

Оригинальная статья / Original article

УДК 577-578.72

DOI: 10.18470/1992-1098-2021-3-108-118

## Цитотоксичность и противовирусная активность производных теллура в клетках, инфицированных вирусом простого герпеса и цитомегаловирусом *in vitro*

Айна А. Адиева<sup>1,5</sup>, Регина Р. Климова<sup>2</sup>, Гасан М. Абакаров<sup>3</sup>, Керим С. Бекшоков<sup>4</sup>,  
Наталья Е. Федорова<sup>2</sup>, Джамиля К. Омарова<sup>1</sup>, Алла А. Куц<sup>2</sup>, Светлана А. Джамалова<sup>5</sup>,  
Аида М. Халимбекова<sup>5</sup>, Алина Р. Гусейнова<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Прикаспийский институт биологических ресурсов – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Дагестанского федерального исследовательского центра РАН, Махачкала, Россия

<sup>2</sup>Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

<sup>3</sup>Дагестанский государственный технический университет, Махачкала, Россия

<sup>4</sup>Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

<sup>5</sup>Дагестанский государственный университет народного хозяйства, Махачкала, Россия

<sup>6</sup>Омский государственный медицинский университет, Омск, Россия

### Контактное лицо

Айна А. Адиева, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологии животных, Прикаспийский институт биологических ресурсов – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Дагестанского федерального исследовательского центра РАН; 367000 Россия, г. Махачкала, ул. Гаджиева, 45. Тел. +79883005534

Email [adieva-m@mail.ru](mailto:adieva-m@mail.ru)

ORCID <https://orcid.org/0000-0001-8868-4782>

### Формат цитирования

Адиева А.А., Климова Р.Р., Абакаров Г.М., Бекшоков К.С., Федорова Н.Е., Омарова Д.К., Куц А.А., Джамалова С.А., Халимбекова А.М., Гусейнова А.Р. Цитотоксичность и противовирусная активность производных теллура в клетках, инфицированных вирусом простого герпеса и цитомегаловирусом *in vitro* // Юг России: экология, развитие. 2021. Т.16, N 3. С. 108-118. DOI: 10.18470/1992-1098-2021-3-108-118

Получена 11 января 2021 г.

Прошла рецензирование 27 февраля 2021 г.

Принята 26 апреля 2021 г.

### Резюме

**Цель.** Провести сравнительный анализ цитотоксических и противовирусных свойств синтезированных производных теллура в модельных клеточных системах инфекций, вызванных вирусом простого герпеса и цитомегаловирусом.

**Материал и методы.** Изучены 4 теллуторганических соединения с использованием первичных и перевиваемых культур клеток в различных схемах заражения.

**Результаты.** Для каждой изученной биологической модели были выявлены различные пороги концентрации цитотоксичности (ОЦД<sub>50</sub> и ЦД<sub>50</sub>). Производные теллура с метоксифенил и этоксифенил этеном проявляют вируснейтрализующую активность, предотвращая проникновение вирионов вируса простого герпеса в чувствительные клетки. Химиотерапевтический индекс для данных соединений составил 84 и 77, соответственно.

**Заключение.** Проявление цитотоксического эффекта всех теллуросодержащих органических соединений для перевиваемых клеток лежит в более низкой концентрации, чем для первичных клеток. Данные, полученные при анализе противовирусной активности, показали, что производные обладают терапевтическими свойствами в отношении инфекции, вызванной вирусом простого герпеса в культуре клеток.

### Ключевые слова

Герпесвирусы, вирусы, инфекция, культура клеток, производные теллура, химиотерапевтический индекс, противовирусная активность.

# Cytotoxicity and antiviral activity of tellurium derivatives in cells infected with herpes simplex virus and cytomegalovirus *in vitro*

Aina A. Adieva<sup>1,4</sup>, Regina R. Klimova<sup>2</sup>, Gasan M. Abakarov<sup>3</sup>, Kerim S. Bekshokov<sup>4</sup>, Natal'ya E. Fedorova<sup>2</sup>, Dzhamilya K. Omarova<sup>1</sup>, Alla A. Kushch<sup>2</sup>, Svetlana A. Dzhamalova<sup>5</sup>, Aida M. Khalimbekova<sup>5</sup> and Alina R. Guseynova<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Precaspian Institute of Biological Resources, Dagestan Federal Research Centre, Russian Academy of Sciences, Makhachkala, Russia

<sup>2</sup>Ivanovsky Institute of Virology, N.F. Gamaleya National Research Centre of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

<sup>3</sup>Dagestan State Technical University, Makhachkala, Russia

<sup>4</sup>Dagestan State University, Makhachkala, Russia

<sup>5</sup>Dagestan State University of National Economy, Makhachkala, Russia

<sup>6</sup>Omsk State Medical University, Omsk, Russia

## Principal contact

Aina A. Adieva, Dr of Biological Sciences, Professor & Leading Researcher, Animal Ecology Laboratory, Precaspian Institute of Biological Resources, Dagestan Federal Research Centre, Russian Academy of Sciences; 45 Gadzhiev St, Makhachkala, Russia 367000.  
Tel. +79883005534  
Email [adieva-m@mail.ru](mailto:adieva-m@mail.ru)  
ORCID <https://orcid.org/0000-0001-8868-4782>

## How to cite this article

Adieva A.A., Klimova R.R., Abakarov G.M., Bekshokov K.S., Fedorova N.E., Omarova D.K., Kushch A.A., Dzhamalova S.A., Khalimbekova A.M., Guseynova A.R. Cytotoxicity and antiviral activity of tellurium derivatives in cells infected with herpes simplex virus and cytomegalovirus *in vitro*. *South of Russia: ecology, development*. 2021, vol. 16, no. 3, pp. 108-118. (In Russian) DOI: 10.18470/1992-1098-2021-3-108-118

Received 11 January 2021

Revised 27 February 2021

Accepted 26 April 2021

## Abstract

**Aim.** To carry out a comparative analysis of the cytotoxic and antiviral properties of synthesized tellurium derivatives in model cellular systems of infections caused by herpes simplex virus and cytomegalovirus.

**Material and Methods.** 4 organo-tellurium compounds were studied using primary and continuous cell cultures in various infection schemes.

**Results.** For each biological model studied, different thresholds of cytotoxicity concentration (TCD50 acute CC50 and CD50 CC50) were identified. Tellurium derivatives with methoxyphenyl and ethoxyphenyl ethene exhibit virus-neutralizing activity, preventing the penetration of herpes simplex virus virions into sensitive cells. HTI (SI selectivity index) for these compounds was 84 and 77, respectively.

**Conclusion.** The manifestation of the cytotoxic effect of all tellurium-containing organic compounds for transplanted cells lies in a lower concentration than for primary cells. The data obtained in the analysis of antiviral activity showed that the derivatives have therapeutic properties against HSV infection in cell culture.

## Key Words

Herpes viruses, viruses, infection, cell culture, tellurium derivatives, selective index, antiviral activity.

## ВВЕДЕНИЕ

Герпесвирусные инфекции (ГВИ) широко распространенные патогены в человеческой популяции. По оценкам ВОЗ, в мире вирусом ВПГ1 инфицированы около 3700 млн человек в возрасте до 50 лет (67% населения) и, примерно, 417 млн человек (11%) – ВПГ2 [1]. Распространенность ЦМВ-инфекции различается в разных регионах мира и варьирует от 45% до 100% [2-4]. Среди населения России ежегодно регистрируются около 20 млн новых случаев герпесвирусной инфекции. Первичная инфекция и реактивация герпесвирусов человека вызывают серьезные заболевания, в том числе с летальным исходом. Особенно опасны ГВИ на фоне снижения иммунитета [5-7]. Все вышеизложенное позволяет считать ГВИ, в том числе ВПГ и ЦМВ этиологии, важной медико-социальной проблемой современного здравоохранения.

Основные методы медикаментозного лечения ГВИ направлены на подавление репродукции герпесвирусов в инфицированном организме. Известные специфические противовирусные препараты (ацикловир, ганцикловир и их аналоги), используемые для лечения ГВИ, имеют ряд недостатков. К наиболее существенным можно отнести токсичность и резистентность вирусов, которая развивается при длительном применении и при рекуррентных заболеваниях [4; 8-10]. В связи с этим актуальной задачей является поиск новых соединений, перспективных для разработки препаратов против герпесвирусных инфекций человека, различающихся механизмами действия и подавляющих ВПГ 1/2 и ЦМВ как дикого типа, так и мутантные лекарственно-устойчивые штаммы.

В последнее время интерес исследователей привлекают соединения теллура. В прошлом считавшиеся высокотоксичными соединениями, которые не представлены в живых организмах, в настоящее время соединения теллура привлекают пристальное внимание в связи с обнаружением белков, содержащих теллурметионин и теллурцистеин в клетках про- и эукариот, а также с широким использованием соединений теллура для получения наночастичных полупроводников, инсектицидов, магнитных дисков, ферментных электродов, используемых в диагностике различных заболеваний. Накопление теллурсодержащих соединений в окружающей среде и их высокая реакционность требует изучения токсических свойств данного класса соединений с параллельным изучением их биологической активности. В настоящее время синтезированы соединения теллура, обладающие различной биологической активностью [11; 12], однако противовирусные свойства химических производных теллура практически не изучены. На кафедре химии ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный технический университет» синтезированы ряд новых теллурсодержащих соединений и показано, что при введении некоторых из них лабораторным животным наблюдается усиление интенсивности свободнорадикальных процессов в периферической крови и в печени.

Представляло интерес выяснить, окажут ли влияние вновь синтезированные соединения на развитие герпесвирусных инфекций в клетках животных и человека.

Цель настоящей работы состояла в изучении цитотоксического эффекта 4-х производных теллура в культуре первичных и перевиваемых клеток, а также противовирусных свойств в отношении инфекций, вызванных ВПГ1 и ЦМВ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Культура клеток

В работе использовали перевиваемую линию эпителиальных клеток почек зеленой мартышки - Vero и первичную культуру диплоидных фибробластов эмбрионов человека – ФЭЧ, полученные из коллекции клеточных культур при ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ России. Культуры были свободными от присутствия бактериальной или грибковой флоры. Клетки культивировали в среде Игла MEM (Vero) и Игла ДМЕМ (ФЭЧ) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки.

### Вирусы

Референс-штаммы ВПГ и ЦМВ были получены из коллекции вирусов при ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» МЗ России. Титр вируса, выраженный в количестве бляшкообразующих единиц в 1 мл – БОЕ/мл, определяли после заражения чувствительной культуры методом подсчета бляшек через 3-6 суток.

### Вещества

Изучены противовирусные свойства теллурсодержащих органических веществ:

- 1) [3-метилбензотеллуразол-2] [4-диметиламинобензо] триметинцианйодид (вещество 1),
- 2) [3-метилбензотеллуразол-2] [1-метилхинолин-2] триметинцианйодид (вещество 2),
- 3) [2-бензотеллуразолил-2] [4-метоксифенил] этен (вещество 3),
- 4) [2-бензотеллуразолил-2] [4-этоксифенил] этен (вещество 4).

Синтез соединений был осуществлен по схемам 1 и 2.

Строение синтезированных соединений доказано данными элементного анализа и данными ЯМР исследований (приведены в таблице 1). При исследовании биологической активности синтезированных теллурсодержащих гетероциклов ставилась задача возможного изучения влияния различных радикалов, содержащихся как в ароматическом кольце, так и в гетерокольце.

При изучении противовирусных свойств исследуемых соединений в качестве положительного контроля использовали сертифицированные препараты, включенные в протоколы лечения инфекций, использованных в данной работе в качестве модельных ГВИ – ВПГ 1 – ацикловир, ЦМВ – ганцикловир. АЦВ, Зовиракс – «ГлаксосмитКляйн Вэллком», Великобритания; ГЦВ, Цимевен – «Хоффман-ЛяРош», Швейцария.

Схема 1 / Schematic 1

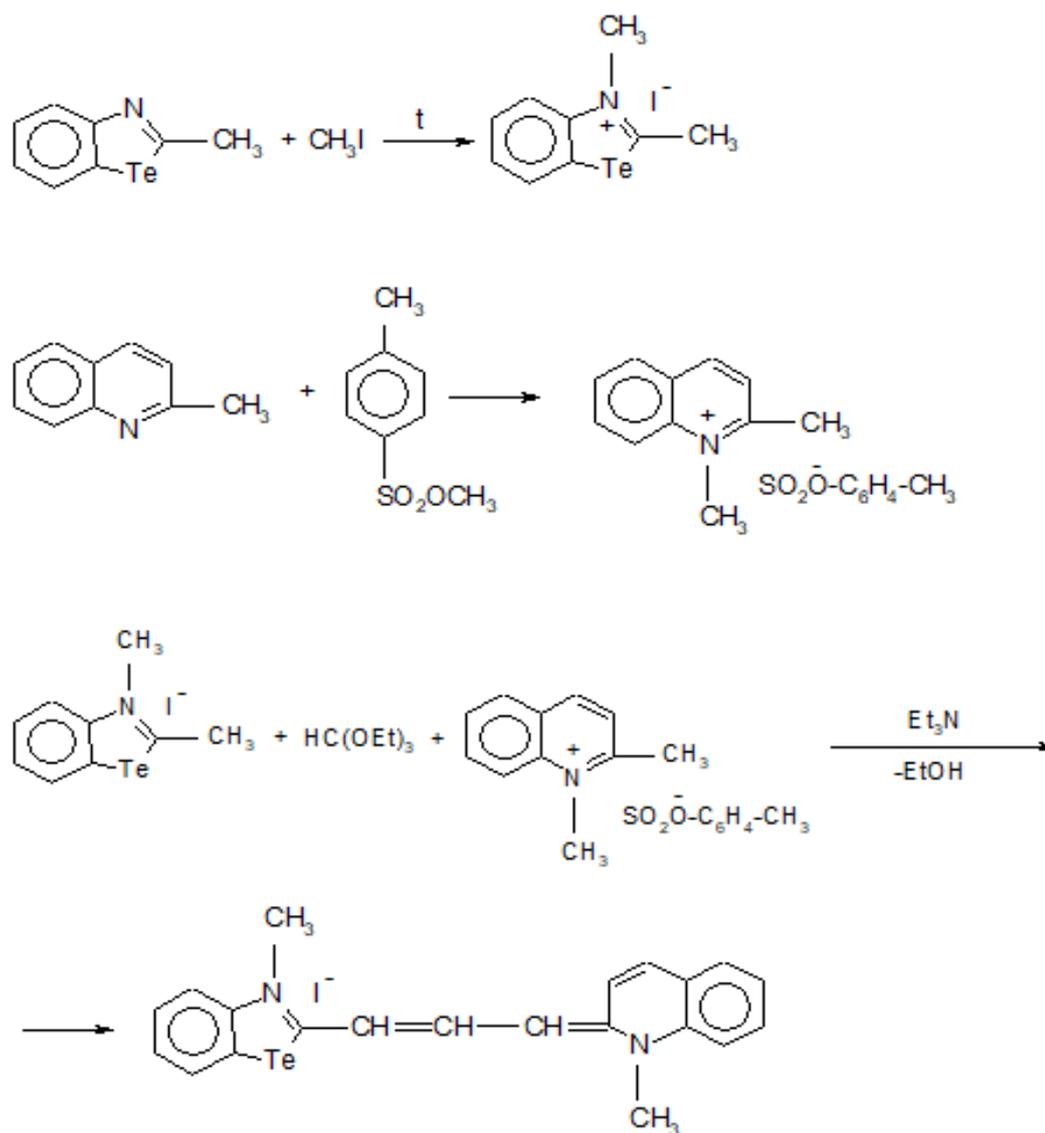
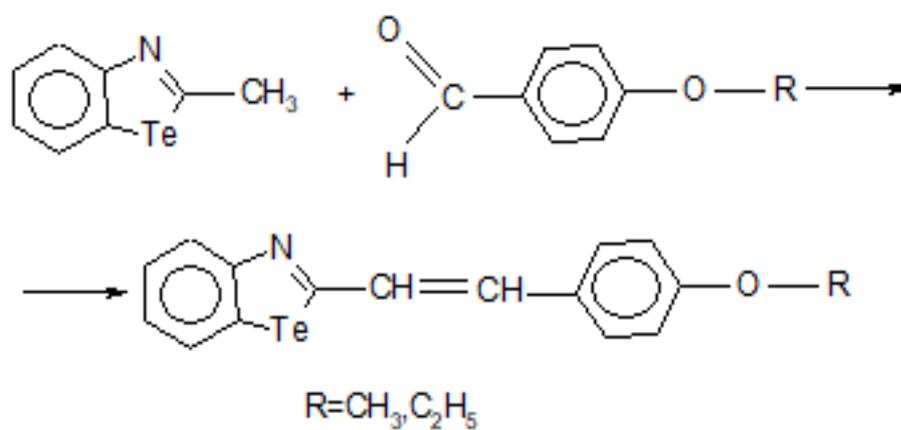
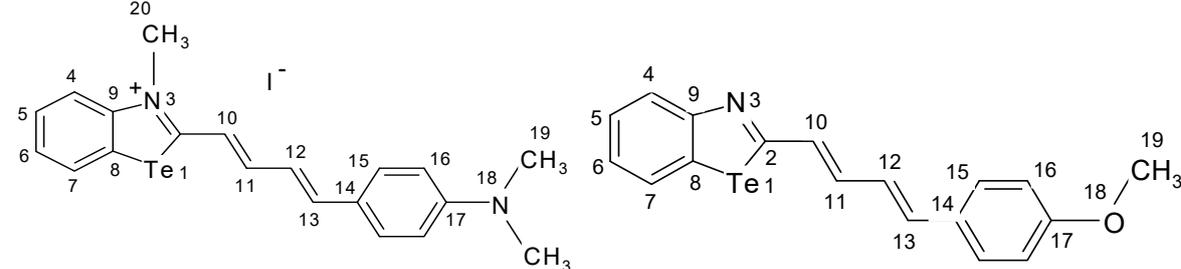


Схема 2 / Schematic 2



**Таблица 1.** Химические сдвиги (м.д.) и КССВ (Гц)  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  и  $^{125}\text{Te}$  ЯМР соединений 1,3 (DMSO d6)  
**Table 1.** Chemical shifts (m.d.) and CSSV (Hz)  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  и  $^{125}\text{Te}$  NMR compounds 1,3 (DMSO d6)



Соед. Comp.	Ядро Core	1 ( $^{125}\text{Te}$ )	2	3 ( $^{15}\text{N}$ )	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18 ( $^{13}\text{C}$ , $^{15}\text{N}$ )	19	20
1	$^1\text{H}$				8.04	7.67	7.47	8.32					7.16	7.38		7.51	6.77		3.03	4.08	
	$^1\text{H}$ (КССВ)				d(7.7)	t(7.7)	t(7.7)	d(7.7)			d(14.0)	dd(14.0;10.9)	dd(10.9;7.4)	d(14.9)		d(8.9)	d(8.9)				
	$^{13}\text{C}$ , $^{15}\text{N}$ , $^{125}\text{Te}$	822.99	186.98	188.16	119.38	128.45	126.56	132.60	121.31	147.59	121.20	154.33	123.09	147.16	123.03	130.27	112.16	152.04	61.17	38.18	40.04
3	$^1\text{H}$				7.95	7.42	7.14	8.05			7.30	7.42				7.68	6.97		3.79		
	$^1\text{H}$ (КССВ)				d(7.8)	t(7.8)	t(7.8)	d(7.8)			d(15.7)	d(15.7)				d(8.9)	d(8.9)				
	$^{13}\text{C}$ , $^{15}\text{N}$ , $^{125}\text{Te}$	849.72	173.45	343.56	125.12	126.71	124.52	132.20	132.57	161.42	126.81	140.14			128.29	128.81	114.41	160.21		55.21	

#### Определение цитотоксичности

Цитотоксичность теллурсодержащих гетероциклов определяли по влиянию на жизнедеятельность клеток Vero и ФЭЧ, которую оценивали методом исключения витального красителя трипанового синего и методом МТТ. Острую цитотоксичность (ОЦД<sub>50</sub>), вызывающую гибель 50% клеток, определяли через 24 часа после внесения различных концентраций гетероциклических соединений теллура. Хроническую токсичность (ЦД<sub>50</sub>) оценивали через 72 часа после внесения соединений. Значения 50% цитотоксической дозы (концентрация, вызывающая гибель 50% клеток в монослое) рассчитывали методом линейной регрессии с использованием пакета документов Microsoft Excel.

#### Противовирусная активность соединений

Определение противовирусной активности проводили с использованием 4 схем воздействия: профилактическая, которая моделирует профилактическое воздействие – 1 схема, микробицидная, моделирует экстренное профилактическое воздействие – 2 схема, лечебная, моделирует терапевтическое действие – 3 схема и вирулицидная, характеризует способность соединений нейтрализовать вирус и/или инфекционную активность вируса – 4 схема. Во всех схемах положительным контролем были АЦВ и ГЦВ использованные в концентрациях 10 мкг/мл и 5 мкг/мл. В качестве отрицательного контроля использовали инфицированную ВПГ 1 и ЦМВ культуру клеток без исследуемых веществ. Множественность заражения для клеток Vero составила 0,01 БОЕ/кл, для клеток ФЭЧ

– 0,001 БОЕ/кл. Для проникновения вирусных частиц инокулят с вирусом инкубировали с культурой клеток в термостате в течение 1 часа при 37°C.

1 схема. На монослой клеток Vero и ФЭЧ наносили поддерживающую среду с различными концентрациями исследуемых соединений и инкубировали в течение 24 часов. Далее клетки промывали, заражали, вносили поддерживающую среду без исследуемых веществ. Культивировали до развития цитопатогенного эффекта в термостате при постоянной влажности, концентрации CO<sub>2</sub> и 37°C в течение 3 суток для развития ВПГ-инфекции и 5-6 суток для развития ЦМВИ.

2 схема. На монослой клеток наносили культуральную среду с 2% ЭТС, содержащую исследуемые соединения в различных концентрациях и инкубировали в течение 24 часов при 37°C в термостате в присутствии 5% CO<sub>2</sub>. Культуральную жидкость с соединениями не отбирали и заражали клетки. Затем клетки дважды промывали средой без сыворотки, вносили среду поддержки с 2% ЭТС и инкубировали при условиях, описанных выше.

3 схема. Монослой клеток Vero и ФЭЧ, выращенный в 96 луночных стерильных панелях, заражали и вносили среду поддержки с 2% ЭТС и различными концентрациями гетероциклических соединений теллура. Инкубировали в термостате в течение 3 суток для ВПГ 1 и 5-6 суток для ЦМВ при определенной влажности, концентрации CO<sub>2</sub> и температуре 37°C.

4 схема. Вирусы инкубировали в стерильных флаконах совместно с различными концентрациями гетероциклических соединений теллура в течение 1 часа при 37°C. Инкубационную смесь наносили на монослой клеток и выдерживали в течение 1 часа, промывали, вносили среду с 2% сыворотки. Инкубировали при 37°C в термостате при определенной влажности и постоянной подаче 5% CO<sub>2</sub> до развития цитопатогенного эффекта.

Противовирусную активность изученных соединений *in vitro* оценивали методом модифицированных бляшек, который проводили путем подсчета количества инфицированных клеток (бляшек) в опыте и в контроле. Степень ингибирования бляшкообразования, т.е. цитопатогенного действия, рассчитывали по формуле Спирмана-Кербера. Статистическую обработку результатов проводили в программе GraphPad Prism 5.01. Различия между средними значениями определяли с помощью двустороннего непарного критерия Стьюдента и считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Значения 50% ингибирующей дозы гетероциклических соединений теллура, исследованных в данной работе, рассчитывали методом линейной регрессии. Учитывали степень подавления бляшкообразования на 50% по

отношению к контролю. Химиотерапевтический индекс (ХТИ) рассчитывали, как отношение 50% цитотоксической дозы к 50% ингибирующей дозы.

## ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Цитотоксичность соединений

При определении хронической цитотоксичности соединения использовались в различных концентрациях (от 0,1 мкг/мл до 500 мкг/мл). Значения ЦД<sub>50</sub> для культуры клеток Vero значительно различались и составили от 0,7 мкг/мл до 160 мкг/мл. Цитотоксичность для клеток ФЭЧ (ЦД<sub>50</sub>), также варьировала, от 5,9 мкг/мл до 316,0 мкг/мл. Данные представлены в таблице 2. Поскольку вещества проявили выраженный антипролиферативный эффект для сравнения приведены данные по цитотоксическому действию доксорубина, антрациклинового антибиотика, широко используемого для лечения рака молочной железы и гематологических злокачественных новообразований. В таблицах 3 и 4 приведены данные по ЦД<sub>50</sub> для препаратов ацикловира и ганцикловира, включенных в протоколы лечения инфекций, вызванных ВПГ и ЦМВ, они составляют 1000 мкг/мл и 125 мкг/мл для АЦВ и ГЦВ, соответственно.

**Таблица 2.** Цитотоксического действие 24-х и 72-х часового лечения теллурсодержащими органическими веществами различных клеточных линий

**Table 2.** Cytotoxic effect of 24 and 72 hours treatment with tellurium-containing organic substances of various cell lines

Вещества Substances	Культура клеток Cell culture					
	ФЭЧ HF cells (human fibroblasts)		Vero		Эритроциты Erythrocytes	Клетки печени Liver cells
	ЦД <sub>50</sub> , мкг/мл CC <sub>50</sub> , µg/ml	ОЦД <sub>50</sub> , мкг/мл acute CC <sub>50</sub> , µg/ml	ЦД <sub>50</sub> , мкг/мл CC <sub>50</sub> , µg/ml	ОЦД <sub>50</sub> , мкг/мл acute CC <sub>50</sub> , µg/ml		
Вещество 1 Substance 1	146,8	147,8	3,5	6,5	> 100 мг/мл mg/ml	> 100 мг/мл mg/ml
Вещество 2 Substance 2	5,9	7,3	0,7	0,9	> 100 мг/мл mg/ml	> 100 мг/мл mg/ml
Вещество 3 Substance 3	306,3	577,2	160	180	> 300 мг/мл mg/ml	> 100 мг/мл mg/ml
Вещество 4 Substance 4	316,0	433,6	153	157	> 300 мг/мл mg/ml	> 100 мг/мл mg/ml
Доксорубин Doxorubicin	0,19	0,24	0,02	0,03	н/и not studied	н/и not studied

Статистический анализ показал, что значение ЦД<sub>50</sub> для соединений 3 и 4 значительно больше по сравнению с таковым для соединений 1 и 2 в отношении культуры клеток Vero и ФЭЧ ( $P < 0,001$ ), что свидетельствует о более низкой цитотоксичности данных соединений.

Для определения острой цитотоксичности в отношении клеток ФЭЧ и Vero теллурсодержащие органические соединения использовали в более высоких концентрациях (от 1 мкг/мл до 1 мг/мл). Значения ОЦД<sub>50</sub>, которые были определены через 24 часа после внесения исследуемых веществ для клеток Vero варьировали от 0,9 мкг/мл до 180 мкг/мл, для диплоидных фибробластов человека от 7,3 мкг/мл до 577,2 мкг/мл. В данной схеме обработки, также, вещества 3 и 4 показали меньшую цитотоксичность в отношении обеих культур клеток ( $P < 0,005$ ).

Определение токсического действия соединений в отношении ФЭЧ и Vero показало, что наибольшим токсическим действием обладает соединение 2-[3-метилбензотеллуразол-2] (1-метилхиолин-2) триметилцианйодид. Для этого соединения были зафиксированы крайне низкие нетоксичные концентрации. Так, ОЦД<sub>50</sub> и ЦД<sub>50</sub> в первичной культуре составили 7,3 мкг/мл и 5,9 мкг/мл, а для перевиваемой культуры – 0,9 мкг/мл и 0,7 мкг/мл. Соединение 1-[3-метилбензотеллуразол-2] [4-диметиламинобензол] триметилцианйодид вызывало 50% гибель клеток ФЭЧ на третьи сутки в концентрации 146,8 мкг/мл, для клеток Vero ЦД<sub>50</sub> составил 3,5 мкг/мл. Если сравнить данные по ЦД<sub>50</sub> для ФЭЧ, то этот показатель сходен с аналогичными данными для ганцикловира, эталонного препарата при лечении ЦМВИ. Надо отметить, что концентрации соединений 1

и 2, вызывающая гибель 50% клеток первичной и перевиваемой культур при острой и хронической цитотоксичности практически не отличалась.

Наименьшее цитотоксическое действие проявляли соединения 3 и 4-(2-бензотеллуразолил)-2-(4-метоксифенил) этен и (2-бензотеллуразолил)-2-(4-этоксифенил) этен. Так,  $ОЦД_{50}$  для веществ 3 и 4 в культуре клеток Vero были равны 180 мкг/мл и 157 мкг/мл,  $ЦД_{50}$  – 160 мкг/мл и 153 мкг/мл, соответственно. Для фибробластов человека  $ОЦД_{50}$  превышали 400 мкг/мл и составили для 2-бензотеллуразолил – 2-(4-метоксифенил) этена (вещество 3) – 577,2 мкг/мл и 433,6 мкг/мл для 2-бензотеллуразолил-2-(4-этоксифенил) этена (вещество 4). Токсическая доза через 72 часа обработки ( $ЦД_{50}$ ) составила более 300 мкг/мл для обоих соединений (табл. 2).

Цитотоксические эффекты 24-х и 72-х часового лечения теллурсодержащих веществ, изученные на двух линиях клеток *in vitro* (первичные ФЭЧ – диплоидные фибробласты человека и перевиваемые Vero – клетки почек зеленой марышки) показали, что они сравниваются с таковыми для доксорубина.

Концентрации веществ  $ЦД_{50}$  и  $ОЦД_{50}$  для трансформированных клеток значительно ниже, чем для первичных клеток человека. Параллельно проведенное исследование токсичности данных соединений на крысах не выявило острой цитотоксичности в тех концентрациях, которые были введены животным. Дальнейшее исследование хронической цитотоксичности *in vivo* (эритроциты и клетки печени) показало, что она не обусловлена неспецифическим повреждением клеточных мембран, так как гемолитический потенциал в эритроцитах наблюдался при значительно более высокой концентрации.

#### Исследование противовирусных свойств соединений *in vitro*

Противовирусную активность синтезированных производных теллура в отношении ВПГ 1-инфекции изучали путем внесения различных концентраций веществ (от 0,1 мкг/мл до 10 мкг/мл) в 4 схемах воздействия, описанных в разделе «Материалы и методы». Данные представлены в таблице 3.

**Таблица 3.** Противовирусные свойства производных теллура в отношении ВПГ1-инфекции

**Table 3.** Antiviral activity of tellurium derivatives against HSV1 infection

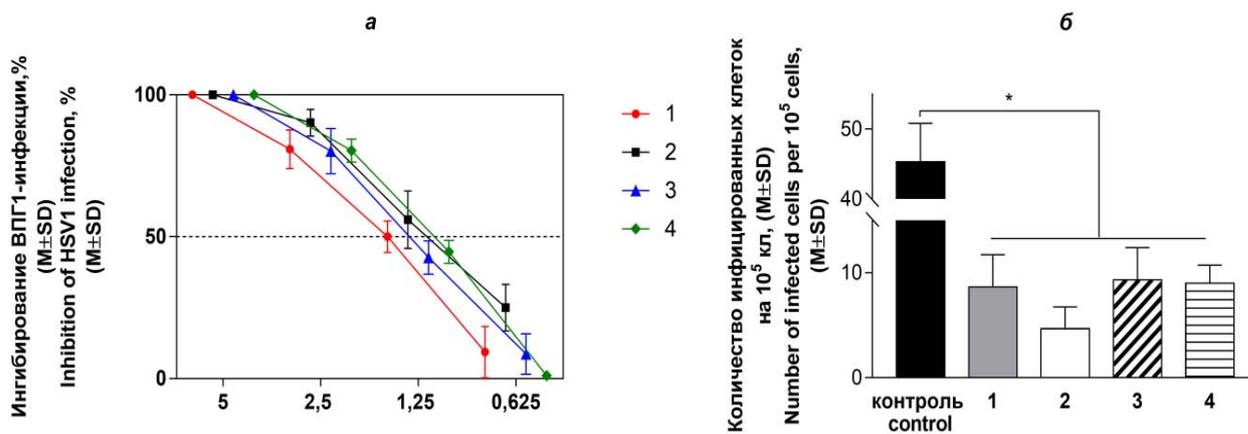
Вещества Substances	$ЦД_{50}$ , мкг/мл $CC_{50}$ , μg/ml	Схемы воздействия / Schematics of effects							
		Лечебная Therapeutic		Профилактическая Preventive		Микробицидная Microbicidal		Вирулицидная Virucidal	
		$ИД_{50}$ , мкг/мл $IC_{50}$ , μg/ml	ХТИ SI	$ИД_{50}$ , мкг/мл $IC_{50}$ , μg/ml	ХТИ SI	$ИД_{50}$ , мкг/мл $IC_{50}$ , μg/ml	ХТИ SI	$ИД_{50}$ , мкг/мл $IC_{50}$ , μg/ml	ХТИ SI
Вещество 1 Substance 1	3,5	-	-	19	0,2	15,9	0,2	1,8	1,9
Вещество 2 Substance 2	0,7	-	-	6,6	0,1	23,5	0,02	1,2	0,6
Вещество 3 Substance 3	160	4,4	37	8,8	18	5,5	29	1,9	<b>84</b>
Вещество 4 Substance 4	153	6,2	25	63,9	2	29,7	5	2	<b>77</b>
АЦВ Aciclovir	1000	1,3	908	7,2	139	н/и not studied	н/и not studied	25	40

Примечания:  $ЦД_{50}$  – 50%-я цитотоксическая доза, концентрация соединения, при которой наблюдали 50%-ю гибель клеток,  $ИД_{50}$  – концентрация соединения, ингибирующая ВПГ1-инфекцию на 50%, мкг/мл; ХТИ= $ЦД_{50}/ИД_{50}$ ; «-» – не обладает противовирусным эффектом (количество инфицированных клеток в опыте равно таковым в контроле); «н/и» – не исследовано

Note:  $CC_{50}$  – 50% cytotoxic concentration, compound concentration that caused a 50% reduction in the number of viable cells, μg/ml;  $IC_{50}$  – compound concentration that inhibits HSV1 infection by 50%, μg/ml; SI (selective index) =  $CC_{50}/IC_{50}$ ; «-» – has no antiviral effect (the number of infected cells in the experiment is equal to that in the control); "n/s" – not studied

Анализ значений  $ИД_{50}$  и ХТИ для каждого соединения показало, что два из них [2-бензотеллуразолил-2] [4-метоксифенил] этен (вещество 3) и [2-бензотеллуразолил-2] [4-этоксифенил] этен (вещество 4) проявили активность в вирулицидной схеме воздействия со значением ХТИ равным 84 и 77. Для двух других соединений (вещества 1 и 2) значения ХТИ оказались низкими в связи с высокой цитотоксичностью, проявленной в отношении клеток Vero.

Установлено, что в вирулицидной схеме воздействия количество инфицированных клеток в культуре Vero, обработанной тестируемыми соединениями в концентрации 2,5 мкг/мл, было статистически значимо меньше по сравнению с контролем заражения (рис. 1а). Ингибирование ВПГ1-инфекции при данной концентрации варьировало от 80% до 89% (рис. 1б). При концентрации 1,2 мкг/мл только одно соединение (2) ингибировало вирусную инфекцию более чем на 50%.



**Рисунок 1.** Ингибирование ВПГ1-инфекции производными теллура в вирулицидной схеме воздействия а – ингибирование ВПГ1-инфекции, (M±SD), %; б – изменение количества инфицированных клеток (бляшек) на 10<sup>5</sup> клеток Vero при использовании соединений в концентрации 1,25 мкг/мл, \* – значения статистически значимы, p<0,05 (t-test)

**Figure 1.** Virucidal activity of tellurium derivatives against HSV1 infection

а – inhibition of HSV1 infection, (M ± SD), %; б – change in the number of infected cells (plaques) per 10<sup>5</sup> Vero cells when using compounds at a concentration of 1.25 µg / ml, \* – the values are statistically significant, p<0.05 (t-test)

Определение противовирусных свойств соединений *in vitro* в отношении ЦМВ-инфекции в вирулицидной

схеме не дало положительного эффекта. ХТИ для всех изученных соединений был низким (табл. 4).

**Таблица 4.** Цитотоксические и противовирусные свойства теллуросодержащих органических соединений в отношении ЦМВ-инфекции фибробластов человека

**Table 4.** Cytotoxic and antiviral properties of tellurium-containing organic compounds against CMV infection of human fibroblasts

Вещества Substances	ОЦД <sub>50</sub> , мкг/мл acute CC <sub>50</sub> , µg/ml	ЦД <sub>50</sub> , мкг/мл CC <sub>50</sub> , µg/ml	МПД, мкг/мл MTD, µg/ml	ИД <sub>50</sub> , мкг/мл IC <sub>50</sub> , µg/ml	ХТИ SI
Вещество 1 Substance 1	147,8	146,8	50	43,7	3,3
Вещество 2 Substance 2	7,3	5,9	1	8,1	0,7
Вещество 3 Substance 3	577,2	306,3	50	265,7	1,1
Вещество 4 Substance 4	433,6	316,0	50	488,6	0,6
Ганцикловир Ganciclovir		125		-	

Примечания: ОЦД<sub>50</sub> – острая 50%-я цитотоксическая доза; ЦД<sub>50</sub> – хроническая 50%-я цитотоксическая доза;

МПД – концентрация, при которой не наблюдали гибель клеток в течение 7 суток воздействия;

ИД<sub>50</sub> – концентрация соединения, ингибирующая ЦМВ-инфекцию на 50% в вирулицидной схеме

Note: acute CC<sub>50</sub> – acute 50% cytotoxic dose; CC<sub>50</sub> – chronic 50% cytotoxic dose; MTD is the concentration at which no cell death was observed during 7 days of exposure; IC<sub>50</sub> – the concentration of a compound that inhibits CMV infection by 50% in the virucidal schematic

Таким образом:

✓ для каждой изученной биологической модели были выявлены различные пороги концентрации цитотоксичности. Изученные органические производные теллура (вещество 1 и 2) проявляют высокую токсичность в отношении клеток Vero и ФЭЧ. Этот показатель сходен с аналогичными данными для ганцикловира. Наименьшее цитотоксическое действие проявляли соединения 3 и 4;

✓ производные теллура 3 и 4 проявляют вируснейтрализующую активность, предотвращая проникновение вирионов ВПГ в чувствительные клетки;

✓ все изученные соединения теллура не проявили противовирусную активность в отношении ЦМВ-инфекции *in vitro* ни в одной из изученных схем;

✓ проявление цитотоксического эффекта всех теллуросодержащих органических соединений для

перевиваемых клеток лежит в более низкой концентрации, чем для первичных клеток. Аналогичный эффект был выявлен для доксорубина, использованного в нашем исследовании в качестве контроля.

Поиск эффективных противовирусных средств для ВПГ и ЦМВ остается актуальной проблемой здравоохранения, так как известные специфические препараты (ацикловир, ганцикловир, тубосан, валацикловир, пенцикловир) имеют высокую устойчивость вследствие длительности их применения и рекуррентности герпесвирусных заболеваний. Помимо этого, к недостаткам следует отнести их малую биодоступность, плохую растворимость, короткое время присутствия в крови, необходимость введения больших доз в короткие промежутки времени, что вызывает выраженные побочные действия.

До недавнего времени соединения теллура применялись ограниченно, так как считалось, что они не имеют физиологических функций в клеточной биологии млекопитающих, в отличие от селена, серы или кислорода. В последние годы возрастает интерес к органическим соединениям теллура и их рассматривают как перспективное направление, так как показано присутствие теллура в биологических жидкостях [13] и были идентифицированы белки в организмах бактерий, дрожжей и грибов, имеющие в своем составе теллуromетионин и теллурицистеин [14]. В настоящее время имеются данные об их антиоксидантной, антипролиферативной, противовоспалительной и иммуномодулирующей свойствах [15; 16].

Изучение цитотоксичности 4 производных теллура показало, что в больших концентрациях все соединения проявляют выраженную цитотоксичность, однако биологический эффект зависит от радикала, присоединенного к теллуру. Цитотоксическая доза изученных веществ была на два порядка ниже, чем для известного противоопухолевого препарата доксорубин (от 0,7 до 160 мкг/мл против 0,02 мкг/мл), в первичных клетках ФЭЧ эта концентрация была еще ниже (5,9-316 мкг/мл). Существенным является то, что гемолитический потенциал эритроцитов наблюдался при очень высоких концентрациях (100-300 мг/мл), поэтому цитотоксичность изученных веществ нельзя отнести к неспецифическому повреждению клеточных мембран. Природа цитотоксического эффекта теллуриорганических соединений требует дальнейшего детального изучения, также, в связи с исследованиями последних лет [16], показывающими различные механизмы индукции клеточной гибели при различных концентрациях другого гетероциклического соединения – дифенил дителлурида.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение противовирусной активности исследуемых веществ в стандартной лечебной схеме против ВПГ и ЦМВ не обладало терапевтической эффективностью, однако в отношении ВПГ-инфекции были получены интересные результаты относительно вируснейтрализующей активности соединений. Все изученные соединения обладали вируснейтрализующей активностью, но только включение в структуру метокси- и этокси-групп позволило повысить порог токсичности для клеток и рассчитать химиотерапевтический индекс для веществ 3 и 4, который делает их перспективными соединениями для разработки комбинированных препаратов при лечении вирусных заболеваний, вызванных ВПГ.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Looker K.J., Johnston C., Welton N.J., James C., Vickerman P., Turner K.M.-E., Boily M.C., Gottlieb S.L. The global and regional burden of genital ulcer disease due to herpes simplex virus: a natural history modelling study // *British Medical Journal Global Health*. 2020. V. 5. e001875. DOI: 10.1136/bmjgh-2019-001875
2. Lichtner M., Cicconi P., Vita S., Cozzi-Lepri A., Galli M., Lo Caputo S., Saracino A., De Luca A., Moioli M., Maggolino F., Marchetti G., Vullo V., d'Arminio Monforte A., et al.

Cytomegalovirus coinfection is associated with an increased risk of severe non-AIDS-defining events in a large cohort of HIV-infected patients // *The Journal of Infectious Diseases*. 2015. V. 211. N 2. P. 178-86. DOI: 10.1093/infdis/jiu417

3. Roizman B., Whitley R.J. An Inquiry into the Molecular Basis of HSV Latency and Reactivation // *Annual Review of Microbiology*. 2013. V. 67. P. 355-374. DOI: 10.1146/annurev-micro-092412-155654
4. Адиева А.А. Герпесвирусные инфекции и перинатальная патология // *Российский педиатрический журнал*. 2010. N 1. С. 39-44.
5. Slyker J.A., Guthrie B., Pankau M., Tapia K., Wamalwa D., Benki-Nugent S., Ngugi E., Huang M., Njuguna I., Langat A., John-Stewart G., Lehman D. Cytomegalovirus and Epstein-Barr virus viremia are associated with HIV DNA levels in the reservoir of Kenyan infants on antiretroviral therapy // *The Journal of Infectious Diseases*. 2020. V. 223. Iss. 11. P. 1923-1927. DOI: 10.1093/infdis/jiaa640
6. Koch M.S., Lawler S.E., Chiocia E.A. HSV-1 Oncolytic Viruses from Bench to Bedside: An Overview of Current Clinical Trials // *Cancers*. 2020. V. 12. Iss. 12. Article: 3514. DOI: 10.3390/cancers12123514
7. Климова П.П., Малиновская В.В., Гусева Т.С., Паршина О.В., Гетия Е.Г., Дегтярева М.В. и др. Влияние герпесвирусных инфекций на уровень провоспалительных цитокинов у недоношенных новорожденных детей // *Вопросы вирусологии*. 2011. N 4. С. 23-26.
8. Zinser E., Krawczyk A., Stich L. Mühl-Zürbes P., Aufderhorst U., Draßner C., Stich L., Zaja M., Strobl S., Steinkasserer A., Heilingloh C.S. A new promising candidate to overcome drug resistant herpes simplex virus infections // *Antiviral Research*. 2018. V. 149. P. 202-210. DOI: 10.1016/j.antiviral.2017.11.012
9. Jiang Y.C., Feng H., Lin Y.C., Guo X.R. New strategies against drug resistance to herpes simplex virus // *International Journal of Oral Science*. 2016. V. 8. P. 1-6. DOI: 10.1038/ijos.2016.3
10. Vissani M.A., Thiry E., Pozzo F.D., Barrandeguy M. Antiviral agents against equid alphaherpesviruses: Current status and perspectives // *The Veterinary Journal*. 2016. V. 207. P. 38-44. DOI: 10.1016/j.tvjl.2015.06.010
11. Albeck M., Tamari T., Sredni B. Synthesis and properties of ammonium trichloro(dioxyethylene-O,O')tellurate (AS-101). A new immunomodulating compound // *Synthesis*. 1989. N 8. P. 635-636.
12. Vázquez-Tato M. P., Mena-Menéndez A., Feás X., Seijas J.A. Novel microwave-assisted synthesis of the immunomodulator organotellurium compound ammonium trichloro(dioxoethylene-O,O')tellurate (AS101) // *International Journal of Molecular Sciences*. 2014. V. 15. Iss. 2. P. 3287-3298. DOI: 10.3390/ijms15023287
13. Chasteen T.G., Fuentes D.E., Tantaleán J.C., Vásquez C.C. Tellurite: history, oxidative stress, and molecular mechanisms of resistance // *FEMS Microbiology Reviews*. 2009. V. 33. Iss. 4. P. 820-832. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2009.00177.x
14. Bienert G.P., Schussler M.D., Jahn T.P. Metalloids: essential, beneficial or toxic? Major intrinsic proteins sort it out // *Trends in Biochemical Sciences*. 2008. V. 33. Iss. 1. P. 20-26. DOI: 10.1016/j.tibs.2007.10.004
15. Kim Y.J., Lee D.H., Choi Y.S., Jeong J.H., Kwon S.H. Benzo[b]tellurophenes as a Potential Histone H3 Lysine 9 Demethylase (KDM4) Inhibitor // *International Journal of*

Molecular Sciences. 2019. V. 20. Iss. 23. Article: 5908. DOI: 10.3390/ijms20235908

16. Trindade C., Juchem A., Guecheva T.N., de Oliveira I.M., dos Santos Silveira P. et al. Diphenyl Ditelluride: Redox-Modulating and Antiproliferative Properties // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019. V. 2019. Article: 2510936. DOI: 10.1155/2019/2510936

#### REFERENCES

1. Looker K.J., Johnston C., Welton N.J., James C., Vickerman P., Turner K.M.-E., Boily M.C., Gottlieb S.L. The global and regional burden of genital ulcer disease due to herpes simplex virus: a natural history modelling study. *British Medical Journal Global Health*, 2020, vol. 5, e001875. DOI: 10.1136/bmjgh-2019-001875
2. Lichtner M., Cicconi P., Vita S., Cozzi-Lepri A., Galli M., Lo Caputo S., Saracino A., De Luca A., Moiola M., Maggiolo F., Marchetti G., Vullo V., d'Arminio Monforte A., et al. Cytomegalovirus coinfection is associated with an increased risk of severe non-AIDS-defining events in a large cohort of HIV-infected patients. *The Journal of Infectious Diseases*, 2015, vol. 211, no. 2, pp. 178-86. DOI: 10.1093/infdis/jiu417
3. Roizman B., Whitley R.J. An Inquiry into the Molecular Basis of HSV Latency and Reactivation. *Annual Review of Microbiology*, 2013, vol. 67, pp. 355-374. DOI: 10.1146/annurev-micro-092412-155654
4. Adieva A.A. Herpesvirus infections and perinatal pathology. *Rossiiskii pediatricheskii zhurnal* [Russian Pediatric Journal]. 2010, no. 1, pp. 39-44. (In Russian)
5. Slyker J.A., Guthrie B., Pankau M., Tapia K., Wamalwa D., Benki-Nugent S., Ngugi E., Huang M., Njuguna I., Langat A., John-Stewart G., Lehman D. Cytomegalovirus and Epstein-Barr virus viremia are associated with HIV DNA levels in the reservoir of Kenyan infants on antiretroviral therapy. *The Journal of Infectious Diseases*, 2020, vol. 223, iss. 11, pp. 1923-1927. DOI: 10.1093/infdis/jiaa640
6. Koch M.S., Lawler S.E., Chiocca E.A. HSV-1 Oncolytic Viruses from Bench to Bedside: An Overview of Current Clinical Trials. *Cancers*, 2020, vol. 12, iss. 12, article: 3514. DOI: 10.3390/cancers12123514
7. Klimova R.R., Malinovskaya V.V., Guseva T.S., Parshina O.V., Getiya E.G., Degtyareva M.V., et al. Influence of herpesvirus infections on the level of proinflammatory

- cytokines in premature infants. *Voprosy virusologii* [Virology issues]. 2011, no. 4, pp. 23-26. (In Russian)
8. Zinser E., Krawczyk A., Stich L. Mühl-Zürbes P., Aufderhorst U., Draßner C., Stich L., Zaja M., Strobl S., Steinkasserer A., Heilingloh C.S. A new promising candidate to overcome drug resistant herpes simplex virus infections. *Antiviral Research*, 2018, vol. 149, pp. 202-210. DOI: 10.1016/j.antiviral.2017.11.012
  9. Jiang Y.C., Feng H., Lin Y.C., Guo X.R. New strategies against drug resistance to herpes simplex virus. *International Journal of Oral Science*, 2016, vol. 8, pp. 1-6. DOI: 10.1038/ijos.2016.3
  10. Vissani M.A., Thiry E., Pozzo F.D., Barrandeguy M. Antiviral agents against equid alphaherpesviruses: Current status and perspectives. *The Veterinary Journal*, 2016, vol. 207, pp. 38-44. DOI: 10.1016/j.tvjl.2015.06.010
  11. Albeck M., Tamari T., Sredni B. Synthesis and properties of ammonium trichloro(dioxyethylene-O,O)tellurate (AS-101). A new immunomodulating compound. *Synthesis*. 1989, no. 8, pp. 635-636.
  12. Vázquez-Tato M. P., Mena-Menéndez A., Feás X., Seijas J.A. Novel microwave-assisted synthesis of the immunomodulator organotellurium compound ammonium trichloro(dioxyethylene-O,O')tellurate (AS101). *International Journal of Molecular Sciences*, 2014, vol. 15, iss. 2, pp. 3287-3298. DOI: 10.3390/ijms15023287
  13. Chasteen T.G., Fuentes D.E., Tantaleán J.C., Vásquez C.C. Tellurite: history, oxidative stress, and molecular mechanisms of resistance. *FEMS Microbiology Reviews*, 2009, vol. 33, iss. 4, pp. 820-832. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2009.00177.x
  14. Bienert G.P., Schussler M.D., Jahn T.P. Metalloids: essential, beneficial or toxic? Major intrinsic proteins sort it out. *Trends in Biochemical Sciences*, 2008, vol. 33, iss. 1, pp. 20-26. DOI: 10.1016/j.tibs.2007.10.004
  15. Kim Y.J., Lee D.H., Choi Y.S., Jeong J.H., Kwon S.H. Benzo[b]tellurophenes as a Potential Histone H3 Lysine 9 Demethylase (KDM4) Inhibitor. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, vol. 20, iss. 23, article: 5908. DOI: 10.3390/ijms20235908
  16. Trindade C., Juchem A., Guecheva T.N., de Oliveira I.M., dos Santos Silveira P. et al. Diphenyl Ditelluride: Redox-Modulating and Antiproliferative Properties. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, vol. 2019, article: 2510936. DOI: 10.1155/2019/2510936

#### КРИТЕРИИ АВТОРСТВА

Айна А. Адиева предложила дизайн исследования, получила и проанализировала данные по цитотоксичности гетероциклических соединений теллура, написала рукопись. Регина Р. Климова получила данные по противовирусной активности гетероциклов в клеточной системе *in vitro* на модели ВПГ. Гасан М. Абакаров предложил два разных метода синтеза, синтезировал производные теллура. Керим С. Бекшоков получил данные по антиоксидантной активности производных *in vivo*. Наталия Е. Федорова получила данные по противовирусной активности гетероциклов в клеточной системе ФЭЧ на модели ЦМВИ. Джамиля К. Омарова проводила статистическую обработку данных по цитотоксичности гетероциклов, а также проводила сравнительный анализ данных по сертифицированным веществам – ганцикловир, ацикловир и доксорубин. Алла А. Кушч участвовала в исследованиях по изучению

#### AUTHOR CONTRIBUTIONS

Aina A. Adieva proposed the study design, obtained and analysed data on the cytotoxicity of tellurium heterocyclic compounds and wrote the manuscript. Regina R. Klimova obtained data on the antiviral activity of heterocycles in the cell system *in vitro* using the HSV model. Gasan M. Abakarov proposed two different methods of synthesis and synthesised tellurium derivatives. Kerim S. Bekshokov obtained data on the antioxidant activity of derivatives *in vivo*. Natal'ya E. Fedorova obtained data on the antiviral activity of heterocycles in the cellular system of the HEP using the CMVI model. Dzhamilya K. Omarova carried out statistical processing of data on the cytotoxicity of heterocycles and also carried out a comparative analysis of data on the certified substances, ganciclovir, acyclovir and doxorubicin. Alla A. Kushch participated in studies on the antiviral activity and cytotoxicity of heterocycles. Svetlana A. Dzhamalova synthesised heterocycles according to the second schematic. Aida M. Khalimbekova obtained characteristic data on the

противовирусной активности и цитотоксичности гетероциклов. Светлана А. Джамалова синтезировала гетероциклы согласно второй схеме. Аида М. Халимбекова получила характеристические данные по строению веществ. Алина Р. Гусейнова культивировала культуру клеток ФЭЧ и Vero, провела анализ и статистическую обработку данных по цитотоксичности. Все авторы в равной степени несут ответственность при обнаружении плагиата, самоплагиата или других неэтических проблем.

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

structure of substances. Alina R. Guseynova cultivated a cell culture of HEP and Vero and analysed and statistically processed data on cytotoxicity. All authors are equally responsible for plagiarism, self-plagiarism and other ethical transgressions.

**NO CONFLICT OF INTEREST DECLARATION**

The authors declare no conflict of interest.

**ORCID**

Айна А. Адиева / Aina A. Adieva <https://orcid.org/0000-0001-8868-4782>

Регина Р. Климова / Regina R. Klimova <http://orcid.org/0000-0002-4147-8444>

Гасан М. Абакаров / Gasan M. Abakarov <https://orcid.org/0000-0002-9225-9321>

Керим С. Бекшоков / Kerim S. Bekshokov <https://orcid.org/0000-0003-0736-1522>

Наталья Е. Федорова / Natal'ya E. Fedorova <http://orcid.org/0000-0001-8466-7993>

Джамия К. Омарова / Dzhamilya K. Omarova <https://orcid.org/0000-0002-4985-3480>

Алла А. Куц / Alla A. Kushch <http://orcid.org/0000-0002-3396-5533>

Светлана А. Джамалова / Svetlana A. Dzhamalova <http://orcid.org/0000-0002-7215-5453>

Аида М. Халимбекова / Aida M. Khalimbekova <http://orcid.org/0000-0001-7567-4833>

Алина Р. Гусейнова / Alina R. Guseynova <https://orcid.org/0000-0002-6503-176X>