

Изучение механизма противовирусной активности препарата Цитовир®-3 в отношении аденовируса человека *in vitro*

В. В. ЗАРУБАЕВ¹, В. С. СМОРНОВ¹, Т. А. КУДРЯВЦЕВА²,
С. В. ПЕТЛЕНКО³, П. А. ИЛЬИНА¹, В. А. ЗАПЛУТАНОВ⁴

¹ ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Россия

² ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия

⁴ Автономная некоммерческая организация научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Введение. В условиях клинической практики зачастую не представляется возможным выполнить этиологическую диагностику острых респираторных вирусных инфекций с идентификацией конкретного возбудителя. В этой связи является актуальным поиск лекарственных препаратов с широким спектром активности в отношении возбудителей ОРВИ. **Цель исследования** — изучение противовирусной активности препарата Цитовир®-3 *in vitro* в отношении цитопатогенного действия аденовируса человека. **Материал и методы.** На культуре клеток Vero было изучено противовирусное действие препарата Цитовир®-3 в сравнении с препаратом Умифеновир в отношении аденовируса человека 5 типа. Лекарственные препараты вводили за 1 ч до (профилактическая схема) и 1 ч после (лечебная схема) заражения клеточной культуры вирусом. Рабочий диапазон концентраций исследуемых препаратов рассчитывался исходя из значений 50% цитотоксической концентрации, рассчитанной на основании результатов микротетразолиевого теста. **Результаты и обсуждение.** Препарат Цитовир®-3 в двух схемах применения (лечебной или профилактической) проявил противовирусную эффективность *in vitro* в отношении аденовируса человека в нетоксическом диапазоне (0–631 мкг/мл) независимо от схемы применения. **Заключение.** Доказана противовирусная активность *in vitro* препарата Цитовир®-3 в отношении аденовируса человека. При этом во всех сериях опытов Цитовир®-3 имел индекс селективности, сопоставимый с таковым для препарата сравнения Умифеновир.

Ключевые слова: Цитовир®-3; Vero; вирусная цитопатогенность *in vitro*; противовирусное действие; аденовирус

Для цитирования: Зарубаев В. В., Смирнов В. С., Кудрявцева Т. А., Петленко С. В., Ильина П. А., Заплутанов В. А. Изучение механизма противовирусной активности препарата Цитовир®-3 в отношении аденовируса человека *in vitro*. Антибиотики и химиотерапия. 2025; 70 (9–10): 21–28. doi: https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-9-10-21-28. EDN: DHFZKW.

Study of the Antiviral Mechanism of Cytovir®-3 Against Respiratory Viruses *In Vitro*

VLADIMIR V. ZARUBAEV¹, VYACHESLAV S. SMIRNOV¹, TATIANA A. KUDRYAVTSEVA²,
SERGEY V. PETLENKO³, POLINA A. ILINA¹, VASILIIY A. ZAPLUTANOV⁴

¹ Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint-Petersburg, Russia

² Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russia

³ Golikov Research Clinical Center of Toxicology Under the Federal Medical Biological Agency, Saint-Petersburg, Russia

⁴ Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, Saint-Petersburg, Russia

Abstract

Background. Modern clinical practice often excludes the possibility of differential diagnostics for acute respiratory viral infection pathogens and identification of a specific viral pathogen. In this regard, it is important to search for drugs with a broad spectrum of activity against pathogens of acute respiratory viral infections. **The aim of the study** was to assess the antiviral activity of the drug Cytovir®-3 *in vitro* against the cytopathogenic effect of human adenovirus. **Material and methods.** The antiviral effect of the drug Cytovir®-3 in comparison with the drug Umifenovir against human adenovirus type 5 was studied on Vero cell culture. The drugs were administered 1 hour before (prophylactic regimen) and 1 hour after (therapeutic regimen) infection of the cell culture with the virus. The working concentration range for the studied drugs

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: tatjana_ku@inbox.ru



*Correspondence to:
E-mail: tatjana_ku@inbox.ru

EDN: DHFZKW



was determined based on the 50% cytotoxic concentration values, calculated based on the results of the microtetrazolium (MTT) assay. **Results and discussion.** The drug Cytovir®-3 in two application regimens (therapeutic or prophylactic) demonstrated antiviral efficacy *in vitro* against human adenovirus in the non-toxic range (0-631 µg/ml) regardless of the application scheme (therapeutic or prophylactic). **Conclusion.** The *in vitro* antiviral activity of the drug Cytovir®-3 against human adenovirus has been proven. Moreover, in all series of experiments, Cytovir®-3 had a selectivity index comparable to that of the reference drug Umifenovir.

Keywords: Cytovir®-3; Vero; viral cytopathogenicity; *in vitro*; antiviral effect; adenovirus

For citation: Zarubaev V. V., Smirnov V. S., Kudryavtseva T. A., Petlenko S. V., Ilina P. A., Zaplutanov V. A. Study of the antiviral mechanism of Cytovir®-3 against respiratory viruses *in vitro*. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2025; 70 (9–10): 21–28. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-9-10-21-28>. EDN: DHFZKW. (in Russian)

Введение

Респираторные вирусы, являющиеся причиной инфекций верхних и нижних дыхательных путей человека, характеризующиеся быстрой передачей от человека к человеку, в основном воздушно-капельным путём, как известно, вызывают ежегодные эпидемии, а иногда и пандемии [1, 2]. К этой группе относятся: вирусы гриппа и парагриппа, риновирусы, коронавирусы (исключая SARS-CoV-2), респираторно-синцитиальные вирусы, метапневмовирусы, бокавирусы, а также аденовирусы [3]. Кроме этого, опасность представляют вирусы с контактным механизмом передачи: вирусы герпеса, ротавирус, энтеровирусы, такие как вирус Коксаки и вирус ЕСНО, а также множество других патогенов [4]. Однако даже при выполнении полного комплекса мероприятий по определению этиологии респираторных заболеваний, приблизительно в 20% случаев выявить конкретный вирус не удаётся. Это связано с тем, что далеко не все респираторные вирусы известны, о чём свидетельствуют продолжающиеся открытия новых возбудителей ОРВИ у человека с помощью новых методов, включая полногеномное секвенирование [5].

Adenoviridae — это большое семейство безоболочечных икосаэдрических вирусов с двухцепочечным геномом, известное с 1953 г. [6]. В настоящее время описано 7 видов (A–G), 51 серотип и 118 уникальных генотипов HAdV (Human Adenovirus Working Group). Аденовирусы широко распространены в качестве возбудителей острых инфекционных заболеваний (ОРВИ), а также в качестве вирусов, вызывающих персистирующую инфекцию лимфоидной ткани [7]. Серотипы HAdV имеют разную степень инфекционности и вирулентности у детей и взрослых и могут приводить к различным заболеваниям [8]. Так, подвиды А, F и G ассоциированы с желудочно-кишечными инфекциями; подвиды С и D связаны с респираторными и глазными инфекциями; а подвид В вызывает инфекции дыхательных путей и мочевыделительной системы. HAdV 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 11, 14, 21, 34 и 35 в основном связаны с респираторными заболеваниями [9, 10].

На долю HAdV в настоящее время приходится 5–10% ОРВИ у детей и 1–4% инфекций дыхательных путей у взрослых [11]. Аденовирусные инфекции устойчивы к большинству уже известных препа-

ратов, эффективных в отношении других ДНК-геномных вирусов. Аденовирусная инфекция протекает относительно легко у иммунокомпетентных пациентов, однако представляет серьёзную угрозу для людей с нарушениями иммунорезистентности, зачастую приводя к тяжёлым последствиям, вплоть до летального исхода [12–14]. Аденовирусная пневмония представляет большую опасность для здоровья детей, она составляет до 10% респираторных инфекций и случаев вирусной пневмонии у детей [15, 16].

Вакцинация от аденовирусной инфекции в настоящее время используется только в США. Это живая пероральная вакцина против аденовирусов 4 и 7 типов, наиболее распространённых в США и вызывающих тяжёлые респираторные инфекции, вплоть до пневмонии [17]. С 1971 г. по настоящее время её получают все новобранцы Вооружённых Сил.

Официально рекомендованные препараты для лечения аденовирусной инфекции в настоящее время отсутствуют [18]. Активность в отношении аденовируса была показана *in vitro* для аналогов нуклеотидов [19, 20]. Рибавирин, используемый для терапии РС-вирусной инфекции, оказался эффективен [21, 22], частично эффективен [23] или не имел эффективности [24, 25] против аденовирусной инфекции. Препарат Ганцикловир, эффективный при цитомегаловирусной инфекции, проявляет эффективность как *in vitro*, так и *in vivo* [26, 27]. На основе (S)-1-(3-гидрокси-2-фосфонилметоксипропил)-цитозина компанией Gilead Sciences был разработан препарат Цидофовир с широким спектром противовирусной активности [28–34]. Рибавирин, ганцикловир и цидофовир были с большим или меньшим успехом использованы для терапии аденовирусных заболеваний человека, включая гепатиты, циститы и пневмонии при иммунодефицитных состояниях у реципиентов органов [29, 30, 32, 35]. Эти препараты, подавляя репликацию вируса и снижая вирусную нагрузку, опосредованно способствуют уменьшению воспаления и минимизируют дальнейший ущерб организму. Хотя они и не обладают прямой противовоспалительной активностью, но всё же могут замедлить прогрессирование воспаления, контролируя лежащую в его основе инфекцию [36]. Однако свойственные данным препа-

паратам нежелательные явления и способность аденовируса к формированию устойчивых штаммов ограничивают их использование при данной нозологии [37–39].

Ряд соединений других классов, таких как липиды [40], акридоны [41], имидазохинолинамины [37], как и другие аналоги нуклеозидов [19, 20, 42–44], также проявляют антиаденовирусную активность. Рост вируса в клеточной культуре может быть ингибирован катехинами зелёного чая [39, 45], хотя это возможно только в высоких концентрациях.

Препараты интерферона, применяемые для лечения респираторных инфекций, неэффективны при аденовирусной инфекции, поскольку аденовирусы обладают эффективными механизмами подавления интерферон-опосредованной противовирусной защиты [46], вследствие чего устойчивы к действию интерферона и его индукторов. Комбинированная иммуномодулирующая терапия внутривенным иммуноглобулином, метилпреднизолоном и антикоагулянтами оказывается успешной в лечении осложнённой аденовирусной инфекции у новорождённых, сопровождающейся лихорадкой и острым респираторным дистресс-синдромом [47].

В этой связи разработка и внедрение в клиническую практику препаратов, оказывающих протективное действие при респираторных вирусных инфекциях, а также других нозологических формах, вызванных вирусами семейства *Adenoviridae*, является актуальной задачей как медицинской науки, так и практического здравоохранения.

Цель исследования — изучение противовирусной активности препарата Цитовир®-3 *in vitro* по влиянию на цитопатогенное действие аденовируса человека.

Материал и методы

Образцы исследуемых препаратов. Для изучения противовирусного действия в эксперименте был использован препарат Цитовир®-3 — смесь активных действующих веществ (равнозначный аналог его лекарственных форм — порошка, капсул и сиропа): альфа-глутамил-триптофан, аскорбиновая кислота, бендазола гидрохлорид. Состав действующих веществ на одну капсулу: альфа-глутамил-триптофан (Тимоген® натрий) — 0,5 мг, аскорбиновая кислота — 50 мг, бендазола гидрохлорид (дибазол) — 20 мг. В качестве препарата сравнения для исследования препарата Цитовир®-3 использовали субстанцию Умифеновира. Выбор данной субстанции обусловлен тем, что лекарственные препараты, содержащие в своём составе активное действующее вещество Умифеновир, согласно инструкции по медицинскому применению (раздел «Фармакодинамика»), обладают широким спектром противовирусной активности, в том числе подавляя *in vitro* вирусы — возбудители ОРВИ (в том числе аденовирус). В качестве второго препарата сравнения использовали Рибавирин (1-[(2R,3R,4S,5R)-3,4-дигидрокси-5-(гидрокси-метил) оксолан-2-ил]-1H-1,2,4-триазол-3-карбоксамид, субстанция, Central Drug House, Индия, кат. # 214705).

Вирус и культура клеток. В исследовании использовали аденовирус человека 5 типа из коллекции вирусных штаммов ФБУН НИИЭМ им. Пастера:

Вирус накапливали в клетках перmissive линии Vero (ATCC CCL-81). Клетки рассевали на культуральные матрасы площадью 75 см², заражали вирусами в дозе 0,1 TCID₅₀ на клетку и культивировали до появления специфического цитопатогенного действия (ЦПД) в 90–100% клеток. Клетки с культуральной жидкостью замораживали и после размораживания делили на аликвоты и хранили при температуре –80°C до постановки соответствующих экспериментов.

Оценка цитотоксичности препаратов. Изучение токсичности соединений проводили на основе оценки жизнеспособности клеток при помощи реакции восстановления красителя МТТ (3-(4,5-диметил-2-тиазолил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолия бромид) клетками в культуре, интенсивность которой отражает степень жизнеспособности клеток в результате восстановления красителя митохондриальными и частично цитоплазматическими дегидрогеназами [48].

Клетки Vero рассевали на 96-луночные планшеты (NEST, Китай, кат. #701001) и после формирования монослоя вносили изучаемые препараты в диапазоне концентраций 12–1000 мкг/мл, растворённые в среде для культивирования клеток в объёме 200 мкл. Планшеты инкубировали в течение 72 ч при 37°C в атмосфере 5% CO₂. По истечении срока инкубации клетки промывали средой MEM и в лунки планшетов добавляли по 100 мкл раствора (0,5 мг/мл) 3-(4,5-диметил-тиазолил-2) 2,5-дифенилтетразолия бромид на среде для клеток. Клетки инкубировали при 37°C в атмосфере 5% CO₂ в течение 2 ч и промывали в течение 5 мин физиологическим раствором. Осадок растворяли в 100 мкл ДМСО на лунку, после чего оптическую плотность измеряли с помощью планшетного анализатора Multiscan FC (Thermo Scientific) при длине волны 540 нм. На основании полученных данных рассчитывали 50% цитотоксическую концентрацию (CC₅₀), т. е. концентрацию соединения, снижающую оптическую плотность в лунках вдвое по сравнению с контрольными клетками без препаратов. Расчёт проводили при помощи пакета программ GraphPad Prism v.6.01.

Оценка цитопротекторной активности исследуемых препаратов *in vitro*. Клетки Vero рассевали на 96-луночные планшеты (NEST, Китай, кат. #701001) и после формирования монослоя вносили изучаемые препараты в трёхкратных разведениях в диапазоне концентраций 16–1000 мкг/мл (1,6 — 100% в разведении) для препарата Цитовир®-3 и субстанции Умифеновир. Препараты вносили за 1 ч до заражения (аналог профилактической схемы применения) или через 1 ч после заражения (аналог лечебной схемы применения). Клетки заражали вирусом при множественности инфицирования 0,01 TCID₅₀ на клетку. На каждую концентрацию препарата использовали 4 лунки планшета. После инкубации в течение 72 ч действие вируса оценивали по развитию специфического вирусного ЦПД. О цитопротекторной эффективности препаратов судили по их способности тормозить развитие ЦПД. За титр исследуемого препарата принимали величину, обратную разведению, при котором монослой клеток был полностью защищён от цитопатического действия вируса в 50% лунок. Титр вычисляли методом Спирмена–Кербера по формуле:

$$\log_2 ED_{50} = D_{max} + \frac{d}{n} \times (p - \frac{n}{2})$$

где $\log_2 ED_{50}$ — двоичный логарифм титра исследуемого препарата; D_{max} — двоичный логарифм титра, ниже которого произошла 100% защита (–); d — двоичный логарифм интервала между разведениями, равный 1; n — число лунок на каждую дозу, равное 4; p — число лунок, давших защиту (–) в разведении, ниже которого произошла 100% защита, и последующих разведениях.

По полученным в исследовании значениям ED₅₀ и CC₅₀ определяли значение 50% ингибирующей концентрации пре-

паратов (IC_{50}) и индекс селективности препарата (SI). SI, характеризующий избирательность ингибирующего действия препарата в отношении вируса по сравнению с действием на клетки, определяли, как отношение CC_{50} к IC_{50} .

Статистическая оценка результатов. Статистическую обработку полученных количественных данных проводили с помощью программы Microsoft Office Excel 365. Для сравнения двух независимых групп использовался непараметрический критерий *U* Манна–Уитни.

Результаты и обсуждение

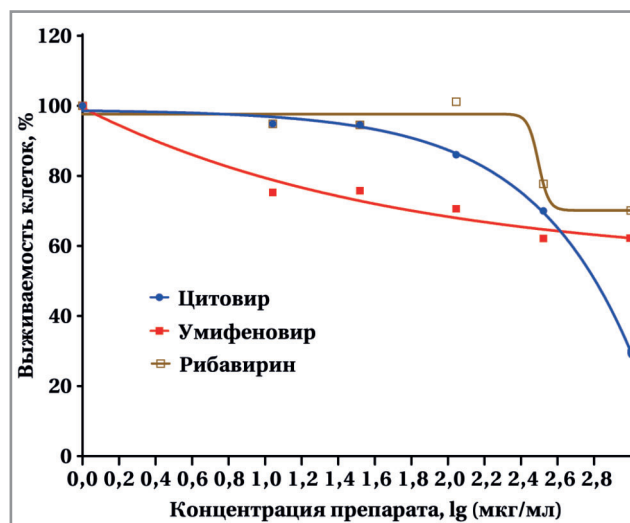
Оценка цитотоксичности препаратов. На первом этапе исследования были изучены цитотоксические свойства препарата Цитовир®-3 для культуры клеток, в дальнейшем используемой в вирусологических экспериментах. Результаты изучения цитотоксических свойств препарата Цитовир®-3 представлены в табл. 1 и для наглядности суммированы на рисунке. В качестве препаратов сравнения использовали противовирусные препараты Умифеновир (Арбидол®) и Рибавирин, используемые в клинической практике для профилактики и лечения респираторных вирусных инфекций.

Как видно из представленных результатов, препараты сравнения Умифеновир (Арбидол®) и Рибавирин даже в наибольшей из использованных концентраций не приводили к 50% снижению оптической плотности в лунках планшета с клетками Vero, что говорит о том, что их значения 50% цитотоксической концентрации (CC_{50}) выше 1000 мкг/мл. В то же время Цитовир®-3 в дозе 1000 мкг/мл приводил к снижению жизнеспособности клеток более, чем на 50%, что позволяет оценить значение его CC_{50} как 631 мкг/мл (см. рисунок, GraphPad Prism 6.01).

На основании полученных данных для оценки противовирусных свойств препаратов были выбраны следующие концентрации:

- Умифеновир (Арбидол®): 1000; 500; 250; 125 и 62,5 мкг/мл;
- Цитовир®-3: 500; 250; 125; 62,5 и 31,25 мкг/мл;
- Рибавирин: 1000; 500; 250; 125 и 62,5 мкг/мл.

Изучение противовирусной активности препаратов. Прямая противовирусная активность препарата Цитовир®-3 в отношении аденовируса была изучена в тесте на подавление уровня вирусной репродукции в культуре клеток. Для этого



Цитотоксические свойства препаратов Цитовир®-3, Тимоген®-спрей, Рибавирин и Умифеновир (Арбидол®) в культуре клеток Vero.

Cytotoxic properties of the drugs Cytovir®-3, Timogen®-spray, Ribavirin and Umifenovir (Arbidol®) in Vero cell culture.

из исследуемых препаратов были приготовлены серийные разведения, после чего вирус был культивирован в клетках в течение 72 ч в присутствии разных концентраций препаратов. По истечении инкубации титр вирусного потомства был определён в культуральной жидкости методом конечных разведений. Результаты изучения активности Цитовир®-3 в сравнении с аналогичными характеристиками препаратов сравнения Арбидол® и Рибавирин суммированы в табл. 2–3.

В результате 2 этапа исследования (см. табл. 2) по изучению противовирусной активности препаратов при их профилактической схеме введения за 1 ч до заражения клеток Vero аденовирусом человека было выявлено, что препараты Цитовир®-3, Рибавирин и Арбидол® обеспечивают 50% ингибирование вирусной активности в нетоксических концентрациях 250 мкг/мл, < 31,3 мкг/мл и 375 мкг/мл соответственно.

При этом 100% ингибирования вирусной активности Цитовир®-3 достиг при нетоксической концентрации препарата 500 мкг/мл, а Арбидол® при 1000 мкг/мл. С учётом цитотоксических свойств обоих препаратов селективность

Таблица 1. Цитотоксические свойства препаратов Цитовир®-3, Рибавирин и Умифеновир (Арбидол®) в культуре клеток Vero

Table 1. Cytotoxic properties of the drugs Cytovir®-3, Ribavirin and Umifenovir (Arbidol®) in Vero cell culture

Препарат	Оптическая плотность (OD_{540}) в лунках с клетками при концентрации препарата					
	0 (контроль клеток)	1000 мкг/мл	333 мкг/мл	111 мкг/мл	37 мкг/мл	12 мкг/мл
Цитовир®-3	1,006±0,108	0,298±0,035 ($p < 0,0001$)	0,700±0,044 ($p < 0,0001$)	0,861±0,065 ($p = 0,0115$)	0,946±0,081 ($p = 0,2485$)	0,949±0,091 ($p = 0,3084$)
Умифеновир (Арбидол®)		0,623±0,022 ($p = 0,022$)	0,622±0,019 ($p = 0,019$)	0,707±0,067 ($p = 0,067$)	0,758±0,040 ($p = 0,040$)	0,753±0,012 ($p = 0,012$)
Рибавирин		0,702±0,049 ($p < 0,0001$)	0,778±0,073 ($p = 0,0032$)	1,012±0,133 ($p = 0,9278$)	0,946±0,081 ($p = 0,2485$)	0,949±0,091 ($p = 0,3084$)

Таблица 2. Противовирусная активность препаратов в отношении аденовируса человека 5 типа в культуре клеток Vero при профилактической схеме внесения (введение препаратов за 1 час до заражения)

Table 2. Antiviral activity of the drugs against human adenovirus type 5 in Vero cell culture under the prophylactic administration regimen (administration of the drugs 1 hour before the infection)

Концентрация препарата, мкг/мл (log ₂ разведения препарата)	Количество лунок с ЦПД		
	(ЦПД/всего инфицированных лунок в присутствии препарата)		
	Цитовир®-3	Умифеновир (Арбидол®)	Рибавирин
1000 (0)	Цитотоксичность	0/4	0/4
500 (1)	0/4	1/4	0/4
250 (2)	2/4	3/4	0/4
125 (3)	4/4	4/4	0/4
62,5 (4)	4/4	4/4	0/4
31,25 (5)	4/4	4/4	1/4
Контроль вируса	4/4	4/4	4/4
log ₂ EC ₅₀	2,0	1,0	> 5,0
EC ₅₀	4,0	2,0	> 32,0
IC ₅₀ , мкг/мл	250	500	< 31,3
SI	2,52	2,0	> 32

Примечание. Здесь и в табл. 3: EC₅₀ — полумаксимальная эффективная концентрация; IC₅₀ — концентрация полумаксимального ингибирования; SI — индекс селективности препарата.

Note. EC₅₀ — half-maximal effective concentration; IC₅₀ — half-maximal inhibition concentration; SI — drug selectivity index.

Таблица 3. Противовирусная активность препаратов в отношении аденовируса человека в культуре клеток Vero при лечебной схеме внесения (введение препаратов через 1 ч после заражения)

Table 3. Antiviral activity of the drugs against human adenovirus in Vero cell culture under the treatment regimen (administration of the drugs 1 hour after the infection)

Концентрация препарата, мкг/мл (log ₂ разведения препарата)	Количество лунок с ЦПД		
	(ЦПД/всего инфицированных лунок в присутствии препарата)		
	Цитовир®-3	Умифеновир (Арбидол®)	Рибавирин
1000 (0)	Цитотоксичность	0/4	0/4
500 (1)	0/4	1/4	0/4
250 (2)	4/4	4/4	0/4
125 (3)	4/4	4/4	0/4
62,5 (4)	4/4	4/4	0/4
31,25 (5)	4/4	4/4	3/4
Контроль вируса	4/4	4/4	4/4
log ₂ EC ₅₀	1,5	1,5	5,0
EC ₅₀	2,8	2,8	19,0
IC ₅₀ , мкг/мл	357,1	357,1	52,6
SI	1,76	> 2,8	19,0

их была идентичной — SI=2,0 и для препарата Цитовир®-3, и для Арбидола®. Активность Рибавирина была много выше, и он приводил к полному подавлению вирусного ЦПД уже при концентрации 62,5 мкг/мл.

Изучение противовирусной активности препаратов при их лечебной схеме введения через 1 ч после заражения клеток Vero аденовирусом человека показало, что исследуемые препараты обеспечивают 50% ингибирование вирусной активности в нетоксических концентрациях 357,1 мкг/мл (Цитовир®-3), 52,6 мкг/мл (Рибавирин) и 357,1 мкг/мл (Арбидол®) соответственно (табл. 3).

С учётом цитотоксических свойств обоих препаратов селективность их была практически идентичной для Цитовира®-3 — SI=1,76 и Арбидола® — SI > 2,8. Активность Рибавирина была гораздо выше (SI=19).

Как следует из представленных данных, оба исследуемых препарата Цитовир®-3 и Умифеновир во всех сериях опытов по изучению противовирусной активности в отношении аденовируса человека показали эффективность за счёт подавления цитопатогенного действия вируса в нетоксических концентрациях.

Необходимо отметить, что индекс селективности противовирусного действия препарата Цитовир®-3 оказался сопоставим с таковым у препарата Умифеновир во всех сериях опытов. При этом было выявлено, что Цитовир®-3 при профилактическом использовании проявляет бóльшую активность по сравнению с лечебной схемой применения.

Выводы

1. Изучение цитотоксичности исследуемого препарата в культуре клеток Vero (ATCC CCL-81) выявило его рабочий диапазон концентраций:

для клеток Vero — 0–631 мкг/мл для препарата Цитовир®-3.

2. При изучении действия препарата Цитовир®-3 в отношении аденовируса человека 5 типа показано, что препарат независимо от схемы применения (лечебной или профилактической) проявил свою противовирусную эффективность *in vitro* за счёт достижения 50% и 100% ингибирующих концентраций в нетоксическом диапазоне, что также свидетельствует о его высоком профиле безопасности. При этом селективность препарата в тестах на цитопротекцию была сопоставима с селективностью препарата сравнения Умифеновир (Арбидол®).

3. Полученные результаты могут являться основанием для проведения соответствующих клинических исследований по применению препарата Цитовир®-3 у пациентов с респираторными вирусными инфекциями, вызванными вирусами семейства *Adenoviridae*.

Дополнительная информация

Участие авторов. [Зарубаев В. В.] — дизайн и проведение исследования, редактирование публикации, статистическая обработка; [Смирнов В. С.] — дизайн исследования, редактирование публикации; [Кудрявцева Т. А.] — дизайн исследования, статистическая обработка, написание публикации; [Петленко С. В.] — дизайн исследования, научное редактирование публикации; [Ильина П. А.] — проведение исследования, редактирование публикации;

Литература/References

1. Baker R. E., Mahmud A. S., Miller I. F., Rajeev M., Rasambainarivo E., Rice B. L. *et al.* Infection disease in an era of global change. *Nat Rev Microbiol.* 2022; 20 (4): 193–205. doi: 10.1038/s41579-021-00639-z.
2. Клинические рекомендации: Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) у взрослых — 2021–2022–2023 (15.02.2022). <https://recipture.ru/recommend/LOR/ORV1v.pdf> [Clinical guidelines: Acute respiratory viral infections (ARVI) in adults — 2021–2022–2023 (15.02.2022). <https://recipture.ru/recommend/LOR/ORV1v.pdf>. (in Russian)]
3. Liu Y., Wang H., Yang J., Zeng J., Sun G. M. Virome of respiratory secretion from children with unknown etiological acute respiratory disease revealed recombinant human parechovirus and other significant viruses. *Virol J.* 2021; 18 (1): 122. doi: 10.1186/s12985-021-01586-0.
4. Александрович Ю. С., Козлова Е. М., Новопольцева Е. Г., Новопольцев Д. Е. Острые респираторные инфекции у детей. Осложнения и жизнеугрожающие состояния: Учебное пособие для врачей. СПб.: СПбГПМУ; 2021. [Aleksandrovich Yu. S., Kozlova E. M., Novopol'tseva E. G., Novopol'tsev D. E. Ostrye respiratornye infektsii u detei. Oslozhneniya i zhizneugrozhayushchie sostoyaniya: Uchebnoe posobie dlya vrachei. SPb.: SPbGPMU; 2021. (in Russian)]
5. Клинические рекомендации: Грипп у взрослых — 2022–2023–2024. http://disuria.ru/_ld/12/1263_kr22j9j10j11MZ.pdf. [Clinical guidelines: Influenza in adults — 2022–2023–2024. http://disuria.ru/_ld/12/1263_kr22j9j10j11MZ.pdf. (in Russian)]
6. Hilleman M. R., Werner J. H. Recovery of new agent from patients with acute respiratory illness. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1954; 85: 183–188. doi: 10.3181/00379727-85-20825.
7. Rowe W. P., Huebner R. J., Gilmore L. K., Parrott R. H., Ward T. G. Isolation of a cytopathogenic agent from human adenoids undergoing spontaneous degeneration in tissue culture. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1953; 84: 570–573. doi: 10.3181/00379727-84-20714.
8. Zhang D., Chen Y., Shi T., Fan H., Tian X., Zhou R., Huang L., Yang D., Lu G. Severe pneumonia caused by human adenovirus type 55 in children. *Front Pediatr.* 2022; 10: 1002052. doi: 10.3389/fped.2022.1002052.

Заплутанов В. А. — дизайн исследования, написание публикации.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы в ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» (г. Санкт-Петербург, РФ) по заказу и финансовой поддержке АО «Медико-биологический научно-производственный комплекс «Цитомед» (г. Санкт-Петербург, РФ).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Additional information

Contribution. [Zarubae V. V.] — research design and management, publication editing, statistical processing management; [Smirnov V. S.] — research design, publication editing; [Kudryavtseva T. A.] — research design and statistical processing management, publication writing; [Petlenko S. V.] — research design, publication editing; [Ilyina P. A.] — research design, publication editing; [Zaplutanov V. A.] — research design, publication writing.

Acknowledgments. The study was carried out within the framework of scientific collaboration at the Saint-Petersburg Pasteur Institute (Saint-Petersburg, Russian Federation) on the order and financial support of JSC «CYTOMED» (Saint-Petersburg, Russian Federation).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

9. Zhang W., Huang L. Genome analysis of a novel recombinant human adenovirus type 1 in China. *Sci Rep.* 2019; 9 (1): 4298. doi: 10.1038/s41598-018-37756-4.
10. Cai R., Mao N., Dai J., Xiang X., Xu J., Ma Y. *et al.* Genetic variability of human adenovirus type 7 circulating in mainland China. *PLoS ONE.* 2020; 15 (4): e0232092. doi: 10.1371/journal.pone.0232092.
11. Lynch J. P., Kajon A. E. Adenovirus: epidemiology, global spread of novel types, and approach to treatment. *Semin Respir Crit Care Med.* 2021; 42: 800–821. doi: 10.1055/s-0041-1733802.
12. Clementi N., Ghosh S., De Santis M., Castelli M., Criscuolo E., Zanoni I., Clementi M., Mancini N. Viral respiratory pathogens and lung injury. *Clin Microbiol Rev.* 2021. Mar 31; 34 (3): e00103–20. doi: 10.1128/CMR.00103-20.
13. Яцьишина С. Б., Самчук В. В., Васильев В. В., Агеева М. Р., Воробьева Н. С., Савочкина Ю. А., Буланенкот В. П., Шипулин Г. А., Малеев В. В. Аденовирусная пневмония с летальным исходом у взрослых. *Терапевтический архив.* 2014; 11: 56–59. [Yatsyshina S. B., Samchuk V. V., Vasil'ev V. V., Ageeva M. R., Vorob'eva N. S., Savochkina Yu. A., Bulanenkot V. P., Shipulin G. A., Maleev V. V. Adenovirusnaya pnevmoniya s letal'nym iskhodom u vzroslykh. *Terapevticheskij arkhiv.* 2014; 11: 56–59. (in Russian)]
14. Hierholzler, J. C. Adenoviruses in the immunocompromised host. *Clin Microbiol Rev.* 1992; 5, 262–274. doi: 10.1128/CMR.5.3.262.
15. Chen Y., Lin T., Wang C. B., Liang W. L., Lian G. W., Zanin M. *et al.* Human adenovirus (HAdV) infection in children with acute respiratory tract infections in Guangzhou, China, 2010–2021: a molecular epidemiology study. *World J Pediatr.* 2022; 18 (8): 545–52. doi: 10.1007/s12519-022-00590-w.
16. Shieh W.-J. Human adenovirus infections in pediatric population — an update on clinico-pathologic correlation. *Biomedical J.* 2022; 45 (1): 38–49. doi: 10.1016/j.bj.2021.08.009.
17. Russell K. L., Hawksworth A. W., Ryan M. A., Strickler J., Irvine M., Hansen C. J., Gray G. C., Gaydos J. C. Vaccine-preventable adenoviral respiratory illness in US military recruits, 1999–2004. *Vaccine.* 2006; 24 (15): 2835–42. doi: 10.1016/j.vaccine.2005.12.062.
18. Abed Y., Boivin G. Treatment of respiratory virus infections. *Antiviral Res.* 2006 Jun; 70 (2): 1–16. doi: 10.1016/j.antiviral.2006.01.006.

19. Das A., Trousdale M. D., Ren S., Lien E. J. Inhibition of herpes simplex virus type 1 and adenovirus type 5 by heterocyclic Schiff bases of amino-hydroxyguanidine tosylate. *Antiviral Res.* 1999; 44 (3): 201–208. doi: 10.1016/s0166-3542(99)00070-4.
20. De Clercq E., Sakuma T., Baba M., Pauwels R., Balzarini J., Rosenberg L., Holy A. Antiviral activity of phosphonylmethoxyalkyl derivatives of purines and pyrimidines. *Antiviral Res.* 1987; 8 (5-6): 261–272. doi: 10.1016/s0166-3542(87)80004-9.
21. Arav-Boger R., Echavarria M., Forman M., Charache P., Persaud D. Clearance of adenoviral hepatitis with ribavirin therapy in a pediatric liver transplant recipient. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19 (11): 1097–1100. doi: 10.1097/00006454-200011000-00016.
22. Shetty A. K., GLns H. A., So S., Millan M. T., Arvin A. M., Gutierrez K. M. Intravenous ribavirin therapy for adenovirus pneumonia. *Pediatr Pulmonol* 2000; 29 (1): 69–73. doi: 10.1002/(sici)1099-0496(200001)29:1<64::aid-ppul11>3.0.co;2-d.
23. Gavin P. J., Katz B. Z. Intravenous Ribavirin Treatment for severe adenovirus disease in immunocompromised children. *Pediatrics* 2002; 110 (1 Pt 1): e9. doi: 10.1542/peds.110.1.e9.
24. Bordigoni P., Carret A. S., Venard V., Witz F., Le Faou A. Treatment of adenovirus infections in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis* 2001; 32 (9): 1290–1297. doi: 10.1086/319984. Epub 2001 Apr 10.
25. La Rosa A. M., Champlin R. E., Mirza M., Gajewski J., Giral S., Rolston K. V. et al. Adenovirus infections in adult recipients of blood and marrow transplants. *Clin Infect Dis* 2001; 32 (6): 871–876. doi: 10.1086/319352. Epub 2001 Mar 9.
26. Trousdale M. D., Goldschmidt P. L., Nobre G. L. R. Activity of ganciclovir against human adenovirus type 5 infection in cell culture and cotton rat eyes. *Cornea.* 1994; 13 (5): 435–439. doi: 10.1097/00003226-199409000-00011.
27. Chen F. E., Liang R. H., Lo J. Y., Yuen K. Y., Chan T. K., Peiris M. Treatment of adenovirus-associated haemorrhagic cystitis with ganciclovir. *Bone Marrow Transplant* 1997; 20 (11): 997–999. doi: 10.1038/sj.bmt.1700997.
28. Ison M. G. Respiratory viral infections in the immunocompromised. *Curr Opin Pulm Med.* 2022; 28 (3): 205–210. doi: 10.1097/MCP.0000000000000858.
29. Hillenkamp J., Reinhard T., Ross R. S., Böhringer D., Carlsburg O., Roggendorf M. et al. The effect of cidofovir 1% with and without cyclosporin A 1% as a topical treatment of acute adenoviral keratoconjunctivitis: a controlled clinical pilot study. *Ophthalmology* 2002; 109 (5): 845–850. doi: 10.1016/s0161-6420(02)00992-2.
30. Hoffman J. A., Shah A. J., Ross L. A., Kapoor N. Adenoviral infections and a prospective trial of cidofovir in pediatric hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2001; 7 (7): 388–394. doi: 10.1053/bbmt.2001.v7.pm11529489.
31. Romanowski E. G., Gordon Y. J., Araullo-Cruz T., Yates K. A., Kinchington P. R. The antiviral resistance and replication of cidofovir-resistant adenovirus variants in the New Zealand white rabbit ocular model. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001; 42 (8): 1812–1815.
32. Romanowski E. G., Yates K. A., Gordon Y. J. Antiviral prophylaxis with twice daily topical cidofovir protects against challenge in the adenovirus type 5/New Zealand rabbit ocular model. *Antiviral Res.* 2001; 52 (3): 275–280. doi: 10.1016/s0166-3542(01)00166-8.
33. Gordon Y. J., Naesens L., DeClercq E., Maudgal P. C., Veckeneer M. The treatment of adenoviral conjunctivitis with topical cidofovir. *Cornea.* 1996; 15 (5): 546. doi: 10.1097/00003226-199609000-00018.
34. Hitchcock M. J. M., Jaffe H. S., Martin J. C., Stagg R. J. Cidofovir, a new agent with potent anti-herpesvirus activity. *Antivir Chem Chemother.* 1996; 7 (3): 115–127. doi: https://doi.org/10.1177/095632029600700301.
35. Safran S., Cherrington J., Joffe H. S. Cidofovir. Review of current and potential clinical uses. *Adv Exp Med Biol.* 1999; 458: 111–120.
36. Coca S., Perazella M. A. Rapid communication: acute renal failure associated with tenofovir: evidence of drug-induced nephrotoxicity. *Am J Med Sci.* 2002; 324 (6): 342–344. doi: 10.1097/00000441-200212000-00011.
37. Rautenschlein S., Miller R. L., Sharma J. M. The inhibitory effect of the imidazoquinolinamine S-28828 on the pathogenesis of a type II adenovirus in turkeys. *Antiviral Res.* 2000; 46 (3): 195–205. doi: 10.1016/s0166-3542(00)00086-3.
38. Mentel R., Kinder M., Wegner U., Janta-Lipinski M., Matthes E. Inhibitory activity of 3-fluoro-2-deoxythymidine and related nucleoside analogues against adenoviruses in vitro. *Antiviral Res.* 1997; 34 (3): 113–119. doi: 10.1016/s0166-3542(97)01029-2.
39. Weber J. M., Ruzindana-Umunyana A., Imbeault L., Sircar S. Inhibition of adenovirus infection and adenain by green tea catechins. *Antiviral Res.* 2003; 58 (2): 167–173. doi: 10.1016/s0166-3542(02)00212-7.
40. Kaneko H., Kato K., Mori S., Shigeta S. Antiviral activity of NMSO3 against adenovirus in vitro. *Antiviral Res.* 2001; 52 (3): 281–288. doi: 10.1016/s0166-3542(01)00167-x.
41. Zarubaev V. V., Slita A. V., Krivitskaya V. Z., Sirotkin A. K., Kovalenko A. L., Chatterjee N. K. Direct antiviral effect of cycloferon (10-carboxymethyl-9-acridanone) against adenovirus type 6 in vitro. *Antiviral Res.* 2003; 58 (2): 131–137. doi: 10.1016/s0166-3542(02)00193-6.
42. Naesens L., Lenaerts L., Andrei G., Snoeck R., Van Beers D., Holy A., Balzarini J., DeClercq E. Antiadenovirus activities of several classes of nucleoside and nucleotide analogues. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005; 49: 1010–1016. doi: 10.1128/AAC.49.3.1010-1016.2005.
43. Alexeeva I., Dyachenko N., Nosach L., Zhovnovataya V., Rybalko S., Lozitskaya R., Fedchuk A., Lozitsky V., Gridina T., Shalamay A., PalchikovskajaMaudgalL., Povnitsa O. 6-azacytidine—compound with wide spectrum of antiviral activity. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 2001 Apr–Jul; 20 (4–7): 1147–52. doi: 10.1081/NCN-100002508.
44. Zarubaev V. V., Slita A. V., Sukhinin V. P., Nosach L. N., Dyachenko N. S., Povnitsa O. Y., Zhovnovataya V. L., Alexeeva I. V., Palchikovskaya L. I. Effect of 6-azacytidine on the course of experimental adenoviral infection in newborn Syrian hamsters. *J Chemother.* 2007 Feb; 19 (1): 44–51. doi: 10.1179/joc.2007.19.1.44.
45. Mirmojarabian S., Karimi A., Lorigooini Z., Javadi-Farsani F., Soltani A., Moradi M. T. Phytochemical properties and antiviral effect of green tea (*Camellia sinensis*) extract on adenovirus in vitro. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences.* 2022; 24 (3): 104–110. doi: 10.34172/jsums.2022.17.
46. Zhang Y., Schneider R. J. Adenovirus inhibition of cellular protein synthesis and the specific translation of late viral mRNAs. *Seminars in Virology.* 1993; 4 (4): 229–236. doi: https://doi.org/10.1006/smv.1993.1019.
47. Zhang W., Liu F., Liang E., Zhang L. Evolution of treatment modalities for disseminated HAdV infection in neonates. *Pediatrics.* 2024; 154 (4): e2024066677. doi: 10.1542/peds.2024-066677.
48. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods.* 1983; 65 (1-2): 55–63. doi: 10.1016/0022-1759(83)90303-4.

Поступила / Received 08.10.2025

Принята в печать / Accepted 15.10.2025

Информация об авторах

Зарубаев Владимир Викторович — д. б. н., заведующий лабораторией экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия. ORCID-ID: 0000-0002-5224-3771. Researcher ID: H-1534-2018. eLIBRARY SPIN-код: 7030-1541. Scopus Author ID: 6602439930

Смирнов Вячеслав Сергеевич — д. м. н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия. ORCID-ID: 0000-0002-2723-1496. Researcher ID: T 9205-2017. eLIBRARY SPIN-код: 6276-2918. Scopus Author ID: 5719865301

Кудрявцева Татьяна Анатольевна — к. б. н., научный сотрудник, Лаборатория нанотехнологии и синтеза лекарственных веществ, Отдел нейрофармакологии, Фе-

About the authors

Vladimir V. Zarubaev — D. Sc. in Biology, Head of the Experimental Virology Laboratory, Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint-Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-5224-3771.

Vyacheslav S. Smirnov — D. Sc. in Medicine, Professor, Leading Researcher at the Laboratory of Molecular Immunology, Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint-Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-2723-1496.

Tatiana A. Kudryavtseva — Ph. D. in Biology, Research Scientist, Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0003-4997-9830.

деральное государственное бюджетное научное учреждение Институт Экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия. ORCID-ID: 0000-0003-4997-9830. Researcher ID: HLH-6614-2023. eLIBRARY SPIN-код: 6902-3750

Петленко Сергей Викторович — д. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории биохимической токсикологии и фармакологии, Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия. ORCID-ID: 0000-0002-2752-4598. Researcher ID: ACB-6263-2022. eLIBRARY ID: 407034. Scopus Author ID: 6508391789

Ильина Полина Андреевна — лаборант-исследователь, лаборатория экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия. Scopus ID: 58693813300. ORCID ID: 0009-0009-9272-7496

Заплутанов Василий Андреевич — научный сотрудник, Лаборатория фармакологии пептидов Автономной некоммерческой организации научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», Санкт-Петербург, Россия. ORCID-ID: 0000-0001-5294-6533. Researcher ID: F-1215-2015. eLIBRARY SPIN-код: 6067-5480. Scopus Author ID: 55312771400

Sergey V. Petlenko — D. Sc. in Medicine, Leading Researcher at the Laboratory of Biochemical Toxicology and Pharmacology, Golikov Research Clinical Center of Toxicology Under the Federal Medical Biological Agency, Saint-Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-2752-4598.

Polina A. Ilina — research Assistant at the Experimental Virology Laboratory, Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint Petersburg, Russia. Scopus ID: 58693813300. ORCID ID: 0009-0009-9272-7496

Vasiliy A. Zaplutanov — Senior Researcher at the Pharmacological Laboratory of Peptides, Autonomous Non-Profit Organization — Scientific Research Center Institute of Bioregulation and Gerontology, Saint-Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0001-5294-6533.