

Глотова Т.И., Никонова А.А., Глотов А.Г.

ПРОТИВОВИРУСНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И ПРЕПАРАТЫ, ЭФФЕКТИВНЫЕ В ОТНОШЕНИИ ВИРУСА ВИРУСНОЙ ДИАРЕИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

ФГБУН «Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий» РАН, Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока, 630501, Новосибирская область, Новосибирский район, пос. Краснообск

Вирус вирусной диареи — болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота (BVDV) принадлежит к роду *Pestivirus*, семейству *Flaviviridae*. Он вызывает многообразные клинические формы инфекции, приводя к значительным экономическим потерям в мясном и молочном животноводстве во всем мире. Кроме того, вирус является контаминантом биологических препаратов (эмбриональная сыворотка, перевиваемые линии культур клеток, вакцины для медицины и ветеринарии, интерфероны, трипсин, биотехнологические препараты, эмбрионы, стволовые клетки и другие) и используется в качестве тестового объекта при отработке методов их деконтаминации. В некоторых странах инструментом контроля инфекций, вызываемых вирусом, является вакцинация, основанная на применении живых и инактивированных вакцин с различной эффективностью. Противовирусные соединения представляют собой потенциальную меру борьбы в случаях недостаточной эффективности вакцин. Их преимущество в борьбе с BVDV-инфекцией заключается в способности обеспечить немедленную защиту животных групп риска в случае вспышки болезни. В настоящем обзоре обобщено современное состояние знаний относительно противовирусных соединений против BVDV. Установлено, что благодаря использованию передовых биомедицинских технологий наметилась тенденция к поиску препаратов, потенциально эффективных для противовирусной терапии BVDV, на что указывают многочисленные исследования новых соединений и противовирусной эффективности известных лекарственных средств, применяющихся в медицине. У вируса, помимо хорошо известных противовирусных мишеней RdRp, IMPDH, NS3, открыт новый — протеин p7, механизм действия на который еще предстоит изучить. Сделан вывод, что потенциал борьбы с BVDV путем использования противовирусных препаратов значителен, но пока еще не реализован. Отсутствие демонстрации эффективности идентифицированных соединений *in vivo* является самым большим препятствием для их коммерческой реализации. Дополнительные исследования должны быть направлены на разработку методов групповой доставки эффективных лекарственных средств.

Ключевые слова: обзор; вирус вирусной диареи — болезни слизистых оболочек; крупный рогатый скот; противовирусные препараты; мишени; ингибиторы.

Для цитирования: Глотова Т.И., Никонова А.А., Глотов А.Г. Противовирусные соединения и препараты, эффективные в отношении вируса вирусной диареи крупного рогатого скота. *Вопросы вирусологии*. 2017; 62(5):204-210.

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-5-204-210>

Glotova T.I., Nikonova A.A., Glotov A.G.

ANTIVIRAL COMPOUNDS AND PREPARATIONS EFFECTIVE AGAINST BOVINE VIRAL DIARRHEA

Siberian Federal Scientific Centre of Agro-Biotechnologies, Krasnoobsk, Novosibirsk region, 630501, Russian Federation

Bovine viral diarrhea virus (BVDV) belongs to the genus *Pestivirus*, family *Flaviviridae*. It causes various clinical forms of infection leading to significant economic losses in beef and dairy industry worldwide. Furthermore, the virus is a contaminant of biological preparations (bovine fetal serum, continuous cell cultures, vaccines for human and veterinary medicine, interferons, trypsin, biotechnological preparations, embryos, stem cells, etc.). It is used as a test object when developing methods of decontamination. In some countries, a tool for monitoring the infection caused by the virus is vaccination based on the use of live and inactivated vaccines with varying efficiency. The antiviral compounds are a potential means of control in case of insufficient efficacy of vaccines. Their advantage for BVDV control is the ability to provide immediate protection for animals at risk in the case of an outbreak of the disease. This review summarizes the current state of knowledge about antiviral compounds against BVDV. It was noted that due to the use of advanced biomedical technologies there is a tendency to search for drugs that might be effective for antiviral therapy of BVDV, as indicated by numerous studies of new compounds and the antiviral efficacy of known drugs used in medical practice. In addition to the well-known antiviral targets for the virus, such as the RdRp, IMPDH, NS3, new targets were discovered, such as protein p7. Its mechanism of action remains to be explored. It can be concluded that there is a great potential for BVDV control through the use of antiviral drugs which has not yet implemented. The biggest obstacle for commercial implementation of identified compounds is the lack of demonstration of their efficacy *in vivo*. Further studies should be performed to develop a method for administering effective drugs to groups of animals.

Key words: review; bovine viral diarrhea virus; cattle; antiviral drugs; antiviral target; inhibitor.

For citation: Glotova T.I., Nikonova A.A., Glotov A.G. Antiviral compounds and preparations effective against bovine viral diarrhea. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2017; 62(5): 204-210. (In Russ.).

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-5-204-210>

For correspondence: Tatyana I. Glotova, Dr. Sci. Biol., Head of laboratory, Siberian Federal Scientific Centre of Agro-Biotechnologies, Krasnoobsk, Novosibirsk region, 630501, Russian Federation. E-mail: t-glotova@mail.ru

Для корреспонденции: Глотова Татьяна Ивановна, д-р биол. наук, зав. лабораторией вирусологии Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий РАН, 630501, Новосибирская обл., Новосибирский район, пос. Краснообск. E-mail: t-glotova@mail.ru

Information about authors:Glotova T.I., [http:// orcid.org/0000-0003-3538-8749](http://orcid.org/0000-0003-3538-8749)Nikonova A.A., <http://orcid.org/0000-0003-4554-1612>; Glotov A.G., [http:// orcid.org/0000-0002-2006-0196](http://orcid.org/0000-0002-2006-0196)**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 23 March 2017

Accepted 25 April 2017

Введение

Вирус вирусной диареи — болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота (BVDV) принадлежит к роду *Pestivirus*, семейству *Flaviviridae*. Он представлен двумя различными генетическими типами: BVDV1 и BVDV2, а также двумя фенотипами: цитопатогенным и нецитопатогенным [1]. По данным некоторых исследователей, насчитывается не менее 21 субтипа BVDV1 [2—3] и 4 субтипа BVDV 2 (2a ... 2d) [4].

Вирус вызывает многообразные клинические формы инфекции, приводя к значительным экономическим потерям в мясном и молочном животноводстве во всем мире. BVDV-инфекция сопровождается патологией воспроизводства, болезнями респираторного тракта, дисфункцией иммунной системы, изнуряющими хроническими заболеваниями с предрасположенностью к развитию вторичной бактериальной и другой вирусной инфекции. Отличительной чертой пестивирусов является их способность преодолевать плацентарный барьер и в зависимости от сроков стельности инфицировать плод, приводя к развитию персистентной инфекции (ПИ) [5]. Животные с ПИ выделяют инфекционный вирус на протяжении всей жизни, что создает проблему в борьбе с заболеванием. Хотя острая форма инфекции встречается довольно часто, нередко она сопровождается лишь слабыми клиническими признаками, что способствует быстрому распространению вируса в стаде [6].

В некоторых странах инструментом контроля инфекций, вызываемых BVDV, является вакцинация, основанная на применении живых и инактивированных вакцин с различной эффективностью, в других — стратегия сдерживания, включающая карантин, выявление и убой ПИ-животных или комбинированные стратегии, основанные на элементах двух первых [7]. Чтобы быть эффективной, вакцинация против BVDV должна защищать от вирусемии с целью предотвращения диссеминации вируса среди восприимчивых животных, блокировать инфекцию клеток-мишеней репродуктивной и лимфатической систем для препятствия инфицированию плода и иммуносупрессии соответственно. Наличие генетического разнообразия BVDV осложняет разработку эффективных вакцин [8].

Кроме того, вирус является контаминантом биологических препаратов (эмбриональная сыворотка, перевиваемые линии культур клеток, вакцины для медицины и ветеринарии, интерфероны, трипсин, биотехнологические препараты, эмбрионы, стволовые клетки и другие) и используется в качестве тестового объекта при отработке методик их деконтаминации. Учитывая высокую гомологию с другим представителем семейства *Flaviviridae* вирусом гепатита С, цитопатогенные штаммы BVDV используют в качестве суррогатной модели при изучении противовирусной активности препаратов относительно данного заболевания человека [9—12].

Противовирусные соединения представляют собой потенциальную меру борьбы в тех случаях, когда вак-

цинация оказывается недостаточно эффективной. Их преимущество в борьбе с BVDV-инфекцией заключается в способности обеспечить немедленную защиту животных групп риска при вспышке болезни.

Применение противовирусных препаратов может снизить экономические потери, связанные с контаминацией биологических препаратов, использованием ПИ-животных для племенных целей, ограничением в международной торговле животными, а также может быть полезно в качестве дополнения к специфической профилактике болезни в стационарно-неблагополучных хозяйствах.

Необходимость дальнейшего развития противовирусной химиотерапии BVDV-инфекции весьма актуальна и имеет большое научное и практическое значение.

В настоящем обзоре обобщено современное состояние знаний относительно антивирусных соединений против BVDV.

Группу противовирусных препаратов составляют лекарственные средства, оказывающие прямое или косвенное воздействие на вирусы и способствующие частичной или полной элиминации их из организма.

Несмотря на постоянно проводимый во всем мире поиск новых противовирусных препаратов, их количество ограничено. В значительной степени это объясняется особенностями паразитизма вирусов, поражающих геном клетки. С этим связано важное требование к противовирусным препаратам: они должны либо непосредственно воздействовать на сам вирус, не повреждая клетки, в которых он паразитирует, либо обладать способностью к активации выработки эндогенного интерферона, направленного на недопущение распространения вируса в организме.

К соединениям, оказывающим прямое действие на вирус в различных стадиях его жизненного цикла, относятся только химиопрепараты.

Все этапы жизненного цикла вируса представляют собой потенциальные мишени для противовирусного действия. В настоящее время, как правило, в качестве антивирусных препаратов используют лекарственные средства, ингибирующие ферменты, которые участвуют в репликации или экспрессии генома вируса. Однако недавние успехи, включая определение структуры, свойств и функций капсида и вириона, а также событий, связанных с взаимодействием между компонентами вирусной частицы или между ними и молекулами клеток-хозяев, открыли новые пути для разработки лекарственных средств, действующих непосредственно на вирусную частицу [13].

В современной вирусологии с точки зрения действия на определенные мишени известны следующие препараты: средства, блокирующие внутриклеточные процессы, необходимые для синтеза вируса; ингибиторы вирусной сборки, созревания, раздевания или выхода вируса из клетки; препараты, препятствующие проникновению вируса в клетку. В обзоре приведены сведения о соединениях, активных в отношении BVDV (см. таблицу).

Сведения о противовирусных препаратах и химических соединениях, тестированных в отношении BVDV

Природа соединений	Возможный механизм действия	Исследованы	
		<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>
Азотистые гетероциклические соединения [14], соединения ароматических катионов [15], кислородсодержащие гетероциклические соединения [14, 16—20], нуклеозидные соединения [24—27], азосоединения [28—31]		Исследованы	Не исследованы
Соединение класса ароматических катионов DB772 [15, 32—36]	Ингибирование репликации генома	"	Исследованы
ИФН [66—69], индукторы ИФН [71]		"	Не исследованы
Форзитозид А [72]		"	"
Нуклеозидные аналоги [37, 38], производные микофеноловой кислоты [39]	Ингибирование инозинмонофосфатдегидрогеназы	"	"
Малые интерферирующие РНК [40, 41], плазмиды, экспрессирующие shRNA [42, 43]	Подавление функциональной активности генов		
Борная кислота и ее аналоги [47, 48], пиримидиновые нуклеозиды [49]	Ингибирование сериновой протеазы		
Иминосакхара и их производные [51—55]	Нарушение фолдинга гликопротеинов вируса		
Амантадин [61], соединение ВIT225, производное дифенилметана	Препятствие проникновению вируса в клетку		
соединение SH-595A [63], каприлат [64]	Ингибирование адсорбции вируса на клетку		
Бактериальные культуры <i>Bacillus</i> spp. B555, B584 и B616 [64]			

Ингибиторы репликации генома BVDV

Действие на NS5B. NS5B, или РНК-зависимая РНК-полимераза (RdRp), играет ключевую роль в синтезе и репликации вирусной РНК. Большинство известных противовирусных соединений, активных в отношении BVDV, действуют на RdRp вируса.

Синтезирован и изучен в условиях *in vitro* ряд азотистых гетероциклических соединений, оказывающих ингибирующее действие на репликацию BVDV за счет внесения единичных мутаций в RdRp вируса. Среди них производные акридина, бензимидазола, карболина, пиридина, хинолина, тиазепина, пиримидинамина (LZ37), триазиноиндола, алинина, замещенные производные пиримидина. Соединения класса тиазол мочевины и производные циклических мочевины [14] также ингибировали RdRp. Подавление репликации BVDV вызывали соединения ароматических катионов [15]. Предполагают, что противовирусный эффект данных молекул связан с подавлением RdRp вируса, однако точный механизм их действия пока не установлен.

Способность ингибировать RdRp вируса была открыта у некоторых кислородсодержащих гетероциклических соединений [14, 16—20]. Однако при их использовании происходила быстрая селекция резистентных вариантов BVDV [21—23]. Антивирусная активность установлена также у нуклеозидных соединений, которые действуют как антиметаболиты на специфические ферментные системы вирусной частицы, в том числе на RdRp [24—27].

Некоторые исследованные азосоединения, тиосемикарбазоны и 2-фенилбензимидазол также подавляли репликацию BVDV в условиях *in vitro*, воздействуя на RdRp [28—31].

Из соединений, ингибирующих RdRp *in vitro*, лишь некоторые испытывали *in vivo*. Так, соединение DB772 из класса ароматических катионов испытано *in vivo* на ПИ у телят. Его применение привело к снижению вирусемии, но не полностью освобождало животных от персистирующего вируса [32]. Внутривенное введение DB772 перед интраназальным заражением вирулентным штаммом вируса успешно предотвращало инфицирование серонегативных телят.

Однако эти животные становились восприимчивыми к BVDV после снижения защитного уровня концентрации соединения в организме [33]. Кроме того, установлено, что данное соединение обладает выраженной почечной токсичностью [34]. Несмотря на это, авторы считают, что DB772 может найти другое применение в борьбе с болезнью. Известно, что ароматические катионные соединения ранее использовали для устранения BVDV-инфекции культур клеток и эмбрионов [15, 35], а эмбрионы крупного рогатого скота, культивируемые с этим соединением, были успешно имплантированы реципиентам с последующим рождением здоровых телят с нормальной репродуктивной способностью [36].

Ингибиторы IMPDH. Инозинмонофосфат-дегидрогеназа (IMPDH) является ферментом, ограничивающим образование гуаниновых нуклеотидов, что приводит к выраженному снижению уровня внутриклеточного гуанозинтрифосфата и сопровождается подавлением синтеза вирусной РНК и вирусспецифических белков. Таким образом, ингибиторы IMPDH могут давать антипролиферативный и противовирусный эффект.

Существуют 2 пути ингибирования IMPDH: через аналоги субстрата, такие как инозинмонофосфат, или через аналоги кофактора, например никотинамидадениндинуклеотид [27].

По типу субстрата действуют некоторые нуклеозидные аналоги, такие как рибавирин [37] и мизорбин [38]. По всей видимости, кроме ингибирования IMPDH, они используют и другие механизмы воздействия на вирус. По типу кофактора действуют производные микофеноловой кислоты, обладающие антивирусной активностью в отношении BVDV [39].

Препарат рибавирин, применяемый в медицине для лечения гепатита С, ингибирует репликацию новых вирусных частиц, обеспечивая снижение вирусной нагрузки, селективно подавляет синтез вирусной РНК, не влияя на синтез РНК в нормально функционирующих клетках. Для ветеринарии разработан комплексный препарат, включающий рибавирин и антибактериальные препараты: триметоприм и энрофлоксацин. Он рекомендован

для лечения смешанных вирусно-бактериальных инфекций молодняка сельскохозяйственных животных. Однако препарат токсичен, дает выраженный тератогенный эффект и не может использоваться при лечении репродуктивных животных. Нет экспериментальных данных о его эффективности. В медицине прошел клинические испытания препарат липосомального рибавирина с пониженной токсичностью и более высокой терапевтической эффективностью, чем рибавирин. Однако его применение у животных ограничено высокой стоимостью.

Препараты, влияющие на экспрессию гена

Применение методов современной молекулярной биологии позволяет разработать препараты, способные подавлять функциональную активность любого из известных генов. Антисмысловая терапия основана на остановке синтеза специфических белков при помощи коротких нуклеотидных последовательностей — антисмысловых олигонуклеотидов, комплементарных матричной РНК. Доставка олигонуклеотидов в клетки при этом может осуществляться методами РНК-интерференции.

В условиях *in vitro* установлена умеренная противовирусная активность в отношении BVDV1 сконструированных синтетических малых интерферирующих РНК (миРНК) с активностью, направленной на белки оболочки вируса (Erns, E1 и E2) и высококонсервативную область генома вириона 5'-нетранслируемый регион (5'UTR) [40]. Выраженная противовирусная активность *in vitro* выявлена у миРНК (С, NS4В и NS5А), направленных на 5'UTR и белки BVDV. Кроме того, авторы исследования обнаружили противовирусное действие у коротких РНК, образующих BVDV-специфические шпильки (shRNA) [41]. Позже были созданы плазмиды, экспрессирующие shRNA, направленные на консервативные области генома вируса, подавляющие репликацию BVDV типа 1, субтипов а, b и с [42]. Их удалось встроить в геном овцы и получить культуру эпителиальных клеток почки трансгенных животных с устойчивой shRNA, устойчивую к заражению различными субтипами BVDV1. Можно предположить, что РНК-интерференция позволит в перспективе создать трансгенных животных с повышенной устойчивостью к BVDV [43].

Несмотря на возросший в последние годы интерес к РНК-терапии, исследователи сталкиваются с проблемой неспецифического действия антисмысловых олигонуклеотидов на ткани организма, сопровождающегося побочными эффектами [44].

В литературе описан ряд соединений, ингибирующих репликацию BVDV, механизм действия которых еще предстоит определить [45, 46].

Ингибиторы созревания и вирусной сборки

Действие на NS3. Белок NS3 играет большую роль в жизненном цикле всех представителей семейства Flaviviridae, проявляя протеазную, нуклеозидтрифосфатазную и хеликазную ферментативную активность.

Сериновая протеиназа разрезает полипротеин вируса, в результате чего образуются зрелые белки NS4А, NS4В, NS5А и NS5В. Ингибитором сериновой протеиназы является борная кислота [47]. Получен ее аналог DPC-AB9144-00, ингибирующий белок NS3 BVDV [48].

Известно, что пиримидиновые нуклеозиды проявляют высокую субстратную активность по отношению к NTP-азе/хеликазе вирусов семейства Flaviviridae. Описано соединение из этой группы, эффективно подавляю-

щее репликацию BVDV [49]. Противовирусная активность, основанная на воздействии на NS3, установлена у известного антигельминтного препарата ивермектин в отношении некоторых вирусов этого семейства: денге, лихорадки Западного Нила, желтой лихорадки. Однако данных о его активности в отношении BVDV нет [50].

Несмотря на успешные опыты в условиях *in vitro*, описанные препараты не были испытаны *in vivo*.

Нарушение фолдинга гликопротеинов вируса

Одними из наиболее перспективных лекарственных препаратов могут стать иминосахара и их производные. Они ингибируют глюкозидазы эндоплазматической сети, приводя к нарушению фолдинга гликопротеинов вируса [51]. Большое количество исследований *in vitro* подтверждает выраженную противовирусную активность иминосахаров в отношении BVDV [52—55], но нет данных об экспериментах *in vivo* с этими соединениями.

Препятствие проникновению вируса в клетку

Проникновение вириона в клетку — необходимый процесс цикла размножения всех вирусов, поскольку они не способны к самостоятельной репликации. Стратегия создания ингибитора, препятствующего проникновению вируса в клетку, очень перспективна. Она может предотвратить различные негативные воздействия на клеточный цикл и оставить вирион уязвимым для иммунной системы хозяина.

Действие на гликопротеины оболочки вируса. Белки оболочки (Е) вирусов семейства Flaviviridae играют ключевую роль в процессах сборки, морфогенеза и инфицирования клеток. Получено несколько соединений, активных в отношении вируса денге [56, 57], но сведений о подобных работах в отношении BVDV не найдено.

Действие на полипептид р7. Полипептид р7, образуемый при процессинге белка Е2, относится к виropоринам. Это небольшие и обычно гидрофобные многофункциональные белки вирусов. Они способны формировать олигомерные ионные каналы или поры в мембране клетки-хозяина, что делает ее проницаемой и облегчает выход вирионов из клетки. Нарушение функционирования р7 приводит к потере инфекционности вируса [58, 59]. Установлено, что функции р7 протонного канала могут быть заблокированы небольшими молекулами-ингибиторами. Это приводит к блокаде воспроизводства вирусных частиц [60]. Подтверждена функция белка р7 вируса гепатита С человека как ионного канала в искусственном липидном бислое. Эксперименты *in vitro* продемонстрировали возможность прекращения работы канала, образованного белком р7, при помощи амантадина [61]. Недавно описано низкомолекулярное соединение BIT225, ингибирующее р7 у BVDV и вируса гепатита С [62].

Таким образом, соединения, подобные BIT225, могут стать новыми препаратами, эффективными в борьбе с BVDV.

Ингибиторы проникновения вируса в клетку с неустановленным механизмом действия. При исследовании производных дифенилметана установлено, что некоторые из них влияют на репликацию BVDV за счет ингибирования синтеза РНК. Однако противовирусное действие одного из этих соединений, SH-595А, не удалось объяснить только данным эффектом. Показано, что оно влияет на проникновение вируса в клетку, но механизм этого действия неясен [63]. Противовирусный эффект в отношении BVDV обнаружен у трех (B555, B584 и B616)

бактериальных культур *Bacillus* spp., изолированных из тканей морской губки *Petromica citrina*. Он основан на ингибировании адсорбции вируса на клетки [64].

Установлено вируцидное действие капсилата в отношении BVDV, механизм которого, возможно, обусловлен способностью к проникновению в оболочку вируса и ее разрушению, что создает препятствия для слияния капсида вируса с мембраной клетки [65].

Интерфероны

Интерфероны (ИФН) представляют собой семейство цитокинов с широким спектром биологической активности, в том числе ингибирования репликации вируса, противоопухолевой активности, индукции главного комплекса гистосовместимости антигенов класса I и II, а также Fc-рецепторов [66]. Проведены исследования, свидетельствующие об активности экзогенных ИФН в отношении BVDV *in vitro* [67]. Эксперименты по изучению антивирусной активности ИФН *in vivo* не были достаточно успешными. Так, подкожное введение рекомбинантного ИФН крупного рогатого скота (boIFN) в дозе 10^6 ед/кг 5 раз в неделю в течение 2 нед приводило лишь к незначительному снижению вирусной нагрузки ПИ BVDV у животных [68]. По данным других авторов, boIFN подавляет активность вируса *in vitro* и снижает степень виремии у животных. Введение рекомбинантного человеческого ИФН- $\alpha 2a$ телятам с ПИ нецитопатогенным BVDV1 сопровождалось выработкой сывороточного ИФН в течение периода лечения и его сохранением до 2 нед после прекращения курса [69].

Производство альфа- и бета-ИФН в ответ на действие вирусной РНК (dsRNA) является первой линией обороны против вирусных инфекций. Установлено, что Erns-гликопротеин BVDV может действовать как ингибитор dsRNA-индуцированной реакции клеток [70].

Таким образом, хотя исследования *in vitro* продемонстрировали хорошие результаты, низкая эффективность *in vivo* и необходимость длительных курсов лечения ограничивают практическое применение ИФН.

Индукторы ИФН и иммуномодуляторы

Индукторы ИФН — группа разнообразных по составу, высоко- и низкомолекулярных природных и синтетических соединений, способных вызывать в организме образование эндогенного ИФН. Иммуномодуляторы — это группа препаратов, обладающих способностью воздействовать на различные звенья системы иммунитета. Индукторы ИФН и иммуномодуляторы широко применяют для профилактики и лечения вирусных заболеваний животных, особенно препараты растительного происхождения, имеющие низкую себестоимость.

Препарат, разработанный на основе РНК пекарских дрожжей, являющийся индуктором ИФН, проявил выраженное противовирусное действие *in vitro* за счет подавления репликации вируса. Аналогичные результаты получены в опытах на телятах, естественно инфицированных BVDV. Препарат в дозе 0,5 мг/кг при введении телятам с субклинической формой BVDV-инфекции привел к сокращению сроков выделения вируса с носовыми секретами, нормализации температуры тела и гематологических показателей [71].

Изучено противовирусное действие препарата форзитозид А (FTA) — полифенольного вещества, получаемого из плодов форзиции (*Forsythia suspensa*), которые используют в китайской народной медицине в качестве иммуностимулятора и антиоксиданта. Установлено, что

FTA защищает мононуклеарные клетки периферической крови от инфекции BVDV, активирует Т-клеточный иммунный ответ, ингибирует репликацию вируса и подавляет его цитопатическое действие [72].

Заключение

Благодаря использованию передовых биомедицинских технологий наметилась тенденция к поиску препаратов, потенциально эффективных для противовирусной терапии вирусной диареи крупного рогатого скота. На это указывают многочисленные исследования новых соединений и противовирусной эффективности известных лекарственных препаратов для медицины. У вируса, помимо хорошо известных противовирусных мишеней RdRp, IMPDH, NS3, открыты новые, например протеин p7, механизм действия на который еще предстоит изучить. Многие соединения показали высокую эффективность *in vitro*, но они либо не тестировались, либо не проявляли активность *in vivo*. Помимо специфических химиопрепаратов, перспективы для дальнейшего применения в ветеринарии имеют индукторы ИФН и иммуномодуляторы, получаемые из природных источников.

Особое значение имеет определение места для противовирусной терапии ПИ высокоплеменных животных. В настоящее время наиболее эффективными методами являются своевременное их выявление и выбраковка, так как лечение достаточно сложно и экономически невыгодно.

При транзитной BVDV-инфекции экономические и трудовые затраты на противовирусную терапию будет трудно оправдать в связи с низкой смертностью и часто слабыми клиническими признаками инфекции. В таких случаях выгоднее осуществлять профилактическую вакцинацию, а не лечение животных.

Тем не менее стратегическое использование противовирусных препаратов в стационарно неблагополучных очагах инфекции может предприниматься для защиты от инфицирования и сохранения ценного племенного скота, а также редких зоологических коллекций и видов, находящихся под угрозой исчезновения. В настоящее время получены доказательства BVDV-инфекции у представителей более 50 семейств отряда парнокопытных, включающих несколько редких и исчезающих видов [73]. До сих пор не разработаны методы для их защиты от этой инфекции.

Применение противовирусных препаратов с целью профилактики в ветеринарной медицине пока находится в стадии разработки, но имеет большие перспективы. Их преимущество заключается в обеспечении мгновенной защиты животных от инфицирования. Одним из способов групповой профилактики вирусной диареи у продуктивных и племенных животных могут быть кормовые добавки, содержащие противовирусные препараты или индукторы ИФН. Это особенно необходимо в тех случаях, когда происходит смешивание животных с неизвестным иммунным статусом в молочных и мясных стадах, особенно поступающих по импорту.

Несмотря на проводимую вакцинацию телят, отсрочка иммунной защиты обеспечивает временной промежуток для воздействия вируса, когда возможно их инфицирование и заболевание. В таком случае противовирусные препараты могли бы обеспечить адекватную защиту до формирования поствакцинального иммунитета.

Особое значение в трансконтинентальных масштабах приобретает поиск противовирусных препаратов

и способов их применения для деконтаминации биологических препаратов, полученных на основе перевиваемых культур клеток, инфицированных вирусом, а также контаминированной эмбриональной сыворотки. Клеточные культуры нашли широкое применение во многих областях, таких как искусственное оплодотворение, лабораторная диагностика, производство биофармацевтических препаратов и вакцин, исследования в области рака, скрининг и разработка лекарственных препаратов, генная и клеточная терапия, тканевая инженерия, а также испытания на токсичность. Поэтому в настоящее время особую актуальность приобретают исследования по деконтаминации эмбриональных сывороток и культур клеток, используемых в стремительно развивающейся отрасли биологической промышленности.

Таким образом, потенциал борьбы с BVDV путем использования противовирусных препаратов весьма значителен, но пока не реализован. Отсутствие демонстрации эффективности идентифицированных соединений *in vivo* является самым большим препятствием для их коммерческой реализации. Дополнительные исследования должны быть направлены на разработку методов групповой доставки эффективных лекарственных средств. Наличие и применение таких соединений будут неопределимыми в борьбе со вспышками заболеваний, обеспечивая немедленную направленную защиту от вируса.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1—5, 7—10, 12—48, 50—65, 67—69, 71, 72 см. REFERENCES)

- King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., eds. *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Academic Press; 2011.
- Giammaroli M., Ceglie L., Rossi E., Bazzucchi M., Casciari C., Petrini S. et al. Increased genetic diversity of BVDV-1: recent findings and implications thereof. *Virus Genes*. 2015; 50(1): 147—51.
- Factor C., Yus E., Eiras C., Sanjuan M.L., Cerviño M., Arnaiz I. et al. Genetic diversity of bovine viral diarrhoea viruses from the Galicia region of Spain. *Vet. Rec. Open*. 2016, 3(1): e000196.
- Deng M., Ji S., Fei W., Raza S., He C., Chen Y. et al. Prevalence study and genetic typing of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in four bovine species in China. *PLoS ONE*. 10(4): e0121718.
- Hessman B.E., Sjeklocha D.B., Fulton R.W., Ridpath J.F., Johnson B.J., McElroy D.R. Acute bovine viral diarrhoea associated with extensive mucosal lesions, high morbidity, and mortality in a commercial feedlot. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2012; 24(2): 397—4.
- Glotov A.G., Glotova T.I., Semenova O.V., Koteneva S.V., Nikonova A.A. The bovine viral diarrhoea indicators in the cattle on the big dairy farms in Siberia. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya*. 2016; 51(4): 483—90. (in Russian)
- Moennig V., Becher P. Pestivirus control programs: how far have we come and where are we going? *Anim. Health Res. Rev.* 2015; 16(1): 83—7.
- Kalaycioglu A.T. Bovine viral diarrhoea virus (BVDV) diversity and vaccination. A review. *Vet. Q.* 2007; 29(2): 60—7.
- Pinheiro de Oliveira T.F., Fonseca A.A. Jr, Camargos M.F., de Oliveira A.M., Pinto Cottorello A.C., Souza Ados R. et al. Detection of contaminants in cell cultures, sera and trypsin. *Biologicals*. 2013; 41(6): 1—8.
- Buckwold V.E., Beer B.E., Donis R.O. Bovine viral diarrhoea virus as a surrogate model of hepatitis C virus for the evaluation of antiviral agents. *Antiviral Res.* 2003; 60(1): 1—15.
- Uryvaev L.V., Ionova K.S., Dedova A.V., Dedova L.V., Selivanova T.K., Prasyuk N.A. et al. Analysis of the cell tissue culture contamination with the bovine viral diarrhoea virus and mycoplasmas. *Voprosy virusologii*. 2012; (5): 15—21. (in Russian)
- Uryvaev A.V., Dedova L.V., Dedova K.S., Ionova K.S., Parasjuk N.A., Selivanova T.K. et al. Contamination of cell cultures with bovine viral diarrhoea virus (BVDV). *Bull. Exp. Biol. Med.* 2012; 153(1): 77—81.
- Menéndez-Arias L., Gago F. Antiviral agents: structural basis of action and rational design. *Subcell. Biochem.* 2013; 68: 599—30.
- Newcomer B.W., Givens M.D. Approved and experimental countermeasures against pestiviral diseases: Bovine viral diarrhoea, classical swine fever and border disease. *Antiviral Res.* 2013; 100(1): 133—50.
- Givens M.D., Dykstra C.C., Brock K.V., Stringfellow D.A., Kumar A., Stephens C.E. et al. Detection of inhibition of bovine viral diarrhoea virus by aromatic cationic molecules. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003; 47(7): 2223—30.
- Buckwold V.E., Wilson R.J., Nalca A., Beer B.B., Voss T.G., Turpin J.A. et al. Antiviral activity of hop constituents against a series of DNA and RNA viruses. *Antiviral Res.* 2004; 61(1): 57—2.
- Mazzei M., Nieddu E., Miele M., Balbi A., Ferrone M., Fermeglia M. et al. Activity of Mannich bases of 7-hydroxycoumarin against Flaviviridae. *Bioorg. Med. Chem.* 2008; 16(5): 2591—605.
- Giampieri M., Balbi A., Mazzei M., La Colla P., Ibba C., Loddo R. Antiviral activity of indole derivatives. *Antiviral Res.* 2009; 83(2): 179—85.
- Zhang N., Liu Z., Han Q., Chen J., Lou S., Qiu J. et al. Inhibition of bovine viral diarrhoea virus in vitro by xanthohumol: comparisons with ribavirin and interferon-alpha and implications for the development of anti-hepatitis C virus agents. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2009; 38(4): 332—40.
- Ibrahim M.M., Mazzei M., Delogu I., Szabó R., Sanna G., Loddo R. Activity of bis (7-hydroxycoumarin) Mannich bases against bovine viral diarrhoea virus. *Antiviral Res.* 2016; 134: 153—60.
- Chezal J.M., Paeshuysse J., Gaumet V., Canitrot D., Maisoniaux A., Lartigues C. et al. Synthesis and antiviral activity of an imidazo [1,2-a] pyrolo [2,3-c] pyridine series against the bovine viral diarrhoea virus. *Eur. J. Med. Chem.* 2010; 45(5): 2044—7.
- Paeshuysse J., Letellier C., Froeyen M., Dutartre H., Vrancken R., Canard B. et al. A pyrazolotriazolopyrimidinamine inhibitor of bovine viral diarrhoea virus replication that targets the viral RNA-dependent RNA polymerase. *Antiviral Res.* 2009; 82(3): 141—7.
- Baginski S.G., Pevear D.C., Seipel M., Sun S.C., Benetatos C.A., Chunduru S.K. et al. Mechanism of action of a pestivirus antiviral compound. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2000; 97(14): 7981—6.
- Manfredini S., Angusti A., Veronese A.C., Durini E., Vertuani S., Nalin F. et al. Hindered nucleoside analogs as anti-flaviviridae agents. *Pure Appl. Chem.* 2004; 76: 1007—5.
- Pierra C., Amador A., Badaroux E., Storer R., Gosselin G. Synthesis of 2'-C-methylcytidine and 2'-C-methyluridine derivatives modified in the 3'-position as potential antiviral agents. *Coll. Czech. Chem. Comm.* 2006; 71: 991—1010.
- Angusti A., Manfredini S., Durini E., Ciliberti N., Vertuani S., Solari N. et al. Design, synthesis and anti-flaviviridae activity of N(6), 5',3'-O- and 5',2'-O-substituted adenine nucleoside analogs. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. 2008; 56(4): 423—32.
- Finkielstein L.M., Moltrasio G.Y., Caputto M.E., Castro E.F., Cavallaro L.V., Mogliani A.G. What is known about the antiviral agents active against bovine viral diarrhoea virus (BVDV)? *Curr. Med. Chem.* 2010; 17(26): 2933—55.
- Giliberti G., Ibba C., Marongiu E., Loddo R., Tonelli M., Boido V. et al. Synergistic experimental/computational studies on arylazoamine derivatives that target the bovine viral diarrhoea virus RNA-dependent RNA polymerase. *Bioorg. Med. Chem.* 2010; 18(16): 6055—8.

REFERENCES

29. Finkielsztein L.M., Castro E.F., Fabián L.E., Moltrasio G.Y., Campos R.H., Cavallaro L.V. et al. New 1-indanone thiosemicarbazone derivatives active against BVDV. *Eur. J. Med. Chem.* 2008; 43(8): 1767—3.
30. Castro E.F., Fabian L.E., Caputto M.E., Gagey D., Finkielsztein L.M., Moltrasio G.Y. et al. Inhibition of bovine viral diarrhoea virus RNA synthesis by thiosemicarbazone derived from 5,6-dimethoxy-1-indanone. *J. Virol.* 2011; 85: 5436—5.
31. Tonelli M., Simone M., Tasso B., Novelli F., Boido V., Sparatore F. et al. Antiviral activity of benzimidazole derivatives. II. Antiviral activity of 2 phenylbenzimidazole derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* 2010; 18(8): 2937—3.
32. Newcomer B.W., Marley M.S., Galik P.K., Walz P.H., Zhang Y., Riddell K.P. et al. Antiviral treatment of calves persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *Antivir. Chem. Chemother.* 2012; 22(4): 171—9.
33. Newcomer B.W., Marley M.S., Galik P.K., Zhang Y., Riddell K.P., Boykin D.W. et al. Effect of treatment with a cationic antiviral compound on acute infection with bovine viral diarrhoea virus. *Can. J. Vet. Res.* 2013; 77(3): 170—6.
34. Newcomer B.W., Neill J.D., Marley M.S., Ridpath J.F., Givens M.D. Mutations induced in the NS5B gene of bovine viral diarrhoea virus by antiviral treatment convey resistance to the compound. *Virus Res.* 2013; 96(1—2): 127—9.
35. Givens M.D., Stringfellow D.A., Riddell K.P., Galik P.K., Carson R.L., Riddell M.G. et al. Normal calves produced after transfer of in vitro fertilized embryos cultured with an antiviral compound. *Theor. Biogenology.* 2006; 65(2): 344—5.
36. Givens M.D., Marley M.S., Riddell K.P., Galik P.K., Stringfellow D.A. Normal reproductive capacity of heifers that originated from in vitro fertilized embryos cultured with an antiviral compound. *Anim. Reprod. Sci.* 2009; 113(1—4): 283—6.
37. Escuret V., Parvaz P., Hantz O., Petit M.A., Trepo C., Zoulim F. Study of the antiviral mechanism of action of ribavirin in the bovine viral diarrhoea virus model. *Gastroenterol. Clin. Biol.* 2002; 26(6—7): 584—90. (in French)
38. Yanagida K., Baba C., Baba M. Inhibition of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) by mizoribine: synergistic effect of combination with interferon-alpha. *Antiviral Res.* 2004; 64(3): 195—201.
39. Stuyver L.J., Lostia S., Patterson S.E., Clark J.L., Watanabe K.A., Otto M.J. et al. Inhibitors of the IMPDH enzyme as potential anti-bovine viral diarrhoea virus agents. *Antivir. Chem. Chemother.* 2002; 13(6): 345—52.
40. Mishra N., Rajukumar K., Kalaiyarasu S., Behera S.P., Nema R.K., Dubey S.C. Small interfering RNAs targeting viral structural envelope protein genes and the 5'-UTR inhibit replication of bovine viral diarrhoea virus in MDBK cells. *Acta Virol.* 2011; 55(3): 279—82.
41. Lambeth L.S., Moore R.J., Muralitharan M.S., Doran T.J. Suppression of bovine viral diarrhoea virus replication by small interfering RNA and short hairpin RNA-mediated RNA interference. *Vet. Microbiol.* 2007; 119(2-4): 132—43.
42. Ni W., Hu S., Qiao J., Yu Y., Wang D., Tong Q. et al. Suppression of bovine viral diarrhoea virus replication by single and dual short hairpin RNA-mediated RNA interference. *Res. Vet. Sci.* 2012; 93(1): 544—8.
43. Ni W., Qiao J., Ma Q., Wang J., Wang D., Zhao X. et al. Development of sheep kidney cells with increased resistance to different subgenotypes of BVDV-1 by RNA interference. *J. Virol. Methods.* 2015; 218: 66—70.
44. Chery J. RNA therapeutics: RNAi and antisense mechanisms and clinical applications. *Postdoc J.* 2016; 4(7): 35—50.
45. Fischer M.A., Smith J.L., Shum D., Stein D.A., Parkins C., Bhinder B. et al. Flaviviruses are sensitive to inhibition of thymidine synthesis. *J. Virol.* 2013; 87(17): 9411—9.
46. Hoover S., Striker R. Thiopurines inhibit bovine viral diarrhoea virus production in a thio purine methyltransferase-dependent manner. *J. Gen. Virol.* 2008; 89(Pt. 4): 1000—9.
47. Koehler K.A., Lienhard G.E. 2-phenylethylboronic acid, a possible transition-state analog for chymotrypsin. *Biochemistry.* 1971; 10(13): 2477—3.
48. Bukhtiyarova M., Rizzo C.J., Kettner C.A., Korant B.D., Scarnati H.T., King R.W. Inhibition of the bovine viral diarrhoea virus NS3 serine protease by a boron-modified peptidyl mimetic of its natural substrate. *Antivir. Chem. Chemother.* 2001; 12: 367—3.
49. Ivanov M.A., Ivanov A.V., Krasnitskaya I.A., Smirnova O.A., Karpenko I.L., Belanov E.F. et al. New furano- and pyrrolo[2,3-d]pyrimidine nucleosides and their 5'-O-triphosphates: Synthesis and biological properties. *Bioorganicheskaya khimiya.* 2008; (5): 661—70. (in Russian)
50. Baharuddin A., Hassan A.A., Sheng G.C., Nasir S.B., Othman S., Yusof R. et al. Current approaches in antiviral drug discovery against the flaviviridae family. *Curr. Pharm. Des.* 2014; 20(21): 3428—44.
51. Alonzi D.S., Dwek R.A., Butters T.D. Improved cellular inhibitors for glycoprotein processing alpha-glucosidases: biological characterization of alkyl- and arylalkyl-N-substituted deoxynojirimycins. *Tetrahedron Asymmetry.* 2009; 20: 897—1.
52. Mehta A., Ouzounov S., Jordan R., Simsek E., Lu X., Moriarty R.M. et al. Imino sugars that are less toxic but more potent as antivirals, in vitro, compared with N-n-nonyl DNJ. *Antivir. Chem. Chemother.* 2002; 13(5): 299—4.
53. Whitby K., Taylor D., Patel D., Ahmed P., Tyms A.S. Action of celgosivir (6 O-butanoyl castanospermine) against the pestivirus BVDV: implications for the treatment of hepatitis C. *Antivir. Chem. Chemother.* 2004; 15(3): 141—51.
54. Durantel D., Branza-Nichita N., Carrouée-Durantel S., Butters T.D., Dwek R.A., Zitzmann N. Study of the mechanism of antiviral action of iminosugar derivatives against bovine viral diarrhoea virus. *J. Virol.* 2001; 75(19): 8987—8.
55. Du Y., Ye H., Gill T., Wang L., Guo F., Cuconati A. et al. N-Alkyldeoxynojirimycin derivatives with novel terminal tertiary amide substitution for treatment of bovine viral diarrhoea virus (BVDV), Dengue, and Tacaribe virus infections. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2013; 23(7): 2172—6.
56. Poh M.K., Yip A., Zhang S., Priestle J.P., Ma N.L., Smit J.M. et al. A small molecule fusion inhibitor of dengue virus. *Antiviral. Res.* 2009; 84(3): 260—6.
57. Yennamalli R., Subbarao N., Kampmann T., McGeary R.P., Young P.R., Kobe B. Identification of novel target sites and an inhibitor of the dengue virus E protein. *J. Comput. Aided. Mol. Des.* 2009; 23(6): 333—41.
58. Griffin S.D., Beales L.P., Clarke D.S., Worsfold O., Evans S.D., Jaeger J. et al. The p7 protein of hepatitis C virus forms an ion channel that is blocked by the antiviral drug, Amantadine. *FEBS Lett.* 2003; 535(1—3): 34—8.
59. Harada T., Tautz N., Thiel H.J. E2-p7 region of the bovine viral diarrhoea virus polyprotein: processing and functional studies. *J. Virol.* 2000; 74(20): 9498—6.
60. Griffin S.D.C., Harvey R., Clarke D.S., Barclay W.S., Harris M., Rowlands D.J. A conserved basic loop in hepatitis C virus p7 protein is required for amantadine-sensitive ion channel activity in mammalian cells but is dispensable for localization to mitochondria. *J. Gen. Virol.* 2004; 85(Pt. 2): 451—61.
61. Foster T.L., Verow M., Wozniak A.L., Bentham M.J., Thompson J., Atkins E. et al. Resistance mutations define specific antiviral effects for inhibitors of the hepatitis C virus p7 ion channel. *Hepatology.* 2011; 54(1): 79—90.
62. Luscombe C.A., Huang Z., Murray M.G., Miller M., Wilkinson J., Ewart G.D. A novel Hepatitis C virus p7 ion channel inhibitor, BIT225, inhibits bovine viral diarrhoea virus in vitro and shows synergism with recombinant interferon-alpha-2b and nucleoside analogues. *Antiviral Res.* 2010; 86(2): 144—3.
63. Bastos J.C., Kohn L.K., Fantinatti-Garborggini F., Padilla M.A., Flores E.F., da Silva B.P. et al. Antiviral activity of *Bacillus* sp. isolated from the marine sponge *Petromica citrina* against bovine viral diarrhoea virus, a surrogate model of the hepatitis C virus. *Viruses.* 2013; 5(5): 1219—30.
64. Johnston A., Uren E., Johnstone D., Wu J. Low pH, caprylate incubation as a second viral inactivation step in the manufacture of albumin. Parametric and validation studies. *Biologicals.* 2003; 31(3): 213—1.
65. Baron S., Tying S.K., Fleischmann W.R., Coppenhaver D.H., Niesel D.W., Klimpel G.R. et al. The interferons: mechanisms of action and clinical applications. *JAMA.* 1991; 266(10): 1375—3.
66. Glotova T.I., Kungurtseva O.V., Glotov A.G. The drugs exogenous interferon in BVDV. *Agrarny vestnik Urala.* 2012; (5): 34—6. (in Russian)
67. Kohara J., Nishikura Y., Konnai S., Tajima M., Onuma M. Effects of interferon-tau on cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *Jpn. J. Vet. Res.* 2012; 60(2—3): 63—70.
68. Peek S.F., Bonds M.D., Schaele P., Weber S., Friedrichs K., Schultz R.D. Evaluation of antiviral activity and toxicity of recombinant human interferon alfa-2a in calves persistently infected with type 1 bovine viral diarrhoea virus. *Am. J. Vet. Res.* 2004; 65(6): 865—70.
69. Iqbal M., Poole E., Goodbourn S., McCauley J.W. Role for bovine viral diarrhoea virus Erns glycoprotein in the control of activation of beta interferon by double-stranded RNA. *J. Virol.* 2004; 78(1): 136—5.
70. Yamkovaya T.V., Glotova T.I., Glotov A.G., Semenova O.V., Yamkovoy V.I., Panin L.E. The drug activity Vitalang 2 against virus of bovine viral diarrhoea - mucosal disease. *Veterinariya.* 2014; (3): 10—4. (in Russian)
71. Song Q., Weng X.G., Cai D.J., Zhang W., Wang J.F. Forsythoside A inhibits BVDV Replication via TRAF2-Dependent CD28-4-1BB Signaling in Bovine PBMCs. *PLoS One.* 2016; 11(9): e0162791.
72. Passler T., Walz P.H. Bovine viral diarrhoea virus infections in heterologous species. *Anim. Health Res. Rev.* 2010; 11(2): 191—5.