

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-3-83-90>

Противовирусная активность бензидамина гидрохлорида в отношении SARS-CoV-2 на модели *in vitro*

В. В. Лебедева¹, И. Т. Федякина¹, О. Е. Латышев¹, Е. И. Бурцева¹, И. В. Кукес²,
Д. В. Блинов^{*3,4}, О. В. Елисеева¹, В. Ф. Ларичев¹, Т. М. Гараев¹, Т. В. Гребенникова¹

¹ ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва

² АНО «Международная ассоциация клинических фармакологов и фармацевтов»

³ Институт Превентивной и Социальной Медицины, Москва

⁴ Клинический Госпиталь Лапино, ГК «Мать и Дитя», Московская область

Резюме

Актуальность. В связи с появлением новой коронавирусной инфекции ученые во всем мире активно работают над созданием вакцин против коронавируса SARS-CoV-2 и прорывных препаратов для ведения больных COVID-19. В то же время не исключено, что в борьбе с этим заболеванием могут помочь уже существующие препараты. В частности, местные антисептические средства, такие как бензидамина гидрохлорид, на ранних стадиях заболевания могут предотвратить проникновение вируса в нижние дыхательные пути и потенциально уменьшить количество случаев развития тяжелого течения. Это, в свою очередь, поможет снизить количество госпитализаций, связанных с COVID-19, что уменьшит нагрузку на систему здравоохранения.

Цель работы: оценка противовирусной активности бензидамина гидрохлорида в отношении SARS-CoV-2 *in vitro*. **Материал и методы.** Противовирусные свойства бензидамина гидрохлорида были изучены *in vitro* в нетоксичных концентрациях на монослое клеток Vero-E6, инфицированных пандемическим штаммом коронавируса SARS-CoV-2 в лечебно-профилактической схеме введения исследуемого соединения и вируса. **Результаты.** Субстанция бензидамина гидрохлорида обладает противовирусной активностью (15,0 мкг/мл), эффективность ее противовирусного действия прямо пропорциональна концентрации субстанции. **Выводы.** Учитывая очень ограниченный спектр противовирусных препаратов с прямым действием на вирус SARS-CoV-2, изученный препарат может быть применен в комплексной терапии на ранних стадиях заболевания, что может предотвратить проникновение вируса в нижние дыхательные пути и потенциально снизить количество осложнений.

Ключевые слова: противовирусная активность, COVID-19, бензидамина гидрохлорид, SARS-CoV-2, VERO-E6, вирулицидная активность, CC_{50} , IC_{50} , SI

Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Лебедева В. В., Федякина И. Т., Латышев О. Е. и др. Противовирусная активность бензидамина гидрохлорида в отношении SARS-CoV-2 на модели *in vitro*. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2021;20(3): 83–89. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-3-83-90>.

Antiviral Activity of Benzydamine Hydrochloride against SARS-CoV-2 *in vitro* Model

VV Lebedeva¹, IT Fedyakina¹, OE Latyshev¹, EI Burtseva¹, VI Kukes², DV Blinov^{*3,4}, OV Eliseeva¹, VF Larichev¹,
TM Garaev¹, TV Grebennikova¹

¹ National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N. F. Gamaleya of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

² International Association of Clinical Pharmacologists and Pharmacists, Moscow, Russia

³ Institute for Preventive and Social Medicine, Moscow, Russia

⁴ Lapino Clinical Hospital, MD Medical Group, Moscow, Russia

Abstract

Due to the emergence of a new coronavirus infection COVID-19, scientists around the world are actively working on a vaccine against the SARS-CoV-2 coronavirus. At the same time, it is possible that existing medications can help in the fight against this

* Для переписки: Блинов Дмитрий Владиславович, к. м. н., руководитель по медицинским и научным вопросам Института Превентивной и Социальной Медицины, г. Москва, Россия; врач-невролог, Клинический Госпиталь Лапино, ГК «Мать и Дитя», Московская область, Россия, 27006 Москва, ул. Садовая-Триумфальная, д. 4–10. +7 (495) 649-54-95. blinov@ipsom.ru. ©Лебедева В. В. и др.

** For correspondence: Dmitry V. Blinov, Cand. Sci. (Med.), Head of Medical and Scientific Affairs Institute for Preventive and Social Medicine, Moscow, Russia; Neurologist, Lapino Clinical Hospital, MD Medical Group, Moscow Region, Russia, 4–10 Sadovaya-Triumfalnaya Str., Moscow 127006, Russia. +7 (495) 649-54-95. blinov@ipsom.ru. ©Lebedeva VV, et al.

disease. The local antiseptic drug benzidamine hydrochloride in the early stages of illness can prevent the virus from entering the lower respiratory tract and potentially reduce the severe illness associated with pneumonia and, as a result, reduce COVID-19-related hospitalizations, which can significantly reduce the burden on the health care system. **The aim:** to evaluate the antiviral activity of benzidamine hydrochloride against SARS-CoV-2 in vitro. **Material and methods.** Antiviral properties of benzidamine hydrochloride were studied in vitro in non-toxic concentrations on monolayer of Vero-E6 cells infected with pandemic strain of SARS-CoV-2 coronavirus in treatment and prophylactic scheme of the compound and virus administration. **Results.** Benzidamine hydrochloride has antiviral activity (15,0 mcg/ml), the efficiency of its antiviral action is directly proportional to the concentration of the substance. **Conclusions.** Taking into account very limited range of antiviral drugs with direct action on SARS-CoV-2 virus, the studied preparation can be used in complex therapy at early stages of the disease, which can prevent virus penetration into lower respiratory tract and potentially reduce the number of complications.

Key words: antiviral activity, COVID-19, benzidamine hydrochloride, SARS-CoV-2, VERO-E6, virucidal activity
No conflict of interest to declare.

For citation: Lebedeva VV, Fedyakina IT, Latyshev OE et al. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2021;20(3): 83–89 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-3-83-90>.

Введение

Лекарственные средства (ЛС) с широким антимикробным спектром действия очень востребованы в практическом здравоохранении. При этом наличие у ЛС противовирусного действия также важно, как и наличие антибактериального и фунгицидного. Особенно когда речь идет об инфекционных заболеваниях респираторного тракта, имеющего большую площадь для адгезии возбудителей.

Наиболее распространенными фармакологическими группами лекарственных средств для местного применения являются антисептические ЛС (хлоргексидин, гексэтидин и др.), антимикробные ЛС (грамицидин, тиротрицин), а также ЛС с атипичным механизмом антимикробного действия – нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) – бензидамина гидрохлорид.

Молекула бензидамина гидрохлорида фактически состоит из двух компонентов – производного индазола, обеспечивающего противовоспалительное и обезболивающее действие, а также производного анестетика, с чем связано анестезирующее и антимикробное действие [1]. Местное антимикробное действие анестетиков давно изучено и описано [2], однако вопрос об их эффективной концентрации и возможности применения с позиций безопасности требует дальнейшего прояснения.

Фрагмент анестетика, присутствующий в молекуле бензидамина гидрохлорида, обеспечивает широкий антимикробный спектр действия в отношении бактерий, грибов и вирусов [3–6]. Антибактериальное и фунгицидное действие бензидамина гидрохлорида было подробно описано сразу в нескольких международных исследованиях. В России оценивалось антибактериальное и фунгицидное действие данного ЛС в отношении не только библиотечных (коллекционных) штаммов, но и мультирезистентных клинических изолятов, выделенных от российских пациентов из разных городов РФ [4].

Отдельного внимания заслуживает работа, связанная с изучением способности бензидамина подавлять клинически значимые патогены – грам-

положительные и грамотрицательные бактерии, а также грибы рода *Candida* [7]. Общим заключением для вышеперечисленных исследований является определение минимальной ингибирующей концентрации препарата для всех тестируемых в работах штаммов в пределах 1500 мкг/мл, что соответствует концентрации бензидамина в наиболее востребованной в РФ лекарственной форме: 0,15% раствор, оригинальный производитель Angelini Acraf S.p.A., Италия (торговое наименование в РФ – Тантум Верде 0,15%).

Исследования 2019–2020 гг. демонстрируют дополнительный противовирусный эффект бензидамина гидрохлорида в отношении вируса гриппа А(Н1N1) и вируса простого герпеса (ВПГ 1 и 2 типа). Данные об эффективности применения бензидамина гидрохлорида для профилактических и лечебных целей, приведенные в этих работах, также получены на бензидаmine в готовой лекарственной форме Тантум Верде 0,15% раствор (спрей) [5,6]. Это повышает клиническое значение и актуальность применения данного ЛС практическими врачами при широком спектре инфекционных заболеваний в составе комплексной фармакотерапии.

Фармакодинамическое антимикробное действие скорее всего связано с прямым контактом бензидамина с поверхностью бактериальной или грибковой клетки [2], а также инфицированной вирусом клетки хозяина. Обратимое торможение трансмембранного потенциала нарушает процесс размножения патогенов и, как следствие, приводит к снижению новых копий патогенов. Также в ряде работ отмечается синергическое антимикробное действие данного ЛС с иммунными клетками, локально присутствующими в слизистом слое эпителия [8].

Несмотря на то, что антисептические и антимикробные препараты имеют традиционные механизмы антимикробного действия, они, тем не менее, имеют ряд фармакологических недостатков. В частности, по результатам изучения фармакокинетики, большинство ЛС, относящихся к этим группам, не проникают в слизистую оболочку, оставаясь

лишь на поверхности. Это имеет огромное клиническое значение, так как ряд бактерий могут находиться в подслизистом слое. Помимо этого, противовирусное действие ЛС должно сохраняться и на поздних этапах атаки вирусов – абсорбции и репликации, которая происходит также в клетках подслизистого слоя. Отсутствие способности проникать в этот слой, согласно имеющимся данным, делает невозможным влияние антисептических средств на размножение вируса [9,10]. Так как пациент приходит на консультацию к врачу с выраженными клиническими симптомами ОРВИ, то это означает, что подавление вируса на поверхности слизистой уже не имеет реального клинического эффекта [11].

Фармакокинетика бензидамина демонстрирует принципиально иные параметры. Препарат хорошо проникает в слизистую, в том числе в период активного воспалительного процесса, накапливаясь в эффективной концентрации. Поэтому, по имеющимся данным, бензидамин может работать как в рамках профилактической, так и лечебной схем [1].

Пандемия, вызванная новым коронавирусом (SARS-CoV-2), затронула миллионы людей: до появления вакцин единственными доступными средствами контроля COVID-19 являлись своевременное выявление инфицированных и крупномасштабные карантинные меры, затрагивающие все население [12–14]. Геном вируса и патогенез COVID-19 к настоящему времени продолжают изучаться. Продемонстрировано, что важную роль в патогенезе COVID-19 играют гиперкоагуляция, тромбовоспаления и «цитокиновый шторм» [15,16]. Воспалительный ответ, вызванный повышением провоспалительных цитокинов и хемокинов после инфицирования, вероятно, может способствовать усилению тяжести заболевания и проявлению различных респираторных симптомов.

Одним из распространенных респираторных симптомов является боль в горле. Согласно недавнему исследованию Родригеса-Моралеса, частота ангины у пациентов с COVID-19 может составлять более 11%. Для купирования данного симптома существует большое количество ЛС местного действия [17]. В настоящее время важной и актуальной задачей является поиск лекарственных средств, позволяющих подавлять активность вируса SARS-CoV-2.

Цель настоящей работы состояла в оценке противовирусной активности бензидамина гидрохлорида в концентрациях, не токсичных для культуры клеток, в отношении SARS-CoV-2 *in vitro*.

Материалы и методы

Культура клеток. Исследование проводили на перевиваемой линии клеток почки африканской зеленой мартишки (*Chlorocebus aethiops*) Vero-E6. В качестве ростовой среды для выращивания клеток использовали MEM с глутамином («Capricorn

Scientific GmbH», Германия), содержащую 10% и 2% эмбриональной телячьей сыворотки крови FBS («Biosera», США) соответственно и раствор гентамицина (конечная концентрация 50 мкг/мл) («Capricorn Scientific GmbH», Германия). Культуру клеток Vero-E6 выращивали в 96 луночных культуральных тест-планшетах в объеме 100 мкл ростовой среды в течение 24 ч при температуре 37 °С в атмосфере 5% CO₂. Посевная доза составляла – 18000 кл./лунку.

Вирус. В исследовании использовали штамм коронавируса человека SARS-CoV-2, пассаж 3, с инфекционной активностью 10^{7.5} 50% тканевых цитопатогенных доз (ТЦИД₅₀)/мл. Описание штамма: hCoV-19/Russia/Moscow-PMVL-12/2020 (EPI_ISL_572398) GISAD: PMVL-12. Номер бронирования EPL_ISL_572398. Вирус культивировали в культуре клеток Vero-E6 в течение 96 часов при 37 ± 0,5 °С в атмосфере 5% CO₂. Инфекционную активность определяли по методу Рида и Менча [18]. Лизат культуральной вирусосодержащей жидкости разливали по аликвотам и сохраняли до проведения опытов при -70 ± 10,0 °С.

Объект исследования. Бензидамина гидрохлорид (*Benzidamine hydrochloride*, C₁₉H₂₃N₃O) производства Aziende Chimiche Riunite Angelini Francesco A.C.R.A.F., S.p.A. (Италия), серия 04.2020, срок годности до 04.2021. Для приготовления стокового раствора бензидамина гидрохлорида навеску препарата растворяли в поддерживающей среде до концентрации 1 мг/мл.

Дизайн исследования. Исследование противовирусной активности бензидамина гидрохлорида проводили в соответствии с требованиями Фармакологического государственного комитета РФ по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [19,20]. Изучение предусматривало: определение и оценку цитотоксического действия бензидамина гидрохлорида на морфологию и жизнеспособность клеток Vero-E6, а также противовирусную активность в отношении SARS-CoV-2.

Определение цитотоксического действия бензидамина гидрохлорида на культуру клеток Vero-E6

На первом этапе исследований оценивали цитотоксическое действие бензидамина гидрохлорида.

Для этого из планшетов с монослоем клеток удаляли среду, промывали культуру клеток средой MEM с антибиотиком по 100 мкл/лунку. Кратные разведения бензидамина гидрохлорида готовили в планшетах путем титрования на 8 лунках с шагом × 2 на поддерживающей среде, начиная с концентрации 400 мкг/мл до 3,125 мкг/мл.

Растворы бензидамина гидрохлорида переносили по 200 мкл в лунки тест-планшетов с клетками. Каждую точку тестировали в 4 параллельных лунках. В качестве контроля клеточной культуры использовали 200 мкл поддерживающей сре-

ды без препарата. Тест-планшеты с культурой клеток в присутствии бензидамина гидрохлорида и без него инкубировали в течение 96 часов при температуре $37 \pm 0,5$ °C в атмосфере 5% CO₂. Визуально, с использованием инвертированного микроскопа, в течение четырех дней оценивали состояние клеточного монослоя по выявлению деструктивных процессов и изменения морфологии клеточного монослоя. Затем удаляли культуральную среду из планшетов и в каждую лунку к монослою культуры клеток добавляли по 100 мкл поддерживающей среды и 20 мкл витального красителя (MTS) (раствор CellTiter 96® Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay, «Promega», G3582). После инкубации в течение 3 часов при $37 \pm 0,5$ °C результаты учитывали на автоматическом ридере BIO-RAD при длине волны 490 нм, используя референс-фильтр 630 нм. Жизнеспособность клеток в популяции оценивали по количеству неокрашенных клеток в процентах от общего числа клеток. Концентрацию раствора бензидамина гидрохлорида, вызывающую уменьшение значения оптической плотности при длине волны 490 нм на 50% по сравнению с контролем клеток, принимали за 50% цитотоксическую дозу (CC₅₀).

Изучение действия бензидамина гидрохлорида на изменение инфекционного титра вируса SARS-CoV-2 при лечебно-профилактической схеме применения в культуре клеток Vero – E6

На втором этапе исследований изучали противовирусную активность бензидамина гидрохлорида в отношении SARS-CoV-2 *in vitro* в культуре клеток Vero-E6 по лечебно-профилактической модельной схеме при одновременном внесении бензидамина гидрохлорида и вирусосодержащей суспензии к монослою клеточной культуры. Выбор концентраций бензидамина гидрохлорида для исследования противовирусной активности осуществляли по результатам исследования цитотоксичности в диапазоне концентраций, предположительно не токсичных для клеток (т.е. ниже, чем величина CC₅₀). Для изучения противовирусной активности максимальная концентрация бензидамина гидрохлорида соответствовала концентрации, которая не вызывала деструкцию клеток, – 20 мкг/мл. Двукратные растворы бензидамина гидрохлорида готовили стерильно на свежеприготовленной поддерживающей среде. Приготовленные растворы выдерживали при температуре 20–25 °C в течение 15 минут для контроля растворимости бензидамина гидрохлорида. В работе использовали однодневный монослой культуры клеток, предварительно промытый поддерживающей средой, по по 100 мкл/лунку. Для контрольного титрования брали SARS-CoV-2 в разведении от 10¹ до 10⁷ без бензидамина гидрохлорида. В качестве контроля клеточной культуры использовали неинфицированную культуру клеток, к которой добавляли по 100 мкл поддерживающей среды без препарата. В качестве контроля цитотоксичности применя-

ли неинфицированную культуру клеток, в которую вносили по 100 мкл растворов бензидамина гидрохлорида в исследуемых концентрациях. Каждую концентрацию раствора бензидамина гидрохлорида исследовали в 4 параллельных лунках. Инкубацию тест-планшетов проводили в течение 96 часов при температуре $37 \pm 0,5$ °C в атмосфере 5% CO₂ до полного проявления цитопатического действия вируса (ЦПД) в вирусном контроле в ожидаемом диапазоне. Противовирусную активность бензидамина гидрохлорида оценивали визуально под микроскопом через 96 часов после инфицирования по ингибированию ЦПД вируса в культуре клеток Vero-E6. Результат оценивали по $\Delta \lg_{\max}$ – максимальному снижению значения заражающей вирусной дозы в опыте по сравнению с контролем, выраженному в десятичных логарифмах. Минимально эффективной вирусингибирующей концентрацией являлась концентрация бензидамина гидрохлорида, снижающая титр вируса не менее чем на 1,5 lg.

Статистическая обработка данных

Расчет значений 50% цитотоксической концентрации (CC₅₀) и 50% эффективной концентрации (IC₅₀) выполняли общепринятыми для биологических исследований методами при помощи пакета программ Microsoft Excel 5.0 и GraphPad Prism 6.01. За рабочую модель для анализа CC₅₀ принимали 4-параметрическое уравнение логистической кривой (пункты меню «Нелинейная регрессия» – «Sigmoidal dose-response (variable slope)»). Для анализа IC₅₀ принимали 4-параметрическое уравнение логистической кривой (пункты меню «Нелинейная регрессия» – «log (inhibitor) vs. response (variable slope)»). На основании полученных данных рассчитывали индекс селективности (SI) по уравнению: $SI = CC_{50}/IC_{50}$.

Результаты и обсуждение

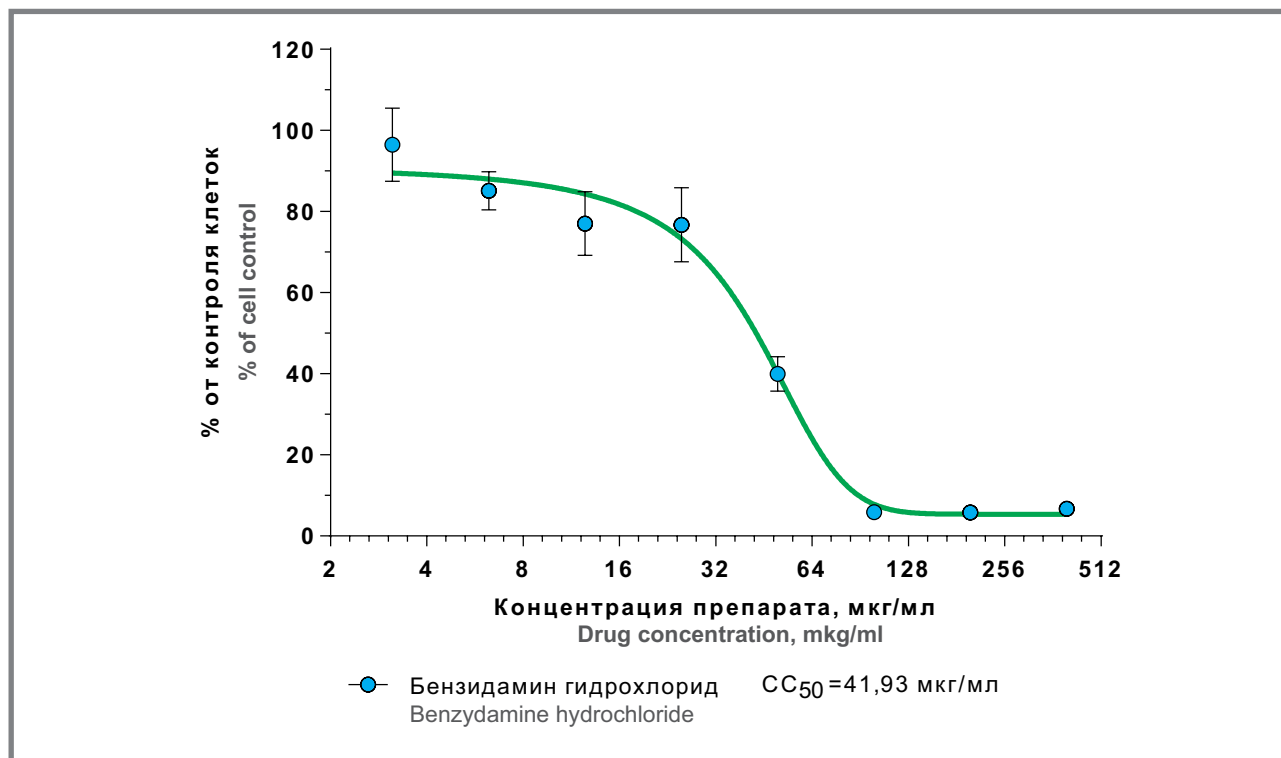
Цитотоксическое действие различных концентраций бензидамина гидрохлорида определяли при его инкубации с клетками Vero-E6 в течение 96 ч с использованием витального красителя MTS и визуальной оценки клеточного монослоя.

На основании данных, полученных при изучении цитотоксического действия бензидамина гидрохлорида на культуру клеток Vero-E6 с использованием витального красителя MTS, построили аналитическую кривую, из которой определили CC₅₀. Концентрация, уменьшающая значение оптической плотности на 50% по сравнению с контролем клеток, составила 41,93 мкг/мл (рис. 1).

При визуальной оценке состояния монослоя культуры клеток Vero-E6 под инвертированным микроскопом в концентрациях 50 мкг/мл и выше наблюдали лизис и значительные изменения в морфологии клеток. При этом результаты визуального определения цитотоксичности были сопоставимы с результатами определения цитотоксичности с использованием витального красителя MTS.

Рисунок 1. Определение цитотоксического действия через 96 часов после добавления бензидамина гидрохлорида на перевиваемую линию клеток почки африканской зеленой мартышки Vero-E6 (с использованием витального красителя MTS)

Figure 1. Determination of the cytotoxic effect 96 hours after the addition of benzydamine hydrochloride to the transplanted African green monkey kidney cell line Vero-E6 (using Vital MTS dye)



На основании анализа полученных результатов исследования цитотоксичности для изучения противовирусной активности выбрали следующие концентрации бензидамина гидрохлорида – 20,0 мкг/мл; 15,0 мкг/мл; 10,0 мкг/мл; 5,0 мкг/мл; 2,5 мкг/мл.

Оценку противовирусной активности при лечебно-профилактической схеме добавления растворов бензидамина гидрохлорида одновременно с инфицированием учитывали по снижению инфекционного титра вируса в культуре клеток Vero-E6 по ЦПД. Полученные результаты представлены в таблице 1.

В результате проведенного исследования установили, что бензидамин гидрохлорид при лечебно-профилактической схеме введения ингибирует репликацию вируса SARS-CoV-2 в культуре клеток Vero-E6 в исследуемых концентрациях, снижая инфекционный титр вируса на 0,25~2,0 lg $TCID_{50}$. Противовирусная активность прямо пропорциональна его концентрации. При этом максимальную эффективность противовирусного действия отмечали в концентрации 15,0 мкг/мл. В наибольшей исследуемой концентрации 20,0 мкг/мл наблюдали

Таблица 1. Противовирусные свойства бензидамина гидрохлорида в отношении вируса SARS-CoV-2 в культуре клеток Vero-E6 (по результатам двух экспериментов)

Table 1. Antiviral activity of the benzydamine hydrochloride against SARS-CoV-2 virus in Vero-E6 cell culture (results of two experiments)

Концентрация препарата, мкг/мл Drug concentration, mkg/ml	ТЦИД ₅₀ , Lg TCID ₅₀ , lg	Контроль вируса, Lg Virus control, lg	Δlg_{max} – максимальное снижение значения заражающей вирусной дозы в опыте по сравнению с контролем, выраженное в десятичных логарифмах Δlg_{max} – the maximum decrease in the value of the infectious viral dose in the experiment in comparison with the control
20,0	5,0	6,5	1,5
15,0	4,5	6,5	2,0
10,0	4,5	5,75	1,25
5,0	5,0	5,75	0,75
2,5	5,5	5,75	0,25

Рисунок 2. Определение IC_{50} субстанции бензидамина гидрохлорида против SARS-CoV-2 в культуре клеток Vero E6
Figure 2. Determination of the IC_{50} of the substance of benzydamine hydrochloride against SARS-CoV-2 in a Vero E6 cell culture

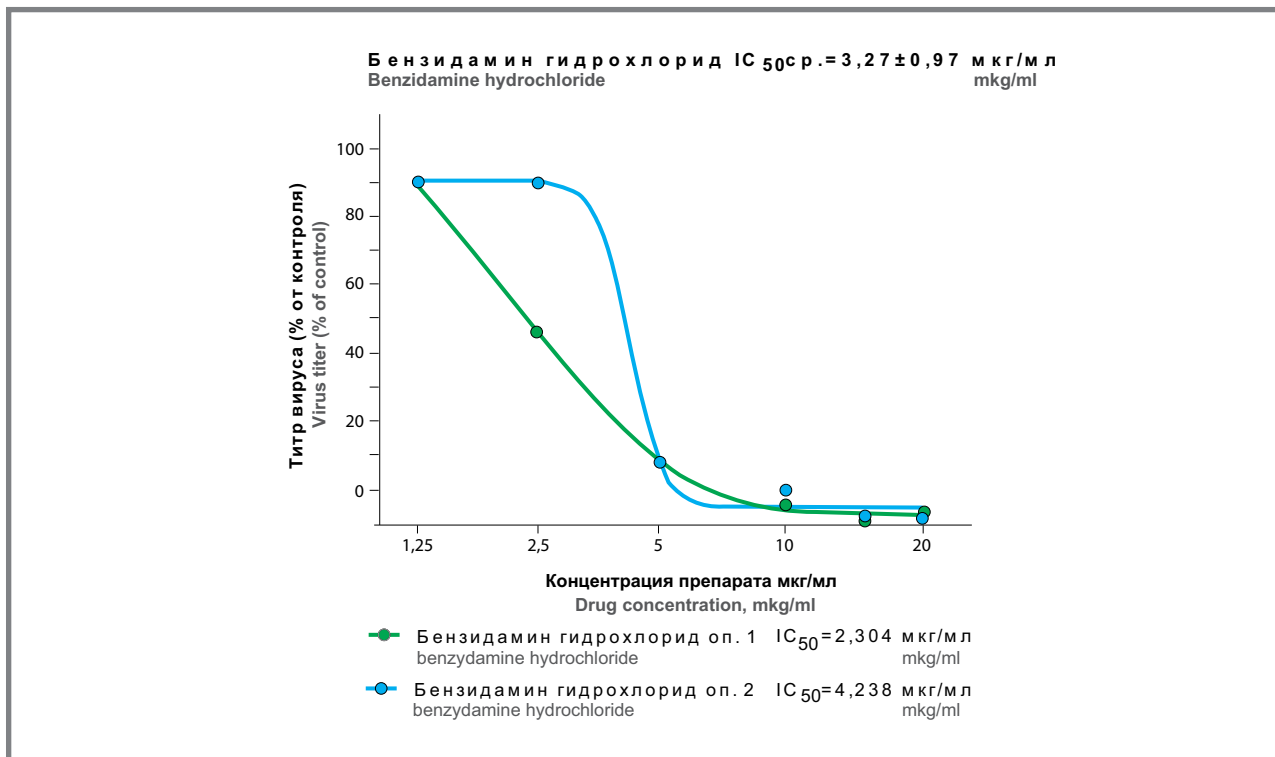


Таблица 2. Сводные данные по цитотоксической и противовирусной активности бензидамина гидрохлорида
Table 2. Summary data on the cytotoxic and antiviral activity of benzydamine hydrochloride

Индекс цитотоксичности Cytotoxicity index (CC_{50} ср. ± σ*), мкг/мл μg / ml	Противовирусная активность в отношении SARS-CoV-2 Antiviral activity against the SARS-CoV-2		
	Δlg_{max} ср.	IC_{50} ср. ± σ, мкг/мл	SI
41,93	2,0	3,27±0,96	12,82

незначительное снижение противовирусного эффекта по сравнению с последующей концентрацией, вероятно ввиду цитотоксичности данной концентрации субстанции на культуру клеток Vero-E6.

На основании полученных первичных данных построили аналитические кривые, из которых определили 50% ингибирующую концентрацию (IC_{50}) бензидамина гидрохлорида для экспериментов 1 и 2 (рис. 2).

По результатам двух экспериментов среднелогарифмическое значение IC_{50} исследуемой субстанции в отношении SARS-CoV-2 составило $3,27 \pm 0,96$ мкг/мл. Величина химиотерапевтического индекса (SI), рассчитанная на основании данных CC_{50} и IC_{50} и наиболее достоверно характеризующая специфическую противовирусную эффективность исследуемой субстанции составила 12,82 (табл. 2).

Новый коронавирус SARS-CoV-2, вероятно, останется в человеческой популяции навсегда [21],

поэтому следует подготовиться к совместному существованию с SARS-CoV-2. Таким образом, комплексная фармацевтическая помощь на ранней стадии COVID-19 имеет неопределимое значение для поддержки пациентов, находящихся в условиях самоизоляции или карантина, для облегчения течения болезни, ускорения выздоровления и предотвращения развития тяжелого заболевания, требующего госпитализации. В недавней работе [22] представлен план фармацевтического лечения раннего COVID-19 в качестве альтернативного подхода к управлению пандемией в отсутствие «прорывного» препарата или широкого охвата вакцинацией против SARS-CoV-2. Учитывая пути распространения этой инфекции, антисептические жидкости, обладающие антимикробным действием широкого спектра действия против различных патогенных бактерий, дрожжей, грибов и вирусов, можно использовать и для полоскания горла и дезинфекции ротоглотки [23]. Кроме того,

ополаскиватель для полости рта и горла, содержащий бензидамина гидрохлорид, может обладать обезболивающими и противовоспалительными свойствами для облегчения симптомов фарингита путем ингибирования провоспалительных цитокинов [24]. Полоскание горла бензидамина гидрохлоридом может оказывать локализованный противовирусный эффект при ранних симптомах COVID-19.

Известно, что эффективность противовирусного действия препаратов обычно пропорциональна их концентрации.

Результаты изучения противовирусной активности показали, что субстанция бензидамина гидрохлорида в культуре клеток Vero-E6 в нетоксичных для клеток дозах подавляет репродукцию вируса SARS-CoV-2 при лечебно-профилактической схеме добавления препарата и ее противовирусное дей-

ствие прямо пропорционально концентрации субстанции.

В соответствии с руководством Минздрава России по доклиническим исследованиям, выраженную активность проявляют соединения, у которых снижение титра вируса в концентрациях, нетоксичных для культуры клеток, составляет не менее $1,5-2,0 \lg$ и $S \geq 8$. Полученные нами данные в опытах *in vitro* показали, что бензидамин гидрохлорид соответствует этим критериям.

Комплексная фармацевтическая помощь на ранних стадиях заболевания COVID-19, в том числе и использование бензидамина гидрохлорида, может предотвратить проникновение вируса SARS-CoV-2 в нижние дыхательные пути и потенциально снизить количество случаев тяжелого течения заболевания, связанного с пневмонией.

Литература

1. Quane PA, Graham GG, Ziegler JB. Pharmacology of benzydamine. *Inflammopharmacology*. 1998;6(2):95–107. doi: 10.1007/s10787-998-0026-0. PMID: 17694367.
2. Pina-Vaz C, et al. Antifungal Activity of local anaesthetic against *Candida* Species // *Infectious Diseases in obstetrics and gynecology*. 2000;8:124–37.
3. Prats G. Study of Benzylamine-in-vitro Activity against different bacterial strains of clinical interest. – Servicio de Microbiología, Hospital de Sant Pau, Barcelona, Spain, 2001.
4. Слуккин П. В., Фурсова Н. К., Брико Н. И. Антибактериальная активность бензидамина гидрохлорида против клинических изолятов бактерий, выделенных от людей в России и Испании. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2018;17(6):11–18. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-11-18>.
5. Алимбарова Л. М., Кукес И. В. Изучение противовирусной активности субстанции бензидамина гидрохлорида и ее готовой лекарственной формы Тантум® Верде в отношении вируса простого герпеса 1-го и 2-го типов. *Фарматека* 2020;27(9):68–74.
6. Бреслав Н. В., Кириллова Е. С., Кукес И. В., Бурцева Е. И. Противовирусная активность Тантум® Верде и его активного вещества бензидамина гидрохлорида в отношении вируса гриппа в опытах *in vitro*. *Фарматека* 2020;27(9):22–26.
7. Слуккин П. В., Фурсова Н. К., Кукес И. В., Брико Н. И. Оценка способности бензидамина гидрохлорида подавлять планктонные клетки, а также растущие и зрелые биопленки клинически значимых микроорганизмов. *Фарматека* 2021;28(1):102–107.
8. Салмаси Ж. М., Казимирский А. Н., Антонова Е. А., Порядин Г. В. Влияние препаратов местной антимикробной терапии на свойства клеток врожденного и адаптивного иммунитета. *Медицинский Совет*. 2019;(8):76–82. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-8-76-82>.
9. Дерябин П. Г., Галегов Г. А., Андропова В. А., Ботииков А. Г. Изучение противовирусных свойств препарата Гексорал *in vitro* в отношении ряда вирусов, вызывающих острые респираторные инфекции и герпес. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2015;160(9):339.
10. Азафонов А. П. Изучение *in vitro* антивирусных свойств Мирамистина в отношении вируса гриппа подтипов H3N2 и H5N1. *Антибиотики и химиотерапия*. 2005;12:9–11.
11. Порядин Г. В., Салмаси Ж. М., Казимирский А. Н. Механизм действия бензидамина на локальное инфекционное воспаление. *Медицинский Совет*. 2018;(21):78–86. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-21-78-86>.
12. Тамм М. В. Коронавирусная инфекция в Москве: прогнозы и сценарии. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная Фармакоэкономика и Фармакоэпидемиология*. 2020;13(1):43–51. DOI: 10.17749/2070-4909.2020.13.1.43-51.
13. Гончарова Е. В., Донников А. Е., Кадошникова В. В. и др. Диагностика вируса, вызывающего COVID-19, методом ПЦР в реальном времени. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология*. 2020;13(1):52–63. <https://doi.org/10.17749/2070-4909.2020.13.1.52-63>.
14. Logunov D. Y., Dolzhikova I. V., Zubkova O. V., et al. (2020). Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. *The Lancet*. 396(10255), 887–897.
15. Макацария А. Д., Григорьева К. Н., Мингалеев М. А. и др. Коронавирусная инфекция (COVID-19) и синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания. *Акушерство, Гинекология и Репродукция*. 2020;14(2):123–131. <https://doi.org/10.17749/2313-7347.132>.
16. Хизроева Д. Х., Макацария А. Д., Бицадзе В. О. и др. Лабораторный мониторинг COVID-19 и значение определения маркеров коагулопатии. *Акушерство, Гинекология и Репродукция*. 2020;14(2):132–147. <https://doi.org/10.17749/2313-7347.141>.
17. Rodriguez-Morales A.J., Cardona-Ospina J.A., Gutierrez-Ocampo E., et al. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Travel Medicine and Infectious Disease* 2020;34:101623. doi:10.1016/j.tmaid.2020.101623.
18. Reed L., Muench H. A simple method of estimating 50% endpoints. *American Journal of Emergency*. 1938; 27:493–97.
19. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч.1. Министрство здравоохранения и социального развития РФ. ФГУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» под общей редакцией Миронова А.Н., 2012.
20. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева, 2005.
21. Merchant H. Covid-19: What do we know so far about a vaccine? *BMJ*. 2020; 369: m1679 doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.m1679> (Published 04 May 2020).
22. Merchant H. COVID-19: An early intervention therapeutic strategy to prevent developing a severe disease as an alternative approach to control the pandemic. *ScienceOpen Preprints*. 2020 (npenprint). doi: <https://doi.org/10.14293/S2199-1006.1.SOR-PPURWMT.v1>.
23. Chen Y., Wong R.W.K., Seneviratne J.C., et al. Comparison of the antimicrobial activity of Listerine and Corsodyl on orthodontic brackets *in vitro*. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 2011; 140(4): 537–542.
24. Марушко Ю. В., Асонов А. А. Обобщение данных о применении бензидамина гидрохлорида и цетилпиридиния хлорида в клинической практике. *Sovremennaya Pediatriya*. 2018; 83–87. DOI: 10.15574/SP.2018.95.83.

References

1. Quane PA, Graham GG, Ziegler JB. Pharmacology of benzydamine. *Inflammopharmacology*. 1998;6(2):95–107. doi: 10.1007/s10787-998-0026-0. PMID: 17694367.
2. Pina-Vaz C, et al. Antifungal Activity of local anaesthetic against *Candida* Species // *Infectious Diseases in obstetrics and gynecology*. 2000; 8: 124–37.
3. Prats G. Study of Benzylamine-in-vitro Activity against different bacterial strains of clinical interest. – Servicio de Microbiología, Hospital de Sant Pau, Barcelona, Spain, 2001.
4. Slukin PV, Fursova NK, Briko NI. Antibacterial Activity of Benzylamine Hydrochloride against Clinical Isolates of Bacteria, isolated from people in Russia and Spain. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2018;17(6):11–18 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-11-18>
5. Alimbarova LM, Kukes IV. Izuchenie protivovirusnoj aktivnosti substancii benzidamina gidrohlorida i ee gotovoj lekarstvennoj formy Tantum® Verde v otnoshenii virusa prostogo gerpesa 1-go i 2-go tipov. *Farmateka* 2020;27(9):68–74 (In Russ.).
6. Breslav NV, Kirillova ES, Kukes IV, Burceva EI. Protivovirusnaya aktivnost' Tantum Verde i ego aktivnogo veshchestva benzidamina gidrohlorida v otnoshenii virusa grippa v opytah *in vitro*. *Farmateka* 2020;27(9):22–26 (In Russ.).
7. Slukin PV, Fursova NK, Kukes IV, Briko NI. Ocenka sposobnosti benzidamina gidrohlorida podavlyat' planktonnye kletki, a takzhe rastushchie i zrelye bioplenki klinicheski znachimyh mikroorganizmov. *Farmateka* 2021;28(1):102–107 (In Russ.).
8. Salmasi JM, Kazimirsky AN, Antonova EA, Poryadin GV. Evaluation of influence several drugs with local antimicrobial activity against local immunity cells. *Meditsinskyi Sovet*. 2019; 8: 76–82 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-8-76-82>
9. Deryabin P., Galegov GA, Andronova VA, Botikov AG. The study of antiviral properties *in vitro* Hexoral drug against a number of viruses that cause acute respiratory infections and herpes // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine (In Russ.)*. 2015; 160 (9): 339.
10. Agafonov AP. Izuchenie *in vitro* antivirusnykh svoystv Miramistina v otnoshenii virusa grippa podtipov H3N2 i H5N1. *Antibiotiki i himioterapiya*. 2005;12:9–11 (In Russ.).
11. Poryadin GV, Salmasi JM, Kazimirsky AN. Mechanisms of benzydamine action against local inflammatory process. *Meditsinskyi Sovet* 2018; 21: 78–86 (In Russ.). <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-21-78-86>

12. Tamm MV. COVID-19 in Moscow: prognoses and scenarios. *FARMAKOEKONOMIKA. Modern Pharmacoeconomic and Pharmacoepidemiology*. 2020;13(1):43–51 (In Russ.). <https://doi.org/10.17749/2070-4909.2020.13.1.43-51>
13. Goncharova EV, Donnikov AE, Kadochnikova VV, et al. Diagnostics of the virus that causes COVID-19 by real-time PCR. *FARMAKOEKONOMIKA. Modern pharmacoeconomics and pharmacoepidemiology*. 2020;13(1):52–63 (In Russ.). <https://doi.org/10.17749/2070-4909.2020.13.1.52-63>
14. Logunov DY, Dolzhikova IV, Zubkova OV, et al. (2020). Safety and immunogenicity of an rAd26 and Ad5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. *The Lancet*. 396(10255), 887–897.
15. Makatsariya AD, Grigoreva KN, Mingalimov MA, et al. Coronavirus disease (COVID-19) and disseminated intravascular coagulation syndrome. *Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. 2020;14(2):123–131 (In Russ.). <https://doi.org/10.17749/2313-7347.132>
16. Khizroeva JH, Makatsariya AD, Bitsadze VO, et al. Laboratory monitoring of COVID-19 patients and importance of coagulopathy markers. *Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. 2020;14(2):132–147 (In Russ.). <https://doi.org/10.17749/2313-7347.141>
17. Rodriguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutiérrez-Ocampo E, et al. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Travel Medicine and Infectious Disease* 2020;34:101623. doi:10.1016/j.tmaid.2020.101623
18. Reed L, Muench H. A simple method of estimating 50% endpoints. *American Journal of Emergency*. 1938; 27:493–97.
19. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. CH.1. Ministerstvo zdravoohraneniya i sotsial'nogo razvitiya RF. FGBU «Nauchnyj centr ekspertizy sredstv medicinskogo primeneniya» pod obshchey redakciej Mironova A.N., 2012. (In Russ.).
20. Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv. Pod obshchey redakciej chlena-korrespondenta RAMN, professora R.U. Habrieva, 2005 (In Russ.).
21. Merchant H. Covid-19: What do we know so far about a vaccine? *BMJ*. 2020; 369: m1679 (In Russ.). doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.m1679> (Published 04 May 2020).
22. Merchant H. COVID-19: An early intervention therapeutic strategy to prevent developing a severe disease as an alternative approach to control the pandemic. *Science Open Preprints*. 2020 (npenpnm). doi: <https://doi.org/10.14293/S2199-1006.1.SOR.PPURWMT.v1>.
23. Chen Y, Wong R.W.K., Seneviratne JC, et al. Comparison of the antimicrobial activity of Listerine and Corsodyl on orthodontic brackets in vitro. *American Journal of Orthodontics and Dental Orthopedics*. 2011; 140(4): 537–542.
24. Marushko YuV, Asonov AO. Summary of data on the use of benzydamine hydrochloride and cetylpyridinium chloride in clinical practice. *Sovremennaya Pediatriya*. 2018; 83–87 (In Russ.). doi: <https://doi.org/10.15574/SP.2018.95.83>.

Об авторах

- **Варвара Викторовна Лебедева** – научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия. +7 (903) 201-60-26, Lebedevavv@ya.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3088-0403>
- **Ирина Тимофеевна Федякина** – заведующая лабораторией экологии вирусов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия. +7 (499) 190-30-52, irfed2@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6421-9632>
- **Олег Евгеньевич Латышев** – к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики, ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия. +7 (903) 617-43-96, oleglat80@mail.ru. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5757-3809>
- **Елена Ивановна Бурцева** – д. м. н., руководитель лаборатории, Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, elena-burtseva@yandex.ru, тел. +74991903046; +79161574814
- **Илья Владимирович Кукес** – к. м. н., врач-клинический фармаколог, врач-иммунолог, руководитель научно-клинического отдела Международной ассоциации клинических фармакологов и фармацевтов, Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1449-8711>
- **Дмитрий Владиславович Блинов** – к. м. н., руководитель по медицинским и научным вопросам Института Превентивной и Социальной Медицины, Москва, Россия; врач-невролог, Клинический Госпиталь Лапино, ГК «Мать и Дитя», Московская область, Россия. blinov@ipsom.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3367-9844> Scopus Author ID: 6701744871. Researcher ID: E-8906-2017. RSCI: 9779-8290
- **Олеся Васильевна Елисеева** – к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики, ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия. +7 (903) 669-22-69, olesenka80@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0723-9749>
- **Виктор Филиппович Ларичев** – ведущий научный сотрудник, Институт вирусологии им. Д. И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России. +7 (903) 586 20 22, vlaritchev@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0001-8262-5650>
- **Тимур Мансурович Гараев** – к. б. н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики, ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. +7 (963) 631-61-70, tmgaraev@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5142-4661>
- **Татьяна Владимировна Гребеникова** – д. б. н., профессор, член-корр. РАН, зав. лабораторией молекулярной диагностики ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, г. Москва, Россия. +7 (916) 505-18-75, t_grebennikova@mail.ru. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6141-9361>

Поступила: 11.04.2021. Принята к печати: 20.05.2021.
Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Varvara V. Lebedeva** – researcher at the Laboratory of Molecular Diagnostics, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N. F. Gamaleya, Moscow, 123098, Russia. + 7 (908) 201-60-26, Lebedevavv@ya.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3088-0403>
- **Irina T. Fedyakina** – PhD, Head of the Laboratory of Virus Ecology, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N. F. Gamaleya, Moscow, 123098, Russia. +7 (499) 190-30-52, irfed2@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6421-9632>
- **Oleg E. Latyshev** – PhD, senior researcher at the Laboratory of Molecular Diagnostics, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N. F. Gamaleya, Moscow, 123098, Russia. + 7(903) 617-43-96, oleglat80@mail.ru. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5757-3809>
- **Elena Burtseva** – Dr. Sci. (Med.), chief of laboratory of D. I. Ivanovsky Institute of Virology of National Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N. F. Gamaleya", Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-2518-6801>, elena-burtseva@yandex.ru, tel. +74991903046; +79161574814.
- **Ilya V. Kukes** – Cand. Sci. (Med.), PhD, Clinical pharmacologist, Immunologist, Head of Medical and Scientific Affairs, International Association of Clinical Pharmacologists and Pharmacists, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1449-8711>
- **Dmitry V. Blinov** – Cand. Sci. (Med.), PhD, MBA, Head of Medical and Scientific Affairs, Institute for Preventive and Social Medicine, Moscow, Russia; Neurologist, Lapino Clinical Hospital, MD Medical Group, Moscow Region, Russia. blinov@ipsom.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3367-9844> Scopus Author ID: 6701744871. Researcher ID: E-8906-2017. RSCI: 9779-8290
- **Olesia V. Eliseeva** – Cand. Sci. (Bio.), PhD, senior researcher at the Laboratory of Molecular Diagnostics, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N. F. Gamaleya, Moscow, 123098, Russia. +7 (903) 669-22-69, olesenka80@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0723-9749>
- **Viktor F. Larichev** – leading researcher, D. I. Ivanovsky Institute of Virology of National Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N. F. Gamaleya, Moscow, Russia. +7 (903) 586 20 22, vlaritchev@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0001-8262-5650>.
- **Timur M. Garaev** – Cand. Sci. (Bio.), PhD, leading researcher at the Laboratory of Molecular Diagnostics, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N. F. Gamaleya, Moscow, 123098, Russia. +7 (963) 631-61-70, tmgaraev@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5142-4661>
- **Tatiana V. Grebennikova** – Dr. Sci. (Bio.), Professor, member of RAS, Head of Laboratory of Molecular Diagnostics, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N. F. Gamaleya, Moscow, 123098, Russia. +7 (916) 505-18-75, t_grebennikova@mail.ru. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6141-9361>

Received: 11.04.2021. Accepted: 20.05.2021.
Creative Commons Attribution CC BY 4.0.