

ПРОТИВОМИКРОБНЫЕ СРЕДСТВА

DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-7-15-20

ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ В ОТНОШЕНИИ SARS-COV-2 ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ НА ОСНОВЕ ИММОБИЛИЗИРОВАННОГО РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ИНТЕРФЕРОНА ЛЯМБДА-1

П. Г. Мадонов¹, В. А. Святченко², С. С. Легостаев², Н. А. Кихтенко¹,
А. А. Котлярова¹, Л. А. Олейник¹, Г. И. Байкалов¹, В. В. Удут³

Несмотря на значительные достижения в создании лекарственных средств, на сегодняшний день не существует эффективных универсальных препаратов для лечения вирусных инфекций. Это стало очевидным в ходе пандемии, вызванной COVID-19. Одним из потенциально возможных противовирусных средств являются интерфероны, которые уже зарекомендовали себя как эффективные препараты для лечения заболеваний, вызванных вирусами. В данной работе рассматривается возможность использования рекомбинантного человеческого интерферона лямбда-1 и его пегилированной формы для лечения инфекции, вызванной SARS-CoV-2. В ходе экспериментов на культуре клеток Vero E6 было выявлено, что фармацевтическая субстанция на основе рекомбинантного человеческого интерферона лямбда-1, иммобилизованного на ПЭГ 1500 методом электронно-лучевого пегилирования, обладает выраженной противовирусной активностью и высоким терапевтическим индексом в отношении SARS-CoV-2, а также обладает низкой цитотоксичностью в отношении культуры клеток Vero E6. Полученные данные позволяют считать, что на основе данной субстанции возможно создание лекарственного препарата для лечения вирусной инфекции, вызываемой SARS-CoV-2.

Ключевые слова: COVID-19; противовирусная терапия; интерферон лямбда-1.

ВВЕДЕНИЕ

Пандемия коронавирусной инфекции мобилизует всё научное сообщество на разработку и внедрение лекарственных средств (ЛС) для лечения COVID-19. Возможность применения ЛС на основе интерферонов (ИФ) активно изучается и среди исследователей сложилось консолидированное мнение о том, что эффективность ИФ не вызывает сомнений [16]. С позиции благоприятного сочетания эффективности и безопасности наиболее перспективными считаются ИФ I и III типов — альфа и лямбда (ИФ- α и ИФ- λ) [7, 12]. При этом, в свете последних исследований, ИФ- λ обладает

существенными преимуществами перед ИФ- α [7, 11, 12, 17].

Применение ИФ у больных COVID-19 выглядит оправданным, поскольку установлено, что особенностью вируса SARS-CoV-2 является угнетение им экспрессии ИФ I, II и III типов в инфицированных легких человека [6], а значит, ИФ имеют точки приложения для применения в качестве патогенетических ЛС. В исследовании [10] установлено, что зараженные SARS-CoV-2 альвеолярные макрофаги не способны распознавать вирус и вызывать синтез ИФ, в отличие от макрофагов, инфицированных другими респираторными вирусами, например, вирусом гриппа А, который вызывает устойчивый ИФ-ответ. Отсутствие продукции ИФ в альвеолярных макрофагах после заражения SARS-CoV-2 также может объяснить начальную бессимптомную фазу, наблюдаемую при COVID-19.

Экспрессия рецепторов ИФ- λ ограничена тканями с относительно большим количеством эпителиальных клеток, такими как легкие, дыхательные пути и желудочно-кишечный тракт. Такой вариант распределения рецепторов ИФ- λ дает уникальные возможности для этого семейства ИФ в качестве ЛС для противовирусной терапии [21]. В исследовании [1] показано, что после инфицирования мышей вирусом гриппа А интра-

¹ ФГБУН Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Россия, 630090, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, д. 10.

² ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор” Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Россия, 630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово.

³ “Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е. Д. Гольдберга” ФГБНУ “Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук”, Россия, 634028, Томск, пр. Ленина, 3.

назальные эпителиальные клетки продуцируют в основном ИФ- λ , а не ИФ- α . На модели *in vivo* показано, что введение ИФ- λ и ИФ- α может предотвратить репликацию вируса гриппа, однако только ИФ- λ препятствует распространению вируса в легких [13]. В-лимфоциты человека и их подтипы напрямую реагируют на ИФ- λ . Установлено, что экспрессия интерферон-стимулируемых генов (ISG-генов), индуцированная ИФ- λ , в В-лимфоцитах устойчива, продолжительна и усиливает их дифференцировку в плазмобласты после активации, благодаря чему клетки приобретают эффекторные функции, такие как высвобождение интерлейкинов (ИЛ): ИЛ-6 и ИЛ-10 и выработку антител [20]. В публикации [18] показано, что в клетках ротоглотки экспрессия ИФ типа I и III, ИФ-регуляторного фактора 7 (IRF-7) и ISG выше у пациентов с SARS-CoV-2, по сравнению с контролем. Примечательно, что в подгруппе тяжелобольных пациентов, которым потребовалась инвазивная искусственная вентиляция легких, наблюдалось общее снижение экспрессии ИФ и ISG. Разнородные варианты ответа ИФ I и III типов в дыхательных путях пациентов с COVID-19 могут быть связаны с тяжестью COVID-19. Авторы исследования [8] показали, что 50 % ингибирующая концентрация (IC_{50}) рекомбинантного бычьего ИФ- λ в отношении SARS-CoV-2 на культуре клеток Vero в 30 – 50 раз ниже, чем IC_{50} человеческого ИФ типа I ($\alpha 2b$ и $\beta 1a$).

В настоящее время отсутствуют ЛС, содержащие в качестве активного ингредиента ИФ- λ . Поэтому для лечения COVID-19 необходимо создавать оригинальный препарат ИФ- λ с заданными фармакологическими свойствами для максимальной тропности к эпителию и иммунокомпетентным клеткам верхних дыхательных путей и лёгких. Очевидно, что на эту роль потенциально подходит рекомбинантный человеческий ИФ- λ . Из четырех известных и изученных на сегодняшний день подтипов ИФ- λ , наиболее приемлемым для создания такого препарата представляется ИФ- $\lambda 1$ (ИЛ-29). Третичная структура человеческого ИФ- $\lambda 1$ поддерживается двумя дисульфидными связями, образованными в положениях Cys49-Cys145 и Cys112-Cys171. ИФ- $\lambda 1$ действует через специфический гетеродимерный рецептор, состоящий из субъединицы ИФ- $\lambda R1$, уникальной для ИФ- λ , и субъединицы ИЛ-10R2, общей для ИФ- λ и ИЛ-10, ИЛ-22, ИЛ-26. Белок связывается с рецептором в молярном соотношении 1:1 [14]. Рекомбинантный человеческий ИФ- $\lambda 1$ проявляет биологические свойства, характерные для нативного человеческого ИФ- $\lambda 1$. Можно предполагать создание 4 лекарственных форм: интраназальной, ингаляционной, пероральной и инъекционной. Интраназальная и пероральная будут максимально комплаентными как для лечения, так и для профилактического применения, а применение в ингаляционной и инъек-

ционной лекарственных формах будет создавать максимальные концентрации в альвеолах и легочном кровотоке.

Достижения современной фармакологии и молекулярной биологии позволяют использовать не только нативные генно-инженерные белки. Весьма перспективным выглядит использование их модифицированных форм для улучшения фармакокинетических, фармакодинамических и токсических свойств. В настоящее время разработаны технологии иммобилизации ИФ на инертных носителях и созданы успешные ЛС. В качестве примера следует назвать широко применяющиеся пегилированные, т.е. иммобилизованные на полиэтиленгликоле (ПЭГ) вещества, в частности, такие как пегилированный ИФ- α — “Пегинтрон”, “Пегасис”. Эти ЛС созданы посредством химической конъюгации ИФ- α и ПЭГ с целью удлинения периода полувыведения ИФ- α и представлены в виде лекарственных форм для парентерального применения.

Наряду с технологией химического пегилирования существует технология электронно-лучевого пегилирования (ЭЛП), которая направлена на улучшение фармакокинетических и снижение токсических свойств фармакологически активных белков [1]. ЭЛП позволяет существенно повысить энтеральную биодоступность, обеспечить тканевое распределение и снизить аллергенность ИФ при сохранении специфических фармакологических свойств [2, 3], поэтому иммобилизованный посредством ЭЛП рекомбинантный человеческий ИФ- $\lambda 1$ (рИФ- $\lambda 1$) предполагается использовать не парентерально, а перорально, а также интраназальным и ингаляционным способами. Нам представляется весьма перспективным создание с помощью ЭЛП фармацевтической субстанции на основе рИФ- $\lambda 1$ (ФС ИФ- $\lambda 1$) для ЛС, предназначенных для лечения и профилактики COVID-19.

Цель исследования заключается в изучении противовирусного действия ФС ИФ- $\lambda 1$ в отношении вируса SARS-CoV-2 *in vitro*.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве активного фармацевтического ингредиента для ФС ИФ- $\lambda 1$ был использован рИФ- $\lambda 1$, произведённый с помощью молекулярно-генетических и биотехнологических методов из биомассы клеток продуцента *Escherichia coli*. Характеристики рИФ- $\lambda 1$ представлены в табл. 1.

Молекулярная масса рИФ- $\lambda 1$ определена с использованием электрофореза в полиакриламидном геле (камера для вертикального электрофореза VE-2M, Хеликон, Россия), результаты которого представлены на рис. 1, и масс-спектрофотометрии (MALDI-масс-спектрометр UltraFlex III “Bruker”, США). Степень чистоты полученного препарата ИФ- $\lambda 1$ составила 97,77 % (хроматограф жидкостный ActaPurifier100, “GE Healthcare”, США).

Создание ФС ИФ- λ 1 происходило посредством ЭПП рекомбинантного человеческого интерферона- λ 1 на активированном ПЭГ 1500 с помощью импульсного линейного ускорителя электронов ИЛУ-10 (Институт ядерной физики СО РАН, Новосибирск, Россия). Облучение осуществляли согласно инструкции по работе с ИЛУ-10, определяющей порядок загрузки и выгрузки, кратность прохождения пакетов с растворами через зону облучения, дозиметрический контроль стадии облучения. Используемая доза облучения — 0,25 Мрад. Факт образования конъюгата ПЭГ-ИФ- λ 1 подтверждали хроматографически (ActaPurifier100, “GE Healthcare”, США). Нестерильная субстанция ПЭГ-ИФ- λ 1 подвергалась стерилизующей фильтрации посредством вакуумной стерилизационной системы “Stericup” (Merck Millipore, Германия).

Клеточная культура. Использовали монослойную культуру клеток Vero E6 (получена из Коллекции клеточных культур ФБУН ГНЦ ВБ “Вектор” Роспотребнадзора). В качестве ростовой и поддерживающей культуральной среды использовали среду Игла ДМЕМ/F12 (Gibco, Thermo Fisher Scientific, США) с добавлением 40 мкг/мл сульфата гентамицина (Gibco, Thermo Fisher Scientific, США) и эмбриональной сыворотки КРС (Gibco, Thermo Fisher Scientific, США) до 10 и 2 % соответственно.

Вирус. Культуральный штамм вируса SARS-CoV-2 был выделен в 2020 г. во ФБУН ГНЦ ВБ “Вектор” Роспотребнадзора из клинического образца инфицированного новым коронавирусом пациента на культуре клеток Vero E6 высокочувствительной к коронавирусам [9]. Подлинность выделенного штамма вируса SARS-CoV-2 была подтверждена ПЦР-анализом и полногеномным секвенированием. Вирус-содержащую культуральную жидкость очищали и концентрировали центрифугированием в ячейке с отсекающим фильтром VivaSpin-20 centrifugal filter unit (100 кДа) (Sartorius, США).

Исследование противовирусной активности. Для исследования противовирусной активности рЧИФ- λ 1 и ФС ИФ- λ 1 использовали сток культурального вируса SARS-CoV-2. Инфекционную активность вирусного стока определяли титрованием микрометодом на 96-луночных культуральных планшетах с субконфлюэнтным монослоем клеток Vero E6. С этой целью монослой клеток инфицировали 10-кратными разведениями вируса и через 3 сут инкубирования при 37 °C в атмосфере, содержащей 5 % CO₂, проводили учет результатов микроскопией (по наличию вирус-специфического цитопатогенного действия) и с использованием МТТ теста. Инфекционный титр вируса выражали через 50 %-ную тканевую цитопатогенную дозу (ТЦД₅₀). Титр вирусного стока составил $\sim 5 \cdot 10^7$ ТЦД₅₀/мл. Сток фасовали по аликвотам 50 мкл и хранили при – 80 °C до использования.

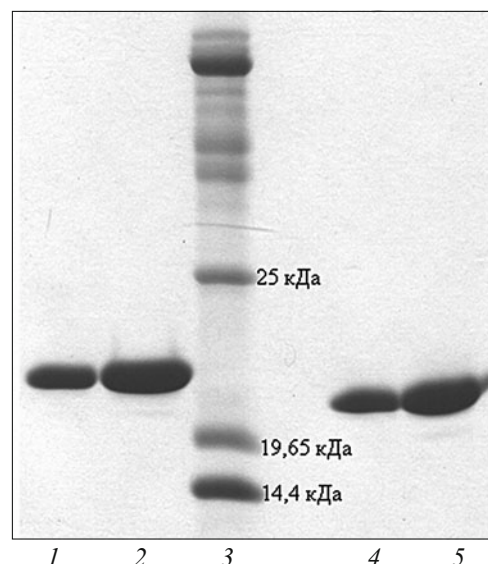


Рис. 1. Электрофореграмма очищенного рЧИФ- λ 1, произведенного для электронно-лучевого пегелирования. Дорожки 1 и 2 — рЧИФ- λ 1 в восстанавливающих условиях; дорожка 3 — молекулярные маркеры, дорожка 4 и 5 — рЧИФ- λ 1 в невосстанавливающих условиях.

На первом этапе был проведен анализ возможной цитотоксической активности рЧИФ- λ 1 и ФС ИФ- λ 1 в отношении культуры клеток Vero E6 в диапазоне концентраций 0,16 – 42500 нг/мл и 20 – 108000 нг/мл соответственно. Цитотоксическую активность соединений определяли микрометодом на 96-луночных планшетах “Greiner” (Greiner Bio-One GmbH, Австрия) с использованием МТТ теста. Оценивали жизнеспособность обработанных разными концентрациями рЧИФ- λ 1 и ФС ИФ- λ 1 клеток по отношению к необработанным (контроль, 100 % жизнеспособности) в трех повторах.

С целью определения противовирусной активности рЧИФ- λ 1 и ФС ИФ- λ 1 монослой клеток Vero E6, выращенный на 96-луночных планшетах, инкубировали с

Таблица 1. Характеристики рекомбинантного человеческого ИФ- λ 1, произведенного для электронно-лучевого пегелирования с помощью молекулярно-генетических и биотехнологических методов из биомассы клеток продуцента *Escherichia coli*

Показатель		Величина
Количество биомассы, г		35,5
Содержание общего белка в растворе тел включения, мг		996,0
Содержание общего белка в ренатурате, мг		736,0
Количество рЧИФ- λ 1 после диализа	Объем, мл	80,0
	Содержание белка, мг	68,3
	Концентрация, мг/мл	1,17
Гомогенность, %		97,77
Выход, %		10
Выход продукта на единицу биомассы, мг/г		1,9
Молекулярная масса, кДа		20,1

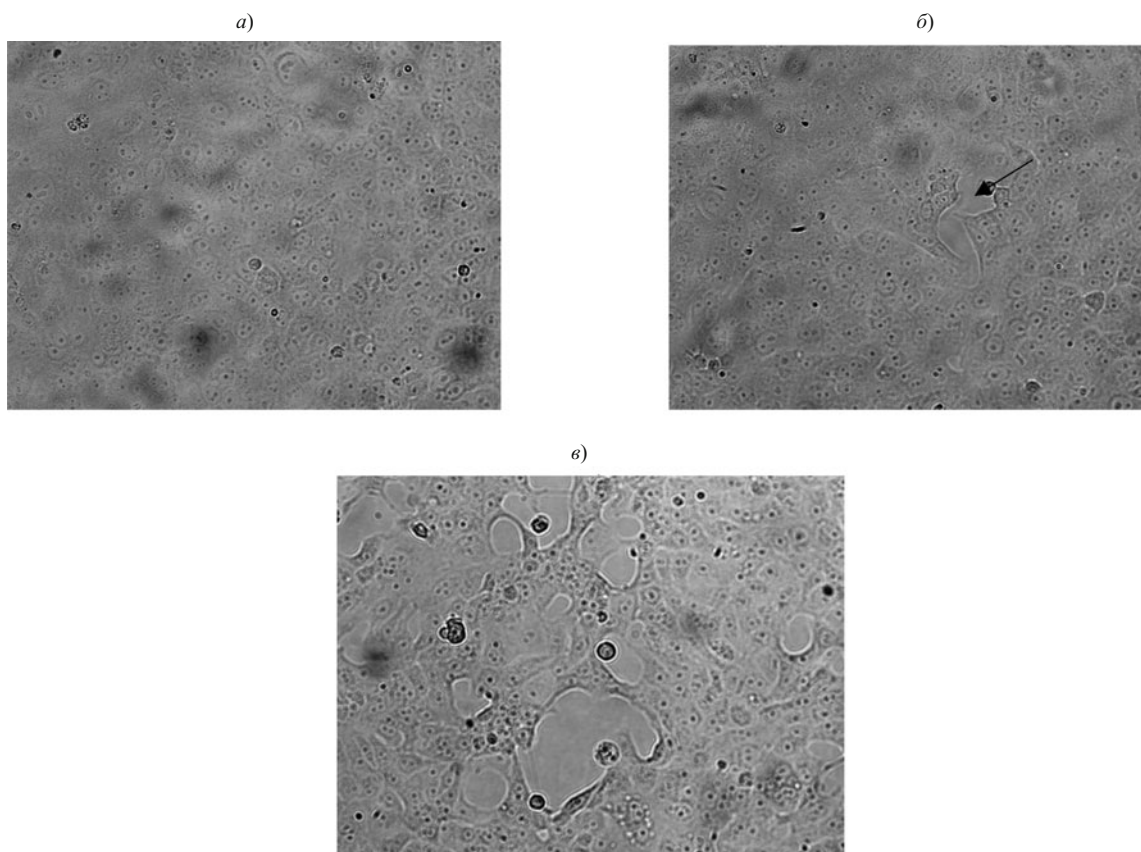


Рис. 2. Монослои клеток Vero E6, прединкубированные с ФС ИФ-λ1 в различных концентрациях и инфицированные SARS-CoV-2 в дозе 10^2 ТЦД₅₀ (увеличение — $\times 100$):

a) — концентрация ФС ИФ-λ1 4000 нг/мл (нормальный монослой); *б*) — концентрация ФС ИФ-λ1 1333 нг/мл (единичные фокусы вирус-специфического цитопатогенного действия); *в*) — концентрация ФС ИФ-λ1 49,4 нг/мл (примерно 35 – 40 %-ый вирус-специфический лизис клеток).

3-кратными разведениями образцов рИФ-λ1 и ФС ИФ-λ1 в диапазоне 0,16 – 42500 и 0,61 – 108000 нг/мл соответственно в культуральной среде в течение 12 ч при 37 °С. Затем клетки инфицировали одинаковой дозой вируса SARS-CoV-2 из расфасованного замороженного стока по 10^2 ТЦД₅₀/лунку (кроме контроля клеток) по 3 лунки на одно разведение ИФ. Планшеты инкубировали 3 сут при 37 °С в CO₂-инкубаторе, затем проводили учет результатов микроскопией (по степени выраженности ЦПД) и посредством регистрации жизнеспособности клеток МТТ анализом (оптическая плотность при спектрофотометрии) [15]. Противовирусную активность рИФ-λ1 и ФС ИФ-λ1 *in vitro* выражали через 50 % ингибирующую концентрацию (IC₅₀) [4, 19].

Все исследования с инфекционным вирусным материалом проводили в условиях BSL3-сертифицированной лаборатории, имеющей санитарное разрешение на экспериментальную работу с вирусом SARS-CoV-2. Статистическую обработку данных проводили с использованием статистической программы STATISTICA 12 (StatSoft Inc., USA), оптическая плотность представлена, как среднее значение и ошибка

среднего ($M \pm m$). Статистически значимым уровнем различий определяли при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования на начальном этапе определена цитотоксичность рИФ-λ1 и ФС ИФ-λ1. Показано, что рИФ-λ1 не обладает цитотоксичностью во всем диапазоне используемых концентраций, а ФС ИФ-λ1 значимо цитотоксичен для клеток Vero E6 лишь в максимальной из использованных концентраций — 108000 нг/мл, в три раза меньшей концентрации он уже не оказывал достоверного цитотоксического действия. Полученные результаты свидетельствуют как об отсутствии выраженной цитотоксичности, так и о высокой степени чистоты рИФ-λ1 и ФС ИФ-λ1. Таким образом, ФС ИФ-λ1 может быть использована для создания прототипов ЛС.

В двух независимых экспериментах с каждой из исследуемых форм ИФ была изучена концентрационная зависимость противовирусной активности рИФ-λ1 и ФС ИФ-λ1. Установлено, что рИФ-λ1 обеспечивает противовирусную защиту культуры клеток от инфицирования SARS-CoV-2 в очень широком диапазоне концентраций: от 6,4 до 42000 нг/мл (табл. 2). 50 % инги-

бирующая концентрация (IC_{50}) рчИФ- $\lambda 1$ составила $7,3 \pm 3,1$ нг/мл.

В табл. 3 приведены результаты исследования концентрационной зависимости противовирусной активности ФС ИФ- $\lambda 1$. Следует отметить, что ФС ИФ- $\lambda 1$ в сравнении с рчИФ- $\lambda 1$ в аналогичных условиях эксперимента демонстрирует несколько меньшую, но, в то же время достаточно высокую противовирусную эффективность. IC_{50} для ФС ИФ- $\lambda 1$ составила $25,0 \pm 6,5$ нг/мл. Терапевтический индекс, вычисляемый как соотношение 50 %-ной цитотоксической концентрации (CC_{50} ФС ИФ- $\lambda 1$ – 56000 нг/мл) к 50 %-ной ингибирующей концентрации препарата, для ФС ИФ- $\lambda 1$ *in vitro* составляет > 2000 , что также подтверждает вирус-специфическую активность ФС ИФ- $\lambda 1$.

На рис. 2 представлены фото клеточных монослоев Vero E6, прединкубированных с ФС ИФ- $\lambda 1$ в различных концентрациях и инфицированных SARS-CoV-2, иллюстрирующие противовирусную активность исследуемой ФС ИФ- $\lambda 1$. Как видно, ФС ИФ- $\lambda 1$ в концентрации 4000 нг/мл полностью ингибирует репликацию SARS-CoV-2 *in vitro* (А — нормальный клеточный монослой Vero E6), при использовании ФС ИФ- $\lambda 1$ в концентрации 1333 нг/мл наблюдаются еди-

Таблица 2. Противовирусная активность рекомбинантного человеческого ИФ- $\lambda 1$ в отношении вируса SARS-CoV-2 на культуре клеток Vero E6

Концентрация рчИФ- $\lambda 1$, нг/мл	Противовирусная активность рчИФ- $\lambda 1$	
	Сохранность моно- слоя по результатам микроскопии	Оптическая плот- ность (OD_{540})
КК *	+++	$1,25 \pm 0,25$
42000	+++	$1,15 \pm 0,20$
14000	+++	$1,20 \pm 0,20$
4667	+++	$1,18 \pm 0,15$
1555	+++	$1,13 \pm 0,15$
518	+++	$1,19 \pm 0,17$
173	+++	$1,16 \pm 0,18$
57,6	+++	$1,12 \pm 0,15$
19,2	++	$1,10 \pm 0,14$
6,40	+	$0,50 \pm 0,11^{***}$
2,13	—	$0,18 \pm 0,10^{***}$
0,71	—	$0,21 \pm 0,11$
0,23	—	$0,18 \pm 0,10$
КВ **	—	$0,14 \pm 0,09$

Примечание: * – отрицательный контроль (клетки Vero E6, не инфицированные вирусом SARS-CoV-2); ** – положительный контроль (клетки Vero E6, инфицированные вирусом SARS-CoV-2, но не обработанные рчИФ- $\lambda 1$), 100 % инфекции, от которого рассчитывали уровень ингибирования репликации вируса; +++ – полная сохранность моно-
слоя Vero E6; ++ – единичные фокусы вирус-специфического цитопатического действия; + – 40 – 60 % вирус-специфического цитопатического действия; – – полная гибель монослоя Vero E6; *** $p < 0,05$.

ничные фокусы вирус-специфического цитопатического действия, а в концентрации 49,4 нг/мл ФС ИФ- $\lambda 1$ обеспечивает примерно 60 %-ную защиту клеточного монослоя от вирус-специфического лизиса при инфицировании SARS-CoV-2 в дозе 10^2 ТЦД $_{50}$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что фармацевтическая субстанция ИФ- $\lambda 1$, полученная методом электронно-лучевого пегилирования рекомбинантного человеческого ИФ- $\lambda 1$, обладает выраженной противовирусной активностью в отношении вируса SARS-CoV-2 *in vitro*. Принципиально важным обстоятельством является тот факт, что электронно-лучевое пегилирование ожидаемо снижает противовирусную активность рекомбинантного человеческого ИФ- $\lambda 1$, но при этом обеспечивает эффективное ингибирование репликации SARS-CoV-2 в диапазоне концентраций, позволяющим применить модифицированный таким образом ИФ- $\lambda 1$ в готовой лекарственной форме. Это, в свою очередь, даёт основания позиционировать пегилированный ИФ- $\lambda 1$ в качестве ак-

Таблица 3. Противовирусная активность фармакологической субстанции, полученной методом электронно-лучевого пегилирования рчИФ- $\lambda 1$, в отношении вируса SARS-CoV-2 на культуре клеток Vero E6

Концентрация ФС ИФ- $\lambda 1$, нг/мл	Противовирусная активность ФС ИФ- $\lambda 1$	
	Сохранность монослоя по результатам микроскопии	Оптическая плотность (OD_{540})
КК *	++++	$1,20 \pm 0,23$
108000	T	$0,30 \pm 0,11$
36000	++++	$1,15 \pm 0,21$
12000	++++	$1,17 \pm 0,21$
4000	++++	$1,15 \pm 0,18$
1333	+++	$1,05 \pm 0,21$
444	++	$0,95 \pm 0,19$
148	++	$0,91 \pm 0,20$
49,4	++	$0,85 \pm 0,18$
16,5	+	$0,51 \pm 0,13^{***}$
5,50	—	$0,23 \pm 0,08^{***}$
1,82	—	$0,20 \pm 0,07$
0,61	—	$0,23 \pm 0,08$
КВ **	—	$0,15 \pm 0,10$

Примечание: * – отрицательный контроль (клетки Vero E6, не инфицированные вирусом SARS-CoV-2); ** – положительный контроль (клетки Vero E6, инфицированные вирусом SARS-CoV-2, но не обработанные ФС ИФ- $\lambda 1$), 100 % инфекции, от которого рассчитывали уровень ингибирования репликации вируса ФС; ++++ – полная сохранность моно-
слоя Vero E6; +++ – единичные фокусы вирус-специфического цитопатического действия; ++ – 20 – 45 % вирус-специфического цитопатического действия; + – 50 – 85 % вирус-специфического цитопатического действия; – – полная гибель монослоя Vero E6; T – цитотоксический эффект исследуемого образца; *** $p < 0,05$.

тивного фармацевтического ингредиента прототипа лекарственного препарата для лечения COVID-19. Следующие исследования будут отражать параметры биодоступности и токсичности препарата при различных путях введения.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. А. Бекарев, Патент РФ № 2328309 “Способ повышения биодоступности лекарственных средств” от 07.10.2008.
2. Д. Н. Киншт, П. Г. Мадонов, А. Г. Ластовецкий и др., *Вестник новых медицинских технологий*, № 3, 211 – 225 (2017).
3. Д. Н. Киншт, П. Г. Мадонов, В. А. Святченко, В. А. Терновой, *Сибирский научн. мед. журн.*, **37**(3), 11 – 16 (2017).
4. И. А. Кирилук, В. А. Святченко, Д. А. Морозов и др., *Антибиот. и химиотер.*, **57**(1 – 2), 3 – 12 (2012).
5. A. L. Bennett, D. W. Smith, M. J. Cummins et al., *Influenza Other Respir. Viruses*, **7**(5), 854 – 862 (2013); doi: 10.1111 / irv.12094.
6. T. R. O'Brien, D. L. Thomas, S. S. Jackson, et al., *Clin. Infect. Dis.*, **71**(6), 1410 – 1412 (2020); doi: 10.1093 / cid / ciaa453.
7. I. Busnadiego, S. Fernbach, M. O. Pohl, et al., *MBio*, **11**(5), e01928 – 20 (2020); doi: 10.1128 / mBio.01928-20.PMID: 32913009.
8. N. P. Cardoso, F. C. Mansilla, E. Benedetti, et al., *Front. Vet. Sci.*, **7**, 603622 (2020); doi: 10.3389 / fvets.2020.603622.
9. Y. Chen, Q. Liu, D. Guo, *J. Med. Virol.*, **92**(4), 418 – 423 (2020); doi: 10.1002 / jmv.25681.
10. L. Dalskov, M. Møhlenberg, J. Thyrsted, et al., *EMBO Rep.*, e51252 (2020); doi: 10.15252 / embr.202051252.
11. K. H. Dinnon 3rd, S. R. Leist, A. Schäfer, et al., *Nature*, 586(7830), 560 – 566 (2020); doi: 10.1038 / s41586-020-2708-8.
12. U. Felgenhauer, A. Schoen, H. H. Gad, et al., *J. Biol. Chem.*, **295**(41), 13958 – 13964 (2020); doi: 10.1074 / jbc. AC120.013788.
13. J. Klinkhammer, D. Schnepf, L. Ye, et al., *Elife*, **7**:e33354 (2018); doi: 10.7554 / eLife.33354.
14. Z. Miknis, E. Magracheva, W. Li, et al., *J. Mol. Biol.*, **404**(4), 650 – 664 (2010); doi: 10.1016 / j.jmb.2010.09.068.
15. M. Niks, M. Otto, *J. Immunol. Methods*, **130**(1), 149 – 151 (1990); doi: 10.1016 / 0022-1759(90)90309-j.
16. J. M. Rojas, A. Alejo, V. Martín, N. Sevilla, *Cel. Mol. Life Sci.*, Oct 21, 1 – 22 (2020); doi: 10.1007 / s00018-020-03671-z.
17. K. Salka, M. Arroyo, E. Chorvinsky, et al., *Clin. Exp. Allergy*, **50**(9), 1044 – 1054 (2020); doi: 10.1111 / cea.13701.
18. C. Scagnolari, A. Pierangeli, F. Frasca, et al., *Virus Res.*, **295**, 198283 (2021); doi: 10.1016 / j.virusres.2020.198283.
19. V. A. Svyatchenko, S. D. Nikonov, A. P. Mayorov, et al., *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, **33**, 102112 (2021); doi: 10.1016 / j.pdpdt.2020.102112.
20. M. Syedbasha, F. Bonfiglio, J. Linnik, et al., *Cel. Rep.*, **33**(1), 108211 (2020); doi: 10.1016 / j.celrep.2020.108211.
21. L. Ye, D. Schnepf, P. Staeheli, *Nat. Rev. Immunol.*, **19**(10), 614 – 625 (2019); doi: 10.1038 / s41577-019-0182-z.

Поступила 19.04.21

ANTIVIRAL ACTIVITY AGAINST SARS-COV-2 OF A PHARMACEUTICAL SUBSTANCE BASED ON IMMOBILIZED RECOMBINANT HUMAN INTERFERON LAMBDA-1

P. G. Madonov¹, V. A. Svyatchenko², S. S. Legostaev², N. A. Kikhtenko¹, A. A. Kotlyarova¹, L. A. Oleinik¹, G. I. Baikalov¹, and V. V. Udut³

¹ Institute of Cytology and Genetics, Federal Research Center, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, prosp. Akademika Lavrent'eva 10, Novosibirsk, 630090 Russia

² “VECTOR” State Research Center of Virology and Biotechnology, Koltsovo, Novosibirsk oblast, 630559 Russia

³ E.D. Goldberg Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Medical Research Center, Russian Academy of Sciences, prosp. Lenina 3, Tomsk, 634028 Russia

Despite significant advances in the pharmaceutical industry, there are currently no effective universal drugs for the treatment of viral infections. This fact became especially evident during the COVID-19 pandemic. One type of the potential antiviral agents are interferons, which have already proved to be effective for the treatment of diseases caused by viruses. This article discusses the possibility of using recombinant human interferon lambda-1 and its pegylated form for the treatment of infection caused by SARS-CoV-2. Experiments on a Vero E6 cell culture showed that a pharmaceutical substance based on recombinant human interferon lambda-1 immobilized on PEG 1500 by electron-beam pegylation exhibited significant antiviral activity with high therapeutic index against SARS-CoV-2 and produced low cytotoxic effect on Vero E6 cells. It is concluded that this substance can be used to create a drug for the treatment of viral infection caused by SARS-CoV-2.

Keywords: COVID-19; interferons; antiviral activity; pegylated interferon.