**F-3 фульвофактор как наиболее биологически активная фракция фульвовой кислоты —природный противовирусный комплекс?**

Грошев В.А.ООО «Академия Здоровья», СвятченкоВ.А., Бормотов Н.И., Агафонов А.П.

(Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

ООО «АКАДЕМИЯ ЗДОРОВЬЯ», Новосибирск, Красный проспект 55.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ

«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ВИРУСОЛОГИИ И

БИОТЕХНОЛОГИИ «ВЕКТОР». Новосибирская область, Наукоград Кольцово, 630559 (ФБУН ГНЦ ВБ «ВЕКТОР» РОСПОТРЕБНАДЗОРА)

*Статья посвящена поиску альтернативных органических форм, позволяющих улучшить иммунный ответ организма человека на современные вызовы связанные с мутациями РНК вирусов. Большое количество исследований проведенных в мире с группой природных органических соединений на основе гуминовых (гумусовых) веществ (ГВ), наталкивают на мысль о том, что вышеуказанные сложные гуминовые соединения способны проявлять максимальное терапевтическое действие на процессы метаболизма в организме человека и, при этом оказывая минимальные нежелательные реакции на его работу. Опираясь на результаты проведенных работ можно с уверенностью утверждать и то, что гуминовые вещества (ГВ), благодаря широкому спектру биологических свойств хорошо зарекомендовали себя в животноводстве, сельском хозяйстве и ветеринарии. Результаты химико-биологических исследований говорят о том, что ГВ должны найти свое применение и в различных областях медицины.*

*Исследования в области медицины и биологии указывают на способности ГВ предотвращать кардио заболевания, выступать в качестве антиоксидантов, сдерживать развитие доброкачественных и злокачественных образований, выполнять роль природного антибиотика и как показывают результаты представленной работы определенные фульвофракции способны противостоять вирусам, бороться с грибковыми бактериями, снижать аллергические реакции, защищать мембраны клеток, включая клетки печени и снижать воспалительные процессы. Стоит обратить внимание и на такой факт как улучшение обменных процессов и влияние на специфическую и неспецифическую резистентность организма. Хотя данные литературы и указывают на то, что ГВ нетоксичны и не оказывают эмбриотоксического, мутагенного или канцерогенного воздействий, не стоит забывать о том что при низкой технологической возможности экстрагирования фульвовых и гиматомелановых веществ относящихся к ГВ, в организме может образовываться токсичный канцероген дигалоацетонитрил, который накапливаясь в клетках нашего организма, приводит к развитию различных заболеваний в том числе и онкологических.*

*Фульвовая кислота (ФК), будучи одним из представителей класса ГВ, относится к классу гумусовых веществ, а ее химические свойства и биологическая активность может вызвать интерес представителями традиционной медицины. Изучение биологических свойств ФК и создание на ее основе лекарственных препаратов является весьма актуальным и перспективным направлением в современной медицине, особенно учитывая факты данных ВОЗ о снижении активности антибиотиков при лечении. Разделение на различные фракции ФК (т.н фульвофакторы) позволяет определить наиболее активную фульвофракцию из всего представленного. Дальнейшей целью экспериментального исследования было определение потенциальной противовирусной активности группы экстракций ФК в отношении вирусов гриппа А и Sars-CoV-2 invitro.*

*Поиск публикаций осуществлялся по базам Scopus, Web of Science, MedLine, The Cochrane Library, eLIBRARY, PubMed идругим.*

**Ключевые слова:** *фульвовая кислота, гумусовые вещества, гумусовые кислоты, гуминовые вещества, грипп, SARS-СoV-2, фульвофакторы, гиматомелановые вещества.*

**Конфликт интересов*:*** *авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.*

**Для цитирования:** Грошев В.А., к.б.н. В.А. Святченко, Н.И. Бормотов, д.б.н. А.П. Агафонов.

**F-3 FULVIC FACTOR AS MAIN BIOLOGICALLY ACTIVE FRACTION OF FULVIC ACID: AS NATURAL ANTIVIRAL COMPLEX?**

Groshev V.A. “Academy of Health”, Bormotov.N.I, Svyatchenko V.A., Agafonov A.P., Kolcovo *630559 “VECTOR”*

*The article is devoted to the search for alternative organic forms that allow improving the immune response of the human body to modern challenges associated with mutations of RNA viruses. A large number of studies conducted in the world with a group of natural organic compounds based on humic (humus) substances (HS) suggest that the above-mentioned complex humic compounds are capable of showing maximum therapeutic effect on metabolic processes in the human body and, at the same time, providing minimal undesirable reactions to its work. Based on the results of the work carried out, it can be confidently stated that humic substances (HS), thanks to a wide range of biological properties, have proven themselves well in animal husbandry, agriculture and veterinary medicine. The results of chemical and biological studies suggest that GW should find its application in various fields of medicine.*

*Studies in the field of medicine and biology indicate the ability of GW to prevent cardio diseases, act as antioxidants, restrain the development of benign and malignant formations, act as a natural antibiotic and, as the results of the presented work show, certain fulvofractions are able to resist viruses, fight fungal bacteria, reduce allergic reactions, protect cell membranes, including liver cells and reduce inflammatory processes. It is worth paying attention to such a fact as the improvement of metabolic processes and the effect on the specific and nonspecific resistance of the body. Although the literature data indicate that GW is non-toxic and does not have embryotoxic, mutagenic or carcinogenic effects, do not forget that with a low technological possibility of extracting fulvic and himatomelane substances related to HS, a toxic carcinogen digaloacetonitrile can form in the body, which accumulates in the cells of our body, leads to the development of various diseases including oncological ones.*

*Fulvic acid (FA), being one of the representatives of the HS class, belongs to the group of humic acids, and its chemical properties and biological activity from the point of view of traditional medicine are the subject of the review part of the presented work. The study of the biological properties of FC and the creation of drugs based on it is a very relevant and promising direction in modern medicine, especially given the facts of WHO data on the decrease in the activity of antibiotics in treatment. The division into different fractions of FA (i.e. fulvofactors) allows us to determine the most active fulvofraction of all presented. The further aim of the experimental study was to determine the potential antiviral activity of the FA extraction group against influenza A and Sars-CoV-2 invitro viruses.*

***Keywords:*** *fulvic acid, humic substances, humic acids, humic substances, influenza, SARS-CoV-2, fulvofactors, himatomelane substances.*

***Conflict of interest:*** *the authors declare no conflict of interest.*

***For citation:*** *Groshev V.A., Bormotov. N.I, Ph.DSvyatchenko, Ph.DAgafonov A.P.F-3 FULVIC FACTOR AS MAIN BIOLOGICALLY ACTIVE FRACTION OF FULVIC ACID: AS NATURAL ANTIVIRAL COMPLEX?*

*(InRuss., Englishabstract).*

# Фульвовая кислота: свойства нового класса веществ

Легкорастворимые органические соединения почвенного гумуса, обнаруженные в водах минеральных источников шведским химиком Й.Я. Берцелиусом в 1839 году, были названы креновыми (от krene — источник, фонтан) и апокреновыми (осадочно-ключевые) кислотами [1]. В 1919 году шведский ученый-химик С. Оден для обозначения легкорастворимых в воде органических соединений взамен терминов «креновые и апокреновые кислоты» ввел термин «фульвокислоты» (от fulvus — красно-желтый) [2]. Класс гуминовых веществ, а именно фульвовые и гиматомелановые были открыты в середине 19го века и сразу заинтересовали ученых естествооткрывателей. Интерес производителей привел к тому, что методы их получения были освоены 2015 году. Но несмотря на высокую технологичность производства не всем удается получить экстракции с высокой степенью очистки ≥95–98%, а именно такая степень очистки делает ее пригодной для медицинских исследований (invitro-invivo).

Биологическая активность ФК во многом обусловлена ее физико-химическими свойствами. ФК со степенью очистки ≥95% зарегистрирована в каталоге CAS (CAS RegistryNumber) (№ 479-66-3) как химическое вещество с молекулярной формулой С14Н12О8 [3]. При получении экстракций для проведения научно исследовательской работы по изучению противовирусной активности, мы учитывали множество параметров, в том числе качество и уникальность сырья, количество степеней очистки.

ФК (систематическое название: 1H, 3H-Пирано [4,3-b] [1] бензопиран-9-карбоновая кислота, 4,10-дигидро-3,7,8-тригидрокси-3-метил-10-оксо-; молекулярный вес 308,24 г/моль) — вещество с высокой реакционной способностью [4], содержащее большое количество функциональных групп COOH. Является органическим кислотным редокс-полимером, который способен «обменивать» или переносить электроны со вступающими с ним в контакт молекулами и реакционными ионами (рис.) [5, 6].

|  |
| --- |
| Рис. Структурная формула фульвовой кислоты (479-66-3).  Fig. Structural formula of fulvic acid (479-66-3), |

Общая кислотность фульвовых кислот составляет 900–1400 мэкв/100 г., и отличается по показателям от гуминовых кислот — 400–870 мэкв/100 г [6]. ФК представляет собой высокомолекулярную азотсодержащую органическую кислоту, имеющую в своем составе различные функциональные группы, включая ароматические кольца и фенольные гидроксильные, кетонкарбонильные, хинонкарбонильные, карбоксильные и алкоксильные группы, способные к химическим взаимодействиям.

ФК является сложным органическим электролитом, обладает высокой способностью связыватся с одно- и двухвалентными катионами. ФК образует водорастворимые соли с трехвалентными катионами, может выпадать в осадок или образовывать водорастворимые комплексные соединения.

Будучи хелирующим агентом, или хелатом (от лат. chela — клешня), фульвовая кислота активно взаимодействует с ионами металлов путем образования прочной связи с одним или несколькими атомами органического соединения. В окислительно-восстановительных реакциях ФК может выступать в качестве донора и акцептора электронов, что во многом определяет ее буферные свойства [7]. Между ГК и ФК установлено молекулярное единство, они имеют сходное строение молекул, но различаются по содержанию ароматических и алифатических групп [8, 9]. ФК отличается от ГК более светлой окраской, меньшим содержанием углерода, большим содержанием кислородсодержащих функциональных групп, большей степенью окисленности и гидрофильности [10]. Д.С. Орлов считает, что в природе ФК возникает в результате кислотного и/или щелочного гидролиза органических веществ, входящих в состав биокосных тел.

Исследования токсичности ФК, проведенные J.J. Gandyetal. (2012), показали безопасность данного вещества в дозе до 400 мг/кг, что соответствует 4 классу опасности [11].

Во многих странах мира с развитой экономикой и высоким технологическим уровнем, Российская Федерация не исключение, производят всевозможные продукты и биологически активные добавки (БАД), с содержанием экстракций гуминовых, фульвовых и гиматомелановых кислот. Не является секретом сомнительное отношение специалистов к применению БАДов в силу их непрозрачной стандартизации а значит и слабой предсказуемости их эффективности. В том числе и потому что по ним не проводится обязательных для лекарственных средств доклинических и клинических исследований. Часто применение сомнительных препаратов в составе комплексного лечения приводит к осложнениям и летальным исходам, перед которыми медицина становится бессильной. При этом в медицинской практике критически важное значение имеет фактор упущенного времени при лечении сердечно-сосудистых, онкологических, иммунодефицитных, инфекционных и прочих заболеваний.

Специалисты в области биологии и медицины работают над решением о возможном применении фульвовых кислот в качестве действующего вещества в составе медицинских препаратов. На сегодняшний день накоплена большая информативная база, позволяющая сделать определенные выводы относительно применения ФК в медицинской практике, но говорить о ней как о лекарственном веществе все же преждевременно.

Противовирусная активность:

Основной целью нашего исследования была проверка группы экстракций ФК на противовирусную активность. Во многих научно исследовательских институтах по всему миру проводились эксперименты связанные с изучением противовирусной и противобактериальной активности ФК. В одном из отчетов, опубликованном в качестве совместной работы Национального института здравоохранения ([NIH](https://www.nih.gov/)), Центра по контролю и профилактике заболеваний ([CDC](https://www.cdc.gov/)), Фонда артрита и [Американским колледжем ревматологии](https://www.rheumatology.org/), были обнаружены достаточно уникальные свойства ФК, а это не что иное как избирательное воздействие на экспрессию генов. В описанном случае с аллергической реакцией немедленного типа, фульвовая кислота активировала ингибицию экспрессии таких генов: BMP2, BMP6, CCL11, FLT3, GBP3, IL13, IL12RB1, L13RA1, INHBC, ITGA2/CD49b, ITGAM, IRF8, MAPK8, MS4A2, SELL, TNFRSF6/Fas. В рамках проводимого исследования наблюдалось снижение поступления Ca2+ в клетку, что в свою очередь уменьшило потенциал клетки и остановило передачу импульса. Вывод работы это снижение скорости развития аллергической реакции, в отличии от обычных процессов. При аллергических реакциях, вызванных наличием бактериального эндотоксина, возникает избирательное действие фульвовой кислоты. В одном случае замедление реакции организма человека на компрометацию, а в другом случае действует с противоположным эффектом, активируя [иммунную систему](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%98%D0%BC%D0%BC%D1%83%D0%BD%D0%BD%D0%B0%D1%8F_%D1%81%D0%B8%D1%81%D1%82%D0%B5%D0%BC%D0%B0). Итак, берем тот факт, что фульвовая кислота оказывает разнонаправленное действие, можно предположить, что она будет эффективной с точки зрения влияния на вирусы, так как ее большой молекулярный вес и относительно малые размеры, позволяют беспрепятственно попадать в любую клетку. Однако остается вопрос какие конкретно фракции ФК выполняют роль базового биопротектора при запуске исследованных реакций.

Следует отдельно заострить внимание на том факте, что при [аутоиммунных заболеваниях](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D1%83%D1%82%D0%BE%D0%B8%D0%BC%D0%BC%D1%83%D0%BD%D0%BD%D1%8B%D0%B5_%D0%B7%D0%B0%D0%B1%D0%BE%D0%BB%D0%B5%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D1%8F), таких как, ревматоидный артрит, волчанка и схожих заболеваниях, основной причиной повреждения организма является продукция [антител](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BD%D1%82%D0%B8%D1%82%D0%B5%D0%BB%D0%B0) к собственным клеткам, т.е. нарушение в иммунной системе сложного каскада иммунных механизмов защиты организма. При аутоиммунных заболеваниях прием ФК приводил к снижению уровня циркулирующих иммунных комплексов, что в свою очередь приводило к значительному улучшению состояния пациентов.[[13]](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A4%D1%83%D0%BB%D1%8C%D0%B2%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D1%8F_%D0%BA%D0%B8%D1%81%D0%BB%D0%BE%D1%82%D0%B0#cite_note-13).

При пролонгированном применении с пищей происходит восстановление клинических показателей крови, улучшается показатель СОЭ, в норму приходит С-реактивный белок, снижаются [титры иммуноглобулина-G](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9B%D1%91%D0%B3%D0%BA%D0%B8%D0%B5_%D1%86%D0%B5%D0%BF%D0%B8_%D0%B8%D0%BC%D0%BC%D1%83%D0%BD%D0%BE%D0%B3%D0%BB%D0%BE%D0%B1%D1%83%D0%BB%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%B2).[[14]](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A4%D1%83%D0%BB%D1%8C%D0%B2%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D1%8F_%D0%BA%D0%B8%D1%81%D0%BB%D0%BE%D1%82%D0%B0#cite_note-14).

ФК, в ключе коррекции иммунного гомеостаза, очень сильное средство, не имеющие аналогов по своему принципу действия, и что немаловажно, без побочных эффектов.

### Было проведено исследование воздействия ФК на микроорганизмы, вызывающие инфекции, передающиеся половым путём.

Такая работа была проведена лабораторией в Претории, ЮАР, с целью выявления воздействия ФК на условно-патогенную микрофлору. Были взяты [Lactobacillus](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9B%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%BE%D0%B1%D0%B0%D1%86%D0%B8%D0%BB%D0%BB%D1%8B) (палочки Дедерлейна), которые находятся в норме во влагалище и [Chlamydiatrachomatis](https://ru.wikipedia.org/wiki/Chlamydia_trachomatis). Эти две культуры были посеяны в [чашках Петри](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A7%D0%B0%D1%88%D0%BA%D0%B0_%D0%9F%D0%B5%D1%82%D1%80%D0%B8), на 5-й день, когда колонии прекратили активный рост, было добавлено одинаковое количество ФК в обе чашки Петри. На 7-й день культура Chlamydiatrachomatis полностью погибла, а палочки Дедерлейна увеличились в объёме ~ на 10 % с момента добавления ФК. Был сделан вывод, что причиной гибели Chlamydiatrachomatis стало разрушительное воздействие ФК на стенку клетки Chlamydiatrachomatis.

Учитывая мировой опыт в области проведенных работ по разноплановому влиянию ФК на микроорганизмы и вирусы, была поставлена цель исследовать разные фракции ФК на противовирусную активность. В рамках исследования мы ставили задачу выделить наиболее биологически активную фракцию ФК в отношении вирусов. Наше предположение основывалось на том, что не все экстракции проявляют биологическую активность, многие выступают в роли балласта. С этой целью были экстрагированы 4 фракции ФК с разной по многоступенчатости технологией и соответственно с разной степенью очистки Они были помечены и обозначены какфульвофакторы с чистотой экстрагирования F-3 ≥98%, F-4 ≥92%, F-5 ≥89%.

В рамках эксперимента была поставлена дополнительная задача по исследованию токсичности предоставленных образцов.

Вместе с фульвофакторами были исследованы образцы экстракций трав зашифрованных под сокращенными именами.

Ниже приведем результаты исследование противовирусной активности предоставленных образцов соединений (группа Мезофульвик) против вируса гриппа А и вируса Sars-CoV-2 invitro.

Материалы и методы:

Вирусы. В работе использовали:

вирус гриппа штамм А/California/07/2009 (H1N1), полученный из Государственной коллекции возбудителей вирусных инфекций и риккетсиозов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора и вирус SARS-СoV-2, выделенный в 2020 году в ГНЦ ВБ «Вектор» из клинического образца инфицированного новым коронавирусом пациента. Подлинность используемых вирусных штаммов вирусов гриппа иSARS-СoV-2 были подтверждены ПЦР-анализом и полногеномным секвенированием. Вируссодержащие культуральные жидкости очищали и концентрировали центрифугированием в ячейке с отсекающим фильтром VivaSpin-20 centrifugalfilterunit (100 кДа) (Sartorius, США).

Клеточные культуры. Для культивирования вирусов гриппа и SARS-СoV-2 использовали культуру клеток MDCK (клетки почки собаки) иVeroE6 (клетки почки зеленой мартышки), соответственно, полученные из коллекции культурклеток ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Клетки культивировали в96-луночных культуральных планшетах до формирования полного монослоя в среде DMEM с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки телят, 40ед./мл гентамицина сульфата и 2,5 ед./мл амфотерицина B. Суспензии клеток MDCK и VeroE6 вносили в лунки 96-луночных планшетов в объёме 100 мкл с концентрацией 105кл./мл среды. После получения монослоя клеток питательную среду из лунок планшетов удаляли и меняли наравное количество поддерживающей среды без сыворотки, с добавлением 2,5% BSA и 10мкг/мл ТРСК трипсина.

Проведение исследования и результаты:

С целью определения антивирусной активности исследуемых препаратов монослои клеток MDCK и VeroE6 выращенные на 96-х луночных планшетах, инокулировали 3- кратными разведениями исследуемых образцов (два независимых эксперимента, в первой постановке образцы исходно растворяли в культуральной поддерживающей среде – была отмечена неполная растворимость некоторых образцов, во второй в DMSO; 20 мг/мл) вдиапазоне концентраций 200 -0,27 мкг/мл в культуральной среде.

Непосредственно после чего, соответствующие клетки инфицировали одинаковой дозой вируса гриппа А либо SARS-СoV-2 (из расфасованного замороженного стока) 102ТЦД50/лунку (кроме контроля клеток и клеточных монослоев для определения возможной цитотоксичности образцов) по 3лунки на одно разведение исследуемого образца. Используемая инфицирующая доза вируса гриппа иSARS-СoV-2 вызывала 100%-й цитопатический эффект в лункахс контрольными монослоями соответствующих клеток. Вирусы культивировали в присутствии испытуемых соединений в течение 3 суток.По истечении этого срока в питательную среду добавляли раствор витального красителя (в тестахактивности против вируса гриппа - нейтральный красный [2, 3], в тестахактивности против SARS-СoV-2 – МТТ [4, 5]).

После окрашивания клеток питательную среду удаляли из лунокпланшетов и лунки двукратно промывали физиологическим раствором, дляудаления непоглощённых красителей. В промытые лунки вносили лизирующий раствор: 0,01 М однозамещённый фосфорнокислый аммоний рН 3,5 (50 %) и этиловый спирт (50 %) при окрашивании нейтральнымкрасным [2, 3] или ДМСО [5] при окрашивании МТТ. По интенсивностиполученной окраски – оптической плотности (ОП) судили о количествежизнеспособных клеток в лунке, которое позволяет оценить токсичность ипротивовирусную активность испытуемых соединений. Измерение ОП производили на планшетном ридере E-max фирмы Molecular Devices (США) при длине волны 490 нм (при тестировании активности в отношении вируса гриппа) и 540 нм (при тестировании активности в отношении вируса SARS-СoV-2). При помощи компьютерной программы SoftMaxPro-4.0 по показателям ОП рассчитывали 50%-ю цитоксическую концентрацию (СC50,мкг/мл) и 50 %-ю ингибирующую концентрацию (IC50, мкг/мл) испытуемыхсоединений. СС50 – это концентрация исследуемого вещества в питательной среде, при которой теряют жизнеспособность 50% клеток в не инфицированном монослое. IC50 – это концентрация исследуемого вещества в питательной среде, при которой остаются жизнеспособными 50% клеток в инфицированном монослое.

Результаты исследования противовирусной активности испытуемых образцов invitro в отношении вируса гриппа А и SARS-СoV-2, а так же определения их возможной цитотоксичности представлены в таблице 1. Как видно из представленных результатов ряд образцов проявил достаточно выраженную активность против вируса гриппа А. Эти образцы ингибируют репликацию вируса invitro в концентрациях нескольких микрограмм на миллилитр; IC50для образцов F-3, Род-1, F-5, 31 составили 2,10±0,75,4.97±1,43, 4.17±1,25 и 8.43±2,78 мкг/мл, соответственно. Индексы селективности (отношение СC50 к IC50) составляют >50, >20,>23и >10, соответственно. Несколько образцов показали меньшую активность в отношении вируса гриппа А, так IC50для В-1, Л-1 и Экр равнялись 24,19,31,65 и 22,36 мкг/мл, соответственно.13 из 29 представленных в таблице 1 образцов (включая все наиболее активные против вируса гриппа А соединения) были тестированы на потенциальную противовирусную активность в отношении вируса Sars-CoV-2. Для 4 из них показана слабо выраженная способность ингибировать репликацию Sars-CoV-2 в клеточной культуре Vero E6. IC50 для образцов F-3 (фулвофактор), F-5, В-1 и Ч-1 составили 37,55±13,23, 50,15±17,13, 83,30±26,45 и 93,42±30,75 мкг/мл, соответственно. Следует отметить, что образцы F-3 и Ч-1 токсичны для клеток Vero E6 в концентрации 200 мкг/мл. Что свидетельствует о том, что данные соединения способны проявлять определенный уровень противовирусной активности в отношении Sars-CoV- 2 лишь в концентрациях близких к цитотоксическим. Образец Род-1ингибирующий репликацию вируса гриппа А (IC50 - 4,97 мкг/мл) токсичен для клеток Vero E6 в концентрации 200 мкг/мл, а в три раза меньшей концентрации 66,7 мкг/мл не оказывает достоверного ингибирующего влияния на репликацию вируса Sars-CoV-2.

***Таблица 1 –*** *Противовирусная активность по результатам скрининга препаратов против вируса гриппа АH1N1 и Sars-CoV-2 на культурах клеток MDCK иVeroE6, соответственно.*

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **No** | **Препарат** | **СC50мкг/млMDCK** | **IC50****мкг/мл**  **H1N1** | **СC50мкг/мл**  **VeroE6** | **IC50мкг/мл**  **Sars-CoV-2** |
| 1 | F-3 (фулвофактор) | >100 | 2,10±0,75 | 200±55 | 37,55±13,23 |
| 2 | Род-1 | >100 | 4.97±1,43 | 200±55 | NA |
| 3 | Ш-1 | >100 | 70,8±25,13 | 200±55 | NA |
| 4 | Век | >100 | 75,92±26,57 | >100 | NA |
| 5 | Р-1 | >100 | NA | NT | NT |
| 6 | Ло-1 | >100 | NA | NT | NT |
| 7 | П-1 | >100 | NA | NT | NT |
| 8 | X-1 | 8.68±3,13 | NA | NT | NT |
| 9 | T-1 | >100 | NA | NT | NT |
| 10 | Э-1 | >100 | NA | 200±55 | NA |
| 11 | M-1 | 17.86±4,55 | NA | 66,62±22,16 | NA |
| 12 | Oд-1 | >100 | NA | NT | NT |
| 13 | Б-1 | >100 | NA | NT | NT |
| 14 | O-1 | 90 | NA | NT | NT |
| 15 | 43 | >100 | NA | NT | NT |
| 16 | F-5 | >100 | 4.17±1,25 | >100 | 50,15±17,13 |
| 17 | 8 | >100 | NA | NT | NT |
| 18 | 31 | >100 | 8.43±2,78 | NT | NT |
| 19 | M-2 | >100 | NA | NT | NT |
| 20 | Ней | >100 | NA | NT | NT |
| 21 | Ос-1 | >100 | 67,08±22,15 | NT | NT |
| 22 | В-1 | >100 | 24,19±7,05 | >200 | 83,30±26,45 |
| 23 | Л-1 | >100 | 31,65±9,55 | >200 | NA |
| 24 | Г-1 | >100 | NA | NT | NT |
| 25 | F-4 | >100 | 75,15±24,23 | >100 | NA |
| 26 | Экр | >100 | 22,36±6,83 | >100 | NA |
| 27 | Сирт | >100 | NA | NT | NT |
| 28 | Д1 | NT | NT | >100 | NA |
| 29 | Ч-1 | NT | NT | 200±55 | 93,42±30,75 |
|  |  |  |  |  |  |

Примечания: NA – отсутствие активности в концентрации 100 мкг/мл и меньших (дляобразцов обладающих цитотоксичностью - отсутствие активности в концентрации в 3 раза меньшей чем цитотоксическая); NT – не тестировано.

Для соединения **«F-3 Фульвофактор»** из образцов экстракций и соединений (препараты **Мезофульвик**), показавшего лучший результат по активности в отношении вируса гриппа А, был более точно определен показатель IC50, он составил 0,998 мкг/мл, а индекс селективности превысил значение 100 (см. Рис 1.)



Рисунок 1 – Результат активности «F-3 Фульвофактора».

**Заключение**. При исследовании противовирусной активности испытуемых образцов в отношении вируса гриппа А показано, что соединения F-3, Род-1, F-5, 31 достаточно эффективно ингибируют репликацию *вируса винфицированных клетках (IC50 - 2,10±0,75, 4,97±1,43, 4,17±1,25, 8,43±2,78мкг/мл,* соответственно). Тестирование образцов в отношении вируса Sars-CoV-2 выявило слабо выраженную вирус ингибирующую активность соединений F-3, F-5, В-1 и Ч-1 (IC50 - 37,55±13,23, 50,15±17,13, 83,30±26,45 и93,42±30,75 мкг/мл, соответственно). Достоверное ингибирующее репликацию вируса Sars-CoV-2 действие указанных образцов проявляется лишь в субтоксических для клеток концентрациях.

Следует отметить, что «F-3 Фульвофактор» является природным органическим полиэкстрактом фульвовых кислот и действительно обладает высокими биологическими свойствами и качествами фульвовых веществ и не является токсичным.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Влияние заражения вирусом гриппа А при различной множественности инфекции на пролиферацию и индукцию апоптоза перевиваемых клеток лимфоцитарного и моноцитарного происхождения (Jurkat, NC-37, THP-1 и U-937) / Т. Д. Смирнова [и др.]  
   // Цитология. – 2015. – Т. 57, № 7. - С. 526-532. – Библиогр.: с. 532 (11 назв.). – ил., табл.
2. **Горшков, А. Н.**РНК-интерференция и патогенез вируса гриппа A / А. Н. Горшков, А. В. Петрова, А. В. Васин  
   // Цитология. – 2017. – Т. 59, № 8. - С. 515-533. – Библиогр.: с. 528-533 (191 назв.). – ил., табл.
3. Методические указания МУК 4.2.2136 – 06 Организация и проведение лабораторной диагностики заболеваний, вызванных высоковирулентными штаммами вируса гриппа птиц типа А (ВГПА), у людей.
4. Кирилюк И.А. и др. Цитотоксичность нитроксильных радикалов в отношении опухолевых и диплоидных клеток человека invitro и оценка их противовирусной активности. Антибиотики и химиотерапия, / И. А. Кирилюк, В. А. Святченко,Д. А. Морозов, Е. И. Казачинская, Н. Н. Киселев, С. М. Бакунова, М. А. Войнов, В. Б. Локтев, И. А. Григорьев.2012, т. 57, №1-2, с. 3-12)
5. **Кондратова, М. С. (Институт Кюри, Париж).**  
      Антиген-невидимка / М. С. Кондратова// Химия и жизнь - XXI век. – 2016. – № 5. - С. 16-17. – ил.
6. **Коноплева, Елена Витальевна.**Клиническая фармакология : [в 2 ч.] : учебник и практикум для вузов : учебник для вузов по естественнонауч. направлениям и специальностям : рек. УМО вузов РФ. Ч. 2 / Е. В. Коноплева. – Москва :Юрайт, 2017. – 340 с.
7. Общество и пандемия : опыт и уроки борьбы с COVID-19 в России / авторский коллектив: Н. А. Авксентьев, М. Л. Агранович, Н. В. Акиндинова [и др.]. – Москва : Дело, 2020. – 744 с.
8. Основы биологической безопасности : монография / М. Ш. Азаев, А. А. Дадаева, А. П. Агафонов, С. В. Нетёсов ; Новосиб. гос. ун-т, Федер. служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Гос. науч. центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». – Новосибирск : НГУ, 2016. – 222 с. : ил., табл.
9. Ответ клеток перевиваемых линий карциномы легкого (А-549) и эндотелия (ECV-304) человека на заражение вирусом гриппа А при различной степени инфицированности клеток/ Д. М. Даниленко [и др.]  
   // Цитология. – 2016. – Т. 58, № 3. - С. 192-200. – Библиогр.: с. 199-200 (31 назв.). – ил.
10. Профилактика ВИЧ-инфекции/СПИДа : учебно-методическое пособие / авт.-сост. Н. А. Склянова, Е. Ф. Бочаров, С. С. Валихова ; Новосиб. ин-т повышения квалификации и переподготовки работников образования ; Управление образования мэрии Новосибирска ; Областной центр по профилактике и борьбы со СПИД и инфекционными заболеваниями ; Областной центр мед.профилактики. – Новосибирск :НИПКиПРО, 2002. – 112 с. : ил., 2 л. ил., табл.
11. **Райкис, Б. Н.**Общая микробиология с вирусологией и иммунологией : в графическом изображении : учебное пособие / Б. Н. Райкис, В. О. Пожарская, А. Х. Казиев. – Москва : Триада-Х, 2002. – 352 с. : ил.
12. **Смирнова, Т. Д.**Участие цито скелета клетки в инфекционном цикле вирусов гриппа А / Т. Д. Смирнова, Д. М. Даниленко, А. В. Слита  
    // Цитология. – 2013. – Т. 55, № 2. - С. 92-100. – Библиогр.: с. 98-99 (56 назв.). – ил.
13. Способность вирусов гриппа А и их поверхностных белков стимулировать апоптоз и некроз клеток эндотелия invitro / А. А. Азаренок [и др.]  
    // Цитология. – 2013. – Т. 55, № 6. - С. 430-435. – Библиогр.: с. 434-435 (26 назв.). – ил.
14. Я хочу провести тренинг : пособие для начинающего тренера, работающего в области профилактики ВИЧ/СПИД, наркозависимости и инфекций, передающихся половым путем : методическое пособие для педагогов и / [Е. Яшина, О. Степанова, Д. Камалдинов и др.] ; ред. группа О. Степанова, Т. Голованова, Т. Сагидулина ; худож. А. Попов. – 3-е изд., дораб. и доп. – Новосибирск : Гуманитарный проект : ЮНИСЕФ, 2005. – 202 с. : ил. – Библиогр.: с. 199-200. – ISBN 5-94905-003-7.

# Источникфинансирования

Авторы заявляют об отсутствии спонсорской поддержки при проведении исследования**.Funding.**

**Вклад авторов**

**Грошев, В.А. ООО «Академия Здоровья»**

Разработка концепции — формирование идеи; развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — сбор и анализ полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — составление черновика рукописи, его критический пересмотр с внесением ценного замечания интеллектуального содержания; участие в научном дизайне.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

**Святченко, В.А.**

Проведение исследования — анализ и интерпретация полученных данных. Подготовка и редактирование текста — составление черновика рукописи, его критический пересмотр с внесением замечания ценного интеллектуального содержания; участие в научном дизайне.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

**Бормотов, Н.И.**

Проведение исследования — анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — составление черновика рукописи, его критический пересмотр с внесением ценного замечания интеллектуального содержания; участие в научном дизайне.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

**Сведения об авторах:**

**Грошев Владислав Анатольевич \*** *биолог*. Контактная информация: e-mail: vlad.gros@gmail.com тел.: +7 (923) 244-14-19; ул. Демакова, г. Новосибирск, Россия. ООО «Академия Здоровья»

**Бормотов Николай Иванович** —Зав. лабораторией отд. профилактики и лечения особо опасных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «ВЕКТОР» РОСПОТРЕБНАДЗОРА.

**Виктор Александрович Святченко**—кандидат биологических наук, Зав. лабораторией отд. профилактики и лечения особо опасных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «ВЕКТОР» РОСПОТРЕБНАДЗОРА.

**Александр Петрович Агафонов –** доктор биологических наук, зам. Генерального директора по науке ФБУН ГНЦ ВБ «ВЕКТОР» РОСПОТРЕБНАДЗОРА.

\* Автор, ответственный за переписку / Correspondingauthor