

*А.С. Турмагамбетова<sup>1</sup>, И.А. Зайцева<sup>1</sup>, Э.С. Омиртаева<sup>1</sup>,  
Н.С. Соколова<sup>1</sup>, А.П. Богоявленский<sup>1</sup>, Г.А. Атажанова<sup>2</sup>,  
Г.К. Мукушева<sup>2</sup>, С.М. Адекенов<sup>2</sup>, В.Э. Березин<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Институт микробиологии и вирусологии, г. Алматы, Казахстан

<sup>2</sup>Международный научно-производственный холдинг Фитохимия,  
г. Караганда, Казахстан

## **РАСТИТЕЛЬНЫЕ ТЕРПЕНОИДЫ, КАК ОСНОВА СОЗДАНИЯ НОВЫХ ПРОТИВОВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ**

---

---

**Аннотация.** Терпеноиды – группа вторичных метаболитов высших растений, которая не имеет аналогов по разнообразию структурных типов и биологической роли в регуляции процессов жизнедеятельности живых организмов. Эта многочисленная группа веществ, насчитывающая более 23 тысяч соединений с установленным химическим строением, превосходит по числу представителей все другие классы природных соединений. Наличие противовирусной активности у различных классов терпеноидов, свидетельствует о перспективности их изучения для использования в качестве противовирусных средств. В работе была исследована противовирусная активность некоторых моно-, сесквитерпенов и тритерпеновых сапонинов. На модели вируса гриппа с антигенной формулой H7N1 и H3N2 показано, что все исследованные группы терпеноидов могут рассматриваться в качестве перспективных противовирусных средств.

**Ключевые слова:** вирус гриппа, терпеноиды, противовирусная активность.

• • •

**Түйіндемe.** Терпеноидтер - тірі ағзалардың өмірлік процестерін реттеудегі құрылымдық түрлердің және биологиялық рөлдердің әртүрлілігі тұрғысынан теңдесі жоқ жоғары есімдіктердің қайталама метаболиттер тобы. Табиғи қосылыстардың басқа барлық топтары екілдерінің саны жағынан асып түсетін химиялық құрылымы анықталған 23 мыңнан астам қосылыстарды құрайтын кептеген заттар тобы. Терпеноидтердің әртүрлі кластарында вирусқа қарсы белсенділіктің болуы, оларды вирусқа қарсы заттар ретінде қолдану жағынан зерттеудің болашағын көрсетеді. Жұмыста кейбір моно-, сесквитер-

---

Работа выполнена в рамках грантового проекта АР05130964 (0118РК00186) финансируемого Министерством образования и науки Республики Казахстан.

пендер мен тритерпен сапониндардың вирусқа қарсы белсенділігі зерттелді. H7N1 және H3N2 антигендік формуласы бар тұмау вирусының үлгілерінде терпеноидтердің барлық зерттелген топтарын вирусқа қарсы заттар ретінде қарастыруға болатыны көрсетілді.

**Түйінді сөздер:** тұмау вирусы, терпеноидтар, вирусқа қарсы белсенділік.

• • •

**Abstract.** Terpenoids the group of secondary metabolites of higher plants, which has no analogues in terms of the diversity of structural types and biological role in the regulation of life processes of living organisms. This large group of substances, numbering more than 23 thousand compounds with established chemical structure, surpasses in the number of representatives all other classes of natural compounds. The presence of antiviral activity in various classes of terpenoids indicates the prospects of their study for use as antiviral agents. The antiviral activity of some mono-, sesquiterpenes and triterpene saponins was investigated in the work. It was shown that all studied groups of terpenoids can be considered as promising antiviral agents on the model of influenza virus with the antigenic formula H7N1 and H3N2.

**Keywords:** influenza virus, terpenoids, antiviral activity.

**Введение.** Грипп и другие острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) занимают ведущее место в инфекционной патологии человека, составляя от 75 до 90% всех случаев инфекционных заболеваний. Ежегодно, по статистическим данным, на долю гриппа и ОРВИ приходится около 40% временной нетрудоспособности, а количество зарегистрированных случаев заболеваний в мире превышает 70 млн. человек [1].

Несмотря на то, что вакцинопрофилактика является основным сдерживающим инструментом для предотвращения распространения гриппа, в силу ряда причин, таких как многообразие этиологических факторов, смена антигенных характеристик возбудителей, особенности индивидуального и коллективного иммунитета и т.д., она не в состоянии обеспечить полную защиту населения от гриппа [2, 3]. Этот вопрос напрямую связан с биобезопасностью и национальной безопасностью страны. Ведь в случае возникновения крупномасштабных эпидемий и пандемий, возможность обеспечения необходимыми диагностическими, вакцинными и лекарственными препаратами может оказаться под вопросом. Кроме того, имеющиеся в настоящее время

на рынке лекарственных препаратов противогриппозные средства не всегда обеспечивают надежную защиту от инфекции, что обусловлено высокой изменчивостью вируса гриппа и, вследствие этого, быстрым возникновением лекарственно устойчивых штаммов.

Развитие отечественной фарминдустрии и создание новых эффективных препаратов для борьбы с опасными и широко распространенными вирусными инфекциями является одной из первоочередных задач, стоящих перед государством. Это в полной мере относится и к Республике Казахстан, где фарминдустрия пока не получила своего достаточного развития и подавляющее большинство диагностических, вакцинных и лекарственных препаратов завозятся из-за рубежа.

Использование биологически активных соединений растительного происхождения для создания противовирусных препаратов является активно развивающимся научным направлением. Низкая токсичность и высокая биологическая активность природных соединений растительного происхождения, неисчерпаемый потенциал природного растительного биоразнообразия, дают возможность для создания принципиально новых лекарственных средств, в том числе для контроля вирусных инфекций. Большой объем подобных исследований идет и в отношении разработки новых противогриппозных препаратов [5-7].

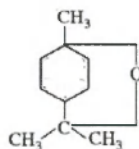
В исследованиях проводилось сравнительное изучение антивирусных свойств соединений растительного происхождения терпеноидной природы и их модифицированных производных, как потенциальных источников для создания новых противогриппозных лекарственных средств.

**Методы исследования.** В качестве объектов исследования использовали очищенные растительные соединения, принадлежащие к различным группам терпеноидов (монотерпены, сесквитерпены, три-терпеновые гликозиды) и их модифицированные производные. Структурные формулы исследуемых соединений представлены на рисунке 1.

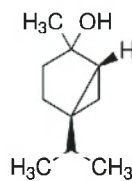
Соединения были получены либо в лаборатории противовирусной защиты Института микробиологии и вирусологии, или любезно предоставлены сотрудниками АО «МНПХ Фитохимия», г. Караганда, Казахстан. В качестве контрольных препаратов использовали коммерческие противовирусные препараты Амизон («Фармак», Украина) и Тамифлю (Сенекси САС, Франция).

В экспериментах использовали эпидемически значимый штамм вируса гриппа А/Алматы/8/98 (H3N2) и штамм чумы птиц А/FPV/Rostock/34 (H7N1).

**Монотерпены**

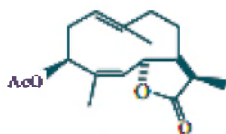


1,8-цинеол

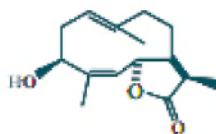


Сабинен гидрат

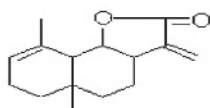
**Сесквитерпены**



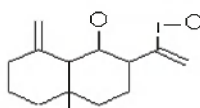
Аянолид



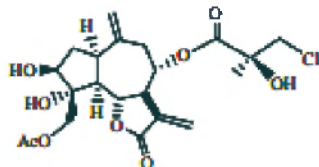
Деацетилаянолид



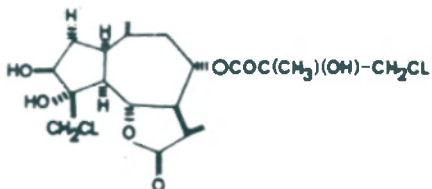
Алانتолактон



Изоалантолактон

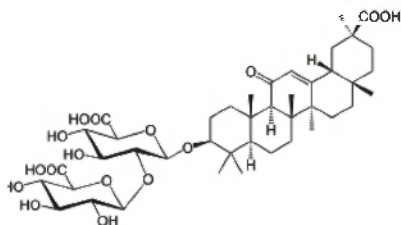


Рапосерин

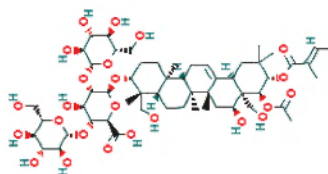


Центауропенсин

**Тритерпены**



Глицеризиновая кислота



Эсцин 1А

Рисунок 1 – Исследуемые биологически активные растительные соединения терпеноидной структуры

Вирусы выращивали в аллантаоисной полости 10-11-дневных куриных эмбрионов (КЭ) в течение 24-36 ч. при 37°C.

Изучение токсичности и специфической противовирусной активности исследуемых препаратов проводилось в соответствии с методическими рекомендациями «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [8]. Жизнеспособность клеток определяли методом детекции дегидрогеназной активности (МТТ-тест). Основным критерием при изучении специфического противовирусного действия соединений являлся показатель ХТИ (химико-терапевтический индекс), определяемый отношением среднетоксичной концентрации вещества ( $TK_{50}$ ) к средне-эффективной вирусингибирующей концентрации ( $ЭК_{50}$ ).

Для математической обработки результатов использовали стандартные методы нахождения средних значений и их средних ошибок [9].

**Основные результаты.** Сравнительный анализ изучения токсичности исследуемых соединений показал, что препараты обладают широким интервалом токсичности от 0,7 до 6 мМ/л (таблица 1). При этом токсичность соединений в группе циклогексановых монотерпенов отличалась друг от друга в 6 раз. Так, если средняя токсическая концентрация метанового 1,8-цинеола составляла 1 мМ/л, аналогичный показатель для туйанового монотерпеноида сабинен гидрата составлял 6 мМ/л. Такое поведение сабинен гидрата возможно за счет стабилизации сабинил катиона депротонированием соседних метильной или метиленовой групп с образованием собственно сабинен гидрата [10]. Токсичность остальных препаратов отличалась друг от друга не более, чем в 2 раза, что можно объяснить структурными особенностями исследуемых соединений. Например, заменой ацильной группы аянолида на атом водорода в дезацилаянолиде, переходом двойной связи из внутреннего кольца во внешнее в группе аланталактонов и т.д.

Сравнительный анализ противовирусной активности исследованных соединений показал, что ХТИ образцов варьирует от 1 до 40 (таблица 1). В группе монотерпенов противовирусная активность 1,8-цинеола в пять раз превышала противовирусную активность сабинен гидрата, что, по-видимому, связано с достаточно высокой активностью 1-8 кислородной связи. Стабилизация сабинил катиона с образованием сабинен гидрата приводила не только к снижению токсичности данного вещества, но и к снижению его биологической активности.

Таблица 1 - Изучение токсичности и специфической противовирусной активности препаратов терпеноидной природы

| Вещество                | Химическая классификация | Молекулярный вес, г/М | Средняя токсическая концентрация вещества $TK_{50}$ в мМ | A/FPV/Rostock/34 (H7N1)  |      | A/Алматы/8/98 (H3N2)   |      |
|-------------------------|--------------------------|-----------------------|--|--|------|--|------|
|                         |                          |                       |  | Средне-эффективная вирусингибирующая концентрация $ЭК_{50}$ в мМ | ХТИ  | Средне-эффективная вирусингибирующая концентрация $ЭК_{50}$ в мМ | ХТИ  |
| 1,8-цинеол              | Монотерпен               | 145                   | 1,0±0,04   | 0,098±0,002  | 10,2 | 0,196±0,005  | 5,1  |
| Сабинен гидрат          | Монотерпен               | 198                   | 6,0±0,07   | 3,23±0,05  | 1,86 | 3,5±0,04   | 1,71 |
| Аянолид                 | Сесквитерпен             | 300                   | 0,9±0,05   | 0,025±0,001  | 36   | 0,05±0,003   | 18   |
| Дезацилаянолид          | Сесквитерпен             | 280                   | 1,1±0,05   | 0,2±0,005  | 5,5  | 0,4±0,005  | 2,75 |
| Алантолактон            | Сесквитерпен             | 232                   | 0,8±0,03   | 0,04±0,004   | 20,0 | 0,09±0,001   | 8,9  |
| Изоалантолактон         | Сесквитерпен             | 232                   | 0,7±0,04   | 0,15±0,002   | 4,7  | 0,25±0,003   | 2,8  |
| Рапосерин               | Сесквитерпен             | 300                   | 1,0±0,05   | 0,025±0,001  | 40   | 0,05±0,004   | 20,0 |
| Центауропенсин          | Сесквитерпен             | 385                   | 0,7±0,04   | 0,03±0,005   | 23,3 | 0,05±0,002   | 14,0 |
| Глицерризиновая кислота | Тритерпеновый сапонин    | 822,94                | 2,7±0,09   | 2,43±0,04  | 1,1  | 2,6±0,05   | 1,04 |
| Эсцин 1А                | Тритерпеновый сапонин    | 1131,3                | 4,2±0,08   | 0,71±0,002   | 5,92 | 0,9±0,01   | 4,67 |
| Амизон (Энисамия йодид) | Коммерческий препарат    | 354                   | 0,1±0,001  | 0,022±0,001  | 4,5  | 0,035±0,001  | 2,86 |
| Осельтамивир (Тамифлю)  | Коммерческий препарат    | 312,4                 | 0,0032±0,0001  | 0,00021±0,00001  | 15,3 | 0,00031±0,00001  | 10,3 |

Вирусингибирующая активность сесквитерпенов менялась при изменении структуры соединения. Например, потеря ацильной группы аянолидом приводила к шестикратному снижению противогриппозной активности у дезацетилаянолида на модели обоих исследованных вирусов гриппа (H1N1 и H3N2). Смещение двойной связи из внутреннего кольца во внешнее положение в группе алантолактон – изоалантолактон приводило к снижению противовирусной активности у изоалантолактона, что связано со стабилизацией данной молекулы и ее меньшей реактогенностью. Замена группы  $-CH_2Cl$  на  $-CH_2COOH$  в структуре рапосерина вела к повышению активности данного препарата по отношению к центауропенсину почти в два раза, что связано с выраженной биологической активностью ацильной группы [11-13].

Противовирусная активность тритерпеновых сапонинов также зависела от структуры соединения [14-16]. Эсцин 1А, содержащий в своем составе три сахарных остатка и большее количество карбоксильных групп проявлял более выраженные противовирусные свойства против обоих модельных вирусов, чем глицерризиновая кислота.

В качестве препаратов сравнения использовали коммерческие противовирусные препараты Амизон и Тамифлю. На модели эпидемически значимого вируса гриппа с антигенной формулой H3N2 показано, что монотерпены и тритерпены проявляли менее выраженные противовирусные свойства, чем коммерческий препарат Тамифлю, однако, активность исследуемых веществ превышала активность коммерческого противовирусного препарата Амизон. Сесквитерпены аянолид и рапосерин по данным ХТИ обладали вдвое большей активностью, по сравнению с противовирусным препаратом Тамифлю. Противовирусная активность сесквитерпена центауропенсина была в 1,5 раза выше активности Тамифлю, на модели эпидемически значимого вируса гриппа с антигенной формулой H3N2.

Таким образом, на модели вируса гриппа с антигенной формулой H7N1 показано, что противогриппозная активность сесквитерпенов аянолида, рапосерина, алантолактона и центауропенсина значительно превосходит активность коммерческого противовирусного препарата Тамифлю, являющегося наиболее сильным из известных коммерческих противогриппозных средств.

Также на модели вирусов гриппа с антигенной формулой H7N1 и H3N2 установлено, что разные классы терпеноидов и их модифицированные производные, обладают разной степенью противовирусной активности. Наибольшую активность проявляют сесквитерпеновые соединения, что дает основание рассматривать их в качестве наиболее перспективных противовирусных средств.

**Заключение.** Растения являются основным природным источником получения биологически активных соединений, в том числе обладающих противовирусными свойствами. Биологически активные соединения растительного происхождения, имеющие противовирусные свойства, весьма разнообразны. Среди них есть такие классы соединений, как алкалоиды, кумарины, лигнаны, моно-, сескви- и тритерпеноиды, фенолы, фенилпропаноиды, хиноны, танины, тиофены, полиацетилены и флавоноиды. Механизм противовирусного действия данных препаратов разнообразен. В представленной работе дана оценка противовирусных свойств разных классов терпеноидных соединений растительного происхождения. Выраженный химико-терапевтический индекс представителей этого класса соединений является предпосылкой для их дальнейшего изучения в качестве противовирусных препаратов.

В результате проведенных исследований показано, что все исследованные группы терпеноидов являются перспективным классом биологически активных соединений растительного происхождения для поиска новых противовирусных препаратов. При этом наибольший интерес представляют соединения сесквитерпенового ряда.

### Список литературы

1 Influenza (Seasonal) Fact sheet №211. WHO. int. March 2014. Archived from the original on 30 November 2014. Retrieved 25 November 2014.

2 Hudson J.B. The use of herbal extracts in the control of influenza // J Med Plants Res. – 2009. – V. 3. – P. 1189-1194.

3 Halsey N.A., Proveaux T. Value of an in-depth analysis of unpublished data on the safety of influenza vaccines in pregnant women // Vaccine. – 2017. – V. 35. – P. 6154- 6159.

4 Principi N., Esposito S. Protection of children against influenza: Emerging problems // Human vaccines and immunotherapeutics. – 2018. – V. 14. – P. 750-757.

5 Kuroda K., Sawai R., Shibata T., Gomyou R., Osawa K., Shimizu K. Anti- influenza virus activity of Chaenomeles sinensis // J Ethnopharmacol. – 2008. – V. 118. – P. 108-112.

6 Ludwig S., Ehrhardt C., Hrinčius E.R., Korte V., Mazur I., Droebner K., Poetter A., Dreschers S., Schmolke M., Planz O. 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. – V. 76. – P. 38-47.

7 He W., Han H., Wang W., Gao B. Anti-influenza virus effect of aqueous extracts from dandelion // Virology Journal. – 2011. – V. 8. – P. 538.

8 Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических ис-



следований лекарственных средств. Часть первая. — М.: Гриф и К, 2012. — 944 с.

9 *Урбах В.Ю.* Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. - М.: Медицина, 1975. - 296с.

10 *Племенков В.В.* Химия изопреноидов. Глава 5. Монотерпены // Химия природных соединений. - 2006. - № 2. - С. 63-87.

11 *Fraga B.M.* Natural sesquiterpenoids // Nat. Prod. Rep. - 2012. - V. 29. - P. 1226-1264.

12 *Schmidt T.J.* Toxic activities of sesquiterpene lactones: Structural and Biochemical Aspects // Current Organic Chemistry. - 1999. - V. 3. - P. 577- 608.

13 *Кагарлицкий А.Д., Адекенов С.М., Куприянов А.Н.* Сесквитерпеновые лактоны растений Центрального Казахстана. - Алматы: Наука, 1987. - 240 с.

14 *Voutquenne L., Lavaud C., Massiot G., Olivier L.* Structure-Activity Relationships of Hemolytic Saponins // Pharmaceutical Biology. - 2002. - V. 40. - P. 1-11.

15 *Desai S.D., Desai D.G., Kaur H.* Saponins and their Biological Activities // Pharma Times. - 2009. - V. 41. - P. 57-65.

16 *Papadopoulou M., Osbourn A.* Metabolic and functional diversity of saponins, biosynthetic intermediates and semi-synthetic derivatives // Crit Rev Biochem Mol Biol. - 2014. - V. 49. - P. 439-462.

**Турмагамбетова А.С.**, доктор философии (PhD), e-mail: aichyck@mail.ru

**Зайцева И.А.**, научный сотрудник, e-mail: z\_irina67@mail.ru

**Омиртаева Э.С.**, научный, e-mail: omirel@mail.ru

**Соколова Н.С.**, научный сотрудник, e-mail: falcon7774@mail.ru

**Богоявленский А.П.**, доктор биологических наук, профессор, e-mail: anprav\_63@mail.ru

**Атажанова Г.А.**, доктор химических наук, профессор, член-корреспондент НАН РК

**Мукушева Г.К.**, кандидат химических наук, e-mail: phyto\_pio@mail.ru

**Адекенов С.М.**, доктор химических наук, профессор, академик, e-mail: arglabin@phyto.kz

**Березин В.Э.**, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент НАН РК, e-mail: vberezin359@gmail.com

Коллектив авторов выражает искреннюю благодарность сотрудникам АО «МНПХ Фитохимия», Караганда за любезно предоставленные соединения терпеноидной природы моно- и сесквитерпенового ряда.