

doi: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2018.01.092>

УДК 577.113.7:578.28

Н.С. Мельнічук, З.Ю. Ткачук

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ
E-mail: natalia.melnichuk8@gmail.com

Інгібування гемаглютенін-гліканової взаємодії комплексами олігорибонуклеотидів з D-манітолом

Представлено членом-кореспондентом НАН України Б.П. Мацелюком

За результатами опосередкованого визначення кількості титру вірусу грипу методом гемаглютинації виявлено, що комплекси олігорибонуклеотидів з D-манітолом (ОРН-D-M) перешкоджають утворенню гемаглютинін-гліканової взаємодії. Інфекційність вірусу грипу H1N1 (A/EM/1/47) знижується після інкубації з ОРН-D-M. Показано, що ОРН-D-M виявляють віруцидну дію проти вірусу грипу.

Ключові слова: гемаглютинін, вірус грипу, комплекси олігорибонуклеотидів з D-манітолом.

Віруси грипу належать до родини *Orthomyxoviridae* і включають чотири типи: А, В, С, D. Вірус грипу А викликає основні респіраторні інфекції у людей, ссавців і в кишково-шлунковому тракті птахів. Він є причиною численних людських жертв і великих щорічних економічних втрат та іноді виникнення пандемій. Вірус грипу містить два основні поверхневі глікопротеїни: гемаглютинін (ГА) та нейрамінідазу (НА). ГА відповідальний за зв'язування з рецептором (гліканом) та злиття мембрани клітини, що забезпечує проникнення вірусу в чутливу клітину господаря. НА функціонує як рецепторно-руйнівний ензим і сприяє виходу вірусу з клітини. Віруси грипу А поділяються на 16 ГА (Н1–Н16) і 9 НА (N1–N9) підтипи, з яких Н1–Н3 успішно адаптовані до людини [1]. ГА та НА є важливими антигенами, які визначають антигенну різноманітність вірусу грипу та імунітет господаря. Мінливість ГА сприяє постійній еволюції нових штамів вірусів і спричиняє епідемії грипу [2].

На даний час основними методами боротьби з вірусом грипу є щорічні тривалентні або чотиривалентні вакцини (who.int/influenza/vaccines), але через швидкий антигенний дрейф та шифт вірусів грипу відбір відповідного вакцинного штаму є надзвичайно складним завданням [3–6]. Невеликий вибір ліків проти вірусу грипу в даний час обмежений чотирма ліцензованими препаратами. До них належать інгібітори NA – озелтамівір (Tamiflu) і занамовір (Relenza) та інгібітори M2 іонних каналів – амантадин (Symmetrel) і римантадин (Flumadine). Проте виникнення препараторезистентних вірусів грипу та коінфекція грипу з іншими респіраторними вірусами призвели до зниження ефективності вищезгаданих препаратів [7]. Тому для боротьби з постійною загрозою вірусів грипу існує гостра потреба в но-

вих ліках, які б мали множинну протівірусну дію. Більше того, препаратів, які б впливали на ГА і, таким чином, перешкождали проникненню вірусу в клітину ще не існує.

Природні олігорибонуклеотиди (ОРН) характеризуються широким спектром біологічної дії і можуть бути використані для створення протівірусних біологічно активних субстанцій [8]. Раніше нами показано, що комплекси ОРН з D-манітолом (ОРН-D-M) мають широкий спектр протівірусної дії, в тому числі проти вірусу грипу А (H1N1), пташиного грипу та парагрипу [9]. Встановлено, що максимально активна концентрація ОРН-D-M під час інфекції грипу *in vitro* становить 5 мг/мл, мінімально активна концентрація — 31 мкг/мл, а хіміотерапевтичний індекс дорівнює 161 [10]. У досліджах на мишах виявлено високу протигрипозну активність препарату при профілактичному лікуванні у разі внутрішньочеревного та внутрішньовенного введення, однак у разі інтраназального введення ефективна доза була в десять разів вища [10]. Водночас механізми протигрипозної дії ОРН-D-M вивчені недостатньо. Тому за мету дослідження ставилося вивчення впливу ОРН-D-M на утворення ГА-гліканових взаємодій та інфекційності вірусу грипу в умовах *in vitro*.

Матеріали та методи. В дослідженні використовували комплекси ОРН-D-M, які складаються з тотальної дріжджової РНК (Goodwill associates inc., США), модифікованої D-манітолом у співвідношенні 2,5 : 1,0. Дані комплекси зареєстровані в Україні як лікарський засіб під комерційною назвою “Нуклекс” [8]. Утворення ГА-гліканових взаємодій під впливом ОРН-D-M оцінювали, опосередковано визначаючи ГА титр вірусу грипу H1N1 (A/FM/1/47) за допомогою реакції гемаглютинації (РГА). Аналізи РГА проводили на 96-лунковому круглодонному планшеті з використанням 1 % еритроцитів людини 0 (I) (ЕЛ) у фосфатно-буферному фізіологічному розчині (PBS) (“Sigma”, США). Спочатку в усі лунки планшета додавали по 50 мкл буфера PBS. Вірус грипу попередньо інкубували з препаратами ОРН (2,5 мг/мл), D-M (1 мг/мл) (“Sigma”, США) та ОРН-D-M (3,5 мг/мл) при 20 °С протягом 30 хв. У першу лунку планшетної колонки додавали 50 мкл досліджуваного чи контрольного зразка. Негативними контролями були препарати ОРН, D-M та ОРН-D-M у таких самих концентраціях, як в дослідних зразках, але без попередньої інкубації з вірусом. Позитивним контролем служив вірус грипу, який попередньо інкубували без препаратів. Зразок перемішували, відбирали 50 мкл та переміщали в наступну лунку. Перемішування повторювали зліва направо до кінця колонки одного ряду планшета і 50 мкл з останньої лунки відбирали. У всі дослідні та контрольні лунки планшета додавали 50 мкл робочого розчину 1 % ЕЛ і обережно перемішували. Надалі реакційні суміші інкубували при кімнатній температурі протягом 60 хв. Результати експерименту документували, фотографуючи реакційні планшети. Негативний результат мав вигляд крапки в центрі круглодонного планшета, тоді як позитивний результат — сформований рівномірний червоний колір в лунці. Титр НА вірусу грипу визначали як число крайнього розведення з позитивним результатом.

Для оцінки впливу препаратів на інфекційний титр вірусу грипу виконували аналіз тканинної цитопатогенної дози (ТЦД₅₀) за методом Ріда і Менча. Інфекційний титр вірусу грипу оцінювали після зараження культури клітин нирки собаки (MDCK). Титр вірусу виражали як інфекційну дозу, яка призводила до 50 % інфікування клітин (ТЦД₅₀) [11]. Для дослідів висівали клітини MDCK (5 · 10³/лунку) в чотири 96-лункові плоскодонні планшети (Orange Scientific, Бельгія), які культивували в середовищі RPMI з додаванням 10 % FBS. Після 24-годинної інкубації живильне середовище відбирали з кожної лунки всіх чотирьох

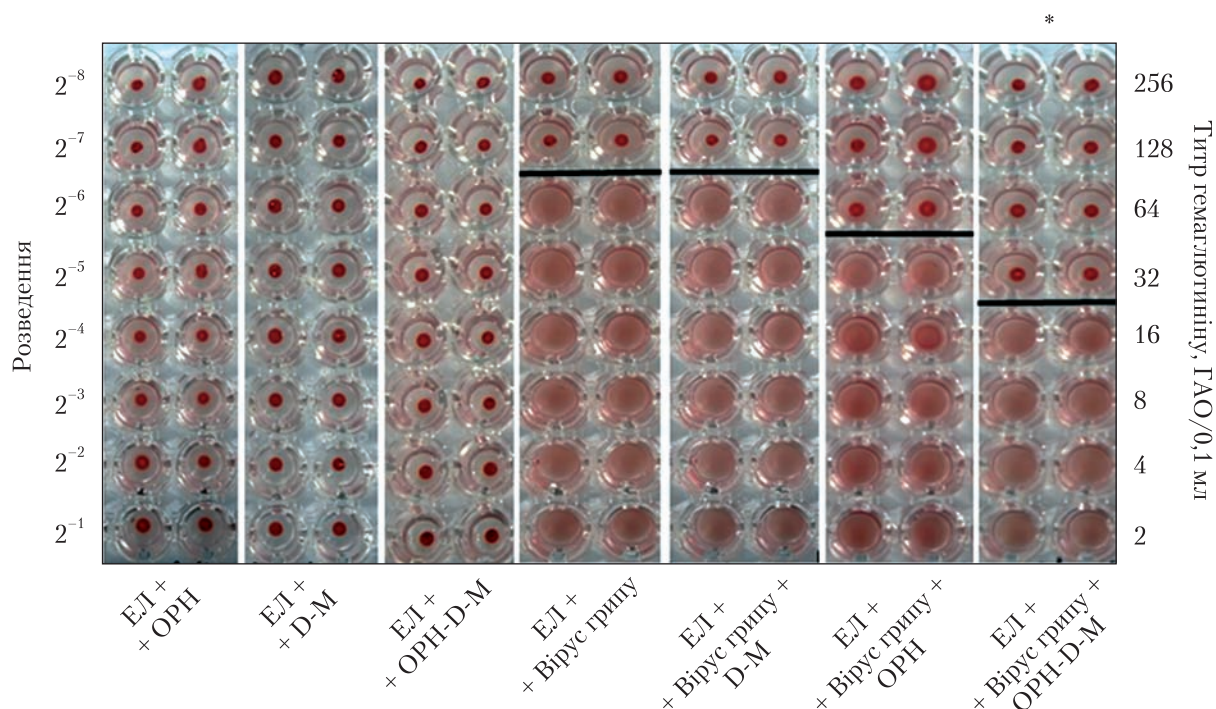


Рис. 1. Інгибування аглютинації ЕЛ, обумовленої ГА вірусу грипу А Н1Н1 (А/FM/1/47), під дією препарату ОРН-D-M. * – відмінності статистично значущі щодо значень позитивного контролю (ЕЛ + вірус грипу), $p < 0,05$

планшетів і тричі промивали клітини, додаючи 35 мкл/лунку RPMI з трипсином ТРСК (2 мкг/мл) (“Sigma”, США). Вірус грипу було розділено на чотири пробірки: контроль вірусу грипу (вірус без препаратів), вірус грипу + ОРН (вірус з ОРН, 2,5 мг/мл), вірус грипу + D-M (вірус з D-M, 1,0 мг/мл), вірус грипу + ОРН-D-M (вірус з ОРН-D-M, 3,5 мг/мл), і інкубували протягом 30 хв при 20 °С. Після вірусної передінкубації проводили десятикратні розведення кожного вірусу від 10^0 до 10^{-10} та зараження клітин. Клітини в одному з чотирьох 96-лункових планшетів заражали одним з попередньо проінкубованим вірусом грипу (35 мкл/лунку) в десятикратних розведеннях від 10^0 до 10^{-10} . Контролем служили клітини в кожному 96-лунковому планшеті (вісім лунок без інфікування вірусом грипу), в яких змінювали ростове середовище на безростове, яке містило 2 мкг/мл трипсин ТРСК. Для вірусної адсорбції планшети з інфікованими клітинами інкубували при 37 °С протягом 45 хв. Після інкубації з усіх досліджуваних лунок відбирали інфекційне середовище і додавали до інфікованих клітин по 100 мкл RPMI з трипсином ТРСК (2 мкг/мл) без FBS. Контрольні клітини (без інфікування вірусом грипу) залишалися без змін. Планшети з контрольними та інфікованими клітинами продовжували інкубувати протягом 48 год при 37 °С. Після 48-годинної інкубації інфекційний титр кожного з вірусів виражали як інфекційну дозу вірусу, яка призвела до 50 % інфікування клітин.

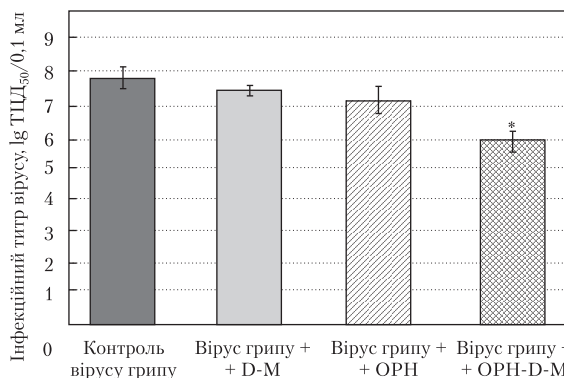
Віруцидну дію ОРН-D-M оцінювали за допомогою МТТ-тесту та інгибування вірусного цитопатичного ефекту. Перед експериментом клітини MDCK висівали на 96-лунковий планшет ($5 \cdot 10^3$ /лунку) та інкубували в ростовому середовищі RPMI (10 % FBS) протягом

24 год. Після інкубації з усіх лунок відбирали ростове середовище і тричі промивали клітини, додаючи 35 мкл/лунку RPMI з трипсином TPCK (2 мкг/мл). Клітини надалі інфікували вірусом грипу (інфекційний титр – 4,0 ТЦД₅₀, титр гемаглютиніну – 1 : 128), додаючи 35 мкл/лунку, який попередньо був проінкубований з препаратами ОРН (2,5 мг/мл) та ОРН-D-M (3,5, 0,35, 0,035 мг/мл) протягом 30 хв при 37 °С. Вірусна передінкубація була аналогічною проведеній під час аналізу TCID₅₀. Контролем вірусу служили клітини, які заражали вірусом грипу без передінкубації з препаратами, тоді як контролем MDCK були клітини, які не зазнавали вірусного зараження та дії препаратів. Для контролю препаратів (MDCK+ОРН, MDCK+D-M, MDCK+ОРН-D-M) клітини інкубували в планшеті по 100 мкл/лунку в безростовому середовищі з препаратами (2,5 мг/мл ОРН, 1,0 мг/мл D-M, 3,5 мг/мл ОРН-D-M). Планшет з контрольними та інфікованими клітинами після вірусного зараження та дії препаратів інкубували протягом 48 год при 37 °С. Після 48 год інкубації індуковану цитопатичну дію (ЦПД) вірусу грипу аналізували за допомогою світлового мікроскопа. Життєздатність клітин визначали за допомогою МТТ-тесту. Для цього з усіх лунок відбирали інкубаційне середовище, додавали 100 мкл/лунку МТТ буфера (15 мкл МТТ (3,4,5-диметилтіазол-2-іл-2,5-дифеніл-тетразоліум бромід) (“Sigma”, США) у концентрації 5 мг/мл та 85 мкл безростового середовища) і інкубували протягом 4 год при 37 °С. Після МТТ буфер відбирали та додавали по 150 мкл DMSO в усі лунки. Оптичну густину вимірювали на приладі ELx800 Absorbance Reader (BioTek, США) при довжині хвилі 570 нм. Дані були виражені як відсоток життєздатності клітин відносно 100 % контролю (контроль MDCK).

Дані наведено як середнє значення ± SD. Для аналізу усіх даних ми використали *t*-тест Стьюдента, $p \leq 0,05$ вважався істотним.

Результати та їх обговорення. РГА широко використовується для опосередкованого кількісного визначення титру вірусу грипу з урахуванням специфічної взаємодії ГА вірусу грипу з гліканами, які розміщені на поверхні клітини [12]. На рис. 1 показано вигляд реакційних сумішей РГА у круглодонному мікролунковому планшеті після додавання ОРН, D-M, ОРН-D-M (негативний контроль препаратів), вірусу грипу (позитивний контроль) та вірусу грипу, який попередньо інкубували з препаратами. Аглютинація ЕЛ не спостерігалася у випадку контролів препаратів, що вказує на відсутність впливу ОРН, D-M, ОРН-D-M на ЕЛ. Водночас аглютиновані вірусом грипу ЕЛ залишалися у вигляді суспензії та виглядали як дифузний червоний розчин. Було проаналізовано та розраховано титри ГА як зворотний мінімальний розчин, що утворює червону крапку, який вказує на одну одиницю ГА. Як показали результати дослідів, аглютинація ЕЛ вірусом грипу, попередньо проінкубованого з ОРН та ОРН-D-M протягом 30 хв при 20 °С,

Рис. 2. Зниження інфекційного титру вірусу грипу А Н1N1 (А/FM/1/47) під дією препарату ОРН-D-M. * – відмінності статистично значущі щодо значень контролю вірусу грипу, $p < 0,05$



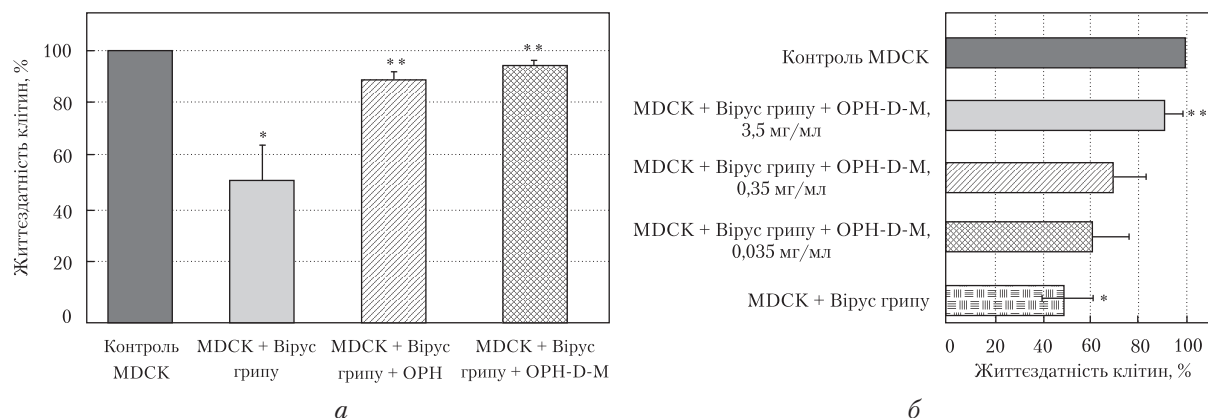


Рис. 3. Підвищення життєздатності клітин MDCK, інфікованих вірусом грипу А Н1Н1 (А/FM/1/47), препаратом ОРН-D-M (а) залежно від його концентрації (б). * – відмінності статистично значущі щодо значень контролю MDCK, $p < 0,05$; ** – відмінності статистично значущі щодо значень контролю вірусу грипу (MDCK + вірус грипу), $p < 0,05$

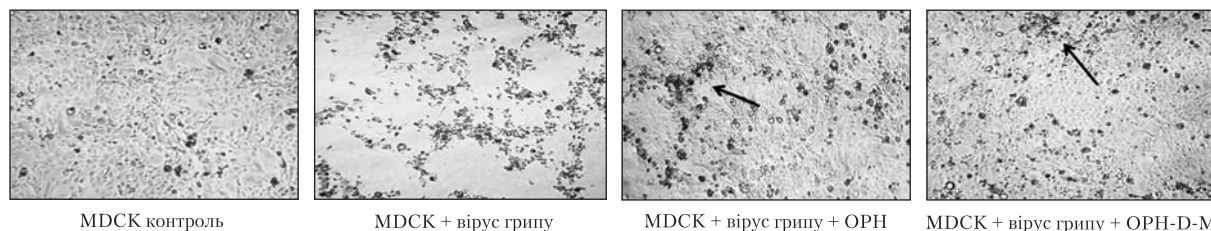


Рис. 4. Інгібування індукованих вірусом грипу А Н1Н1 (А/FM/1/47) ЦПД препаратом ОРН-D-M

була зниженою у 2 та 4 рази відповідно порівняно з контролем вірусу грипу. Аглютинація ЕЛ вірусом грипу, який попередньо інкубували з D-M, залишилася незмінною відносно контролю вірусу грипу. Таким чином, ОРН-D-M інгібують зв'язування протеїнів ГА вірусу грипу до сіалових кислот рецепторів ЕЛ, що виражалось в достовірному зниженні титру ГА вірусу грипу ($p < 0,05$) (див. рис. 1).

Наступним етапом дослідження була оцінка впливу ОРН-D-M на інфекційність вірусу грипу за допомогою аналізу ТЦД₅₀. Встановлено достовірне зниження ($p < 0,05$) інфекційного титру вірусу грипу, який попередньо інкубувався з ОРН-D-M, порівняно з контролем вірусу грипу (рис. 2). При цьому не встановлено статистично значущого зниження інфекційного титру вірусу грипу, який попередньо інкубували з ОРН та D-M, порівняно з контролем вірусу. Отримані результати свідчать про те, що ОРН-D-M можуть розпізнавати ГА вірусу грипу, ймовірно, на або навколо рецепторзв'язуючого місця, який необхідний для проникнення вірусу грипу в клітину-хазяїна [13]. Також результати дослідження вказують на можливе потенційне зв'язування ОРН-D-M з амінокислотами біля гліканзв'язуючого місця ГА [1], змінюючи його конформацію [14], що призводить до ефективного перешкодження ГА-глікановій взаємодії і значно послаблює здатність вірусу проникати в клітину господаря.

Оскільки індукований апоптоз під час інфекції вірусу грипу є основним фактором, що призводить до загибелі клітин та пошкодження тканин [15], ми припустили, що ОРН-D-M можуть пригнічувати зв'язування вірусу грипу з клітинами MDCK. Тому на наступному етапі дослідження ми оцінювали вірусіндуковану ЦПД за допомогою світлового мікроскопа та визначали життєздатність клітин, використовуючи МТТ реагент після 48-годинного зараження клітин MDCK вірусом грипу, який попередньо був інкубований з препаратом ОРН-D-M ($p < 0,05$). Результати дослідження показали достовірне зниження життєздатності клітин, які інфікували вірусом грипу, порівняно з інтактними клітинами. Також встановлено, що життєздатність інфікованих клітин вірусом грипу, який попередньо інкубували з ОРН та ОРН-D-M, була достовірно вищою порівняно з такою без попереднього вірусного інкубування з препаратами (рис. 3, а). Моношари клітин додатково проаналізовані на ЦПД (рис. 4). Чітка та помітна ЦПД спостерігалися на клітинах, інфікованих контрольним вірусом грипу, і незначна — на клітинах, які були заражені вірусом грипу з попередньою ОРН та ОРН-D-M інкубацією (див. рис. 4, стрілками вказано незначні ЦПД). Крім того, підвищення життєздатності клітин, інфікованих вірусом грипу, залежало від концентрації ОРН-D-M, з якою було інкубовано вірус перед зараженням клітин (див. рис. 3, б). Наведені результати дослідження свідчать про віруцидну дію ОРН-D-M, яка може реалізуватися через блокування зв'язування та входження вірусу грипу в клітину господаря. Загалом отримані результати вказують на інгібування інфекційності вірусу грипу А Н1N1 препаратом ОРН-D-M шляхом блокування ГА-гліканової взаємодії.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Gopinath S.C.B., Kumar P.K.R. Aptamers that bind to the hemagglutinin of the recent pandemic influenza virus H1N1 and efficiently inhibit agglutination. *Acta Biomater.* 2013. **9**. P. 8932–8941.
2. Brooks G.F., Butel J.S., Morse S.A. Jawetz, Melnick, Adelberg's Medical Microbiology. 22nd ed. New York: McGraw-Hill Companies. 2004.
3. Salzberg S. The contents of the syringe. *Nature.* 2008. **454**, № 7201. P. 160–161.
4. Davlin S.L. Influenza activity — United States, 2015–16 season and composition of the 2016–17 influenza vaccine. *Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2016. **65**, № 22. P. 567–575.
5. Houser K., Subbarao K. Influenza vaccines: Challenges and solutions. *Cell Host Microbe.* 2015. **17**, № 3. P. 295–300.
6. Hensley S.E. Challenges of selecting seasonal influenza vaccine strains for humans with diverse pre-exposure histories. *Curr. Opin. Virol.* 2014. **8**. P. 85–89.
7. Beigel J., Bray M. Current and future antiviral therapy of severe seasonal and avian influenza. *Antiviral Res.* 2008. **78**, № 1. P. 91–102.
8. Multiantivirus compound, composition and method for treatment of virus diseases: pat. 8420617 US. IPC C07H21/04, A61K31/70, C12Q1/68, C07H21/02; Filed 11.03.2011. Publ. 16.04.2013.
9. Ткачук З.Ю., Зарубаєв В.В., Семернікова Л.І. Протівірусна дія препарату Нуклекс на віруси грипу, парагрипу та пташиного грипу in vitro. *Укр. мед. альманах.* 2011. **14**, № 6. С. 209–212.
10. Ткачук З.Ю., Рибалко С.Л., Жаркова Л.Д., Старосила Д.Б., Семернікова Л.І. Антигрипозна активність препарату нуклекс. *Допов. Нац. акад. наук Укр.* 2010. № 9. С. 191–196.
11. Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Amer. J. Hygiene.* 1938. **27**. P. 493–497.
12. Killian M.L. Hemagglutination assay for the avian influenza virus. *Methods Mol. Biol.* 2008. **436**. P. 47–52.
13. Wongphatcharachai M., Wang P., Enomoto S., Webby R. J., Gramer M. R. Neutralizing DNA aptamers against swine influenza H3N2 viruses. *J. Clin. Microbiol.* 2013. **51**. P. 46–54.

14. Skorobogatov O. Yu., Lozhko D. N., Zhukov Yu. I., Kozlov O. V., Tkachuk Z. Yu. Study of dephosphorylated 2'-5'-linked oligoadenylates impact on apo-S100A1 protein conformation by heteronuclear NMR and circular dichroism. *Biopolymers and Cell*. 2014. **30**, № 4. P. 279–285.
15. Takizawa T., Matsukawa S., Higuchi Y., Nakamura S., Nakanishi Y., Fukuda R. Induction of programmed cell death (apoptosis) by influenza virus infection in tissue culture cells. *J. Gen. Virol.* 1993. **74**. P. 2347–2355.

Надійшло до редакції 29.08.2017

REFERENCES

1. Gopinath, S. C. B. & Kumar, P. K. R. (2013). Aptamers that bind to the hemagglutinin of the recent pandemic influenza virus H1N1 and efficiently inhibit agglutination. *Acta Biomaterialia*, 9, pp. 8932-8941.
2. Brooks, G. F., Butel, J. S. & Morse, S. A. (2004). *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*. 22nd ed. New York: McGraw-Hill Companies.
3. Salzberg, S. (2008). The contents of the syringe. *Nature*, 454, No. 7201, pp. 160-161.
4. Davlin, S. L. (2016). Influenza activity - United States, 2015-16 season and composition of the 2016-17 influenza vaccine. *Morb. Mortal. Wkly Rep.*, 65, No. 22, pp. 567-575.
5. Houser, K. & Subbarao, K. (2015). Influenza vaccines: Challenges and solutions. *Cell Host Microbe*, 17, No. 3, pp. 295-300.
6. Hensley, S. E. (2014). Challenges of selecting seasonal influenza vaccine strains for humans with diverse pre-exposure histories. *Curr. Opin. Virol.*, 8, pp. 85-89.
7. Beigel, J. & Bray, M. (2008). Current and future antiviral therapy of severe seasonal and avian influenza. *Antiviral Res.*, 78, No. 1, pp. 91-102.
8. Pat. 8420617 US. IPC C07H21/04, A61K31/70, C12Q1/68, C07H21/02, Multiantivirus compound, composition and method for treatment of virus diseases, Tkachuk, Z. Publ. 16.04.2013.
9. Tkachuk, Z. Y., Zarubayev, V. V. & Semernikova, L. I. (2011). The antivirus action of Nuclex on the viruses of influenza, parainfluenza and bird flu in vitro. *Ukr. med. almanakh.*, 14, No. 6, pp. 209-212 (in Ukrainian).
10. Tkachuk, Z. Y., Rybalko, S. L., Zharkova, L. D., Starostyla, D. B. & Semernikova, L. I. (2010). Antiinfluenzal activity of drug Nuclex. *Dopov. Nac. acad. nauk Ukr.*, No. 9, pp. 191-196 (in Ukrainian).
11. Reed, L. J. & Muench, H. (1938). A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Amer. J. Hygiene*, 27, pp. 493-497.
12. Killian, M. L. (2008). Hemagglutination assay for the avian influenza virus. *Methods Mol. Biol.*, 436, pp. 47-52.
13. Wongphatcharachai, M., Wang, P., Enomoto, S., Webby, R. J. & Gramer, M. R. (2013). Neutralizing DNA aptamers against swine influenza H3N2 viruses. *J. Clin. Microbiol.*, 51, pp. 46-54.
14. Skorobogatov, O. Yu., Lozhko, D. N., Zhukov, Yu. I., Kozlov, O. V. & Tkachuk, Z. Yu. (2014). Study of dephosphorylated 2'-5'-linked oligoadenylates impact on apo-S100A1 protein conformation by heteronuclear NMR and circular dichroism. *Biopolymers and Cell*, 30, No. 4, pp. 279-285.
15. Takizawa, T., Matsukawa, S., Higuchi, Y., Nakamura, S., Nakanishi, Y. & Fukuda, R. (1993). Induction of programmed cell death (apoptosis) by influenza virus infection in tissue culture cells. *J. Gen. Virol.*, 74, pp. 2347-2355.

Received 29.08.2017

Н.С. Мельничук, З.Ю. Ткачук

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев

E-mail: natalia.melnichuk8@gmail.com

ИНГИБИРОВАНИЕ ГЕМАГГЛЮТИНИН-ГЛИКАНОВОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КОМПЛЕКСАМИ ОЛИГОРИБОНУКЛЕОЛИДОВ С D-МАННИТОЛОМ

По результатам опосредованного определения количества титра вируса гриппа методом геммагглютинации обнаружено, что комплексы олигорибонуклеотидов с D-маннитолом (ОРН-D-М) препятствуют возникновению геммагглютинин-гликанового взаимодействия. Инфекционность вируса гриппа H1N1 (A/FM/

1/47) снижается после инкубации с ОРН-D-M. Показано, что ОРН-D-M проявляют вируцидное действие против вируса гриппа.

Ключевые слова: *гемагглютинин, вирус гриппа, комплексы олігорибонуклеотидів з D-маннітолом.*

N.S. Melnichuk, Z.Yu. Tkachuk

Institute of Molecular Biology and Genetics of the NAS of Ukraine, Kiev

E-mail: natalia.melnichuk8@gmail.com

INHIBITION OF HEMAGGLUTININ-GLYCAN INTERACTION
BY COMPLEXES OF OLIGORIBONUCLEOTIDES WITH D-MANNITOL

By the results of the indirect determination of the amount of influenza virus titer by the hemagglutination assay, it is found that oligoribonucleotides-D-mannitol (ORNs-D-M) complexes interfere with HA-glycan interactions. The infectivity of influenza virus *H1N1 (A/FM/1/47)* decreases after the incubation with ORNs-D-M. It is shown that ORNs-D-M possess a direct virucidal action.

Keywords: *hemagglutinin, influenza virus, oligoribonucleotides-D-mannitol complexes.*