

УДК 547.982/83/84

## ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИФЕНОЛОВ ЛИСТЬЕВ СУМАХА ДУБИЛЬНОГО *RHUS CORIARIA L.*

© Ш.И. Салихов<sup>1</sup>, А.М. Егоров<sup>2</sup>, Ю.И. Ощепкова<sup>1\*</sup>, Ж.Ф. Зиявитдинов<sup>1</sup>, Н.Ш. Бердиев<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биоорганической химии им. акад. А.С. Садыкова АН РУз,  
ул. Мирзо Улугбека, 83, Ташкент, 100125, Республика Узбекистан,  
josherkova05@rambler.ru

<sup>2</sup> Федеральный научный центр исследований и разработки  
иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН (Институт  
полиомиелита), поселение Московский, поселок Института  
полиомиелита, 8/1, Москва, 108819, Россия

Цель настоящего исследования – усовершенствование технологии получения суммы из листьев сумеха дубильного *Rhus coriaria L.* с увеличением выхода основных индивидуальных полифенолов и изучение противовирусной активности в отношении вирусной протеазы 3CLpro.

В результате исследований проведено усовершенствование технологии получения суммы компонентов и основных индивидуальных полифенолов из листьев сумеха дубильного *Rhus coriaria L.* Определено, что с изменением кислотного числа 40% раствора этилового спирта до 8.5 содержание активных компонентов в суммарном экстракте возрастает до 73.93%, увеличиваясь в 1.82 раза в отношении суммарного экстракта, полученного по ранее опубликованному способу, и составляя максимум среди всех примеров получения суммарного экстракта. В результате изучения ингибирования основной протеазы показано, что субстанция и индивидуальные полифенолы, полученные по усовершенствованной технологии, проявляют более высокий процент ингибирования основной протеазы коронавируса, со значениями IC50 1.4–2.6 мкм, показывают наличие синергизма ингибирующей активности основных компонентов, проявляющегося в усилении ингибирования основной протеазы (Mpro) SARS-CoV-2 по сумме и, тем самым, подтверждают перспективность использования в качестве безопасного противовирусного препарата.

*Ключевые слова:* *Rhus coriaria L.*, полифенолы, противовирусная активность, ингибирование.

---

**Для цитирования:** Салихов Ш.И., Егоров А.М., Ощепкова Ю.И., Зиявитдинов Ж.Ф., Бердиев Н.Ш. Противовирусная активность полифенолов листьев сумеха дубильного *Rhus coriaria L.* // Химия растительного сырья. 2024. №3. С. 188–197. DOI: 10.14258/jcprm.20240313421.

---

### **Введение**

Высокая вирулентность новых и повторяющихся вирусов и отсутствие эффективных методов лечения вызываемых ими заболеваний создают серьезную проблему для систем общественного здравоохранения. Разработка высокоэффективных противовирусных препаратов широкого спектра действия с низкой токсичностью и невысокой стоимостью уже много лет является одной из основных проблем вирусологии и фармацевтики. В период продолжающейся пандемии COVID-19 она приобрела особую актуальность и важность и направлена на создание агентов, которые подавляют проникновение и репликацию вируса, одновременно регулируя защитные системы организма.

В настоящее время в медицине имеется большой набор противовирусных средств, способных воздействовать на каждую из стадий размножения вируса [1]. При этом ежегодно наблюдается быстрое увеличение их количества за счет соединений, выделенных из наземных растений. Возможность использования синтетических и растительных препаратов для лечения вирусных заболеваний определяется рядом свойств, таких как терапевтический эффект, отсутствие или минимум побочных реакций, низкая токсичность.

---

\* Автор, с которым следует вести переписку.

Синтетические противовирусные препараты действуют быстрее и дают, как правило, максимальный терапевтический эффект. Однако их недостаток – большое количество противопоказаний и побочных реакций, а также привыкание и отсутствие желаемого эффекта в будущем. Противовирусные препараты растительного происхождения обладают широким спектром действия (кроме противовирусного, дополнительно обладают противовоспалительным, антиоксидантным и иммуномодулирующим действием), менее токсичны или нетоксичны в рабочих дозах, имеют минимальные побочные эффекты. Возможно, что фитотерапия может иметь потенциал как профилактическое средство и даже как терапевтическое средство для пациентов с вирусной инфекцией.

Несмотря на определенные успехи в химиотерапии вирусных заболеваний, клиническая практика сталкивается с серьезными проблемами, такими как появление лекарственно-устойчивых вариантов вирусов и побочных эффектов противовирусных препаратов. Это обстоятельство диктует необходимость разработки новых противовирусных препаратов с различными механизмами действия [2, 3].

Исследования соединений с противовирусными свойствами, полученных из наземных растений, показали, что из-за их разнообразных механизмов действия (противовирусное, иммуностимулирующее, противовоспалительное и антиоксидантное), вирусы, как правило, не приобретают устойчивости к этим соединениям.

Было доказано, что полифенолы обладают сильной способностью поглощать свободные радикалы *in vitro*. Однако внутри клеток они действуют преимущественно путем модуляции экспрессии многочисленных генов [4], в том числе тех, которые участвуют в клеточной антиоксидантной защите [5]. Полифенолы или их метаболиты связываются с ключевыми белками, участвующими в клеточной передаче сигналов [6, 7], что является одним из механизмов их действия *in vivo*. Они также модулируют уровень клеточных микроРНК (миРНК) [8, 9], тем самым оказывая сложную многоуровневую регуляцию клеточных процессов.

Экспериментальные исследования показали, что полифенолы оказывают защитное действие при респираторных инфекциях, вызванных различными возбудителями [10–12], в том числе вирусами [13, 14]. Противовирусная активность полифенолов исследовалась *in vitro* и в экспериментальных исследованиях на животных. Например, было показано, что куркумин непосредственно инактивирует вирус гриппа А, блокирует его адсорбцию и ингибирует его пролиферацию *in vitro* [15]. Куркумин увеличивает выживаемость мышей, инфицированных вирусом гриппа А, и снижает продукцию цитокинов макрофагами *in vitro* [16]. Эти данные указывают на то, что куркумин является потенциально важным растительным биологически активным веществом для профилактики системного цитокинового шторма [17]. Точно также гесперидин улучшает индуцированное вирусом гриппа А (H1N1) нарушение легочной функции у крыс путем ингибирования продукции цитокинов в эндотелиальных клетках легочных микрососудов [18]. Кверцетин [19] и флаванолы [20] также оказывают защитное противовирусное действие. Эпидемиологические исследования, хотя и ограниченные, подтверждают защитный эффект полифенолов при вирусных инфекциях [21].

Танины известны как мощные инактиваторы белков, в том числе вирусных. М. Винк [22, 23] показал, что танины растений при взаимодействии с вирусным белком образуют несколько водородных и ионных связей, которые действуют на трехмерную структуру белка, подавляя его активность. Полифенолы связываются с белками вирусной оболочки, предотвращая взаимодействие патогена с клеткой-хозяином. Белки коронавирусной инфекции транслируются одним длинным полипротеином, из которого высвобождаются две протеазы: Mpro и PLpro. Активный центр SARS-CoV-2 3CLpro содержит каталитическую диаду, состоящую из Cys145 и His41, где остаток цистеина (Cys145) действует как нуклеофил, а остаток гистидина (His41) действует как общее кислотное основание в протеолитическом процессе.

Центральная роль этого белка в репликации SARS-CoV-2 сделала его основной потенциальной мишенью для разработки противовирусных препаратов. Ингибирование этого фермента блокирует репликацию SARS-CoV-2 и усиливает противовирусный ответ [24–26]. PLpro играет роль в созревании и высвобождении новых вирусных частиц из клетки, а также в ингибировании продукции интерферона I типа, синтезируемого клетками для защиты. Подавление синтеза интерферона происходит под действием PLpro на ген ISG-15 в клеточных белках [27].

Поскольку протеазы SARS-CoV-2 (3-химотрипсин-подобная протеаза 3CLpro и папаин-подобная протеаза PLpro) синтезируются в виде крупных белков-предшественников, которые расщепляются с образованием зрелых активных белков, а их структуры сохраняются во всех родах коронавирусов, эти белки могут быть эффективной стратегией лечения коронавирусной инфекции за счет подавления репликации вирусного генома [27, 28].

Ранее нами из листьев сумаха дубильного *Rhus coriaria L.* семейства Сумаховые *Anacardiaceae*, произрастающего на территории Узбекистана, методом ступенчатой гидрофобной хроматографии были выделены и охарактеризованы индивидуальные полифенолы класса эллаготанинов [29].

Цель настоящего исследования – проведение исследований по усовершенствованию технологии получения суммы индивидуальных полифенолов, выделенных из растительного сырья, и изучение противовирусной активности, проявляющейся посредством воздействия на вирусную протеазу 3CLpro.

### **Экспериментальная часть**

**Объект исследования.** Для выделения полифенолов использовали листья сумаха дубильного, собранные в 2020 г. на территории Республики Узбекистан.

**Выделение суммы полифенолов.** Измельченное растительное сырье (100 г) экстрагировали дважды 40% этиловым спиртом в течение 2 ч. Полученные экстракты фильтровали и отгоняли на роторном испарителе для удаления спирта, затем водную часть экстрагировали трижды этилацетатом. Полученные экстракты отгоняли на роторном испарителе и к оставшейся части добавляли хлороформ в соотношении 1 : 3 по объему (v/v) для полного извлечения лиофильных веществ в течение 15 мин, а затем оставляли до полного разделения фаз. Хлороформный слой сливали в сборник, pH раствора доводили до 8.5 с помощью 0.5 М NaOH и трижды обрабатывали этилацетатом для полного извлечения фенольных соединений. Полученный этилацетатный экстракт сгущали на вакуум выпарном аппарате при температуре 50 °С и вакууме 350 мм.рт.ст. При достижении объема кубового остатка ~250 мл сгущение прекращали и концентрат высушивали безводным Mg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> в течение 8 ч. После декантации проводили осаждение основного вещества из этилацетатного концентрата хлороформом. Полученный осадок отделяли и промывали небольшим объемом хлороформа и высушивали на воздухе. В результате получается аморфный порошок однородной структуры светло-желтого цвета, вязущего вкуса, со специфическим запахом.

**Выделение чистых веществ.** Выделение индивидуальных веществ проводили на ВЭЖХ Phenomenex (Германия). Для рехроматографии использовали полупрепаративную колонку XSelectCSHPrepC18 (5 мкл, 10×250 мм) производства Waters (США). Для аналитического анализа использовали Phenomenex C18 (5 мкл, 4.6×250 мм). В качестве раствора А использовали 0.1% раствор трифторуксусной кислоты, а в качестве раствора В – ацетонитрил. Градиент ацетонитрила составил: 0 мин – 15%, 28 мин – 25%, 33–38 мин – 60%, 43 мин – 15%. Скорость потока составляла 3 мл/мин в обоих случаях. Во всех случаях использовался УФ-детектор на длине волны 269 нм.

**Масс-спектральный анализ очищенных веществ.** Масс-спектральный анализ полученных веществ в дальнейшем изучали в квадрупольно-времяпролетной ЖХ-МС Agilent Technologies серии 6520В: источник ионизации – ESI; расход газа-осушителя – 5 л/мин (300 °С); тон скиммера – 20В; фрагментор – 125В; дальность обнаружения массы в режиме МС 100–2000 м/з и в прицельном режиме МС/МС 50–2000 м/з, энергия столкновения – 35, 50 эВ; метод ионизации – отрицательный. Образцы подвергали масс-спектрометрии с ВЭЖХ Agilent Technologies серии 1200: колонка Zorbax SBC18 (3 мкм, 0.5×150 мм). Состав подвижной фазы: А – 0.1% муравьиная кислота, В – ацетонитрил + 0.1% муравьиная кислота. Скорость потока составляла 15 мкл/мин. Градиент раствора В: 5 мин – 20%, 20 мин – 25%, 25 мин – 30%, 30 мин – 60%, 35 мин – 20%. Раствор пропускали через дегазатор Agilent Technologies 1260 μ. Образцы направляли на колонку через Agilent Technologies Micro WPS в концентрации 0.1 мг/мл.

**Определение ингибиторной активности соединений против Mpro.** Плазмида, кодирующая Mpro, клонированная в вектор pGEX-6p-1, была получена от профессора Р. Хильгенфельда, Германия [6]. Получение и очистку Mpro производили по методике, описанной ранее [7]. Для скрининга соединений в качестве потенциальных ингибиторов Mpro к 300 нМ Mpro SARS-CoV-2 добавляли 100 мкМ соединения (или ДМСО в качестве отрицательного контроля), инкубировали в течение 30 мин при 30 °С в буфере (pH 7.3, 20 mM трис, 100 mM NaCl, 1 mM ЭДТА, 1 mM ДТТ). Реакцию инициировали добавлением 10 мкМ FRET-субстрата (общий объем реакционной смеси 20 мкл) (Dabcyl-KTSAVLQ↓SGFRKM-E(Edans)-NH<sub>2</sub>). В качестве положительного контроля использовали два стандартных ингибитора с известной активностью – PF-00835231 IC<sub>50</sub> = 5.5±1.5 нМ или боцепревир IC<sub>50</sub> = 4.5±0.2 мкМ (Selleckchem, USA) в концентрации 800 нМ и 100 мкМ, соответственно (полное ингибирование Mpro). Регистрация сигнала флуоресценции продолжалась 1.5 ч на длинах волн λ<sub>ex</sub>/λ<sub>em</sub> 355/460 нм (прибор – Thermo Scientific Fluoroskan FL). Концентрацию флуоресцентного продукта рассчитывали по калибровочной кривой, построенной при полном протеолизе субстрата.

Начальная скорость реакции в присутствии и в отсутствие соединения рассчитывалась из линейного участка кинетической кривой (обычно линейный участок кривой это первые 200 секунд). Для этого количество продукта (свободный EDANS) делили на время, за которое он был произведен. Остаточная активность рассчитывалась как отношение начальных скоростей в присутствии и в отсутствие ингибитора.

Для определения активности ( $IC_{50}$ ,  $K_i$ ) строили зависимость остаточной активности фермента от концентрации ингибитора. Полученные S-образные кривые аппроксимировали с помощью нелинейной регрессии в программном обеспечении GraphPad Prism 7. Константу ингибирования ( $K_i$ ) рассчитывали по уравнению  $K_i = IC_{50}/(1+[S]/K_m)$ , где  $IC_{50}$  – концентрация полумаксимального ингибирования,  $[S]$  – концентрация субстрата и  $K_m$  – константа Михаэлиса. Константа Михаэлиса ( $K_m = 28.6 \pm 8.3$  мкМ) была получена из зависимости начальной скорости реакции фермента от концентрации субстрата (аппроксимация согласно уравнению Михаэлиса-Ментен).

### **Обсуждение результатов**

В нашей предыдущей работе [29] индивидуальные полифенолы были получены последовательной экстракцией ацетоном и этилацетатом. Выход субстанции из растительного сырья составил 4%, при этом содержание основных индивидуальных полифенолов от общей суммы составило 40.4%. К существенным недостаткам данного комплекса соединений следует отнести сложности, связанные с технологией производства, содержащего большое количество этапов, в результате которого получается субстанция с минимальным выходом и низким содержанием активных компонентов.

С целью увеличения выхода субстанции и основных индивидуальных полифенолов нами было проведено усовершенствование технологии с подбором на первой стадии оптимального растворителя и pH среды. Изменение pH среды влияет на состав и агрегативную устойчивость дисперсной фазы извлечения полифенольных соединений. Уменьшение кислотности среды способствует увеличению извлечения полифенольных соединений из сырья [30].

Для экстракции использовали 30–50% раствор этилового спирта. Использование экстракции этиловым спиртом различной концентрации при разных соотношениях сырья и экстрагента и длительности процесса экстракции дает возможность увеличения выхода экстрактивных веществ с получением экстрактов. Одновременно было установлено, что использование растворителей различной полярности позволяет увеличить выход экстрактивных веществ и получить экстракты, содержащие различные группы соединений [31]. Для определения качества полученного суммарного экстракта проводили ВЭЖХ-анализ, в результате которого было определено, что наибольший выход наблюдается при экстрагировании сырья 40% раствором этилового спирта, составив 7.1% от исходной массы сырья.

В результате получения комплекса полифенольных соединений обнаружено, что в случае получения по способу, описанному в [29], выход составляет 4%, при этом содержание активных полифенольных соединений – 40.4% (табл. 1). При получении комплекса полифенольных соединений водно-спиртовым раствором в соотношении от 30 до 50% наибольший выход субстанции и содержание указанных соединений наблюдается в случае экстракции 40%-ным водно-спиртовым раствором, составляя 7.1 и 63.28% соответственно.

Экстрагируемость органических веществ зависит от ряда факторов, в том числе и от pH среды. Количество экстрагированного вещества зависит от диссоциации его в водной фазе. Это связано с тем, что недиссоциированные молекулы вещества и его ионы неодинаково экстрагируются органическими растворителями из водных растворов. При экстракции недиссоциированные молекулы переходят в органическую фазу, а ионы, которые хорошо гидратированы молекулами воды, остаются в водной фазе. С изменением pH среды водного остатка, полученного после концентрирования экстракта 40%-ным водно-спиртовым раствором до 8.5, содержание активных полифенольных соединений в субстанции возрастает до 73.93%, увеличиваясь в 1.82 раза в отношении комплекса полифенольных соединений, полученного по способу, указанному в [29], и составляет максимум среди всех примеров получения.

Для идентификации полифенольные соединения были охарактеризованы с помощью данных MS, вместе с интерпретацией спектров МС/МС по сравнению с найденными в литературе. В процессе идентификации были просмотрены следующие публичные базы данных: ChemSpider (<http://www.chemspider.com>), SciFinderScholar (<https://scifinder.cas.org>), KeggLigand (<http://www.genome.jp/kegg/ligand.html>) и Phenol-Explorer ([www.phenol-explorer.eu](http://www.phenol-explorer.eu)) [29].

Таблица 1. Влияние использования на первой стадии экстракции различных растворителей на выход субстанции и массовую долю активных полифенольных соединений

		Водно-спиртовой раствор (%)			40% Эт-ОН (рН)		Ац-Н <sub>2</sub> O (%)
		30%	40%	50%	рН 7.5	рН 8.5	[29]
Выход субстанции (%)		6.40	7.10	6.40	5.60	5.80	4.00
Количество активных полифенольных соединений (%)							
1	R-5	19.80	18.35	13.22	18.84	31.82	16.80
2	R-6	10.19	10.96	8.29	10.37	11.18	4.40
3	R-7	17.60	19.07	14.32	15.07	18.27	8.80
4	R-8	5.23	5.70	4.36	7.88	7.19	4.30
5	R-9	9.29	9.20	8.90	10.54	5.47	6.10
Итого		<b>61.39</b>	<b>63.28</b>	49.09	62.70	<b>73.93</b>	40.40

Выбранная технология позволила нам получить сумму полифенолов, используемую в дальнейшем для разработки противовирусного препарата, содержащего пять основных компонентов в следующем соотношении, %:

R-5 – 1,2,3,4,6-пента-О-галлоил-β-D-глюкозы-31,82

R-6 – 2-бис-О-галлоил-1,3,4,6-тетра-О-галлоил-β-D-глюкозы-11,18

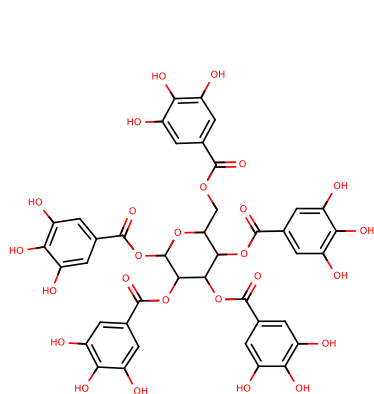
R-7 – 3,6-бис-О-галлоил-1,2,4-три-О-галлоил-β-D-глюкозы-18,27

R-8 – 2,3,4-бис-О-галлоил-1,6-ди-О-галлоил-β-D-глюкозы-7,19

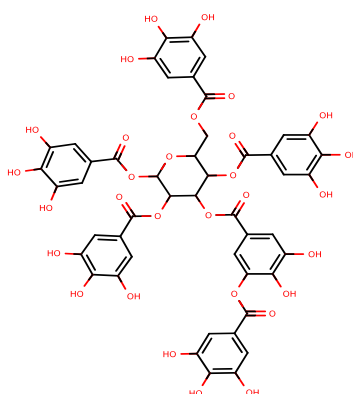
R-9 – 1,2,3,4-бис-О-галлоил-6-О-галлоил-β-D-глюкозы-5,47.

Для подтверждения возможности использования полученной суммы полифенолов в качестве субстанции противовирусного препарата было проведено изучение противовирусной активности суммы и индивидуально выделенных полифенолов против главной протеазы коронавируса 3CL<sup>pro</sup> SARS-COV-2.

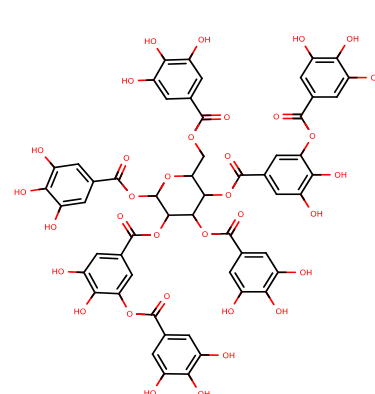
Каталитически активная форма главной протеазы SARS-CoV-2 (M<sup>pro</sup>) представляет собой гомодимер с обширным сайтом связывания субстрата и каталитической диадой Cys145-His41 (рис.). M<sup>pro</sup> избирательно расщепляет последовательность -Y-Z-Leu-Gln↓-X, где X – небольшая аминокислота (Ser, Ala или Gly), Y – гидрофобная аминокислота и Z – аминокислотный остаток, подверженный воздействию растворителя. Такая субстратная специфичность не присуща какой-либо известной протеазе человека, что предполагает хороший потенциал для высокой специфичности и ограниченное количество побочных эффектов противовирусных препаратов, нацеленных на M<sup>pro</sup>.



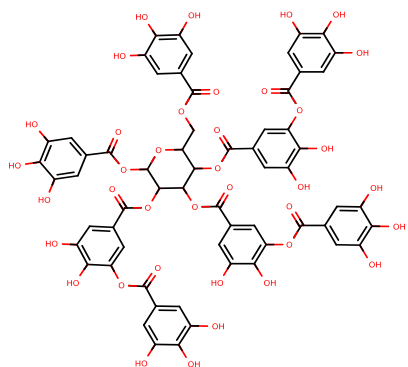
1,2,3,4,6-пента-О-галлоил-β-D-глюкозы  
M<sub>w</sub> 940  
Брутто-формула: C<sub>41</sub>H<sub>32</sub>O<sub>26</sub>



2-бис-О-галлоил-1,3,4,6-тетра-О-галлоил-β-D-глюкозы  
M<sub>w</sub> 1092  
Брутто-формула: C<sub>48</sub>H<sub>36</sub>O<sub>30</sub>

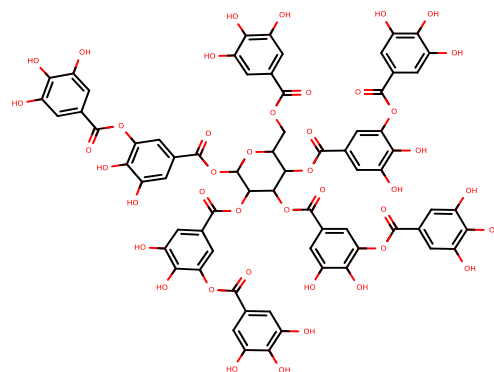


3,6-бис-О-галлоил-1,2,4-три-О-галлоил-β-D-глюкозы  
M<sub>w</sub> 1244  
Брутто-формула: C<sub>55</sub>H<sub>40</sub>O<sub>34</sub>



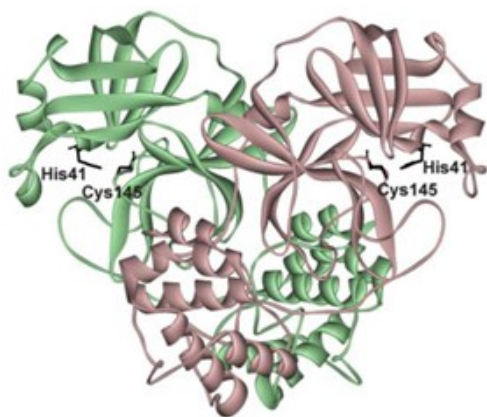
2,3,4-бис-О-галлоил-1,6-ди-О-галлоил-β-D-глюкозы

Mw 1396

Брутто-формула: C<sub>62</sub>H<sub>44</sub>O<sub>38</sub>

1,2,3,4-бис-О-галлоил-6-О-галлоил-β-D-глюкозы

Mw 1548

Брутто-формула: C<sub>69</sub>H<sub>48</sub>O<sub>42</sub>

Структура SARS-CoV-2 Mpro

В качестве мишени в экспериментах использован субстрат рекомбинантной SARS-CoV-2 Mpro.

В результате изучения ингибирования основной протеазы показано, что субстанция и индивидуальные полифенолы, полученные по усовершенствованной технологии, показывают наличие синергизма (табл. 2) ингибирующей активности основных компонентов, проявляющегося в усилении ингибирования основной протеазы (Mpro) SARS-CoV-2 по сумме.

В недавно проведенном исследовании >10 тыс. соединений различной природы на предмет выявления фармакологически активных кандидатов [32] – веществ ингибиторов протеазы SARS-CoV-2 – были отобраны несколько наиболее активных низкомолекулярных соединений различной природы со значениями IC<sub>50</sub> 0.67–21.4 мкМ и значениями EC<sub>50</sub> в культуре клеток 4.67–16.77 мкМ. Значения IC<sub>50</sub> ингибирования 3CL протеазы коронавируса для EGCG, эллаговой кислоты, куркумина, ресвератрола и кверцетина составляли 13.9 мкМ, 11.8 мкМ, 11.9 мкМ, 16.9 мкМ и 23.4 мкМ, соответственно. Кверцетин ранее был идентифицирован как самый мощный ингибитор SARS-CoV-2 3CLpro среди 150 различных соединений, проверенных *in vitro*, с константой ингибирования (K<sub>i</sub>) 7.4 мкМ. Боцепревир, ингибитор протеазы вируса гепатита С (одобренный к применению FDA), ингибирует Mpro с IC<sub>50</sub> 5.4 мкМ.

Таблица 2. Эффективность ингибирования главной протеазы (Mpro) SARS-CoV-2

№	ID	IC <sub>50</sub> , мкг/мл	IC <sub>50</sub> , μМ	K <sub>i</sub> , μМ	Mw, г/моль
1	R(S)	1.4±0.8			
2	R-5	2.6±1.2	2.8±1.2	2.1	940
3	R-6	3.2±1.2	2.4±1.2	1.8	1092
4	R-7	1.5±1.1	1.4±1.1	1.0	1244
5	R-8	3.1±1.0	2.8±1.0	2.1	1396

Полученные нами результаты показывают, что субстанция препарата и его основных компонентов проявляет более высокий процент ингибирования основной протеазы коронавируса, со значениями IC<sub>50</sub> 1.4–2.8 мкм и, тем самым, подтверждает перспективность использования в качестве противовирусного препарата.

### **Выводы**

Проведено усовершенствование технологии получения суммы компонентов и основных индивидуальных полифенолов из листьев сумаха дубильного *Rhus coriaria* L. Определено, что с изменением pH 40% раствора этилового спирта до 8.5 содержание активных компонентов в суммарном экстракте возрастает до 73.93%, увеличиваясь в 1.82 раза в отношении суммарного экстракта, полученного по ранее опубликованному способу, и составляя максимум среди всех примеров получения суммарного экстракта. В результате изучения ингибирования основной протеазы показано, что субстанция и индивидуальные полифенолы, полученные по усовершенствованной технологии, проявляют более высокий процент ингибирования основной протеазы коронавируса, со значениями IC<sub>50</sub> 1.4–2.8 мкм, показывают наличие синергизма ингибирующей активности основных компонентов, проявляющегося в усилении ингибирования основной протеазы (M<sub>pro</sub>) SARS-CoV-2 по сумме и, тем самым, подтверждают перспективность использования в качестве безопасного противовирусного препарата.

### **Финансирование**

*Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Института биоорганической химии имени академика А.С. Садыкова АН РУз и Федерального научного центра исследований и разработки иммунобиологических препаратов имени М.П. Чумакова РАН. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.*

### **Конфликт интересов**

*Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.*

### **Открытый доступ**

*Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.*

### **Список литературы**

1. Abdullah A.A., Abdullah R., Nazariah Z.A., Balakrishnan K.N., Abdullah F.F.J., Bala J.A., Mohd-Lila M.-A. Cyclophilin A as a target in the treatment of cytomegalovirus infections // *Antivir. Chem. Chemother.* 2018. Vol. 26. DOI: 10.1177/2040206618811413.
2. Strasfeld L., Chou S. Antiviral Drug Resistance: Mechanisms and Clinical Implications // *Infect. Dis. Clin. N. Am.* 2010. Vol. 24. Pp. 413–437. DOI: 10.1016/j.idc.2010.01.001.
3. Irwin K.K., Renzette N., Kowalik T.F., Jensen J.D. Antiviral drug resistance as an adaptive process // *Virus Evol.* 2016. Vol. 2. vew014. DOI: 10.1093/ve/vew014.
4. Ruskovska T., Maksimova V., Milenkovic D. Polyphenols in human nutrition: from the in vitro antioxidant capacity to the beneficial effects on cardiometabolic health and related inter-individual variability – an overview and perspective // *Br. J. Nutr.* 2020. Vol. 123. Pp. 241–254. DOI: 10.1017/S0007114519002733.
5. Forman H.J., Davies K.J., Ursini F. How do nutritional antioxidants really work: nucleophilic tone and para-hormesis versus free radical scavenging in vivo // *Free Radic. Biol. Med.* 2014. Vol. 66. Pp. 24–35. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.05.045.
6. Krga I., Tamaian R., Mercier S. et al. Anthocyanins and their gut metabolites attenuate monocyte adhesion and transendothelial migration through nutrigenomic mechanisms regulating endothelial cell permeability // *Free Radic. Biol. Med.* 2018. Vol. 124. Pp. 364–379. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.06.027.
7. Monfoulet L.E., Mercier S., Bayle D. et al. Curcumin modulates endothelial permeability and monocyte transendothelial migration by affecting endothelial cell dynamics // *Free Radic. Biol. Med.* 2017. Vol. 112. Pp. 109–120. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.07.019.
8. Milenkovic D., Deval C., Dubray C., Mazur A., Morand C. Hesperidin displays relevant role in the nutrigenomic effect of orange juice on blood leukocytes in human volunteers: a randomized controlled cross-over study // *PLoS One.* 2011. Vol. 6. e26669. DOI: 10.1371/journal.pone.0026669.
9. Rodriguez-Mateos A., Istas G., Boscchek L. et al. Circulating Anthocyanin Metabolites Mediate Vascular Benefits of Blueberries: Insights From Randomized Controlled Trials, Metabolomics, and Nutrigenomics // *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2019. Vol. 74. Pp. 967–976. DOI: 10.1093/gerona/glz047.

10. Lv Q., Zhang P., Quan P. et al. Quercetin, a pneumolysin inhibitor, protects mice against *Streptococcus pneumoniae* infection // *Microb Pathog.* 2020. Vol. 140. 103934. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.103934.
11. Song M., Teng Z., Li M., Niu X., Wang J., Deng X. Epigallocatechin gallate inhibits *Streptococcus pneumoniae* virulence by simultaneously targeting pneumolysin and sortase A // *J. Cell Mol. Med.* 2017. Vol. 21. Pp. 2586–2598. DOI: 10.1111/jcmm.13179.
12. Wu S., Huang J. Resveratrol alleviates *Staphylococcus aureus* pneumonia by inhibition of the NLRP3 inflammasome // *Exp. Ther. Med.* 2017. Vol. 14. Pp. 6099–6104. DOI: 10.3892/etm.2017.5337.
13. Gangehei L., Ali M., Zhang W., Chen Z., Wakame K., Haidari M. Oligonol a low molecular weight polyphenol of lychee fruit extract inhibits proliferation of influenza virus by blocking reactive oxygen species-dependent ERK phosphorylation // *Phytomedicine.* 2010. Vol. 17. Pp. 1047–1056. DOI: 10.1016/j.phymed.2010.03.016.
14. Uchide N., Toyoda H. Antioxidant therapy as a potential approach to severe influenza-associated complications // *Molecules.* 2011. Vol. 16. Pp. 2032–2052. DOI: 10.3390/molecules23100000.
15. Dai J., Gu L., Su Y. et al. Inhibition of curcumin on influenza A virus infection and influenzal pneumonia via oxidative stress, TLR2/4, p38/JNK MAPK and NF-kappaB pathways // *Int. Immunopharmacol.* 2018. Vol. 54. Pp. 177–187. DOI: 10.1016/j.intimp.2017.11.009.
16. Han S., Xu J., Guo X., Huang M. Curcumin ameliorates severe influenza pneumonia via attenuating lung injury and regulating macrophage cytokines production // *Clin Exp. Pharmacol. Physiol.* 2018. Vol. 45. Pp. 84–93. DOI: 10.1111/1440-1681.12848.
17. Liu Z., Ying Y. The Inhibitory Effect of Curcumin on Virus-Induced Cytokine Storm and Its Potential Use in the Associated Severe Pneumonia // *Front. Cell Dev. Biol.* 2020. Vol. 8. P. 479. DOI: 10.3389/fcell.2020.00479.
18. Ding Z., Sun G., Zhu Z. Hesperidin attenuates influenza A virus (H1N1) induced lung injury in rats through its anti-inflammatory effect // *Antivir. Ther.* 2018. Vol. 23. Pp. 611–615. DOI: 10.3851/IMP3235.
19. Wu W., Li R., Li X. et al. Quercetin as an Antiviral Agent Inhibits Influenza A Virus (IAV) Entry // *Viruses.* 2015. Vol. 8. DOI: 10.3390/v8010006.
20. Furushima D., Ide K., Yamada H. Effect of Tea Catechins on Influenza Infection and the Common Cold with a Focus on Epidemiological/Clinical Studies // *Molecules.* 2018. Vol. 23. DOI: 10.3390/molecules23071795.
21. Park M., Yamada H., Matsushita K. et al. Green tea consumption is inversely associated with the incidence of influenza infection among schoolchildren in a tea plantation area of Japan // *J. Nutr.* 2011. Vol. 141. Pp. 1862–1870. DOI: 10.3945/jn.110.137547.
22. Wink M. Modes of Action of Herbal Medicines and Plant Secondary Metabolites // *Medicines.* 2015. Vol. 2. Pp. 251–286. DOI: 10.3390/medicines2030251.
23. Wink M. Potential of DNA intercalating alkaloids and other plant secondary metabolites against SARS-CoV-2 causing COVID-19 // *Diversity.* 2020. Vol. 12. P. 175. DOI: 10.3390/d12050175.
24. Bailey-Elkin B.A., Knaap R.C., Kikkert M., Mark B.L. Structure and Function of Viral Deubiquitinating Enzymes // *J. Mol. Biol.* 2017. Vol. 429. Pp. 3441–3470. DOI: 10.1016/j.jmb.2017.06.010.
25. Lee T.-W., Cherney M.M., Liu J., James, K.E., Powers J.C., Eltis L.D., James M.N. Crystal Structures Reveal an Induced-fit Binding of a Substrate-like Aza-peptide Epoxide to SARS Coronavirus Main Peptidase // *J. Mol. Biol.* 2007. Vol. 366. Pp. 916–932. DOI: 10.1016/j.jmb.2006.11.078.
26. Xu Z., Peng C., Shi Y., Zhu Z., Mu K., Wang X., Zhu W. Nelfinavir was predicted to be a potential inhibitor of 2019-nCoV main protease by an integrative approach combining homology modelling, molecular docking and binding free energy calculation // *BioRxiv.* 2020. DOI: 10.1101/2020.01.27.921627.
27. Rathnayake A.D., Zheng J., Kim Y. et al. 3C-like protease inhibitors block coronavirus replication in vitro and improve survival in MERS-CoV-infected mice // *Sci. Transl. Med.* 2020. Vol. 12. eabc5332. DOI: 10.1126/scitranslmed.abc5332.
28. Skvortsov V., Druzhilovskiy D., Veselovsky A. Potential inhibitors of protease 3CLpro virus COVID-19: Drug reposition // *Biomed. Chem. Res. Methods.* 2020. Vol. 3. e00124. DOI: 10.18097/BMCRM00124.
29. Зиявитдинов Ж.Ф., Абдулла Р., Абдулладжанова Н.Г., Салихов Ш.И. Структура полифенолов листьев сумеха дубильного *Rhus coriaria* L. // *Химия растительного сырья.* 2020. №1. С. 133–140. DOI: 10.14258/jcrpm.2020016316.
30. Рябинина Е.И. Влияние pH среды на состав дисперсной фазы водного извлечения мелиссы лекарственной // *Прикладные информационные аспекты медицины.* 2009. Т. 12, №1. С. 82–86.
31. Ушанова В.М. Влияние вида экстрагента на количественный и качественный состав экстрактов // *Химия и химическая технология.* 2006. Т. 49 (6). С. 82–87
32. Jan J.-T., Cheng T.-J.R., Juang Y.-P. et al. Identification of existing pharmaceuticals and herbal medicines as inhibitors of SARS-CoV-2 infection // *PNAS.* 2021. Vol. 118(5). e2021579118. DOI: 10.1073/pnas.2021579118.

Поступила в редакцию 8 августа 2023 г.

После переработки 18 октября 2023 г.

Принята к публикации 26 февраля 2024 г.



Salikhov Sh.I.<sup>1</sup>, Egorov A.M.<sup>2</sup>, Oshchepkova Yu.I.<sup>1\*</sup>, Ziyavitdinov J.F.<sup>1</sup>, Berdiyev N.Sh. ANTIVIRAL ACTIVITY OF POLYPHENOLS OF THE LEAVES OF SUMACH *RHUS CORIARIA* L.

<sup>1</sup> A.S. Sadykov Institute of Bioorganic Chemistry of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Mirzo Ulugbeka st., 83, Tashkent, 100125, Republic of Uzbekistan, joshepkova05@rambler.ru

<sup>2</sup> M.P. Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immunobiological Preparations of the Russian Academy of Sciences (Polio Institute), Polio Institute settlement, 8/1, Moscow, 108819, Russia

The aim of this study is to improve the technology for obtaining the amount from the leaves of tannic sumac *Rhus coriaria* L. with an increase in the yield of the main individual polyphenols and to study the antiviral activity against the 3CLpro viral protease.

As a result of the research, the technology for obtaining the sum of components and the main individual polyphenols from the leaves of tannic sumac *Rhus coriaria* L. was improved. It was determined that with a change in the acid number of a 40% ethanol solution to 8.5, the content of active components in the total extract increases to 73.93%, increasing by 1.82 times in relation to the total extract obtained by the previously published method, and making up the maximum among all examples of obtaining the total extract. As a result of studying the inhibition of the main protease, it was shown that the substance and individual polyphenols obtained using the improved technology exhibit a higher percentage of inhibition of the main protease of the coronavirus, with IC50 values of 1.4–2.6 μm, show the presence of synergism in the inhibitory activity of the main components, manifested in increased inhibition of the main protease (Mpro) of SARS-CoV-2 in total and, thus, confirm the promise of use as a safe antiviral drug.

**Keywords:** *Rhus coriaria* L., polyphenols, antiviral activity, inhibition.

**For citing:** Salikhov Sh.I., Egorov A.M., Oshchepkova Yu.I., Ziyavitdinov J.F., Berdiyev N.Sh. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2024, no. 3, pp. 188–197. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20240313421.

## References

1. Abdullah A.A., Abdullah R., Nazariah Z.A., Balakrishnan K.N., Abdullah F.F.J., Bala J.A., Mohd-Lila M.-A. *Antivir. Chem. Chemother.*, 2018, vol. 26. DOI: 10.1177/2040206618811413.
2. Strasfeld L., Chou S. *Infect. Dis. Clin. N. Am.*, 2010, vol. 24, pp. 413–437. DOI: 10.1016/j.idc.2010.01.001.
3. Irwin K.K., Renzette N., Kowalik T.F., Jensen J.D. *Virus Evol.*, 2016, vol. 2, vew014. DOI: 10.1093/ve/vew014.
4. Ruskovska T., Maksimova V., Milenkovic D. *Br. J. Nutr.*, 2020, vol. 123, pp. 241–254. DOI: 10.1017/S0007114519002733.
5. Forman H.J., Davies K.J., Ursini F. *Free Radic. Biol. Med.*, 2014, vol. 66, pp. 24–35. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.05.045.
6. Krga I., Tamaian R., Mercier S. et al. *Free Radic. Biol. Med.*, 2018, vol. 124, pp. 364–379. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.06.027.
7. Monfoulet L.E., Mercier S., Bayle D. et al. *Free Radic. Biol. Med.*, 2017, vol. 112, pp. 109–120. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.07.019.
8. Milenkovic D., Deval C., Dubray C., Mazur A., Morand C. *PLoS One*, 2011, vol. 6, e26669. DOI: 10.1371/journal.pone.0026669.
9. Rodriguez-Mateos A., Iastas G., Boschek L. et al. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, 2019, vol. 74, pp. 967–976. DOI: 10.1093/gerona/glz047.
10. Lv Q., Zhang P., Quan P. et al. *Microb Pathog.*, 2020, vol. 140, 103934. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.103934.
11. Song M., Teng Z., Li M., Niu X., Wang J., Deng X. *J. Cell Mol. Med.*, 2017, vol. 21, pp. 2586–2598. DOI: 10.1111/jcmm.13179.
12. Wu S., Huang J. *Exp. Ther. Med.*, 2017, vol. 14, pp. 6099–6104. DOI: 10.3892/etm.2017.5337.
13. Gangehei L., Ali M., Zhang W., Chen Z., Wakame K., Haidari M. *Phytomedicine*, 2010, vol. 17, pp. 1047–1056. DOI: 10.1016/j.phymed.2010.03.016.
14. Uchide N., Toyoda H. *Molecules*, 2011, vol. 16, pp. 2032–2052. DOI: 10.3390/molecules23100000.
15. Dai J., Gu L., Su Y. et al. *Int. Immunopharmacol.*, 2018, vol. 54, pp. 177–187. DOI: 10.1016/j.intimp.2017.11.009.
16. Han S., Xu J., Guo X., Huang M. *Clin Exp. Pharmacol. Physiol.*, 2018, vol. 45, pp. 84–93. DOI: 10.1111/1440-1681.12848.
17. Liu Z., Ying Y. *Front. Cell Dev. Biol.*, 2020, vol. 8, p. 479. DOI: 10.3389/fcell.2020.00479.
18. Ding Z., Sun G., Zhu Z. *Antivir. Ther.*, 2018, vol. 23, pp. 611–615. DOI: 10.3851/IMP3235.
19. Wu W., Li R., Li X. et al. *Viruses*, 2015, vol. 8. DOI: 10.3390/v8010006.
20. Furushima D., Ide K., Yamada H. *Molecules*, 2018, vol. 23. DOI: 10.3390/molecules23071795.
21. Park M., Yamada H., Matsushita K. et al. *J. Nutr.*, 2011, vol. 141, pp. 1862–1870. DOI: 10.3945/jn.110.137547.
22. Wink M. *Medicines*, 2015, vol. 2, pp. 251–286. DOI: 10.3390/medicines2030251.
23. Wink M. *Diversity*, 2020, vol. 12, p. 175. DOI: 10.3390/d12050175.
24. Bailey-Elkin B.A., Knaap R.C., Kikkert M., Mark B.L. *J. Mol. Biol.*, 2017, vol. 429, pp. 3441–3470. DOI: 10.1016/j.jmb.2017.06.010.
25. Lee T.-W., Cherney M.M., Liu J., James, K.E., Powers J.C., Eltis L.D., James M.N. *J. Mol. Biol.*, 2007, vol. 366, pp. 916–932. DOI: 10.1016/j.jmb.2006.11.078.
26. Xu Z., Peng C., Shi Y., Zhu Z., Mu K., Wang X., Zhu W. *BioRxiv*, 2020. DOI: 10.1101/2020.01.27.921627.

\* Corresponding author.

27. Rathnayake A.D., Zheng J., Kim Y. et al. *Sci. Transl. Med.*, 2020, vol. 12, eabc5332. DOI: 10.1126/scitranslmed.abc5332.
28. Skvortsov V., Druzhilovskiy D., Veselovsky A. *Biomed. Chem. Res. Methods.*, 2020, vol. 3, e00124. DOI: 10.18097/BMCRM00124.
29. Ziyavitdinov Zh.F., Abdulla R., Abdulladzhanova N.G., Salikhov Sh.I. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2020, no. 1, pp. 133–140. DOI: 10.14258/jcprm.2020016316. (in Russ.).
30. Ryabinina Ye.I. *Prikladnyye informatsionnyye aspekty meditsiny*, 2009, vol. 12, no. 1, pp. 82–86. (in Russ.).
31. Ushanova V.M. *Khimiya i khimicheskaya tekhnologiya*, 2006, vol. 49 (6), pp. 82–87. (in Russ.).
32. Jan J.-T., Cheng T.-J.R., Juang Y.-P. et al. *PNAS*, 2021, vol. 118(5), e2021579118. DOI: 10.1073/pnas.2021579118.

Received August 8, 2023

Revised October 18, 2023

Accepted February 26, 2024

#### Сведения об авторах

*Салихов Шавкат Исмаилович* – академик, доктор биологических наук, заведующий лаборатории химии белков и пептидов

*Егоров Алексей Михайлович* – академик, доктор биологических наук, главный научный сотрудник

*Ощепкова Юлия Игоревна* – доктор химических наук, профессор, заместитель директора по науке, joshepkova05@rambler.ru

*Зиявитдинов Жамолитдин Фазлитдинович* – доктор химических наук, профессор, заведующий лаборатории клеточных технологий растительных и овощных культур

*Бердиев Нодир Шарипович* – PhD, старший научный сотрудник, докторант лаборатории химии белков и пептидов

#### Information about authors

*Salikhov Shavkat Ismailovich* – Academician, Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Chemistry of Proteins and Peptides

*Egorov Alexey Michailovich* – Academician, Doctor of Biological Sciences, Chief Researcher

*Oshchepkova Yulia Igorevna* – Doctor of Chemical Sciences, Professor, Deputy Director for Science, joshepkova05@rambler.ru

*Ziyavitdinov Jamolitdin Fazlitdinovich* – Doctor of Chemical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Cellular Technologies of Plant and Vegetable Crops

*Berdiev Nodir Sharipovich* – PhD, senior researcher, doctoral student of of the Laboratory of Chemistry of Proteins and Peptides