

Возможности подавления цитопатогенного действия коронавируса SARS-CoV-2 по результатам изучения противовирусной активности препарата Цитовир®-3 *in vitro*

В. С. СМЕРНОВ¹, И. А. ЛЕНЁВА², * Т. А. КУДРЯВЦЕВА³,
Е. Б. ФАЙЗУЛОВ², В. А. ЗАПЛУТАНОВ⁴, С. В. ПЕТЛЕНКО⁵,
Н. П. КАРТАШОВА², А. В. ГРАЧЁВА², Е. Р. КОРЧЕВАЯ²

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

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Российская Федерация

³ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁴ ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина, Российская Федерация

⁵ ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С. Н. Голикова ФМБА», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Possibilities of Suppressing The Cytopathogenic Effect of SARS-CoV-2 Coronavirus According to The Results of the Antiviral Activity of Cytovir®-3 *In Vitro* Study

VYACHESLAV S. SMIRNOV¹, IRINA A. LENEVA², TATIANA A. KUDRYAVTSEVA³,
EVGENY B. FAIZULOEV², VASILY A. ZAPLUTANOV⁴, SERGEY V. PETLENKO⁵,
NADEZHDA P. KARTASHOVA², ANASTASIA V. GRACHEVA², EKATERINA R. KORCHEVAYA²

¹ Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint-Petersburg, Russian Federation

² I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

³ Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russian Federation

⁴ Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Gatchina, Russian Federation

⁵ Scientific and Clinical Center of Toxicology named after Academician S. N. Golikov of the Federal Medical and Biological Agency, Saint-Petersburg, Russian Federation

Резюме

Введение. Пандемия COVID-19 послужила стимулом к поиску лекарственных средств со специфической противовирусной активностью к новому патогенному штамму коронавируса SARS-CoV-2. В первую очередь научный поиск был направлен на изучение препаратов с уже доказанной эффективностью в отношении гриппа и ОРВИ. **Цель работы** — изучение *in vitro* противовирусной активности препарата Цитовир®-3 в отношении цитопатогенного действия вируса SARS-CoV-2. **Материал и методы.** Противовирусная активность препарата Цитовир®-3 в отношении вируса SARS-CoV-2 изучена в экспериментальных моделях *in vitro* на культуре клеток Vero CCL81 (ATCC). Для расчёта рабочего диапазона концентраций исследуемого препарата с использованием количественного микротетразоливого теста определялась максимальная переносимая концентрация и 50% цитотоксическая доза. **Результаты и обсуждение.** В результате исследования было показано, что наибольшая активность препарата проявлялась при добавлении его к клеткам за 24 ч до и через 1 ч и 24 ч после вирусного заражения, уровень ингибирования при этом достигал 53% (>ИК₅₀) при концентрациях препарата 105, 55 и 85 мкг/мл, соответственно. Цитовир®-3 подавлял вирусную активность SARS-CoV-2 в диапазоне доз от 10 мкг/мл до 105 мкг/мл в указанных условиях инфицирования. Было установлено, что в диапазоне противовирусных доз препарат не проявлял цитотоксического действия на культуру клеток Vero. **Заключение.** Противовирусная активность препарата Цитовир®-3 в отношении вируса SARS-CoV-2 доказана за счёт достижения ИК₅₀, находящейся ниже максимально переносимой концентрации, составившей 149 мкг/мл.

Ключевые слова: SARS-CoV-2; коронавирус; COVID-19; Цитовир®-3; Vero; вирусная цитопатогенность; *in vitro*; противовирусное действие.

Для цитирования: Смирнов В.С., Ленёва И.А., Кудрявцева Т.А., Файзулов Е.Б., Заплутанов В.А., Петленко С.В., Карташова Н.П., Грачёва А.В., Корчевая Е.Р. Возможности подавления цитопатогенного действия коронавируса SARS-CoV-2 по результатам изучения противовирусной активности препарата Цитовир®-3 *in vitro*. Антибиотики и химиотерапия. 2021; 66 (5–6): 4–10. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-4-10.

Abstract

Introduction. The COVID-19 pandemic has stimulated the search for drugs with specific antiviral activity against the new pathogenic strain of the SARS-CoV-2 coronavirus. First of all, scientific search was aimed at studying drugs with already proven efficacy against influenza and ARVI. *The aim of this work* was to study the antiviral activity of Cytovir®-3 *in vitro* in relation to the cytopathogenic effect of the SARS-CoV-2 virus. **Material and methods.** The antiviral activity of the drug Cytovir®-3 against the SARS-CoV-2 virus was studied in experimental models *in vitro* on Vero CCL81 cell culture (ATCC). The maximum tolerated concentration and the 50% cytotoxic dose were determined using a quantitative microculture tetrazolium test assay to calculate the working range of the concentrations of the test drug. **Results and discussion.** As a result of the study, it was shown that the greatest activity of the drug was manifested when it was added to the cells 24 hours before and 1 hour and 24 hours after viral infection, the inhibition level reached 53% ($>IC_{50}$) at the drug concentrations of 105, 55, and 85 µg/ml, respectively. Cytovir®-3 suppressed the viral activity of SARS-CoV-2 in the dose range from 10 µg/ml to 105 µg/ml under the indicated infection conditions. It was found that the drug did not exhibit cytotoxic effects on the Vero cell culture in the range of antiviral doses. **Conclusion.** The antiviral activity of Cytovir®-3 against the SARS-CoV-2 virus has been proven due to the achievement of IC_{50} , which is below the maximum tolerated dose of 149 µg/ml.

Keywords: SARS-CoV-2; coronavirus; COVID-19; Cytovir®-3; Vero; viral cytopathogenicity; *in vitro*; antiviral effect.

For citation: Smirnov V. S., Leneva I. A., Kudryavtseva T. A., Faizuloev E. B., Zaplutanov V. A., Petlenko S. V., Kartashova N. P., Gracheva A. V., Korchevaya E. R. Possibilities of suppressing the cytopathogenic effect of SARS-CoV-2 coronavirus according to the results of the antiviral activity of Cytovir®-3 *in vitro* study. *Antibiot i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66 (5–6): 4–10. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-4-10.

Введение

Пандемия COVID-19, вызванная новым патогенным штаммом коронавируса SARS-CoV-2, явилась причиной введения жёстких ограничительных карантинных мер практически во всех странах мира и спровоцировала стагнацию во всех отраслях мировой экономики [1]. Экономические потери, вызванные эпидемией в 2020 г. сопоставимы со всеми затратами на здравоохранение в мире [2]. Заболевание COVID-19, наряду с эпидемией испанского гриппа 1918–1920 гг., уже вошло в историю как чрезвычайная ситуация мирового масштаба, которая выявила все недостатки современного обеспечения биологической безопасности населения [3, 4].

Современные процессы глобализации и урбанизации, скорее всего не будут способствовать эффективному использованию только административных мер, вводимых для предотвращения подобных ситуаций в будущем [1]. По этой причине во всех странах с развитой фармацевтической промышленностью ведётся непрерывный поиск лекарственных препаратов со специфической активностью против возбудителей конкретных инфекционных заболеваний, с целью их дальнейшего лечебно-профилактического применения [5, 6]. В этой связи в первую очередь необходимо обратить внимание на препараты с уже доказанной эффективностью против широкого спектра штаммов различных вирусов, вызывающих ОРВИ [7–9].

Одним из таких лекарственных препаратов является Цитовир®-3. На фармацевтическом рынке он представлен в виде трёх лекарственных форм — порошок для приготовления раствора для приёма внутрь, сироп и капсулы, для различных возрастных целевых категорий пациентов. Цитовир®-3 имеет доказательную базу, основанную на

ранее проведённых доклинических и 6 официально зарегистрированных законченных клинических исследованиях на пациентах взрослого и детского возраста [10–12]. В пострегистрационных и наблюдательных исследованиях в рамках непрерывной системы фармаконадзора препарат показал высокий профиль безопасности применения в рутинной клинической практике. На основании подтверждённых данных, согласно инструкции по медицинскому применению, Цитовир®-3 применяется с целью профилактики и комплексной терапии гриппа и острых респираторных вирусных заболеваний у взрослых и детей с 1 года.

Коронавирусы (*Coronaviridae*) — это большое семейство РНК-содержащих вирусов, способных инфицировать людей и некоторых животных. У человека коронавирусы могут вызывать острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) различной степени тяжести — от лёгких форм до тяжёлого острого респираторного синдрома (далее — ТОРС, англ. SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome) и острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС). Ранее коронавирусы рассматривались в качестве агентов, вызывающих у человека инфекции верхних дыхательных путей с преимущественно лёгким течением — т. н. спорадические или сезонные заболевания. Однако в конце 2002 г. в Китае впервые были выявлены случаи заражения людей новым типом коронавируса SARS-CoV, возбудитель, который индуцировал массовый подъём заболеваемости, вызывая у части заболевших поражение не только верхних отделов респираторного тракта, но и лёгких — ТОРС (тяжёлый острый респираторный синдром — «атипичная пневмония»). Вторым крупным очагом коронавирусной инфекции с острым респираторным синдромом стал Ближний Восток. В 2012 г. коронавирус ближневосточного респираторного синдрома (Middle East respiratory syndrome, MERS-CoV) был

выделен в Саудовской Аравии, а позднее случаи инфицирования были зафиксированы ещё в 20 странах. При этом 36% случаев заболевания оказались летальными [13–15].

Таким образом, учитывая, что в структуре ОРВИ встречаются коронавирусы, является целесообразным проведение экспериментального исследования *in vitro* для оценки влияния лекарственного препарата Цитовир®-3 на патогенность SARS-CoV-2.

Цель исследования — изучение *in vitro* противовирусной активности препарата Цитовир®-3 в отношении цитопатогенного действия вируса SARS-CoV-2.

Материал и методы

Образцы исследуемого препарата и их приготовление.

Для эксперимента была использована смесь трёх активных действующих веществ (альфа-глутамил-триптофан, аскорбиновая кислота, бендазол) пропорционально содержанию на одну терапевтическую дозу лекарственного препарата Цитовир®-3. Предоставленный сухой порошок растворяли в стерильной воде до концентрации 10 мг/мл (сток-раствор), а из сток-раствора готовили необходимые концентрации с использованием питательной среды ДМЕМ с 1% эмбриональной сывороткой коров, L-глутамином (300 мкг/мл) и гентамицином (40 мкг/мл).

Вирус и культура клеток. В работе использовался лабораторный штамм коронавируса SARS-CoV-2 «Дубровка» (идент. № GenBank: MW161041.1). Штамм вируса SARS-CoV-2, который был выделен на культуре клеток Vero из назофарингеального мазка больного COVID-19. Культивирование вируса проводили на клетках эпителия почки африканской зелёной мартышки Vero CCL81 (ATCC) из коллекции НИИВС им. И. И. Мечникова (далее — культура клеток Vero). Клетки культивировали при 37°C в питательной среде ДМЕМ с глутамином и глюкозой 4,5 г/л, 5% эмбриональной сывороткой коров (ЭСК), L-глутамином (300 мкг/мл), гентамицином (40 мкг/мл) в атмосфере 5% CO₂.

Определение цитотоксичности препарата. Вычисление 50% цитотоксической дозы (ЦТД₅₀) проводили количественным методом с использованием микротетразолиевого красителя (МТТ), измеряя оптическую плотность (ОП) опыта и клеточного контроля в программе Microsoft Office Excel 365. Концентрация субстанций, уменьшающая значение ОП на 50% по сравнению с контролем клеток, принималась за 50% цитотоксическую дозу (ЦТД₅₀), вычисление которой проводили при построении кривой зависимости (выживания) с использованием пакета «drc» в программе Rstudio (Version 1.0.143) [C.Ritz, 2016]. Для количественных показателей результат представлен в виде среднего значения ± стандартное отклонение (SD).

Исходя из значения ЦТД₅₀, рассчитывали рабочие концентрации исследуемого препарата для дальнейших экспериментов [16].

Определение противовирусной активности препарата Цитовир®-3 в отношении вируса SARS-CoV-2. Изучение активности препарата Цитовир®-3 в культуре клеток Vero было про-

ведено с использованием метода ингибирования цитопатического действия SARS-CoV-2. К монослою клеток в 96-луночных планшетах препарат Цитовир®-3 был добавлен в диапазоне концентраций — 5, 10, 50, 75, 100, 150, 200 и 300 мкг/мл. В качестве препарата сравнения был использован эталонный препарат сравнения Умифеновир в концентрации 20 мкг/мл, близкой к его значению 50% ингибирующей концентрации (ИК₅₀), ранее определённой в отношении вируса SARS-CoV-2 в культуре клеток Vero, показавший противовирусную активность *in vitro* в отношении различных патогенных типов коронавируса (MERS-CoV, SARS-CoV, SARS-CoV-2) [17–19]. В опытах по определению активности Цитовир®-3 были использованы следующие схемы добавления: «лечебно-профилактические» — апробированная и наиболее эффективная для ряда препаратов, — за 2 ч [19] или за 24 ч — внесение препарата за 24 ч до вирусного инфицирования и «лечебные» — внесение через +1, +24, +48, +72 ч после вирусного инфицирования. В качестве вирусного контроля использовали соответствующие разведения вируса без препарата. В качестве клеточного контроля использовали культуру клеток Vero с добавлением питательной среды. Каждая точка эксперимента была поставлена в 4 повторях, было проведено 3 независимых эксперимента. После инкубации в каждую лунку добавляли 100 мкл вируса в необходимой дозе (от 100, 50, 20 и 10 МОИ). Планшеты инкубировали в атмосфере 5% CO₂ при 37°C в течение 5 сут до появления ЦПД в клетках вирусного контроля. Учёт результата проявления ЦПД в клетках проводили с использованием количественного теста МТТ. Процент ингибирования вирусной репродукции проводили в программе Excel по формуле:

$$\text{Ингибирование \%} = \frac{(100 - (\text{ОП}_{\text{кл.контроль}} - \text{ОП}_{\text{опыт}}))}{(\text{ОП}_{\text{кл.контроль}} - \text{ОП}_{\text{вир.контроль}})} \cdot 100$$

Концентрация препарата, вызывающая ингибирование вирусной репродукции на 50%, принималась за ингибирующую концентрацию 50 (ИК₅₀).

Статистическая оценка. 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

Изучение цитотоксичности смеси активных веществ препарата Цитовир®-3 в отношении клеток Vero было проведено в серии из трёх опытов (табл. 1). С этой целью были изучены следующие конечные концентрации предоставленного препарата: 5, 10, 50, 75, 100, 150, 200, 300, 400, 500 мкг/мл.

После инкубации в течение 72 ч визуальная оценка при помощи инвертированного микроскопа показала, что в клеточных контролях не было отмечено цитотоксических и морфологических изменений, а также нарушений клеточного монослоя. Аналогично не наблюдалось изменений клеток для исследуемого препарата в концентрациях 5, 10, 50, 75 и 100 мкг/мл. В эксперименте в концентрациях 150 и 200 мкг/мл

Таблица 1. Цитотоксичность препарата Цитовир®-3 в культуре клеток Vero CCL81
Table 1. Cytotoxicity of Cytovir®-3 in the Vero CCL81 cell culture

Препарат Цитовир®-3	Значения МПК и ЦТД ₅₀ , мкг/мл			
	опыт 1	опыт 2	опыт 3	среднее значение
ЦТД ₅₀ ±SD	387±43	274±40	260±68	307±53
МПК (визуально)	100	100	100	100
МПК (МТТ тест)	100	150	200	150±50

Таблица 2. Ингибирование репродукции SARS-CoV-2 исследуемыми препаратами в культуре клеток Vero CCL81
Table 2. Inhibition of SARS-CoV-2 reproduction by the studied drugs in the Vero CCL81 cell culture

Ингибирование вирусной активности, %										
Препараты	Доза вируса, MOI	Цитовир®-3								Умифеновир
		концентрации, мкг/мл								
		5	10	50	75	100	150*	200*	300*	
1-й опыт	100	—	3	17	16	24	19	32	28	—
	20	5	2	21	18	29	23	14	21	—
2-й опыт	100	5	4	15	23	21	19	21	17	33
	20	4	—	16	32 [#]	31 [#]	25	26	17	71
3-й опыт	100	0	0	12	22	20	18	21	4	32
	50	5	2	18	18	23	16	22	6	—
	20	1	—	18	20	28	20	21	8	47
	10	0	0	15	15	30 [#]	24	27	3	—

Примечание. * — Концентрации, которые по полученным данным 2-го этапа исследования \geq МПК; # — достижение специфического подавления вирусной репродукции в рабочем диапазоне концентраций \leq МПК.
Note: * — concentrations, which are \geq MTC, according to the data of the 2nd stage of the study; # — achieving specific suppression of viral reproduction in the working concentration range \leq MTC

Таблица 3. Ингибирование вирусной активности SARS-CoV-2 препаратом Цитовир®-3 в культуре клеток Vero CCL81
Table 3. Inhibition of SARS-CoV-2 viral activity by Cytovir®-3 in the Vero CCL81 cell culture

Ингибирование вирусной активности, %									
Схема введения, время до (-) и после (+) инфицирования	концентрация препарата, мкг/мл								ИК ₅₀ , мкг/мл
	5	10	50	75	100	125*	150**	200**	
- 24 ч	16	19	21	24	49	26	24	16*	105
+ 1 ч	17	42	49	52	53	8	0	0	55
+ 24 ч	16	38	39	41	53	22	11	5	85
+ 48 ч	0	1	4	29	37	0	0	0	>100
+ 72 ч	0	0	3	9	16	0	0	0	>100

Примечание. * — снижение верхней границы рабочего диапазона концентраций препарата в соответствии с расчётной поправкой на цитопатическое действие вируса SARS-CoV-2; ** — концентрации, которые по полученным данным 2 этапа исследования имели значение \geq МПК.

Note. * — lowering the upper limit of the working range of drug concentrations in accordance with the calculated correction for the cytopathic effect of the SARS-CoV-2 virus; ** — concentrations, which, according to the data obtained at the 2nd stage of the study, had a value of \geq MTC

отмечались клетки округлой формы и морфологически значительно отличающиеся от клеточного контроля. В лунках с более высокими концентрациями (300, 400 и 500 мкг/мл) наблюдалось частичное или полное разрушение клеточного монослоя. По обобщённым результатам всех опытов, цитотоксичность проявлялась в дозах выше 300 мкг/мл. Максимально переносимая концентрация (МПК), при которой не было изменения клеток по сравнению с клеточным контролем, позволила определить безопасный рабочий диапазон концентраций препарата Цитовир®-3 для культуры клеток Vero CCL81 (ATCC), который составил 0–149 мкг/мл.

Исследование подавления вирусной репродукции препаратом Цитовир®-3 показало, что его эффективность возрастала с увеличением концентрации образца (линейность воздействия доза-эффект) (табл. 2). По полученным данным в трёх опытах Цитовир®-3 в низких концентрациях (5 и 10 мкг/мл) не влиял на размножение вируса, при увеличении концентраций с 20 до 100 мкг/мл наблюдалось ингибирование, которое увеличивалось с повышением концентрации (от 15 до 31%). При дальнейшем увеличении кон-

центраций (150, 200 и 300 мкг/мл) ингибирование значительно не увеличивалось, и кривая доза-эффект выходила на плато. В третьем опыте при использовании 4 множественностей заражения — 100, 50, 20 и 10 MOI — были получены сходные результаты.

Цитовир®-3 специфически ингибировал цитопатический эффект вируса SARS-CoV-2, при этом ингибирование возрастало пропорционально с увеличением концентрации и имело тенденцию к уменьшению при увеличении дозы заражения вирусом. Активность Умифеновира, взятого в качестве препарата сравнения, также увеличивалась с уменьшением дозы заражения вирусом, соответствуя его активности в ранее проведённых исследованиях [18].

Специфическим (селективным) считали подавление вирусной репродукции составляющее около 30%. Полученные результаты позволили убедиться в наличии потенциальной противовирусной активности и приступить к следующему этапу экспериментальных опытов. Препарат сравнения Умифеновир убедительно подтвердил заявленную эффективность, что свидетельствует о валидности и воспроизводи-

мости методики, используемой при выполнении данного исследования [19].

Вследующей серии экспериментов была изучена противовирусная активность препарата в отношении вируса SARS-CoV-2 при различных сроках его добавления к культуре клеток: за 24 ч до вирусного инфицирования и через +1, +24, +48, +72 ч после вирусного инфицирования. При этом использовали одинаковую множественность заражения 20 MOI (табл. 3).

Проведённые опыты показали, что наиболее эффективными схемами оказались схемы, при которых Цитовир®-3 добавлялся за 24 ч, через 1 и через 24 ч после вирусного инфицирования.

При этих схемах ингибирование возрастало с увеличением концентрации препарата в диапазоне (5–100 мкг/мл), наиболее высокий уровень ингибирования, достигающий примерно 50%, наблюдался при наивысшей из концентраций 100 мкг/мл. Так, высокий уровень ингибирования от 42 до 53% наблюдался при внесении препарата через 1 ч после инфицирования в широком диапазоне доз (от 10 мкг/мл до 100 мкг/мл). Близкие результаты ингибирования (38–53%) наблюдались при внесении препарата через 24 ч после инфицирования в том же диапазоне доз (от 10 мкг/мл до 100 мкг/мл).

На основании полученных данных, в трёх схемах внесения препарата была достигнута ИК₅₀, которая составила 105, 55 и 85 мкг/мл для Цитовир®-3 при его добавлении к клеткам соответственно за 24 ч, через 1 и через 24 ч после вирусного инфицирования.

Заключение

1. В экспериментальных опытах *in vitro* показана противовирусная активность препарата Цитовир®-3 в отношении вируса SARS-CoV-2 за счёт достижения ИК₅₀ в концентрациях 105, 55 и 85 мкг/мл в схемах введения за 24 ч, через 1 и че-

Литература/References

1. Брик Н.И., Каграманян И.Н., Никифоров В.В., Суранова Т.Г., Чернявская О.П., Полежаева Н.А. Пандемия COVID-19. Меры борьбы с её распространением в Российской Федерации. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2020; 19(2): 4–12. doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-2-4-12. [Briko N.I., Kagramanyan I.N., Nikiforov V.V., Suranova T.G., Chernyavskaya O.P., Polezhaeva N.A. Pandemiy COVID-19. Mery bor'by s ee rasprostraneniem v Rossijskoj Federatsii. Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika. 2020; 19(2): 4–12. doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-2-4-12. (in Russian)]
2. Barlow P, van Schalkwyk M.C., McKee M., Labonte R., Stuckler D. COVID-19 and the collapse of global trade: building an effective public health response. The Lancet. 2021; 5 (2): 102–107. doi: 10.1016/S2542-5196(20)30291-6
3. Blumenthal D., Fowler E.J., Elizabeth J., Abrams M.S., Collins S.R. Covid-19 — Implications for the Health Care System. New Engl J Med. 2020; 383 (15): 1483–1488. doi: 10.1056/NEJMs2021088.
4. Shaikat N., Ali D.M., Razzak J. Physical and mental health impacts of COVID-19 on healthcare workers: a scoping review. International Journal of Emergency Medicine. 2020; 13 (1:40): 1–8. doi: 10.1186/s12245-020-00299-5.
5. Scavone C., Brusco S., Bertini M., Sportiello L., Rafaniello C., Zoccoli A., Berrino L., Racagni G., Rossi F., Capuano A. Current pharmacological

рез 24 ч после вирусного инфицирования, соответственно.

2. Рабочий диапазон концентраций препарата Цитовир®-3, в рамках которого были достигнуты ИК₅₀, находится ниже максимально переносимой концентрации, составившей 149 мкг/мл и выявленной в серии опытов на клетках Vero CCL81.

3. Полученные результаты позволяют продолжить дальнейшее изучение лекарственного препарата Цитовир®-3 в специфических доклинических и клинических исследованиях у больных COVID-19.

Дополнительная информация

Участие авторов. Смирнов В. С. — дизайн исследования, редактирование публикации; Лёнёва И.А. — дизайн и проведение исследования, статистическая обработка, редактирование публикации; Кудрявцева Т.А. — дизайн исследования, написание публикации; Файзулоев Е.Б. — дизайн и проведение исследования, статистическая обработка, редактирование публикации; Заплутанов В.А. — дизайн исследования, редактирование публикации; Петленко С.В. — дизайн исследования, редактирование публикации; Карташова Н.П. — проведение исследования, статистическая обработка, редактирование публикации; Грачёва А.В. — проведение исследования, статистическая обработка, редактирование публикации; Корчевая Е.Р. — проведение исследования, статистическая обработка, редактирование публикации.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» (Москва, Россия) по заказу и финансовой поддержке АО «Медико-биологический научно-производственный комплекс «Цитомед» (Санкт-Петербург, Россия).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

- treatments for COVID-19: What's next? Brit J Pharmacol. 2020; 177 (21): 4813–4824. doi: 10.1111/bph.15072.
6. Alexander Steve P.H., Armstrong J.F., Davenport A.P., Davies J.A. et al. A rational roadmap for SARS-Cov-2/COVID-19 pharmacotherapeutic research and development: IUPHAR Review 29. Brit J Pharmacol. 2020; 177 (21): 4942–4966. doi: 10.1111/bph.15094.
7. Liu Y., Sun W., Li J., Chen L., Wang Y., Zhang L., Yu L. Clinical features and progression of acute respiratory distress syndrome in coronavirus disease 2019. Preprint from medRxiv. 2020. doi: 10.1101/2020.02.17.20024166.
8. Sanders J.M., Monogue M.L., Jodlowski T.Z., Cutrell J.B. Pharmacologic Treatments for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. J Am Med Assoc. 2020; 323 (18): 1824–1836 doi: 10.1001/jama.2020.6019.
9. Смирнов В.С., Толоян А.А. Некоторые возможности иммунотерапии при коронавирусной инфекции. Инфекция и иммунитет. 2020; 10 (3): 446–458. doi: 10.15789/2220-7619-SPO-1470. [Smirnov V.S., Tolyan A.A. Nekotorye vozmozhnosti immunoterapii pri koronavirusnoj infektsii. Infektsiya i immunitet. 2020; 10 (3): 446–458. doi: 10.15789/2220-7619-SPO-1470. (in Russian)]
10. Смирнов В.С. Профилактика и лечение гриппа и острых респираторных вирусных инфекций. Санкт-Петербург: АЙСИНГ, 2012. [Smirnov V.S. Profilaktika i lechenie grippa i ostrykh respiratornykh virusnykh infektsij. Sankt-Peterburg: AJSING, 2012. (in Russian)]

11. Смирнов В.С., Петленко С.В. Грипп и острые респираторные инфекции. Санкт-Петербург: Гиппократ; 2019. [Smirnov V.S., Petlenko S.V. Gripp i ostrye respiratornye infektsii. Sankt-Peterburg: Gippokrat; 2019. (in Russian)]
12. Государственный реестр разрешений на проведение клинических исследований. Available at: https://grls.rosminzdrav.ru/CiPermiReg.aspx?PermYear=0&DateInc=&NumInc=&DateBeg=&DateEnd=&Protocol=&RegNm=&Statement=&ProtoNum=&idCiStatementCh=&Qualifier=&CiPhase=&RangeOfApp=&Torg=&Citovir=&LFDos=&Producer=&Recearcher=&sponsorCountry=&MedBaseCount=&CiType=&PatientCount=&OrgDocOut=2&Status=&NotInReg=0&All=0&PageSize=8&order=date_perm&orderType=desc&pagenum=1 (accessed April 8, 2021). [State register of approvals for clinical trials. Available at: https://grls.rosminzdrav.ru/CiPermiReg.aspx?PermYear=0&DateInc=&NumInc=&DateBeg=&DateEnd=&Protocol=&RegNm=&Statement=&ProtoNum=&idCiStatementCh=&Qualifier=&CiPhase=&RangeOfApp=&Torg=&Citovir=&LFDos=&Producer=&Recearcher=&sponsorCountry=&MedBaseCount=&CiType=&PatientCount=&OrgDocOut=2&Status=&NotInReg=0&All=0&PageSize=8&order=date_perm&orderType=desc&pagenum=1 (accessed April 8, 2021). (in Russian)]
13. Cherry J.D. The chronology of the 2002–2003 SARS mini pandemic. Paediatric Respiratory Reviews. 2004; 5 (4): 262–269. doi: 10.1016/j.prv.2004.07.009.
14. Li K., Wohlford-Lenane C.L., Channappaavar R., Park J.E., Earnest J.T., Bair T.B. et al. Mouse-adapted MERS coronavirus causes lethal lung disease in human DPP4 knockin mice. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2017; 114 (15): 3119–3128. doi: 10.1073/pnas.1619109114.
15. Yin Y., Wunderink R.G. Mers, SARS and other coronaviruses as causes of pneumonia. Respirology. 2018; 23 (2): 130–137. doi: 10.1111/resp.13196.
16. Muller J.A., Harms M., Schubert A., Mayer B. et al. Development of a high-throughput colorimetric Zika virus infection assay. Med Microbiol Immunology. 2017; 206 (2): 175–185. doi: 10.1007/s00430-017-0493-2.
17. Хамитов Р.А., Логинова С.Я., Шукина В.Н., Борисевич С.В., Максимов В.А., Шустер А.М. Противовирусная активность арбидола и его производных в отношении возбудителя тяжелого острого респираторного синдрома в культурах клеток. Вопросы вирусологии. 2008; 53 (4): 9–13. [Khamitov R.A., Loginova S.Ya., Shchukina V.N., Borisevich S.V., Maksimov V.A., Shuster A.M. Protivovirusnaya aktivnost' arbidola i ego proizvodnykh v otnoshenii vzbuditelya tyazhelogo ostrogo respiratornogo sindroma v kul'turakh kletok. Voprosy Virusologii. 2008; 53 (4): 9–13. (in Russian)]
18. Логинова С.Я., Шукина В.Н., Борисевич С.В., Хамитов Р.А., Максимов В.А., Шустер А.М. Изучение эффективности Арбидола при экспериментальной форме тяжелого острого респираторного синдрома. Антибиотики и химиотерапия. 2019; 64 (7–8): 19–23. doi: 10.24411/0235-2990-2019-100039. [Loginova S.Ya., Shchukina V.N., Borisevich S.V., Khamitov R.A., Maksimov V.A., Shuster A.M. Izuchenie effektivnosti Arbidola pri eksperimental'noj forme tyazhelogo ostrogo respiratornogo sindroma. Antibiotiki i Khimioterapiya. 2019; 64 (7–8): 19–23. doi: 10.24411/0235-2990-2019-100039. (in Russian)]
19. Ленева И.А., Пшеничная Н.Ю., Булгаков В.А. Умифеновир и коронавирусные инфекции: обзор результатов исследований и опыта применения в клинической практике. Терапевтический Архив. 2020; 92 (11): 91–97. doi: 10.26442/00403660.2020.11.000713. [Leneva I.A., Pshenichnaya N.Yu., Bulgakov V.A. Umifenovir i koronavirusnye infektsii: obzor rezul'tatov issledovaniy i opyta primeneniya v klinicheskoy praktike. Terapevticheskij Arkhiv. 2020; 92 (11): 91–97. doi: 10.26442/00403660.2020.11.000713. (in Russian)]

Информация об авторах

Смирнов Вячеслав Сергеевич — д. м. н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0002-2723-1496

Ленева Ирина Анатольевна — д. б. н., зав. лабораторией экспериментальной вирусологии, Федеральное государственное научное бюджетное учреждение Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0002-7755-2714

Кудрявцева Татьяна Анатольевна — к. б. н., научный сотрудник, лаборатория нанотехнологии и синтеза лекарственных веществ, отдел нейрофармакологии, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0003-4997-9830

Файзулов Евгений Бахтиерович — к. б. н., зав. лабораторией молекулярной вирусологии, Федеральное государственное научное бюджетное учреждение Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Российская Федерация. ORCID-ID 0000-0001-7385-5083

Заплутанов Василий Андреевич — старший научный сотрудник Центра доклинических и клинических исследований отделения молекулярной и радиационной биофизики, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0001-5294-6533

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, Российская Федерация. ORCID-ID 0000-0002-2752-4598

Карташова Надежда Павловна — научный сотрудник лаборатории экспериментальной вирусологии, Феде-

About the authors

Vyacheslav S. Smirnov — D. Sc. in medicine, Professor, Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint-Petersburg, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0002-2723-1496.

Irina A. Leneva — D. Sc. in biology, I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0002-7755-2714

Tatiana A. Kudryavtseva — Ph. D. in biology, research scientist, Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0003-4997-9830

Evgeny B. Fayzuloev — Ph. D. in biology, I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0001-7385-5083

Vasily A. Zaplutanov — Senior Researcher at the Center of Preclinical and Clinical Research of the Department of Molecular and Radiation Biophysics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Saint-Petersburg, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0001-5294-6533

Sergey V. Petlenko — D. Sc. in medicine, Scientific and Clinical Center of Toxicology named after Academician S. N. Golikov of the Federal Medical and Biological Agency, Saint-Petersburg, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0002-2752-4598

Nadezhda P. Kartashova — Researcher at the Laboratory of Experimental Virology, I. I. Mechnikov Research Institute of

ральное государственное научное бюджетное учреждение Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0003-2096-5080

Грачева Анастасия Вячеславовна — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии, Федеральное государственное научное бюджетное учреждение Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0001-8428-4482

Корчевая Екатерина Романовна — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии, Федеральное государственное научное бюджетное учреждение Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0002-6417-3301

Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0003-2096-5080

Anastasia V. Gracheva — Junior Researcher at the Laboratory of Molecular Virology, I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0001-8428-4482

Ekaterina R. Korchevaya — Junior Researcher at the Laboratory of Molecular Virology I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0002-6417-3301