

Глицирризиновая кислота подавляет развитие вируса и инактивирует вирусные частицы

Раффаэлло Помпеи, Орнелла Флоре, Мариа Антоньетта Марчалис, Алессандра Пани и Бернардо Лоддо

Институт микробиологии II, Университет Кальяри, Италия

Скрининговые исследования противовирусного действия растительных препаратов показали, что компонент корней *лакрицы*, который оказался глицирризиновой кислотой, является активным против вирусов. В настоящем документе мы сообщаем, что данный лекарственный препарат подавляет развитие и цитопатологию некоторых неродственных ДНК- и РНК-вирусов, при этом не оказывая воздействие на клеточную активность и способность к репликации. Кроме того, глицирризиновая кислота безвозвратно инактивирует частицы вируса простого герпеса.

Воздействие глицирризиновой кислоты (аммонийная соль, фруктовый концентрат, Букс) на развитие вируса вакцинальной болезни, простого герпеса типа 1, болезни Ньюкасла, везикулярного стоматита (тип Индиана) и полиовирусов типа 1 (все предоставлены Национальным институтом здравоохранения) в культурах анеуплоидных клеток человека HEp2 (Американская коллекция типовых культур, Роквилл), где проходило исследование. Клеточные монослои возрастом двадцать четыре часа (10^7 клеток в образце) были заражены 5 инфекционными дозами на клетку каждого вируса при температуре 20°C в течение 1 ч, промыты 3 раза в сбалансированном солевом растворе Хенкса (ССР) и были инкубированы при температуре 37°C в течение 18 ч в минимально обогащенной среде Игла (МОС) с добавлением 2% сыворотки теленка (pH 7.4). Инфекционный урожай вируса был установлен по способу Дульбекко и Фогта¹, немного модифицированному для вирусов вакцинальной болезни и простого герпеса типа 1². Цитопатические действия были подтверждены путем наблюдения в оптическом микроскопе окрашенных азур-эозином клеток и путем спектрофотометрического измерения количества нейтрального красного красителя, связанного культурами клеток (100 мкг мл^{-1} , 1 ч импульсов в немедикаментозной среде) на глубине 530 нм после солюбилизации в 1% дезоксихолате натрия в ССР (pH 7.4)³.

Как показано в таблице 1, добавление 8 ммоль глицирризиновой кислоты в зараженные культуры клеток вскоре после инкубации при температуре 37°C полностью подавляет как развитие, так и цитопатические действия вирусов вакцинальной болезни, простого герпеса типа 1, болезни Ньюкасла, везикулярного стоматита. Защита культур клеток от вирусного поражения является настолько эффективной, что, несмотря на общую инфекцию, вызванную применяемым вводом вируса, при наблюдении под микроскопом можно обнаружить незначительные отличия между контрольными группами зараженных клеток, подлежащих медикаментозной обработке, и незараженных клеток. Затем обработка (3 ч после заражения) культур клеток с добавлением 8 ммоль глицирризиновой кислоты все еще подавляет репликацию вируса и останавливает процесс цитопатического действия. Глицирризиновая кислота также активно действует на развитие вируса дозой 4 ммоль и 2 ммоль, за исключением дозы 1 ммоль (данные не приведены). С другой стороны, глицирризиновая кислота не действует на полиовирус типа 1.

Обработка глицирризиновой кислотой, которая имела подавляющее действие на развитие вируса, переносилась культурами клеток.

Незараженные клетки, инкубированные при температуре 37°C в течение 36 ч с добавлением 8 ммоль глицирризиновой кислоты, остались без изменений как с

морфологической точки зрения (определено выше), так и касательно их способности к связыванию аминокислот в кислотонерастворимой форме⁴, как установлено 1 ч импульсами ¹⁴C-белкового гидролизата (40 мКи ммоль⁻¹, 0,3 мКи мл⁻¹, Амершам) (таблица 2). Добавление 8 ммоль глицирризиновой кислоты к культурам клеток в возрасте 4 часов, инкубированных в 7% сыворотке теленка МОС Игла, фактически не имело никакого воздействия на рост клеток. Счетные камеры Тома для клеток, подавляемых трипсином (0,25%, Difco), обнаружили 28% уменьшение роста клеток в отношении интактных контрольных групп после 36 ч инкубации при температуре 37°C.

© Macmillan Journals Ltd, 1979

Природа. Издание 281. 25 октября 1979 г.

Таблица 1 Действие глицирризиновой кислоты на развитие вируса и цитопатологию

Развитие вируса и повреждение клеток после инкубации в течение 18 ч при температуре 37°C в:

Введение штамма вируса (5 ИД на клетку)	Немедикаментозная среда			Среда с добавлением 8 ммоль глицирризиновой кислоты:					
	ИД	ЦПД	НК	Непосредственно после заражения			3 ч после заражения		
	ИД	ЦПД	НК	ИД	ЦПД	НК	ИД	ЦПД	НК
Вакцинальная болезнь	6,8 x 10 ⁷	+++	45	2 x 10 ⁴	-	99	3 x 10 ⁴	+-	86
Простой герпес типа 1	3,4 x 10 ⁷	+++	32	< 10 ⁴	-	97	< 10 ⁴	+-	84
Болезнь Ньюкасла	1,3 x 10 ⁷	+++	< 5	6 x 10 ⁴	-	102	9 x 10 ⁴	+-	82
Везикулярный стоматит	1,2 x 10 ⁸	+++	< 5	6 x 10 ⁴	-	96	1,3 x 10 ⁵	+-	78
Полиовирус типа 1	7 x 10 ⁷	+++	< 5	4,6 x 10 ⁷	+++	< 5	5,2 x 10 ⁷	+++	< 5

ИД, инфекционные дозы; ЦПД, цитопатическое действие; +++, полное ЦПД, -, отсутствие ЦПД, установленное при помощи микроскопа; НК, связывание нейтрального красного в % интактных незараженных контрольных групп.

Таблица 2 Действия глицирризиновой кислоты на незараженные культуры клеток

Глицирризиновая кислота в среде	Включение аминокислоты ¹⁴ C* (циклов в минуту)	Количество клеток на мл среды [†]
-	76,705 (74,534-80,212)	7,1 x 10 ⁵ (6,2 x 10 ⁵ - 7,9 x 10 ⁵)
8 ммоль	73,952 (71,528-77,334)	5,2 x 10 ⁵ (4,2 x 10 ⁵ - 6,4 x 10 ⁵)

Числовые показатели являются средними значениями шести расчетов. Диапазон значений указан в скобках.

*Включение аминокислоты ¹⁴C (0,3 мКи мл⁻¹, 1 ч импульсов) было измерено после 35 часов инкубации при температуре 37°C в 2% сыворотке МОС Игла.

[†]Первичный инокулум, 2,5 x 10⁵ клеток мл⁻¹. Расчет был произведен после 36 ч инкубации при температуре 37°C в 7% сыворотке МОС Игла.

В связи с тем, что в антивирусных испытаниях была разрешена глицирризиновая кислота для воздействия на зараженные культуры в течение 18 ч (время, необходимое для развития всех вирусов в интактных контрольных группах), данные сведения указывают, что антивирусное действие данного лекарственного препарата не является опосредованным повреждением клеток.

Кроме подавления развития некоторых вирусов глицирризиновая кислота также осуществляет необратимую инактивацию вируса простого герпеса типа 1. Временное подавление данного вируса приводит к инфективности 10⁵ при инкубации при температуре 37°C с добавлением 8 ммоль глицирризиновой кислоты в течение всего 15 минут. Подобная обработка не инактивирует другие вирусы (по меньшей мере, безвозвратно), даже если продлить инкубацию до 3 ч.

Таблица 3 Инактивирующее действие глицирризиновой кислоты на вирусные частицы		
Штамм вируса	Инкубационная смесь при температуре 37°C	Подтвержденные ИД*
Вакцинальная болезнь	в МОС	5,3 x 10 ⁷
	в 8 ммоль ГК	5,6 x 10 ⁷
Простой герпес типа 1	в МОС	1,2 x 10 ⁷
	в 8 ммоль ГК	1,3 x 10 ²
Болезнь Ньюкасла	в МОС	3,9 x 10 ⁷
	в 8 ммоль ГК	4,2 x 10 ⁷
Везикулярный стоматит	в МОС	4,3 x 10 ⁷
	в 8 ммоль ГК	3,1 x 10 ⁷
Полиовирус типа 1	в МОС	6,1 x 10 ⁷
	в 8 ммоль ГК	3,9 x 10 ⁷

*По способу Дульбекко и Фогта¹ в инкубационных смесях, растворенных в немедикаментозной МОС. 5 x 10⁷ ИД каждого вируса была инкубирована в течение 180 мин, кроме случая заболевания простым герпесом типа 1 в 8 ммоль ГК, в котором инкубация длилась 15 мин. ГК, глицирризиновая кислота.

0028-0836/79/430690-03S01.00

Сведения из текущего исследования привели к появлению предположения, что глицирризиновая кислота взаимодействует с нестойкими вирусными белками как на вирионном этапе, так и позже, когда данные белки будут синтезироваться в клетках хозяина. Однако это рабочая гипотеза, которую еще нужно подтвердить экспериментальным способом.

Данная работа поддерживается путем предоставления пособия Национальным советом исследований Италии, Целевой проект по изучению вирусов, Рим.

Получено 5 июня; принято 10 августа 1979 г.

1. Дульбекко, Р. и Фогт, М. *Журнал экспериментальной медицины* 99, 167 – 182 (1954).
2. Марчалис, М.А. и др. *Опыт* 25, 321 – 322 (1979).
3. Флоре, О. и др. *Опыт* 33, 1155 – 1156 (1977).
4. Ла Колла, П. и др. *Ежегодник Нью-Йоркской академии наук* 284, 294 – 304 (1977).