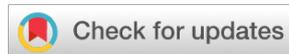


НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

<https://doi.org/10.36233/0507-4088-148>

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022



Противовирусная и вирулицидная активность дезоксирибонуклеата натрия и его комплекса с железом в отношении вирусов разных царств и семейств

Носик Д.Н., Калнина Л.Б., Лобач О.А., Чатаева М.С., Бережная Е.В., Бочкова М.С., Киселева И.А., Селимова Л.М., Носик Н.Н.

Институт вирусологии имени Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия

Введение. Актуальнейшей проблемой современной медицины является борьба с острыми респираторными вирусными инфекциями (ОРВИ), для которой необходимы лекарства широкого противовирусного спектра действия, а также средства, повышающие защитные функции иммунного ответа. Подобным эффектом обладают дезоксирибонуклеат натрия (ДНК-Na) и его комплекс с железом (ДНК-Na-Fe), созданные на основе двухнитевой ДНК природного происхождения.

Цель исследования – изучение противовирусной и вирулицидной активности ДНК-Na и ДНК-Na-Fe в отношении вирусов разных царств и семейств.

Материалы и методы. На модели культур клеток, инфицированных вирусами, изучена противовирусная и вирулицидная активность ДНК-Na и ДНК-Na-Fe.

Результаты и обсуждение. Показано, что ДНК-Na и ДНК-Na-Fe обладали противовирусной активностью в отношении аденовируса в концентрациях 250–1000 мкг/мл при профилактической и лечебной схеме введения препаратов. Противовирусный эффект не был обнаружен в случае вируса полиомиелита ни при какой схеме введения обоих препаратов. ДНК-Na и ДНК-Na-Fe обладали противовирусной активностью в отношении коронавируса при всех схемах введения. ЭК₅₀ для ДНК-Na – ~ 2500 мкг/мл, для ДНК-Na-Fe – ~ 1000 мкг/мл. В клетках, обработанных ДНК-Na-Fe, обнаружена секреция цитокинов: провоспалительных – ИЛ-1β, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-18, ИФН-α, ИФН-γ и противовоспалительных – ИЛ-4, ИЛ-10, антагониста рецептора ИЛ-1. Очевидно, что ДНК-Na и ДНК-Na-Fe обладают противовирусным эффектом, однако механизм действия, по-видимому, не связан со специфическим воздействием на репликацию вирусов. Установлено наличие вирулицидной активности препаратов в отношении представителей семейств Coronaviridae, Adenoviridae, Picornaviridae, Retroviridae, Herpesviridae в суспензионном тесте *in vitro* при концентрации 1000 мкг/мл в пределах 1,0–3,0 lg ТЦИД₅₀.

Заключение. Наличие у ДНК-Na и ДНК-Na-Fe одновременно противовирусной и вирулицидной активности в отношении адено- и коронавируса позволяет рассчитывать на их перспективность в профилактике и лечении ОРВИ.

Ключевые слова: противовирусная активность; вирулицидная активность; дезоксирибонуклеат натрия; Coronaviridae; Adenoviridae; Picornaviridae; Retroviridae; Herpesviridae

Для цитирования: Носик Д.Н., Калнина Л.Б., Лобач О.А., Чатаева М.С., Бережная Е.В., Бочкова М.С., Киселева И.А., Селимова Л.М., Носик Н.Н. Противовирусная и вирулицидная активность дезоксирибонуклеата натрия и его комплекса с железом в отношении вирусов разных царств и семейств. *Вопросы вирусологии*. 2022; 67(6): 506-515. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-148>

Для корреспонденции: Лобач Ольга Александровна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории противовирусных и дезинфекционных средств Института вирусологии имени Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ имени Н.Ф. Гамалеи», 123098, г. Москва, Россия. E-mail: victoriola@yandex.ru

Участие авторов. Все авторы сделали равный вклад в подготовку публикации.

Финансирование. Исследование выполнено за счет государственного бюджета.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 29.10.2022
Принята в печать 10.12.2022
Опубликована 30.12.2022

ORIGINAL ARTICLE

<https://doi.org/10.36233/0507-4088-148>

Antiviral and virucidal activity of sodium deoxyribonucleate and its complex with iron against viruses of different kingdoms and families

Dmitry N. Nosik, Lyudmila B. Kalnina, Olga A. Lobach, Marina S. Chataeva, Elena V. Berezhnaya, Marina S. Bochkova, Irina A. Kiseleva, Lyudmila M. Selimova, Nikolai N. Nosik

D.I. Ivanovsky Institute of Virology of National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya, 123098, Moscow, Russia

Introduction. The urgent problem of modern medicine is the fight against acute respiratory viral infections (ARVI). To combat ARVI, drugs of wide antiviral potency are needed, as well as immunomodulating drugs. Such antiviral and immunomodulatory effects has sodium deoxyribonucleate (DNA-Na) and its complex with iron (DNA-Na-Fe) developed on the basis of double-stranded DNA of natural origin.

Aim of the study: To assess antiviral and virucidal activity of DNA-Na and DNA-Na-Fe against viruses of different kingdoms and families.

Materials and methods. Antiviral and virucidal activity of DNA-Na and DNA-Na-Fe was assessed in cell cultures infected with viruses.

Results and discussion. DNA-Na and DNA-Na-Fe had antiviral activity against adenovirus at concentrations of 250–1000 mcg/ml. Antiviral effect of both drugs was not detected in case of poliovirus. DNA-Na and DNA-Na-Fe had antiviral activity against coronavirus in all administration schemes. EC_{50} for DNA-Na ~ 2500 mcg/ml, for DNA-Na-Fe ~ 1000 mcg/ml. In cells treated with DNA-Na-Fe, secretion of following pro-inflammatory cytokines was detected: Interleukin (IL) 1 β , IL-2, IL-6, IL-18, interferon- α (IFN- α), IFN- γ , as well as anti-inflammatory cytokines: IL-4, IL-10, antagonist of IL-1 receptor. Evidently, DNA-Na and DNA-Na-Fe have antiviral effect, but mechanism of action does not seem to be associated with specific effect on viral replication. Presence of virucidal activity of drugs against representatives of Coronaviridae, Adenoviridae, Picornaviridae, Retroviridae, Herpesviridae *in vitro* test in range of 1.0–3.0 lg TCID₅₀ was identified.

Conclusion. Presence of simultaneous antiviral and virucidal activity of DNA-Na and DNA-Na-Fe against adenovirus and coronaviruses shows their prospects for prevention and treatment of ARVI.

Keywords: *antiviral activity; virucidal activity; sodium deoxyribonucleate; Coronaviridae; Adenoviridae; Picornaviridae; Retroviridae; Herpesviridae*

For citation: Nosik D.N., Kalnina L.B., Lobach O.A., Chataeva M.S., Berezhnaya E.V., Bochkova M.S., Kiseleva I.A., Selimova L.M., Nosik N.N. Antiviral and virucidal activity of sodium deoxyribonucleate and its complex with iron against viruses of different kingdoms and families. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2022; 67(6): 506-515 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-148>

For correspondence: Olga A. Lobach, PhD (Biol.), Senior Researcher at the Laboratory of Antivirals and Disinfectants, D.I. Ivanovsky Institute of Virology of National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya, 123098, Moscow, Russia. E-mail: victoriola@yandex.ru

Information about the authors:

Nosik D.N., <https://orcid.org/0000-0001-5757-5671>

Kalnina L.B., <https://orcid.org/0000-0002-2702-8578>

Lobach O.A., <https://orcid.org/0000-0001-9351-6433>

Chataeva M.S., <https://orcid.org/0000-0002-5379-2406>

Berezhnaya E.V., <https://orcid.org/0000-0002-1551-718X>

Bochkova M.S., <https://orcid.org/0000-0001-9295-8379>

Kiseleva I.A., <https://orcid.org/0000-0003-3693-6081>

Selimova L.M., <https://orcid.org/0000-0003-3709-770X>

Nosik N.N., <https://orcid.org/0000-0003-1943-6536>

Contribution. All authors have made an equal contribution to the preparation of the publication.

Funding. The research was funded by the state budget.

Conflict of interest. Authors declare no potential conflicts of interest.

Received 29 October 2022
Accepted 10 December 2022
Published 30 December 2022

Введение

Актуальнейшей проблемой современной медицины является борьба с острыми респираторными вирусными инфекциями (ОРВИ). Эта группа заболеваний, к сожалению, хорошо известна миллионам жителей нашей страны. Среди возбудителей ОРВИ – вирусы гриппа, аденовирусы, риновирусы, коронавирусы.

Представители последнего семейства – Coronaviridae – HCoV-229E, -OC43, -NL63 и -HKU1, HCoV-229E, круглогодично присутствуют в структуре ОРВИ. Однако печально известными в начале XXI в. стали три других вируса – SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2, вызывающие тяжёлые пневмонии, часто со смертельным исходом [1, 2].

Для борьбы с ОРВИ необходимы лекарства широкого противовирусного спектра действия, а также средства, повышающие защитные функции иммунного ответа. Подобным эффектом – противовирусным и иммуномодулирующим – обладают препарат дезоксирибонуклеата натрия (ДНК-Na) и его комплекс с железом (ДНК-Na-Fe), созданные на основе двухнитевой ДНК природного происхождения.

Показана их эффективность в отношении РНК- и ДНК-содержащих вирусов: вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), вирусов гриппа, вирусов семейства герпеса, вируса японского энцефалита [3–5]. В то же время нами не обнаружена активность в отношении вируса энцефаломиокардита мышей, у вириона которого нет липидной оболочки.

Помимо антивирусных свойств, у ДНК-Na возможно наличие вирулицидных свойств – действие на вирусные частицы, находящиеся вне клетки. Данные об этом, а также информация о противовирусных свойствах ДНК-Na в отношении представителей семейств Coronaviridae, Adenoviridae, Picornaviridae в доступной нам литературе не обнаружены. Поэтому целью исследования было изучение противовирусной активности ДНК-Na и его комплекса с железом в отношении вышеназванных семейств вирусов, а также вирулицидной эффективности в отношении этих вирусов и представителей семейств Retroviridae и Herpesviridae.

Материалы и методы

Исследования эффективности действия препаратов проводились на модели клеток, инфицированных вирусами. Для накопления вирусов использовали 50-миллилитровые культуральные флаконы. При определении инфекционных титров противовирусного и вирулицидного действия использовали 96-луночные культуральные планшеты. Каждая экспериментальная точка включала по четыре повтора.

Вирус полиомиелита типа 1, вакцинный штамм, получен из ГУ НИИ полиомиелита и вирусных энцефалитов имени М.П. Чумакова РАМН. Титр вируса 6,5 lg ТЦИД₅₀.

Аденовирус человека, тип 5 получен из Государственной коллекции вирусов Института вирусологии имени Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный

исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» (НИЦЭМ имени Н.Ф. Гамалеи) Минздрава России. Титр вируса 5,5 lg ТЦИД₅₀.

Коронавирус свиней – вирус трансмиссивного гастроэнтерита свиней (Alphacoronavirus) получен из Государственной коллекции вирусов Института вирусологии имени Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ имени Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. Титр вируса 6,5 lg ТЦИД₅₀.

ВИЧ 1-го типа (ВИЧ-1). В качестве источника ВИЧ использовали штамм ВИЧ-1_{899A} из коллекции штаммов ВИЧ Института вирусологии имени Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ имени Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. Титр вируса 7,0 lg ТЦИД₅₀.

Вирус герпеса простого (ВПГ). В качестве источника взят ВПГ типа 1 (ВПГ-1), штамм Л2, из Государственной коллекции вирусов «Института вирусологии имени Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ имени Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. Титр вируса 5,0 lg ТЦИД₅₀.

Клетки. Для работы с вирусом полиомиелита и ВПГ использовали культуру клеток почки зелёных мартышек Vero. Для работы с аденовирусом использовали перевиваемую линию клеток человека HEp-2. Для работы с ВИЧ использовали лимфобластоидные клетки человека MT-4. Для работы с коронавирусом использовали культуру клеток почки эмбриона свиньи (СПЭВ) из коллекции культур клеток Института вирусологии имени Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ имени Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. Суспензионные клетки MT-4 культивировали в среде RPMI 1640 с 10% сыворотки эмбрионов коров (НПП «ПанЭко»), 146 мг L-глутамин (НПП «ПанЭко»), 100 мкг/мл гентамицина (Shandong Weifang Pharmaceutical Factory Co., Ltd., Швейцария), а монослойные культуры СПЭВ, Vero и HEp-2 – в среде DMEM (НПП «ПанЭко») с 10% сыворотки эмбрионов коров (НПП «ПанЭко»), 146 мг L-глутамин (НПП «ПанЭко»), 100 мкг/мл гентамицина (Shandong Weifang Pharmaceutical Factory Co., Ltd., Швейцария). Монослойные культуры клеток пересеивали с помощью смеси раствора Версена с трипсином (НПП «ПанЭко»). Клетки культивировали в 96-луночных пластиковых панелях и культуральных флаконах (SPL Lifesciences, Корея).

Препараты: ДНК-Na и ДНК-Na-Fe производства ООО «ФЗ Иммунолекс» в виде коммерческого раствора. Активной субстанцией препарата является биологически активная натриевая соль нативной высокоочищенной низкополимерной дезоксирибонуклеиновой кислоты из молок осетровых рыб, относящейся к классу полимерных соединений с молярной массой 270–500 кД, гиперхромным эффектом свыше 37%, модифицированная ионами железа [3].

Исследование цитотоксического действия. Клетки рассеивали на 96-луночные планшеты и добавляли исследуемое средство в различных концентрациях. Инкубировали клетки при 37 °С в атмосфере с 5% CO₂ и 98% влажности. Через 3 дня определяли жизнеспособность

способность с использованием 0,4% раствора трипанового синего и тетразолиевого красителя (метод МТТ) [6, 7]. В случае оценки жизнеспособности и подсчёта количества клеток с использованием трипанового синего клеточную суспензию и краситель смешивали в соотношении 1 : 1, через 5 мин помещали в камеру Горяева и определяли количество живых и мёртвых клеток под световым микроскопом. Процент живых клеток определяли путём умножения на 100 отношения количества живых клеток в 1 мл суспензии к общему количеству клеток в 1 мл суспензии. В опытах, в которых использовали МТТ бромида 3-(4,5-диметилтиазол)-2,5-дифенилтетразолия (Sigma-Aldrich, St. Louis, США), через определённое время для оценки жизнеспособности к каждой лунке добавляли 10 мкл 5 мг/мл МТТ (Sigma-Aldrich, St. Louis, США). После инкубации 2–4 ч при 37 °С вносили в каждую лунку 100 мкл раствора диметилсульфоксида, содержащего 10% додецилсульфата натрия. Затем определяли оптическую плотность (ОП) при 490 нм. Выживаемость клеток рассчитывали по формуле (1):

(ОП опытных лунок – ОП среды) / (ОП контр. лунки – ОП среды) × 100%. (1)

Исследование противовирусного действия. К культуре клеток добавляли исследуемое средство по разным схемам: за 1 и 2 ч до инфицирования, одновременно с вирусом, через 1 ч после инфицирования клеток. Множественность инфекции – 10^{-3} ТЦИД₅₀/клетка. Инкубировали культуры клеток при 37 °С в атмосфере с 5% CO₂ и 98% влажности 3–4 дня. Учёт результатов: определение подавления репродукции вируса в клетках с помощью световой микроскопии: исследование цитопатического эффекта вируса (ЦПЭ) [6, 8], как описано выше.

Степень защиты клеток от цитодеструктивного действия вируса определяли по формуле (2):

$$\% \text{ защиты} = \frac{A - B}{K - B} \times 100, \quad (2)$$

где А – число жизнеспособных клеток в опытной группе; В – то же в инфицированной культуре (контроль вируса); К – то же в неинфицированной культуре (контроль клеток).

В качестве препаратов сравнения использовали антиретровирусные препараты: ингибитор обратной транскриптазы ВИЧ ретровир (азидотимидин) (GlaxoSmithKline, Великобритания) и ингибитор протеазы ВИЧ криксиван (индинавир) (Merck Sharp & Dohme B.V., Нидерланды).

Исследование вирулицидного действия проводили методом смешивания вирусной суспензии и исследуемого средства (тест *in vitro*) при температуре 20 ± 2 °С, а также на тест-объекте – искусственной коже, где создавали вирусную пленку [8, 9]. В тесте *in vitro* смешивали тест-вирус (в соотношении 1 : 9) с исследуемым средством, инкубировали (согласно схеме исследования), готовили 10-кратные разведения смеси вируса и средства (10^{-1} – 10^{-8}), а затем вносили в планшеты с культурой неинфицированных клеток. Планшеты инкубировали в CO₂-термостате при опти-

мальной для данного вируса температуре (34–37 °С) до развития 100% ЦПЭ (3–6 дней). Репродукцию вируса в клетках оценивали методом световой микроскопии по вирусиндуцированному ЦПЭ и окрашиванием клеток с помощью 0,4% раствора трипанового синего и тетразолиевого красителя [6–8], как описано выше.

При испытании на тест-объекте суспензию тест-вируса в объёме 0,2 мл наносили на поверхность тест-объекта и высушивали при температуре 20 ± 2 °С в течение 20–30 мин. Контаминированный вирусом тест-объект протирали тампоном, смоченным исследуемым средством, и оставляли на заданное время для обеззараживания. Контроль – проба, взятая с контаминированной вирусом поверхности, протёртая тампоном, смоченным водой. После истечения времени контакта вируса со средством контаминированную поверхность протирали тампоном, смоченным питательной средой. Аналогичную процедуру проводили с контролем (обработка поверхности без исследуемого средства). Затем проводили титрование тест-вируса на культурах клеток, как описано выше.

Индукция цитокинов. Клетки МТ-4 (концентрация 10⁶/мл) инкубировали с ДНК-Na-Fe в концентрации 1000 мкг/мл в культуральной среде RPMI 1640 в течение 1 ч, отмывали (центрифугирование 5 мин при 800 оборотов/мин), добавляли свежую среду RPMI 1640 и инкубировали 12 ч при 37 °С.

Определение цитокинов. Определение цитокинов в культуральной жидкости проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческих наборов «ИФА-Бест» («Вектор-Бест», Россия) согласно инструкции изготовителя. Результаты учитывали с помощью фотометра Stat Fax-3200 (США) при длине волны 450/630 нм.

Методы статистической обработки результатов. Статистический анализ данных описательной статистики и определения коэффициента Стьюдента проводили с помощью программы BioStat 2009, версия 5 (AnalystSoft Inc., США). Уровень значимости α был равен 0,05.

Результаты

Полученные данные (табл. 1–3) показали, что ДНК-Na и ДНК-Na-Fe в дозах 250–2500 мкг/мл не оказывали цитотоксического действия на клетки Vero, HEp-2 и СПЭВ.

Исследование противовирусного действия ДНК-Na и ДНК-Na-Fe показало (табл. 1), что они обладали противовирусной активностью в отношении аденовируса при всех схемах введения (до инфицирования клеток, одновременно с вирусом) при всех исследованных концентрациях – 250–1000 мкг/мл. Однако ЭК₅₀ (50% эффективная концентрация) была достигнута только в случае дозы 1000 мкг/мл при применении ДНК-Na-Fe за 2 ч до инфицирования клеток. Индекс селективности (ИС) равен 10.

Противовирусный эффект не был обнаружен в случае вируса полиомиелита ни при какой схеме введения обоих препаратов (табл. 2).

Таблица 1. Исследование противовирусной активности дезоксирибонуклеата натрия и его комплекса с железом в отношении аденовируса**Table 1. Study of antiviral activity of sodium deoxyribonucleate and its complex with iron against adenovirus**

Препарат Agent	Концентрация, мкг/мл Concentration, µg/ml	Токсичность*, % Toxicity*, %	Защита клеток**, % Cell protection**, %		
			за 2 ч до инфицирования 2 h before infection	за 1 ч до инфицирования 1 h before infection	одновременно с инфицированием Simultaneously with infection
ДНК-Na DNA-Na	1000	79,7 ± 0,03	40,6 ± 0,04	38,2 ± 0,03	31,2 ± 0,05
	500	83,0 ± 0,04	36,1 ± 0,03	33,8 ± 0,05	28,3 ± 0,05
	250	87,4 ± 0,04	32,9 ± 0,05	25,9 ± 0,06	23,0 ± 0,06
ДНК-Na-Fe DNA-Na-Fe	1000	82,0 ± 0,03	51,0 ± 0,07	42,9 ± 0,03	37,9 ± 0,04
	500	86,5 ± 0,04	42,0 ± 0,04	34,1 ± 0,04	35,3 ± 0,07
	250	91,4 ± 0,05	33,2 ± 0,04	28,3 ± 0,05	25,9 ± 0,03

Примечание. *По отношению к интактному контролю клеток. **Показатель защиты действия препарата от вируса, выраженный в %, ± стандартное отклонение (по формуле Рида–Менча).

Note. *In relation to intact cell control. **The indicator of drug-induced protection from the virus, expressed in %, ± standard deviation (according to the Reed–Mench formula).

Таблица 2. Исследование противовирусной активности дезоксирибонуклеата натрия и его комплекса с железом в отношении полиовируса**Table 2. Study of antiviral activity of sodium deoxyribonucleate and its complex with iron against poliovirus**

Препарат Agent	Концентрация, мкг/мл Concentration, µg/ml	Токсичность* % Toxicity*, %	Защита клеток**, % Cell protection**, %		
			за 2 ч до инфицирования 2 h before infection	за 1 ч до инфицирования 1 h before infection	одновременно с инфицированием simultaneously with infection
ДНК-Na DNA-Na	1000	81,0 ± 0,03	0	0	0
	500	81,4 ± 0,04	0	0	0
	250	92,5 ± 0,05	0	0	0
ДНК-Na-Fe DNA-Na-Fe	1000	84,2 ± 0,03	0	0	0
	500	90,7 ± 0,04	0	0	0
	250	91,0 ± 0,05	0	0	0

Примечание. *По отношению к интактному контролю клеток. **Показатель защиты действия препарата от вируса, выраженный в %, ± стандартное отклонение (по формуле Рида–Менча).

Note. *In relation to intact cell control. **The indicator of drug-induced protection from the virus, expressed in %, ± standard deviation (according to the Reed–Mench formula).

Исследование противовирусного действия препаратов показало (табл. 3), что оба препарата обладали противовирусной активностью в отношении коронавируса при всех схемах введения (до инфицирования клеток, одновременно с вирусом, после инфицирования клеток) при всех исследованных концентрациях – 100–2500 мкг/мл. ЭК₅₀ для ДНК-Na составила ~2500 мкг/мл, для ДНК-Na-Fe – ~1000 мкг/мл. Уровень противовирусной защиты был практически одинаковым при всех схемах введения – и профилактической, и лечебной. ИС равен 4,6 и 10 соответственно.

С целью изучения механизма противовирусного действия препаратов исследовали секрецию цитокинов клетками МТ-4 после обработки ДНК-Na-Fe.

После инкубации с препаратом методом ИФА обнаружены провоспалительные цитокины – интерлейкин (ИЛ) 1β (70 ± 0,014 пкг/мл), ИЛ-2 (2 ± 0,012 пкг/мл), ИЛ-6 (6 ± 0,017 пкг/мл), ИЛ-18 (11 ± 0,021 пкг/мл), интерферон (ИФН) α (37 ± 0,009 пкг/мл), ИФН-γ (24 ± 0,017 пкг/мл) и противовоспалительные цитоки-

ны – ИЛ-4 (2 ± 0,012 пкг/мл), ИЛ-10 (34 ± 0,011 пкг/мл), антагонист рецептора ИЛ-1 (12 ± 0,016 пкг/мл). В культуральной жидкости клеток, не обработанных препаратом, цитокины не обнаружены.

Исследование вирулицидной активности препаратов (табл. 4) показало наличие определенного эффекта в случае всех пяти вирусов при исследовании в суспензионном тесте *in vitro* при концентрации 1000 мкг/мл в пределах 1,0–3,0 lg ТЦИД₅₀. Наибольшая вирусная редукция обнаружена в случае коронавируса при времени обеззараживания 60 мин – 3,0 lg ТЦИД₅₀.

При уменьшении концентрации препаратов до 500 мкг/мл уровень редукции коронавируса оставался на прежнем уровне, но снижался при уменьшении концентрации до 250 мкг/мл или уменьшении времени обеззараживания до 15 мин (табл. 5). В случае применения способа обеззараживания методом протирания отмечено снижение исходного титра вируса на 4,0–5,0 lg ТЦИД₅₀. Согласно нормативным документам (Р 4.2.3676-20), снижение титра тест-ви-

Таблица 3. Исследование противовирусной активности дезоксирибонуклеата натрия и его комплекса с железом в отношении коронавируса**Table 3. Study of antiviral activity of sodium deoxyribonucleate and its complex with iron against coronavirus**

Препарат Agent	Концентрация, мкг/мл Concentration, µg/ml	Токсичность* % Toxicity*, %	Защита клеток**, % Cell protection**, %		
			за 2 ч до инфицирования 2 h before infection	за 1 ч до инфицирования 1 h before infection	одновременно с инфицированием simultaneously with infection
ДНК-Na DNA-Na	2500	85,3 ± 0,04	60,2 ± 0,07	57,0 ± 0,06	56,2 ± 0,08
	1000	86,5 ± 0,02	43,2 ± 0,05	40,9 ± 0,07	40,0 ± 0,03
	500	87,8 ± 0,03	40,7 ± 0,03	37,9 ± 0,03	37,9 ± 0,02
	250	96,0 ± 0,07	36,9 ± 0,02	36,1 ± 0,03	35,6 ± 0,04
	100	97,6 ± 0,05	34,0 ± 0,04	33,5 ± 0,03	33,1 ± 0,06
ДНК-Na-Fe DNA-Na-Fe	1000	92,0 ± 0,03	57,4 ± 0,03	55,3 ± 0,05	53,7 ± 0,05
	500	97,5 ± 0,04	44,2 ± 0,05	43,0 ± 0,04	37,3 ± 0,03
	250	98,4 ± 0,08	41,5 ± 0,06	39,8 ± 0,02	33,3 ± 0,06
	100	99,5 ± 0,02	40,7 ± 0,04	39,4 ± 0,05	32,9 ± 0,07
Ретровир Retrovir	2,5	84,0 ± 0,03	Н.и. / N.i.	26,8 ± 0,05	Н.и. / N.i.
	0,3	91,5 ± 0,05	Н.и. / N.i.	23,1 ± 0,04	Н.и. / N.i.
Криксиван Crixivan	2,5	80,2 ± 0,06	Н.и. / N.i.	27,7 ± 0,06	Н.и. / N.i.
	0,6	85,7 ± 0,04	Н.и. / N.i.	23,7 ± 0,02	Н.и. / N.i.

Примечание. Н.и. – не исследовали. *По отношению к интактному контролю клеток. **Показатель защиты действия препарата от вируса, выраженный в %, ± стандартное отклонение (по формуле Рида–Менча).

Note. N.i. – not investigated. *In relation to intact cell control. **The indicator of drug-induced protection from the virus, expressed in %, ± standard deviation (according to the Reed–Mench formula).

Таблица 4. Исследование вирулицидной активности препаратов в концентрации 1000 мкг/мл в отношении аденовируса, полиовируса, коронавируса, вируса иммунодефицита человека, вируса простого герпеса в суспензионном опыте (смешивание вируса и средства 1 : 9) *in vitro***Table 4. Study of the virucidal activity of drugs in concentration 1000 µg/ml against adenovirus, poliovirus, coronavirus, human immunodeficiency virus, herpes simplex virus in suspension (virus and agent mixed 1 : 9) *in vitro***

Препарат Agent	Время обеззараживания, мин Decontamination time, min	Степень ингибирования, lg ТЦИД ₅₀ * Degree of inhibition, lg TCID ₅₀ *				
		аденовирус Adenovirus	полиовирус Poliovirus	коронавирус Coronavirus	ВИЧ-1 HIV-1	ВПГ-1 HSV-1
ДНК-Na DNA-Na	60	1,3 ± 0,04	1,6 ± 0,06	3,0 ± 0,03	1,3 ± 0,06	2,0 ± 0,03
	15	1,0 ± 0,05	1,0 ± 0,05	2,0 ± 0,06	1,0 ± 0,04	1,7 ± 0,06
ДНК-Na-Fe DNA-Na-Fe	60	2,0 ± 0,05	2,3 ± 0,04	2,0 ± 0,04	1,0 ± 0,06	1,7 ± 0,04
	15	1,5 ± 0,03	2,0 ± 0,03	1,9 ± 0,05	1,0 ± 0,05	1,7 ± 0,05

Примечание. *Степень ингибирования вируса, выраженная в lg ТЦИД₅₀, ± стандартное отклонение (по формуле Рида–Менча).

Note. *The degree of inhibition of the virus, expressed in lg TCID₅₀, ± standard deviation (according to the Reed–Mench formula).

руса на 4,0 lg ТЦИД₅₀ и более позволяет считать средство обладающим вирулицидной активностью [9].

Обсуждение

Более 80% всех инфекционных заболеваний человека приходится на вирусные инфекции, многие из которых носят эпидемический характер. Поэтому человечество всегда стремилось воздействовать на болезнетворного возбудителя, даже не зная его природу.

Принципиально способы воздействия веществ на вирусы можно условно разделить на действие вне клетки и внутри клетки. Препараты, действующие

на вирус вне клетки, называют вирулицидными, а действующие внутри клетки, – противовирусными. Средства, обладающие одновременно и противовирусной, и вирулицидной активностью, естественно, представляют особый интерес.

В качестве объекта исследования были выбраны препараты ДНК-Na и ДНК-Na-Fe, ранее показавшие свою эффективность в отношении РНК- и ДНК-содержащих вирусов [3, 4].

Обнаружена противовирусная активность ДНК-Na и ДНК-Na-Fe в отношении аденовируса. Полученные результаты позволяют отметить, что степень

Таблица 5. Исследование вирулицидной активности препаратов при обработке тест-объектов, инфицированных коронавирусом
Table 5. Study of the virucidal activity of drugs in the treatment of test objects infected with coronavirus

Препарат Agent	Концентрация, мкг/мл Concentration, µg/ml	Способ применения Method of application			
		смешивание вируса и средства 1 : 9 <i>in vitro</i> Virus and agent mixed 1 : 9 <i>in vitro</i>		протираание искусственной кожи Wiping an artificial leather	
		время обеззараживания, мин decontamination time, min	степень ингибирования, lg ТЦИД ₅₀ degree of inhibition, lg TCID ₅₀	время обеззараживания, мин decontamination time, min	степень ингибирования, lg ТЦИД ₅₀ * degree of inhibition, lg TCID ₅₀ *
ДНК-Na DNA-Na	500	60	3,0 ± 0,03	15	5,0 ± 0,02
	250		2,3 ± 0,02		5,0 ± 0,05
	500	15	1,9 ± 0,06	5	4,3 ± 0,03
	250		1,9 ± 0,04		4,0 ± 0,04
ДНК-Na-Fe DNA-Na-Fe	500	60	3,0 ± 0,06	15	5,0 ± 0,05
	250		2,1 ± 0,04		5,0 ± 0,02
	500	15	2,3 ± 0,02	5	5,0 ± 0,03
	250		2,0 ± 0,03		4,0 ± 0,05

Примечание. *Степень ингибирования вируса, выраженная в lg ТЦИД₅₀, ± стандартное отклонение (по формуле Рида–Менча).

Note. *The degree of inhibition of the virus, expressed in lg TCID₅₀, ± standard deviation (according to the Reed–Mench formula).

защиты при воздействии ДНК-Na колебалась в пределах 25–40%. При этом наблюдалась зависимость эффективности от дозы и времени применения средства. Несмотря на небольшой разброс данных, можно отметить, что профилактическое применение за 1–2 ч до заражения было эффективнее, чем одновременное введение препарата с инфицированием клеток.

Однако в отношении полиовируса антивирусный эффект ДНК-Na и ДНК-Na-Fe не был обнаружен ни в одной из схем введения.

В цикле репродукции коронавируса есть этапы, связанные с функционированием фермента вируса полимеразы и использованием вирусом протеаз клетки TMPRSS2 и 3CLpro. Поэтому китайские специалисты, первые столкнувшиеся с эпидемией, попробовали применить различные ингибиторы вирусных ферментов [10]. В частности, было предложено использовать средства, которые применяют при лечении ВИЧ-инфекции, – препараты, ингибирующие ферменты ВИЧ.

В связи с этим нами были использованы в качестве референс-препаратов антиретровирусные средства ретровир и криксиван. Полученные результаты показали незначительную активность данных средств, что свидетельствует не в пользу их перспективности для ингибирования коронавируса.

Напротив, исследованные препараты ДНК-Na и ДНК-Na-Fe, созданные на основе двухспиральной ДНК природного происхождения, обладают противовирусной активностью в отношении представителя семейства Coronaviridae – вируса трансмиссивного гастроэнтерита. ДНК-Na-Fe более эффективен, чем ДНК-Na. В отличие от аденовируса, не наблюдается разницы в применении средства за 2 или 1 ч до инфицирования, одновременно или на 1 ч позд-

нее. Следует отметить, что и при внесении препарата через 1 ч после инфекции сохранялась противовирусная активность.

Исследование вирулицидной активности препаратов на модели РНК- и ДНК-содержащих вирусов, оболочечных и безоболочечных, выявило вирулицидную активность препаратов. Наблюдается ингибирование инфекционности на 1–2 lg ТЦИД₅₀. Наиболее чувствительным к действию препаратов оказался коронавирус. Речь идет о тесте *in vitro*. При обработке поверхности, контаминированной вирусом, степень ингибирования достигала 4–5 lg ТЦИД₅₀, что говорит о вирулицидной активности препаратов.

Данные вирусы принадлежат к разным вирусным семействам: Coronaviridae, Adenoviridae, Picornaviridae, и по классификации Международного комитета по таксономии вирусов (ICTV) общий у них только один раздел – группа. По остальным градациям – надцарство (realm), царство, (kingdom), тип, класс, порядок и семейство – они не совпадают.

Ключевым параметром для разделения вирусов на таксоны является тип их генетического материала – нуклеиновая кислота (НК): РНК- и ДНК-содержащие вирусы. Другая важная характеристика – наличие липидной оболочки у вириона, а также количество цепочек (нитей) НК.

Два из исследованных на наличие противовирусной активности вирусов являются одноплетчатыми РНК-содержащими – вирус полиомиелита и коронавирус. Аденовирус – ДНК-содержащий вирус с двумя цепями НК. Полио- и аденовирус объединяет отсутствие липидной оболочки у вирусной частицы. Самый мелкий из них – полиовирус – 25–30 нм. Коронавирус и аденовирус крупнее – 70–90 и 120–160 нм соответственно.

Таблица 6. Противовирусная активность комплекса дезоксирибонуклеата натрия с железом в отношении вирусов разных семейств
Table 6. Antiviral activity of the complex of sodium deoxyribonucleate with iron against viruses of different families

Вирус Virus	Строение вириона Virion structure	Наличие оболочки The presence of the envelope	Размер вириона, нм Virion size, nm	Противовирусная активность* Antiviral activity*
Вирус герпеса простого Herpes simplex virus	Сферическая форма, линейная ДНК (2 цепочки) Spherical shape, linear DNA (double-stranded)	Оболочка липопротеидная Lipoprotein envelope	120–200	Есть Yes
Цитомегаловирус Cytomegalovirus	Сферическая форма, линейная ДНК (2 цепочки) Spherical shape, linear DNA (double-stranded)	Оболочка липопротеидная Lipoprotein envelope	120–200	Есть Yes
Вирус гриппа Influenza virus	Сферическая форма, РНК (1 цепочка), минус-нить, сегментированный Spherical shape, RNA (single-stranded), minus-strand, segmented	Оболочка липопроте- идная Lipoprotein envelope	100	Есть Yes
Вирус японского энцефалита Japanese encephalitis virus	РНК (1 цепочка), плюс-нить, несегмен- тированный RNA (single-stranded), plus-strand, unsegmented	Оболочка липопротеидная Lipoprotein envelope	40–70	Есть Yes
Вирус иммунодефицита человека Human immunodeficien- cy virus	Сферическая форма, 2 молекулы РНК (1 цепочка), плюс-нить, обратная транскрипция Spherical shape, 2 RNA molecules (single-stranded), plus-strand, reverse transcription	Оболочка липопротеидная Lipoprotein envelope	80–120	Есть Yes
Вирус энцефаломиокардита Encephalomyocarditis virus	Икосаэдрическая форма, РНК (1 цепочка), плюс-нить, несегментированный Icosahedral shape, RNA (single-stranded), plus-strand unsegmented	Нет оболочки No envelope	30	Нет No
Аденовирус Adenovirus	Икосаэдрическая форма, линейная ДНК (2 цепочки) Icosahedral shape, linear DNA (double-stranded)	Нет оболочки No envelope	70–90	Есть Yes
Полиовирус Poliovirus	Сферическая форма, РНК (1 цепочка), плюс-нить Spherical shape, RNA (single-stranded), plus-strand	Нет оболочки No envelope	25–30	Нет No
Коронавирус Coronavirus	Сферическая форма, РНК (1 цепочка), плюс-нить Spherical shape, RNA (single-stranded), plus-strand	Оболочка липопротеидная Lipoprotein envelope	120–160	Есть Yes

Ранее нами была установлена противовирусная активность ДНК-Na-Fe в отношении ВИЧ, ВПГ, цитомегаловируса, вирусов гриппа человека и птиц, вируса японского энцефалита [3, 4]. Однако не было обнаружено ингибирования репродукции вируса энцефаломиокардита мышей, который так же, как и полиовирус, является мелким безоболочечным вирусом из семейства *Picornaviridae* (табл. 6).

Пока остаётся неясным, почему исследуемые препараты избирательно не обладают противовирусным действием в отношении вируса полиомиелита и вируса энцефаломиокардита мышей, относящихся к семейству *Picornaviridae*. При этом их вирулицидное действие такое же, как и на другие исследуемые вирусы. Сам факт заслуживает дальнейшего внимания и исследования.

В поисках механизма противовирусного действия ДНК-Na ранее мы обнаружили индукцию в клетках продуктов амплификации ИЛ-1 α , фактора некроза опухоли- α и β , а также низкомолекулярных факторов (< 3 кДа) в ответ на воздействие ДНК-Na-Fe [11]. В настоящем исследовании установили секрецию цитокинов: провоспалительных – ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-18, ИФН- α и - γ и противовоспалительных – ИЛ-4, ИЛ-10, антагониста рецептора ИЛ-1.

Секреция цитокинов также обнаружена А.М. Нананди и соавт. [12] при применении синтетических ДНК-олигонуклеотидов с высоким содержанием CpG (CpG – сокращение для цитозина и гуанина, разделённых фосфатом, связывающим эти два нуклеотида в структуре ДНК) для защиты от ВПГ-2 при вагинальной герпесвирусной инфекции у мышей.

Авторы объясняют 80% защиту животных от смертельной инфекции именно продукцией ИФН- γ , ИЛ-12, ИЛ-18 и хемокина RANTES клетками слизистой половых путей мышей под воздействием ДНК-олигонуклеотидов.

Наличие в клетках Toll-подобных рецепторов (TLR), и в особенности TLR9, указывает на возможность лиганд-рецепторного взаимодействия TLR9 [13, 14] и ДНК-На. В основе этого взаимодействия лежит сложный сигнальный путь, в конечном счёте приводящий к активации нескольких транскрипционных факторов, включая NF- κ B, AP-1, IRF-7, что, в свою очередь, активирует продукцию провоспалительных цитокинов [5, 15].

При изучении иммуномодулирующей активности ДНК-На-Fe в системе *in vitro* при использовании в качестве модели неопластической клеточной линии МТ-4, представляющей собой CD4⁺ Т-лимфоциты человека, трансформированные Т-лимфотропным вирусом человека 1-го типа, обнаружено снижение количества клеток, содержащих такие маркеры активации, как CD28, CD38, CD62L, CD69 и HLA-DR [16].

Белок CD62L, известный также как L-селектин, участвует в инфильтрации активированных Т-лимфоцитов в различные органы и ткани, где с их участием возможно развитие многих биологических процессов, в том числе и патологических. Вероятно, благодаря такому действию ДНК-На-Fe снижается распространение клеток, содержащих интегрированный патогенетический материал, по органам и тканям, что приводит к замедлению генерализации инфекционного процесса. В то же время ДНК-На-Fe не влиял на экспрессию интегринов β 1 (CD29), α 4 (CD49d) и рецептора интегринов ICAM-1 (CD54) [17].

Очевидно, что ДНК-На и ДНК-На-Fe обладают противовирусным эффектом, однако механизм действия, по-видимому, не связан со специфическим воздействием на репликацию вирусов. Также оба препарата обладают иммуномодулирующим действием и способны снижать активацию клеток. Это свойство может быть особенно полезно при лечении цитокинового шторма, характерного для COVID-19, а также нормализации иммунного ответа при ВИЧ-инфекции. Снижение уровня активации клеток иммунной системы к тому же снижает риск развития оппортунистических инфекций.

Исследование непосредственного действия (вне клетки) ДНК-На и ДНК-На-Fe на все исследованные вирусы (полиовирус, аденовирус, коронавирус, ВИЧ-1, ВПГ-1) показало наличие определённого вирулицидного эффекта. Особенно это интересно в случае вируса полиомиелита, у которого не обнаружен противовирусный эффект.

Таким образом, можно предположить, что при непосредственном контакте как ДНК-На, так и ДНК-На-Fe и вируса происходит некое воздействие на вирионы, приводящее к снижению их инфекционной активности.

Подобный вирулицидный эффект обнаружен в отношении ВПГ при использовании олигонуклеотида

ISIS 5652 в микромолярных количествах (1–2 мкМ) при 37 °C [18]. Авторы предполагают, что GT-олигонуклеотид индуцирует конформационные изменения в гликопротеине В ВПГ, который играет важную роль в прикреплении вируса к клетке и проникновении в неё. Отмечено исчезновение вирулицидного эффекта при 4 °C.

Следует отметить, что вирулицидный эффект в 2–3 lg ТЦИД₅₀ на практике означает снижение урожая вируса в 100–1000 раз.

Наличие у ДНК-На и ДНК-На-Fe одновременно и противовирусной, и вирулицидной активности в отношении адено- и коронавирусов позволяет рассчитывать на их перспективность в профилактическом и лечебном применении. Нанесённый на слизистые оболочки препарат будет воздействовать на разные стадии вирусного цикла, начиная с этапа их прикрепления к клеткам организма-хозяина.

Помимо корона- и аденовирусов, препараты ДНК-На и ДНК-На-Fe обладают, как нами было показано ранее, противовирусным действием в отношении вирусов гриппа человека и птиц [3, 4]. Поэтому можно предположить, что данные средства будут эффективны в отношении всех основных возбудителей ОРВИ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Львов Д.К., ред. *Руководство по вирусологии: Вирусы и вирусные инфекции человека и животных*. М.: МИА; 2013.
2. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 15; 2022. Available at: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/059/392/original/BMP_COVID-19_V15.pdf
3. Носик Д.Н., Каплина Э.Н. *Ферровир. Опыт применения в экспериментальной и лечебной практике*. М.: Научная книга; 2005.
4. Носик Д.Н., Носик Н.Н., Каплина Э.Н., Калнина Л.Б., Киселева И.А., Кондрашина Н.Г. и др. Активность препарата «Ферровир» в отношении РНК- и ДНК-вирусов. *Вопросы вирусологии*. 2002; 47(3): 21–3.
5. Беседнова Н.Н., Макаренко И.Д., Федянина Л.Н., Авдеева Ж.И., Крыжановский С.П., Кузнецова Т.А. и др. Дезоксирибонуклеиновая кислота про- и зукариот в профилактике и терапии инфекционных болезней. *Антибиотики и химиотерапия*. 2018; 63(5-6): 52–67.
6. Миронов А.Н., Бунатян Н.Д. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. М.; 2012.
7. 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. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
8. Носик Д.Н., Носик Н.Н. *Борьба с вирусами. Дезинфекция*. М.: МИА; 2018.
9. Р 4.2.3676-20. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности. М.; 2020.
10. Handbook of COVID-19 Prevention and Treatment. The First Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine; 2020. Available at: https://globalce.org/downloads/Handbook_of_COVID_19_Prevention_en_Mobile.pdf
11. Nosik D., Kaplina E., Nosik N., Kalnina L., Tsutsumi R., Miura Y., et al. A Fe3+/DNA Complex induces an anti-human immunodeficiency virus factor(s) in CD4+ lymphocyte cell lines. *Acta Virol*. 1999; 43(1): 25–30.
12. Harandi A.M., Eriksson K., Holmgren J. A protective role of locally administered immunostimulatory CpG oligodeoxynucleotide in a mouse model of genital herpes infection. *J. Virol*. 2003; 77(2): 953–62. <https://doi.org/10.1128/jvi.77.2.953-962.2003>

13. Iwasaki A., Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat. Immunol. J.* 2004; 5(10): 987–95. <https://doi.org/10.1038/ni1112>
14. Kumagai Y., Takeuchi O., Akira S. Pathogen recognition by innate receptors. *J. Infect. Chemother.* 2008; 14(2): 86–92. <https://doi.org/10.1007/s10156-008-0596-1>
15. Sauter M.M., Gauger J.J., Brandt C.R. Oligonucleotides designed to inhibit TLR9 block Herpes simplex virus type 1 infection at multiple steps. *Antiviral. Res.* 2014; 109: 83–96. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.06.015>
16. Селимова Л.М., Калнина Л.Б., Каплина Э.Н., Носик Д.Н. Влияние ферровируса на экспрессию поверхностных маркеров активации клетками неопластической линии МТ-4. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2017; 62(6): 355–9. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-6-355-359>
17. Калнина Л.Б., Селимова Л.М., Каплина Э.Н., Носик Д.Н. Экспрессия интегринов $\beta 1$, $\alpha 4$ и молекулы клеточной адгезии ICAM-1 в присутствии дезоксирибонуклеата натрия с железом комплекса (ДНК-Na-Fe) клетками МТ-4, трансформированными Т-лимфотропным вирусом человека 1 типа (Retroviridae: Orthoretrovirinae: Deltaretrovirus: Human T-lymphotropic virus type 1). *Вопросы вирусологии.* 2021; 66(3): 227–32. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-57>
18. Shogan B., Kruse L., Mulamba G., Hu A., Coen D. Virucidal activity of a GT-Rich oligonucleotide against herpes simplex virus mediated by glycoprotein B. *J. Virol.* 2006; 80(10): 4740–7. <https://doi.org/10.1128/jvi.80.10.4740-4747.2006>
6. Mironov A.N., Bunatyan N.D. *Guidelines for Conducting Preclinical Studies of Medicinal Products [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv]*. Moscow; 2012. (in Russian)
7. 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. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
8. Nosik D.N., Nosik N.N. *Fight against viruses. Disinfection [Bor'ba s virusami. Dezinfektsiya]*. Moscow: MIA; 2018. (In Russian)
9. Guidelines R 4.2.3676-20. Methods of laboratory research and testing of disinfectants to evaluate their effectiveness and security. Moscow; 2020. (in Russian)
10. Handbook of COVID-19 Prevention and Treatment. The First Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine; 2020. Available at: https://globalce.org/downloads/Handbook_of_COVID_19_Prevention_en_Mobile.pdf
11. Nosik D., Kaplina E., Nosik N., Kalnina L., Tsutsumi R., Miura Y., et al. A Fe3+/DNA Complex induces an anti-human immunodeficiency virus factor(s) in CD4+ lymphocyte cell lines. *Acta Virol.* 1999; 43(1): 25–30.
12. Harandi A.M., Eriksson K., Holmgren J. A protective role of locally administered immunostimulatory CpG oligodeoxynucleotide in a mouse model of genital herpes infection. *J. Virol.* 2003; 77(2): 953–62. <https://doi.org/10.1128/jvi.77.2.953-962.2003>
13. Iwasaki A., Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat. Immunol. J.* 2004; 5(10): 987–95. <https://doi.org/10.1038/ni1112>
14. Kumagai Y., Takeuchi O., Akira S. Pathogen recognition by innate receptors. *J. Infect. Chemother.* 2008; 14(2): 86–92. <https://doi.org/10.1007/s10156-008-0596-1>
15. Sauter M.M., Gauger J.J., Brandt C.R. Oligonucleotides designed to inhibit TLR9 block Herpes simplex virus type 1 infection at multiple steps. *Antiviral. Res.* 2014; 109: 83–96. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.06.015>
16. Selimova L.M., Kalnina L.B., Kaplina E.N., Nosik D.N. The effect of Ferrovir on to expression of surface markers of activation by cells neoplastic line MT-4. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2017; 62(6): 355–9. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-6-355-359> (in Russian)
17. Kalnina L.B., Selimova L.M., Kaplina E.N., Nosik D.N. Expression of integrins $\beta 1$, $\alpha 4$ and cell adhesion molecule ICAM-1 in the presence of sodium deoxyribonucleate with Ferrum complex (DNA-Na-Fe) by MT-4 cells transformed by human T-lymphotropic virus type 1 (Retroviridae: orthoretrovirinae: deltaretrovirus: human T-lymphotropic virus type 1). *Voprosy virusologii.* 2021; 66(3): 227–32. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-57> (in Russian)
18. Shogan B., Kruse L., Mulamba G., Hu A., Coen D. Virucidal activity of a GT-Rich oligonucleotide against herpes simplex virus mediated by glycoprotein B. *J. Virol.* 2006; 80(10): 4740–7. <https://doi.org/10.1128/jvi.80.10.4740-4747.2006>

REFERENCES

1. L'vov D.K., ed. *Guidance to Virology: Viruses and Viral Infections of Humans and Animals [Rukovodstvo po virusologii: Virusy i virusnye infektsii cheloveka i zhivotnykh]*. Moscow: MIA; 2013. (in Russian)
2. Temporary guidelines. Prevention, diagnosis, and treatment of novel coronavirus infection (COVID-19). Version 15; 2022. Available at: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/059/392/original/BMP_COVID-19_V15.pdf (in Russian)
3. Nosik D.N., Kaplina E.N. *Ferrovir. Experience of Application in Experimental and Medical Practice [Ferrovir. Opyt primeneniya v eksperimental'noy i lechebnoy praktike]*. Moscow: Nauchnaya kniga; 2005. (in Russian)
4. Nosik D.N., Nosik N.N., Kaplina E.N., Kalnina L.B., Kiseleva I.A., Kondrashina N.G., et al. Activity of «Ferrovir» preparation towards RNA and DNA viruses. *Voprosy virusologii.* 2002; 47(3): 21–3. (in Russian)
5. Besednova N.N., Makarenkova I.D., Fedyanina L.N., Avdeeva Zh.I., Kryzhanovskiy S.P., Kuznetsova T.A., et al. Prokaryotic and eukaryotic DNA in prevention and treatment of infectious diseases. *Antibiotiki i khimioterapiya.* 2018; 63(5-6): 52–67. (in Russian)