

Противовирусная активность препарата Мефлохин® в отношении COVID-19

С. Я. ЛОГИНОВА¹, В. Н. ЩУКИНА¹, С. В. САВЕНКО¹, *С. В. БОРИСЕВИЧ¹,
К. Н. ФИЛИН², И. А. БЕРЗИН³, В. Д. ГЛАДКИХ³

¹ ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России», Московская область, Сергиев Посад

² Федеральное государственное унитарное предприятие Научно-производственный центр «Фармзащита» Федерального медико-биологического агентства, Московская обл., Химки, Россия

³ Федеральное медико-биологическое агентство, Москва, Россия

Antiviral Activity of The Preparation Meflokhin® Against COVID-19

SVETLANA YA. LOGINOVA¹, VERONIKA N. SHHUKINA¹, SERGEJ V. SAVENKO¹,
*SERGEJ V. BORISEVICH¹, KONSTANTIN N. FILIN²,
IGOR A. BERZIN³, VADIM D. GLADKIKH³

¹ 48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, *Sergiev Posad, Russia*

² Federal State Unitary Enterprise Research & Production Center «Farmzashita» of the Federal Medical-Biological Agency, *Khimki, Russia*

³ Federal Medical-Biological Agency, *Moscow, Russia*

Резюме

Вирусное заболевание COVID-19 вызвало чрезвычайную ситуацию мирового масштаба и привлекло к себе внимание специалистов здравоохранения и населения во всём мире. Значительный рост числа новых случаев инфицирования этим вирусом демонстрирует актуальность поиска лекарственных препаратов, эффективных в отношении данного возбудителя. Целью настоящей работы явилась оценка противовирусной эффективности препарата Мефлохин® в отношении COVID-19. Изучена противовирусная эффективность препарата Мефлохин® в отношении нового пандемического вируса SARS-CoV-2 в экспериментах *in vitro* в культуре клеток Vero C1008 и *in vivo* на сирийских золотистых хомяках. Результаты исследования выявили, что препарат Мефлохин® в концентрации 2,0 мкг/мл при внесении его после инфицирования клеток подавляет репродукцию вируса SARS-CoV-2 на 1,7–1,9 lg, коэффициент ингибирования — около 99%. При применении Мефлохина патологические изменения в ткани лёгких были менее выражены, чем в контрольной группе. Через 6 сут после инфицирования показано, что при применении Мефлохина отмечается статистически значимое снижение вирусной нагрузки в лёгких инфицированных сирийских золотистых хомяков с коэффициентом ингибирования 95,5%.

Ключевые слова: Мефлохин®; Рибавирин; COVID-19; SARS-CoV-2; Vero; *in vitro*; противовирусная активность

Для цитирования: Логинова С. Я., Щукина В. Н., Савенко С. В., Борисевич С. В., Филин К. Н., Берзин И. А., Гладких В. Д. Противовирусная активность препарата Мефлохин® в отношении COVID-19. *Антибиотики и химиотерапия*. 2022; 67: 9–10: 49–54. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-9-10-49-54>.

Abstract

The COVID-19 virus has caused a global emergency and has attracted the attention of healthcare professionals and the public around the world. The significant increase in the number of new cases of infection with this virus demonstrates the relevance of the search for drugs that are effective against this pathogen. The aim of this work was to evaluate the antiviral efficacy of Mefloquin® against COVID-19. The antiviral efficacy of Mefloquin® against the new pandemic virus SARS-CoV-2 was studied in *in vitro* experiments in Vero C1008 cell culture and *in vivo* on Syrian golden hamsters. The results of the study revealed that the drug Mefloquine® at a concentration of 2.0 µg ml⁻¹, when applied after infection of cells, suppresses the reproduction of the SARS-CoV-2 virus by 1.7–1.9 lg, the inhibition rate is about 99%. When using Mefloquine, pathological changes in the lung tissue were less pronounced than in the control group. 6 days after infection, it was shown that when using Mefloquine, there was a statistically significant decrease in viral load in the lungs of infected Syrian golden hamsters, with an inhibition rate of 95.5%.

Keywords: Mefloquine®; Ribavirin; COVID-19; SARS-CoV-2; Vero; *in vitro*; antiviral activity.

For citation: Loginova S. Ya., Shhukina V. N., Borisevich S. V., Filin K. N., Berzin I. A., Gladkikh V. D. Antiviral activity of the preparation Meflokhin® against COVID-19. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2022; 67: 9–10: 49–54. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-9-10-49-54>.

Введение

Пандемия COVID-19, вызванная вирусом тяжёлого острого респираторного синдрома коронавируса 2 (SARS-CoV-2), возникла в Ухане (Китай) и унесла миллионы жизней по всему миру. Соединённые Штаты Америки, Индия, Бразилия, Франция, Испания, Аргентина, Великобритания, Италия, Испания, Германия и др. в настоящее время являются ведущими странами с наибольшим количеством подтверждённых случаев заболевания и связанных с ними смертей. Динамика этой пандемии вызывает озабоченность по поводу безопасности населения мира и требует ответственных действий всего общества. Семейство коронавирусов открыто в 1965 г. и до конца 2002 г. считались обычными возбудителями сезонных ОРВИ [1]. Однако в 2002 г. коронавирус SARS-CoV уже вызывал вспышку инфекций, приводящую к серьёзному заболеванию в виде тяжёлого острого респираторного синдрома — «атипичной пневмонии» с уровнем смертности 10% (8000 выявленных случаев и 800 смертей) [2–5]. В 2012 г. мир столкнулся с новым коронавирусом MERS с уровнем смертности 35% (всего диагностировано 2250 выявленных случаев и около 850 смертей) [6]. Следует отметить, что COVID-19 отличается стремительным распространением, несмотря на принятые меры [7, 8].

Безусловно для решения проблемы коронавирусной пандемии важным является разработка эффективных вакцин. Но в настоящее время существует значительная прослойка населения (около 25%) со сформированным иммунодефицитом, аллергией, вакцинация которых недопустима. Кроме того, несмотря на важность разработки вакцин и биологических терапевтических средств для предотвращения распространения SARS-CoV-2, перед применением вакцины среди населения требуется тщательная оценка возможных иммунных осложнений. Мутации гена вируса и эффект антителозависимого усиления (ADE) могут повлиять на эффективность разработанных биологических вакцин или даже спровоцировать контрпродуктивный иммунный ответ.

В связи с этим актуальным является перепрофилирование имеющихся и разработка новых противовирусных лекарственных препаратов. Поскольку разработка новых лекарств — длительный и дорогостоящий процесс, в связи с неотложностью пандемии, усилия были направлены на выявление возможных вариантов лечения среди имеющихся на рынке лекарств или одобренных. Перепрофилирование лекарств, также известное как репозиционирование лекарств, является одним из лучших решений для поиска терапевтических решений для COVID-19 в критическом по времени режиме. В связи с этим обстоятельством использовали разные противовирусные препараты и их комбинации, применяющиеся для

лечения и профилактики разных штаммов ОРВИ и других вирусных инфекций.

Цель работы — оценка противовирусной эффективности препарата Мефлохин *in vitro* и *in vivo* в отношении SARS-CoV-2 (COVID-19), представленный Научно-производственным центром «Фармзащита».

Материал и методы

Вирус. В работе использовали вирус SARS-CoV-2, вариант В, полученный в 2020 г. из ФГБУ ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора и хранившийся в Специализированной коллекции ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России.

Культура клеток и среды. Эксперименты проводили на постоянной культуре клеток почки африканской зелёной мартышки — Vero C1008. В качестве ростовой и поддерживающей применяли среду Игла (MEM) на солевом растворе Хенкса, содержащую соответственно 7,5 и 2% фетальной телячьей сыворотки.

Исследуемый препарат. Мефлохин® — препарат представлен научно-производственным центром «Фармзащита».

Расчёт доз для лабораторных животных проводили по показателям поверхности тела/массе, исходя из терапевтических доз для человека [9, 10].

Референс-препарат. Рибавирин® — химиопрепарат (1-β-D-рибофуранозил-1,2,4-триазол-3-карбоксамид) производства Dragon Hwa ChemPharm Co. Limited, серия 20031110. Капсулу с препаратом (100 мг) растворяли в 10 мл стерильного БФР с антибиотиками, 100 мкл внутримышечно.

Ребиф® — интерферон бета-1α, серия RBS403004C, Merck Serono S.p.A., Швейцария.

Лабораторные животные. В работе были использованы сирийские золотистые хомяки (массой 50–70 г). Акклиматизация животных проходила в течение 3 дней.

Содержание и обслуживание животных осуществляли в соответствии с СП №1045 73 по содержанию, обустройству вивариев (ГОСТ Р 53434-2009) и Руководству по лабораторным животным (2010 г.); Правилами по защите животных.

Кормление грызунов осуществлялось полноценным гранулированным комбикормом, исключающем необходимость введения дополнительных ингредиентов — «Комбикорм для содержания крыс, мышей, хомяков», ГОСТ — Р 50258-92 ПК-121-10 ООО «Лабораторкорм» (Москва) и «Полноценный комбикорм для лабораторных животных (для разведения крыс, мышей, хомяков), ПК-120-1 847 ООО «Лабораторкорм» (Москва). Перед вскармливанием корм стерилизуют автоклавированием 121°C, 1,2 АТ, 20 мин.

Лабораторных животных размещали в ведра пластмассовые прямого контакта с подстилкой. В качестве подстилки использовали опилки из экологичной древесины и подстил для лабораторных животных REHOFIX®, Германия. Подстилка автоклавировалась при 118°C в течение 30 мин. Чистку клеток осуществляли каждый день. Поилки с водой меняли ежедневно. Температуру и влажность воздуха поддерживали, соответственно, 15–21°C и 30–70%, свет/темнота режим 12 ч. Вход в комнату ограничен при соблюдении условий биобезопасности 2-го уровня (смена одежды, перчатки, сменная обувь, респиратор).

Животных инфицировали перорально в дозе 3×10^5 БОЕ. Наблюдение за инфицированными животными проводили в течение 6 сут, при этом контролировали уровень накопления возбудителя в лёгких в начальном периоде инфекции (1-е сутки), на пике инфекции (2,4 сут) и на 6-е сутки после заражения. Выделение вируса проводили в культуре клеток Vero, C1008 по формированию негативных колоний (БОЕ).

Критерии оценки тяжести течения инфекции у лабораторных животных. Обнаружение вируса в лёгких, патологоанатомические изменения в лёгких инфицированных животных, поведение, внешний вид.

Оценка биологических свойств возбудителя SARS-CoV-2.

Биологическую активность оценивали титрованием вирус-содержащей суспензии в культуре клеток Vero Cl008 по цитопатическому действию вируса и формированию негативных колоний.

Расчёт биологической активности (А) культуры штамма вируса в БОЕ/мл, проводили по формуле:

$$A = \frac{\bar{a} \times b_n}{c}, \quad (1)$$

где: \bar{a} — среднее взвешенное число бляшек на флакон; b_n — степень наивысшего разведения; c — объём инокулята, мл.

$$\bar{a} = \frac{\bar{a}_1 + \bar{a}_2 + \dots + \bar{a}_n}{b_n \left(\frac{1}{b_1} + \frac{1}{b_2} + \dots + \frac{1}{b_n} \right)}, \quad (2)$$

где: $\bar{a}_1 \dots \bar{a}_n$ — среднее число бляшек в 1 по n разведение исследуемого материала; $b_1 \dots b_n$ — степень разведения исследуемого материала.

Оценка противовирусной эффективности экспериментальных субстанций осуществлена в соответствии с рекомендациями ФГБУ «НЦЭСМП» Минздравсоцразвития России [10].

Коэффициент ингибирования (Ки, %) рассчитывается по формуле:

$$Ki = \frac{A_{\text{контр}} - A_{\text{оп}}}{A_{\text{контр}}} \cdot 100\%, \quad (3)$$

где: $A_{\text{контр}}$ — биологическая активность вируса, определённая в клетках без внесения химиопрепарата, БОЕ/мл⁻¹; $A_{\text{оп}}$ — биологическая активность вируса, определённая в клетках с внесением химиопрепарата, БОЕ/мл⁻¹.

Критерии оценки эффективности препарата *in vivo*: снижение уровня вирусной нагрузки в органе-мишени (лёгком) не менее чем на 1,25–2,00 lg на пике развития инфекции [10]; купирование патологоанатомических изменений в лёгких инфицированных животных; отсутствие внешних признаков заболевания в соответствии с рекомендациями ФГБУ «НЦЭСМП» Минздравсоцразвития России [10]. Все опыты на животных были проведены в строгом соответствии с рекомендациями Национального стандарта Российской Федерации — ГОСТ Р 53434-2009 «принципы надлежащей лабораторной практики».

Основными критериями оценки эффективности препаратов *in vitro* являются снижение уровня накопления вируса (Δ , lg), коэффициент ингибирования репродукции вируса (КИ, %).

Статистическая обработка данных. Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием программы Microsoft Office Excel 2007. Полученные результаты представлены в виде среднего \pm ошибка репрезентативности ($\bar{x} \pm \sigma_x$) [11, 12].

Результаты и обсуждение

Метод оценки эффективности лекарственных препаратов по подавлению репродукции вируса позволяет точно оценивать противовирусную активность препаратов в опытах *in vitro*. Принцип метода основан на способности вирусов размножаться в культуре клеток, а также способности эффективных НМСЗ подавлять их репродукцию.

Как правило, первым этапом скрининга химических соединений (кандидатов в фармацевтические средства) является изучение их токсичности. В процессе исследования токсичности соединения изучается влияние различных концентраций препарата на морфологию клеток. Наиболее простым и доступным методом оценки цитотоксичности является визуальное наблюдение за состоянием клеток с помощью светового микроскопа при малом увеличении. Изучение цитотоксичности препарата показало, что максимальная стартовая концентрация препарата Мефлохин для оценки противовирусной активности *in vitro* составила 2,00–2,25 мкг/мл.

Изучение противовирусной активности препарата Мефлохин проводили в культуре клеток Vero Cl008, инфицированных вирусом SARS-CoV-2, вариант В, по показателю ингибирования цитопатической активности вируса. Схемы внесения препарата: за 24 ч, за 1 ч до инфицирования клеток и через 1 ч после. Культуру клеток инфицировали вирусом SARS-CoV-2, вариант В, в дозе 10 ЦПД₅₀.

Через 48 ч после инфицирования клеток цитопатический эффект отсутствовал при внесении препарата Мефлохин после заражения клеток в концентрации 2,0 мкг/мл. В контрольной группе цитопатический эффект составил 100% (12/12). При внесении препарата за 1 ч до инфицирования подавление цитопатической активности вируса не выявлено во всех изученных концентрациях. При внесении препарата за 24 ч до инфицирования 50% подавление ЦПД отмечено в концентрации 1 мкг/мл (табл. 1).

Таблица 1. Оценка противовирусной активности препарата Мефлохин в отношении вируса SARS-CoV-2, вариант В, в культуре клеток Vero Cl008, через 48 ч после инфицирования (доза инфицирования 10 ЦПД) ($n=3$)
Table 1. Evaluation of the antiviral activity of Mefloquine against the SARS-CoV-2 virus, variant B, in Vero Cl008 cell culture, 48 hours after infection (infection dose 10 CPP) ($n=3$)

Схема применения препарата	Концентрация препарата, мкг/мл	Частота выявления ЦПД	Коэффициент ингибирования ЦПД, %
За 24 ч до инфицирования	2	12/12	0
	1	6/12	50
	0,5	9/12	25
За 1 ч до инфицирования	2	12/12	0
	1	12/12	0
	0,5	12/12	0
Через 1 ч после инфицирования	2	0/12	100
	1	12/12	0
	0,5	12/12	0
Контроль инфицирующей дозы	—	12/12	—
Контроль среды	—	0/12	—

Таблица 2. Оценка противовирусной активности препарата Мефлохин в отношении вируса SARS-CoV-2, вариант В, в культуре клеток Vero C1008, через 48 ч после инфицирования
Table 2. Evaluation of the antiviral activity of Mefloquine against the SARS-CoV-2 virus, variant B, in Vero C1008 cell culture, 48 hours after infection

Препарат	Концентрация препарата, мкг	Уровень накопления вируса, lg БОЕ/мл	Снижение уровня накопления вируса, Δ , lg	Коэффициент ингибирования, КИ, %
Мефлохин	2,0	4,50±0,09	1,94	99,06
Ребиф® Rebit®	10 ³	0,00±0,00	6,44	100
Интерферон β 1 α	10 ²	0,00±0,00	6,44	100
Рибавирин	100	4,23±0,03	2,21	99,38
Контроль дозы инфицирования	—	6,44±0,09	—	—

Таблица 3. Результаты наблюдения изменения в лёгких при вскрытии леченных сирийских золотистых хомячков, инфицированных вирусом SARS-CoV-2
Table 3. Observation results of lung changes at necropsy of treated Syrian golden hamsters infected with SARS-CoV-2 virus

Группа животных	Поражение лёгких, срок наблюдения, сут			
	1-е	2-е	4-е	6-е
Мефлохин	0,3±0,3	0,0±0,0	1,0±0,0	1,3±0,3
Рибавирин	0,5±0,5	0,5±0,5	0,7±0,3	1,7±0,3
Контроль инфицированных животных	0,0±0,0	0,7±0,3	2,0±0,0	2,0±0,0
— (0 баллов)	Лёгкие имеют нормальное анатомо-физиологическое состояние. Цвет лёгких бледно-розовый, сосудистый рисунок не выражен. Лёгкие по объёму и консистенции в норме, края органа ровные.			
+	Лёгкие наполнены, в бронхиальной части кровеносные сосуды расширены. Края верхних долей ровные, серо-розового цвета. Нижние доли лёгкого бледно-розового цвета, видимых повреждений нет.			
(1 балл)				
++ (2 балла)	Лёгкие наполнены, отечные, локальные поражения, цвет неровный «мраморный». Видимые изменения наблюдаются во всех долях.			
+++ (3 балла)	Цвет патологических участков лёгких — насыщенный красный, иногда с грязно серым оттенком. Характер поражений лёгких — рубцовая ткань. Сосудистый рисунок легких, особенно у корня, увеличен.			

Через 24 ч после инфицирования клеток цитопатический эффект отсутствовал при внесении препарата Мефлохин как до инфицирования, так и после заражения клеток в диапазоне концентраций 0,5–2,0 мкг/мл. В контрольной группе цитопатический эффект составил 75% (9/12).

Было оценено влияние препарата Мефлохин на репродукцию вируса SARS-CoV-2, вариант В, в культуре клеток Vero C1008, при внесении препарата после инфицирования через 48 ч инкубирования (табл. 2).

Препарат Мефлохин в концентрации 2,0 мкг/мл при внесении его после инфицирования клеток подавляет репродукцию вируса SARS-CoV-2 на 1,9 lg, коэффициент ингибирования — около 99%.

Референс-препараты выявили высокую противовирусную эффективность. Интерферон Ребиф® полностью подавляет репродукцию вируса SARS-CoV-2 в культуре клеток Vero C1008 в концентрации 100 МЕ/мл. Противовирусная активность Рибавирина в концентрации 100 мкг/мл составила 99,38%.

Изучение терапевтической эффективности препарата Мефлохин проводили на сирийских золотистых хомяках, перорально инфицированных вирусом SARS-CoV-2, вариант В, в дозе 5×10^5 БОЕ в 200 мкл.

В эксперименте была использована схема применения препарата: после инфицирования 1- и 2-е

сутки в дозе 8,8 мг/кг (соответствующей 500 мг для человека), 3–6-е сутки в дозе 3,5 мг/кг (соответствующей 200 мг для человека). Проведён сравнительный анализ влияния вируса SARS-CoV-2 на изменения в лёгких при пероральном инфицировании леченных животных по сравнению с инфицированными нелечеными хомяками. Результаты наблюдений представлены в табл. 3.

По данным литературы и собственным исследованиям составлена таблица рейтинговой оценки поражения лёгких хомячков (см. табл. 3), инфицированных вирусом SARS-CoV-2, которая позволяет проводить не только качественную оценку поражения лёгких, но и количественную. Из данных рейтинговой оценки поражения лёгких сирийских золотистых хомячков видно, что наиболее тяжёлые формы поражения зарегистрированы на 4-, 6-е сутки после инфицирования у контрольных нелеченых животных.

При патологоанатомическом вскрытии хомяков через сутки после заражения вирусом SARS-CoV-2 у контрольной группы патологические изменения в лёгких не выявлены. В течение первых суток наблюдения в группе леченых животных как Мефлохином, так и референс-препаратом отмечены незначительные изменения в ткани лёгких. При применении Мефлохина у 1/3 животных — слабовыраженная распростра-

Таблица 4. Результаты оценки уровня инфекционного титра вируса SARS-CoV-2 в легких сирийских хомяков
Table 4. The results of assessing the infectious titer level of the SARS-CoV-2 virus in the lungs of Syrian hamsters

Препарат	Параметры	Время после инфицирования, сут			
		1	2	4	6
Мефлохин	Накопление вируса в лёгких, lg БОЕ×г ⁻¹ , $\bar{x} \pm \sigma_x$	6,76±0,07	5,76±0,07	6,23±0,04	2,16±0,13
	Снижение уровня накопления, Δ, lg	Отсутствует	0,28	0,03	1,34
	Коэффициент ингибирования, %	Отсутствует	47,54	7,39	95,47
Рибавирин, в/м 20 мг/кг	Накопление вируса в лёгких, lg БОЕ×г ⁻¹ , $\bar{x} \pm \sigma_x$	6,22±0,04	4,96±0,06	6,40±0,03	5,15±0,05
	Снижение уровня накопления, Δ, lg	Отсутствует	0,08	Отсутствует	Отсутствует
	Коэффициент ингибирования, %	Отсутствует	17,05	Отсутствует	Отсутствует
Контроль	Накопление вируса в лёгких, lg БОЕ×г ⁻¹ , $\bar{x} \pm \sigma_x$	6,00±0,21	6,04±0,38	6,27±0,04	3,50±0,21

нённая (диффузная) катаральная пневмония и у 2/3 — поражение лёгких не выявлено.

Через 48 ч у всех сирийских хомяков, принимавших Мефлохин, поражения лёгких не выявлено. В контрольной группе — у 1/3 животных — слабовыраженная распространённая (диффузная) катаральная пневмония и у 2/3 — поражение лёгких не выявлено.

Через 4 сут наиболее выраженные, визуально наблюдаемые, изменения ткани лёгких были отмечены в группе контрольных животных: отёчные, локальное поражение гранатового цвета, цвет неровный, «мраморный», тёмно-красный. Статистически менее выраженные (с вероятностью 95%) поражения лёгких были выявлены у животных, принимавших лекарственные препараты. В лёгких животных, леченых Мефлохином, выявлена слабовыраженная распространённая (диффузная) катаральная пневмония.

На 6-е сутки после заражения ярко выраженные изменения ткани лёгких были отмечены в группе контрольных животных. В опытной группе патологические изменения в ткани лёгких были менее выражены, чем в контрольной группе. У 100% обследованных животных, леченых Мефлохином, выявлена слабовыраженная распространённая (диффузная) катаральная пневмония. В контрольной группе — у 100% инфицированных сирийских золотистых хомяков множественные катаральные очаги, цвет патологических участков лёгких — насыщенный красный.

В группе плацебо у сирийских хомяков лёгкие имели нормальное анатомо-физиологическое состояние, бледно-розовый цвет, с невыраженным сосудистым рисунком. Лёгкие по объёму и консистенции были в норме, края ровные.

Таким образом, в результате проведённых патологоанатомических исследований было выявлено, что наиболее тяжёлые формы поражения лёгких регистрируются у сирийских золотистых хомяков, не принимавших лекарственные препараты, при заражении вирусом SARS-CoV-2 в дозе 5,7 lg БОЕ на особь на 4–6 сут. Патологоанатомическая картина поражения лёгких у животных

преимущественно характеризовалась развитием пневмонии.

Оценивали концентрацию вируса в лёгких на 1-, 2-, 4- и 6-е сутки после инфицирования. Результаты оценки уровня инфекционного титра вируса SARS-CoV-2 в ткани лёгких представлены в табл. 4.

Через 48 ч отмечено незначительное снижение вирусной нагрузки в лёгких сирийских золотистых хомяков, принимавших перорально Мефлохин, коэффициент ингибирования составил 47,5%. Через 96 ч после инфицирования снижение вирусной нагрузки в органе-мишени составило 7,4%.

Через 6 сут после инфицирования выявлено снижение накопления вируса в лёгких контрольной группы, отмечено начало элиминации возбудителя из органа-мишени. Уровень накопления вируса в лёгких составил 3,5 lg БОЕ/г. При применении Мефлохина снижение вирусной нагрузки в лёгких сирийских золотистых хомяков составило 1,34 lg, уровень накопления — 2,16 lg БОЕ/г, коэффициент ингибирования — 95,47%.

Заключение

Препарат Мефлохин обладает высокой токсичностью для культуры клеток Vero Cl008, максимальная стартовая концентрация для оценки противовирусной эффективности *in vitro* составила 2,00–2,25 мкг/мл.

Мефлохин выявил максимальную эффективность по подавлению цитопатической активности вируса SARS-CoV-2 при внесении его через 1 ч после заражения клеток в концентрации 2 мкг/мл. Коэффициент ингибирования цитопатической активности вируса составил 100%. Уровень ингибирования при оценке по репродукции вируса составил 99,4%.

Изучение терапевтической эффективности препарата Мефлохин проводили на сирийских золотистых хомяках, перорально инфицированных вирусом SARS-CoV-2, вариант B, в дозе 5×10⁵ БОЕ, показало, что применение Мефлохина вызывает умеренное купирование размножения вируса в органе-мишени лёгком в терминальной

фазе наблюдения. Патологоанатомические исследования выявили, что наиболее тяжёлые формы поражения лёгких регистрируются у сирийских хомячков, не принимавших лекарственные препараты. Патологоанатомическая картина поражения лёгких у животных преимущественно характеризовалась развитием пневмонии.

Дополнительная информация

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов. Логинова С. Я. — концепция и дизайн исследования, сбор данных литературы, написание текста, сбор и обработка материала, редактирование; Щукина В. Н. — сбор и

обработка материала, статистический анализ; написание текста; Савенко С. В. — сбор и обработка материала; Борисевич С. В. — написание текста, редактирование; Филин К. Н. — сбор данных литературы; Берзин И. А. — сбор данных литературы; Гладких В. Д. — сбор данных литературы.

Funding. The study had no sponsorship.

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

Contribution. Loginova S. Ja — research concept and design, literature data collection, material collection and processing, text writing, text editing; Shhukina V. N. — material collection and processing, text writing, statistic analysis; Savenko S. V. — material collection and processing; Borisevich S. V. — text writing, text editing; Filin K. N., Berzin I. A., Gladkikh V. D. — literature data collection.

Литература/References

- 1 Su S., Wong G., Shi W. *et al.* Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol.* 2016; 24: 490–502. doi: 10.1016/j.tim.2016.03.003. Epub 2016 Mar 21.
- 2 Cui J., Li F., Shi Z.L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2019; 17: 181–192. doi: 10.1038/s41579-018-0118-9.
- 3 Zhong N.S., Zheng B.J., Li Y.M. *et al.* Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. *Lancet.* 2003; 362: 1353–1358. doi: 10.1016/s0140-6736(03)14630-2.
- 4 Ksiazek T.G., Erdman D., Goldsmith C.S. *et al.* A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med.* 2003; 348: 1953–1966. doi: 10.1056/NEJMoa030781. Epub 2003 Apr 10.
- 5 Drost C., Günther S., Preiser W. *et al.* Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med.* 2003; 348: 1967–1976. doi: 10.1056/NEJMoa030747. Epub 2003 Apr 10.
- 6 Zaki A.M., van Boheemen S., Bestebroer T.M., Osterhaus A.D., Fouchier R.A. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med.* 2012; 367: 1814–1820. doi: 10.1056/NEJMoa1211721.
- 7 Desforges M., Le Coupanec A., Dubeau P., Bourgouin A., Lajoie L., Dubé M., Talbot P.J. Human coronaviruses and other respiratory viruses: un-

- derestimated opportunistic pathogens of the central nervous system? *Viruses.* 2019 Dec 20; 12 (1). 14. doi: 10.3390/v12010014.
- 8 Wong G., Liu W., Liu Y., Zhou B., Bi Y., Gao G.F. MERS, SARS, and Ebola: the role of super-spreaders in infectious disease. *Cell Host Microbe.* 2015; 18: 398–401. doi: 10.1016/j.chom.2015.09.013.
 - 9 Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Минздрав РФ, 2005. [Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv. Moscow: Minzdrav RF, 2005. (in Russian)]
 - 10 Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, 2012. [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Moscow: FGBU «NTSESMP»Minzdravsotsrazvitiya Rossii, 2012. (in Russian)]
 - 11 Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Ленинград: Медгиз, 1962; 180. [Ashmarin I.P., Vorob'ev A.A. Statisticheskie metody v mikrobiologicheskikh issledovaniyakh. Leningrad: Medgiz., 1962; 180. (in Russian)]
 - 12 Бельский М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Ленинград: Медгиз, 1963; 170. [Belen'kij M.L. Elementy kolichestvennoy otsenki farmakologicheskogo efekta. Leningrad: Medgiz, 1963; 170. (in Russian)]

Информация об авторах

Логинова Светлана Яковлевна — д. б. н., ведущий научный сотрудник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России», Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID: 0000-0001-6732-8404

Щукина Вероника Николаевна — к. б. н., научный сотрудник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России», Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID: 0000-0002-5461-3641

Савенко Сергей Владимирович — научный сотрудник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России», Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID: 0000-0002-5175-916X

Борисевич Сергей Владимирович — д. б. н., профессор, академик РАН РФ, начальник института ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России», Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID: 0000-0002-6742-3919

Филин Константин Николаевич — к. ф. н., руководитель ФГУП НПЦ «Фармзащита», Московская обл., Химки, Россия

Берзин Игорь Александрович — д. м. н., профессор, начальник отдела науки и инновационных технологий в спортивной медицине ФМБА России, Москва Россия

Гладких Вадим Дмитриевич — д. м. н., зам. директора по науке ФМБА России, Москва Россия

About the authors

Svetlana Ya. Loginova — D. Sc. in Biology, leading researcher at the 48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID: 0000-0001-6732-8404

Veronika N. Shukina — Ph. D. in Biology, researcher at the 48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID: 0000-0002-5461-3641

Sergey V. Savenko — researcher at the 48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID: 0000-0002-5175-916X

Sergey V. Borisevich — D. Sc. in Biology, professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the 48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID: 0000-0002-6742-3919

Konstantin N. Filin — Ph. D. in Pharmaceutical Sciences, Head of the Federal State Unitary Enterprise Research & Production Center «Farmzashita» of the Federal Medical-Biological Agency, Khimki, Russian Federation

Igor A. Berzin — D. Sc. in Medicine, Professor, Head of the Department of Science and Innovative Technologies in Sports Medicine, Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russia

Vadim D. Gladkikh — D.Sc. in Medicine, Deputy Director for Science, Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russia