

СТАТЬИ

УДК 577.3

**ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ТЕЛЛУРСОДЕРЖАЩИХ  
ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ**

<sup>1,4</sup>Адиева А.А., <sup>2</sup>Климова Р.Р., <sup>3</sup>Абакаров Г.М., <sup>4</sup>Меджидова М.Г.,

<sup>4</sup>Джамалова С.А., <sup>1</sup>Омарова Д.К., <sup>4</sup>Меджидов М.А.

<sup>1</sup>Прикаспийский институт биологических ресурсов – обособленное подразделение  
ФГБУН Дагестанского федерального исследовательского центра РАН,  
Махачкала, e-mail: adieva-m@mail.ru;

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

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный технический университет», Махачкала;

<sup>4</sup>ГАОУ ВО «Дагестанский государственный университет народного хозяйства», Махачкала

Впервые были изучены биологические свойства гетероциклических производных теллура. Проведен сравнительный анализ цитотоксических и противовирусных свойств синтезированных производных теллура в модельных клеточных системах инфекций, вызванных вирусом простого герпеса и цитомегаловирусом. При изучении 4 теллурурганических соединений с использованием первичных и перевиваемых культур клеток в различных схемах заражения для каждой изученной биологической модели были выявлены различные пороги концентрации цитотоксичности. Цитотоксические эффекты 24- (острая цитотоксичность – ОЦД<sub>50</sub>) и 72-часового (хроническая цитотоксичность – ЦД<sub>50</sub>) лечения теллуросодержащими веществами показали, что концентрации веществ ЦД<sub>50</sub> и ОЦД<sub>50</sub> 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. Показано, что производные теллура с метоксифенил- и этоксифенилэтенем проявляют вируснейтрализующую активность, предотвращая проникновение вирионов вируса простого герпеса в чувствительные клетки.

**Ключевые слова:** герпесвирусы, культура клеток, производные теллура, противовирусная активность

**BIOLOGICAL PROPERTIES OF TELLURIUM-CONTAINING  
HETEROCYCLIC COMPOUNDS**

<sup>1,4</sup>Adieva A.A., <sup>2</sup>Klimova R.R., <sup>3</sup>Abakarov G.M., <sup>4</sup>Medzhidova M.G.,

<sup>4</sup>Dzhamalova S.A., <sup>1</sup>Omarova D.K., <sup>4</sup>Medzhidov M.A.

<sup>1</sup>Precaspian Institute of Biological Resources of the Daghestan Federal Research Centre  
of the Russian Academy of Sciences, Makhachkala, e-mail: adieva-m@mail.ru;

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

<sup>3</sup>Daghestan State Technical University, Makhachkala;

<sup>4</sup>Daghestan State University of National Economy, Makhachkala

The biological properties of heterocyclic tellurium derivatives were studied for the first time. A comparative analysis of the cytotoxic and antiviral properties of synthesized tellurium derivatives in model cell systems of infections caused by the herpes simplex virus and cytomegalovirus was carried out. When studying 4 organotelluric compounds using primary and transferable cell cultures in different infection schemes, different thresholds of cytotoxicity concentration were revealed for each studied biological model. The cytotoxic effects of 24 – hour (acute cytotoxicity-CD50) and 72 – hour (chronic cytotoxicity-CD50) treatment of telluric substances showed that the concentrations of CD50 and CD50 substances for transformed cells are significantly lower than for primary human cells. A parallel study of the toxicity of these compounds in rats did not reveal acute cytotoxicity in the concentrations that were administered to animals. Further investigation of chronic cytotoxicity *in vivo* (red blood cells and liver cells) showed that it was not caused by non-specific damage to cell membranes, since the hemolytic potential in red blood cells was observed at a significantly higher concentration. It has been shown that tellurium derivatives with methoxyphenyl and ethoxyphenyl ethene exhibit virus neutralizing activity, preventing the penetration of herpes simplex virus virions into sensitive cells.

**Keywords:** herpesviruses, cell culture, tellurium derivatives, antiviral activity

Герпесвирусные инфекции (ГВИ) – широко распространенные патогены в человеческой популяции. По оценкам ВОЗ, в мире вирусом ВПГ1 инфицированы около 3700 млн чел. в возрасте до 50 лет (67% на-

селения) и примерно 417 млн чел. (11%) – ВПГ2. Распространенность ЦМВ-инфекции различается в разных регионах мира и варьирует от 45% до 100% [1, 2]. 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 [3–5]. 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 [6, 7]. 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 представляли 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 [8, 9], однако противовирусные свойства химических производных теллура практически не изучены. На кафедре химии ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный технический университет» синтезирован 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 четырех 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 следующих 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).

Строение синтезированных соединений доказано данными элементного анализа и данными ЯМР-исследований. 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.

**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 ч после внесения различных концентраций гетероциклических соединений теллура. Хроническую токсичность (ЦД<sub>50</sub>) оценивали через 72 ч после внесения соединений. Значения 50% цитотоксической дозы (концентрация, вызывающая

единения 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 (ОЦД<sub>50</sub>), также варьировала, от 5,9 мкг/мл до 316,0 мкг/мл.

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. Данные представлены в таблице.

Цитотоксическое действие 24- и 72-часового лечения теллурсодержащими органическими веществами различных клеточных линий

Вещества	Культура клеток					
	ФЭЧ		Vero		Эритроциты	Клетки печени
	ЦД <sub>50</sub> , мкг/мл	ОЦД <sub>50</sub> , мкг/мл	ЦД <sub>50</sub> , мкг/мл	ОЦД <sub>50</sub> , мкг/мл		
Вещество 1	146,8	147,8	3,5	6,5	> 100 мкг/мл	> 100 мкг/мл
Вещество 2	5,9	7,3	0,7	0,9	> 100 мкг/мл	> 100 мкг/мл
Вещество 3	306,3	577,2	160	180	> 300 мкг/мл	> 100 мкг/мл
Вещество 4	316,0	433,6	153	157	> 300 мкг/мл	> 100 мкг/мл
Доксорубин	0,19	0,24	0,02	0,03	н/и	н/и

гибель 50% клеток в монослое) рассчитывали методом линейной регрессии с использованием пакета документов Microsoft Excel.

**Противовирусную активность соединений** определяли с использованием четырех схем воздействия: профилактическая, которая моделирует профилактическое воздействие – первая схема; микробицидная, моделирует экстренное профилактическое воздействие – вторая схема; лечебная, моделирует терапевтическое действие – третья схема; вирулицидная, характеризует способность соединений нейтрализовать вирус и/или инфекционную активность вируса – четвертая схема. 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.

**Результаты исследования и их обсуждение**

**Цитотоксичность соединений.** При определении хронической цитотоксичности со-

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 ч 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-метилхинолин-2) триметилцианиодид. 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-диметиламинобензо]триметилцианийодид вызывало 50% гибель клеток ФЭЧ на третьи сутки в концентрации 146,8 мкг/мл, для клеток Vero  $IC_{50}$  составил 3,5 мкг/мл. Если сравнить данные по  $IC_{50}$  для ФЭЧ, то этот показатель сходен с аналогичными данными для ганцикловира, эталонного препарата при лечении ЦМВИ. Надо отметить, что концентрации соединений 1 и 2, вызывающие гибель 50% клеток первичной и перевиваемой культур при острой и хронической цитотоксичности практически не отличались.

Наименьшее цитотоксическое действие проявляли соединения 3 и 4-(2-бензотеллуразолил)-2-(4-метоксифенил) этен и (2-бензотеллуразолил)-2-(4-этоксифенил) этен. Так,  $OC_{50}$  для веществ 3 и 4 в культуре клеток Vero были равны 180 мкг/мл и 157 мкг/мл,  $IC_{50}$  – 160 мкг/мл и 153 мкг/мл соответственно. Для фибробластов человека  $OC_{50}$  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 ч обработки ( $IC_{50}$ ) составила более 300 мкг/мл для обоих соединений (таблица).

Цитотоксические эффекты 24- и 72-часового лечения теллурсодержащих веществ, изученные на двух линиях клеток *in vitro* (первичные ФЭЧ – диплоидные фибробласты человека и перевиваемые Vero – клетки почек зеленой мартышки), показали, что они сравниваются с таковыми для доксорубина. Концентрации веществ  $IC_{50}$  и  $OC_{50}$  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-инфекции изучали путем внесения различных концентраций веществ (от 0,1 мкг/мл до 10 мкг/мл) в четырех схемах воздействия, описанных в разде-

ле «Материалы и методы исследования». Анализ значений ИД50 и ХТИ для каждого соединения показал, 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. Определение противовирусных свойств соединений *in vitro* в отношении ЦМВ-инфекции во всех изученных схемах не дало положительного эффекта.

В последние годы возрастает интерес к органическим соединениям теллура и их рассматривают как перспективное направление, так как показано присутствие теллура в биологических жидкостях [10] и были идентифицированы белки в организмах бактерий, дрожжей и грибов, имеющие в своем составе теллуromетионин и теллуроцистеин [11]. В настоящее время имеются данные об их антиоксидантных, антипролиферативных, противовоспалительных и иммуномодулирующих свойствах [12].

Изучение цитотоксичности четырех 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 теллуруорганических соединений требует дальнейшего детального изучения также в связи с исследованиями последних лет [11, 12], показывающими различные механизмы индукции клеточной гибели при различных концентрациях другого гетероциклического соединения – дифенил дителлурида.

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.

#### Список литературы

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. P. 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., Maggiolo F., Marchetti G., Vullo V., d'Arminio Monforte A., ICONA Foundation Study. 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, no. 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. № 1. С. 39–44.
5. Slyker J.A., Guthrie B., Pankau M., Tapia K., Wamalwa D., Benki-Nugent S., E. Ngugi, M. Huang, I. Njuguna, A. Langat, G. John-Stewart, D. Lehman. 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. P. 640. 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. V. 12(12). P. 3514. DOI: 10.3390/cancers12123514.
7. Климова Р.Р., Малиновская В.В., Гусева Т.С., Паршина О.В., Гегия Е.Г., Дегтярева М.В., Солдатова И.Г., Володин Н.Н., Гаджиева З.С., Цибизов А.С., Куш А.А. Влияние герпесвирусных инфекций на уровень провоспалительных цитокинов у недоношенных новорожденных детей // *Вопросы вирусологии*. 2011. № 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., Silke Heilingloh C. 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. Pilar Vázquez-Tato M., Mena-Menéndez A., Xesús Feás, 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(2). P. 3287–3298. DOI: 10.3390/ijms15023287.
10. 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(4). P. 820–832. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2009.00177.x.
11. 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(23). P. 5908. DOI: 10.3390/ijms20235908.
12. 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. P. 2510936. DOI: 10.1155/2019/2510936.