

ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ГЛИЦЕРРЕТОВОЙ И ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТ

В.В. Зарубаев¹, В.Б. Аникин¹, В.С. Смирнов²

¹ ФГБУ НИИ гриппа Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

² ЗАО МБНПК «Цитомед», Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Грипп представляет собой высококонтагиозное заболевание человека. На фоне использования этиотропных противовирусных препаратов формируются лекарственно-устойчивые штаммы вируса, следствием чего является снижение эффективности этиотропной химиотерапии. В обзоре рассмотрена биологическая активность глицерретовой (ГЛК) и глицирризиновой (ГК) кислот в свете использования в качестве терапевтического средства при вирусных инфекциях. Так, эти соединения проявляют активность против широкого спектра вирусов, включая герпес-, корона-, альфа- и флавивирусы, вирус иммунодефицита человека, вирус вакцины, полиовирус I типа, вирус везикулярного стоматита и вирус гриппа А. Приведенные данные свидетельствуют, что противовирусное действие этих соединений обусловлено несколькими типами активности — прямым противовирусным действием, воздействием на клеточные про- и противовирусные пути и иммуномодулирующей активностью, в частности активацией системы неспецифического иммунитета. ГК интерферирует с ранними этапами вирусного репродуктивного цикла, такими как связывание вируса с его рецептором, поглощение вируса путем эндоцитоза или разделение вируса в цитоплазме. Это обусловлено эффектом снижения текучести мембран в присутствии ГК. Таким образом, один из механизмов противовирусной активности ГК заключается в том, что молекула ГК повышает ригидность мембран клетки и вириона, встраиваясь в них. В результате повышается энергетический порог, требуемый при образовании зон отрицательной кривизны при слиянии, а также затрудняется латеральная миграция вирус-рецепторных комплексов. Кроме того, глицирризин препятствует взаимодействию нуклеопротеина вируса гриппа с клеточным белком NMGB1, которое является необходимым для полноценного жизненного цикла вируса. Глицирризин также угнетает индукцию окислительного стресса при гриппозной инфекции, проявляя антиоксидантные свойства, что приводит к снижению вирусиндуцированную продукцию цитокинов/хемокинов, не влияя на репликацию самого вируса. Широкий спектр биологической активности и воздействие на разные звенья патогенеза вирусных заболеваний обуславливают эффективность ГК и ГЛК в качестве компонентов комплексной противовирусной терапии. Комбинация в одном препарате различных противовирусных механизмов делает ГК и ГЛК уникальными средствами, способными оказывать противовирусное действие при многих типах вирусных патологий, что подчеркивает их перспективность как компонента комплексной противовирусной терапии. Дальнейшие исследования в области оптимизации их применения могут привести к разработке новых противовирусных препаратов и эффективных схем их совместного применения.

Ключевые слова: грипп, глицирризиновая кислота, противовирусная активность, иммуномодулирующая активность, противовирусные препараты.

Адрес для переписки:

Зарубаев Владимир Викторович
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 15/17,
ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ.
Тел.: (812) 499-15-72 (служебн.).
E-mail: zarubaev@influenza.spb.ru

Contacts:

Vladimir V. Zarubaev
197376, Russian Federation, St. Petersburg,
Professor Popov str., 15/17, Research Institute of Influenza.
Phone: +7 (812) 499-15-72 (office).
E-mail: zarubaev@influenza.spb.ru

Библиографическое описание:

Зарубаев В.В., Аникин В.Б., Смирнов В.С. Противовирусная активность глицерретовой и глицирризиновой кислот // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 3. С. 199–206. doi: 10.15789/2220-7619-2016-3-199-206

Citation:

Zarubaev V.V., Anikin V.B., Smirnov V.S. Anti-viral activity of glycirrhetic and glycirrhizic acids // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 3, pp. 199–206. doi: 10.15789/2220-7619-2016-3-199-206

ANTI-VIRAL ACTIVITY OF GLYCIRRHETINIC AND GLYCIRRHIZIC ACIDSZarubaev V.V.^a, Anikin V.B.^a, Smirnov V.S.^b^a *Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation*^b *MBRD "Cytomed", St. Petersburg, Russian Federation*

Abstract. Influenza is a highly contagious human disease. In the course of use of antiviral drugs drug-resistant strains of the virus are formed, resulting in reduced efficiency of the chemotherapy. The review describes the biological activity of glycirrhetic (GLA) and glycirrhizic (GA) acids in terms of their use as a therapeutic agent for viral infections. So, these compounds are against a broad spectrum of viruses, including herpes, corona-, alpha- and flaviviruses, human immunodeficiency virus, vaccinia virus, poliovirus type I, vesicular stomatitis virus and influenza A virus. These data indicate that anti-viral effect of these compounds is due to several types of activity — direct antiviral effects, effects on cellular pro- and anti-viral and immunomodulating pathways, in particular by activation of innate immunity system. GA interferes with early steps of the viral reproductive cycle such as virus binding to its receptor, the absorption of the virus by endocytosis or virus decapsidation in the cytoplasm. This is due to the effect of GA-induced reduction of membrane fluidity. Thus, one mechanism for the antiviral activity of GA is that GA molecule increases the rigidity of cellular and viral membranes after incorporation in there. This results in increasing of energy threshold required for the formation of negative curvature at the fusion zones, as well as difficult lateral migration of the virus-receptor complexes. In addition, glycyrrhizin prevents interaction of viral nucleoprotein with cellular protein HMGB1, which is necessary for the viral life cycle. Glycyrrhizin also inhibits the induction of oxidative stress during influenza infection, exhibiting antioxidant properties, which leads to a reduction of virus-induced production of cytokines/chemokines, without affecting the replication of the virus. A wide spectrum of biological activity and effect on various aspects of the viral pathogenesis substantiate the effect of GA and GLA as a component of a complex antiviral therapy. A combination of antiviral mechanisms makes GA and GLA unique means capable of providing an antiviral effect in many types of viral pathologies that emphasizes their prospects as a component of comprehensive antiviral therapy. Further research in the field of optimization of their application may lead to the development of new antiviral drugs and effective schemes of their combined application.

Key words: *influenza, glycirrhizic acid, anti-viral activity, immunomodulating activity, antivirals.*

Большинство современных фармакологических препаратов берут свое начало в химических соединениях растительного происхождения. Огромное химическое разнообразие вторичных растительных метаболитов, доступность сырья и многолетний опыт его использования, в том числе в народной медицине, делают растительные соединения важной, если не ведущей, составной частью фармакологической науки и производства.

Основным фармакологическим компонентом корней солодки является глицирризиновая кислота (ГК) — соединение, состоящее из агликона, представленного тритерпеновым производным глицирретовой кислоты (ГЛК), и дисахаридного фрагмента (рис.). Помимо гликозидных производных глицирретовой кислоты, в корне солодки содержится порядка 20 гликозидов других, минорных тритерпеновых агликонов, которые суммарно, вместе с глицирризиновой кислотой, обозначаются термином «глицирризин». Глицирризин, таким образом, не является химически чистым соединением, а представляет собой смесь родственных веществ, мажорным компонентом которой является глицирризиновая кислота.

Благодаря широкому распространению солодки и высокому содержанию в них ГК, это соединение в течение длительного времени

широко изучалось с точки зрения применимости в фармакологии. К сегодняшнему дню описаны самые разные типы биологической активности ГК, такие как противовоспалительные, анальгезирующие, антиаллергические, гиполипидемические, антиоксидантные, антитоксические, гепатопротективные, иммуностропные, антимикробные и противоопухолевые свойства, способность влиять на нервную, сердечно-сосудистую и выделительную систему и др. Настоящий обзор посвящен противовирусным свойствам ГК и ГЛК, а также существующим гипотезам, объясняющим механизм вирусингибирующего действия этих соединений.

ГЛК активна против широкого спектра вирусов, включая герпес-, корона-, альфа- и флавивирусы, вирус иммунодефицита человека, вирус вакцины, полиовирус I типа, вирус везикулярного стоматита и вирус гриппа А [8, 9, 18, 20, 21, 26, 27, 30, 37]. В частности, противовирусная активность GL была продемонстрирована на развивающихся куриных эмбрионах и мышцах *in vivo*, однако детальный анализ противовирусного действия и основной механизм в культурах клеток до сих пор не описаны.

Прежде чем говорить о конкретных примерах и механизмах подавления вирусной репродукции, нужно упомянуть, что по ми-

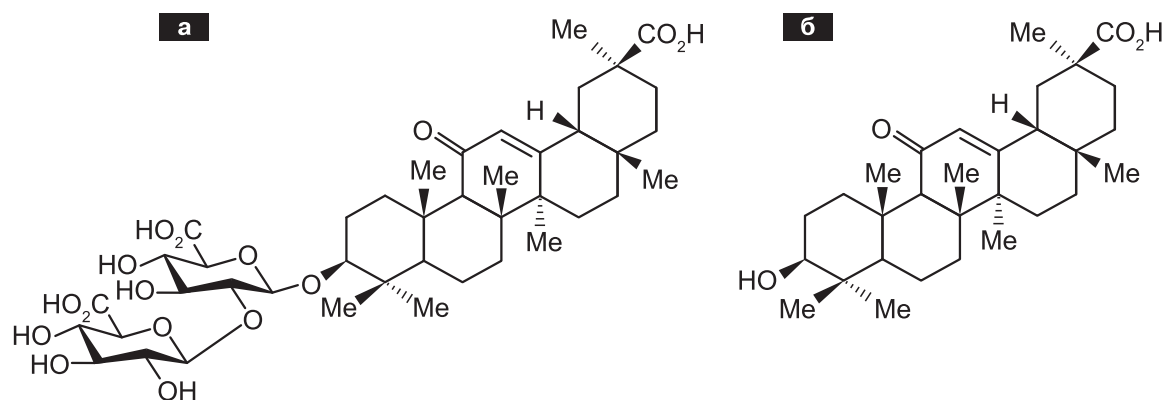


Рисунок. Химическое строение глицирризиновой (а) и глицерретовой (б) кислот

шени приложения противовирусные соединения можно разделить на несколько групп. Это, в первую очередь, этиотропные препараты — вещества, ингибирующие вирусспецифические белки. Во-вторых, это интерфероны и индукторы интерферонов, индуцирующие механизмы неспецифического (врожденного) иммунного ответа на вирусную инфекцию. В-третьих, это соединения, воздействующее на клеточные компоненты и процессы, необходимые для эффективной вирусной репродукции. Рассмотрим отдельно активность ГК и ГЛК, реализуемую при помощи каждого из этих механизмов.

Прямая противовирусная активность

Основная информация о противовирусной активности тритерпеновых компонентов солодки относится к ГК. Данных о противовирусной активности глицерретовой кислоты по сравнению с глицирризиновой, относительно мало, и немногочисленные изученные механизмы ее активности различаются в зависимости от исследуемого вируса. Известно, что при внутривенном введении ГЛК метаболизируется в печени лизосомальными ферментами до 3-моноглюкуронид-глицерретовой кислоты, а затем при помощи глюкуронидаз кишечных бактерий — до ГК, которая впоследствии подвергается реабсорбции [16, 38]. Поэтому возможно, что противовирусные свойства ГЛК, хотя бы частично, связаны ее метаболитом — ГК. Глицирризиновая кислота, однако, под влиянием бактериальных ферментов кишечника метаболизируется в 18β-глицерретовую кислоту [17], что дополнительно связывает друг с другом активность этих двух соединений, в особенности в опытах *in vivo*.

Так, Hardy et al. [14] показали, что ГЛК способна угнетать в культуре клеток репродукцию

ротавируса. Интересно, что ГК в этой системе противовирусной активности не проявляла. ГЛК не оказывала действия на способность внеклеточных вирионов инфицировать клетки, и эффект ее проявлялся в течение первых двух часов после контакта вируса с клетками, что предполагает, что мишень ее действия важна для репродукции вируса сразу после проникновения вирусной частицы в клетку. Механизм этого явления до конца не выяснен. Полагают, что он связан со способностью ГЛК активировать сигнальный путь NF-κB. Этот основной путь неспецифического иммунитета служит для запуска эффекторного звена ответа клеток на инфицирование вирусами, и многие вирусы выработали собственные механизмы для борьбы с ним. Дополнительная стимуляция NF-κB при помощи ГЛК, таким образом, служит способом подавления репродукции вируса.

Действие ГЛК на модели ротавирусной инфекции животных, однако, заключалось в активации миграции лимфоцитов в зоны инфицирования, что приводило к сокращению периода выделения вируса, а также к активации продукции антител путем стимуляции созревания В-лимфоцитов [17].

В 2003 г., когда оказалось, что коронавирусы способны вызывать летальную инфекцию человека, приводя к развитию так называемой атипичной пневмонии, или тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС, или SARS [англ. Severe Acute Respiratory Syndrome]), было продемонстрировано вирусингибирующее действие глицирризина на SARS-ассоциированный коронавирус в клеточной культуре [8]. Эффект глицирризина оказался сильнее, чем действие препаратов сравнения — рибавирина, 6-азауридина, пиразофурина и микофеноловой кислоты. Позже противовирусная активность ГК была на порядок повышена

при помощи синтеза производных, несущих в гликозидной цепи аналогов 2-ацетиамидо- β -D-глюкопиранозиламина [18]. Высказывалось предположение, что активность ГК обусловлена воздействием на клеточные сигнальные процессы или продукцию оксида азота.

Следует также отметить исследование Michaelis et al. [23], где показано, что в клетках легочного происхождения линии A549 глицеризин ингибирует репликацию высокопатогенного вируса гриппа А(H5N1), вирусиндуцированный апоптоз и экспрессию провоспалительных цитокинов.

Несмотря на результаты исследований, свидетельствующих о способности ГК угнетать репродукцию самых разных вирусов *in vitro*, этиотропное ее действие маловероятно или по крайней мере не играет первостепенной роли в противовирусном действии *in vivo*. Подавляющее большинство данных свидетельствует об опосредованных механизмах активности ГК, которые и будут рассмотрены в следующих разделах.

Воздействие на клеточные мишени

В течение длительного времени было известно, что противовирусная активность ГК реализуется через индукцию IFN γ [3]. Наряду с этим существуют убедительные свидетельства того, что ГК, по крайней мере частично, реализует свои противовирусные свойства непосредственно через взаимодействие клетка–вирус, а не только через иммунные механизмы.

Оценка различных протоколов применения ГК на клетках, инфицированных корона-вирусами, а также результаты скрининговых экспериментов с использованием производных ГК для оценки антикоронавирусной активности подтверждают, что ГК препятствует адсорбции вирусов на клеточных рецепторах или проникновению вируса в клетку, то есть действует на ранних стадиях репродуктивного цикла вируса [8, 18]. Кроме того, подавление проникновения вируса в клетку было предложено в качестве модели механизма действия ГК против инфекции, вызванной вирусом Эпштейна–Барр [21]. Эту гипотезу поддерживают данные Harada [13], который на модели инфекции ВИЧ показал изменение текучести липидного бислоя вирусных и плазматических мембран после обработки ГК, что приводит к подавлению слияния вирусной и клеточной мембран, и, следовательно, к снижению инфицирования различными вирусами. В работе Wolkerstorfer et al. [40] показано, что обработка ГК клеток легких человека,

инфицированных вирусом гриппа, приводит к достоверному снижению титров вируса, а также снижению уровня цитодеструкции и количества вирусной РНК в клеточных лизатах и супернатантах культур клеток. Важно, что активность ГК проявляется только на стадии адсорбции вируса и исчезает уже через 1 ч после инфицирования. При этом ГК не блокирует вирусный гемагглютинин и не маскирует вирусный рецептор на поверхности клетки. Эти результаты приводят к выводу о том, что ГК интерферирует с ранними этапами вирусного репродуктивного цикла, такими как связывание вируса с его рецептором, поглощение вируса путем эндоцитоза или раздевание вируса в цитоплазме. Эти данные согласуются с ранее описанным эффектом снижения текучести мембран в присутствии ГК. Таким образом, один из механизмов противовирусной активности ГК заключается в том, что молекула ГК, встраиваясь в мембрану как клетки, так и, возможно, вириона, повышает ее ригидность. В результате повышается энергетический порог, требуемый при образовании зон отрицательной кривизны при слиянии. Энергии, обеспечиваемой вирусными белками слияния, становится недостаточно для преодоления такого порога, и слияния не происходит. Кроме того, повышение ригидности мембраны затрудняет латеральную миграцию вирус-рецепторных комплексов в тех случаях, если для проникновения вирус нуждается в корцепторе или кластеризации рецепторов [25]. Этим, возможно, объясняется ранее описанная неспособность ГК ингибировать репродукцию безоболочечных ротавирусов, не зависящих от мембранных компонентов для проникновения в клетку.

Следует сказать, что описанный механизм противовирусной активности ГК не уникален. Повышение жесткости мембран используется еще в нескольких случаях, когда клетке необходимо препятствовать процессу слияния. Слияние мембран, как и патоген-ассоциированные молекулярные структуры, служит для клетки сигналом о внешнем вторжении и приводит к активации защитных систем, поскольку система врожденного иммунитета содержит компонент защиты, способный различать процессы физиологического и нефизиологического (вирусиндуцированного) слияния мембран, не реагируя при этом на первый и запуская каскад защитных реакций в ответ на второй [19]. Так, одним из интерферон-стимулируемых генов является семейство белков IFITM (Interferon-inducible transmembrane protein), включающее белки IFITM1, 2 и 3. Предпола-

гается, что белки IFITM меняют физические свойства клеточных мембран, препятствуя таким образом их слиянию. При экспрессии IFITM их соседние домены, расположенные в мембране, взаимодействуют между собой, избирательно насыщая ее внешний липидный слой. Это приводит к повышению ригидности мембраны. Еще одним клеточным фактором врожденного иммунитета является белок виперин, который блокирует почкование вирионов потомства от плазматической мембраны. Механизм такой блокировки состоит в изменении текучести мембраны путем разрушения липидных мостиков — сайтов почкования вирионов от клеточной поверхности [39]. Тот же эффект достигается при активации еще одного интерферон-стимулируемого гена — холестерин-25-гидроксилазы (CH25H), кодирующего фермент, который катализирует окисление холестерина до его растворимой формы — 25-гидроксихолестерина (25-НС). 25-НС способен модифицировать свойства клеточной мембраны, благодаря чему является противовирусным фактором широкого спектра действия [22].

Еще один механизм противовирусного действия ГЛК описан в работе Moisy et al. [24]. Известен белок HMGB1, являющийся одним из факторов организации хроматина в клетках эукариот. Его роль заключается в регуляции взаимодействия ДНК-связывающих белков и сайтов их связывания на хромосомах. Кроме того, этот белок секретируется из иммунных или некротических клеток, играя роль внеклеточного воспалительного цитокина и активатора неспецифического иммунитета. В жизненном цикле вируса гриппа этот белок важен в качестве активатора, поскольку способен связываться с вирусным нуклеопротеином в ядре инфицированной клетки, что повышает активность вирусной полимеразы и способствует росту вируса. Механизм активности глицирризина состоит в том, что он препятствует этому взаимодействию, что снижает эффективность полимеразных реакций и тормозит вирусную репродукцию [24].

Иммунотормозящая активность

Как уже упоминалось, существуют убедительные доказательства того, что противовирусная активность ГК реализуется через индукцию IFN γ [3]. Utsunomiya и соавт. [37] подтвердили, что в клеточной культуре ГК не проявляет ни вирулицидной, ни виростатической активности. Тем не менее, протективный эффект ГК *in vivo* был отчетливо показан

при высоких инфицирующих дозах, вплоть до 100 LD₅₀. Эти опыты свидетельствуют, что наблюдаемое противовирусное действие ГК, в том числе и снижение титра вируса в ткани легких животных, реализуется не через этиотропные механизмы, а через противовирусные функции хозяина. Более детальные исследования показали, что противовирусная активность ГК реализуется через иммуностимулирующее действие, а конкретно — функцию Т-клеток и продукцию ими IFN γ , поскольку перенос Т-клеток от животных, предварительно обработанных ГК, инфицированным мышам, защищал их от летальной гриппозной инфекции, но этот протективный эффект полностью снимался при введении им антител к IFN γ .

Полученные данные важны в следующем аспекте. Ряд сообщений описывают действие экзогенного IFN против гриппозной инфекции [29, 32]. Кроме того, во многих сообщениях описано противовирусное действие индукторов IFN, таких как 9-метилстрептимидон и декстранфосфат, на гриппозную инфекцию у мышей [28, 31, 32, 33, 35, 36]. Было доказано, что эти индукторы IFN проявляют свое протективное действие против гриппозной инфекции через индукцию IFN [4, 33, 34, 36]. Однако титры IFN в сыворотке мышей, обработанной этими индукторами, были относительно низкими по сравнению с количеством экзогенного IFN, требующегося для защиты инфицированных мышей. Это предполагает, что протективные механизмы IFN в отношении гриппа могут различаться в зависимости от того используется ли экзогенный или индуцируется эндогенный IFN. В свете этих данных, хотя ГК, скорее всего, реализует свою протективную активность при гриппе через индукцию синтеза IFN γ , по-видимому, механизмы ее противовирусного действия этим не исчерпываются. Так, в наших собственных исследованиях [1, 2], наряду с протективной активностью ГК против вирусов гриппа А(H1N1) pdm09 и А(H3N2), была продемонстрирована ее способность к индукции синтеза IFN α , что вносило свой вклад в снижение специфической смертности от гриппа.

Использование глицирризина снижало активность воспалительных рецепторов TLR-2 и TLR-4 приблизительно на треть по сравнению с контрольными значениями. Кроме того, ГЛК понижала уровень мРНК таких маркеров воспаления, как IL-1 β и MCP-1 [7]. Эти исследования были проведены на модели спазма мозговых сосудов у крыс. Учитывая, что патогенез острых вирусных инфекций во многом

основывается на тех же медиаторах, можно предполагать, что обнаруженная активность ГЛК может объяснять ее протективную активность и на вирусных моделях.

Следует еще раз отметить исследование Michaelis et al. [23], где показано, что в клетках легочного происхождения линии A549 глицирризин ингибирует репликацию высокопатогенного вируса гриппа А (H5N1), вирусиндуцированный апоптоз и экспрессию провоспалительных цитокинов.

Как уже упоминалось, глицирризин оказывает противовирусное и иммуномодулирующее действие при гриппе А через взаимодействие с клеточной мембраной. Однако эти эффекты наблюдались только в концентрациях ≥ 200 мкг/мл, если глицирризин добавляли в период адсорбции вируса. Поскольку в описываемой работе добавление глицирризина в период адсорбции не влияло на репликацию H5N1, не очевидно, что мембранные эффекты необходимы для анти-H5N1 действия в низких концентрациях.

Показано также, что глицирризин препятствует индукции окислительного стресса при гриппозной инфекции. Антиоксиданты, как было продемонстрировано ранее, ингибируют репликацию вируса гриппа А и индуцированную им экспрессию провоспалительных генов [6, 10, 11], а глицирризин, как известно, обладает антиоксидантным действием [4]. Глицирризин в концентрации 25 мкг/мл эффективно подавлял образование активных форм кислорода при гриппе и фосфорилирование редокс-зависимых MAP-киназ p38 и JNK. Глицирризин, кроме того, снижал H5N1-индуцированную активацию NF- κ B, достоверно угнетая ее в дозе 50 мкг/мл.

Благодаря этому, глицирризин в дозе 50 мкг/мл и менее уменьшал вызванную H5N1 продукцию цитокинов/хемокинов, не влияя на репликацию самого вируса, хотя описанные редокс-чувствительные сигнальные пути участвуют в обоих процессах. Таким образом, индуцированная H5N1 экспрессия генов провоспалительных цитокинов более чувствительна к подавлению образования ROS, чем репликация вируса H5N1. Более того, было показано, что вирус индуцирует клеточные реакции как через зависимые, так и через независимые от репликации события [12].

Заключение

Благодаря высокой доступности и легкости экстракции, тритерпеновые компоненты солодки — глицирризин, ГК и ГЛК привлекают пристальное внимание с точки зрения биологической активности и практического использования. Биологические, в том числе противовирусные, механизмы эти соединений трудно разделить между собой из-за способности ГЛК и ГК превращаться друг в друга в ходе метаболических процессов, в особенности в условиях *in vivo*. Протективные свойства ГК и ГЛК при вирусных инфекциях могут быть связаны с одним из трех механизмов: прямым противовирусным действием, иммуномодулирующей активностью и воздействием на клеточные процессы и компоненты, необходимые для нормальной вирусной репродукции. Комбинация этих механизмов делает ГК и ГЛК уникальными средствами, способными оказывать противовирусное действие при многих типах вирусных патологий, что подчеркивает их перспективность как компонента комплексной противовирусной терапии.

Список литературы/References

1. Смирнов В.С., Зарубаев В.В., Анфимов П.М., Штро А.А. Влияние комбинации глутамил-триптофана с глицирризиновой кислотой на течение острой инфекции у мышей, вызванной вирусом гриппа (H3N2). Вопросы вирусологии. 2012. Т. 57, № 3. С. 23–27. [Smirnov V.S., Zarubaev V.V., Anfimov P.M., Shtro A.A. Effect of a combination of glutamyl-tryptophan and glycyrrhizic acid on the course of acute infection caused by influenza (H3N2) virus in mice. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2012, vol. 57, no. 3, pp. 23–27. (In Russ.)]
2. Смирнов В.С., Гаршинина А.В., Штро А.А., Аникин В.Б., Галочкина А.В., Беляевская С.В., Зарубаев В.В. Протективная активность комбинации глутамил-триптофана и глицирризиновой кислоты при пероральном введении на модели экспериментальной летальной гриппозной инфекции у белых мышей, вызванной осельтамивир-устойчивым штаммом вируса. Вопросы вирусологии. 2014. Т. 59, № 5. С. 31–38. [Smirnov V.S., Garshinina A.V., Shtro A.A., Anikin V.B., Galochkina A.V., Belyaevskaya S.V., Zarubaev V.V. Anti-viral activity of complex of glycyrrhizic acid–alpha-glutamyltryptophan against experimental lethal influenza infection in white mice caused by oseltamivir-resistant strain of the virus. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2014, vol. 59, no. 5, pp. 31–38. (In Russ.)]
3. Abe N., Ebina T., Ishida N. Interferon induction by glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in mice. *Microbiol. Immunol.*, 1982, vol. 26, pp. 535–539. doi: 10.1111/j.1348.0421.1982.tb00207.x
4. Asl M.N., Hosseinzadeh H. Review of pharmacological effects of Glycyrrhiza sp. and its bioactive compounds. *Phytother. Res.*, 2008, vol. 22, pp. 709–724. doi: 10.1002/ptr.2362
5. Aso H., Ebina T., Ishida N., Suzuki F. Antiviral activity of Ge-132 (an organic germanium compound) in mice infected with influenza A (H2N2) virus. *Chemotherapy (Tokyo)*, 1986, vol. 34, pp. 665–671.

6. Cai J., Chen Y., Seth S., Furukawa S., Compans R.W. Inhibition of influenza infection by glutathione. *Free Radic. Biol. Med.*, 2003, vol. 34, pp. 928–936. doi: 10.1016/S0891 5849(03)00023-6
7. Chang C.Z., Wu S.C., Kwan A.L. Glycyrrhizin attenuates Toll-like receptor-2, -4 and experimental vasospasm in a rat model. *J. Immunol. Res.*, 2014: 740549. doi: 10.1155/2014/740549
8. Cinatl J., Morgenstern B., Bauer G., Chandra P., Rabenau H., Doerr H.W. Glycyrrhizin, an active component of liquorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus. *Lancet*, 2003, vol. 361 (9374), pp. 2045–2046. doi: 10.1016/S0140 6736(03)13615-X
9. Crance J.M., Biziagos E., Passagot J., Van Cuyck-Gandre H., Deloince R. Inhibition of hepatitis A virus replication in vitro by antiviral compounds. *J. Med. Virol.*, 1990, vol. 31, pp. 155–160. doi: 10.1002/jmv.1890310214
10. De Flora S., Grassi C., Carati L. Attenuation of influenza-like symptomatology and improvement of cell-mediated immunity with long-term N-acetylcysteine treatment. *Eur. Respir. J.*, 1997, vol. 10, pp. 1535–1541.
11. Geiler J., Michaelis M., Naczk P., Leutz A., Langer K. N-acetyl-L-cysteine (NAC) inhibits virus replication and expression of pro-inflammatory molecules in A549 cells infected with highly pathogenic H5N1 influenza A virus. *Biochem. Pharmacol.*, 2010, vol. 79, pp. 413–420. doi: 10.1016/j.bcp.2009.08.025
12. Geiss G.K., An M.C., Bumgarner R.E., Hammersmark E., Cunningham D. Global impact of influenza virus on cellular pathways is mediated by both replication-dependent and -independent events. *J. Virol.*, 2001, vol. 75, pp. 4321–4331. doi: 10.1128/JVI.75.9.4321 4331.200
13. Harada S. The broad anti-viral agent glycyrrhizin directly modulates the fluidity of plasma membrane and HIV-1 envelope. *Biochem. J.*, 2005, vol. 392, pp. 191–199. doi: 10.1042/BJ20051069
14. Hardy M.E., Hendricks J.M., Paulson J.M., Faunce N.R. 18 β -glycyrrhetic acid inhibits rotavirus replication in culture. *Virology*, 2012, vol. 9:96. doi: 10.1186/1743-422X-9-96
15. Hattori M., Sakamoto T., Kobashi K., Namba T. Metabolism of glycyrrhizin by human intestinal flora. *Planta Med.*, 1983, vol. 48(1), pp. 38–42.
16. Hattori M., Sakamoto T., Yamagishi T., Sakamoto K., Konishi K., Kobashi K., Namba T. Metabolism of glycyrrhizin by human intestinal flora. II. Isolation and characterization of human intestinal bacteria capable of metabolizing glycyrrhizin and related compounds. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 1985, vol. 33 (1), pp. 210–217.
17. Hendricks J.M., Hoffman C., Pascual D.W., Hardy M.E. 18 β -glycyrrhetic acid delivered orally induces isolated lymphoid follicle maturation at the intestinal mucosa and attenuates rotavirus shedding. *PLoS ONE*, 2012, vol. 7 (11), e49491. doi: 10.1371/journal.pone.0049491
18. Hoever G., Baltina L., Michaelis M., Kondratenko R., Baltina L., Tolstikov G.A., Doerr H.W., Cinatl J. Jr. Antiviral activity of glycyrrhizic acid derivatives against SARS-coronavirus. *J. Med. Chem.*, 2005, vol. 48 (4), pp. 1256–1259.
19. Holm C.K., Jensen S.B., Jakobsen M.R., Cheshenko N., Horan K.A., Moeller H.B., Gonzalez-Dosal R., Rasmussen S.B., Christensen M.H., Yarovinsky T.O., Rixon F.J., Herold B.C., Fitzgerald K.A., Paludan S.R. Virus-cell fusion as a trigger of innate immunity dependent on the adaptor STING. *Nat. Immunol.*, 2012, vol. 13 (8), pp. 737–743. doi: 10.1038/ni.2350
20. Lampi G., Deidda D., Pinza M., Pompei R. Enhancement of anti-herpetic activity of glycyrrhizic acid by physiological proteins. *Antivir. Chem. Chemother.*, 2001, vol. 12, pp. 125–131.
21. Lin J.C. Mechanism of action of glycyrrhizic acid in inhibition of Epstein–Barr virus replication in vitro. *Antiviral Res.*, 2003, vol. 59, pp. 41–47.
22. Liu S.Y., Aliyari R., Chikere K., Li G., Marsden M.D., Smith J.K., Pernet O., Guo H., Nusbaum R., Zack J.A., Freiberg A.N., Su L., Lee B., Cheng G. Interferon-inducible cholesterol-25-hydroxylase broadly inhibits viral entry by production of 25-hydroxycholesterol. *Immunity*, 2013, vol. 38 (1), pp. 92–105. doi: 10.1016/j.immuni.2012.11.005
23. Michaelis M., Geiler J., Naczk P., Sithisarn P., Leutz A., Doerr H.W., Cinatl J. Jr. Glycyrrhizin exerts antioxidative effects in H5N1 influenza A virus-infected cells and inhibits virus replication and pro-inflammatory gene expression. *PLoS One*, 2011, vol. 6 (5):e19705. doi: 10.1371/journal.pone.0019705
24. Moisy D., Avilov S.V., Jacob Y., Laoide B.M., Ge X., Baudin F., Naffakh N., Jestin J.L. HMGB1 protein binds to influenza virus nucleoprotein and promotes viral replication. *J. Virol.*, 2012, vol. 86 (17), pp. 9122–9133. doi: 10.1128/JVI.00789-12
25. Perreira J.M., Chin C.R., Feeley E.M., Brass A.L. IFITMs restrict the replication of multiple pathogenic viruses. *J. Mol. Biol.*, 2013, vol. 425 (24), pp. 4937–4955. doi: 10.1016/j.jmb.2013.09.024
26. Pompei R., Paghi L., Ingianni A., Uccheddu P. Glycyrrhizic acid inhibits influenza virus growth in embryonated eggs. *Microbiologica*, 1983, vol. 6, pp. 247–250.
27. Pompei R., Flore O., Marccialis M.A., Pani A. Loddo B. Glycyrrhizic acid inhibits virus growth and inactivates virus particles. *Nature*, 1979, vol. 281, pp. 689–690.
28. Saito N., Suzuki F., Sasaki K., Ishida N. Antiviral and interferon-inducing activity of a new glutarimide antibiotic, 9-methylstreptimidone. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1976, vol. 10, pp. 14–19.
29. Saito N., Suzuki F., Ishida N. Antiviral effect of interferon on influenza virus infection in mice. *Tohoku J. Exp. Med.*, 1983, vol. 139, pp. 355–363.
30. Sasaki H., Takei M., Kobayashi M., Pollard R.B., Suzuki F. Effect of glycyrrhizin, an active component of licorice roots, on HIV replication in cultures of peripheral blood mononuclear cells from HIV-seropositive patients. *Pathobiology*, 2002–2003, vol. 70, pp. 229–236.
31. Suzuki F., Suzuki C., Shimomura E., Maeda H., Fujii T., Ishida N. Antiviral and interferon-inducing activities of a new peptidomannan, KS-2, extracted from culture mycelia *Lentinus edodes*. *J. Antibiot.*, 1979, vol. 32, pp. 1336–1345.
32. Suzuki F., Saito N., Ishida N. Antiviral effects of the interferon and interferon inducers in experimental animals. *Protein, Nucleic Acid, Enzyme*, 1976, vol. 21, pp. 260–270.
33. Suzuki F., Ishida N., Suzuki M., Sato T., Suzuki S. Effect of the interferon inducer, dextran phosphate, on influenza virus infection in mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1975, vol. 149, pp. 1069–1075.
34. Suzuki F., Ishida N. Effective mechanisms of interferon and their inducers in vivo. *Jpn. J. Clin. Med.*, 1977, vol. 35, pp. 136–141.

35. Suzuki F., Koide T., Tsunoda A., Ishida N. Mushroom extract as an interferon inducer. I. Biological and physicochemical properties of spore extracts of *Lentinus edodes*. *Mushroom Sci.*, 1974, vol. 9, pp. 509–519.
36. Suzuki F., Saito N., Ishida N. The protective effects of several interferon inducers on influenza virus infection in mice. *Saishin Igaku*, 1975, vol. 30, pp. 1078–1084.
37. Utsunomiya T., Kobayashi M., Pollard R.B., Suzuki F. Glycyrrhizin, an active component of licorice roots, reduces morbidity and mortality of mice infected with lethal doses of influenza virus. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1997, vol. 41, pp. 551–556.
38. Van Rossum T.G., Vulto A.G., De Man R.A., Brouwer J.T., Schalm S.W. Review article: glycyrrhizin as a potential treatment for chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol. Ther.*, 1998, vol. 12, no. 3, pp. 199–205.
39. Wang X., Hinson E.R., Cresswell P. The interferon-inducible protein viperin inhibits influenza virus release by perturbing lipid rafts. *Cell Host Microbe*, 2007, vol. 2, no. 2, pp. 96–105.
40. Wolkerstorfer A., Kurz H., Bachhofner N., Szolar O.H.J. Glycyrrhizin inhibits influenza A virus uptake into the cell. *Antivir. Res.*, 2009, vol. 83, pp. 171–178. doi: 10.1016/j.antiviral.2009.04.012

Авторы:

Зарубаев В.В., к.б.н., ведущий научный сотрудник отдела доклинических исследований ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург;

Аникин В.Б., старший научный сотрудник отдела доклинических исследований ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург;

Смирнов В.С., д.м.н., главный научный сотрудник ЗАО МБНПК «Цитомед», Санкт-Петербург.

Authors:

Zarubaev V.V., PhD (Biology), Leading Researcher, Department of Pre-Clinical Trials, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

Anikin V.B., Senior Researcher, Department of Pre-Clinical Trials, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

Smirnov V.S., PhD, MD (Medicine), Head Researcher, MBRD “Cytomed”, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 21.12.2015
Отправлена на доработку 08.01.2016
Принята к печати 15.07.2016

Received 21.12.2015
Revision received 08.01.2016
Accepted 15.07.2016