

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-1-148-153

УДК 616.98:578.834.1

О.С. Залевская¹, В.А. Ширяев², Ю.Н. Климочкин², С.Ф. Семенов¹, Л.П. Родионова¹, О.В. Климович¹,
Я.В. Лютина¹, М.В. Леонова², А.Г. Красько¹

Оценка воздействия полициклических производных каркасного ряда на репликативные свойства вируса SARS-CoV-2 в эксперименте *in vitro*

¹ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии», Минск, Республика Беларусь;

²ФГБОУ ВО «Самарский государственный технический университет», Самара, Российская Федерация

Цель работы – определение цитотоксичности и влияния полициклических производных каркасного ряда на репликативные свойства вируса SARS-CoV-2 в культуре клеток Vero-E6 *in vitro*. **Материалы и методы.** Изучено вирусингибирующее действие 50 производных адамантана и бицикло[3.3.1]нонана, имеющих карбоциклические и гетероциклические заместители. Исследования проводили на культуре клеток Vero-E6 методом оценки цитопатического действия вируса. Влияние соединений на репликативные свойства вируса SARS-CoV-2 оценивали по снижению титра вируса в присутствии соединений в сравнении с контролем. На основании значений титра вируса в присутствии ряда последовательно уменьшающихся концентраций соединения вычисляли 50 % эффективную концентрацию. **Результаты и обсуждение.** При исследовании полициклических производных каркасного ряда выявлено два соединения с антивирусными свойствами в отношении вируса SARS-CoV-2. Среди производных бицикло[3.3.1]нонана, содержащих гетероциклические фрагменты, ингибирующее действие в отношении вируса SARS-CoV-2 показало соединение № 15144. Защитное действие соединения проявлялось в максимально переносимой концентрации (МПК) (70,0 мкг/мл) и в ½ МПК (35,0 мкг/мл). Обнаружено снижение титров вируса под воздействием МПК на 0,95 lg ТЦД₅₀/мл, в ½ МПК (35,0 мкг/мл) – на 0,35 lg ТЦД₅₀/мл. Значение 50 % эффективной концентрации (EC50) соединения № 15144 составило 64,0 мкг/мл, отношение МПК/EC50 – 1,09. Менее выраженной антивирусной активностью обладало соединение № 14838 (производное адамантана, содержащее карбоциклические фрагменты). В результате исследований установлено, что образец № 14838 в дозе МПК (45,0 мкг/мл) снижает инфекционный титр на 0,78 lg ТЦД₅₀/мл, в ½ МПК (22,5 мкг/мл) – на 0,15 lg ТЦД₅₀/мл по сравнению с контролем. Значение EC50 соединения № 14838 составило 37,0 мкг/мл, отношение МПК/EC50 – 1,22.

Ключевые слова: адамантан, бицикло[3.3.1]нонан, Vero-E6, COVID-19, SARS-CoV-2, репликативные свойства.

Корреспондирующий автор: Залевская Ольга Сергеевна, e-mail: olgazal88@mail.ru.

Для цитирования: Залевская О.С., Ширяев В.А., Климочкин Ю.Н., Семенов С.Ф., Родионова Л.П., Климович О.В., Лютина Я.В., Леонова М.В., Красько А.Г. Оценка воздействия полициклических производных каркасного ряда на репликативные свойства вируса SARS-CoV-2 в эксперименте *in vitro*. Проблемы особо опасных инфекций. 2024; 1:148–153. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-1-148-153

Поступила 20.07.2023. Отправлена на доработку 27.07.2023. Принята к публ. 03.11.2023.

O.S. Zaleuskaya¹, V.A. Shiryaev², Yu.N. Klimochkin², S.F. Semyonov¹, L.P. Rodionova¹,
O.V. Klimovich¹, Ya.V. Liutina¹, M.V. Leonova², A.G. Kras'ko¹

Assessment of the Impact of Polycyclic Derivatives of the Frame Series on the Replicative Properties of the SARS-CoV-2 Virus in an *in vitro* Experiment

¹Republican Scientific and Practical Center of Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus;

²Samara State Technical University, Samara, Russian Federation

The aim of the work was to determine the cytotoxicity and the influence of polycyclic derivatives of the framework series on the replicative properties of the SARS-CoV-2 virus in Vero-E6 cell culture *in vitro*. **Materials and methods.** The virus inhibiting effect of 50 adamantane and bicyclo[3.3.1]nonane derivatives with carbocyclic and heterocyclic substituents was investigated. The studies were carried out on Vero-E6 cell culture by assessing the cytopathic effect of the virus. The impact of the compounds on the replicative properties of the SARS-CoV-2 virus was estimated by the decrease in virus titer in the presence of the compounds compared to the control. Based on the virus titer values in the presence of a series of successively decreasing concentrations of the compound, the 50 % effective concentration was calculated. **Results and discussion.** A study of polycyclic derivatives of the framework series has identified two compounds with antiviral properties against the SARS-CoV-2 virus. Among bicyclo[3.3.1]nonane derivatives containing heterocyclic fragments, compound No. 15144 has showed an inhibitory effect against the SARS-CoV-2 virus. The protective effect of the compound was manifested in maximum tolerable concentration (MTC) (70.0 µg/ml) and ½ MTC (35.0 µg/ml). A decrease in virus titers under the influence of MTC by 0.95 lg TCD₅₀/ml, in ½ MTC (35.0 µg/ml) – by 0.35 lg TCID₅₀/ml has been detected. The effective concentration (EC50) value of the compound No. 15144 was 64.0 µg/ml, the MTC/EC50 ratio was 1.09. Compound No. 14838 (adamantane derivative containing carbocyclic fragments) had less pronounced antiviral activity. As a result of research, it has been established that sample No. 14838 at a dose of MTC (45.0 µg/ml) reduces the infectious titer by 0.78 lg TCD₅₀/ml, in ½ MTC (22.5 µg/ml) by 0.15 lg TCD₅₀/ml compared to the control. The EC50 value of compound No. 14838 was 37.0 µg/ml, the MTC/EC50 ratio was 1.22.

Key words: adamantane, bicyclo[3.3.1]nonane, Vero-E6, COVID-19, SARS-CoV-2, replicative properties.

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

Funding: The work was carried out within the framework of the International Research Project “Rational design of homoadamantane and bicyclo[3.3.1]nonane derivatives as inhibitors of the SARS-CoV-2 nsp13 helicase” of the Belarusian Republican Foundation for Basic Research (BRFBR) (contract dated 07 Jan 2021 No. M21RM-089) and Russian Foundation for Basic Research (RFBR) (project Bel_mol_a 20-53-04035).

Corresponding author: Olga S. Zalevskaya, e-mail: olgazel88@mail.ru.

Citation: Zaleuskaya O.S., Shiryayev V.A., Klimochkin Yu.N., Semyonov S.F., Rodionova L.P., Klimovich O.V., Liutina Ya.V., Leonova M.V., Kras'ko A.G. Assessment of the Impact of Polycyclic Derivatives of the Frame Series on the Replicative Properties of the SARS-CoV-2 Virus in an *in vitro* Experiment. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2024; 1:148–153. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-1-148-153

Received 20.07.2023. Revised 27.07.2023. Accepted 03.11.2023.

SARS-CoV-2 является возбудителем новой коронавирусной инфекции (COVID-19) и представляет собой вирус с одноцепочечной РНК с положительной полярностью [1].

Принадлежащий к подсемейству *Orthocoronavirinae* с самым большим РНК-геномом, SARS-CoV-2 кодирует в общей сложности 29 белков. Эти неструктурные, структурные и вспомогательные белки участвуют в проникновении в клетки-хозяева, репликации и транскрипции генома, а также в сборке и высвобождении вируса [2].

Точное определение инфекционности SARS-CoV-2 очень затруднено из-за непрерывной эволюции вируса с его вариантами однонуклеотидного полиморфизма (SNP) и множеством родословных [3].

SARS-CoV-2 стал причиной крупнейшей мировой пандемии COVID-19 [4]. Вспышка COVID-19 вызвала глобальную чрезвычайную ситуацию в области здравоохранения, а мутация и эволюция его генома еще больше усугубили неопределенность эпидемического риска [5]. С момента сообщения о первых случаях коронавируса в Китае и публикации первой последовательности генов SARS-CoV-2 в декабре 2019 г. геном вируса претерпел многочисленные мутации [6].

Генетические варианты коронавируса тяжелого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2) появляются и циркулируют в разных частях мира с начала пандемии [7]. COVID-19 по-прежнему остается нерешенной проблемой из-за роста числа инфицированных и смертности во всем мире [8].

Пандемическое распространение острого респираторного синдрома, вызванного коронавирусом SARS-CoV-2, привело к поиску новых противовирусных средств и перепрофилированию существующих средств с продемонстрированной эффективностью против других известных коронавирусов. Адамантаны, включая амантадин, римантадин и мексантадин, обладают хорошо зарекомендовавшей себя эффективностью при лечении нейродегенеративных заболеваний, включая болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера и усталость, связанную с рассеянным склерозом. Как *in vitro*, так и *in vivo* показано, что амантадин обладает потенциалом ингибирования SARS-CoV-2 посредством подавления протеаз клетки-хозяина, что приводит к нарушению высвобождения вирусного генома в клетку-хозяина [9].

Амантадин одобрен в качестве противовирусного препарата против гриппа А, и противовирусная активность в отношении SARS-CoV-2 была обоснована по аналогии, но без данных. Протестирована эф-

фективность амантадина *in vitro* на клетках Vero-E6, инфицированных SARS-CoV-2. Амантадин ингибировал репликацию SARS-CoV-2 в двух отдельных экспериментах [10].

Поиск новых лекарственных средств возможен благодаря пониманию цикла репликации вируса SARS-CoV-2 и его патогенности [11].

Из всех потенциальных мишеней для лекарств геликазы nsp13 считается одной из наиболее важных [12]. Неструктурный белок nsp13 был идентифицирован как мишень для противовирусных препаратов из-за высокой консервативности последовательности и важной роли в репликации вируса [13]. Ингибирование геликазы часто приводит к затруднению репликации вируса или его полной инактивации. Белок nsp13 коронавируса представляет собой цитозольный белок, состоящий из порядка 600 аминокислотных остатков, и, по всей вероятности, является РНК-геликазой, которая принимает участие при расплетении дуплекса, образующегося при копировании вирусной РНК под действием РНК-зависимой РНК-полимеразы [14]. Для данной геликазы *in vitro* обнаружен ряд ингибиторов – производных оксазолопиридина, порфиринового комплекса висмута, 1,2,4-триазола, бананина, арилдикетокислот и производных дигидрохромена [15].

Материалы и методы

Известные соединения синтезировали по литературным методикам (табл. 1).

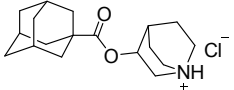
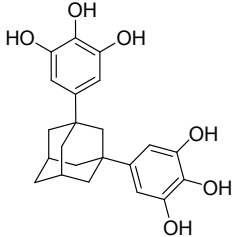
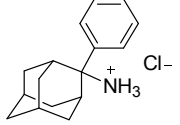
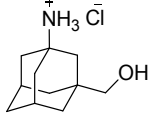
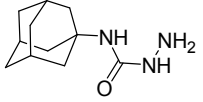
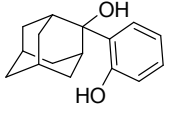
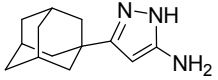
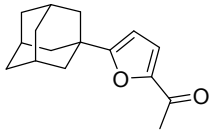
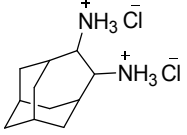
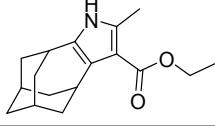
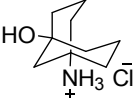
Полученные соединения предварительно растворяли до концентрации 100 мкг/мл (сток-раствор). Соединения № 828, 14869, 14871, 14872, 15136, 15138, 15148, 15156, 15157 растворяли на воде для инъекций, № 14190, 14838, 14870, 15139, 15146, 15158 – на 10 % этаноле, остальные соединения – на 10 % диметилсульфоксиде (DMSO, Sigma, США). Из сток-раствора готовили необходимые концентрации с использованием питательной среды DMEM с 2 % фетальной бычьей сыворотки.

Исследования проводили на культуре клеток Vero-E6 методом оценки цитопатического действия (ЦПД) вируса. Клетки культивировали на питательной среде DMEM производства Gibco с 10 % содержанием фетальной бычьей сыворотки, 4,5 г/LD-Glucose, 25 mM HEPES, L-Glutamine и 100 мкг/мл гентамицина при $t=37^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 и 85 % влажности.

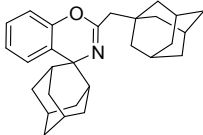
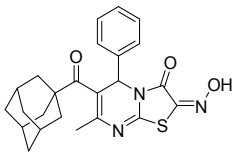
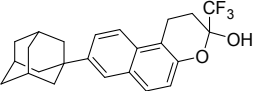
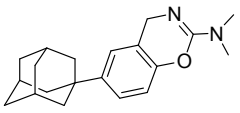
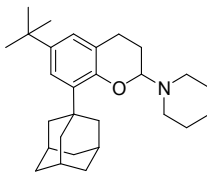
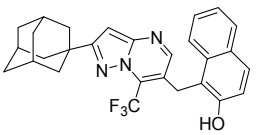
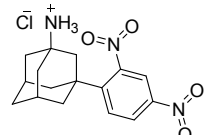
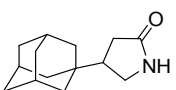
Для определения цитотоксичности соединений планшеты с суточным монослоем клеток Vero-E6

Таблица 1 / Table 1

Исследуемые соединения
Compounds under study

Номер соединения Compound number	Формула Formula	Номер соединения Compound number	Формула Formula
1	2	3	4
828		15135	
1931		15136	
9664		15137	$C_{16}H_{24}N_2O_4$
13021		15138	$C_{17}H_{24}BrNO_2$
14190		15139	$C_{12}H_{20}O_3$
14838	$C_{19}H_{24}O_3$	15140	$C_{17}H_{22}O_3$
14865	$C_{25}H_{27}N_3OS$	15141	$C_{11}H_{19}N_3O$
14866	$C_{23}H_{29}N_3O$	15142	
14867	$C_{20}H_{21}N_3O_2$	15143	$C_{17}H_{20}O_5$
14868	$C_{27}H_{28}BrN_3O$	15144	$C_{15}H_{18}O_3$
14869		15145	$C_{24}H_{32}O_2$
14870	$C_{12}H_{20}O_3$	15146	
14871	$C_{12}H_{22}BrNO_2$	15147	$C_{11}H_{16}Cl_2O$
14872		15148	$C_{11}H_{18}Cl_3N$

Окончание табл. 1 / Ending of table 1

1	2	3	4
14873	$C_{14}H_{23}N_3O_2$	15149	$C_{13}H_{19}Cl_2NO$
14874	$C_{15}H_{21}N_3O_3$	15150	$C_{19}H_{21}F_3N_2O$
14875		15151	$C_{19}H_{22}F_3N_3O$
14876		15152	$C_{34}H_{31}N_3O_4$
14877		15153	$C_{45}H_{42}FN_3O_3$
14878		15154	
14879	$C_{30}H_{28}N_4O_2$	15155	$C_{27}H_{32}N_2O_4$
14880		15156	
14881		15157	$C_{20}H_{26}BrN$
14882	$C_{15}H_{25}N_5O_2$	15158	$C_{21}P_{25}NO$
14883	$C_{19}H_{23}NO_2$	15159	$C_{13}H_{18}N_2O_3$

отмывали раствором Хенкса, вносили свежую питательную среду, содержащую различные концентрации исследуемых химических соединений, и помещали в термостат для наблюдения в течение 5 суток при температуре 37 °C в CO₂-инкубаторе.

После инкубации проводили визуальную оценку при помощи инвертированного микроскопа на увеличении 4×. За максимально переносимую концентрацию (МПК) принимали максимальную из исследованных доз веществ, не вызывающую морфологических изменений клеток.

Для определения воздействия соединений на репликативные свойства вируса в 96-луночные планшеты с суточным монослоем клеток Vero-E6 вносили по 100 мкл культуральной жидкости, содержащей

вирус SARS-CoV-2 (100 ТЦД₅₀), и инкубировали 1,5 часа при температуре 37 °C в CO₂-инкубаторе. В работе использовали дельта-вариант вируса SARS-CoV-2 (B.1.617.2), выделенный от пациента. После инкубации вирусосодержащую жидкость удаляли, вносили по 100 мкл соединения в МПК и оставляли на 5 суток при температуре 37 °C в CO₂-инкубаторе.

Каждый эксперимент содержал ряд контролей: контроль препарата, среду DMEM с 2 % фетальной бычьей сыворотки (отрицательный контроль), а также контрольное титрование дозы вируса. Каждая точка эксперимента поставлена в двух повторах.

Определяли инфекционный титр вируса в присутствии соединений и контроле вируса без соедине-

Таблица 2 / Table 2

Результаты оценки цитотоксичности соединений
Results of evaluation of compound cytotoxicity

Номер соединения Compound number	МПК, мкг/мл MTC, µg/ml	Номер соединения Compound number	МПК, мкг/мл MTC, µg/ml
828	5,0	15135	45,0
1931	75,0	15136	40,0
9664	400,0	15137	15,5
13021	5,0	15138	17,5
14190	15,0	15139	105,0
14838	45,0	15140	15,0
14865	15,5	15141	3,5
14866	40,0	15142	16,5
14867	65,0	15143	3,0
14868	10,0	15144	70,0
14869	50,0	15145	4,5
14870	80,0	15146	17,7
14871	140,0	15147	4,8
14872	30,0	15148	20,0
14873	25,0	15149	15,5
14874	135,0	15150	14,5
14875	15,0	15151	28,0
14876	0,25	15152	20,0
14877	0,05	15153	80,5
14878	0,1	15154	10,5
14879	5,0	15155	70,0
14880	10,0	15156	15,0
14881	125,0	15157	50,0
14882	30,0	15158	16,5
14883	50,0	15159	65,0

ний. Титрование в культуре клеток Vero-E6 проводили по следующей схеме. Готовили разведения соединений на поддерживающей среде DMEM с добавлением 2 % фетальной бычьей сыворотки. Планшеты с суточным монослоем клеток отмывали раствором Хенкса. Клетки инфицировали 100 ТЦД₅₀ вируса SARS-CoV-2. Планшеты инкубировали при температуре 37 °C в атмосфере 85 % влажности и подаче 5 % CO₂ в течение 1,5 часа для адсорбции вируса, затем содержимое лунок удаляли и вносили разведения соединений. Также осуществляли контрольное титрование вируса без соединений. Учет результатов титрования проводили визуально путем микроскопического исследования клеточного монослоя на наличие характерного ЦПД на 5-е сутки после заражения.

Титр вируса SARS-CoV-2 определяли по конечной точке проявления ЦПД в культуре клеток Vero-E6, рассчитывали по методике Кербера и выражали в lg ТЦД₅₀/мл. На основании значений титра вируса в присутствии ряда последовательно уменьшающихся концентраций соединений вычисляли 50 % эффективную концентрацию (EC50) и отношение МПК к EC50. EC50 вычисляли с помощью Quest Graph™ EC50 Calculator (AAT Bioquest Inc., Feb. 2023, <https://www.aatbio.com/tools/ec50-calculator>).

Результаты и обсуждение

В ходе работы для поиска потенциальных противовирусных препаратов использовали ряд структурно диверсифицированных новых производных адамантана, гомоадамантана, бицикло[3.3.1]нонана, содержащих различные карбо- и гетероциклические системы, соединенные с каркасным фрагментом.

Для каждого соединения определили безопасный рабочий диапазон концентраций для культуры клеток Vero-E6 (табл. 2).

В клеточных контролях (отрицательных контролях) не отмечено цитотоксических изменений, а также нарушений клеточного монослоя. При цитотоксичности соединений отмечались клетки округлой формы и морфологически значительно отличающиеся от клеточного контроля. В лунках с более высокими концентрациями наблюдалось частичное или полное разрушение клеточного монослоя.

Соединения № 828, 13021, 14868, 14872, 14876, 14877, 14878, 14879, 14880, 15141, 15143, 15145 и 15147 в концентрации 100,0 мкг/мл полностью разрушали монослой культуры клеток Vero-E6. Более токсичными для культур клеток оказались соединения № 14876, 14877, 14878, 15141 и 15143. МПК для культуры клеток Vero-E6 составила 0,25; 0,05; 0,1; 3,5 и 3,0 мкг/мл соответственно. Более низкой токсичностью обладало соединение № 9664, величина МПК которого составила 400,0 мкг/мл.

В результате проведенных исследований 50 полициклических производных каркасного ряда выявлено два соединения с антивирусными свойствами в отношении вируса SARS-CoV-2.

Среди производных бицикло[3.3.1]нонана, содержащих гетероциклические фрагменты, ингибирующее действие в отношении вируса SARS-CoV-2 показало соединение № 15144. Защитное действие соединения проявлялось в МПК (70,0 мкг/мл) и ½ МПК (35,0 мкг/мл). Обнаружено снижение титров вируса под воздействием МПК на 0,95 lg ТЦД₅₀/мл, в ½ МПК (35 мкг/мл) – на 0,35 lg ТЦД₅₀/мл. Значение EC50 соединения № 15144 составило 64,0 мкг/мл, отношение МПК/EC50 – 1,09.

Менее выраженной антивирусной активностью обладало соединение № 14838 (производное адамантана, содержащее карбоциклические фрагменты). В результате исследований установлено, что образец № 14838 в дозе МПК (45,0 мкг/мл) снижает инфекционный титр на 0,78 lg ТЦД₅₀/мл, в ½ МПК (22,5 мкг/мл) – на 0,15 lg ТЦД₅₀/мл по сравнению с контролем. Значение EC50 соединения № 14838 составило 37,0 мкг/мл, отношение МПК/EC50 – 1,22.

При дальнейшем уменьшении исследуемых концентраций соединений различий в титре вируса с необработанным контролем не установлено.

Данные соединения перспективны для разработки противовирусных средств и могут быть использованы в качестве интермедиатов в синтезе новых биологически активных соединений. Также рассматривается возможность изучения вирусингибирующей активности структур лидеров в отношении других вирусов, геном которых кодирует белки, реализующие функцию ионных каналов.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Финансирование. Работа выполнена в рамках международного проекта НИР «Рациональный дизайн производных гомоадамантина и бицикло[3.3.1]нона как ингибиторов геликазы nsp13 SARS-CoV-2» Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (БРФФИ) (договор от 01.07.2021 № M21PM-089) и Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) (проект Бел_мол_а 20-53-04035).

References / Список литературы

1. Dinesh D.C., Chalupska D., Silhan J., Koutna E., Nencka R., Veverka V., Boura E. Structural basis of RNA recognition by the SARS-CoV-2 nucleocapsid phosphoprotein. *PLoS Pathog.* 2020; 16(12):e1009100. DOI: 10.1371/journal.ppat.1009100.
2. Yang H., Rao Z. Structural biology of SARS-CoV-2 and implications for therapeutic development. *Nat. Rev. Microbiol.* 2021; 19(11):685–700. DOI: 10.1038/s41579-021-00630-8.
3. Giovanetti M., Benedetti F., Campisi G., Ciccozzi A., Fabris S., Ceccarelli G., Tambone V., Caruso A., Angeletti S., Zella D., Ciccozzi M. Evolution patterns of SARS-CoV-2: Snapshot on its genome variants. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2021; 538:88–91. DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.10.102.
4. Fam M.S., Sedky C.A., Turkey N.O., Breitingner H.G., Breitingner U. Channel activity of SARS-CoV-2 viroporin ORF3a inhibited by adamantanes and phenolic plant metabolites. *Sci. Rep.* 2023; 13(1):5328. DOI: 10.1038/s41598-023-31764-9.
5. Wang Y., Zhang Y., Chen J., Wang M., Zhang T., Luo W., Li Y., Wu Y., Zeng B., Zhang K., Deng R., Li W. Detection of SARS-CoV-2 and its mutated variants via CRISPR-Cas13-based transcription amplification. *Anal. Chem.* 2021; 93(7):3393–402. DOI: 10.1021/acs.analchem.0c04303.
6. Heinen N., Meister T.L., Klöhn M., Steinmann E., Todt D., Pfaender S. Antiviral effect of budesonide against SARS-CoV-2. *Viruses.* 2021; 13(7):1411. DOI: 10.3390/v13071411.
7. Sharun K., Tiwari R., Dhama K., Emran T.B., Rabaan A.A., Al Mutair A. Emerging SARS-CoV-2 variants: impact on vaccine

efficacy and neutralizing antibodies. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2021; 17(10):3491–4. DOI: 10.1080/21645515.2021.1923350.

8. Khoshkam Z., Aftabi Y., Stenvinkel P., Paige Lawrence B., Rezaei M.H., Ichihara G., Fereidouni S. Recovery scenario and immunity in COVID-19 disease: A new strategy to predict the potential of reinfection. *J. Adv. Res.* 2021; 31:49–60. DOI: 10.1016/j.jare.2020.12.013.

9. Butterworth R.F. Adamantanes for the treatment of neurodegenerative diseases in the presence of SARS-CoV-2. *Front. Neurosci.* 2023; 17:1128157. DOI: 10.3389/fnins.2023.1128157.

10. Fink K., Nitsche A., Neumann M., Grossegeisse M., Eisele K.H., Danysz W. Amantadine inhibits SARS-CoV-2 *in vitro*. *Viruses.* 2021; 13(4):539. DOI: 10.3390/v13040539.

11. Habtemariam S., Nabavi S.F., Banach M., Berindan-Neagoe I., Sarkar K., Sil P.C., Nabavi S.M. Should we try SARS-CoV-2 helicase inhibitors for COVID-19 therapy. *Arch. Med. Res.* 2020; 51(7):733–5. DOI: 10.1016/j.arcmed.2020.05.024.

12. Jia Z., Yan L., Ren Z., Wu L., Wang J., Guo J., Zheng L., Ming Z., Zhang L., Lou Z., Rao Z. Delicate structural coordination of the Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus Nsp13 upon ATP hydrolysis. *Nucleic Acids Res.* 2019; 47(12):6538–50. DOI: 10.1093/nar/gkz409.

13. Newman J.A., Douangamath A., Yadzani S., Yosaatmadja Y., Aimon A., Brandão-Neto J., Dunnett L., Gorrie-Stone T., Skyner R., Fearon D., Schapira M., von Delft F., Gileadi O. Structure, mechanism and crystallographic fragment screening of the SARS-CoV-2 NSP13 helicase. *Nat. Commun.* 2021; 12(1):4848. DOI: 10.1038/s41467-021-25166-6.

14. Chen J., Wang Q., Malone B., Llewellyn E., Pechersky Y., Maruthi K., Eng E.T., Perry J.K., Campbell E.A., Shaw D.E., Darst S.A. Ensemble cryo-EM reveals conformational states of the nsp13 helicase in the SARS-CoV-2 helicase replication-transcription complex. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2022; 29(3):250–60. DOI: 10.1038/s41594-022-00734-6.

15. Sarafianos S.G., Adedeji A.O. Suppression of SARS Replication by SARS Helicase Inhibitors. Patent No. US20140005241, publ. 19.12.2013. Publ. No. WO2013/188887.

Authors:

Zaleuskaya O.S., Semyonov S.F., Rodionova L.P., Klimovich O.V., Liutina Ya.V., Kras'ko A.G. Republican Scientific and Practical Center of Epidemiology and Microbiology. 23, Filimonova St., Minsk, 220114, Republic of Belarus. E-mail: rrpem@belriem.by, office@belriem.by.

Shiryayev V.A., Klimochkin Yu.N., Leonova M.V. Samara State Technical University. 244, Molodogvardeyskaya St., Samara, 443100, Russian Federation. E-mail: dcfs@samgtu.ru.

Об авторах:

Залевская О.С., Семенов С.Ф., Родионова Л.П., Климович О.В., Лютина Я.В., Красько А.Г. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии. Республика Беларусь, 220114, Минск, ул. Филимонова, 23. E-mail: rrpem@belriem.by, office@belriem.by.

Ширяев В.А., Климошкин Ю.Н., Леонова М.В. Самарский государственный технический университет. Российская Федерация, 443100, Самара, ул. Молодогвардейская, 244. E-mail: dcfs@samgtu.ru.