мкМ. Nb6, эритрозин (Эр) были включены в качестве положительных контролей. Значения для каждого соединения приведены как среднее ± стандартное отклонение (SD). **В**. Зависимость степени

ингибирования эритрозина взаимодействия поверхностного белка S SARS-CoV-2 и ACE2.

Соединения **10**, **11**, **12**, **18**, **21**, **71** были исследованы на ингибирующую активность в отношении инфекционных вирусов SARS-CoV-2 на культуре клеток Vero E6 (Государственная коллекция возбудителей вирусных инфекций и риккетсиозов ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, РФ) (таблица 2). В качестве положительного контроля использовали ремдесивир — аденозиновое нуклеотидное пролекарство, являющееся ингибитором РНК-зависимой РНК-полимеразы широкого спектра.

Таблица 2. Противовирусная активность соединений **10**, **11**, **12**, **18**, **21** и **71** в отношении трех штаммов вируса SARS-CoV-2 в культуре клеток Vero E6. Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение.

Соединение	CC_{50}, мкМ	SARS-CoV-2, Wuhan-Hu-1[1]		SARS-CoV-2, Delta[2]		SARS-CoV-2, Omicron[3]	
		IC_{50}, мкМ	SI	IC_{50}, мкМ	SI	IC_{50}, мкМ	SI
10	362±15	NA*	-	NA	-	NA	-
11	313.5±14.1	9.6±1.4	32	17.6±2.1	17	7.7±1.8	40
12	261.3±16.3	NA	-	NA	-	NA	-
18	103.8±13.1	NA	-	NA	-	NA	-
21	336.3±16.6	4.7±0.2	71	3.5±0.4	96	3.3±0.9	102
71	436.3±28.6	NA	-	NA	-	NA	-
Ремдесивир	710.9±21.2	3.8±0.4	186	2.1±0.2	338	2.0±0.1	356

[1]Wuhan-Hu-1 линия Ba - hCoV-19/Australia/VIC01/2020 (EPI_ISL_406844);
[2]Delta линия B.1.617.2 - hCoV-19/Russia/PSK-2804/2021 (EPI_ISL_7338814);
[3]Omicron линия B.1.1.529 - hCoV-19/Russia/Moscow171619-031221/2021 (EPI_ISL_8920444);
*NA-not active (нет активности).

По полученным данным, только соединения **11** и **21**, содержащие дибутиламиновую группу, проявили активность в отношении исследуемых штаммов вируса. Остальные соединения не продемонстрировали активность.

Методом молекулярного моделирования определён вероятный сайт связывания соединений **11** и **21** в области центрального и гептадного повторов (CHR/HR1) субъединицы S2 белка S (рис. 7). Сайт характеризуется высокой консервативностью и преимущественно гидрофобным окружением. Молекулярный докинг IFD показал образование водородной связи с His1055 для обоих соединений, а для соединения **11** дополнительно выявлено катион-π-взаимодействие с

данным остатком. Липофильные фрагменты обоих соединений формируют гидрофобные взаимодействия с аминокислотами сайта связывания.

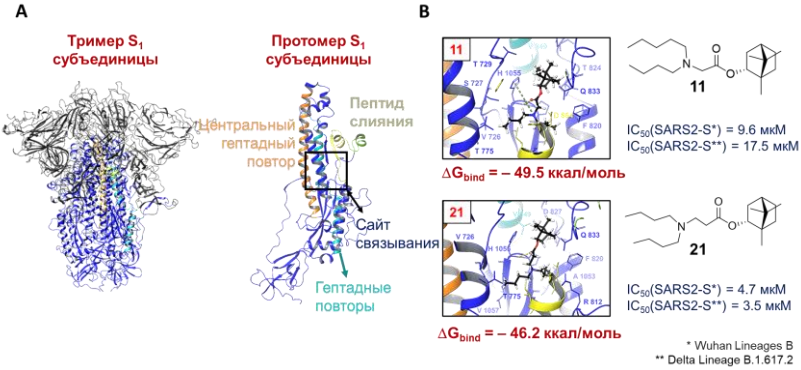


Рисунок 7. А: Структура поверхностного S белка: тримера и протомера; **В**: Расположение соединений **11** и **21** в предполагаемом сайте связывания: водородные связи показаны желтой пунктирной линией, π-катионное взаимодействие — зеленой пунктирной линией.

Производные усниновой кислоты

Усниновая кислота является вторичным метаболитом лишайников и обладает широким спектром биологической активности. Были синтезированы тиазол-гидразоны усниновой кислоты, содержащие различные гетероциклические и пространственно объемные ароматические заместители (рис. 8).

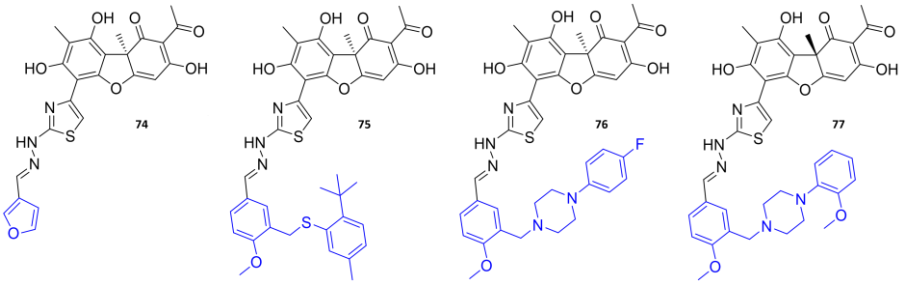


Рисунок 8. Структуры производных (+) -и (-)-усниновых кислот (**74-77**).

Производные усниновой кислоты (**74-77**) были исследованы на биологическую активность с использованием псевдовирусных частиц SARS-CoV-2 (таблица 3).

Таблица 3. Ингибирующая активность производных усниновой кислоты (**74**-**77**) в отношении псевдовирусных частиц SARS-CoV-2. Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение.

Соединение	CC_{50}, мкМ	IC_{50}, мкМ	SI
74	5.0±0.2	0.7±0.1	6
75	130.4±16.5	9.4±0.4	14
76	>688	1.1±0.1	649
77	204.5±38.1	2.0±0.7	100
Умифеновир	20.4±5.4	6.1±3.5	3

Наибольшую активность проявило соединение **74** (IC_{50} = 0,7 мкМ), однако оно характеризовалось высокой цитотоксичностью (CC_{50} = 5 мкМ для HEK293T-ACE2-TMPRSS2). Производные с пара-метокси-мета-замещёнными ароматическими фрагментами имели CC_{50}>130 мкМ. Соединения **76** и **77** показали IC_{50} в низкомикромолярном диапазоне при индексах селективности 649 и 100 соответственно.

Для производных усниновой кислоты была исследована способность ингибировать взаимодействие S SARS-CoV-2 с ACE2. Результаты скрининга в ИФА по ингибированию связывания полноразмерного S белка SARS-CoV-2 (штаммы Wuhan-Hu-1 и Delta) с ACE2–HRP представлены на рисунке 9.

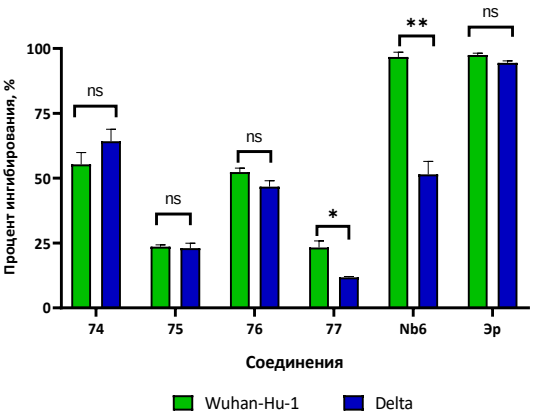


Рисунок 9. Ингибирующее действие соединений на связывание полноразмерного белка S SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 и Delta с ACE2–HRP в конкурентном ИФА. Значения процента ингибирования, полученные при концентрации 250 мкМ. Nb6 и эритрозин (Эр) были включены в качестве положительного контроля. Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение для трех повторов. Статистическую значимость определяли с помощью непарного t-теста (GraphPad Prism). (*p <0.05, **p <0.01, ns - незначимо).

Соединения **74** и **75** ингибировали взаимодействие S-ACE2 примерно на 50% при концентрации 250 мкМ, что указывает на их потенциальную способность нарушать процесс вирусного прикрепления к

клеткам-мишеням. При этом производное **77**, имеющее сходную структуру с соединением **76**, проявило значительно меньшую активность, ингибируя данное взаимодействие менее чем на 25%.

Для дальнейшей оценки противовирусной активности соединения были протестированы на шести различных штаммах SARS-CoV-2, включая вариант Wuhan-Hu-1 (линия B), широко распространённый в России вариант Delta (B.1.617.2) и четыре актуальных (на момент проведения исследования) штамма Omicron (таблица 4).

Таблица 4. Противовирусная активность производных усниновой кислоты (**74**-**77**) в отношении шести штаммов вируса SARS-CoV-2 в культуре клеток Vero E6. Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение.

Соединение	CC_{50}, мкМ	Wuhan-Hu-1[1]	Delta[2]	Om. B.1.[3]	Om. 5.2[4]	Om. XBB[5]	Om. BQ[6]
		IC_{50}, мкМ (SI)	IC_{50}, мкМ (SI)	IC_{50}, мкМ (SI)	IC_{50}, мкМ (SI)	IC_{50}, мкМ (SI)	IC_{50}, мкМ (SI)
74	572.5± 19.2	28.5±3.1 (20)	22.5±2.4 (25)	22.6±2.3 (25)	17.2±1.5 (33)	10.7±0.8 (53)	8.5±0.7 (67)
75	463.6± 17.8	152.6±10.2 (3)	148.7±11.5 (3)	59.1±3.8 (8)	46.3±3.9 (11)	99.5±8.8 (5)	164.9±12.1 (3)
76	471.2± 15.5	55.9±6.2 (8)	74.5±8.0 (6)	44.2±3.7 (10)	11.7±0.6 (40)	5.6±0.2 (83)	52.7±4.3 (9)
77	467.8± 20.1	49.7±3.3 (9)	68.2±5.5 (7)	45.3±3.9 (10)	37.0±2.8 (12)	37.0±2.5 (12)	47.4±4.1 (10)
Ремдесивир	710.9± 21.2	3.8±0.42 (186)	2.1±0.16 (338)	2.0±0.13 (356)	4.4±1.0 (159)	2,6±0.3 (267)	3.13±0.9 (226)

[1]Wuhan-Hu-1 линия Ba - hCoV-19/Australia/VIC01/2020 (EPI_ISL_406844);
[2]Delta линия B.1.617.2 - hCoV-19/Russia/PSK-2804/2021 (EPI_ISL_7338814);
[3]Omicron линия B.1.1.529 - hCoV-19/Russia/Moscow171619-031221/2021 (EPI_ISL_8920444);
[4]Omicron линия BA 5.2 - hCov-19/Russia/Moscow-49415/2022 (EPI_ISL_16613436);
[5]Omicron линия XBB.1.5 - hCov-19/Russia/TYU-SRC-8642/2023 (EPI_ISL_17770464);
[6]Omicron линия BQ.1.1 - hCoV-19/Russia/TOM-SRC-8663/2023 (EPI_ISL_17730076).

Соединение **74** проявило наибольшую активность против всех шести тестируемых штаммов SARS-CoV-2 с IC_{50} = 8,5–28,5 мкМ. Особенно выраженная активность отмечена против штаммов Omicron XBB.1.5 и BQ.1.1. Вещество **75**, содержащее трет-бутил-метилфенилсульфановый фрагмент, показало низкую активность против всех исследованных штаммов. Соединение **76** обладало селективной высокой активностью против штаммов Omicron, тогда как структурно близкое соединение **77** характеризовалось умеренной активностью в отношении всех тестируемых штаммов вируса, кроме штамма Delta.

Молекулярное моделирование взаимодействия производных усниновой кислоты с S-белком SARS-CoV-2 выявило потенциальный сайт связывания в N-концевом домене (NTD), в области связывания биливердина. Соединение **74** занимает его полость, образуя водородные связи с N121 и L101, а **75**–**77** — с N121 и N188 и π–π-взаимодействия с F192 и H207. Механизм, вероятно, связан с нарушением функции NTD, влияющим на подвижность RBD и связывание белка S с ACE2.

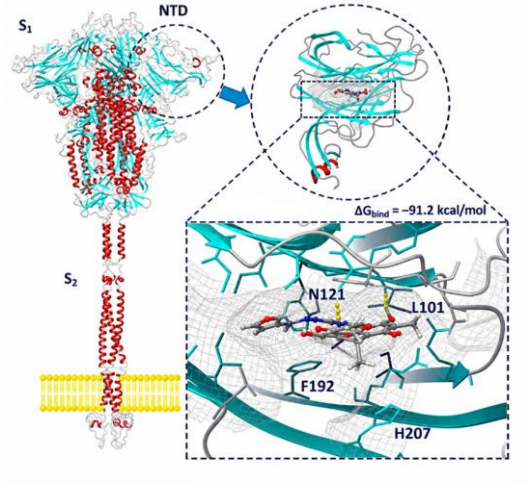


Рисунок 10. Расположение соединения **74** в сайте связывания биливердина N-концевого домена (NTD) S-белка SARS-CoV-2. Водородные связи показаны жёлтыми пунктирными линиями.

В дополнение к проведённым исследованиям производные усниновой кислоты были изучены на активности в отношении 3CL протеазы SARS-CoV-2. Данные соединения ингибировали 3CL со значениями IC_{50} в диапазоне 13,5 – 27,2 мкМ, тогда как производные терпеноидов (**11**, **21**) не проявляли активности в отношении данной мишени. Полученные результаты свидетельствуют о потенциально мультитаргетном характере действия соединений **74**–**77**.

Конъюгаты адамантана и монотерпенов

В лаборатории направленных трансформаций природных соединений (ЛНТПС НИОХ СО РАН) была синтезирована библиотека 1- и 2-адамантан замещенных соединений, содержащих в качестве линкера фрагмент мочевины (**1**-**2**), тиомочевины (**3**-**4**), уретанов (**5**-**6**), тиоуретанов (**7**-**8**), и монотерпеновый скаффолд, представленный такими структурами, как 3,7-диметилоктанол (a), (-)-нопол (b), (+)-борнановый остов (c) и (-)-ментон (d) (рис. 11).

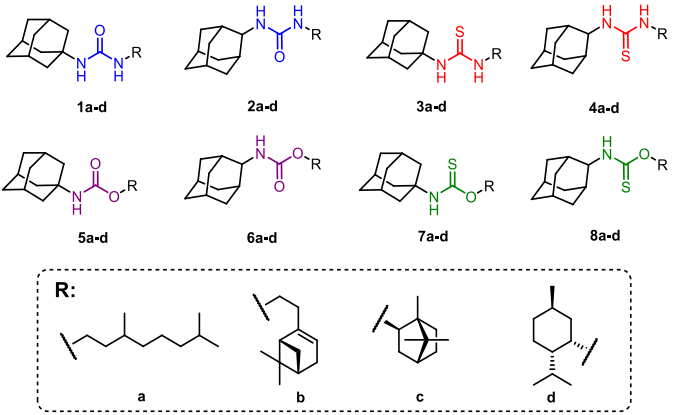


Рисунок 11. Библиотека конъюгатов адамантанов и монотерпенов. Заместитель R: a) 3,7-диметилоктанол, b) (-)-нопол, c) (+)-борнеол, d) (-)-ментон.

Биологическая активность синтезированной библиотеки была исследована с использованием псевдовирусных частиц, содержащих поверхностные белки SARS-CoV-1, SARS-CoV-2 и MERS-CoV. В таблице 6 указаны соединения, продемонстрировавшие активность в отношении вируса.

Таблица 6. Ингибирующая активность конъюгатов адамантанов и монотерпенов в отношении псевдовирусных частиц SARS-CoV-2, SARS-CoV и MERS-CoV. Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение.

Соединение	CC_{50}, мкМ	SARS-CoV-2 IC_{50}, мкМ (SI)	SARS-CoV IC_{50}, мкМ (SI)	MERS-CoV IC_{50}, мкМ (SI)
1a	>747	26.1±8.5 (>28)	NA	>298
1b	210.1±44.5	8.2±4.7 (26)	7.4±2.7 (30)	29.8±6.3 (7)
1d	>747	150.6±30.4 (>5)	NT	27.5±10.2 (>27)
2a	>747	11.8±1.2 (>67)	6.0±1.8 (>124)	38.5±14.2 (>39)
2b	>747	7.2±2.6 (>40)	9.0±2.5 (>83)	70.5±3.2 (>10)
3a	49.2±6.3	3.4±0.9 (14)	5.4±2.3 (10)	26.8±3.1 (2)
4a	60.2±6.8	3.4±1.7 (15)	6.5±2.1 (10)	17.7±6.8 (3.5)
4b	103.7±14.6	6.5±3.2 (19)	10.2±2.1(10)	20.7±2.4 (5)
5a	119.4±34.6	7.4±1.1 (17)	23.8±3.4 (5)	15.6±3.3 (8)
5b	90.5±11.1	8.5±3.0 (11)	>29 (<3)	7.0±2.5 (13)
6a	122.3±17.8	4.6±1.8 (31)	>30	18.1±6.5 (7)
7c	>719	92.6±20.8 (>8)	38.1±9.4 (20)	40.9±14.4 (18)
8b	47.6±8.2	3.3±0.8 (14)	14.3±5.9 (3)	11.2±3.8 (4)
8c	589.7±58.4	NA	32.2±6.4 (18)	>287

Наиболее активными ингибиторами проникновения псевдовируса SARS-CoV-2 (штамм Wuhan-Hu-1) оказались соединения с ациклическим монотерпеновым фрагментом или (−)-нопол: **3a** и **4a** (IC_{50} = 3,4 мкМ, SI 14–15), 2a (IC_{50} = 11 мкМ, SI >67), 2b, 1b, 8b. Производные борнеола и (−)-ментона (c,d) были практически неактивны (IC_{50} > 100 мкМ). Активность против SARS-CoV-1 в целом коррелировала с SARS-CoV-2; соединения **2a** и **2b** ингибировали все три псевдовируса коронавируса (SARS-CoV, SARS-CoV-2, MERS-CoV).

Данная библиотека соединений была исследована на ингибирующую активность в отношении инфекционных вирусов SARS-CoV-2 штаммов Wuhan-Hu-1, Delta, Omicron и Omicron 5.2 (таблица 7).

Таблица 7. Противовирусная активность библиотеки конъюгатов адамантанов и монотерпенов в отношении четырех штаммов вируса SARS-CoV-2 в культуре клеток Vero E6. Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение.

Соединение	CC_{50}, мкМ	Wuhan-Hu-1 IC_{50}, мкМ (SI)	Delta IC_{50}, мкМ (SI)	Omicron IC_{50}, мкМ (SI)	Omicron 5.2 IC_{50}, мкМ (SI)
1a	574.8±12.2	159.1±6.5(4)	118.2±15.5 (5)	110.1±15.3 (5)	43±6 (13)
2a	450.4±24.3	10.1±1.7(45)	9.8±1.5 (45)	3.9±0.7 (115)	9.7±0.8 (46)
4b	320.4±31.5	6.1±0.4(49)	4.7±0.5 (64)	3.7±0.7 (81)	5.2±1.0 (61)
5a	247.4±44.3	8.7±2.1 (31)	14.1±5.2 (17)	7.4±1.6 (35)	8.2±1.5 (50)
7b	57.4±6.1	6.4±1.8 (9)	4.5±0.5 (13)	3.1±0.8 (18)	12.1±3.3 (4)
8b	53.8±5.6	4.0±0.4 (13)	2.6±0.8 (20)	2.0±0.4 (27)	11.2±2.5 (5)
8d	112.7±4.3	16.2±3.4 (7)	6.7±1.6 (17)	5.5±1.0 (22)	108.8±18.3 (1)
Ремдесевир	711.5± 21.8	3.8±0.4 (186)	2.1±0.2 (338)	2.0±0.1 (356)	3.5±0.5 (203)

[1]Wuhan-Hu-1 линия Ba - hCoV-19/Australia/VIC01/2020 (EPI_ISL_406844);
[2]Delta линия B.1.617.2 - hCoV-19/Russia/PSK-2804/2021 (EPI_ISL_7338814);
[3]Omicron линия B.1.1.529 - hCoV-19/Russia/Moscow171619-031221/2021 (EPI_ISL_8920444);
[4]Omicron линия BA 5.2 - hCov-19/Russia/Moscow-49415/2022 (EPI_ISL_16613436).

Соединения **2a**, **4b**, **5a**, **7b**, **8b**, **8d** продемонстрировали противовирусную активность в отношении патогенного вируса SARS-CoV-2. Эти соединения содержат в своей структуре фрагмент нопола (**4b**, **7b**, **8b**), ациклический заместитель (**2a**, **5a**) или производное ментонового остова (**8d**). Наиболее широкий спектр ингибирующего действия против четырёх штаммов SARS-CoV-2 показали соединения **2a**, **4b** и **5a**, для которых значения IC_{50} находились в микромолярном диапазоне от 4 до 14 мкМ. В отличие от них, производные тиоуретанов **7b**, **8b** и **8d** проявили низкую активность в отношении варианта Omicron 5.2; кроме того, **7b** и **8d**

были неактивны в анализах с использованием псевдовирусных частиц. .

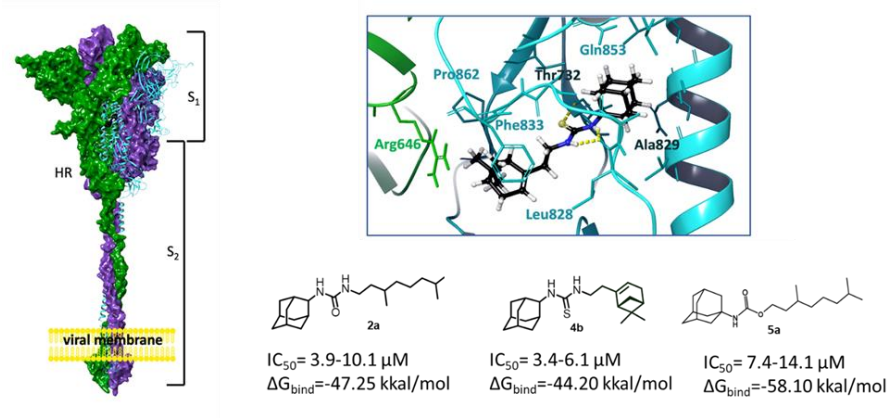


Рисунок 12. Расположение соединения **4b** в сайте связывания. Показан полноразмерный тример S SARS-CoV-2. В области гептадных (HR) повторов расположено соединение **4b**. Водородные мостики показаны желтыми прерывистыми линиями. Указана расчётная энергия связывания (ΔG_{bind}) соединений **2a**, **4b** и **5a**.

Молекулярный докинг показал, что лиганды **2a**, **4b** и **5a** могут занимать полость сайта в области гептадных повторов S2 субъединицы. Ключевые взаимодействия — водородные связи **4b** с Thr732 и Ala829; комплекс дополнительно стабилизирован гидрофобными контактами (рис. 12).

ВЫВОДЫ

1. Разработаны рекомбинантные плазмиды ph-SΔ18, ph-SΔ18_Delta, ph-SΔ18_Omicron, ph-SΔ18_XBB.1.5, ph-SARS, ph-MERS для сборки псевдовирусных частиц коронавирусов. Показано, что делеция участка, кодирующего 18 С-концевых аминокислот цитоплазматического домена поверхностного S белка варианта Wuhan-Hu-1 (конструкция ph-SΔ18), в сочетании с лентивирусной системой упаковки обеспечивает формирование функционально активных псевдовирусных частиц SARS-CoV-2 с максимальным уровнем люминесцентного сигнала (~1×10^5 RLU).

2. Для получения стабильных клеточных линий разработаны интеграционные векторы pVEAL3-ACE2, pVEAL4-ACE2-TMPRSS2 и pVEAL3-DPP4, содержащие в своем составе гены рецепторов входа коронавирусов ACE2, TMPRSS2 и DPP4. Полученные стабильные клеточные линии HEK293T-ACE2, HEK293T-ACE2-TMPRSS2 и HEK293T-DPP4, характеризуются высоким уровнем экспрессии целевых рецепторов (более 95% клеток), что подтверждено методом проточной цитофлуориметрии.

3. Установлено, что коэкспрессия рецепторов ACE2 и TMPRSS2 на клетках HEK293T-ACE2-TMPRSS2 важна для проникновения псевдовирусов SARS-CoV-2, обеспечивая максимальный сигнал люминесценции (2×10^5 RLU). Для псевдовирусов MERS-CoV и SARS-CoV максимальная трансдуцирующая активность зафиксирована на линиях HEK293T-DPP4 ($2{,}5\times10^5$ RLU) и HEK293T-ACE2-TMPRSS2 (3×10^4 RLU) соответственно.

4. С использованием разработанной псевдовирусной системы было проведено тестирование библиотеки из 109 низкомолекулярных органических соединений и выявлены лидеры.

А. Выявлены соединения-лидеры среди производных терпеноидов, обладающие ингибирующей активностью в отношении проникновения коронавирусов. С использованием разработанной псевдовирусной системы установлено, что сложноэфирные производные борнеола **11** и **21** ингибируют псевдоинфекцию SARS-CoV-2 с IC_{50} 18.6 и 9.3 мкМ соответственно и проявляют активность в отношении патогенных штаммов SARS-CoV-2 (Wuhan-Hu-1, Delta, Omicron) с IC_{50} в диапазоне 3.3–17.6 мкМ при индексе селективности SI до 102. Методом молекулярного докинга идентифицирован вероятный сайт связывания данных соединений в S2 субъединице S-белка (область HR1/CHR).

Б. Идентифицированы производные усниновой кислоты с мультитаргетным механизмом противовирусного действия. Соединения **76** и **77** проявили высокую активность в отношении псевдовирусных частиц SARS-CoV-2 (IC_{50} 1.1 и 2.0 мкМ, SI 649 и 100 соответственно) и патогенных штаммов SARS-CoV-2, включая варианты Omicron XBB.1.5 и

BQ.1.1 (IC_{50} 5.6–52.7 мкМ). Установлена способность данных соединений ингибировать 3CL-протеазу SARS-CoV-2 с IC_{50} 13.5–15.5 мкМ, что свидетельствует о мультитаргетном характере их действия.

В. Определены конъюгаты адамантана и монотерпенов с широким спектром противовирусной активности. Среди протестированных конъюгатов наиболее активными ингибиторами псевдовирусных частиц SARS-CoV-2, SARS-CoV и MERS-CoV являются соединения **2a** и **2b**, содержащие ациклический монотерпеновый заместитель и фрагмент (-)-нопола соответственно (IC_{50} для SARS-CoV-2 составляет 7.2–11.8 мкМ, SI>10). Соединения **2a**, **4b** и **5a** подтвердили высокую активность (IC_{50} 3.7–14.1 мкМ) в отношении патогенных штаммов SARS-CoV-2 (Wuhan-Hu-1, Delta, Omicron).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах, рекомендованных ВАК

1. Yarovaya O.I., Shcherbakov D.N., Borisevich S.S., Sokolova A.S., Gureev M.A., Khamitov E.M., Rudometova N.V., Zybkina A.V., **Mordvinova E.D**., Zaykovskaya A.V., Rogachev A.D., Pyankov O.V., Maksyutov R.A., Salakhutdinov N.F. Borneol ester derivatives as entry inhibitors of a wide spectrum of SARS-CoV-2 viruses //*Viruses*. – 2022. – Т. 14. – №. 6. – С. 1295.
2. Borisevich S.S., Khamitov E.M., Gureev M.A., Yarovaya O.I., Rudometova N.V., Zybkina A.V., **Mordvinova E.D**., Salakhutdinov N.F., Shcherbakov D.N. Simulation of Molecular Dynamics of SARS-CoV-2 S-Protein in the Presence of Multiple Arbidol Molecules: Interactions and Binding Mode Insights //*Viruses*. – 2022. – Т. 14. – №. 1.
3. **Mordvinova E.D.,** Nikitina P.A., Yarovaya O.I., Volosnikova E.A., Murashkin D.E., Isaeva A.A., Koldaeva T.Y., Perevalov V.P., Salakhutdinov N.F., Shcherbakov D.N. Inhibitors of the RBD-ACE-2 Found among a Wide Range of Dyes by the Immunoassay Method //*Chemosensors*. – 2023. – Т. 11. – №. 2. – С. 135.
4. Yarovaya O. I., Filimonov A. S., Baev D. S., Borisevich S. S., Chirkova V. Y., Zaykovskaya A. V., **Mordvinova E.D**., Salakhutdinov N. F. Usnic acid based thiazole-hydrazones as multi-targeting inhibitors of a wide spectrum of SARS-CoV-2 viruses //*New Journal of Chemistry*. – 2023. – Т. 47. – №. 43. – С. 19865-19879.
5. **Мордвинова Е.Д**., Можайцев Е.С., Яровая О.И., Пономарев К.Ю., Суслов Е.В., Щербаков Д.Н., Зайковская А.В., Пьянков О.В., Салахутдинов Н.Ф. Синтез мочевин, сочетающих адамантановый и монотерпеноидный фрагменты, и изучение их активности в отношении вирусов SARS-CoV-2//*Химия в интересах устойчивого развития*. – 2024. – Т. 32. – № 4. – С. 517-524.

Тезисы на всероссийских и международных конференциях

1. **Мордвинова Е.Д.** Поиск новых противовирусных агентов с использованием псевдовирусных частиц, экспонирующих поверхностный белок SARS-CoV-2 // 59-й Международная научная студенческая конференция. – 2021. – С. 30.

2. **Мордвинова Е.Д**., Щербаков Д.Н., Яровая О.И. Поиск ингибиторов проникновения вируса SARS-CoV-2 среди производных терпеноидов и органических красителей // IX Международная конференция молодых ученых: вирусологов, биотехнологов, биофизиков, молекулярных биологов и биоинформатиков: сборник тезисов. – 2022. – С. 431.

3. **Мордвинова Е.Д.,** Можайцев Е.С., Пономарев К.Ю., Яровая О.И., Щербаков Д.Н. Поиск новых эффективных противовирусных агентов среди конъюгатов адамантана и монотерпенов // I междисциплинарная всероссийская молодежная научная школа-конференция с международным участием «Молекулярный дизайн биологически активных веществ: биохимические и медицинские аспекты». Тезисы докладов, посвященные 120-летию со дня рождения академика Б.А. Арбузова. – 2023. – С. 95.

4. Можайцев Е.С., **Мордвинова Е.Д**., Чиркова В.А., Зайковская А.В., Пономарев К.Ю., Суслов Е.В., Яровая О.И., Волчо К.П., Салахутдинов Н.Ф. Конъюгаты адамантана и монотерпенов как новые противовирусные агенты против SARS-COV-2 // Всероссийская конференция с международным участием «Идеи и наследие А.Е. Фаворского в органической химии». – 2023. – С. 137.

5. Можайцев Е.С., **Мордвинова Е.Д**., Чиркова В.А., Зайковская А.В., Пономарев К.Ю., Суслов Е.В., Яровая О.И., Волчо К.П., Салахутдинов Н.Ф. Производные адамантана, содержащие монотерпеновые фрагменты, как противовирусные агенты против SARS-CoV-2 // Современные проблемы органической химии. Всероссийская научная конференция с международным участием, посвященная 65-летию со дня основания НИОХ СО РАН. – 2023. – С. 137.

6. **Мордвинова Е.Д.,** Яровая О.И., Пономарев К.Ю., Щербаков Д.Н., Зайковская А.В., Суслов Е.В. Конъюгаты адамантана и монотерпенов как противовирусные агенты // Актуальные проблемы органической химии – 2024. Сборник тезисов Всероссийской молодежной научной школы-конференции. – 2024. – С. 124.