УДК: 6576.852.1:615.322:616-002
DOI: https://doi.org/10.61948/prevmed-2024-4-40

М. А. Архипова[1], Д. Б. Старосила[1,2], Т. Ю. Трохимчук[1],
Ю. І. Порва[1,3], О. В. Васильченко[1], Е. М. Жеребцова[4]

ЕНТЕРОВІРУСИ ТА ЇХ ЧУТЛИВІСТЬ ДО ФЛАВОНОЇДІВ

[1]ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України», м. Київ, Україна
[2]The George Washington University, Washington DC, USA
[3]ТОВ «Український лікувально-діагностичний центр», м. Київ, Україна
[4]ТОВ «НВК «Екофарм», м. Київ, Україна

В огляді висвітлено сучасний стан досліджень ентеровірусів, зокрема поліовірусів, вірусів ECHO, Коксакі, ентеровірусу типу 71, які викликають значну кількість інфекційних захворювань людини. Обговорено основні аспекти їхньої реплікації, патогенезу та молекулярно-біологічних властивостей. Особливу увагу приділено перспективам використання флавоноїдів як антивірусних агентів. Проаналізовано механізми їхньої дії, включно з інгібуванням протеаз і блокуванням взаємодії вірусних компонентів із клітинними мішенями. Розглянуто цитотоксичність і антивірусну ефективність низки флавоноїдних сполук у модельних системах. Огляд підкреслює важливість пошуку нових природних речовин і синтетичних похідних для розробки терапевтичних засобів проти ентеровірусних інфекцій, зважаючи на обмеженість існуючих варіантів лікування та особливості мутагенності цих вірусів.

Ключові слова: *ентеровіруси, флавоноїди, антивірусна активність, протеази, цитотоксичність.*

**M. A. Arkhypova[1], D. B. Starosyla[1,2], T. Yu. Trokhymchuk[1],
Yu. I. Porva[1,3], O. V. Vasylchenko[1], E. M. Zherebtsova[4]**

ENTEROVIRUSES AND THEIR SENSITIVITY TO FLAVONOIDS

[1] SI "L. V. Hromashevskyi Institute of Epidemiology and Infectious Diseases of the NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine
[2] The George Washington University, Washington DC, USA
[3] LLC "Ukrainian Medical and Diagnostic Center"
[4] LLC "NVK "Ekopharm", Kyiv, Ukraine

The review highlights the current state of research on enteroviruses, in particular polioviruses, ECHO viruses, Coxsackie, and enterovirus type 71, which cause a significant number of human infectious diseases. The main aspects of their replication, pathogenesis, and molecular biological properties are discussed. Particular attention is paid to the prospects for the use of flavonoids as antiviral agents. The mechanisms of their action are analyzed, including the inhibition of proteases and blocking the interaction of viral components with cellular targets. The cytotoxicity and antiviral efficacy of a number of flavonoid compounds in model systems are considered. The review emphasizes the importance of searching for new natural substances and synthetic derivatives for the development of therapeutic agents against enterovirus infections, given the limitations of existing treatment options and the peculiarities of the mutagenicity of these viruses.

Keywords: enteroviruses, flavonoids, antiviral agents, protease inhibitors, RNA replication, low cytotoxicity.

Пікорнавіруси, об'єднані в численній родині *Picornaviridae* [1, 2], включають значну кількість родів, представники яких викликають різні хвороби людини та тварин. Через велику кількість інформації про вивчення пікорнавірусів (а вони особливо поповнилися за останні десятиліття [3, 4]), ми в даному огляді зупинимося тільки на матеріалах, що стосуються збудників, які належать до роду *Enterovirus*.

Незважаючи на значний фармацевтичний прогрес щодо специфічного лікування більшості інфекційних хвороб, ентеровірусні інфекції залишаються тим об'єктом, що потребує пошуку антивірусних лікарських засобів, особливо враховуючи широкий спектр їх збудників, значну поширеність і поліморфізм клінічних проявів.

Метою даної роботи було узагальнення сучасних

даних щодо представників роду *Enterovirus*, зокрема видів *Enterovirus A* (віруси *Coxsackie A*), *Enterovirus B* (віруси *ECHO, Coxsackie B*) та *Enterovirus C (Poliovirus)*, які набули найбільшої актуальності в сучасних умовах, та результатів визначення антивірусної активності флавоноїдів щодо зазначених вірусів. Ці збудники здатні викликати численні захворювання з найрізноманітнішими симптомами, від висипів у малих дітей до тяжких уражень, небезпечних для здоров'я та життя людей (гострих респіраторних та кишкових захворювань, екзантем, геморагічного кон'юнктивіту, сепсисподібного захворювання новонароджених, перикардитів, міокардитів, серозного менінгіту, різних неврологічних розладів, нейро- та енцефалітних уражень, хвороби Борнгольма (епідемічної плевродинії). Ентеровіруси пов'язують також із виникненням такого актуального неінфекційного захворювання, як діабет, що все більше поширюється сьогодні; було показано також, що синдром хронічної втоми пов'язаний із хронічною ентеровірусною інфекцією [5–7].

Згідно з даними ВООЗ, протягом останніх років намітилася чітка активізація ентеровірусних інфекцій, наростання їхнього епідемічного значення в усьому світі. Про це свідчать підйоми захворюваності, що постійно реєструються в різних країнах, зокрема численні спалахи на різних континентах та періодичні епідемії. Географія ентеровірусних інфекцій надзвичайно широка і охоплює всі регіони світу, зокрема країни пострадянського простору. Наприклад, у науковій літературі описано спалахи ентеровірусного менінгіту у Франції (2002 р., 559 випадків, віруси *ECHO (E)* 3 типів — E-13, -20, -6), а у 2023 р. у Франції зареєстровано спалахи, викликані вірусом E-11, що спричинив тяжкі форми, подібні до неонатального сепсису, зокрема з ураженням печінки та поліорганною недостатністю, які призвели до 7 смертей серед 9 госпіталізованих новонароджених. Також E-11 виявили у випадках менінгоенцефаліту у Швеції, Італії, Іспанії та Великій Британії в 2022–2023 рр. Особливістю цих інфекцій стала їх тяжкість та швидке прогресування у новонароджених, що пов'язують із новими генетичними варіантами вірусу. У країнах Європи, таких як Італія та Іспанія, також фіксували випадки ентеровірусних інфекцій у новонароджених із вертикальною передачею вірусу від матері до дитини, що ускладнює контроль за інфекцією [8–11].

Ентеровірусні інфекції фіксували в Японії (2000 р., захворіло кілька сотень людей, були смертельні наслідки, ентеровірус типу 71 (EB-A71)), США (2001 р., понад 100 хворих, вірус E-13), Іспанії (2000 р., 135 випадків, вірус E-13), Німеччині (2001 р., захворіло 70 осіб, вірус Коксакі B5) тощо. Найбільш значні з описаних спалахів відзначалися на Тайвані (1998, 2000 рр., де захворіло близько 3 тисяч осіб, переважали віруси E-13, -30, EB-A71) і в Сінгапурі (2000 р., 1 тисяча випадків, 4 смерті, спалах викликаний ентеровірусом типу 71), в Тунісі (2003 р., 86 осіб, представлений вірусами E-6, -13) [11–13].

У США протягом останніх років спостерігали активні спалахи інфекцій, викликаних ентеровірусом D68, які супроводжувалися тяжкими респіраторними проявами та випадками гострого в'ялого паралічу. Такі спалахи реєстрували у 2014, 2016, 2018 рр., а також у 2022 р., що свідчить про періодичність циркуляції цього вірусу [10, 14].

В Україні вже понад 40 років функціонує система епідеміологічного нагляду за ентеровірусними інфекціями. При цьому значна кількість підозрілих випадків обстежується вірусологічно. Планово та за оперативними показаннями досліджуються проби стічних вод та інших об'єктів довкілля. Протягом двох останніх десятиріч дані епіднагляду використовуються як додаткові разом із епіднаглядом за поліомієлітом/гострими в'ялими паралічами для підтвердження статусу України як території, вільної від поліомієліту. Однак офіційної статистики щодо захворюваності на ентеровірусні інфекції, крім поліомієліту, в Україні не існує [15, 16].

Одна із основних і типових особливостей ентеровірусних інфекцій — це можливість персистенції вірусів у клінічно здорових осіб, що може сприяти виникненню спорадичних випадків та масових захворювань. Слід зазначити, що як персистенція вірусу, так і захворюваність спостерігаються не тільки серед дітей молодшого і старшого віку, а й серед дорослих. У більшості випадків тривалість перебування поліовірусу в кишечнику не перевищує кількох місяців. Однак у пацієнтів із імунодефіцитом вірус може екскретуватися значно довше — до 10 років і більше, що створює ризики для поширення та еволюції вірусу в популяції, особливо у разі недостатнього охоплення вакцинацією [17, 18].

Як видно вже із самої назви родини *Picornaviridae* (від icп. pico — мала величина і RNA, скорочене від англ. ribonucleic acid — рибонуклеїнова кислота (РНК)), до якої належать згадані збудники, всі вони мають вигляд сферичних частинок невеликих розмірів (до 30 нм у діаметрі); це віріони, генетичний матеріал яких представлений одноланцюговими кодуючими білок молекулами РНК [19]. Така обставина зумовила значну мінливість цих збудників. Молекулам РНК властива, як відомо, висока швидкість мутацій. Якщо інформація, закодована в ДНК, розрахована на мільйони років зберігання, то зміни в РНК відбуваються дуже швидко. Випадкові мутації (random mutations), що виникають при помилках транскрипції, обов'язково виникають у результаті реплікації РНК. Підраховано: якщо реплікація молекули РНК, що містить 50 000 основ, триває протягом 2 годин, то при цьому відбувається дві точкові мутації [20, 21]. Таким чином, природні особливості реплікації пікорнавірусної РНК мають природні причини, глибинно закладені в самій природі їх генетичного матеріалу, потенційно забезпечуючи можливості для подальшої мінливості та відбору. Усі ці обставини, поряд із багатьма іншими факторами, сприяють виникненню так званих емерджентних інфекцій — захворювань, які виявлені відносно недавно або суттєво змінили свій епідеміологічний характер. Ці інфекції змусили переглянути надмірно оптимістичні прогнози середини XX століття, коли вважалося, що актуальні проблеми охорони здоров'я, ветеринарії та сільського господарства можуть бути швидко вирішені. Сучасні дослідження підтверджують важливість постійного моніторингу нових інфекцій та тих, що з'являються повторно, у контексті глобалізації, зміни екосистем і розвитку медичних технологій [22, 23].

Щодо попередження ентеровірусних інфекцій, то після закінчення Другої світової війни значні зусилля були спрямовані, зокрема на боротьбу з поліомієлі-

том. Впровадження протиполіомієлітних вакцин, таких як інактивована вакцина (IPV) та жива атенуйована вакцина (OPV), забезпечило значне скорочення захворюваності через формування колективного імунітету. Масові програми вакцинації, підтримані ВООЗ і UNICEF, із 1996 р. дозволили суттєво обмежити циркуляцію дикого поліовірусу, досягнувши успіху у більшості регіонів світу [24]. Однак вакцинопрофілактика OPV супроводжується певними викликами, зокрема формуванням дериватів вакцинних поліовірусів (VDPV), що демонструють підвищену патогенність та можуть викликати паралітичний поліомієліт [25]. Крім того, VDPV здатні до рекомбінацій з іншими ентеровірусами, такими як віруси Коксакі [26], що може призводити до виникнення нових патогенних варіантів і локальних епідемій. Наприклад, подібний спалах було зафіксовано на Мадагаскарі [27].

Додатково зменшення циркуляції дикого поліовірусу створило умови для зростання активності інших ентеровірусів, таких як EB-A71, що асоціюється із тяжкими неврологічними ускладненнями, та віруси Коксакі, які можуть викликати серйозні клінічні прояви [28].

У зв'язку з цими викликами особливої актуальності набувають альтернативні та додаткові підходи до профілактики і лікування ентеровірусних інфекцій. Одним із перспективних напрямів є вивчення антиентеровірусної активності таких природних сполук, як флавоноїди. Ці поліфенольні сполуки демонструють антивірусну активність, включно з інгібуванням реплікації вірусів та модуляцією імунної відповіді організму, що робить їх перспективними кандидатами для подальшого дослідження у контексті профілактики та терапії ентеровірусних захворювань [29–31].

Тобто не можна цілком і повністю покладатися на вакцинопрофілактику вірусних інфекцій навіть там, де вакцини є, і що потрібно серйозно подумати про те, як лікувати людей у разі того чи іншого ентеровірусного захворювання. Що стосується застосування лікарських препаратів для специфічного лікування цих інфекцій, то цілком очевидно, що таких світова медицина поки що не має. Newman & Cragg [32] розглядали питання про природні продукти як джерела нових лікарських речовин, а також про штучно одержувані різними методами похідні природних сполук, які могли б стати лікарськими препаратами. Незважаючи на те, що 25% загальновідомих лікарських препаратів містять речовини рослинного походження [33], виявилося, що Американське агентство з харчових продуктів та лікарських препаратів (USA Food and Drug Agency) затвердило як противірусні лікарські препарати лише 16 сполук (крім вакцин), серед цих речовин є лише синтетичні препарати і препарати, що імітують природні сполуки (natural product mimics, NPMs), схвалені для клінічного використання препарати, які діють проти вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ) та вірусу гепатиту С (ВГС). Йдеться про інгібітори ВІЛ-специфічних ферментів, інтегрази та зворотної транскриптази, і про інгібітори протеаз ВГС. Отже, специфічних препаратів, що діють проти пікорнавірусів, які можна було б сьогодні використовувати для лікування ентеровірусних інфекцій у клінічних умовах немає. З огляду на нинішню епідемічну ситуацію у світі пошуки таких препаратів ведуться. Велику увагу при лікуванні ентеровірусних інфекцій було звернено на препарати рослинного походження, особливо на флавоноїди. Це велика група фенольних сполук, в основі яких лежить дифенілпропановий скелет C6-C3-C6 (фенілбензопірон) [34]. Сьогодні налічують близько 4 тис. природних флавоноїдних сполук, які накопичуються в рослинах переважно у формі глікозидів. Важливим є той суттєвий факт, що цим сполукам притаманні численні біологічні активності при використанні їх у дозах, які не токсичні та не становлять небезпеки для організму людини та тварин.

Відомо, що сьогодні є два підходи для виявлення нових лікарських засобів:

1) виявлення лікарських препаратів серед відомих класів сполук та створення нових речовин;

2) розпізнавання нових речовин, що діють проти раніше не відкритих мішеней, збудника або утворюються при його розмноженні в чутливій клітині.

Тому, інтерес до флавоноїдів зумовлений не лише можливою позитивною дією цих речовин проти різних збудників, але ще й привабливою перспективою отримати синтетичні похідні флавоноїдів, які мають лікарську дію. Але за такої умови варто враховувати, що можлива також зміна властивостей лікувальних сполук після їх вилучення з рослин та/або при самостійній дії окремих молекул (без додаткової участі інших біогенних молекул, присутніх у рослині) [35].

Більшість цих міркувань береться до уваги в експериментальних роботах, де проводять пошуки флавоноїдів, які активно діють проти пікорнавірусів. Дослідники спираються на багаточисленні відомості щодо молекулярно-біологічних властивостей цих вірусів [2, 36], особливостей їх розмноження, віріонних компонентів, які формуються в заражених клітинах; намагаються впливати на різні мішені, пов'язані із внутрішньоклітинною репродукцією збудників. Тому, спочатку ми дуже коротко розглянемо розмноження типових ентеровірусів і, відповідно, можливі мішені, на які може бути спрямована дія лікарських речовин, що дуже докладно розглянуто раніше в огляді Філдса і Ходжа [37]. Перший крок при зараженні клітини вірусом полягає в тому, що вірусна частка прикріплюється до клітинних рецепторів. На прикладі EB-A71 йдеться про рецептор B2 (scavenger receptor B2) і ліганд-1 глікопротеїну селектину людини (human P-selectin glycoprotein ligand-1), в інших випадках це будуть інші рецептори на поверхні клітини [28, 38].

Хоча різні пікорнавіруси прикріплюються до різних рецепторів, ми ще до кінця не знаємо, чи потрібна для їхнього проникнення в клітину участь «загальних факторів хазяїна». Нещодавно був визначений ліпід-модифікуючий фактор PLA2G16 як фактор хазяїна, необхідний для здійснення «раніше невідомих подій у розмноженні вірусу». Як було встановлено, PLA2G16 працює на ранньому етапі зараження і необхідний для того, щоб геном вірусу опинився в цитоплазмі [39, 40].

При вході вірусу в клітину, відбувається активація кліренсу, яка вимагає активації пор, та залу-

чення в роботу клітинної фосфоліпази, що необхідно для вивільнення геному. Вважають, що вплив на клітинну фосфоліпазу загальмовує входження вірусу у клітину.

Коли вірусний геном потрапляє в клітину, вірусна РНК, що має власний сайт входу в рибосоми (internal ribosome entry site, IRES) хвостом полі(А), стає мРНК, транслюється незалежно від кепування. Спочатку синтезується великий поліпротеїн, а потім уже через «дозрівальне розщеплення» (maturation cleavage) цього вірусного поліпротеїну під дією протеаз 2Apro та 3Cpro виникають зрілі віріонні білки. Вірусна РНК може бути також матрицею для синтезу РНК-залежної РНК-полімерази, що кодується вірусною РНК (RNA-dependent RNA polymerase, RdRP, або 3D). Реплікація РНК відбувається в цитоплазмі на везикулярних мембранних структурах. Інший висококонсервативний білок ентеровірусів, крім RdRP — це 2Apro; він ідентифікований як частина вірусного реплікативного комплексу усередині везикулярної мембрани. Новосинтезовані одноланцюгові молекули вірусної РНК запаковуються в капсидні білки, утворюючи нові віріони. Зазвичай пікорнавірусна інфекція запускає апоптоз за участю білків 2Apro і 3Cpro, а при лізисі клітини з неї виходять новоутворені віріони [41].

Ідеальний шлях боротьби з вірусною інфекцією в тому, щоб блокувати входження вірусу в клітину. Лікування тяжких випадків вірусних уражень частково залежить від неспецифічної нейтралізації вірусу. Цьому може сприяти пасивне введення антитіл. Епітопи, що нейтралізуються антитілами, розташовані на білку VP1. Цим поверхневим вірусним білком, який є основним антигеном ентеровірусу, вірус приєднується до рецептора клітини. Отримання антитіл проти цих епітопів на вірусному капсидному білку VP1 може бути успішним підходом до лікування, оскільки мРНК вірусу не має кеп-структур; її трансляція залежить від вірусного IRES-елемента. Трансляцію контролюють IRES-специфічні фактори (IRES specific trans-acting factors, ITAFs). Активність IRES ентеровірусу типу 71 негативно регулює один із ITAF, PTB (білок, що зв'язує клітинний поліпіримідиновий тракт, cellular polypyrimidine tract-binding protein), конкуруючий білок-зв'язуючий елемент PTB. Використовуючи білки, що ушкоджують структуру IRES, можна пригнічувати розмноження вірусу [42].

Один із можливих підходів до гальмування реплікації пікорнавірусів у клітині — використання штучно створених малих інтерферуючих молекул РНК [small interfering RNas (siRNAs)], які б пригнічували транскрипцію вірусної геномної РНК (post-transcriptional process = gene silencing in a sequence-specific man) [43].

У випадку ентеровірусу типу 71 спостерігають підвищене виживання новонароджених заражених мишей при введенні рекомбінантного IFN-a, що також підтверджують досліди *in vitro*. Хоча протеаза 3C здатна руйнувати інтерферон-регулюючий фактор-9 (interferon-regulating factor-9, IRF9), що бере участь у регуляторному зниженні синтезу інтерферону, поєднання IFN-a і рупинтревіру (rupintrevir), інгібітора 3Cpro, дає хороші результати [44].

Wang et al. [45] показали, що флавоноїд кризин, присутній у тканинах багатьох рослин, здатний пригнічувати активність 3Cpro ентеровірусу. Водночас реплікація вірусної РНК та утворення капсидного вірусного білка пригнічуються кризином без проявів цитотоксичності. Фосфатний ефір кризину, діізопропілхризин-7-іл (CPI), можна одержати *in vitro* за допомогою реакції Атертона-Тодда (Atheron-Todd reaction), і цій сполуці властива сильніша антивірусна дія порівняно з природним кризином. Фосфатний ефір кризину здатний зв'язуватися *in vitro* із зоною 3Cpro та пригнічувати активність цього ферменту [45].

Встановлено, що білок VP1 утворює каньйонну структуру, важливу для прикріплення до рецептора. Конформаційні зміни цього білка — важливий крок для розпаду віріону та для вивільнення (проникнення) віріонної РНК у клітину хазяїна. Зараженню можуть перешкоджати малі молекули, орієнтовані на білок VP1. Деякі штами ентеровірусу типу 71 можуть у такий спосіб інгібуватися плеконарвілом (pleconarvil). Скориставшись плеконарвіловим скелетом як матрицею та комп'ютерним моделюванням молекул, отримали новий клас піридил-імідазолідинонів (pyridyl-imidazolidinones) із антивірусною активністю, як, наприклад, BPROZ-194. Ентеровірус типу 71 активно інгібується також природною сполукою лактоферином, присутнім у молозиві, який заважає вірусу приєднуватися до VP1 і, ймовірно, запобігає входу вірусу в клітину [46].

Найважливіші підходи до пригнічення пікорнавірусної інфекції — це зв'язування капсидних білків та пригнічення дії протеаз [47]. Ключові протеази, необхідні процесингу поліпротеїну-попередника віріонних білків — це 2Apro і 3Cpro. Водночас 2Apro руйнує як цей поліпротеїн, так і трансляційний фактор eIF4GI, відключаючи трансляцію білків хазяїна. Поки що специфічних інгібіторів цієї хемотрипсинової протеази не знайдено, хоча рентгеноструктурний аналіз виявляє в ній ензиматично активну кишеню. Фермент 3Cpro розщеплює нову мішень, CstF-64, та інгібує поліаденілювання в клітині, викликаючи апоптоз деяких нервових клітин. Розщеплення адапторного білка TRIF під дією цього ферменту заважає захисту клітини від вірусу, а захист опосередковується Toll-подібним рецептором 3. Таким чином, інактивуючі сполуки, що націлені на протеази EB-A71, мають не тільки блокувати дозрівання віріонів, але й захищати білки хазяїна. Крім того, 3Cpro пригнічує активацію IFN-1, викликану ретиноїдною кислотою, а також розщеплює інтерфероновий регуляторний фактор 7. Фізетин і рутин інгібують 3C протеази EB-A71. У роботах [48] показали, що фізетин та рутин пригнічують репродукцію EB-A71. Механізм антивірусної дії флавоноїдів фізетину та рутину проти EB-A71 досліджували на моделі рекомбінантного білка EB-A71 3C протеази (3Cpro). Було показано, що фізетин та рутин дозозалежно інгібують

3Cpro-ензиматичну активність. EC_{50} (напівмаксимальна ефективна концентрація) фізетину проти ЕВ-А71 склала 85 μМ, рутина 110 μМ. Індекс селективності SI становив 10, що вказує на те, що фізетин та рутин мають потенціал для терапевтичного використання.

В іншому дослідженні є припущення, що кверцетин взаємодіє з каталітичними залишками протеази 3С і може інгібувати її активність *in silico*. Для подальшої перевірки цих висновків кверцетин було оцінено щодо його противірусної активності на ізоляті *EV-A71 SK-EV006/Malaysia/97*. Виявлено IC_{50} (концентрація напівмаксимального інгібування) 8,8 мкМ у клітинах Vero та 12,1 мкМ у клітинах RD. Окрім того, кверцетин був досліджений на предмет антиапоптозного ефекту проти вірусно-індукованої смерті клітин. Він зміг запобігти поширенню вірусу, спричиненого апоптозом, що робить його противірусним засобом подвійної дії [49].

Ще один можливий підхід — орієнтація на фермент 3D (РНК-залежної РНК-полімерази). Таких речовин серед природних сполук не знайшли, виявлено лише серед синтезованих структур.

Одна з найбільших труднощів при лікуванні вірусних інфекцій, особливо тих, що викликаються РНК-вірусами, зумовлена відбором стійких мутантів при розмноженні вірусів у присутності антивірусних препаратів. В ідеалі слід підбирати препарати, які орієнтовані на різні мішені та різні стадії розмноження вірусів. Ця антивірусна стратегія широко використовується (хоча і не завжди успішно в клінічних умовах), наприклад, при лікуванні ВІЛ-інфекції, збудник якої характеризується неймовірно високою мінливістю.

Показано, що при розмноженні поліовірусів *in vitro* активність проти PV1 або PV2 притаманна екстрактам з рослин *Baccharis dracunculifolia*, *B. gaudichaudiana, B. trinervis, Tridax procumbens, Carissa carandas, Mallotus philippensis*, молочаю *Euphorbia granti*, пластинників [50]. При цьому активність екстракту B. dracunculifolia на PV1 найкраще виявляється в тих випадках, коли вірус знаходиться в клітині та деякі компоненти екстракту впливають на цикл розмноження вірусу. Якщо препарат додавали після зараження, то кількість віріонної РНК, за даними ПЛР, була більшою, ніж при одночасному внесенні в культуру клітин HEp-2 екстракту і вірусу. Те саме стосується впливу водного та масляного екстрактів *B. gaudichaudiana* на PV2. Найкращі результати отримані при внесенні екстракту в культуру за 4 години до зараження. Очевидно, активне з'єднання заважає виходу вірусу з клітини чи сприяє розпаду віріонної РНК поза клітиною. Можливо також, що з'єднання екстрактів усіх трьох представників роду *Baccharis* заважають прикріпленню вірусу до клітини або злиттю з клітиною.

При фракціонуванні екстрактів *B. gaudichaudiana* виявилося, що в активній фракції рослини присутня флавоноїдна сполука апігенін (EC_{50}=12,2± 3,3 мкМ). Однак профіль елюції при використанні колонки HPLC для поділу компонентів найактивнішої фракції екстракту, показує наявність там, крім апігеніну, ще низки мінорних компонентів, яким теж властива антивірусна дія. Антивірусна активність даної фракції проявляється на проміжній стадії життєвого циклу вірусу; діюча речовина або речовини перешкоджають синтезу вірусного білка та його процесингу або синтезу поліпротеїну [50].

Флавоноїди, зокрема метоксифлавонони, виявили значну противірусну активність щодо поліовірусу типу 1 (PV-1) у дослідженні, проведеному Ortega et al. [51]. Зокрема, 5,3'-дігідроксі-3,6,7,8,4'-пентаметоксифлавон (PMF) та 5-гідроксі-3,6,7,3',4'-пентаметоксифлавон (PMF-OH) продемонстрували високу ефективність у боротьбі з поліовірусом без цитотоксичної дії на клітини.

Китайські дослідники [52] вивчили механізм інгібування апігеніном реплікації пікорнавірусу ЕВ-А71. Було встановлено, що трансляція вірусних білків залежить від гетерогенних ядерних рибонуклеопротеїнів (hnRNPs), які беруть участь у регуляції РНК-транскриптів, включаючи їх транспорт, сплайсинг і трансляцію. Апігенін, як селективний інгібітор, зв'язується з С-кінцевим доменом hnRNPA2, порушуючи утворення гомодимерів і функції hnRNPs, що пригнічує реплікацію вірусу. Одночасна дія siRNA на hnRNPA1 і hnRNPA2 значно знижує інфекцію ЕВ-А71, підтверджуючи їхню важливість у вірусному циклі. Ці результати демонструють перспективність апігеніну як противірусного засобу.

Антивірусну активність кемпферолу проти ЕВ-А71 пов'язують із його здатністю модулювати склад білків, що взаємодіють із внутрішньоклітинним сайтом входу рибосоми (IRES), хоча механізм цієї дії залишається недостатньо вивченим [53].

Як уже згадувалося, крім природних речовин на основі хімічної структури, намагаються отримати нові сполуки з більш високою активністю проти ентеровірусів. Наприклад, італійські дослідники [54] визначали таку активність *in vitro* для низки ізофлавоноїдів (заміщених гомоізофлавоноїдів), прагнучи відшукати взаємозв'язок між структурою одержуваних і випробуваних сполук та їх противірусним потенціалом. Дослідження проводили з використанням мавпячих клітин BGM (Buffalo green monkeys); було встановлено індекси селективності цих речовин. Як виявилося, більшість випробуваних заміщених гомоізофлавоноїдів були низькотоксичні; однак жодна з них не впливала на вакцинний поліовірус типу 1, хоча багато з них пригнічували репродукцію вірусів Коксакі B1, B3, B4, A9 та E-30.

Враховуючи вищевикладене, можна зробити висновок, що перспективним напрямом досліджень щодо антивірусних засобів при ентеровірусних інфекціях є флавоноїди. Їх здатність інгібувати ключові ферменти вірусів та модулювати імунну відповідь організму відкриває можливості для створення нових терапевтичних препаратів. Подальший розвиток цього напряму, зокрема синтез похідних флавоноїдів і вивчення їхнього механізму

дії, є важливим для розробки ефективних стратегій лікування ентеровірусних захворювань.

Література

1. Lefkowitz E. J., Dempsey D. M., Hendrickson R. C., Orton R. J., Siddell S. G., Smith D. B. Virus taxonomy: the database of the international committee on taxonomy of viruses (ICTV). Nucleic Acids Res. 2017;46(D1):D708–D717. doi:10.1093/nar/gkx932
2. Semler B. L., Ertel K. J. Picornaviruses: Molecular biology, evolution, and pathogenesis. ASM Press; 2008. DOI: 10.1128/9781555816513
3. Zadorozhna V. I. Questions of classification of human enteroviruses and description of some "new" enterovirus types. Профілакт. медицина. 2013;3-4(21):90–101.
4. Villa T. G., Abril A. G., Sánchez S., de Miguel T., Sánchez-Pérez A. Animal and human RNA viruses: genetic variability and ability to overcome vaccines. Arch Microbiol. 2021;203(2):443–464. doi:10.1007/s00203-020-02040-5
5. Yee E., Midgley C. M., Routh J. A., Oberste M. S. Enteroviruses and parechoviruses: echoviruses, coxsackieviruses, and others. У: Viral Infections of Humans. Springer US; 2023:1–47. doi:10.1007/978-1-4939-9544-8_11-1
6. Andino R., Kirkegaard K., Macadam A., Racaniello V. R., Rosenfeld A. B. The picornaviridae family: knowledge gaps, animal models, countermeasures, and prototype pathogens. J Infect Dis. 2023;228(Supplement_6):S 427–445. doi:10.1093/infdis/jiac426
7. Francisco Velilla R., Embarc Buh A., Abellan S., Martinez Salas E. Picornavirus translation strategies. FEBS Open Bio. 2022. doi:10.1002/2211-5463.13400
8. Enterovirus infection — France. World Health Organization (WHO). 31 травня 2023. https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON469
9. Enterovirus-Echovirus 11 infection — the european region. World Health Organization (WHO). 7 липня 2023. https://www.who.int/emergencies/ disease-outbreak-news/item/2023-DON474
10. Non-Polio enterovirus outbreaks. Centers for Disease Control and Prevention. 4 червня 2024. https://www.cdc.gov/non-polio-enterovirus/outbreak-surveillance/index.html
11. European Non-Polio Enterovirus Network (ENPEN). Enterovirus surveillance in Europe and beyond. Frontiers in Public Health. 2021. Available at: DOI: 10.3389/fpubh.2021.694325.
12. Puenpa J., Wanlapakorn N., Vongpunsawad S. et al. The History of Enterovirus A71 Outbreaks and Molecular Epidemiology in the Asia-Pacific Region. J Biomed Sci 26, 75 (2019). https://doi.org/10.1186/s12929-019-0573-2
13. Bubba L., Broberg E. K., Jasir A., Simmonds P., Harvala H.; Enterovirus study collaborators. Circulation of non-polio enteroviruses in 24 EU and EEA countries between 2015 and 2017: a retrospective surveillance study. Lancet Infect Dis. 2019;20:S 1473–3099. DOI: 10.1016/S1473-3099(19)30566-3.
14. Shah M. M., Perez A., Lively J. Y. et al. Enterovirus D68-Associated Acute Respiratory Illness — New Vaccine Surveillance Network, United States, July–November 2018–2020. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2021;70:1623–1628. DOI: http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm7047a1
15. Zadorozhna V. I., Tsyganchuk O. M. Поліомієліт: нові виклики на шляху до ерадикації. Інфекц. хвороби. 2017;(4):5–12. doi:10.11603/1681-2727.2016.4.7206
16. Zadorozhna V. I., Vynnyk N. P., Kononova I. G., Murashko O. V. Сьогоднішні проблеми поліомієліту. Ситуація у світі та Україні. Шляхи вирішення. Превент. медицина Теорія і практика. 2023;(2):2–13.
17. Quarleri, J. Poliomyelitis is a current challenge: long-term sequelae and circulating vaccine-derived poliovirus. GeroScience 45, 707–717 (2023). https://doi.org/10.1007/s11357-022-00672-7
18. Orenstein W. A.; Committee on Infectious Diseases. Eradicating polio: how the world's pediatricians can help stop this crippling illness forever. Pediatrics. 2015;135(1):196–202. doi:10.1542/peds.2014-3163
19. Parija S. C. Picornaviruses. У: Textbook of Microbiology and Immunology. Springer Nature Singapore; 2023:781–795. doi:10.1007/978-981-19-3315-8_55
20. Domingo E., García-Crespo C., Lobo-Vega R., Perales C. Mutation Rates, Mutation Frequencies, and Proofreading-Repair Activities in RNA Virus Genetics. Viruses. 2021; 13(9):1882. https://doi.org/10.3390/v13091882
21. Duffy S. Why are RNA virus mutation rates so damn high? PLOS Biol. 13 серп. 2018;16(8):e3000003. Доступно на: https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000003
22. Domingo E. & Holland J. J. Mutation rates and rapid evolution of RNA viruses. Annual Review of Microbiology. 1997;51:151–178. DOI: 10.1146/annurev.micro.51.1.151
23. Fleury H. J. A. Emerging viral infections. Clinical Microbiology and Infection. 2006;12(Suppl 6):3-8. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2006.01664.x
24. Bandyopadhyay A. S., Lopez Cavestany R., Blake I. M. et al. Use of inactivated poliovirus vaccine for poliovirus outbreak response [published correction appears in Lancet Infect Dis. 2024 Feb;24(2):e83. doi: 10.1016/S1473-3099(23)00760-0]. Lancet Infect Dis. 2024;24(5):e328-e342. doi:10.1016/S1473-3099(23)00505-4
25. Mohanty A., Rohilla R., Zaman K. et al. Vaccine Derived Poliovirus (VDPV). Infez Med. 2023;31(2):174-185. Published 2023 Jun 1. doi:10.53854/liim-3102-5
26. Wang Z., Wen H. A review of the recombination events, mechanisms and consequences of Coxsackievirus A6. Infect Med. 2024:100115. doi:10.1016/j.imj.2024.100115
27. Rakoto-Andrianarivelo M., Guillot S., Iber J. et al. Co-circulation and evolution of polioviruses and species C enteroviruses in a district of Madagascar. PLoS Pathog. 2007;3(12):e191. doi:10.1371/journal.ppat.0030191
28. Kuo R. L., Kao L. T., Lin S. J., Wang R. Y., Shih S. R. MDA5 plays a crucial role in enterovirus 71 RNA-mediated IRF3 activation. PLoS One. 2013 May 1;8(5):e63431. doi: 10.1371/journal.pone.0063431.
29. Choi H. J. Antiviral Activity of Flavonoids Against Non-polio Enteroviruses. J Bacteriol Virol. 2023;53(1):29-42. doi:10.4167/jbv.2023.53.1.029
30. Lalani S., Poh C. L. Flavonoids as Antiviral Agents for Enterovirus A71 (EV-A71). Viruses. 2020 Feb 6;12(2):184. doi: 10.3390/v12020184. Erratum in: Viruses. 2020 Jun 30;12(7):E712. doi: 10.3390/v12070712. PMID: 32041232; PMCID: PMC7077323.
31. Min N., Leong P. T., Lee R. C. H., Khuan J. S. E., Chu J. J. H. A flavonoid compound library screen revealed potent antiviral activity of plant-derived flavonoids on human enterovirus A71 replication. Antiviral Res. 2018 Feb;150:60–68. doi: 10.1016/j.antiviral.2017.12.003. Epub 2017 Dec 9. PMID: 29233744.
32. Newman D. J., Cragg G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. J Nat Prod. 2020;83(3):770–803. doi:10.1021/acs.jnatprod.9b01285
33. Orhan I. E. Pharmacognosy: Science of natural products in drug discovery. Bioimpacts. 2014;4(3):109–110. doi:10.15171/bi.2014.001
34. Dias M. C., Pinto D. C., Silva A. M. Plant flavonoids: chemical characteristics and biological activity. Molecules. 2021;26(17):5377. doi:10.3390/molecules26175377
35. Fitzsimmons W. J., Woods R. J., McCrone J. T., Woodman A., Arnold J. J., Yennawar M. et al. (2018) A speed–fidelity trade-off determines the mutation rate and virulence of an RNA virus. PLoS Biol 16(6): e2006459. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2006459
36. Lai J., Li Z., Pan L. et al. Research progress on pathogenic and therapeutic mechanisms of Enterovirus A71. Arch Virol. 2023;168(10). doi:10.1007/s00705-023-05882-8
37. Field H. J. & Hodge R-A., 2009, Antiviral agents, Desk Encyclopedia of General Virology, In: van Regenmortel, M. (ed.), Section IV, Academic Press, USA, ISBN: 9780123751461, 292-304.
38. Nishimura Y., Shimojima M., Tano Y. et al. Human P-selectin glycoprotein ligand-1 is a functional receptor for

enterovirus 71. Nat Med. 21 черв. 2009;15(7):794-7. Доступно на: https://doi.org/10.1038/nm.1961
39.Staring J., von Castelmur E., Blomen V. A. et al. PLA2G16 represents a switch between entry and clearance of Picornaviridae. Nature. 2017;541(7637):412–416. doi:10.1038/nature21032
40.Baggen J., Liu Y., Lyoo H. et al. Bypassing pan-enterovirus host factor PLA2G16. Nat Commun. 2019;10(1):3171. Published 2019 Jul 18. doi:10.1038/s41467-019-11256-z
41.Mondal S., Sarvari G., Boehr D. D. Picornavirus 3C Proteins Intervene in Host Cell Processes through Proteolysis and Interactions with RNA. Viruses. 2023;15(12):2413. Published 2023 Dec 12. doi:10.3390/v15122413
42.Kuo R. L., Shih S. R. Strategies to develop antivirals against enterovirus 71. Virol J. 2013;10(1). doi:10.1186/1743-422x-10-28
43.Maillard P. V., Veen A. G., Poirier E. Z., Reis e Sousa C. Slicing and dicing viruses: antiviral RNA interference in mammals. EMBO J. 2019;38(8). doi:10.15252/embj.2018100941
44.Kok C. C. Therapeutic and prevention strategies against human enterovirus 71 infection. World J Virol. 2015;4(2):78–95. doi:10.5501/wjv.v4.i2.78
45.Wang Q., Zhao H. et al. Flavonoid chrysin inhibits enterovirus replication by targeting the 3C protease. Antiviral Research. 2014;103:1–10. DOI: 10.1016/j.antiviral.2014.01.003
46.Wang S., Pang Z., Fan H., Tong Y. Advances in anti-EV71 drug development research. J Adv Res. 2023. doi:10.1016/j.jare.2023.03.007
47.Shih S. R., Tsai M. C., Tseng S. N. et al. Mutation in Enterovirus 71 Capsid Protein VP1 Confers Resistance to the Inhibitory Effects of Pyridyl Imidazolidinone. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48(9):3523-9. Доступно на: https://doi.org/10.1128/aac.48.9.3523-3529.2004
48.Lin Y. J., Chang Y. C., Hsiao N. W. et al. Fisetin and rutin as 3C protease inhibitors of enterovirus A71. J Virol Methods. 2012;182(1-2):93–98. doi:10.1016/j.jviromet.2012.03.020.
49.Yao C., Xi C., Hu K. et al. Inhibition of enterovirus 71 replication and viral 3C protease by quercetin. Virol J. 2018;15(1):116. Published 2018 Jul 31. doi:10.1186/s12985-018-1023-6
50.Visintini Jaime M. F., Campos R. H. et al. Antipoliovirus Activity of the Organic Extract of Eupatorium buniifolium: Isolation of Euparin as an Active Compound. Evid Based Complement Altern Med. 2013:1–8. Доступно на: https://doi.org/10.1155/2013/402364
51.Ortega J. T., Serrano M. L., Suárez A. I. et al. Antiviral activity of flavonoids present in aerial parts of Marcetia taxifolia against Hepatitis B virus, Poliovirus, and Herpes Simplex Virus in vitro. EXCLI J. 2019;18:1037–1048. Published 2019 Nov 5. doi:10.17179/excli2019-1837
52.Zhang W., Qiao H., Lv Y. et al. Apigenin inhibits enterovirus-71 infection by disrupting viral RNA association with trans-acting factors. PLoS ONE. 2014;9(10):e110429. doi:10. 1371/journal.pone.0110429
53.Tsai F. J., Lin C. W., Lai C. C. et al. Kaempferol inhibits enterovirus 71 replication and internal ribosome entry site (IRES) activity through FUBP and HNRP proteins. Food Chem. 2011;128(2):312–322. doi:10.1016/j.foodchem.2011.03.022
54.Tait S., Salvati A. L., Desideri N., Fiore L. Antiviral activity of substituted homoisoflavonoids on enteroviruses. Antivir Res. 2006;72(3):252–255. doi:10.1016/j.antiviral.2006.07.003

Внесок авторів у написання статті:

Архипова М. А. – збір матеріалу, участь у написанні огляду, редагування.

Старосила Д. Б. – ідея, переклад, керівництво, участь у написанні огляду.

Трохимчук Т. Ю. – керівництво, участь у написанні огляду, редагування.

Порва Ю. І. – ідея, збір матеріалу, участь у написанні огляду.

Васильченко О. В. – збір матеріалу, участь у написанні огляду.

Жеребцова Е. М. – написання основного тексту манускрипту.

Конфлікт інтересів у авторів відсутній.

Роботу виконано за підтримки ТОВ «НВК «Екофарм».

Відомості про авторів:

Архипова М. А. – PhD (біологія), старший науковий співробітник ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України».
e-mail: aniramovna@gmail.com
тел.+380 (50) 570 30 51
ORCID: 0000-0001-5860-2870

Старосила Д. Б. – к. б. н., провідний дослідник The George Washington University, Washington DC, USA, старший науковий співробітник ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України».
ORCID: 0000-0003-0210-2361

Трохимчук Т. Ю. – к. б. н., старший науковий співробітник ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України».
ORCID: 0009-0008-8208-0855

Порва Ю. І. – к. б. н., науковий співробітник ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України», науковий співробітник ТОВ "Український лікувально-діагностичний центр".

Васильченко О. В. – к. х. н., науковий співробітник ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України».
ORCID: 0000-0002-8631-6203

Жеребцова Е. М. – к. б. н., ТОВ «НВК «Екофарм», м. Київ, Україна.
ORCID: 0009-0006-1445-2958

Authors' contribution to the article:

Arkhypova M. A. – collection of materials, participation in writing the review, editing.

Starosyla D. B. – idea, translation, supervision, participation in the written review.

Trokhymchuk T. Yu. – supervision, participation in writing the review, editing.

Porva Yu. I. – idea, collection of materials, participation in writing the review.

Vasylchenko O. V. – collection of materials, participation in the written review.

Zherebtsova E. M. – writing the main text of the manuscript.

The authors have no conflict of interest.

The work was carried out with the support of LLC "RPC "Ecopharm".

Information about the authors:

Arkhypova M. A. – PhD in biology, senior researcher SI "L. V. Hromashevskyi Institute of Epidemiology and Infectious Diseases, National Academy of Medical Sciences of Ukraine".
e-mail: aniramovna@gmail.com
phone: +380 (50) 570 30 51
ORCID: 0000-0001-5860-2870

Starosyla D. B. – Candidate of Biological Sciences, Lead Researcher of The George Washington University, Washington DC, USA, Senior Researcher SI "L. V. Hromashevskyi Institute of Epidemiology and Infectious Diseases, National Academy of Medical Sciences of Ukraine".
ORCID: 0000-0003-0210-2361

Trokhymchuk T. Yu. – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher SI "L. V. Hromashevskyi Institute of Epidemiology and Infectious Diseases, National Academy of Medical Sciences of Ukraine".
ORCID: 0009-0008-8208-0855

Porva Yu. I. – Candidate of Biological Sciences, Researcher SI "L. V. Hromashevski Institute of Epidemiology and Infectious Diseases, National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Researcher LLC "Ukrainian Medical and Diagnostic Center".

Vasylchenko O. V. – Candidate of Chemical Sciences, Researcher SI "L. V. Hromashevski Institute of Epidemiology and Infectious Diseases, National Academy of Medical Sciences of Ukraine".
ORCID: 0000-0002-8631-6203

Zherebtsova E. M. – Candidate of Biological Science, LLC "RPC "Ecopharm", Kyiv, Ukraine.
ORCID: 0009-0006-1445-2958