

## Оболочечные вирусы — патогенетическая мишень лектинов цианобактерий

\*Н. Н. БЕСЕДНОВА<sup>1</sup>, Б. Г. АНДРЮКОВ<sup>1,2</sup>, Т. С. ЗАПОРОЖЕЦ<sup>1</sup>, С. П. ЕРМАКОВА<sup>3</sup>, Т. А. КУЗНЕЦОВА<sup>1</sup>, С. П. КРЫЖАНОВСКИЙ<sup>4</sup>, М. Ю. ЩЕЛКАНОВ<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия

<sup>2</sup> Дальневосточный федеральный университет (ДФУ), Школа медицины, Владивосток, Россия

<sup>3</sup> Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН (ТИБОХ ДВО РАН), Владивосток, Россия

<sup>4</sup> Медицинское объединение ДВО РАН, Владивосток, Россия

<sup>5</sup> ФГБУН «Федеральный научный Центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН, Владивосток, Россия

## Enveloped Viruses: Pathogenetic Targets for Cyanobacterial Lectins

\*NATALIA N. BESEDNOVA<sup>1</sup>, BORIS G. ANDRYUKOV<sup>1,2</sup>, TATIANA S. ZAPOROZHETS<sup>1</sup>, SVETLANA P. ERMAKOVA<sup>3</sup>, TATIANA A. KUZNETSOVA<sup>1</sup>, SERGEY P. KRZYZHANOVSKY<sup>4</sup>, MIKHAIL YU. SHCHELKANOV<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology by Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Vladivostok, Russia

<sup>2</sup> Far Eastern Federal University (FEFU), Vladivostok, Russia

<sup>3</sup> Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

<sup>4</sup> Medical Association of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

<sup>5</sup> Federal Scientific Center of the Eastern Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

### Резюме

Лектины — группа углеводсвязывающих высокоспецифичных белков с широким спектром действия, участвующих в так называемой «первой линии» защиты организма. Эти уникальные биомолекулы проявляют высокую специфичность к различным моно- и олигосахаридам, в первую очередь, гликоконъюгатам вирусов и бактерий. Лектины цианобактерий эффективны против оболочечных вирусов и являются привлекательной альтернативой существующим синтетическим лекарственным препаратам. Известно практически полное отсутствие формирования резистентности у вирусов к этим соединениям. Цель обзора — анализ, обобщение и обсуждение результатов экспериментальных исследований *in vivo* и *in vitro*, иллюстрирующих механизмы действия и противовирусные эффекты лектинов, полученных из цианобактерий, в отношении наиболее опасных и социально значимых вирусов: SARS-Cov-2, ВИЧ, вирусов Эбола, гриппа и гепатита С. Кроме того, мы рассмотрим некоторые трудности, которые необходимо преодолеть для получения эффективных противовирусных препаратов в будущем.

**Ключевые слова:** цианобактерии (ЦБ); метаболиты; оболочечные вирусы; лектины; лечебные средства; профилактические средства

**Для цитирования:** Беседнова Н.Н., Андрюков Б.Г., Запорожец Т.С., Ермакова С.П., Кузнецова Т.А., Крыжановский С.П., Щелканов М.Ю. Оболочечные вирусы — патогенетическая мишень лектинов цианобактерий. *Антибиотики и химиотерапия*. 2022; 67: 5–6: 39–60. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-5-6-39-60>.

### Abstract

Lectins are a group of highly specific carbohydrate-binding proteins with a wide spectrum of action, involved in the so-called «first line» of body defense. These unique biomolecules show high specificity for various mono- and oligosaccharides, primarily for viral and bacterial glycoconjugates. Cyanobacteria lectins are effective against enveloped viruses and are an appealing alternative to existing synthetic drugs. Virtually complete absence of resistance formation in viruses to these compounds is known. The purpose of this review is to analyze, summarize, and discuss the results of experimental studies *in vivo* and *in vitro*, illustrating the mechanisms of action and antiviral effects of lectins obtained from cyanobacteria in relation to the most dangerous and socially significant viruses: SARS-Cov-2, HIV, Ebola viruses, influenza, and hepatitis C. In addition, the article outlines some of the challenges that must be overcome in order to obtain effective antiviral drugs in the future.

**Keywords:** cyanobacteria (CB); metabolites; enveloped viruses; lectins; therapeutic agents; prophylactic agents

**For citation:** Besednova N. N., Andryukov B. G., Zaporozhets T. S., Ermakova S. P., Kuznetsova T. A., Kryzhanovsky S. P., Shchelkanov M. Yu. Enveloped viruses: pathogenetic targets for cyanobacterial lectins. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2022; 67: 5–6: 39–60. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-5-6-39-60>.

© Коллектив авторов, 2022

\*Адрес для корреспонденции: ул. Сельская, д. 1, НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, г. Владивосток, 690087. E-mail: besednoff\_lev@mail.ru

© Team of Authors, 2022

\*Correspondence to: 1 Selskaya st., G.P.Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, 690087 Russia. E-mail: besednoff\_lev@mail.ru

## Цианобактерии и их метаболиты

Микроводоросли представлены зелёными (Chlorophyta), сине-зелёными (Cyanobacteria), желто-зелёными (Ochrophyta и Xanthophyta), золотистыми (Ochrophyta и Chrysophyta) водорослями и диатомовыми (Bacillariophyta) [1]. Существует более 50000 различных видов микроводорослей, из которых охарактеризованы лишь немногие [2]. Большое внимание учёных в настоящее время привлечено к цианобактериям (раньше их называли сине-зелёными водорослями) в связи с высокой биологической активностью их вторичных метаболитов.

Цианобактерии (ЦБ) появились около 3 млрд лет назад, положив начало переходу Земли от анаэробных к аноксигенным к кислородным условиям посредством фотосинтеза [3]. В течение своей эволюции ЦБ стали одними из самых разнообразных и широко распространённых прокариот, занявших множество ниш в наземных, планктонных и донных местообитаниях. Имеющиеся в литературе сведения свидетельствуют о том, что ЦБ использовались человеком примерно с 1500 г. до н. э. для лечения подагры, свищей и рака [4].

Это огромное сообщество грамотрицательных бактерий представляет собой одну из древнейших групп организмов, предки пластид высших растений [5], включающую в себя одноклеточные и нитчатые виды, способные и неспособные к фотосинтезу, симбиотические, токсигенные и хищные виды. Размеры генома ЦБ составляют от 1 до 10 Мб [6]. Цианобактерии не имеют ядра и мембраносвязанных органелл и могут связывать атмосферный азот. Некоторые виды ЦБ, например, *Chroococcus* sp., *Pormidium* sp., имеют дополнительные внешние оболочки, которые можно отнести к капсулам, оболочкам, слизистому слою [7]. По уникальным метаболическим характеристикам эти микроорганизмы схожи с эукариотическими водорослями. Включение ЦБ в таксономические схемы бактерий произошло только в 1978 г. [8]. Однако лишь в 1999 г. ЦБ были включены в Правила Международного комитета по систематической бактериологии, и таксономическое положение их, особенно новых видов, до настоящего времени продолжает быть предметом дискуссий [9].

Основными источниками важных для медицины природных соединений являются преимущественно морские ЦБ отрядов *Oscillatoriales*, *Nostocales*, *Chroococcales*. Использование современных геномных и метаболомных подходов (масс-спектрометрия и ЯМР-спектроскопия) позволило установить, что морские ЦБ являются неисчерпаемым источником структурно уникальных природных продуктов [10].

## Cyanobacteria and Their Metabolites

Microalgae are represented by green (Chlorophyta), blue-green (Cyanobacteria), yellow-green (Ochrophyta and Xanthophyta), golden (Ochrophyta and Chrysophyta) algae and diatoms (Bacillariophyta) [1]. There are over 50,000 different species of microalgae, of which only a few have been characterised [2]. Cyanobacteria (formerly known as blue-green algae) are of particular interest to researchers due to the high biological activity of their secondary metabolites.

Cyanobacteria (CB) appeared about 3 billion years ago, initiating the transition of the Earth from anoxygenic to oxygenic conditions through photosynthesis [3]. During their evolution, CBs have become one of the most diverse and widespread prokaryotes, occupying many niches in terrestrial, planktonic, and benthic habitats. The information available in the literature indicates that humans have used CBs since about 1500 BC for the treatment of gout, fistula and cancer [4].

This massive community of gram-negative bacteria is one of the oldest groups of organisms, the ancestors of the plastids of higher plants [5]. They include unicellular and filamentous species, photosynthetic and non-photosynthetic, symbiotic, toxigenic, and predatory species. The size of the CB genome is from 1 to 10 Mb [6]. CBs do not have a nucleus and membrane-bound organelles and can bind atmospheric nitrogen. Some types of CB, for example, *Chroococcus* sp., and *Pormidium* sp., have additional outer shells (capsules, shells, mucous layer) [7]. By unique metabolic characteristics, these microorganisms are similar to eukaryotic algae. Their inclusion in the taxonomic systematisation of bacteria occurred only in 1978 [8]. However, in 1999 they were recognised by the International Committee on Systematic Bacteriology (ICSB). Still, their taxonomic position, especially of new species, continues to be the subject of discussion today [9].

The primary sources of natural compounds important for medicine are mainly marine CBs of the *Oscillatoriales*, *Nostocales*, and *Chroococcales* orders. The use of modern genomics and metabolomics approaches (mass spectrometry and NMR spectroscopy) made it possible to establish that marine CBs are an inexhaustible source of structurally unique natural products [10].

CBs produce a variety of metabolites (endo- and exopolysaccharides, lectins, proteins, polyphenols, etc.), including more than 2000 secondary metabolites [11]. As it turned out, these cyanometabolites have highly diverse biological activity (anti-inflammatory, immunomodulatory, antitumor, antioxidant, and others). However, their antiviral activity has been studied to a lesser extent [12]. A

Цианобактерии продуцируют разнообразные метаболиты (эндо- и экзополисахариды, лектины, протеины, полифенолы и др.). По последним данным, обнаружено более 2000 вторичных метаболитов цианобактерий [11], для которых определены 14 различных типов активности (противовоспалительная, иммуномодулирующая, противовопухолевая, антиоксидантная и пр.). По сравнению с другими видами активности цианометаболитов противовирусные эффекты их изучены в меньшей степени [12]. Достаточно большое число исследований посвящено лектинам ЦБ [13].

Лектины цианобактерий — мономерные или димерные белки с уникальными аминокислотными последовательностями и чрезвычайно высоким сродством и специфичностью к углеводам, преимущественно к олигосахаридам, в меньшей степени — к моносахаридам. Эти соединения проявляют активность в наномолярном диапазоне, но различаются по углеводной специфичности и распознают разные эпитопы на олигосахаридах с высоким содержанием маннозы [14]. Оболочки многих вирусов богаты массивами специфических сахаров, сложными, повторяющимися маннозными гликанами, прикрепленными к поверхности. Такое содержание маннозы редко встречается в клетках млекопитающих, в связи с чем лектины цианобактерий являются селективными антимикробными агентами с высокой аффинностью, нацелены на оболочечные вирусы, имеют широкий противовирусный потенциал, и, как предполагают учёные, вряд ли будут токсичными для клеток человека [13, 15].

Лектины ЦБ, имеющие значение для медицины, включают циановирин-N (CVN), сцитовирин (SVN), микровирин (MVN), лектин *Microcystis viridis* (MVL) и агглютинин *Oscillatoria agardhii* (OAA).

CVN — лектин, выделенный из ЦБ *Nostoc ellipsosporum*, действует как псевдоантитело [16]. CVN имеет высокое сродство к эпитопу  $\text{Man}\alpha 1 \rightarrow 2\text{Man}$  в форме диманнозида ( $\text{Man}\alpha 1 \rightarrow 2\text{Man}$ ) и линейного триманнозида ( $\text{Man}\alpha 1 \rightarrow 2\text{Man}\alpha 1 \rightarrow 2\text{Man}$ ), расположенных на концевых ответвлениях N-связанных олигосахаридов с высоким содержанием маннозы (Man-8 и Man-9) на поверхностных гликопротеинах вируса. Состоит из полипептида длиной 101 аа, включающего 4 остатка цистеина, образующих две внутрицепочечные дисульфидные связи, стабилизирующие структуру белка и определяющие его противовирусную активность [17]. Циановирин-N проявляет мощную активность *in vitro* и *in vivo* против ВИЧ и других лентивирусов в наномолярных концентрациях. Ингибирует также вирус простого герпеса-6 и вирус кори *in vitro* [18]. CVN может быть в димерной и мономерной формах, в то время как другие лектины цианобактерий — лектин *Microcystis viridis* и сцитовирин (SCV) — только в мономерной форме.

significant number of studies are devoted to CB lectins [13].

CB lectins are monomeric or dimeric proteins with unique amino acid sequences and high affinity and specificity for carbohydrates, mainly for oligosaccharides and, to a lesser extent, for monosaccharides. These metabolites are active in the nanomolar range, specialising in recognising different epitopes of high-mannose oligosaccharides [14]. The envelopes of many viruses are rich in arrays of specific carbohydrates and complex, repetitive mannose glycans attached to the surface. This content of mannose is rarely found in mammalian cells. Thus, CB lectins are selective antiviral agents with high affinity. They have broad antiviral potential but primarily target enveloped viruses and are unlikely to be toxic to human cells [13, 15].

The group of CB lectins important for medicine includes cyanovirin-N (CV-N), scytovirin (SVN), microvirin (MVN), *Microcystis viridis* lectin (MVL) and agglutinin *Oscillatoria agardhii* (AOA).

CV-N is a lectin isolated from CB *Nostoc ellipsosporum* that acts as a pseudo-antibody [16]. CV-N has a high affinity for the  $\text{Man}\alpha 1 \rightarrow 2\text{Man}$  epitope in the form of dimannosides ( $\text{Man}\alpha 1 \rightarrow 2\text{Man}$ ) and linear trimannosides ( $\text{Man}\alpha 1 \rightarrow 2\text{Man}\alpha 1 \rightarrow 2\text{Man}$ ) located on the terminal branches of N-linked high mannose oligosaccharides (Man-8 and Man-9) on the surface glycoproteins of the virus. It consists of a 101 amino acid-long polypeptide, including 4 cysteine residues, forming two intrachain disulfide bonds that stabilise the protein structure and determine its antiviral activity [17]. CV-N exhibits potent *in vitro* and *in vivo* activity against HIV and other lentiviruses at nanomolar concentrations. In addition, this lectin also inhibits herpes simplex virus-6 and measles virus *in vitro* [18]. CV-N can be in dimeric and monomeric forms, while other CB lectins — *Microcystis viridis* lectin and scytovirin (SCV) — only in monomeric form.

SCV is a lectin that was first isolated from an aqueous extract of CB *Scytonema varium*. It consists of a polypeptide 95 amino acid-long containing 5 intrachain disulfide bonds. The molecular weight of the lectin is 9.7 kDa.

Microvirin (MVN) is a lectin isolated from CB *Microcystis aeruginosa* PCC7806. The molecular weight of the lectin is 14.3 kDa. CBs are attracted by the simplicity of controlling the cultivation conditions and obtaining a sufficient amount of metabolites, as well as the possibility of their use in various fields of biotechnology.

The purpose of this review is to analyse, summarise and discuss the results of experimental studies *in vivo* and *in vitro*, illustrating the regulatory mechanisms of the expression of CB lectins and the antiviral effect of these compounds in relation to the most dangerous and socially significant viruses: HIV, SARS-

Сцитовирин (SCV) — лектин, выделенный из водного экстракта цианобактерии *Scytonema varium*. Состоит из полипептида длиной 95 аа, содержащего 5 внутрицепочечных дисульфидных связей. Молекулярная масса лектина 9,7 кДа.

Микровирин (MVN) — лектин, выделен из цианобактерии *Microcystis aeruginosa* PCC7806. Молекулярная масса лектина 14,3 кДа.

Цианобактерии привлекают простотой управления условиями культивирования и получения достаточного количества метаболитов цианобактерий, а также возможностью их использования в разных областях биотехнологии.

В настоящем обзоре представлены материалы по противовирусному действию лектинов, полученных из цианобактерий, по отношению к наиболее опасным и социально значимым вирусам: ВИЧ, SARS-COV-2, вирусу Эбола, вирусам гриппа, вирусу гепатита С.

Глобальные процессы — изменение климата, неудовлетворительные санитарные условия жизни в различных регионах земного шара, миграционные процессы, тесное взаимодействие человека с природой и населяющим её животным миром, перенос насекомых-переносчиков из одних регионов в другие повышают риск распространения опасных для человека вирусных инфекций [19–22]. Ситуацию усугубляет быстрое появление новых мутантов возбудителей, в короткие сроки развивается резистентность к используемым агентам. Ассортимент эффективных и доступных лекарств широкого спектра действия для профилактики и лечения вирусных инфекций очень ограничен, в связи с чем учёные обращаются к природным источникам, в том числе, и к цианобактериям и их метаболитам [23].

Для создания высокоэффективных недорогих препаратов желательно использовать соединения, которые имеют достаточно большой набор мишеней на различных стадиях развития возбудителей на протяжении всего инфекционного процесса [24].

## Жизненный цикл оболочечных вирусов

Жизненный цикл вирусов включает следующие этапы:

1. адсорбция вирусов на мембране клетки (рецепция вируса);
2. слияние вирусной и клеточной мембран (фузия) или формирование эндосомы с последующей фузией;
3. депротеинизация вирусного генома;
4. у ретровирусов (Ortervirales: Retroviridae) — дополнительный синтез провирусной ДНК на матрице РНК;

COV-2, Ebola virus, influenza viruses, hepatitis C virus. In addition, we will consider the difficulties that must be overcome to develop effective drugs to prevent and treat viral infections in the future.

Global processes — climate change, unsatisfactory sanitary conditions of life in various regions of the globe, migration processes, close interaction of man with nature and the animal world inhabiting it, the transfer of insect vectors from one area to another increase the risk of the spread of viral infections dangerous to humans [19–22]. The situation is aggravated by the rapid emergence of new mutants of pathogens, and resistance to the agents used develops in a short time. The range of effective and affordable broad-spectrum drugs for the prevention and treatment of viral infections is minimal, and therefore scientists are turning to natural sources, including CB and their metabolites [23].

To create highly effective, inexpensive drugs, it is desirable to use compounds with a sufficiently large set of targets at various stages of pathogen development throughout the entire infectious process [24].

## Life Cycle of Enveloped Viruses

The life cycle of viruses includes the following stages:

- 1 — adsorption of viruses on the cell membrane (reception of the virus);
- 2 — fusion of viral and cell membranes (fusion) or formation of an endosome followed by fusion;
- 3 — deproteinization of the viral genome;
- 4 — in retroviruses (Ortervirales: Retroviridae) — additional synthesis of proviral DNA on an RNA matrix;
- 5 — synthesis of virus components (viral nucleic acids and viral structural proteins);
- 6 — formation (assembly) of mature daughter virions;
- 7 — budding of daughter virions from the cell.

The fusion stage is mediated by a complex set of protein interactions, the key point of which is the release of a hydrophobic fragment of one or more hydrophobic protein fragments (viral and / or cellular) — the so-called, fusion peptides — which anchor in the opposite lipid membrane and form a fusion pore; the latter gradually expands to a size that allows the viral nucleocapsid to penetrate into the cytoplasm of the target cell [25–27].

## Interaction of Lectins with Viruses

Algae and CB lectins can inhibit viral replication at different stages of the life cycle, as well as enhance the immune response of the host organism, and exhibit anti-inflammatory and antioxidant properties, i.e. influence different and different signalling path-

5. синтез компонентов вирусов (вирусных нуклеиновых кислот и вирусных структурных белков);

6. формирование (сборка) зрелых дочерних вирионов;

7. почкование дочерних вирионов из клетки.

Стадия фузии опосредуется сложным комплексом белковых взаимодействий, ключевым моментом которого является высвобождение гидрофобного фрагмента одного или нескольких гидрофобных белковых фрагментов (вирусных и/или клеточных) т. н. пептидов слияния, которые закориваются в противоположной липидной мембране и формируют пору слияния; последняя постепенно расширяется до размеров, позволяющих нуклеокапсиду вируса проникнуть в цитоплазму клетки-мишени [25–27].

## Взаимодействие лектинов с вирусами

Лектины водорослей и ЦБ могут ингибировать репликацию вирусов на разных этапах жизненного цикла, а также усиливать иммунный ответ организма хозяина, проявлять противовоспалительные и антиоксидантные свойства, т. е. действовать на разные мишени и различные сигнальные пути. При этом оболочечные вирусы более чувствительны к полианионам, чем вирусы без оболочки [27, 28]. Они взаимодействуют с положительно заряженными доменами гликопротеиновой оболочки вируса и создают необратимый комплекс.

В следующих разделах представлены материалы, касающиеся противовирусного действия лектинов ЦБ по отношению к наиболее опасным для человека вирусам.

**Коронавирусы** (Nidovirales: Coronaviridae), которые в прошлом веке не считались серьёзной эпидемической проблемой, в текущем столетии стали причиной масштабных чрезвычайных ситуаций в области биологической безопасности: в 2002 г. крупная эпидемия, охватившая южные провинции Китая, была связана с коронавирусом тяжёлого острого респираторного синдрома (SARS-CoV — Severe acute respiratory syndrome coronavirus) (*Betacoronavirus*, подрод *Sarbecovirus*); в 2012 г. стал известен коронавирус ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV — Middle East respiratory syndrome coronavirus) (*Betacoronavirus*, подрод *Merbecovirus*) [29], природные очаги которого расположены на Аравийском полуострове, а завозные случаи встречаются по всему миру (наиболее крупная эпидемическая вспышка MERS-CoV в результате завозного случая произошла в мае-июне 2015 г. в Республике Корея [30]); в 2019 г. был идентифицирован ко-

ways. Enveloped viruses are more sensitive to poly-anions than non-enveloped viruses [27, 28]. Lectins interact with the positively charged domains of the viral glycoprotein envelope and form an irreversible complex.

The following sections will present the materials related to the antiviral action of CB lectins against the most dangerous viruses for humans.

**Coronaviruses** (Nidovirales: Coronaviridae), which were not considered a severe epidemic problem in the last century, have become the cause of large-scale biosecurity emergencies in the current century. In 2002, a major epidemic that swept the southern provinces of China was associated with severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV — Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus, *Betacoronavirus*, subgenus *Sarbecovirus*). In 2012, the Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV — Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus, *Betacoronavirus*, subgenus *Merbecovirus*) became known [29]. Natural foci of MERS-CoV are located on the Arabian Peninsula, and imported cases occur all over the world (the largest epidemic outbreak of MERS-CoV as a result of an imported case occurred in May-June 2015 in the Republic of Korea [30]). In 2019, severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2 (SARS-CoV-2 — Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2, *Betacoronavirus*, subgenus *Sarbecovirus*) was identified as the etiological agent of coronavirus disease (COVID-19 — Coronavirus disease 2019) [26, 31, 32], which has become a pandemic [25]. Currently, there is an urgent need to find effective treatments for COVID-19.

The main route of entry of coronaviruses into the target cell is mediated by a glycosylated viral S-protein, the trimers of which form characteristic club-shaped peplomers on the surface of the virion [32]. The main cellular receptor for SARS-CoV and SARS-CoV-2 is angiotensin-converting enzyme type 2 (ACE2 — Angiotensin-converting enzyme 2) [33]. The S protein consists of S1 and S2 subunits. The S1 subunit includes a receptor-binding domain (RBD), which directly interacts with the peptidase domain (PD) of ACE2. Up to contact with the cellular receptor, the S1 and S2 subunits of the spike protein are covalently bound, but after attachment, they are proteolytically cleaved by the cellular transmembrane protease serine type 2 (TMPRSS2). This contributes to the exposure of the hydrophobic fusion peptide in the S2 subunit (S2-FP), which induces the fusion of the viral and cell membranes and the penetration of the nucleocapsid into the cytoplasm of the cell [26].

In case of viruses of the *Sarbecovirus* subgenus, CD147 can act as an additional cell receptor [32]. The genome of coronaviruses is represented by a single segment of positive polarity virion genomic RNA.

ронавирус тяжёлого острого респираторного синдрома 2-го типа (SARS-CoV-2 — Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) (*Betacoronavirus*, подрод *Sarbecovirus*) как этиологический агент коронавирусного заболевания (COVID-19 — Coronavirus disease 2019) [26, 31, 32], которое приобрело масштаб пандемии [25]. В настоящее время существует острая необходимость в поиске эффективных методов лечения COVID-19.

Основной путь проникновения коронавирусов в клетку-мишень опосредуется гликозилированным вирусным S-белком, тримеры которого формируют характерные булавовидные пепломеры на поверхности вириона [32]. Основным клеточным рецептором для SARS-CoV и SARS-CoV-2 служит ангиотензин-превращающий фермент 2-го типа (ACE2 — Angiotensin-converting enzyme 2) [33]. Белок S состоит из субъединиц S1 и S2. Субъединица S1 включает домен связывания рецептора (RBD — receptor-binding domain), который непосредственно взаимодействует с пептидазным доменом (PD — peptidase domain) в составе ACE2. Вплоть до контакта с клеточным рецептором субъединицы S1 и S2 спайкового белка связаны ковалентно, но после прикрепления протеолитически расщепляются клеточной трансмембранной сериновой протеазой 2-го типа (TMPRSS2 — transmembrane protease serine 2), что способствует экспонированию гидрофобного пептида слияния в S2-субъединице (S2-FP — fusion peptide in S2 subunit), который индуцирует слияние вирусной и клеточной мембран и проникновение нуклеокапсида в цитоплазму клетки [26].

Для вирусов из подрода *Sarbecovirus* в качестве дополнительного клеточного рецептора может выступать CD147 [32].

Геном коронавирусов представлен одиночным сегментом вирионной геномной РНК позитивной полярности.

Вновь синтезируемые структурные и регуляторные белки коронавирусов накапливаются в цистернах шероховатого эндоплазматического ретикулума. В отличие от большинства оболочечных вирусов, использующих для формирования своей оболочки цитоплазматическую мембрану клетки-хозяина, коронавирусы используют мембрану эндоплазматического ретикулума. Регуляторные белки (в том числе, образующие ионные каналы: пентамеры E-белка и тетрамеры gp3a-белка) встраиваются в мембрану цистерн и создают молекулярные комплексы, меняющие конфигурацию соответствующих участков мембран эндоплазматического ретикулума. Дочерние вирионы транспортируются в просвет комплекса Гольджи и покидают хозяйскую клетку путём использования её секреторных механизмов [26, 34].

Высокий уровень гликозилирования S-белка позволяет рассматривать его в качестве эффек-

Newly synthesised structural and regulatory proteins of coronaviruses accumulate in cisterns of the rough endoplasmic reticulum. Unlike most enveloped viruses, which use the host cell's cytoplasmic membrane to form their envelope, coronaviruses use the endoplasmic reticulum membrane. Regulatory proteins (including those forming ion channels: E-protein pentamers and gp3a-protein tetramers) are integrated into the cisterna membrane and create molecular complexes that change the configuration of the corresponding sections of the endoplasmic reticulum membranes. Daughter virions are transported into the lumen of the Golgi complex and leave the host cell through its secretory mechanisms [26,34].

The high level of glycosylation of the S-protein makes it possible to consider it an effective target for mannose-specific lectins [35, 36]. However, this approach has received little attention. In the scientific literature, there is perhaps the only serious attempt to assess the binding affinity of CV-N and SVN to the S-protein of SARS-CoV-2 using the methods of molecular mechanics and the solution of the Poisson-Boltzmann equation (MM/PBSA — molecular mechanics/Poisson-Boltzmann surface area). She showed the prospect of studying these lectins as new drugs, dietary supplements and functional foods [37].

To illustrate the effectiveness of marine lectins' action on coronavirus infection, we considered it possible to show the impact of another lectin — griffithsin (GRFT) from the red algae *Griffithsia* sp. GRFT was active with equally low nanomolar sensitivity against MERS-CoV and other coronaviruses [38,39]. The broad spectrum of griffithsin-susceptible coronaviruses is an essential characteristic of the lectin, as new variants of these viruses can be transmitted from animals to humans. GRFT has several binding sites on the surface of the S protein, and millimolar concentrations of mannose can inhibit the binding of griffithsin to the protein. However, GRFT does not inhibit the binding between the SARS-CoV S protein and the cellular ACE2 receptor. Thus, the interaction between GRFT and S-protein leads to the formation of a complex, which, although capable of binding to ACE2, can prevent subsequent events necessary for virus entry [40].

Millet et al. [39] studied the effectiveness of GRFT on Huh-7 and Vero cell lines: even at the lowest concentration (0.125 µg/ml), GRFT resulted in a decrease in the cytopathogenicity of MERS-CoV by 44.7% and 63.2%, respectively; at a concentration of 2 µg/ml, this figure was 90% in both cell lines. At the same time, the lectin acted at the very early stages of the MERS-CoV life cycle, probably by direct interaction with the glycosylated part of the MERS-CoV spike protein and inhibition of its binding to the cellular receptor. Virus titers under the action of GRFT also decreased after 24 h and 48 h in both cell lines.

тивной мишени для маннозоспецифических лектинов [35, 36]. Вместе с тем, этому подходу уделяется недостаточное внимание. В научной литературе имеется, пожалуй, единственная серьёзная попытка оценить аффинность связывания CVN и SVN по отношению к S-белку SARS-CoV-2 с помощью методов молекулярной механики и решения уравнения Пуассона–Больцмана (MM/PBSA — molecular mechanics/Poisson–Boltzmann surface area), которая продемонстрировала перспективность изучения этих лектинов в качестве новых лекарств, БАД и продуктов функционального питания [37].

Для иллюстрации эффективности действия лектинов морского происхождения на коронавирусную инфекцию мы сочли возможным показать действие другого лектина — гриффитсина (GRFT) из красной водоросли *Griffithsia* sp. GRFT был активен с одинаково низкой наномолярной чувствительностью не только по отношению к MERS-CoV, но и против других коронавирусов [38, 39]. Широкий спектр коронавирусов, чувствительных к гриффитсину, является важной характеристикой лектина, поскольку появляются новые варианты этих вирусов, способных передаваться от животных к человеку. GRFT имеет несколько сайтов связывания на поверхности S-белка, при этом связывание гриффитсина с белком может ингибироваться миллимолярными концентрациями маннозы. Однако GRFT не ингибирует связывание между S-белком SARS-CoV и клеточным рецептором ACE2. Таким образом, взаимодействие между GRFT и S-белком приводит к образованию комплекса, который хотя и способен связываться с ACE2, но может предотвратить последующие события, необходимые для проникновения вируса [40].

J. K. Millet и соавт. [39] исследовали эффективность GRFT на клеточных линиях Huh-7 и Vero: даже при самой низкой концентрации (0,125 мкг/мл) GRFT приводил к снижению цитопатогенности MERS-CoV на 44,7 и 63,2%, соответственно; при концентрации 2 мкг/мл этот показатель был равен 90% в обеих клеточных линиях. При этом лектин действовал на очень ранних стадиях жизненного цикла MERS-CoV, вероятно, путём прямого взаимодействия с гликозилированной частью спайкового белка MERS-CoV и ингибирования его связывания с клеточным рецептором. Титры вируса под действием GRFT также снижались как через 24 ч, так и через 48 ч в обеих клеточных линиях.

Используя псевдовиральные частицы, снабжённые S-белком MERS-CoV, J. K. Millet и соавт. [39] установили, что GRFT действует на стадии проникновения вируса в клетку-мишень. Этот лектин ингибировал проникновение псевдовиральных частиц в клетки в той же степени, что и вирионов

Using pseudoviral particles equipped with the MERS-CoV S protein, Millet et al. [39] found that GRFT acts at the stage of virus entry into the target cell. This lectin inhibited the penetration of pseudoviral particles into cells to the same extent as that of MERS-CoV virions ( $IC_{50} = 323$  nM), which allowed the authors to conclude that the S-protein is the main target of GRFT [41].

The activity of GRFT as a therapeutic agent against SARS-CoV was successfully confirmed in a model system on laboratory BALB/c mice infected with a high dose of SARS-CoV adapted to them. GRFT was administered intranasally at 5 mg/kg/day. The result was the protection of 100% of animals with a survival of 30% of mice in controls. Increased survival in mice was accompanied by prevention of weight loss, improvement in lung histopathology, and reduced viral load in lung tissue [38]. These facts indicate that GRFT and CB lectins deserve great attention as promising drugs for preventing and treating coronavirus infections, in particular, COVID-19 [42].

**Influenza A virus** (IAV — Influenza A virus, *Orthomyxovirales: Orthomyxoviridae, Alphainfluenzavirus*) is a dangerous pathogen of birds and mammals, including humans, with pandemic potential [34, 43, 44]. The natural reservoir of this virus is wild birds of the aquatic-semiaquatic ecological complex [45, 46]. Due to the high level of environmental plasticity, IAV overcomes interspecies barriers and penetrates populations of other potential hosts [47, 48].

The enveloped IAV virion has a rounded (80–120 nm) pleomorphic shape and contains three types of surface protein complexes: hemagglutinin trimers (HA — hemagglutinin). The latter are involved in receptor binding to sialosides (polysaccharides terminated by a sialic acid residue) on the target cell's surface, as well as in the fusion of virion and endosome membranes; neuraminidase tetramers (NA — neuraminidase). This enzyme cleaves off the terminal sialic acid residue from the sialoside molecule; tetramers of the M2 protein form ion channels that open when the internal space of the endosome is acidified. The IAV genome consists of 8 negative polarity RNA segments. The sources of genetic variability of this virus are genetic drift (as a result of the appearance of point mutations) and reassortment (inclusion of segments of different «parental» viral variants into the daughter virion). Currently, 16 types of HA (H1..16) and 9 types of neuraminidase NA (N1..9) are known. Subtypes H17, H18, N10, and N11 have been identified by molecular genetic methods in Central American insectivorous bats, but the respective strains have not been isolated [49, 50].

O'Keefe et al. [51] studied the effect of CV-N against IAV and another orthomyxovirus, influenza B virus (*Betainfluenzavirus*). It turned out that CV-N and related homologs demonstrate high antiviral activity against all strains of these viruses, including clin-

MERS-CoV ( $IC_{50} = 323$  нМ), что позволило авторам сделать вывод о том, что именно S-белок является основной мишенью GRFT [41].

Активность GRFT в качестве терапевтического средства против SARS-CoV с успехом была подтверждена в модельной системе на лабораторных мышках линии BALB/c, инфицированных высокой дозой адаптированного к ним SARS-CoV. GRFT вводили интраназально в дозе 5 мг/кг/сут. Результатом была защита 100% животных при выживаемости в контроле 30% мышей. Увеличение выживаемости мышак сопровождалось предотвращением потери массы тела, улучшением показателей гистопатологических изменений в лёгких, а также снижением вирусной нагрузки в лёгочной ткани [38].

Приведённые факты свидетельствуют о том, что GRFT и, по-видимому, лектины из ЦБ заслуживают большого внимания в качестве перспективных препаратов для профилактики и лечения коронавирусных инфекций, в частности COVID-19 [42].

**Вирус гриппа А** (IAV — Influenza A virus) (Articulavirales: Orthomyxoviridae, *Alphainfluenzavirus*) является опасным патогеном птиц и млекопитающих, включая человека, обладающий пандемическим потенциалом [34, 43, 44]. Естественным резервуаром этого вируса являются дикие птицы водно-околоводного экологического комплекса [45, 46]. Благодаря высокому уровню экологической пластичности, IAV преодолевает межвидовые барьеры и проникает в популяции других потенциальных хозяев [47, 48].

Оболочечный вирион IAV имеет округлую (80–120 нм) плейоморфную форму и содержит три типа поверхностных белковых комплекса: тримеры гемагглютинина (HA — hemagglutinin), которые участвуют в рецепторном связывании с сиалозидами (полисахаридами, терминированными остатком сиаловой кислоты) на поверхности клетки-мишени, а также в слиянии мембран вириона и эндосомы; тетрамеры нейраминидазы (NA — neuraminidase), которая отщепляет концевой остаток сиаловой кислоты от молекулы сиалозидов; тетрамеры белка М2, формирующие ионные каналы, открывающиеся при закислении внутреннего пространства эндосомы. Геном IAV состоит из 8 сегментов РНК негативной полярности. Источниками генетической вариабельности этого вируса являются генетический дрейф (в результате появления точечных мутаций) и реассортация (включение в дочерний вирион сегментов различных «родительских» вирусных вариантов). В настоящее время, известны 16 типов HA (Н1..16) и 9 типов нейраминидазы NA (N1..9). Подтипы Н17, Н18, Н10 и Н11 были обнаружены с помощью молекулярно-генетических методов в насекомоядных летучих мышках Центральной

ical isolates and a strain resistant to NA inhibitors ( $IC_{50}$  from 0.004 to 0.04  $\mu\text{g/ml}$ ). In cases of treatment of viral particles with CV-N, virus titers were significantly reduced (more than 1000 times). It was concluded that the target for the lectin was HA. CV-N exhibited antiviral activity by binding to high mannose residues (oligomannose-8 and oligomannose-9) on HA molecules. However, two historical strains of IAV are insensitive to CV-N even at 10 mg/ml: A/PR/8/34 (H1N1) and A/NWS/33 (H1N1).

A study of the effectiveness of CV-N in influenza infection in mice and ferrets showed that the effect of this lectin is dose-dependent, ranging from 0.0625 to 1 mg/kg per day intranasally administered twice a day before infection of animals. In 66.67% of mice infected with the IAV/H3N2 virus, life expectancy has increased, the level of mRNA of viral proteins in the nucleus has decreased, and the severity of pathological changes in the lungs of mice has also decreased.

Although CV-N is a worthy candidate for developing anti-influenza agents, its immunogenicity and toxicity are an obstacle. Its recombinant derivatives were created [13]: linker-CV-N (LCV-N) with a flexible hydrophilic polypeptide at the N-terminus. The 50% concentration of this recombinant lectin was  $0.43 \pm 0.11$   $\mu\text{M}$  for IAV/HK/8/68(H3N2), which was significantly lower than the ribavirin positive control ( $2.88 \pm 0.66 \times 10^3$   $\mu\text{M}$ ). Only 12.5  $\mu\text{m}$  of pegylated LCV-N were needed to inactivate the influenza virus in chick embryos. Thus, LCV-N exhibits a pronounced strain-dependent antiviral activity at nanomolar concentrations *in vitro* and at micromolar concentrations *in vivo*, which indicates the prospects for obtaining new derivatives of CB lectins that do not have adverse side effects.

**Filoviruses** (Mononegavirales: Filoviridae) include causative agents of other higher primates (Primates: Simiiformes) deadly to humans, hemorrhagic fevers with a lethality reaching up to 100% in some cases [52, 53]. These include Zaire ebolavirus (ZEBOV), Sudan ebolavirus (SUDV), Tai forest ebolavirus (TAFV), Bundibugyo virus (BDBV), and Marburg marburgvirus (MARV, *Marburgvirus*). Human pathogenicity of Bombali ebolavirus (BOMV — Bombali ebolavirus), Reston ebolavirus (RESTV — Reston ebolavirus, *Ebolavirus*) and Lloviu cuevavirus (LLOV — Lloviu cuevavirus, *Cuevavirus*) remains unclear [52, 53]. The most extensive ZEBOV-related epidemic occurred in West Africa in 2014–2016 [54].

Filoviruses have flexible, filamentous, enveloped virions, which are 600–800 nm long and 50–80 nm in diameter. The lipid envelope contains a surface glycosylated GP-complex consisting of two subunits (hydrophilic N-terminal GP1 and small hydrophobic transmembrane C-terminal GP2, which are covalently linked by disulfide bridges), as well as VP24 and VP40. The GP complex forms the outer spikes of the virion. A single-stranded RNA of negative polarity [52] represents the genome of filoviruses.



Америки, но соответствующие штаммы изолированы не были [49, 50].

B. R. O'Keefe и соавт. [51] исследовали действие CVN против IAV и ещё одного ортомиксовируса — вируса гриппа В (*Betainfluenzavirus*). Оказалось что CVN и родственные ему гомологи демонстрируют высокую противовирусную активность против всех штаммов этих вирусов, включая клинические изоляты и штамм, устойчивый к ингибиторам NA ( $IC_{50}$  — от 0,004 до 0,04 мкг/мл). В случаях обработки вирусных частиц CVN, титры вируса значительно снижались (более, чем в 1000 раз). Был сделан вывод о том, что мишенью для лектина служил HA. CVN проявлял противовирусную активность, связываясь с остатками с высоким содержанием маннозы (олигоманнозы-8 и олигоманнозы-9) на молекулах HA. Однако есть два исторических штамма IAV, нечувствительных к CVN даже при концентрации 10 мг/мл: A/PR/8/34 (H1N1) и A/NWS/33 (H1N1).

Исследование эффективности CVN при гриппозной инфекции в экспериментах на мышах и хорьках позволило установить, что действие этого лектина зависит от дозы — от 0,0625 до 1 мг/кг в день при интраназальном введении два раза в день до заражения животных. У 66,67% мышей, инфицированных вирусом IAV/H3N2, увеличивалась средняя продолжительность жизни, снижился уровень мРНК вирусных белков в ядре и уменьшилась выраженность патологических изменений в лёгких мышей.

Несмотря на то, что CVN является достойным кандидатом для создания противогриппозных средств, препятствием является его иммуногенность и токсичность. В связи с этим были созданы его рекомбинантные производные [13]: линкер-CVN (LCVN) с гибким гидрофильным полипептидом на N-конце. 50% концентрация этого рекомбинантного лектина составила  $0,43 \pm 0,11$  мкМ для IAV/HK/8/68(H3N2), что было значительно ниже, чем у положительного контроля рибавирина ( $2,88 \pm 0,66 \times 10^3$  мкМ). Для инактивации вируса гриппа в куриных эмбрионах было необходимо всего 12,5 мкМ пегелированного LCVN. Таким образом, LCVN проявляет выраженную зависящую от штамма противовирусную активность в наномолярных концентрациях *in vitro*, а также в микромолярных концентрациях *in vivo*, что свидетельствует о перспективности получения новых производных лектинов ЦБ, не имеющих неблагоприятных побочных эффектов.

**Филовирусы** (Mononegavirales: *Filoviridae*) включают возбудителей смертельно опасных для человека и других высших приматов (Primates: Simiiformes) геморрагических лихорадок с летальностью, доходящей в некоторых случаях до 100% [52, 53]: эболавирус Заир (ZEBOV — Zaire ebolavirus), эболавирус Судан (SUDV — Sudan ebolavirus),

The cellular receptors that the viral GP1 protein binds to are specific lectins: DC-SIGN on the surface of dendritic cells; L-SIGN — cells of the liver and lymph nodes; hMGL (human macrophage C-type lectin specific to galactose/N-acetylgalactosamine — C-lectin of human macrophages specific to N-acetylgalactosamine) — macrophages [54, 55].

Barrientos et al. [57] studied the anti-ZEBOV effect of CV-N: after the addition of lectin to a virus-infected cell culture, the cytopathogenic effect of the pathogen was significantly inhibited. The authors explain the mechanism of CV-N activity by its ability to bind to mannose-rich oligosaccharides of the surface GP-complex. In *in vivo* experiments, CV-N reached the systemic circulation and extended the lifespan of ZEBOV-infected mice both when administered subcutaneously and as inoculations with a mixture of lectin and protein. 90% of mice treated daily with 30 mg/kg CV-N from the day of virus inoculation survived. Smaller doses of lectin (20 or 10 mg/kg/day) determined the survival rate of 80% and 90% of animals, respectively. Despite the high degree of protection of mice from death during EBOV infection, the negative point of its use is a short period of stay in the bloodstream, which required the administration of the drug every 6 h.

Barrientos et al. [57] studied the mechanism of inhibition of CNV penetration into HeLa cells using pseudoviral particles bearing GP belonging to ZEBOV and MAV on their surface. To do this, the viruses were treated with CV-N at various concentrations for 20 min at room temperature and then added to a monolayer of HeLa cells.

Jurkat cells expressing DC-SIGN were also infected with these recombinant viruses. Infectivity was measured 48 hours after infection.  $IC_{50}$  for CV-N in live virus testing ranged from ~80–100 nmol/L. Experiments have confirmed that the antiviral effect of lectin is associated with its interaction with carbohydrate fragments of the GP virus. Studies with MbgVGP have shown that cyanovirin is more effective against this target ( $IC_{50}$  ~6–25 nmol/L) than against EboV-ZGP ( $IC_{50}$  ~40–60 nmol/L). The authors attribute this fact to an increased presence of Man-8 and Man-9 on the Marburgvirus GP than on the Ebolavirus Zaire GP (these glycoproteins have 24 and 17 N-glycosylation sites, respectively). It was demonstrated on Jurkat cell culture that CV-N prevents the interaction between DC-SIGN and Zaire ebolavirus ( $IC_{50}$  ~40–110 nmol/l). Thus, CV-N and DC-SIGN can compete for virus GP binding, presumably through steric interference.

SCV from CB *Scytonema varius* has proven efficacy against SUDV [58]. In Vero-6 cell culture, lectin at a concentration ( $IC_{50}$ ) of 50 nM inhibited ZEBOV replication with a 50% effect. With the same  $EC_{50}$  values, it was active against MARV. 45 min after subcutaneous administration to mice, lectin was detected at a peak level in plasma (100 nM), but not present in

эболавирус леса Таи (TAFV — Tai forest ebolavirus), эболавирус Бундибугё (BDBV — Bundibugyo virus) (*Ebolavirus*) и марбургвирус Марбург (MARV — Marburg marburgvirus) (*Marburgvirus*). Остаётся неясной патогенность для человека эболавируса Бомбали (BOMV — Bombali ebolavirus), эболавируса Рестон (RESTV — Reston ebolavirus) (*Ebolavirus*) и куэвавируса Лловиу (LLOV — *Lloviu cuevavirus*) (*Cuevavirus*) [52, 53]. Наиболее обширная эпидемия, связанная с ZEBOV, имела место на территории Западной Африки в 2014–2016 гг. [54].

Филовирусы имеют гибкие нитевидные оболочечные вирионы длиной 600–800 нм и диаметром 50–80 нм. Липидная оболочка содержит поверхностный гликозилированный GP-комплекс, состоящий из двух субъединиц (гидрофильную N-концевую GP<sub>1</sub> и малую гидрофобную трансмембранную C-концевую GP<sub>2</sub>, которые ковалентно связаны дисульфидными мостиками), а также VP24 и VP40. GP-комплекс образует внешние «шипы» вириона. Геном филовирусов представлен одноцепочечной РНК негативной полярности [52].

Клеточными рецепторами, с которыми связывается вирусный белок GP<sub>1</sub>, являются специфические лектины: DC-SIGN на поверхности дендритных клеток; L-SIGN — клеток печени и лимфатических узлов; hMGL (human macrophage C-type lectin specific to galactose/N-acetylgalactosamine — C-лектин человеческих макрофагов, специфичный к N-ацетилгалактозамину) — макрофагов [54, 55].

L. G. Barrientos и соавт. [56] исследовали анти-ZEBOV действие CVN: после добавления лектина в инфицированную вирусом культуру клеток значительно ингибировалось цитопатогенное действие возбудителя. Механизм активности CVN авторы объясняют его способностью связываться с богатыми маннозой олигосахаридами поверхностного GP-комплекса. В экспериментах *in vivo* CVN достигал системного кровотока и увеличивал продолжительность жизни мышей, инфицированных ZEBOV, как при подкожном введении, так и в виде прививок смесью лектина и белка. 90% мышей, получавших в день 30 мг/кг CVN, начиная со дня инокуляции вируса, выживали. Меньшие дозы лектина (20 или 10 мг/кг/сут) обуславливали выживаемость, соответственно, 90 и 80% животных. Несмотря на высокую степень защиты мышей от гибели при EBOV-инфекции, отрицательным моментом его применения является кратковременное нахождение в кровотоке, что требовало введения препарата через каждые 6 ч.

Barrientos и соавт. [57] с помощью псевдовирусных частиц, несущих на своей поверхности GP, принадлежащий ZEBOV и MAV, исследовали механизм ингибирования CNV проникновения их в клетки HeLa. Для этого вирусы обрабатывали циановирином-N в различных концентрациях в

the bloodstream after 4 h. When SCV at 30 mg/ kg/day was administered subcutaneously to ZEBOV-infected mice every 6 h from the day before infection, 9 out of 10 animals survived. All infected untreated mice died. If treatment was started an hour or a day after infection, 70–90% of animals survived. In lectin-treated mice, minor pathological changes were observed in the liver and lungs. In untreated animals, extensive necrosis and inflammation occurred, and a large amount of viral antigen was recorded in hepatocytes and Kupffer cells.

Despite the high activity and low toxicity, the short half-life of SCV does not yet allow us to hope for its development as a drug soon. However, it is expected that the increase in the half-life of the lectin will be overcome through various modifications [59, 60], and the lectin will be used both for the prevention and treatment of Ebola.

**Human immunodeficiency virus (HIV, Ortervirales: Retroviridae, *Lentivirus*)** is an enveloped virus with a virion diameter of 100–120 nm, equipped with 72 peplomers, each of which is a trimer of gp41 transmembrane glycoproteins and non-covalently bound to it three molecules of the surface glycoprotein gp120. Entry of HIV into the target cell begins with the interaction of gp120 with the cellular CD4 receptor, which triggers conformational changes in gp120 and increases its affinity for the chemokine receptors CXCR4 or CCR5. Binding to coreceptors, in turn, causes a conformational change in gp41 and the release of its hydrophobic fusion peptide, which pierces the lipid membranes of the attacked cell. As a result of the fusion of the viral and cell membranes, a fusion pore is formed, which serves as a «gateway» for the penetration of the viral nucleocapsid into the cytoplasm. Two copies of the positive polarity virion RNA serve as templates for reverse transcription, resulting in the formation of double-stranded proviral DNA, which is transported to the nucleus and integrated into the chromosomal DNA. As part of the chromosome, the provirus undergoes transcription, followed by the synthesis of viral proteins and replication with the formation of new virion RNA, which are part of the daughter virions [61–63]. HIV is classified into two types: HIV-1 and HIV-2. 4 genetic groups of HIV-1 are known (M, N, O, P); group M includes 10 subtypes (A, B, C, D, F1, F2, G, H, J, K); subtype A is divided into 8 sub-subtypes (A1..8) [64–66].

Polysaccharides in the surface glycoproteins of HIV play a certain role in the primary non-specific binding of the virus to the surface of cells that have glycan receptors — for example, DC-SIGN (CD209, intercellular adhesion molecule of dendritic cells-transmembrane C-type lectin) on the surface of dendritic cells (DC) and macrophages, which is a C-lectin [67].

The anti-HIV activity of CB lectins has been known for a long time [68–69]. They can bind to the glycans of the virus with high affinity and neutralise

течение 20 мин при комнатной температуре и затем добавляли в монослой клеток HeLa.

Клетки Jurkat, экспрессирующие DC-SIGN, также инфицировали этими рекомбинантными вирусами. Инфекционность измеряли через 48 ч после заражения.  $IC_{50}$  для CN-V при исследовании живого вируса находилась в диапазоне ~80–100 нмоль/л. Эксперименты подтвердили, что противовирусное действие лектина связано с его взаимодействием с углеводными фрагментами GP вируса. Исследования с MbgVGP показали, что в отношении этого объекта циановирин более эффективен ( $IC_{50}$  ~6–25 нмоль/л), чем в отношении EboV-ZGP ( $IC_{50}$  ~40–60 нмоль/л). Авторы связывают этот факт с большим количеством Man-8 и Man-9 на GP марбургвируса, чем на GP эболавируса Заир (эти гликопротеины имеют 24 и 17 сайтов N-гликозилирования, соответственно).

На клеточной культуре Jurkat продемонстрировано, что CN-V препятствует взаимодействию между DC-SIGN и эболавируса Заир ( $IC_{50}$  ~40–110 нмоль/л). Таким образом, CN-V и DC-SIGN могут конкурировать за связывание GP вируса, предположительно посредством стерической интерференции.

SVN из цианобактерии *Scytonema varius* имеет доказанную эффективность против SUDV [58]. В клеточной культуре Vero-6 лектин в концентрации ( $IC_{50}$ ) 50 нМ с 50% эффектом ингибировал репликацию ZEBOV. С такими же показателями  $EC_{50}$  он был активен против MARV. Через 45 мин после подкожного введения мышам лектин обнаруживался на пиковом уровне в плазме (100 нМ), однако через 4 ч исчезал из кровотока. В том случае, когда SCV в дозе 30 мг/кг/день вводили подкожно мышам, инфицированным ZEBOV, каждые 6 ч, начиная за день до заражения, живыми оставались 9 из 10 животных. Все инфицированные нелеченные мыши погибали. Если лечение начинали через час или через сутки после заражения, выживали 70–90% животных. У леченных лектином мышей наблюдались незначительные патоморфологические изменения в печени и лёгких, в то время как у нелеченных животных имели место обширный некроз и воспаление, регистрировалось большое количество вирусного антигена в гепатоцитах и клетках Купфера.

Несмотря на высокую активность и незначительную токсичность, короткий период полувыведения SCV а не позволяет пока надеяться на его разработку в качестве лекарства в ближайшее время. Однако можно надеяться, что увеличение периода полужизни лектина будет преодолено путём различных модификаций [59, 60], и лектин будет использоваться как для профилактики, так и для терапии лихорадки Эбола.

**Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ)** (Order: *Retrovirales*; *Lentivirus*) является оболоч-

it at an  $IC_{50} < 30$  pM. Polysaccharide residues in gp41 and gp120 are called the «glycan shield», the primary purpose of which is to protect conserved regions from the action of proteases and to neutralise antibodies [15, 70].

Researchers paid particular attention to CV-N, which refers to microbicides — topical antiseptic drugs that help directly or indirectly inhibit the penetration of an infectious agent into the human body, thereby preventing the sexual transmission of HIV and other sexually transmitted diseases [71]. Currently, microbicides are not on the pharmaceutical market worldwide, although their development is intensively carried out. Hundreds of potential anti-HIV compounds are in various stages of pharmacological testing. Research in this area is just beginning and should be promising [72]. CV-N binds to gp120 glycans and prevents its further interaction with CD4 and chemokines CCR5 and CXCR4 [63]. The resulting CV-N-gp120 complex is so stable that even detergents do not destroy it [73]. Lectin also prevents the fusion of infected and uninfected cells [63]. CV-N not only possesses a direct local antiviral mechanism of action in sexual transmission of HIV but also affects the components of mucosal immunity and is effective as a topical agent against rectal and vaginal transmission, which was confirmed in experiments in vivo using the chimeric virus SHIV-89.6 P adapted to macaques [74]. Female cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) treated topically with CV-N gel to prevent a sexually transmitted disease were resistant to infection [75]. In addition, CV-N was effective in nanomolar amounts against other lentiviruses: monkey immunodeficiency virus (SIV — Simian immunodeficiency virus) and feline immunodeficiency virus (FIV — Feline immunodeficiency virus) [14].

Although experiments on macaques treated with CV-N did not reveal any side effects, some risk (especially with long-term use of the microbicide) still exists [14]. Based on other scientists' experiments, the authors note morphological changes in peripheral blood mononuclear cells, increased mitogenicity, as well as an increase in the level of chemokines and toxicity to primary human keratinocytes as adverse side effects [76–77]. However, CV-N derivatives have a pronounced antiviral inhibitory effect and reduced toxicity against the HaCaT keratinocyte cell line and MT-4 T-lymphocyte cell lines [78, 79].

Other CB lectins can also be the potential anti-HIV agents. Thus, MVN effectively binds to the carbohydrate structures of HIV at nanomolar concentrations comparable to CV-N but with about 50 times lower cytotoxicity ( $CC_{50} = 2–12$  nM). Microvirin inhibited a wide range of laboratory-adapted HIV-1 strains and clinical isolates in peripheral blood mononuclear cells. This lectin also suppressed syncytia formation between persistently infected HIV-1 T cells and uninfected CD4+ T cells, as well as inhibited DC-SIGN-

чечным вирусом с диаметром вириона 100–120 нм, снабжённым 72 пепломерами, каждый из которых представляет собой тример трансмембранных гликопротеинов gp41 и нековалентно связанные с ним три молекулы поверхностного гликопротеина gp120. Проникновение ВИЧ в клетку-мишень начинается со взаимодействия gp120 с клеточным рецептором CD4, которое запускает конформационные изменения gp120 и увеличивает его аффинность к хемокиновым рецепторам CXCR4 или CCR5. Связывание с корцепторами, в свою очередь, вызывает конформационное изменение в gp41 и высвобождение входящего в его состав гидрофобного пептида слияния, который вонзается в липидную мембрану атакуемой клетки. В результате слияния вирусной и клеточной мембран формируется фузионная пора, служащая «воротами» для проникновения вирусного нуклеокапсида в цитоплазму. Две копии вирионной РНК позитивной полярности служат матрицами для обратной транскрипции, в результате чего формируется двуцепочечная провирусная ДНК, которая транспортируется в ядро и интегрируется в хромосомную ДНК. Провирус в составе хромосомы подвергается транскрипции с последующим синтезом вирусных белков и репликации с формированием новых вирионных РНК, которые входят в состав дочерних вирионов [61–63]. ВИЧ подразделяется на два типа: ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Известны 4 генетические группы ВИЧ-1 (M, N, O, P); группа M включает 10 субтипов (A, B, C, D, F1, F2, G, H, J, K); субтип A делится на 8 подсубтипов (A1..8) [64–66].

Полисахариды в составе поверхностных гликопротеинов ВИЧ играют определённую роль в первичном неспецифическом связывании вируса с поверхностью клеток, имеющих гликановые рецепторы, например, DC-SIGN (CD209, молекула межклеточной адгезии дендритных клеток-трансмембранный лектин С-типа) на поверхности дендритных клеток (ДК) и макрофагов, представляющий собой С-лектин [67].

Анти-ВИЧ активность лектинов ЦБ известна достаточно давно [68, 69]. Они могут с высоким сродством связываться с гликанами вируса и нейтрализовать его при  $IC_{50} < 30$  пМ. Полисахаридные остатки в составе gp41 и gp120 называют «гликановым щитом», главное предназначение которого — защита консервативных участков от действия протеаз и нейтрализующих антител [15, 70].

Особое внимание исследователей было обращено на CVN, который относится к микробцидам — антисептическим топическим лекарственным средствам, способствующим напряжению или опосредованно сдерживать проникновение инфекционного агента в организм человека, тем самым предотвращая половую передачу вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) и других забо-

mediated binding and transmission of HIV-1 to CD4<sup>+</sup> T cells. The authors proved that the mutant strain, exposed to increasing concentrations of MVN for a long time, remained sensitive to other lectins (CVN, GNA and UDA). Unlike CV-N, microvirin did not increase CD25, CD69, and HLA-DR activation markers in CD4<sup>+</sup> T-lymphocytes; it did not enhance viral replication in pretreated peripheral blood mononuclear cells. The authors qualified microvirin as a potentially promising lectin, a microbicide with strong antiviral activity, no toxicity, and no stimulant properties [80].

Shahid et al. [81] developed a variant of microvirin — LUMS1, consisting of two domains with 100% sequence identity, which reduced chemical heterogeneity — the main factor in the manifestation of immunogenicity. LUMS1 showed little cytotoxicity and did not activate Th cells. This variant of microvirin may also be promising for developing antiviral therapy.

SV-N also has a pronounced anti-HIV activity against various HIV-1 isolates ( $IC_{50} = 0.3–22$  nM) due to interaction with gp120 and gp41. Lectin binds to the Man $\alpha$ (1-2), Man $\alpha$ (1-6), Man $\alpha$ (1-6)Man tetrasaccharides of viral envelope glycoproteins, especially gp120. SVN has two structural domains — SD1 and SD2. Binding occurs in two domains at once, but the SD1 domain has a higher affinity for oligosaccharides compared to SD2. Lectin-pretreated CEM-SS cells retained normal susceptibility to HIV infection. After pretreatment and removal of SV-N, the virus retained its virulence. Co-culture of non-infected cells and chronically infected CEM-SS cells induced concentration-dependent inhibition of cell fusion [14].

The genes encoding CB lectins can be inserted into other microorganisms. For example, to enhance the action of CB lectins against HIV, lactobacilli (*Lactobacillales: Lactobacillaceae, Lactobacillus*) expressing CV-N were obtained. It is known that lactobacilli are one of the main components of the normal microflora of the vagina. A gene producing the CV-N protein is introduced into the genome of the lactobacillus *L.jensenii*, which binds to the virus, envelops it and prevents the pathogen from entering the vaginal epithelium. Vaginal administration of CV-N-expressing lactobacilli to macaques reduced infection transmission by 63% and proved to be a good preventive measure during sexual intercourse [75]. At the same time, there was no increased production of inflammatory markers and other side effects. The authors believe that a more pronounced preventive effect can be achieved in humans due to the higher (10 times more) content of lactobacilli in the female vagina than in macaques. In addition to the fact that such a microbicide based on live bacteria binds mannose residues on the surface of the virion, it also restores the normal microflora of the vagina.

Lagenaur et al. [82] described the effectiveness of the biotherapeutic agent MucocSept for the preven-

леваний, передающихся половым путем [71]. В настоящее время микробицидов на фармацевтическом рынке нет во всем мире, хотя разработка их интенсивно проводится. На разных стадиях фармакологических испытаний находятся сотни потенциальных анти-ВИЧ соединений. Фактически исследования в этой области только начинаются и, по-видимому, должны быть перспективными [72]. CVN связывается с гликанами gp120 и препятствует его дальнейшему взаимодействию с CD4 и хемокинами CCR5 и CXCR4 [63]. Образующийся комплекс CVN-gp120 настолько устойчив, что его не разрушают даже детергенты [73].

Лектин также предотвращает слияние инфицированных и неинфицированных клеток [63]. CVN обладает не только прямым местным противовирусным механизмом действия при половой передаче ВИЧ, но и влияет на компоненты мукозального иммунитета и оказался эффективным в виде наружного средства против ректальной и вагинальной передачи, что было подтверждено в экспериментах *in vivo* с использованием химерного вируса SHIV-89.6P, адаптированного к макакам [74]. Самки яванских макаков (*Macaca fascicularis*), получавшие гель CVN местно для профилактики заболевания, передаваемого половым путем, были устойчивы к заражению [75]. Кроме того, CVN оказался эффективен в наномолярных количествах по отношению к другим лентивирусам: иммунодефицита обезьян (SIV — Simian immunodeficiency virus) и иммунодефицита кошачьих (FIV — Feline immunodeficiency virus) [14].

Хотя эксперименты на макаках, получавших CVN, не выявили каких-либо побочных явлений, некоторый риск (особенно при длительном применении микробицида) существует [14]. Основываясь на экспериментах других учёных, авторы отмечают в качестве неблагоприятных побочных эффектов морфологические изменения мононуклеарных клеток периферической крови, усиление митогенности и увеличение уровня хемокинов, токсичность для первичных кератиноцитов человека [76, 77]. Однако известны производные CVN с выраженным противовирусным ингибирующим эффектом и сниженной токсичностью по отношению к клеточной линии кератиноцитов HaCaT и клеточным линиям Т-лимфоцитов MT-4 [78, 79].

Другие лектины цианобактерий тоже являются потенциальными средствами против ВИЧ-инфекции. Так, MVN эффективно связывается с углеводными структурами ВИЧ в наномолярных концентрациях, сравнимых с CVN, но с примерно 50 раз меньшей цитотоксичностью ( $CC_{50} = 2-12$  нМ). Микровирин ингибировал широкий спектр лабораторно-адаптированных штаммов ВИЧ-1 и клинических изолятов в мононуклеарных клетках периферической крови. Этот лектин также подавлял образование синцитий

of HIV infection in women. *L.jensenii* has been modified with CV-N. The finished product was highly soluble *in vitro* and was easy to use. Vaginal administration of tablets to macaques resulted in vaginal colonization of MucoCept *Lactobacillus* in 66% after 14 days and in 83% after 21 days.

Based on CV-N studies in monkeys, Lofti et al. [83] calculated that the use of 5 mg of lectin twice a week would require the production of lectin about 5000 kg per year to meet the needs of 10 million women. To provide microbicides to the world's poor, it is vital to reduce the cost of these funds. Large-scale production is possible only through the establishment of recombinant CV-N production. For this, various methods and materials are offered. These are pro- and eukaryotic cells, bacteria, plants. The difficulty lies in the fact that anti-HIV activity (CV-N-gp120 interaction) depends on the correct disulfide-bonding pattern during scale-up production. Transgenic plants demonstrated a high yield of lectin, while Madeira et al. [84] increased the yield of CV-N using the hydroponic method. Semi-purified CV-N was shown to bind to gp120 in ELISA and neutralize HIV with an  $IC_{50} = 6$  nM. Thus, rhizosecretion is a practical and inexpensive method for obtaining CV-N. Purified recombinant soybean CV-N has anti-HIV activity with an  $IC_{50}$  of 0.82–2.7 nM (versus 0.45–1.8 nM for CV-N produced by *E.coli*) [85].

Armario-Najera et al. [86] expressed the SD1 domain of CV-N in rice seeds as a potential large-scale production platform, confirmed that such SD1 binds HIV gp120 *in vitro* experiments, and neutralized the virus *in situ*.

**Hepatitis C virus** (HCV — Hepatitis C virus, Amarillovirales: Flaviviridae, *Hepacivirus*) is the etiological agent of hepatitis C, one of the most pressing health problems worldwide. HCV infection can become chronic and lead to the development of liver cirrhosis and fibrosis or hepatocellular carcinoma [87]. The genome of this virus, differentiated into 8 genotypes and 67 subtypes, is a single-stranded RNA of positive polarity, which is included in an enveloped virion with a diameter of 30–50 nm, containing 2 main surface proteins, E1 and E2 [88, 89].

E1 and E2 are envelope glycoproteins required for virus attachment to its receptor/coreceptors and subsequent internalisation into target cells via pH-dependent and clathrin-mediated endocytosis [90]. The large terminal ectodomain anchors the virus to its receptors, and the terminal transmembrane domain anchors each glycoprotein in the lipid bilayer. The N-terminal domains are highly glycosylated, and the structure is stabilised by disulfide bridges [91]. About 1/3 of the total molecular weight of E1-E2 heterodimers are N-glycans with a high content of mannose even after the release of viral particles from cells.

Drug-resistant HCV variants often appear, and constant work is needed to design new drug variants

между персистентно инфицированными ВИЧ-1 Т-клетками и неинфицированными CD4<sup>+</sup>-Т-клетками, ингибировал опосредованное DC-SIGN связывание и передачу ВИЧ-1 к CD4<sup>+</sup>-Т-клеткам. Авторы доказали, что мутантный штамм, в течение длительного времени подвергавшийся воздействию MVN в возрастающих концентрациях по-прежнему оставался чувствительным к другим лектинам (CVN, GNA и UDA). В отличие от CVN микроирин не повышал уровень маркеров активации CD25, CD69 и HLA-DR в CD4<sup>+</sup>-Т-лимфоцитах, т. е. не усиливал репликацию вируса в предварительно обработанных мононуклеарных клетках периферической крови. Авторы квалифицировали микроирин как потенциально перспективный лектин, микробицид, обладающий сильной противовирусной активностью, отсутствием токсичности и каких-либо стимулирующих свойств [80].

М. Shahid и соавт. [81] разработали вариант микроирина — LUMS1, состоящий из двух доменов со 100% идентичностью последовательностей, что уменьшало химическую гетерогенность — основной фактор проявления иммуногенности. LUMS1 показал незначительную цитотоксичность, не активировал Th-клетки. Такой вариант микроирина также может быть перспективным для разработки противовирусной терапии.

SVN тоже обладает выраженной анти-ВИЧ активностью в отношении различных изолятов ВИЧ-1 ( $IC_{50} = 0,3\text{--}22$  нМ) благодаря взаимодействию с gp120 и gp41. Лектин связывается с тетрасахаридами Man $\alpha$ (1–2), Man $\alpha$ (1–6), Man $\alpha$ (1–6)Man вирусных оболочечных гликопротеинов, особенно с gp120. SVN имеет два структурных домена — SD1 и SD2. Связывание происходит сразу в двух доменах, но домен SD1 имеет более высокое сродство к олигосахаридам по сравнению с SD2. Предварительно обработанные лектином клетки СЕМ-SS сохраняли нормальную восприимчивость к ВИЧ-инфекции. После предварительной обработки и удаления SVN вирус сохранял нормальную инфекционность. Совместное культивирование неинфицированных клеток и хронически инфицированных клеток СЕМ-SS вызывало зависящее от концентрации ингибирование слияния клеток [14].

Гены, кодирующие лектины ЦБ, могут быть встроены в другие микроорганизмы. Например, для усиления действия лектинов ЦБ против ВИЧ получены лактобактерии (Lactobacillales: Lactobacillaceae, *Lactobacillus*), экспрессирующие CVN. Известно, что лактобактерии являются одним из основных компонентов нормальной микрофлоры влагалища. В геном лактобактерии *Lactobacillus jensenii* вводят ген, продуцирующий белок CVN, который связывается с вирусом, обволакивает его и препятствует проникнове-

and search for new targets for them. Lectins from algae and cyanobacteria effectively inhibit HCV, but the toxic and immunogenic effects of these compounds do not allow presenting them as drugs so far. However, the HCV life cycle is highly conserved and may be a suitable target for antiviral therapy [92].

Progress in the development of a laboratory model of HCV cell culture (HCVcc) and pseudoviral particles bearing E1 and E2 glycoproteins on their surface allows the identification of potential molecules that inhibit the entry of HCV into the host cell [14].

Kachko et al. [93] showed that cyanobacterial lectins inhibit HCV infection through various mechanisms. CV-N and MLV appear to function by binding to both viral N-glycans and cell surface proteins, which play an essential role in cell survival and proliferation. MLV and CV-N bind to Huh7.5 target cells, and only this binding leads to infection inhibition in HCVcc. Thus, these lectins target uninfected Huh7.5 cells that have high-mannose glycoproteins on their surface and bind to the envelope of recombinant HCV E1E2, albeit with lower affinity. The authors believe that the binding of the lectin to the cell may be the cause of its toxicity. This position proves the absence of toxicity in the lectin obtained from *Galanthus nivalis* (GNA), which does not bind to cells. Other lectins can only bind to viral particles. These differences must be taken into account when developing new lectins.

Because microvirin is a known effective lectin against HIV, and is less toxic than known CV-N, it has also been tested as an inhibitor of HCV. The lectin consists of two structural domains, only one of which is involved in binding to glycan epitopes on the virus's surface. Size and chemical heterogeneity are significant factors influencing the immunogenicity of a protein. Therefore, Shahid et al. [81] constructed two types of microvirin, one consisting only of a carbohydrate-binding domain almost half the size of the original protein. The second type included two domains with an identical amino acid sequence. As a result of numerous experiments, the authors developed a variant of microvirin (LUMS1), which was highly influential in suppressing the virulence of the virus but was less toxic and immunogenic. This lectin variant had the same effect on HIV, especially when combined infections. The structure of the new lectin construct was similar to the previous one. Still, in contrast, each of the structural domains of LUMS1 contained a putative carbohydrate-binding site and two potential disulfide bonds. To confirm that LUMS1 prevents HCV entry mediated by HCV E1/E2, the HCV pseudoparticle (HCVpp) system was used, which found that the novel microvirin variant LUMS1 specifically inhibits HCVpp with an  $EC_{50}$  of  $142 \pm 23$  нМ.

The activation of Th-T-lymphocytes is considered an important marker of immunogenicity [94]. The authors found that both LUMS1 and microvirin did not increase the population of CD4<sup>+</sup> and CD25<sup>+</sup> cells. As a

нию патогена в эпителий влагалища. При вагинальном введении макакам лактобактерий, экспрессирующих CVN, передача инфекции снижалась на 63%, и это оказалось неплохой профилактической мерой при половых контактах [75]. При этом не наблюдалось повышенной продукции маркеров воспаления и других побочных эффектов. Авторы считают, что в связи с более высоким (в 10 раз больше) содержанием лактобацилл в женском влагалище, чем у макак, у людей можно будет получить более выраженный профилактический эффект. Кроме того, что такой микробицид на основе живых бактерий связывает маннозные остатки на поверхности вириона, он ещё восстанавливает нормальную микрофлору влагалища.

L. A. Lagenaug и соавт. [82] описали эффективность биотерапевтического средства МусоСерт для профилактики ВИЧ-инфекции у женщин. *Lactobacillus jensenii* была модифицирована CVN. Готовое средство было хорошо растворимо *in vitro*, было простым в употреблении. Вагинальное введение таблеток макакам приводило к колонизации МусоСерт *Lactobacillus* влагалища у 66% через 14 дней, и у 83% — через 21 день.

На основании исследований CVN на макаках H. Lofti и соавт. [83] рассчитали, что применение 5 мг лектина 2 раза в неделю потребует продукции лектина около 5000 кг в год для обеспечения потребностей 10 млн женщин. Чтобы обеспечить микробицидами бедные районы земного шара жизненно важно снизить стоимость этих средств. Масштабное производство возможно только путём создания производств рекомбинантного CVN. Для этого предлагают различные способы и материалы. Это про- и эукариотические клетки, бактерии, растения. Сложность заключается в том, что анти-ВИЧ активность (взаимодействие CVN-grp120) зависит от правильного характера образования дисульфидных связей во время масштабного производства. Высокий выход лектина продемонстрировали трансгенные растения, а L. M. Madeira и соавт. [84] увеличили выход CVN при использовании гидропонного метода. Было продемонстрировано, что очищенный CVN связывается с grp120 в ELISA и нейтрализует ВИЧ с  $IC_{50} = 6$  нМ. Таким образом, ризосекреция является практичным и недорогим методом получения CVN.

Очищенный рекомбинантный CVN из сои обладает анти-ВИЧ активностью с  $IC_{50} = 0,82-2,7$  нМ (по сравнению с 0,45–1,8 нМ для CVN, продуцируемого *E.coli*) [85].

V. Armario-Najera и соавт. [86] экспрессировали SD1-домен CVN в семенах риса, которые использовали в качестве потенциальной крупномасштабной производственной платформы и подтвердили, что такой SD1 связывал grp120 ВИЧ

comparison drug, CV-N showed high cell activation in this case. LUMS1, when treated with lymphocytes at the concentrations up to 4  $\mu$ M, did not significantly increase in the CD20+ population. In contrast, MVN values, even at a concentration of 2  $\mu$ M, were substantially higher. The new drug had low toxicity against HepG2, Huh7.5 and PBMC cells at 10  $\mu$ M. The selectivity index for LUMS1 was 108, indicating a favourable safety profile for the compound. All this allowed the authors to position LUMS1 as an attractive potential candidate acting against HCV and HIV, since it inhibits both viruses, is almost non-toxic (non-toxic at concentrations acting on the virus), and only slightly activates B-lymphocytes and Th-cells.

Other authors [95] have shown that microvirin oligomers are more effective at inhibiting HCV than monomers. At the same time, lectin tri- and tetramers had higher activity than monomers and dimers. Almost complete neutralisation of the virus was observed at 650 ng/ml. Thus, the authors achieved virus neutralisation at a lower lectin concentration by increasing the degree of oligomerisation and the length of the oligopeptide linker.

SCV is also an inhibitor of HCV and a new drug for treating infections caused by pathogens with a high content of mannose [85]. The author recommends this lectin as a powerful tool for systemic and topical use. SCV inhibits both HCV and pseudoparticles in cell cultures at pico- and nanomolar concentrations and targets E1 and E2 envelope glycoproteins [96].

The selectivity index is  $SI > 1400$ . SCV inhibited virus entry in the range of 3.2–96 nM. The authors attribute the effectiveness of the lectin to its targeting of high-mannose oligosaccharides at either E1 or E2. CV-N binds to HCV envelope glycoproteins and blocks the interaction between the E2 envelope protein and CD81, a cell surface molecule involved in the entry of the virus into the body [97].

Izquierdo et al. [98] published exciting material on developing HCV resistance to carbohydrate-binding lectins. The authors cultivated the hepatitis C virus for more than 8 weeks in solutions with increasing concentrations of various lectins, including CV-N, after which they sequenced the genome of the isolated strains and identified resistance mutations in the E1E2 envelope glycoproteins. It was found that mutations do not directly transmit HCV resistance to lectins in the E1E2 envelope protein genes. It may arise through an indirect mechanism, including mutation in other viral proteins, which must be further differentiated.

The above materials show that CB lectins can be efficient components of hepatitis C therapy as pathogen entry inhibitors, which can and should be improved in reducing toxicity and immunogenicity, increasing their anti-infective properties and methods of delivery. However, there are still many unanswered questions.

в экспериментах *in vitro*, а также нейтрализовал вирус *in situ*.

**Вирус гепатита С** (HCV — Hepatitis C virus) (Amarillovirales: Flaviviridae, *Hepacivirus*) является этиологическим агентом гепатита С, который является одной из наиболее актуальных проблем здравоохранения во всём мире. Инфекция HCV может хронизироваться и приводить к развитию цирроза и фиброза печени или гепатоцеллюлярной карциномы [87]. Геном этого вируса, дифференцируемый на 8 генотипов и 67 подтипов, представляет собой одноцепочечную РНК позитивной полярности, которая включается в оболочечный вирион диаметром 30–50 нм, который содержит 2 основных поверхностных белка E1 и E2 [88, 89].

E1 и E2 — гликопротеины оболочки, необходимые для прикрепления вируса к его рецептору/корцепторам и последующей интернализации в клетки-мишени посредством pH-зависимого и опосредованного клатрином эндоцитоза [90]. Большой концевой эктодомен служит для прикрепления вируса к его рецепторам, а концевой трансмембранный домен закрепляет каждый гликопротеин в липидном бислое. N-концевые домены сильно гликозилированы, а структура стабилизирована дисульфидными мостиками [91]. Около 1/3 общей молекулярной массы гетеродимеров E1-E2 является N-гликанами с большим содержанием маннозы даже после выхода вирусных частиц из клеток.

Достаточно часто появляются лекарственно-устойчивые варианты HCV и необходима постоянная работа по конструированию новых вариантов лекарств и поиску новых мишеней для них. Лектины из водорослей и цианобактерий достаточно эффективно ингибируют HCV, однако токсическое и иммуногенное действие этих соединений до настоящего времени не позволяют представить их в качестве лекарственных средств. Вместе с тем жизненный цикл HCV отличается высокой консервативностью и может быть подходящей мишенью для противовирусной терапии [92].

Прогресс в разработке лабораторной модели HCV (клеточной культуры HCVcc) и псевдовирусных частиц, несущих на своей поверхности гликопротеины E1 и E2, позволяют идентифицировать потенциальные молекулы, ингибирующие проникновение HCV в клетку-хозяина [14].

A. Kachko и соавт. [93] показали, что лектины цианобактерий ингибируют инфекцию HCV с помощью различных механизмов. CVN и MLV функционируют, по-видимому, путём связывания как с N-гликанами вирусного белка, так и с белками клеточной поверхности, которые играют важную роль в выживании и пролиферации клеток. MLV и CVN связываются с клетками-мишенями Nuh7.5, и только это связывание

## Conclusion

The carbohydrate code underlies the critical biological pathway of information transmission, through which intercellular interactions and cell signalling are organised. Receptors for glycans (lectins) are endowed with the ability to target various counter receptors in terms of their structure and topological mode of presentation [99]. However, lectins can play a vital role in regulating biological processes such as cell growth and immune response, as well as serve as tools for studying the structural aspects of glycobiology [100].

The effective mechanism of action of mannose-binding lectins from cyanobacteria on enveloped viruses has stimulated the development of these molecules as therapeutic and prophylactic agents. Lectins are highly specific compounds with a broad spectrum of activity. Attention is drawn to the possibility of their local application and the almost complete absence of virus resistance formation.

At this study stage, antiviral lectins are being investigated as agents acting against, primarily, HIV [59]. It should be borne in mind that the study of CB lectins is only an emerging field that poses many questions for researchers.

Many researchers point out that, despite excellent *in vitro* antiviral results and reasonably promising, but not numerous, results from *in vivo* experiments, the promotion of CB lectins in the clinic faces significant challenges, including cytotoxicity immunogenicity, antigen specificity, and limited stability.

First of all, the question of the bioavailability of these compounds arises. They cannot be taken orally without special modifications or protections, as digestive enzymes break them down. CV-N was available for testing antiviral activity against the Ebola virus after subcutaneous injection in mice. At the same time, he increased the average life span of animals, i.e. lectin was bioavailable and retained activity after subcutaneous injection.

CB lectins, in some cases, are toxic, antigenic, and act on immune cells. However, many adverse side effects can be avoided if recombinant compounds with new properties are obtained [101]. Thus, CV-N has been modified by site-specific conjugation with polyethylene glycol in a pegylation reaction to improve the lectin's therapeutic properties. When administered intravenously, pegylated CV-N was significantly less immunogenic than parental CV-N.

Lectin-induced mitogenicity can be overcome using glycoengineering techniques such as Banhac, which was developed to eliminate the mitogenicity of lectins from other sources [102]. At the same time, there was no damage to antiviral activity to Ebola and influenza viruses [103, 104]. Future studies on the effectiveness of CB lectins should be associated with searching for new strategies for delivering these very interesting and promising compounds to avoid the existing difficulties and accelerate progress in the clinic.



приводит к ингибированию инфекции в HCVcc. Т. е. эти лектины нацелены на неинфицированные клетки Huh7.5, на поверхности которых присутствуют гликопротеины с высоким содержанием маннозы, а также связываются с оболочкой рекомбинантного HCV E1E2, хотя и с более низкой аффинностью. Авторы полагают, что связывание лектина с клеткой может быть причиной его токсичности. Доказательством этого положения является отсутствие токсичности у лектина, полученного из *Galanthus nivalis* (GNA), не связывающегося с клетками. Другие лектины могут связываться только с вирусными частицами. Эти различия необходимо учитывать при разработке новых лектинов.

Поскольку микровирин представляет собой известный эффективный лектин против ВИЧ, и менее токсичен по сравнению с известным CVN, он был испытан и в качестве ингибитора HCV. Лектин состоит из двух структурных доменов, только один из которых участвует в связывании с гликановыми эпитопами на поверхности вируса. Учитывая, что размер и химическая гетерогенность являются основными факторами, влияющими на иммуногенность белка, M. Shahid и соавт. [81] сконструировали два типа микровирина, один из которых состоит только из углеводсвязывающего домена размером почти в два раза меньше исходного белка, а второй включает два домена с идентичной аминокислотной последовательностью. В результате многочисленных экспериментов авторам удалось разработать вариант микровирина (LUMS1), который был высокоэффективным в подавлении инфекционности вируса, но менее токсичен и иммуногенен. Такое же действие этот вариант лектина оказывал на ВИЧ, особенно при сочетании этих инфекций. Структура новой конструкции лектина была аналогична прежней, но в отличие от неё каждый из структурных доменов LUMS1 содержал предполагаемый сайт связывания углеводов и две потенциальные дисульфидные связи. Для подтверждения того, что LUMS1 препятствует проникновению HCV, обусловленному E1/E2 HCV, была использована система псевдочастиц HCV (HCVpp), при использовании которой было установлено, что новый вариант микровирин LUMS1 специфически ингибирует HCVpp с  $EC_{50}$   $142 \pm 23$  нМ.

Активация Th-T-лимфоцитов считается важным маркером иммуногенности [94]. Авторами было установлено, что как LUMS1, так и микровирин не увеличивали популяцию CD4<sup>+</sup> и CD25<sup>+</sup> клеток. Взятый в качестве препарата сравнения CVN в этом случае демонстрировал высокую активацию клеток. LUMS1 при обработке лимфоцитов в концентрации до 4 мкМ не приводил к значительному увеличению популяции CD20<sup>+</sup>, в то время как показатели MVN даже при концент-

A significant number of registered patents indicates the interest of several developed powers [74]. Until now, the primary research in this area has been directed to searching for new active compounds for medical use. However, lectins from algae and CB can be widely used in agriculture, industrial mariculture, and animal husbandry.

Thus, it is necessary to continue work on these most exciting and promising compounds from cyanobacteria since the expression of lectins in heterologous systems can significantly impact pharmaceuticals. Heterologous systems provide higher yields than conventional purification and reduce costs and production time.

One cannot ignore the fact that CB lectins, like lectins from other natural objects, seem to have anti-inflammatory [18, 105], antioxidant and immunomodulatory properties [106, 107], which cannot but affect the course and outcome of infectious processes caused by viruses. Summing up the above materials, it should be said that CB lectins have disadvantages. However, these compounds are still promising potential candidates for developing antiviral agents with new mechanisms of action.

**Funding.** The work was supported by the RFBR grant 20-04-60212 «Comprehensive ecological and virological monitoring of coronaviruses in the ecosystems of the Far East».

**Conflicts of interests.** The authors declare no conflict of interest.

**Author contributions.** N. N. Besednova — idea and writing plan, concept, methodology, approval of the final version of the manuscript; B. G. Andryukov — approval of the final version, drawing illustrations, and translation of the text; T. S. Zaporozhets — methodology, conceptualization, correct of the text of the manuscript, validation; S. P. Kryzhanovsky and S. P. Ermakova — editing and validation of the manuscript, collection and analysis of literature data; T. A. Kuznetsova — writing a conclusion, proofreading of the manuscript. All authors have read and approved of the published version of the manuscript; M. Yu. Shchelkanov — collection and analysis of literature, preparation of a draft manuscript.

рации 2 мкМ были значительно выше. Новый препарат обладал слабой токсичностью по отношению к клеткам HepG2, Huh7.5 и PBMC при концентрации до 10 мкМ. Индекс селективности для LUMS1 составлял 108, что свидетельствовало о благоприятном профиле безопасности соединения. Всё это позволило авторам позиционировать LUMS1 как привлекательный потенциальный кандидат против HCV и ВИЧ, поскольку он ингибирует оба вируса, почти нетоксичен (нетоксичен при действующих на вирус концентрациях) и

лишь незначительно активирует В-лимфоциты и Th-клетки.

Другие авторы [95] показали, что олигомеры микровирина с большей эффективностью ингибируют HCV, чем мономеры. При этом три- и тетрамеры лектина обладали более высокой активностью, чем мономеры и димеры. Почти полная нейтрализация вируса наблюдалась при 650 нг/мл. Таким образом, авторы добились нейтрализации вируса при более низкой концентрации лектина путём увеличения степени олигомеризации и длины олигопептидного линкера.

SCV также является ингибитором HCV, а также новым препаратом для лечения инфекций, возбудители которых имеют высокое содержание маннозы [85]. Автор рекомендует этот лектин как мощное средство для системного и местного применения. SCV ингибирует как HCV, так и псевдочастицы в клеточных культурах при пико- и наномолярных концентрациях и нацелен на гликопротеины оболочки E1 и E2 [96].

Индекс селективности составляет  $SI > 1400$ . SCV ингибировал проникновение вируса в диапазоне 3,2–96 нМ. Авторы объясняют эффективность лектина его нацеленностью на олигосахариды с высоким содержанием маннозы либо на E1, либо на E2.

CVN связывается с гликопротеинами оболочки HCV и блокирует взаимодействие между белком оболочки E2 и CD81, молекулой клеточной поверхности, участвующей в проникновении вируса в организм [97].

Интересные материалы по формированию устойчивости HCV к углеводсвязывающим лектинам опубликованы L. Izquierdo и соавт. [98]. Авторы культивировали вирус гепатита С в течение более 8 нед в растворах с повышающейся концентрацией различных лектинов, в том числе CVN, после чего секвенировали геном выделенных штаммов и идентифицировали мутации резистентности в гликопротеинах оболочки E1E2. Было установлено, что устойчивость HCV к лектинам не передается напрямую мутациями в генах белка оболочки E1E2, а, по-видимому, может возникать посредством косвенного механизма, включающего мутацию в других вирусных белках, которые в дальнейшем необходимо дифференцировать.

Приведённые выше материалы показывают, что лектины цианобактерий могут быть очень эффективными компонентами терапии гепатита С в качестве ингибиторов проникновения возбудителя, которые можно и необходимо совершенствовать в направлении уменьшения токсичности, иммуногенности, повышения их антиинфекционных свойств и способов доставки. Однако нерешённых вопросов ещё очень много.

## Заключение

Углеводный код лежит в основе ключевого биологического пути передачи информации, с помощью которого организуются межклеточные взаимодействия и клеточная сигнализация. Рецепторы для гликанов (лектины) наделены способностью нацеливаться на различные контррецепторы по их структуре и топологическому способу представления [99]. При этом лектины могут играть жизненно важную роль в регулировании биологических процессов, таких как рост клеток и иммунный ответ, а также служить инструментами для изучения структурных аспектов гликобиологии [100].

Эффективный механизм действия маннозосвязывающих лектинов из цианобактерий на оболочечные вирусы стимулировал разработку этих молекул в качестве лечебных и профилактических средств. Лектины являются высокоспецифическими соединениями широкого спектра действия. Обращает на себя внимание возможность их локального применения и почти полное отсутствие формирования устойчивости к ним вирусов.

На данном этапе своего изучения противовирусные лектины исследуются как средства против, в первую очередь, ВИЧ [59]. Следует иметь в виду, что исследования лектинов ЦБ — только зарождающаяся область, которая ставит перед исследователями массу вопросов.

Все учёные обращают внимание на то, что, несмотря на отличные результаты противовирусного действия *in vitro* и достаточно перспективные, но немногочисленные результаты экспериментов *in vivo*, продвижение лектинов ЦБ в клинику сталкивается с большими проблемами, включая цитотоксичность, иммуногенность, антигенную специфичность и ограниченную стабильность.

Прежде всего, возникает вопрос биодоступности этих соединений. Без специальных модификаций или средств защиты их нельзя употреблять перорально, поскольку они подвергаются расщеплению пищеварительными ферментами. CVN был доступен для исследования противовирусного действия по отношению к вирусу Эбола после подкожного введения мышам. При этом он увеличивал среднюю продолжительность жизни животных, т. е. лектин был биодоступен и сохранял активность после подкожной инъекции.

Лектины цианобактерий в ряде случаев обладают токсичностью, антигенностью, действием на иммунные клетки. Однако многих неблагоприятных побочных эффектов можно избежать, если получить рекомбинантные соединения с новыми свойствами [101]. Так, CVN был модифицирован сайт-специфическим конъюгированием с полиэтиленгликолем в реакции, называемой пегили-

рованием, для улучшения терапевтических свойств лектина. При внутривенном введении пегилированный CVN был значительно менее иммуногенен, чем исходный CVN.

Вызванная лектином митогенность может быть преодолена с помощью методов гликоинженерии, таких как Vanhas, который был разработан для устранения митогенности лектинов из других источников [102]. При этом не было ущерба для противовирусной активности по отношению к вирусам Эбола и гриппа [103, 104]. Будущие исследования эффективности лектинов ЦБ должны быть связаны с поиском новых стратегий доставки этих весьма интересных и перспективных соединений, чтобы избежать имеющихся трудностей и ускорить продвижение в клинику.

Значительное количество зарегистрированных патентов свидетельствует об интересе ряда держав к этой проблеме [74]. До сих пор основные исследования в этой области были направлены на поиск новых активных соединений для медицинского применения. Однако лектины из водорослей и цианобактерий могут найти широкое применение в сельском хозяйстве, промышленной аквакультуре, а также в животноводстве.

Таким образом, необходимо продолжать работу над этими интереснейшими и перспектив-

ными соединениями из цианобактерий, поскольку экспрессия лектинов в гетерологичных системах может дать огромный эффект для фармацевтики. Гетерологичные системы обеспечивают более высокие выходы по сравнению с обычной очисткой и снижают затраты и время производства.

Нельзя не учитывать тот факт, что лектины цианобактерий, как и лектины из других природных объектов, по-видимому, обладают противовоспалительными [18, 105], антиоксидантными и иммуномодулирующими свойствами [106, 107], что не может не влиять на течение и исход инфекционных процессов, вызванных вирусами. Подводя итог вышеизложенным материалам, следует сказать, что у лектинов цианобактерий есть недостатки. Однако эти соединения по-прежнему являются перспективными потенциальными кандидатами для разработки противовирусных средств с новыми механизмами действия.

**Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 20-04-60212 «Комплексный эколого-вирусологический мониторинг коронавирусов в экосистемах Дальнего Востока».**

## Литература/References

- Babich O., Sukhikh S., Larina V. et al. Algae: study of edible and biologically active fractions, their properties and applications. *Plants*. 2022; 11 (6): 780. doi: 10.3390/plants11060780.
- Barzkar N., Jahromi S.T., Poorsaheli H.B., Vianello F. Metabolites from marine microorganisms, micro, and macroalgae: immense scope for pharmacology. *Mar. Drugs*. 2019; 17 (8): 464. doi: 10.3390/md17080464.
- Schirmer B.E., Antonelli A., Bagheri H.C. The origin of multicellularity in cyanobacteria. *Evol. Biol.* 2011; 11: 45. doi: 10.1186/1471-2148-11-45.
- Tiwari A.K., Tiwari B.S. Cyanoterapeutics: an emerging field for future drug discovery. *Applied Phycology*. 2020; 1 (1): 44–57. <https://doi.org/10.1080/26388081.2020.1744480>.
- Ughy B., Nagy C.I., Kos P.B. Biomedical potential of cyanobacteria and algae. *Acta Biologica Szegediensis*. 2015; 59: 203–224.
- Shih P.M., Wu D., Latifi A. et al. Improving the coverage of the cyanobacterial phylum using diversity-driven genome sequencing. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2013; 110: 1053–1058. doi: 10.1073/pnas.1217107110.
- Uzair B., Tabassum S., Rasheed M., Rehman S.F. Exploring marine cyanobacteria for lead compounds of pharmaceutical importance. *Review Article*. Open Access. 2012; volume 2012. Article ID 179782. doi: 10.1100/179782.
- Stanier R.Y., Siström W.R., Hansen T.A. et al. Proposal to place the nomenclature of the Cyanobacteria (blue-green algae) under their rules of the international code of nomenclature of bacteria. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1978; 28: 335–336.
- Walter J.M., Coutinho F.N., Dutilh B.E. et al. Ecogenomics and taxonomy of cyanobacteria phylum. *Front Microbiol.* 2017. doi: 10.3389/fmicb.2017.02132.
- Tan L.T., Phyo M.Y. Marine Cyanobacteria: a source of lead compounds and their clinically relevant molecular targets. *Molecules*. 2020; 25 (9): 2197. doi: 10.3390/molecules25092197.
- Jones M.R., Pinto E., Torres M.A. et al. CyanoMetDB, a comprehensive public database of secondary metabolites from cyanobacteria. *Water Research*. 2021; 196: 117017. doi: 10.1016/j.watres.2021.117017.
- Demay J., Bernard C., Reinhardt A., Marie B. Natural products from cyanobacteria: focus on beneficial activities. *Mar. Drugs*. 2019; 17 (6): 320. doi: 10.3390/md17060320.
- Singh R.S., Walia A.K., Singhhattar J. et al. Cyanobacterial lectins characteristics and their role as antiviral agents. *Int. J. of Biological Macromolecules*. 2017; 102: 475–496. doi: 10.1016/j.biomb.2017.04.041.
- Mazur-Marzec H., Ceglowska M., Konkel R., Pyrc K. Antiviral cyanometabolites—a review. *Biomolecules*. 2021; 11 (3): 474. doi: 10.3390/biom11030474.
- Fernandez-Romero J.A., Paglini M.G., Priano C. et al. Algal and cyanobacterial lectins and their antimicrobial properties. *Mar. Drugs*. 2021; 19 (12): 687. doi: 10.3390/md19120687.
- Maier I., Schiesti R.H., Kontaxis. Cyanovirin-N binds viral envelope proteins at the low-affinity carbohydrate binding site without direct virus neutralization ability. *Molecules*. 2021; 26 (12): 3621. doi: 10.3390/molecules26123621.
- Matei E., Basu R., Furey W. et al. Structure and glycan binding of a new cyanovirin-N homolog. *J. Biol. Chem.* 2016; 291 (36): 18967–18976. doi: 10.1074/jbc.M116.740415.
- Subramaniyan Vijayakumar, Menakha M. Pharmaceutical applications of cyanobacteria—a review. *J. of Acute Medicine*. 2015; 6 (1): 15–23. doi: 10.1016/j.jacme.2015.02.004.
- Щелканов М.Ю., Дедков В.Г., Галкина И.В., Магассуба Н'Ф., Зуманиги Н., Шугулин Г.А., Попова А.Ю., Малеев В.В. Районирование Африканской природноочаговой провинции в отношении филовиральных лихорадок. *Вестник РАМН*. 2017; 72 (5): 325–335. <https://doi.org/10.15690/vramn804>. [Shchelkanov M.Yu., Dedkov V.G., Galkina I.V. et al. Zoning of the African natural focal province in relation to filovirus fevers. *Vestnik RAMN*. 2017; 72 (5): 325–335. <https://doi.org/10.15690/vramn804>. (in Russian)]
- Shchelkanov M.Yu., Popova A.Yu., Dedkov V.G. et al. History of study and modern classification of coronaviruses (Nidovirales: Coronaviridae). *Russian journal of Infection and Immunity*. 2020 a; 10 (2): 221–246. (In Russ.). doi: 10.15789/2220-7619-HOI-1412.
- Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Alkhovsky S.V. et al. Zoonotic viruses of Northern Eurasia. *Taxonomy and Ecology*. Academic Press, 2015. 452 p.
- Trovato M., Sartorius R., D'Apice L. et al. Viral emerging diseases: challenges in developing vaccination strategies. *Front. Immunol.* 2020. doi: 10.3389/fimmu.2020.02130.
- Pollard A.J., Bijker E.M. A guide to vaccinology: from basic principles to new developments. *Nat. Rev. Immunol.* 2021; 21: 83–100. doi: 10.1038/s41577-020-00479-7.
- Reinolds D., Huesemann M. Viral inhibitors from macroalgae, microalgae, and cyanobacteria: a review of antiviral potential throughout pathogenesis. *Algal Research*. 2021; 57: 102331. doi: 10.1016/j.algal.2021.102331.
- Щелканов М.Ю., Попова А.Ю., Дедков В.Г. и др. История изучения и современная классификация коронавирусов (Nidovirales: Coronaviridae). *Инфекция и иммунитет*. 2020; 10 (2): 221–246. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-HOI-1412>. [Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Burgasova O.A. et al. COVID-19: etiology, clinic, treatment). *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2020; 10 (3): 421–445. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-HOI-1412>. (in Russian)]

26. Shchelkanov M.Yu., Popova A.Yu., Dedkov V.G. History of study and modern classification of coronaviruses (Nidovirales: Coronaviridae). Russian journal of Infection and Immunity. 2020 a; 10 (2): 221–246 (In Russ.). doi: 10.15789/2220-7619-HOI-1412.
27. Щелканов М.Ю., Цыбульский А.В., Дедков В.Г., Галкина И.В., Малеев В.В. Антимикробные пептиды как перспективные средства терапии первичных вирусных пневмоний. Инфекция и иммунитет. 2021; 11 (5): 837–852. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-APA-1595>. [Shchelkanov M.Yu., Tsybul'skiy A.V., Dedkov V.G. et al. Antimicrobial peptides as promising agents for the treatment of primary viral pneumonia. Russian Journal of Infection and Immunity. 2021; 11 (5): 837–852. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-APA-1595>. (in Russian)]
28. Andrew M., Jayaraman G. Marine sulfated polysaccharides as potential antiviral drug candidates to treat Corona virus disease (COVID-19). Carbohydr Res. 2021; 505: 108326. doi: 10.1016/j.carres.2021.108326
29. Щелканов М.Ю., Ананьев В.Ю., Кузнецов В.В., Шуматов В.В. Ближневосточный респираторный синдром: когда вспыхнет тлеющий очаг? Тихоокеанский медицинский журнал. 2015; 2: 94–98. [Shchelkanov M.Yu., Ananiev V.Yu., Kuznetsov V.V., Shumatov V.B. Middle East respiratory syndrome: when will the smoldering fire erupt? Tikhookeanskiy Meditsinskiy Zhurnal. 2015; (2): 94–98. (in Russian)]
30. Щелканов М.Ю., Ананьев В.Ю., Кузнецов В.В., Шуматов В.В. Эпидемическая вспышка Ближневосточного респираторного синдрома в Республике Корея (май–июль 2015 г.): причины, динамика, выводы. Тихоокеанский медицинский журнал. 2015; 3: 25–29. [Shchelkanov M.Yu., Ananiev V.Yu., Kuznetsov V.V. et al. Epidemic outbreak of the Middle East respiratory syndrome in the Republic of Korea (May–July 2015): causes, dynamics, conclusions. Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal. 2015; 3: 25–29. (in Russian)]
31. Gribova V.V., Okun D.B., Shalfeeva E.A. et al. Cloud service for the differential clinical diagnostics of acute respiratory viral diseases (including those associated with highly contagious coronaviruses) with an application of methods of artificial intelligence. Yakut Medical Journal. 2020; (2): 44–47. doi: 10.25789/YMJ.2020.70.13
32. Nikiforov V.V., Kolobukhina L.V., Smetanina S.V. et al. New coronavirus infection (COVID-19): etiology, epidemiology, clinic, diagnosis, treatment and prevention. Toolkit. M.: Department of Health of Moscow, 2020. 71 p.
33. Monteil V., Kwon H., Prado P. et al. Inhibition of SARS-CoV-2 infections in engineered human tissues using clinical-grade soluble human ACE2. Cell. 2020; 181 (4): 905–913.e7. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.004
34. Guide to virology. Viruses and viral infections of humans and animals / Ed.: D.K. Lvov. M.: MIA, 2013. 1200 p.
35. Barre A., Van Damme E.J.M., Simplicien M. et al. Man-specific lectins from plants, fungi, algae and cyanobacteria, as potential blockers for SARS-COV, MERS-COV and SARS-COV2 (COVID-19) coronaviruses: biomedical perspectives. Cells. 2021; 10 (7): 1619. doi: 10.3390/cells10071619
36. Hoffman M., Zhang L., Kruger N. et al. SARS-CoV-2 mutations acquired in mink reduce antibody-mediated neutralization. Cell Reports. doi: 10.1016/j.celrep.2021.109017.
37. Naidoo D., Kar P., Roy A. et al. Structural insight into the binding of cyanovirin-N with the spike glycoprotein, Mpro and PLpro of SARS-CoV-2: protein-protein interactions, dynamics simulations and free energy calculations. Molecules. 2021; 26 (17): 5114. doi: 10.3390/molecules26175114
38. O'Keefe B.R., Giomarelli B., Barnard D.L. et al. Broad-spectrum in vitro activity and in vivo efficacy of the antiviral protein griffitsin against emerging viruses of the family Coronaviridae. J. Virol. 2010; 84 (5): 2511–2521. doi: 10.1128/JVI.02322-09.
39. Millet J.K., Seron K., Labitt R.N. et al. Middle east respiratory syndrome coronavirus infection is inhibited by griffitsin. Antiviral Res. 2016. 133: 1–8. doi: 10.1016/j.antiviral.2016.07.011.
40. Sami Neha, Rakhshan Ahmad, Fatma Tasneem et al. Exploring algae and cyanobacteria as a promising natural source of antiviral drug against SARS-CoV-2. Biomedical J., 2021; 44 (1): 54–62. doi: 10.1016/j.bj.2020.11.014.
41. Cai Y., Xu W., Gu X. et al. Griffitsin with a broad-spectrum antiviral activity by binding glycans in viral glycoprotein exhibits strong synergistic effect in combination with a pan-coronavirus fusion inhibitor targeting SARS-CoV-2 spike S2 subunit. Virol. Sin. 2020; 35 (6): 857–860. doi: 10.1007/s12250-020-00305-3.
42. Bhatt A., Arora P., Prajapati S.K. Can algal derived bioactive metabolites serve as potential therapeutics for the treatment of SARS-CoV-2 like viral infection? Front. Microbiol. 2020; 11: 596374. doi: 10.3389/fmicb.2020.596374.
43. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Prilipov A.G. et al. Evolution of HPAI H5N1 virus in Natural ecosystems of Northern Eurasia (2005–2008). Avian Diseases. 2010. 54 (1): 483–495. doi: 10.1637/8893-042509-Review.1
44. Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Львов Д.К. Грипп: история, клиника, патогенез. Лечащий врач. 2011; 10: 33–38. [Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Lvov D.K. Influenza: history, clinic, pathogenesis. Lechashchiy Vrach. 2011; 10: 33–38. (in Russian)]
45. Львов Д.К., Прилипов А.Г., Щелканов М.Ю., Дерябин П.Г., Шилов А.А., Гребенникова Т.В., Садыкова Г.К., Ляпина О.В. Молекулярно-генетический анализ биологических свойств высокопатогенных штаммов вируса гриппа А/Н5N1, изолированных от диких и домашних птиц в период эпизоотии в Западной Сибири (июль 2005 г.). Вопросы вирусологии. 2006; 51 (2): 15–19. [Lvov D.K., Prilipov A.G., Shchelkanov M.Yu. et al. Molecular genetic analysis of the biological properties of highly pathogenic influenza A/H5N1 virus strains isolated from wild and domestic birds during an epizootic in Western Siberia (July 2005). Voprosy Virusologii. 2006; 51 (2): 15–19. (in Russian)]
46. Щелканов М.Ю., Кириллов И.М., Шестопалов А.М., Лутвин К.Е., Дерябин П.Г., Львов Д.К. Эволюция вируса гриппа А / H5N1 (1996–2016). Вопросы вирусологии. 2016; 61 (6): 245–256. <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2016-61-6-245-256>. [Shchelkanov M.Yu., Kirillov I.M., Shestopalov A.M. et al. Evolution of influenza A virus / H5N1 (1996–2016). Voprosy Virusologii. 2016; 61 (6): 245–256. <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2016-61-6-245-256>. (in Russian)]
47. Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Федякина И.Т., Дерябин П.Г., Прошина Е.С., Пономаренко Р.А. Штамм вируса гриппа А/IV-Anadyr/177-ма/2009 (H1N1) pdm09, адаптированный к тканям легких лабораторных мышей. Патент Российской Федерации № 2487936. Приоритет изобретения 02.02.2012. [Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Fedyakina I.T. et al. Influenza virus strain A/IV-Anadyr/177-ма/2009 (H1N1) pdm09, adapted to the tissues of the lungs of laboratory mice. Patent of the Russian Federation No. 2487936. Invention Priority 02.02.2012. (in Russian)]
48. Gulyaeva M., Sobolev I., Sharshov K., Kurskaya O. et al. Characterization of avian-like Influenza A (H4N6) virus isolated from Caspian seal in 2012. Virologica Sinica. 2018; 33 (5): 449–452. DOI: 10.1007/s12250-018-0053-y
49. Tong S., Li Y., Rivaille P., Conrardy C. et al. A distinct lineage of influenza A virus from bats. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2012; 109 (11): 4269–4274.
50. Щелканов М.Ю., Львов Д.К. Новый субтип вируса гриппа А от летучих мышей и новые задачи эколого-вирусологического мониторинга. Вопросы вирусологии. 2012; (Приложение 1): 159–168. [Shchelkanov M.Yu., Lvov D.K. New subtype of influenza A virus from bats and new tasks of ecological and virological monitoring. Voprosy Virusologii. 2012; (Supl. 1): 159–168. (in Russian)]
51. O'Keefe B.R., Smeets D.F., Turpin J. et al. Potent anti-influenza activity of cyanovirin-N and interactions with viral hemagglutinin. Antimicrob. Agents Chemother. 2003; 47 (8): 2518–2525.
52. Щелканов М.Ю., Магассуба Н., Дедков В.Г. и др. Природный резервуар филовиров и типы связанных с ними эпидемических вспышек на территории Африки. Вестник РАМН. 2017; 72 (2): 112–119. <https://doi.org/10.15690/vramn803>. [Shchelkanov M.Yu., Magassuba N., Dedkov V.G. et al. Natural reservoir of filoviruses and types of epidemic outbreaks associated with them in Africa. Vestnik RAMN. 2017; 72 (2): 112–119. <https://doi.org/10.15690/vramn803>. (in Russian)]
53. Щелканов М.Ю., Дедков В.Г., Галкина И.В., Магассуба Н.Ф., Зуманиги Н., Шитулин Г.А., Попова А.Ю., Малеев В.В. Районирование филовиральных лихорадок. Вестник РАМН. 2017; 72 (5): 325–335. <https://doi.org/10.15690/vramn804>. [Shchelkanov M.Yu., Dedkov V.G., Galkina I.V. et al. Zoning of the African natural focal province in relation to filovirus fevers. Vestnik RAMN. 2017; 72 (5): 325–335. [Shchelkanov M.Yu., Dedkov V.G., Galkina I.V., et al. Zoning of the African natural focal province in relation to filovirus fevers. Vestnik RAMN. 2017; 72 (5): 325–335. (in Russian)]
54. Щелканов М.Ю., Магассуба Н.Ф., Боиро М.Ю., Малеев В.В. Причины развития эпидемии лихорадки Эбола в Западной Африке. Лечащий врач. 2014; 11: 30–36. [Shchelkanov M.Yu., Magassuba N.F., Boiro M.Y., Maleev V.V. Causes of the Ebola Epidemic in West Africa. Lechashchiy Vrach. 2014; 11: 30–36. (in Russian)]
55. Mariappan V., Pratheesh P., Shanmugam L. et al. Viral hemorrhagic fever: molecular pathogenesis and current trends of disease management – an update. Current research in virological science. 2021; 2: 100009. doi: 10.1016/j.crviro.2021.100009.
56. Barrientos L.G., O'Keefe B.R., Bray M. et al. Cyanovirin-N binds to the viral surface glycoprotein GP1,2 and inhibits infectivity of Ebola virus. Antiviral Res. 2003; 58: 47–56. doi: 10.1016/s0166-3542 (02)00183-3
57. Barrientos L.G., Lasala E., Otero J.R. et al. In vivo evaluation of cyanovirin-N antiviral activity, by use of lentiviral vectors with Filovirus envelope glycoproteins. J. of Infectious Diseases. 2004; 189 (8): 1440–1443. doi: 10.1086/382658
58. Garrison A.R., Giomarelli B.G., Lear-Rooney C.M. et al. The cyanobacterial lectin scytovirin displays potent *in vitro* and *in vivo* against Zaire Ebola virus. Antiviral Res. 2014; 10: 1–7. doi: 10.1016/j.antiviral.2014.09.0123
59. Mitchell C.A., Ramessar K., O'Keefe B.R. Antiviral lectins: selective inhibitors of viral entry. Antiviral Research. 2017; 142: 37–54. doi: 10.1016/j.antiviral.2017.03.007
60. Liu J., Obaidil, Nagar S. et al. The antiviral potential of algal-derived macromolecules. 2021; 3: 120–134. doi: 10.1016/j.crbiot.2021.04.003
61. Карамов Э.В., Горбачева А.П., Корнилова Г.В., Лукьянова Н.С., Пашикова Т.А., Щелканов М.Ю., Ярославцева Н.Г. Изучение молекулярных механизмов вирусиндуцированного слияния мембран. Информационный бюллетень Российского фонда фундаментальных исследований. 1995; 3 (4): 361. [Karamov E.V., Gorbacheva A.P., Kornilova G.V. et al. Study of the molecular mechanisms of virus-induced membrane fusion. Informatsionnyy byulleten' Rossiyskogo Fonda Fundamental'nykh Issledovaniy. 1995; 3 (4): 361. (in Russian)]

62. Shchelkanov M.Yu., Yudin A.N., Antonov A.V. et al. Variability Analysis of HIV-1 gp120 V3 Region: I. Point Estimators for the Amino Acid Distribution Characteristics. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 1997 a; 15 (2): 217–229. doi: 10.1080/07391102.1997.10508187
63. Coulbaly F.S., Thomas D.N., Youan B.-B. Anti HIV lectins and current delivery strategies. *AIMS Molecular Science*. 2018; 5 (1): 96–116. doi: 10.3934/molsci.2018.1.96.
64. Karamov E.V., Yaroslavtseva N.G., Shchelkanov M.Yu. et al. Antigenic and genetic relations between different HIV-1 subtypes in Russia. *Immunology and Infectious Diseases*. 1996; 6: 15–24. (In Russ.).
65. Bbosa N, Kaleebu P, Ssemwanga D. HIV subtype diversity worldwide. *Curr. Opin. HIV AIDS*. 2019; 14 (3): 153–160. doi: 10.1097/COH.0000000000000534
66. Shchelkanov M.Yu., Yudin A.N., Antonov A.V. et al. Variability Analysis of HIV-1 gp120 V3 Region: II. Hierarchy of taxons. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 1997 b; 15 (2): 231–241. doi: 10.1080/07391102.1997.10508188
67. Martin-Moreno A., Munoz-Fernandez A. Dendritic cells, the double agent in the war against HIV-1. *Front. Immunol*. 2019. doi: 10.3389/fimmu.2019.02485.
68. Esser M.T., Mori T., Mondor I. et al. Cyanovirin-N binds to gp120 to interfere with CD4-dependent human immunodeficiency virus type 1 virion binding, fusion, and infectivity but does not affect the CD4 binding site on gp120 or soluble CD4-induced conformational changes in gp120. *J. Virol*. 1999; 73: 4360–4371.
69. Buffa V, Stieh D., Mamhood N. et al. Cyanovirin-N potently inhibits human immunodeficiency virus type 1 infection in cellular and cervical explant models. *J. Gen. Virol*. 2009; 90: 234–243. doi: 10.1099/vir.0.004358-0
70. Шелканов М.Ю., Ярославцева Н.Г., Емельянов А.В., Сахурия И.Б., Абляян А.В., Верёвочкин С.В., Козлов А.П., Карамов Э.В. Модель функционирования верхушечного эпитопа V3-петли gp120 ВИЧ-1 в составе комплекса с антителами. *Молекулярная биология*. 1998; 32 (6): 1062–1074. [Shchelkanov M.Yu., Yaroslavtseva N.G., Emelyanov A.V. et al. Model of functioning of the apical epitope of the HIV-1 gp120 V3-loop as part of a complex with antibodies. *Molekulyarnaya Biologiya*. 1998; 32 (6): 1062–1074. (in Russian)]
71. Obiero J.P, Ogongo P, Mweuthera C., Wiysonge S. Микробициды для местного применения для профилактики инфекций, передающихся половым путем. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2021. doi: 10.1002/14651858.CD007961.pub3
72. Жернов Ю.В., Хаитов М.Р. Микробициды для топической иммунопрофилактики ВИЧ-инфекции. *Бюлл. Сибирской медицины*. 2019; 18 (1): 49–59. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-1-49-59>. [Zhernov Yu.V., Khaitov M.R. Microbicides for topical immunoprophylaxis of HIV infection. *Byulleten' Sibirskoy Meditsiny*. 2019; 18 (1): 49–59. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-1-49-59>. (in Russian)]
73. Boyd M.R., Gustafson K.R., McMahon J.B. et al. Discovery of cyanovirin-N, a novel human immunodeficiency virus-inactivating protein that binds viral surface envelope glycoprotein gp120: potential applications to microbicide development. *Antimicrob agent Chemother*. 1997; 41: 1521–1530.
74. Pagarete A., Ramos A.S., Puntervoll P et al. Antiviral potential of algal metabolites – a comprehensive review. *Mar. Drugs*. 2021; 19 (2): 94. doi: 10.3390/md19020094
75. Tsai C.-C., Emau P., Jiang Y. et al. Cyanovirin-N inhibits AIDS virus infections in vaginal transmission models. *AIDS Res. And Human Retroviruses* 2004; 20 (1). doi: 10.1089/088922204322749459.
76. Balzarini J. Inhibition of HIV entry by carbohydrate-binding proteins. *Antiviral Res*. 2006; 7 (2–3): 237–247. doi: 10.1016/j.antiviral.2006.02.004.
77. Huskens D., Vermeire K., Vandemeulebroucke E., Balzarini J., Schols D. Safety concerns for the potential use of cyanovirin-N as a microbicide anti-HIV agent. *Int. J. Biochem*. 2008; 40 (12): 2804–28014. doi: 10.1016/j.biocel.2008.05.023.
78. Chen J., Huang D. Linker-extended native cyanovirin-N facilitates PE-Gylation and potently inhibits HIV-1 targeting the glycan ligand. *PLoS One*. 2014; 9 (1): e86455. doi: 10.1371/journal.pone.0086455.
79. Akkouch O., Ng T.B., Singh S.S. et al. Lectins with anti-HIV activity: a review. *Molecules*. 2015; 6 (20): 648–668. doi: 10.3390/molecules20010648.
80. Huskens D., Ferir K., Vermeire J. et al. Microvirin, a novel  $\alpha$  (1,20)-mannose-specific lectin isolated from *Microcystis aeruginosa*, has anti-HIV-1 activity comparable with that of cyanovirin-N but a much higher safety profile. *Microbiology*. 2010; 285 (32): 24845–24854. doi: 10.1074/jbc.M110.128546.
81. Shahid M., Qadir A., Yang J. et al. An engineered microvirin variant with identical structural domains potently inhibits human immunodeficiency virus and hepatitis C virus cellular entry. *Viruses*. 2020; 12 (2): 199. doi: 10.3390/v12020199.
82. Lagenaur L.A., Swedek I., Lee P.P., Parks T.P. Robust vaginal colonization of macaques with a novel vaginally disintegrating tablet containing a live biotherapeutic product to prevent HIV infection in women. *PLoS One*. 2015; 10 (4): e0122730. doi: 10.1371/journal.pone.0122730.
83. Lofth H., Sheervalilo R., Zarghami N. An update of the recombinant protein expression systems of cyanovirin-N and challenges of preclinical development. *Bioimpacts*. 2018; 8: 139–151. doi: 10.15171/bi.2018.16.
84. Madeira L.M., Szeto T.H., Ma J.K.-C., Drake P.M.W. Rhizosecretion improves the production of cyanovirin-N in *Nicotiana tabacum* through simplified downstream processing. *Biotechnol. J*. 2016; 11 (7): 910–919. doi: 10.1002/biot.201500371.
85. J'Keefe B.R., Murad A.M., Vianna G.R. et al. Engineering soya bean seeds as a scalable platform to produce cyanovirin-N, a non-ARV microbicide against HIV. *Plant Biotechnol. J*. 2015; 13: 884–892.
86. Armario-Najera V., Blanco-Perera A., Shenoy S.R. et al. Physicochemical characterization of the recombinant lectin scytovirin and microbicidal activity of the SD1 domain produced in rice against HIV-1. *Plant Cell Reports*. 2022; 41: 1013–1023.
87. Рахманова А.Г., Яковлев А.А., Кащенко В.А., Шаройко В.В. Хронический вирусный гепатит С и цирроз печени. Руководство для врачей. С-Пб.: СпецЛит. 2016; 380. [Rakhmanova A.G., Yakovlev A.A., Kashchenko V.A., Sharoiiko V.V. Chronic viral hepatitis C and cirrhosis of the liver. Guide for doctors. S-Pb.: SpecialLit. 2016; 380. (in Russian)]
88. Kim C.W., Chang K.M. Hepatitis C virus: virology and life cycle. *Clin. Mol. Hepatol* 2013; 19: 17–125.
89. Соколова Т.М. Вирус гепатита С (Flaviviridae: Hepacivirus C): регуляция сигнальных реакций врожденного иммунитета. *Вопросы вирусологии*. 2020; 65 (6): 307–1316. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-6-1>. [Sokolova T.M. Virus hepatitis S (Flaviviridae: Hepacivirus C): regulatsiya signal'nykh reaktсий vrozhdennoogo immuniteta. *Voprosy virusologii*. 2020; 65 (6): 307–1316. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-6-1>. (in Russian)]
90. Benedicto I., Gondar V., Molina-Jimenez J. et al. Hepatitis C virus entry depends on clathrin-mediated endocytosis. *J. Virol*. 2015; 89: 4180–4190.
91. Krey T., Alayer J., Kikuti C.M. et al. The disulfide bonds in glycoprotein E2 of hepatitis C virus reveal the tertiary organization of the molecule. *PLoS Pathog*. 2010; e10000762.
92. Guo Y, Yu H., Zhong Y. et al. Lectin microarray and mass spectrometric analysis of hepatitis C proteins reveals N-linked glycosylation. *Medicine*. 2018; 97 (15): e0208. doi: 10.1097/MD.00000000000010208.
93. Kachko A., Loesgen S., Shazad-Ul-Hussan S. et al. Inhibition of hepatitis C virus by the cyanobacterial protein *Microcystis viridis* lectin: mechanistic differences between the high-mannose specific lectins MVL, CV-N, and GNA. *Mol. Pharm*. 2013; 10 (12): 4590–4602. doi: 10.1021/mp400399b.
94. Ito S., Ikuno T., Mishima M. et al. *In vitro* human helper T-cell assay to screen antibody drug candidates for immunogenicity. *J. of Immunotoxicology*. 2019; 16: 125–132.
95. Min Y.Q., Duan X.-C., Zhou Y.-D. Effects of microvirin monomers and oligomers on hepatitis C virus. *Bioscience Reports*. 2017; 37 BSR20170015. doi: 10.1042/BSR20170015.
96. Takebe Y., Saucedo C.J., Lund G. et al. Antiviral lectins from red and blue-green algae show potent *in vitro* and *in vivo* activity against hepatitis C virus. *PLoS One*. 2013; 8 (5): e64449. doi: 10.1371/journal.pone.0064449.
97. Carpine R., Sieber S. Antibacterial and antiviral metabolites from cyanobacteria: their application and their impact on human health. *Curent Research in Biotechnology*. 2021; 3: 65–81. doi: 10.1016/j.crbiot.2021.03.001.
98. Izquierdo L., Oliveira C., Fournier C. et al. Hepatitis C virus resistance to carbohydrate-binding agents. *PLoS ONE* 2016; 11 (2): e0149064. doi: 10.1371/journal.pone.0149064.
99. Murphy P.V., André S., Gabius H.J. The third dimension of reading the sugar code by lectins: design of glycoclusters with cyclic scaffolds as tools with the aim to define correlations between spatial presentation and activity. *Molecules*. 2013; 18: 4026–4053. doi: 10.3390/molecules18044026
100. Kaltner H., Gabius H.J. A toolbox of lectins for translating the sugar code: the galectin network in phylogenesis and tumors. *Histol Histopathol*. 2012; 27: 397–416. doi: 10.14670/hh-27.397
101. Saad A.A. Recombinant lectins as pioneering anti-viral agents against COVID-19. *Hematol. Transfus. Int. J*. 2021; 9 (4): 77–79. doi: 10.15406/htij.2021.09.00259
102. Swanson M.D., Boudreaux D.M., Salmon L. et al. Engineering therapeutic lectin by uncoupling mitogenicity from antiviral activity. *Cell*. 2015; 163 (3): 746–758. doi: 10.1016/j.cell.2015.09.058.
103. Coves-Datson E.M., Dyall J., DeWald L.E. et al. Inhibition of Ebola virus by molecularly engineered banana lectin. *PLoS Negl. Trop. Dis*. 2019; 13: e0007595;
104. Coves-Datson E.M., King S.R., Legendre M. et al. A molecularly engineered antiviral banana lectin inhibits fusion and is efficacious against influenza virus infection *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2020; 117 (4): 2122–2132. doi: 10.1073/pnas.1915152117.
105. Konozy E., Osman M., Dirar A. Plant lectins as potent anti-coronaviruses, anti-inflammatory, antinoceptive and antiulcer agents. *Saudi J. of Biological Sciences*. 2022; 29 (6): 103301. doi: 10.1016/j.sjbs.2022.103301.
106. Encarnacao T., Pais A.C.C., Campos M.G. et al. Cyanobacteria and microalgae: a renewable source of bioactive compounds and other chemicals. *Science Progress*. Research Article. 2015. doi: 10.3184/003685015X14298590596266
107. Pradhan B., Nayak R., Patra S. et al. Cyanobacteria and algae-derived bioactive metabolites as antiviral agents: evidence, mode of action, and scope for further expansion; a comprehensive review in light of the SARS-CoV-2 outbreak. *Antioxidants* 2022-02-11, doi: 10.3390/antiox11020354.

## Информация об авторах

*Беседнова Наталия Николаевна* — д. м. н., профессор, академик РАН, главный научный сотрудник лаборатории иммунологии «ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия. ORCID: 0000-0002-2760-9778. eLIBRARY SPIN-код: 8931-9002. Scopus Author ID: 7006805123

*Андрюков Борис Георгиевич* — д. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора Владивосток, Россия. ORCID: 0000-0003-4456-808X. ResearcherID: J-3752-2018. eLIBRARY SPIN-код: 7757-3838. Scopus Author ID: 57191370698

*Запорожец Татьяна Станиславовна* — д. м. н., главный научный сотрудник лаборатории иммунологии «ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия. ORCID: 0000-0002-2760-9778. ResearcherID: Y-9425-2018. eLIBRARY SPIN-код: 8931-9002. Scopus Author ID: 7006805123

*Ермакова Светлана Павловна* — д. х. н., главный научный сотрудник лаборатории химии ферментов, Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия

*Кузнецова Татьяна Алексеевна* — д. м. н., главный научный сотрудник лаборатории иммунологии «ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия. ORCID: 0000-0002-4315-6959. ResearcherID: I-8399-2018. eLIBRARY SPIN-код: 2359-1132. Scopus Author ID: 7202571979

*Крыжановский Сергей Петрович* — д. м. н., ученый секретарь медицинского объединения ДВО РАН, Владивосток, Россия

*Щелканов Михаил Юрьевич* — д. б. н., директор «ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора; заведующий лабораторией вирусологии ФГБУН «Федеральный научный Центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН; ведущий научный сотрудник ФГБУН «Национальный научный Центр морской биологии» ДВО РАН, Владивосток, Россия. ORCID: 0000-0001-8610-7623. ResearcherID: L-6164-2016. eLIBRARY SPIN-код: 5736-7230. Scopus Author ID: 7004251692.

## About the authors

*Natalia N. Besednova* — D. Sc. in medicine, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Vladivostok, Russia. ORCID: 0000-0002-2760-9778. eLIBRARY SPIN: 8931-9002. Scopus Author ID: 7006805123

*Boris G. Andryukov* — D. Sc. in medicine, G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Vladivostok, Russia. ORCID: 0000-0003-4456-808X. ResearcherID: J-3752-2018. eLIBRARY SPIN: 7757-3838. Scopus Author ID: 57191370698

*Tatyana S. Zaporozhets* — D. Sc. in medicine, G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Vladivostok, Russia. ORCID: 0000-0002-2760-9778. ResearcherID: Y-9425-2018. eLIBRARY SPIN: 8931-9002. Scopus Author ID: 7006805123

*Svetlana P. Ermakova* — D. Sc. in chemistry, G. B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

*Tatyana A. Kuznetsova* — D. Sc. in medicine, G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Vladivostok, Russia. ORCID: 0000-0002-4315-6959. ResearcherID: I-8399-2018. eLIBRARY SPIN: 2359-1132. Scopus Author ID: 7202571979

*Sergey P. Kryzhanovsky* — D. Sc. in medicine, Medical Association of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

*Mikhail Yu. Shchelkanov* — D. Sc. in biology, G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Federal Scientific Center of the Eastern Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia. ORCID: 0000-0001-8610-7623. ResearcherID: L-6164-2016. eLIBRARY SPIN: 5736-7230. Scopus Author ID: 7004251692.