

# Экспериментальное обоснование перепрофилирования лекарственного препарата Максар® для лечения вирусных инфекций

\*Т. С. ЗАПОРОЖЕЦ<sup>1</sup>, Н. В. КРЫЛОВА<sup>1</sup>, С. А. ФЕДОРЕЕВ<sup>2</sup>, О. В. ИУНИХИНА<sup>1</sup>,  
А. Б. ПОТТ<sup>1</sup>, Д. В. ТАРБЕЕВА<sup>2</sup>, Н. П. МИЩЕНКО<sup>2</sup>, М. Ю. ЩЕЛКАНОВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия

<sup>2</sup> ФГБУН «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова» ДВО РАН, Владивосток, Россия

## Experimental Justification of Reprofiting of the Drug Maxar® for the Treatment of Viral Infections

\*TATIANA S. ZAPOROZHETS<sup>1</sup>, NATALYA V. KRYLOVA<sup>1</sup>, SERGEY A. FEDOREYEV<sup>2</sup>,  
OLGA V. IUNIKHINA<sup>1</sup>, ANASTASIA B. POTT<sup>1</sup>, DARYA V. TARBEEVA<sup>2</sup>,  
NATALIA P. MISHCHENKO<sup>2</sup>, MICHAEL YU. SHCHELKANOV<sup>1</sup>

<sup>1</sup> G. P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Rospotrebnadzor, Vladivostok, Russia

<sup>2</sup> G. B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

### Резюме

**Актуальность.** Разработка высокоэффективных противовирусных средств широкого спектра действия является одной из приоритетных задач медицины, вирусологии и фармакологии. Наряду с существенным прогрессом в этой области, обусловленным использованием новейших технологий для идентификации мишеней, обнаружения и оптимизации соединения-лидера, биологического тестирования, определённое место занимает стратегия перепрофилирования (репозиционирования) зарегистрированных лекарственных средств, которые могут быть использованы по новому назначению. Преимущества репозиционирования заключаются, в числе прочего, в снижении затрат времени и средств на часть необходимых этапов исследований. **Цель:** исследование противовирусной активности полифенольного комплекса (ПФК) из *Maackia amurensis*, активной субстанции лекарственного препарата Максар®, для расширения области медицинского применения препарата. **Материал и методы.** Противовирусную активность ПФК в отношении вируса простого герпеса I типа (HSV-1) и энтеровируса В (ECHO-1), выращенных на культуре клеток Vero, оценивали по ингибированию цитопатогенного действия (ЦПД) вируса с помощью МТТ-теста. **Результаты.** ПФК из древесины *Maackia amurensis* эффективно предотвращает прикрепление HSV-1 и ECHO-1 к клеткам Vero и проявляет высокую активность, инактивируя вирусные частицы и ингибируя раннюю стадию репликации вирусов. **Заключение.** Полученные данные расширяют спектр фармакологической активности лекарственного средства Максар® и определяют необходимость дальнейших исследований этого препарата *in vivo* для установления его противовирусных свойств в экспериментах на животных. Окончательный вывод, связанный с эффективностью и безопасностью препарата Максар® можно будет сделать по результатам контролируемых рандомизированных клинических испытаний со значимыми клиническими результатами.

**Ключевые слова:** противовирусная активность; полифенолы; герпесвирус; энтеровирус; перепрофилирование лекарств

**Для цитирования:** Запорожец Т. С., Крылова Н. В., Федореев С. А., Иунихина О. В., Потт А. Н., Тарбеева Д. В., Мищенко Н. П., Щелканов М. Ю. Экспериментальное обоснование перепрофилирования лекарственного препарата Максар® для лечения вирусных инфекций. *Антибиотики и химиотерапия*. 2023; 68 (5–6): 4–10. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-5-6-4-10>.

### Abstract

**Relevance.** The development of highly effective broad-spectrum antiviral agents is one of the priorities in medicine, virology, and pharmacology. The strategy of repurposing (repositioning) registered drugs is of special interest along with significant progress in this area due to the use of the latest technologies for target identification, discovery and optimization of the lead compound, biological testing. The advantages of repositioning are, among other things, in reducing the time and cost of some of the necessary stages of research. **The aim** of the work is to study the antiviral activity of the polyphenol complex (PPC) from *Maackia amurensis*, the active substance of the drug Maksar®, as well as to expand the field of medical application of the drug. **Material and methods.** The antiviral activity of PPC against herpes simplex virus type I (HSV-1) and enterovirus B (ECHO-1) grown on Vero cell culture was assessed by inhibition of the cytopathogenic

effect (CPE) of the virus using the MTT assay. **Results.** PFC from *Maackia amurensis* wood effectively prevents the attachment of HSV-1 and ECHO-1 to Vero cells and exhibits high activity, exerting a virucidal effect, as well as inhibiting the early stage of viral particle replication. **Conclusion.** The data obtained expand the spectrum of pharmacological activity of Maxar® and determine the need for further studies of this drug *in vivo* to establish its antiviral properties in animal experiments. The final conclusion related to efficacy and safety can be drawn from the results of controlled randomized clinical trials with significant clinical results.

**Keywords:** antiviral activity; polyphenols; herpesviruses; enteroviruses; drug repurposing

**For citation:** Zaporozhets T. S., Krylova N. V., Fedoreev S. A., Iunikhina O. V., Pott A. N., Tarbeeva D. V., Mishchenko N. P., Shchelkanov M. Yu. Experimental justification of reprofiling of the drug Maxar® for the treatment of viral infections. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2023; 68 (5–6): 4–10. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-5-6-4-10>.

## Введение

Несмотря на очевидный прогресс в области контроля за вирусными инфекциями, до настоящего времени для многих из них нет профилактических вакцин и эффективных методов лечения. В этой связи поиск новых противовирусных субстанций продолжает оставаться актуальным. Один из подходов к разработке противовирусных препаратов направлен на изучение вируса и идентификацию конкретного вирусного белка в качестве лекарственной мишени с целью ограничения потенциальной токсичности и повышения эффективности препарата. Второй — предполагает создание противовирусных препаратов широкого спектра действия, которые нацелены на критические белки, принадлежащие различным вирусам или критическим клеточным процессам, используемым различными вирусами [1].

В качестве перспективных соединений такого плана рассматриваются растительные природные соединения, такие как полисахариды, сапонины, тиосульфиды, глюкозинолаты, терпеноиды и полифенолы [2]. Среди них полифенолы проявляют наибольшую эффективность в отношении вирусов различных таксономических групп [3]. Доказана их способность предотвращать прикрепление вируса к клеточной поверхности, связывать рецепторы на вирусных частицах, препятствуя межклеточному распространению, снижать экспрессию генов, блокировать синтез белка и ингибировать вызванную вирусом активацию факторов транскрипции, подавлять репликацию, изменять структуру вируса [4].

Широкий спектр механизмов действия полифенолов, низкая токсичность при достаточно высокой эффективности и отсутствие побочных эффектов на здоровье человека определяют возможности их использования в стратегиях лечения и профилактики вирусных инфекций [4]. Вместе с тем промежуток времени между открытием препарата и клиническим одобрением может быть долгим. В этой связи, альтернативным подходом к выявлению новых противовирусных препаратов может стать репрофилирование существующих или исследуемых лекарств, пре-

паратов-кандидатов и биологически активных молекул различного происхождения, существенно сокращающее время и затраты на вывод потенциального противовирусного агента на рынок [5]. Репрофилирование лекарственного препарата при отсутствии ранее выявленной противовирусной активности должно основываться на структурном сходстве с соединениями, обладающими подобной активностью и действующими против мишеней, необходимых для репликации вируса и/или участия в патогенезе вирусной инфекции.

В ТИБОХ им. Г. Б. Елякова на основе полифенольного комплекса (ПФК), полученного из дальневосточного растения маакии амурской *Maackia amurensis* разработан и зарегистрирован гепатопротективный лекарственный препарат Максар® (регистрационный номер Р N003294/01). В состав ПФК входят свыше 20 полифенолов, основными из которых являются изофлавоны, птерокарпаны, флаваноны, изофлавананы, изофлаваноны, халконы, лигнаны, мономерные и димерные стильбены [6]. Максар® усиливает антиоксидантную защиту организма, снижает уровень перекисного окисления липидов, обладает антиагрегантными, противоопухолевыми и противовоспалительными свойствами [6], эффективен при лечении жировой дистрофии печени [7]. Показана эффективность Максара® при лечении вирусных гепатитов, обусловленная его иммуномодулирующим действием на факторы врожденного и адаптивного иммунитета, сопровождающимся улучшением функции Т- и В-клеток [8]. Однако прямое влияние ПФК маакии амурской на репликацию вирусов не изучалось.

В настоящей работе проведено исследование противовирусной активности ПФК из *Maackia amurensis* с целью возможного применения лекарственного препарата Максар® для лечения инфекций, вызванных РНК- и ДНК-вирусами.

## Материал и методы

Экспериментальные исследования проведены на базе лабораторий респираторных и зоонозных инфекций ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова».

**Вирусы и культура клеток.** В работе использовали вирус простого герпеса I типа (*Herpes simplex virus type 1* —

HSV-1)<sup>1</sup> (*Herpesviridae: Alphaherpesvirinae: Simplexvirus: Human alphaherpesvirus 1*) и энтеровирус В серотип ECHO 1 (*Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus B: echovirus 1* — ECHO-1)<sup>2</sup>. Выбор этих вирусов в качестве модели для оценки противовирусных свойств ПФК, помимо прочего, определялся их принадлежностью к двум типам — оболочечным (HSV-1) и безоболочечным (ECHO-1) вирусам, и содержащим различные типы генной нуклеиновой кислоты: ECHO-1 — одноцепочечную РНК, HSV-1 — двухцепочечную ДНК. Культуру клеток Vero<sup>3</sup> выращивали на питательной среде DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, ООО «Биолот», Санкт-Петербург, Россия) с добавлением 7% эмбриональной телячьей сыворотки (ООО «Биолот», Санкт-Петербург, Россия), 100 Ед/мл гентамицина при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. В качестве поддерживающей среды использовали ту же смесь, но с добавлением 1% сыворотки и гентамицина. Концентрация клеток в экспериментах составляла — 1×10<sup>4</sup> кл/мл.

**Исследуемые соединения.** ПФК — активная субстанция лекарственного гепатопротекторного препарата Максар® [6, 7]. В качестве референсных препаратов использовали Ацикловир® (Глаксо Смит Кляйн Фармасьютикалз С. А., Польша) и Рибавирин® (Sigma-Aldrich, США) — препараты выбора, используемые при инфекциях, вызванных HSV-1 и ECHO-1, соответственно. ПФК и референс-препараты растворяли в диметилсульфоксиде (DMSO, ООО «Биолот», Санкт-Петербург, Россия), стоковые растворы (10 мг/мл) хранили при –20°C. Рабочие растворы готовили путём разведения стоковых растворов средой DMEM до конечной концентрации DMSO 0,5%.

**Цитотоксичность исследуемых соединений** оценивали по влиянию на жизнеспособность клеток Vero с помощью МТТ-теста, основанного на способности митохондриальных дегидрогеназ превращать водорастворимый метилтиазолилдифенил-тетразолиум бромид (МТТ) в нерастворимый формазан [9]. Монослой клеток (1×10<sup>4</sup> клеток/лунку), выращенных в 96-луночных планшетах (Nunclon Delta), культивировали в присутствии ПФК и референс-препаратов в концентрациях от 5 до 2000 мкг/мл при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> в течение 3 сут в среде DMEM; необработанные клетки использовали в качестве отрицательного контроля. К клеткам добавляли раствор МТТ (Sigma, Saint-Louis, MO, USA) в концентрации 5 мг/мл и инкубировали при 37°C в течение 2 ч. Затем среду удаляли, образовавшийся формазан растворяли изопропанолом. Оптическую плотность (ОП) измеряли на микропланшетном ридере ELISA (Labsystems Multiskan RC, Vantaa, Финляндия) при длине волны 540 нм. Жизнеспособность клеток рассчитывали по формуле (Оп<sub>о</sub>)/(Оп<sub>к</sub>)×100%, где Оп<sub>о</sub> и Оп<sub>к</sub> соответствуют оптической плотности клеток, обработанных исследуемым соединением, и клеток, инкубированных в среде без препарата.

**Противовирусную активность исследуемых соединений** оценивали по ингибированию цитопатогенного действия (ЦПД) вируса с помощью МТТ-теста. Монослой клеток Vero, выращенный в 96-луночных планшетах (1×10<sup>4</sup> клеток/лунку), заражали вирусами (HSV-1 и ECHO-1) в инфицирующей дозе 100 ТЦИД<sub>50</sub>/мл (50% тканевая цитопатическая инфекционная доза). Тестируемые соединения добавляли в концентрациях от 1 до 500 мкг/мл по нескольким схемам, каждая из которых выполнена в трёх независимых повторах с использованием триплетов различных концентраций соединений:

- Предварительная обработка вируса соединениями (вирулицидное действие). Вирусную суспензию инкубировали с соединениями (1:1, v/v) в течение 1 ч при 37°C, затем этой смесью инфицировали монослой клеток 1 ч при 37°C. Затем

клетки промывали и инкубировали в течение 72 ч при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> до появления ЦПД.

- Предварительная обработка клеток соединениями (профилактическое действие). Монослой клеток обрабатывали соединениями 1 ч при 37°C, затем инфицировали вирусом в течение 1 ч. Клетки промывали от неадсорбированного вируса и инкубировали в течение 72 ч при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> до появления ЦПД.

- Одновременная обработка клеток вирусом и соединениями. Монослой клеток инфицировали вирусом и одновременно вносили соединения (1:1, v/v) в течение 1 ч при 37°C. Клетки промывали и инкубировали в течение 72 ч при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> до появления ЦПД.

- Обработка инфицированных клеток соединениями (вирусингибирующее действие). Монослой клеток инкубировали с вирусом 1 ч при 37°C, удаляли неадсорбированный вирус и вносили питательную среду, содержащую разные концентрации исследуемых соединений, и инкубировали в течение 72 ч при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> до появления ЦПД.

Оценка противовирусной активности осуществлялась с учётом степени подавления (IR) цитопатогенного действия вирусов соединением, а также по 50% ингибирующей концентрации (IC<sub>50</sub>) и селективному индексу (SI). IR рассчитывали по формуле:  $IR = (ОП_{tv} - ОП_{cv}) / (ОП_{cd} - ОП_{cv}) \times 100\%$ , где ОП<sub>tv</sub> соответствует оптической плотности инфицированных клеток, обработанных соединением; ОП<sub>cv</sub> — оптической плотности контрольных инфицированных клеток, ОП<sub>cd</sub> — оптической плотности контрольных (неинфицированных) клеток. Ингибирующую концентрацию (IC<sub>50</sub>), снижающую на 50% вирус-индуцированное ЦПД, рассчитывали с помощью регрессионного анализа кривых доза-эффект, SI вычисляли как отношение CC<sub>50</sub> к IC<sub>50</sub>. [10]

**Статистическую обработку результатов** проводили с помощью программы STATISTICA, version 10.0 (StatSoft, Inc.). Для сравнения количественных показателей между группами использовали непараметрический критерий W Вилкоксона. Расчёт 50% ингибирующей концентрации (IC<sub>50</sub>) и индекса селективности (SI = CC<sub>50</sub>/IC<sub>50</sub>) выполняли с помощью регрессионного анализа дозозависимых кривых [11]. Различия считались значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Клеточный анализ, направленный на получение информации об острой цитотоксичности потенциальных препаратов и выявление ингибирующего эффекта по отношению к нескольким тестируемым патогенам, является альтернативой методу скрининга на основе мишени. При оценке цитотоксического действия ПФК и референс-препаратов было установлено, что при длительной 72-часовой экспозиции исследуемые препараты оказывают дозозависимое ингибирование интенсивности клеточного дыхания, регистрируемое по снижению суммарной активности митохондриальных дегидрогеназ в МТТ-тесте. С помощью регрессионного анализа были рассчитаны цитотоксические концентрации, снижающие жизнеспособность

<sup>1</sup> Штамм L2 вируса простого герпеса 1 типа (HSV-1), получен из Государственной коллекции вирусов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России.

<sup>2</sup> Штамм IP91 энтеровируса В получен из коллекции ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН», Москва, Россия.

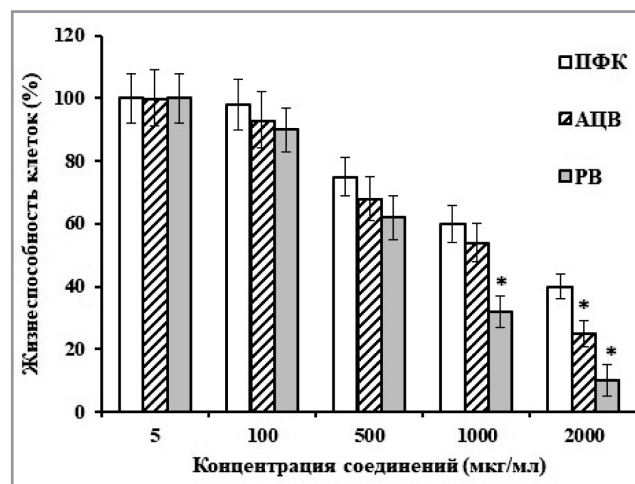
<sup>3</sup> Эпителиальные клетки почек африканской зелёной марышки *Chlorocebus aethiops*, получены из коллекции клеточных культур ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России



клеток на 50% по сравнению с контрольными (необработанными) клетками ( $CC_{50}$ ). Для ПФК значения  $CC_{50}$  составили  $1212 \pm 133$  мкг/мл, для ацикловира —  $1157 \pm 125$  мкг/мл, для рибавирина —  $730 \pm 88$  мкг/мл. Эти данные свидетельствуют о меньшей токсичности ПФК по отношению к клеткам Vero в сравнении с референс-препаратами.

Значимые различия между показателями цитотоксичности ПФК и референс-препаратами ( $p \leq 0,05$ ) наблюдались при концентрациях соединений выше 500 мкг/мл. Так, при использовании ПФК в концентрации 1000 мкг/мл выживало около  $64 \pm 8,0\%$  клеток, в то время как жизнеспособность клеток, обработанных рибавирином и ацикловиром в такой же концентрации, составила  $32 \pm 5\%$  ( $p < 0,05$ ) и  $55,3 \pm 5,5\%$ , соответственно. При увеличении концентрации исследуемых препаратов до 2000 мкг/мл выживало  $44 \pm 5,0\%$  (ПФК),  $30 \pm 4,0\%$  (ацикловир) ( $p < 0,05$ ) и  $23,6 \pm 5,8\%$  (рибавирин) ( $p < 0,05$ ) клеток (рисунок). Поэтому для корректного сравнения противовирусной активности препаратов дальнейшее изучение проводили при концентрациях, обеспечивающих жизнеспособность клеток не менее 70% (менее 500 мкг/мл).

Результаты оценки противовирусной активности исследуемых препаратов представлены в таблице. Одновременное воздействие различных концентраций ПФК (от 5 до 500 мкг/мл) на вирус (как HSV-1, так и ECHO-1, при инфицирующей дозе 100 ТЦИД<sub>50</sub>/мл) и клетки Vero было наиболее



**Влияние соединений на жизнеспособность клеток Vero (по результатам трёх экспериментов).**

**Примечание.** ПФК — полифенольный комплекс; АЦВ — ацикловир; РВ — рибавирин; \* — статистически значимые различия между показателями ПФК и референс-препаратами ( $p \leq 0,05$ ).

**The effect of compounds on the viability of Vero cells (based on the results of three experiments).**

**Note.** ПФК — polyphenol complex; АЦВ — acyclovir; РВ — ribavirin; \* — statistically significant differences between PFC and reference drugs ( $P \leq 0.05$ ).

Противовирусная активность полифенольного комплекса из *Maackia amurensis* в отношении герпесвируса (HSV-1) и энтеровируса В (ECHO-1)  
Antiviral activity of the polyphenol complex from *Maackia amurensis* against herpesvirus (HSV-1) and enterovirus B (ECHO-1)

| Вirus  | Соединения | $CC_{50}$<br>(мкг/мл) | Предобработка           |                | Предобработка               |                | Одновременная обработка  |                  | Обработка                    |                 |
|--------|------------|-----------------------|-------------------------|----------------|-----------------------------|----------------|--------------------------|------------------|------------------------------|-----------------|
|        |            |                       | вируса                  |                | клеток                      |                | клеток вирусом           |                  | инфицированных               |                 |
|        |            |                       | (вирулицидное действие) |                | (профилактическое действие) |                | (одновременное действие) |                  | (вирусингибирующее действие) |                 |
|        |            |                       | $IC_{50}$<br>(мкг/мл)   | SI             | $IC_{50}$<br>(мкг/мл)       | SI             | $IC_{50}$<br>(мкг/мл)    | SI               | $IC_{50}$<br>(мкг/мл)        | SI              |
| HSV-1  | ПФК        | $1212 \pm 133$        | $16,5 \pm 2,1$          | $78,2 \pm 8,5$ | $102 \pm 15,3$              | $11,9 \pm 1,2$ | $13,9 \pm 1,7$           | $87,2 \pm 10,1$  | $19 \pm 2,5$                 | $63,8 \pm 6,8$  |
|        | Ацикловир  | $1157 \pm 125$        | Нет активности          | Нет активности | Нет активности              | Нет активности | $10,8 \pm 1,2$           | $107,1 \pm 13,9$ | $1,7 \pm 0,2^*$              | $680 \pm 65^*$  |
| ECHO-1 | ПФК        | $1212 \pm 133$        | $28,8 \pm 3,7$          | $42,1 \pm 4,8$ | $190,6 \pm 21$              | $6,3 \pm 0,6$  | $23,1 \pm 3,1$           | $52,5 \pm 6,3$   | $35,8 \pm 4,6$               | $33,8 \pm 3,4$  |
|        | Рибавирин  | $730 \pm 88$          | Нет активности          | Нет активности | Нет активности              | Нет активности | $511 \pm 66^*$           | $1,4 \pm 0,2^*$  | $485 \pm 58^*$               | $1,5 \pm 0,2^*$ |

**Примечание.** Значения представлены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение.  $CC_{50}$  (мкг/мл) — 50% цитотоксическая концентрация;  $IC_{50}$  (мкг/мл) — концентрация, ингибирующая на 50% вирус-индуцированное ЦПД; SI — индекс селективности ( $CC_{50}/IC_{50}$ ); \* — значимость различий между показателями ПФК и соответствующим референсным препаратом ( $p \leq 0,05$ ).

**Note.** The values are presented as mean  $\pm$  standard deviation.  $CC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) — 50% cytotoxic concentration;  $IC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) — the concentration that inhibits 50% of virus-induced cytopathogenic effect; SI — the selectivity index ( $CC_{50}/IC_{50}$ ); \* — significance of differences between PFC and corresponding reference drug ( $P \leq 0.05$ ).

эффективным. При такой схеме применения, ПФК эффективно предотвращает прикрепление вирусов к клеткам со значениями  $IC_{50}$  —  $13,9 \pm 1,7$  мкг/мл и  $23,1 \pm 3,1$  мкг/мл в отношении HSV-1 и ЕСНО-1 и значениями SI, характеризующими эффективность действия препарата —  $87,2 \pm 10,1$  и  $52,5 \pm 6,3$ , соответственно. Действие ПФК по отношению к HSV-1 было сопоставимо с действием референс-препарата ацикловир ( $p > 0,05$ ) и значимо превышало эффективность рибавирина по отношению к ЕСНО-1 ( $SI = 52,5 \pm 6,3$  и  $SI = 1,4 \pm 0,2$ , соответственно) ( $p \leq 0,05$ ).

В то же время ПФК проявлял высокую вирулицидную активность при воздействии непосредственно на HSV-1 ( $IC_{50} = 16,5 \pm 2,1$  мкг/мл;  $SI = 78,2 \pm 8,5$ ) и умеренную — по отношению к ЕСНО-1 ( $IC_{50} = 28,8 \pm 3$ ;  $SI > 42 \pm 4,8$ ), тогда как предварительная обработка вирусов ацикловиром или рибавирином вирулицидного эффекта не оказывала (см. таблицу).

При применении ПФК после адсорбции и проникновения вирусов в клетки (через 1 ч после инфицирования) регистрировалось умеренное ингибирование репликации HSV-1 ( $SI > 63$ ) и ЕСНО-1 ( $SI > 33$ ). Отметим, что рибавирин был неэффективен по отношению к ЕСНО-1 ( $SI = 1,5$ ) при достаточно высокой ингибирующей концентрации ( $IC_{50} = 485 \pm 58$  мкг/мл).

Предварительная обработка клеток Vero ПФК до инфицирования HSV-1 и ЕСНО-1 (профилактическое действие) была малоэффективной. Ацикловир и рибавирин при таком способе применения также не защищали клетки от вирусов.

Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что механизмы, лежащие в основе антивирусной активности ПФК из древесины *Maackia amurensis*, могут быть связаны с блокированием адсорбции вируса к клеткам, прямым повреждением вирусных частиц и ингибированием ранней стадии репликации вирусов. Ряд авторов сообщает о непосредственном взаимодействии растительных полифенолов с вирусными частицами, подчёркивая, что степень связывания с поверхностными компонентами зависит от природы вируса [12, 13]. В частности, эти различия могут определяться наличием или отсутствием вирусной оболочки. Оболочечные вирусы проникают в клетку, используя либо механизм эндоцитоза и освобождение от оболочки при слиянии везикулы в эндосоме, либо прямо сливаясь с плазматической мембраной клетки. Простые вирусы (безоболочечные), в том числе энтеровирусы, используют первый путь, связываясь с рецепторами клеточной поверхности [14]. Наличие белково-липидной оболочки делает оболочечные вирусы более восприимчивыми к противовирусным средствам [15]. Это положение справедливо, в том числе, для рас-

тительных препаратов, демонстрирующих большую противовирусную эффективность против оболочечных вирусов [3]. В нашем исследовании  $IC_{50}$  ПФК, обеспечивающий снижение на 50% цитопатогенного действия ЕСНО-1 во всех вариантах применения, был выше  $IC_{50}$  для HSV-1, также свидетельствуя в пользу того, что для ингибирования инфекционности безоболочечных вирусов требуются более высокие концентрации соединений, обладающих вирулицидным действием, чем для инактивации более сложных по структуре оболочечных вирусов. Тем не менее, прямое вирулицидное действие ПФК, связанное с воздействием на белковый капсид энтеровируса, защищающий нуклеиновую кислоту, может затруднять его связывание с клеточными рецепторами и адсорбцию на поверхности клеток. Так, например, было обнаружено, что противовирусное действие препаратов, инактивирующих небольшие кишечные вирусы, в том числе пикорновирусы, во многих случаях не затрагивает вирусную РНК и связано с деградацией капсида [12]. Вместе с тем денатурация/деградация вирусной нуклеиновой кислоты после распада капсида также рассматривается в качестве возможной мишени полифенолов [3].

Стоит отметить, что, несмотря на невысокую эффективность ПФК при предварительной обработке клеток Vero, определённый вклад этого действия в сочетании с прямым воздействием на вирусы обеспечивало более выраженное подавление репликации. Отчасти это может быть связано с тем, что полифенолы противостоят проокислительному состоянию, индуцированному в клетках репликацией вирусов [16]. Кроме того, определённое значение могут иметь противовирусные стратегии полифенолов, нацеленные на взаимодействие между вирусами и клеточными мембранами, основанные на фенольно-белковых, электростатических, ковалентных и/или нековалентных взаимодействиях (гидрофобных, водородных связях, ван-дер-ваальсовых взаимодействиях), стерических силах отталкивания, ионном мостиковом и диполь/заряд-диполь взаимодействиях [17]. На молекулярном уровне полифенолы могут оказывать противовирусное действие во время внутриклеточной репликации, модулируя регуляцию клеточных событий, передачу сигналов путей и метаболических процессов за счёт взаимодействия с функциональными белками, такими как внутриклеточные ферменты, транскрипционные факторы, рецепторы и другие функциональные белки через многоцелевой механизм [17, 18].

## Выводы

ПФК из древесины маакии амурской *Maackia amurensis*, активной субстанции лекарственного препарата Максар® обладает меньшей токсич-

ностью по отношению к клеткам Vero в сравнении с референс-препаратами.

Действие ПФК связано с предотвращением проникновения вирусов HSV-1 и ЕСНО-1 в клетку-хозяина и ингибированием ранней стадии репликации вирусов.

ПФК наиболее активно блокирует цитопатогенное действие оболочечного ДНК-содержащего вируса (HSV-1).

Способность ПФК действовать против вирусов, относящихся к различным типам (РНК-содержащие, ДНК-содержащие, оболочечные, безоболочечные) указывает на потенциальную возможность использования лекарственного препарата Максар® для лечения широкого спектра вирусных инфекций.

## Заключение

ПФК из древесины *Maackia amurensis* эффективно предотвращает прикрепление HSV-1 и ЕСНО-1 к клеткам Vero и проявляет высокую активность, оказывая вирулицидное действие, а также ингибируя раннюю стадию репликации вирусов. Блокировка ранних стадий вирусной ин-

фекции является привлекательной терапевтической стратегией, преимущество которой состоит в предотвращении распространения вируса, не уничтожая инфицированные клетки. Полученные данные расширяют спектр фармакологической активности лекарственного препарата Максар® и определяют необходимость дальнейших исследований ПФК *in vivo* для установления первичного фармакодинамического эффекта у животных. Окончательный вывод, связанный с эффективностью и безопасностью можно будет сделать по результатам контролируемых рандомизированных клинических испытаний со значимыми клиническими результатами.

## Дополнительная информация

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного задания по теме НИР «Биологически активные вещества из морских гидробионтов Тихого Океана как основа для разработки лекарственных препаратов для профилактики и лечения инфекционных заболеваний» АААА-А19-119011090004-4.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Литература/References

- Geraghty R.J., Aliota M.T., Bonnac L.F. Broad-spectrum antiviral strategies and nucleoside analogues. *Viruses*. 2021; 13 (4): 667–679. doi: 10.3390/v13040667.
- Bright K.R., Gilling D.H. Natural virucidal compounds in foods. *Viruses in Foods*. 2016; 26: 449–469. doi: 10.1007/978-3-319-30723-7\_16.
- Montenegro-Landivar M.F., Tapia-Quirós P., Vecino X., Reig M., Valderrama C., Granados M. et al. Polyphenols and their potential role to fight viral diseases: An overview. *Sci Total Environ*. 2021; 20: 801: 149719. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.149719.
- Chojnacka K., Skrzypczak D., Izydorczyk G., Mikula K., Szopa D., Witek-Krowiak A. Antiviral properties of polyphenols from plants. *Foods*. 2021; 10 (10): 2277–2783. doi: 10.3390/foods10102277.
- Namasivayam V., Palaniappan S., Vanangamudi M. Repurposing drugs targeting epidemic viruses. *Drug Discov Today*. 2022; 27 (7): 1874–1894. doi: 10.1016/j.drudis.2022.04.008.
- Федореев С.А., Веселова М.В., Кулеш Н.И., Тарбеева Д.В., Кудинов А.В., Зверев Я.Ф. Разработка лекарственных средств на основе полифенолов из дальневосточного растения мааки амурской. *Здоровье. Медицинская экология. Наука*. 2018; 1 (73): 35–39. doi: 10.5281/zenodo.1194891. [Fedoreev S.A., Veselova M.V., Kulesh N.I., Tarbeeva D.V., Kudinov A.V., Zverev Ya.F. Development of medicines based on polyphenols from the Far Eastern plant Amur maakia. *Health. Medical ecology. The Science*. 2018; 1 (73): 35–39. doi: 10.5281/zenodo.1194891. (in Russian)]
- Федореев С.А., Кулеш Н.И., Глебко Л.И., Покушалова Т.В., Веселова М.В., Саратиков А.С., Венгеровский А.И., Чучалин В.С. Препарат максар из дальневосточного растения мааки амурской. *Химфарм журн*. 2004; 38 (11): 22–26. [Fedoreev S.A., Kulesh N.I., Glebko L.I., Pokushalova T.V., Veselova M.V., Saratikov A.S., Vengerovsky A.I., Chuchalin V.S. Maksar medicine from the Far Eastern plant of the Amur maakia. *Chemical Pharmaceutical Journal*. 2004; 38 (11): 22–26. (in Russian)]
- Путилова Е.А., Иванис В.А., Скляр Л.Ф. Клинико-иммунологическая эффективность максара при хронических вирусных гепатитах. *Фундаментальные исследования*. 2011; 9: 484–487. [Putilova E.A., Ivanis V.A., Sklyar L.F. Clinical and immunological efficacy of Maksar in chronic viral hepatitis. *Fundamental research*. 2011; 9:484–487 (in Russian)].
- Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 1983, 65: 55–63. doi: 10.1016/0022-1759(83)90303-4.
- Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, часть первая. М.: Гриф и К, 2013. 942 с. [Guidelines for conducting preclinical drug trials, part one. -Moscow: Grif and K., 2013; 942. (in Russian)]
- Weislow O.S., Kiser R., Fine D.L., Bader J., Shoemaker R.H., Boyd M.R. New soluble-formazan assay for HIV-1 cytopathic effects: application to high-flux screening of synthetic and natural products for AIDS-antiviral activity. *J Natl Cancer Inst*. 1989; 81: 577–586. doi: 10.1093/jnci/81.8.577.
- Ehrhardt C., Hriniciu E.R., Korte V., Mazur I., Droebner K., Poetter A. et al. A polyphenol rich plant extract, CYSTUS052, exerts anti influenza virus activity in cell culture without toxic side effects or the tendency to induce viral resistance. *Antiviral Res*. 2007; 76:38–47. doi: 10.1016/j.antiviral.2007.05.002. Epub 2007 Jun 4.
- Serkedjiev J., Manolova N. Plant polyphenolic complex inhibits the reproduction of influenza and herpes simplex viruses. *Basic Life Sci*. 1992; 59: 705–715. doi: 10.1007/978-1-4615-3476-1\_42.
- Helenius A. Virus entry: looking back and moving forward. *J Mol Biol*. 2018; 430 (13): 1853–1862. doi: 10.1016/j.jmb.2018.03.034.
- Носик Н.Н., Носик Д.Н., Чижов А.И. Сравнительный анализ вирулицидной активности дезинфицирующих средств. *Вопросы вирусологии*. 2017; 62 (1): 41–46. doi: http://dx.doi.org/ 10.18821/0507-4088-2017-62-1-45-47. [Nosik N.N., Nosik D.N., Chizhov A.I. Comparative analysis of virucidal activity of disinfectants. *Questions of virology*. 2017; 62 (1): 41–46. doi: http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-1-45-47. (in Russian)]
- Fraternal A., Paoletti M.F., Casabianca A., Nencioni L., Garaci E., Palamara A.T., Magnani M. GSH and analogs in antiviral therapy. *Mol Aspects Med*. 2009; 30: 99–110. doi: 10.1016/j.mam.2008.09.001.
- Guan H., Zhang W., Sun-Waterhouse D., Jiang Y., Li F., Waterhouse G.N., Li D. Phenolic-protein interactions in foods and post ingestion: Switches empowering health outcomes. *Trends Food Sci & Technol*. 2021; 118: 71–86. doi: https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.033.
- Palamara A.T., Nencioni L., Aquilano K., De Chiara G., Hernandez L., Cozzolino F. et al. Inhibition of influenza A virus replication by resveratrol. *J Infect Dis*. 2005; 191: 1719–1729. doi: 10.1086/429694. Epub 2005 Apr 13.



## Информация об авторах

*Запорожец Татьяна Станиславовна* — д. м. н., главный научный сотрудник лаборатории респираторных инфекций Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Владивосток, Россия. ORCID ID: 0000-0002-8879-8496. eLIBRARY SPIN-код: 90045. Scopus Author ID: 7003627907. WoS ID: Y-9425-2018

*Крылова Наталья Владимировна* — д. б. н., заведующая лабораторией респираторных инфекций Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Владивосток, Россия. ORCID ID: 0000-0002-9048-6803. eLIBRARY SPIN-код: 1993-5041. Scopus Author ID: 7006625844. WoS ID: R-5043-2016

*Федорев Сергей Александрович* — д. х. н., заведующий лабораторией химии природных хиноидных соединений ФГБУН «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова» ДВО РАН, Владивосток, Россия. ORCID ID: 0000-0002-4199-2099. eLIBRARY SPIN-код: 2906-0415. Scopus Author ID: 6602512295. Researcher ID WoS: M-8861-2013

*Иунихина Ольга Викторовна* — к. м. н., заведующая лабораторией зоонозных инфекций Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Владивосток, Россия. ORCID ID: 0000-0002-6723-582X. eLIBRARY SPIN-код: 3978-2246. Scopus Author ID: 36020209000. WoS ID: U-2949-2018

*Потт Анастасия Борисовна* — м. н. с. лаборатории зоонозных инфекций Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Владивосток, Россия. eLIBRARY SPIN-код: 1099-2158.

*Тарбеева Дарья Владимировна* — к. х. н., н. с. лаборатории химии природных хиноидных соединений ФГБУН «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова» ДВО РАН, Владивосток, Россия. ORCID ID: 0000-0003-1769-3627. eLIBRARY SPIN-код: 2906-0415. Scopus Author ID: 55910077900. WoS ID: M-7884-2013

*Мищенко Наталья Петровна* — к. х. н., в. н. с. лаборатории химии природных хиноидных соединений ФГБУН «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова» ДВО РАН Владивосток, Россия. ORCID ID: 0000-0001-7616-574X. eLIBRARY SPIN-код: 1627-2732. WoS ID: M-8898-2013. Scopus Author ID: 7004534945

*Щелканов Михаил Юрьевич* — д. б. н., директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Владивосток, Россия. ORCID: 0000-0001-8610-7623. Researcher ID: L-6164-2016. Scopus Author ID: 7004251692. eLIBRARY SPIN-код: 5736-7230

## About the authors

*Tatyana S. Zaporozhets* — D. Sc. in Medicine, Chief Researcher at the Laboratory of Respiratory Infections, G. P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Vladivostok, Russia. ORCID ID: 0000-0002-8879-8496. eLIBRARY SPIN: 90045 Scopus Author ID: 7003627907 WoS ID: Y-9425-2018

*Natalya V. Krylova* — D. Sc. in Biology, Head of the Laboratory of Respiratory Infections, G. P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Surveillance in the Field of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Vladivostok, Russia. ORCID ID: 0000-0002-9048-6803. eLIBRARY SPIN: 1993-5041. Scopus Author ID: 7006625844. WoS ID: R-5043-2016

*Sergey A. Fedoreyev* — D. Sc. in Chemistry, Head of the Laboratory of Chemistry of Natural Quinoid Compounds, G. B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia. ORCID ID: 0000-0002-4199-2099. eLIBRARY SPIN: 2906-0415. Scopus Author ID: 6602512295. Researcher ID WoS: M-8861-2013

*Olga V. Iunikhina* — Ph. D. in Medicine, Head of the Laboratory of Zoonotic Infections, G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Vladivostok, Russia. ORCID ID: 0000-0002-6723-582X. eLIBRARY SPIN: 3978-2246. Scopus Author ID: 36020209000 WoS ID: U-2949-2018

*Anastasia B. Pott* — junior researcher at the Laboratory of Zoonotic Infections, G. P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Vladivostok, Russia. eLIBRARY SPIN: 1099-2158.

*Darya V. Tarbeeva* — Ph. D. in Chemistry, researcher at the Laboratory of Chemistry of Natural Quinoid Compounds, G. B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia. ORCID ID: 0000-0003-1769-3627. eLIBRARY SPIN: 2906-0415. Scopus Author ID: 55910077900 WoS ID: M-7884-2013

*Natalia P. Mishchenko* — Ph. D. in Chemistry, leading researcher at the Laboratory of Chemistry of Natural Quinoid Compounds, G. B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia. ORCID ID: 0000-0001-7616-574X. eLIBRARY SPIN: 1627-2732. WoS ID: M-8898-2013. Scopus Author ID: 7004534945

*Mikhail Yu. Shchelkanov* — D. Sc. in Biology, Director of the G. P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Vladivostok, Russia. ORCID: 0000-0001-8610-7623. Researcher ID: L-6164-2016. Scopus Author ID: 7004251692 eLIBRARY SPIN: 5736-7230