

## Противовирусные свойства водных экстрактов мицелия *Inonotus rheades* (Pers.) P. Karst. (1882) в отношении вируса клещевого энцефалита *in vitro* определяются субстратом выращивания

Хаснатинов М.А.<sup>1</sup>, Горностаи Т.Г.<sup>2</sup>, Соловаров И.С.<sup>1</sup>, Полякова М.С.<sup>2</sup>, Данчинова Г.А.<sup>1</sup>, Боровский Г.Б.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева 16, Россия);

<sup>2</sup>ФГБНУ Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Хаснатинов Максим Анатольевич, e-mail: khasnatinov@yandex.ru

### Резюме

**Обоснование.** Вирус клещевого энцефалита, передающийся человеку при укусах иксодовых клещей, является одним из наиболее опасных и эпидемически значимых возбудителей инфекционных заболеваний в Российской Федерации. При этом существует потребность в эффективных противовирусных средствах для лечения и профилактики этой инфекции. Ксилотрофные базидиомицеты широко используются в качестве исходного сырья при поиске новых биологически активных субстанций, в том числе противовирусных средств. Ранее нами было показано, что водные экстракты мицелия *Inonotus rheades* обладают противовирусной активностью в отношении вируса клещевого энцефалита, однако природа этого действия остаётся неясной.

**Цель исследования.** Проанализировать взаимосвязь между вирулицидными свойствами экстракта *I. rheades* и субстратом, на котором велось культивирование.

**Методы.** Мицелий получали в стерильных условиях двумя разными способами – на стандартной жидкой среде с сусликом и на древесных дисках берёзы. Из образцов мицелия приготавливали экстракты водорастворимых полисахаридов. Концентрацию инфекционного вируса клещевого энцефалита оценивали методом титрования бляшкообразующих единиц (БОЕ). Вирус клещевого энцефалита в количестве 30 000 БОЕ смешивали с равным объёмом соответствующего экстракта *I. rheades* в концентрации 8 мг/мл и инкубировали 30 мин при 37 °С. После этого определяли остаточную инфекционность вируса клещевого энцефалита в сравнении с идентичным образцом вируса, инкубированным с равным объёмом воды.

**Результаты.** Обработка вируса клещевого энцефалита экстрактом мицелия *I. rheades*, выращенного на дисках берёзы, приводит к полной инактивации вируса. Однако экстракт *I. rheades*, выращенный на среде с сусликом, не обладает противовирусными свойствами.

**Заключение.** Можно предположить, что вирулицидные вещества не являются основными метаболитами мицелия исследуемого гриба, а, вероятно, являются побочными продуктами разложения древесины.

**Ключевые слова:** противовирусная активность, *Inonotus rheades*, вирус клещевого энцефалита, древесина берёзы

**Для цитирования:** Хаснатинов М.А., Горностаи Т.Г., Соловаров И.С., Полякова М.С., Данчинова Г.А., Боровский Г.Б. Противовирусные свойства водных экстрактов мицелия *Inonotus rheades* (Pers.) P. Karst. (1882) в отношении вируса клещевого энцефалита *in vitro* определяются субстратом выращивания. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(1): 55-59. doi: 10.29413/ABS.2021-6.1.8.

## Antiviral Properties of Water Extracts of Mycelium *Inonotus rheades* (Pers.) P. Karst. (1882) against the Virus of Tick-Borne Encephalitis Virus *in vitro*

Khasnatinov M.A.<sup>1</sup>, Gornostai T.G.<sup>2</sup>, Solovarov I.S.<sup>1</sup>, Polyakova M.S.<sup>2</sup>, Danchinova G.A.<sup>1</sup>, Borovskii G.B.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryaseva str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation);

<sup>2</sup>Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS (Lermontova str. 132, Irkutsk 664033, Russian Federation)

Corresponding author: Khasnatinov Maxim Anatolievich, e-mail: khasnatinov@yandex.ru

### Abstract

**Background.** Tick-borne encephalitis virus is dangerous and widespread pathogen that is transmitted to humans through the bites of hard ticks. Wild fungi, such as xylophilic basidiomycetes, are widely used in traditional medicine to treat the infectious diseases and are promising natural sources of new antiviral agents. It was previously shown that aqueous extracts from the mycelium of the *Inonotus rheades* (Pers.) P. Karst. (1882) fungus exhibit significant antiviral activity against tick-borne encephalitis virus, however, the mechanisms of this activity remain unclear.

**Aim.** To analyze the relationship between the virucidal properties of *I. rheades* extract and the substrate on which the cultivation was carried out.

**Materials and methods.** The mycelium was grown either in a standard liquid medium with wort or on wooden disks from birch. Extracts of water-soluble polysaccharides were prepared from both mycelium samples. The concentration of infectious tick-borne encephalitis virus was determined using the method of titration of plaque-forming components (PFU). Approximately 30 000 PFU of tick-borne encephalitis virus was mixed with an equal volume of corresponding *I. rheades* extract at concentration of 8 mg/mL and incubated for 30 min at 37 °C. Afterwards, the residual infectivity of tick-borne encephalitis virus was determined using the identical virus sample incubated with sterile water as a reference.

**Results.** It was found that treatment of tick-borne encephalitis virus with extracts from *I. rheades* mycelium resulted in inhibition of the infectivity of the virus in the cell culture. However, the same strain of *I. rheades*, grown on medium with wort, did not exhibit antiviral properties.

**Conclusions.** Virucidal substances are likely to be not the main metabolites of the mycelium of *I. rheades*, but are rather metabolized wood polysaccharides. Further research is needed to more accurately identify the active ingredients and assess their antiviral activity.

**Key words:** antiviral activity, *Inonotus rheades*, tick-borne encephalitis virus, birch wood

**For citation:** Khasnatinov M.A., Gornostai T.G., Solovarov I.S., Polyakova M.S., Danchinova G.A., Borovskii G.B. Antiviral Properties of Water Extracts of Mycelium *Inonotus rheades* (Pers.) P. Karst. (1882) against the Virus of Tick-Borne Encephalitis Virus *in vitro*. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(1): 55-59. doi: 10.29413/ABS.2021-6.1.8.

## ОБОСНОВАНИЕ

Флавивирuсы – опасные патогены человека. Возбудители лихорадки Денге, жёлтой лихорадки, японского и клещевого энцефалита являются флавивирuсами. Специфических лекарственных средств против них не существует. Наиболее эпидемически значимым флавивирuсом в Российской Федерации является вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), передающийся людям при укусах иксодовых клещей [1, 2]. Широкое распространение природных очагов клещевого энцефалита (КЭ) на территории РФ, низкий уровень вакцинации населения и недостаток специфических противовирусных препаратов делают актуальной разработку новых лекарственных средств против КЭ. Одним из активно развивающихся направлений в разработке новых противовирусных препаратов является поиск активных химических соединений в продуктах естественного происхождения.

К числу потенциальных источников природных метаболитов с противовирусной активностью относят ксилотрофные базидиомицеты, из которых наиболее изученным и широко распространённым объектом является склероций трутовика скошенного *Inonotus obliquus* (чага) [3]. Для различных экстрактов из склероция *I. obliquus* показан широкий диапазон противовирусной активности *in vitro* в отношении: вирусов гриппа птиц (субтип А/Н5N1) [4], ВИЧ-1 [5, 6], простого герпеса (HSV) [7], натуральной оспы и осповакцины [8]. Также показано действие извлечений на активность вируса герпеса: при внутрибрюшинном введении водных экстрактов *I. obliquus* 0,4–2,0 мг сухого вещества на мышь за сутки до заражения животных вирусом простого герпеса II типа была выявлена 90%-ная выживаемость животных [9].

Ранее нами было показано, что один из представителей рода *Inonotus* – трутовик лисий *Inonotus rheades* (Pers.) P. Karst. (1882) – содержит в мицелии водорастворимые вещества, обладающие сильными вирулицидными свойствами в отношении ВКЭ [10]. В связи с этим стоит задача получения необходимого объёма сырья для извлечения и последующего изучения искоемых соединений. Синтез определённых метаболитов у грибов в значительной степени определяется субстратным фактором [11]. В литературе отмечено, что модификация субстратов приводила к увеличению биоактивности экстрактов из широко используемых в традиционной медицине грибов, таких как *Ganoderma lucidum* (рейши) [12] и *I. obliquus* [13]. Для экстрактов из *I. obliquus* выявлена противовирусная активность из сырья, полученного при жидкофазном культивировании и на древесине, для экстрактов *Lentinula edodes* (шиитакэ) и *Pleurotus ostreatus* (вешенка устричная) – при получении плодовых тел на пшеничном зерне [5, 9], такие данные демонстрируют, что субстрат оказывает влияние на биологическую активность получаемого сырья. При этом древесина разных пород и мест произрастания в качестве субстрата может давать на выходе различную противовирусную

активность извлечений [14]. О специфичности наработки противовирусных веществ в зависимости от субстрата у *I. rheades* опубликованных данных нет.

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Проанализировать взаимосвязь между вирулицидными свойствами экстракта *I. rheades* и субстратом, на котором велось культивирование.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования был базидиальный гриб *I. rheades* штамм 287, из коллекции грибных культур ЦКП «Биоресурсный центр» СИФИБР СО РАН, который культивировали на жидкой среде и древесных дисках *Betula pendula* Roth (Betulaceae). Среда и субстрат были стерилизованы и после этого инокулированы мицелием *I. rheades*. Культивирование на жидкой среде и на древесине проводили в течение 30 и 60 дней соответственно, при  $25 \pm 1$  °C, в темноте.

Из полученных в ходе культивирования мицелия и культуральной жидкости выделяли фракции водорастворимых полисахаридов (ВРПС) с использованием методики Бабицкой с соавт. [15]. Перерастворение делали с использованием стерильной бидистиллированной воды и после пропускали через бактериальный фильтр с порами диаметром 22 мкм. Раствор общей полисахаридной фракции хранили при –20 °C.

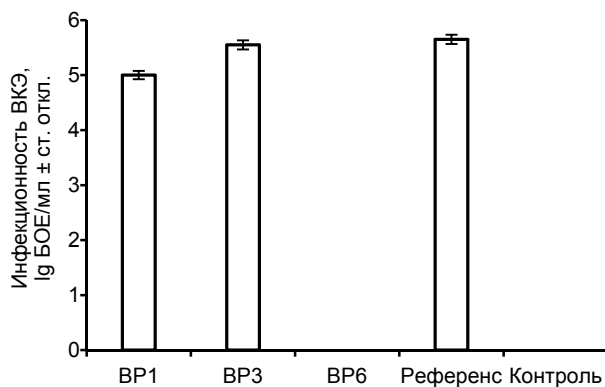
Для оценки противовирусной активности использовали охарактеризованный ранее изолят ВКЭ 92М [16]. Культивирование ВКЭ производили в клеточной линии почки эмбриона свиньи СПЭВ (ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России, Санкт-Петербург). Инфекционность вируса определяли с помощью титрования бляшкообразующих единиц в культуральной среде и выражали в виде lg БОЕ/мл. Поддержание культур клеток осуществляли на среде RPMI 1640 с добавлением антибиотиков и 5%-ной эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) NuClone (ThermoScientific, Великобритания).

Противовирусную активность определяли в соответствии с Гулд и Клегг [17] с модификациями. Для оценки ингибирующего действия экстрактов на вирионы ВКЭ, 100 мкл среды RPMI 1640 (без сыворотки), содержащей 30 000 БОЕ ВКЭ, смешивали с равным объёмом тестируемого экстракта в концентрации 8 мг/мл. Таким образом, рабочая концентрация экстрактов составляла 4 мг/мл. Референс-образец приготавливали, смешивая 100 мкл вирусной суспензии с равным объёмом стерильной бидистиллированной воды. В качестве положительного контроля использовали донорский иммуноглобулин человека против клещевого энцефалита производства ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ (Томск). Исходный препарат разбавляли стерильной бидистиллированной водой до рабочей концентрации иммуноглобулина 1 мг/мл. Смеси инкубировали при 37 °C в течение 30 минут и затем определяли концентрацию инфекционного ВКЭ в каждом

образце, используя метод титрования БОЕ. Индекс ингибирования (ИИ) рассчитывали как разницу титра ВКЭ (в логарифмическом выражении) в референс-образце и титра ВКЭ в образце, обработанном исследуемым препаратом. Для каждого препарата и контрольных образцов проводили три независимых повтора эксперимента, результаты представляли в виде среднего значения трёх наблюдений. Для оценки внутригрупповой вариабельности результатов рассчитывали стандартное отклонение. Обработку результатов производили с помощью программы MS Office EXCEL (Microsoft, США). Исследования проводились в лаборатории, лицензированной для работ с возбудителями инфекционных заболеваний II–IV группы патогенности.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

В ходе работы были получены фракции ВРПС из культуральной жидкости (ВР-1), из мицелия, полученного на жидкой среде (ВР-3) и из мицелия, выращенного на древесных дисках (ВР-6), с выходом ВРПС 2,49, 0,08 и 1,06 г соответственно. При обработке флавивирусов препаратами, снижение титра вируса на 1 lg и более свидетельствует о наличии вируснейтрализующей или вирулицидной активности [17]. Индекс ингибирования экстрактов ВР-1 и ВР-3 составил  $0,6 \pm 0,05$  и  $0,06 \pm 0,1$  соответственно, что свидетельствует об очень низкой или отсутствующей ингибирующей активности. ИИ экстракта ВР6 составил  $5,56 \pm 0,05$ . Этот показатель был сопоставим с индексом ингибирования специфичного иммуноглобулина против ВКЭ (также  $5,56 \pm 0,05$ ) и стабильно воспроизводился в трёх независимых повторах, что свидетельствует о выраженной вирулицидной активности экстракта ВР6. При обработке экстрактами ВР-1 и ВР-3 в концентрации 4 мг/мл не выявлено различий инфекционности ВКЭ с референс-образцом, тогда как экстракт ВР-6 полностью уничтожил ВКЭ (рис. 1). Различия между препаратами более чем в три раза превышали стандартное отклонение средних значений любого из препаратов (рис. 1).



**Рис. 1.** Противовирусная активность экстрактов *I. rheades* в рабочей концентрации 4 мг/мл. ВР-1 – экстракт из культуральной жидкости; ВР-3 – из мицелия, полученного на жидкой среде; ВР-6 – из мицелия, выращенного на древесных дисках; референс – стерильная бидистиллированная вода; контроль – иммуноглобулин человека против КЭ. Планки погрешностей отражают стандартное отклонение среднего по результатам трёх независимых экспериментов

**Fig. 1.** Antiviral activity of *I. rheades* extracts at working concentration of 4 mg/mL. ВР-1 – extract from culture medium; ВР-3 – from mycelium obtained in a liquid medium; ВР-6 – from mycelium grown on wooden discs; reference – sterile double distilled water; control – human immunoglobulin against tick-borne encephalitis. Error bars represent the standard deviation of the mean from three independent replications

Различия в вирулицидной активности экстрактов, полученных на разных субстратах, могут объясняться двояко. С одной стороны, могут существовать метаболические различия в синтезе соединений *I. rheades* на древесине берёзы, обусловленные наличием в субстрате богатого набора сахаров, отсутствующего в жидкой среде стандартного состава. В этом случае, вероятно, что синтез вирулицидных в отношении ВКЭ компонентов экстракта мицелием *I. rheades* при жидкофазном культивировании возможен, если в среду добавить выделенные из берёзы поли- и моносахариды. С другой стороны, можно предположить, что вирулицидные вещества не являются основными метаболитами мицелия исследуемого гриба, а могут быть побочными продуктами разложения субстрата. Об этом свидетельствует наличие признаков вирусингибирующей активности в культуральной среде (препарат ВР-1, ИИ = 0,6), её полное отсутствие в мицелии, выращенном на этой среде (ВР-3, ИИ = 0,06), и ярко выраженное увеличение антивирусной активности при смене субстрата (ВР-6, ИИ = 5,56).

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Вирулицидные свойства экстрактов *I. rheades* определяются субстратом выращивания гриба. При этом экстракты мицелия, выращенного на стандартной культуральной среде, не проявляют антивирусных свойств, тогда как экстракты мицелия, выращенного на древесине, обладают ярко выраженными вирулицидными качествами. Для выяснения точного механизма противовирусного действия препаратов *I. rheades* необходимо определить физико-химические свойства и проанализировать компонентный состав экстрактов, а также установить, возможен ли синтез мицелием *I. rheades* вирулицидных в отношении ВКЭ веществ из древесины других пород.

**Конфликт интересов**

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование**

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Иркутской области в рамках научного проекта № 20-44-380010.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Козлова И.В., Ткачев С.Е., Савинова Ю.С., Демина Т.В., Дорошенко Е.К., Лисак О.В., и др. Особенности экологии вируса клещевого энцефалита европейского субтипа на территории Сибири. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2017; 16(1): 22-25. doi: 10.31631/2073-3046-2017-16-1-22-25
2. Аитов К.А., Бурданова Т.М., Верховина М.М., Демина Т.В., Джиоев Ю.П., Козлова И.В., и др. Клещевой энцефалит в Восточной Сибири: этиология, молекулярная эпидемиология, особенности клинического течения. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2018; 7(3): 31-40. doi: 10.24411/2305-3496-2018-13005
3. Zhong X, Ren K, Lu S, Yang S, Sun D. Progress of research on *Inonotus obliquus*. *Chin J Integr Med*. 2009; 15(2): 156-160. doi: 10.1007/s11655-009-0156-2
4. Филиппова Е.И., Мазуркова Н.А., Кабанов А.С. Теплякова Т.В., Ибрагимова Ж.Б., Макаревич Е.В., и др. Противовирусные свойства водных экстрактов, выделенных из высших базидиомицетов, в отношении пандемического вируса гриппа А(Н1N1)2009. *Научное обозрение. Биологические науки*. 2014; (1): 129-130.
5. Гашникова Н.М., Косогова Т.А., Пучкова Л.И., Балахин С.М., Теплякова Т.В. Противовирусная активность экстрак-

тов из базидиальных грибов в отношении вируса иммунодефицита человека. *Наука и современность*. 2011; (12-1): 12-18.

6. Шибнев В.А., Гараев Т.М., Финогенов М.П., Калнина Л.Б., Носик Д.Н. Противовирусное действие водных экстрактов берёзового гриба *Inonotus obliquus* на вирус иммунодефицита человека. *Вопросы вирусологии*. 2015; 60(2): 35-38.

7. Pan HH, Yu XT, Li T, Wu HL, Jiao CW, Cai MH, et al. Aqueous extract from a Chaga medicinal mushroom, *Inonotus obliquus* (higher basidiomycetes), prevents herpes simplex virus entry through inhibition of viral-induced membrane fusion. *Int J Med Mushrooms*. 2013; 15(1): 29-38. doi: 10.1615/IntJMedMushr.v15.i1.40

8. Теплякова Т.В., Булычев Л.Е., Косогова Т.А., Ибрагимова Ж.Б., Юрганова И.А., Кабанов А.С., и др. Противовирусная активность экстрактов из базидиальных грибов в отношении ортопоксвирусов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 3(113): 99-101. doi: 10.21055/0370-1069-2012-3-99-101

9. Разумов И.А., Казачинская Е.И., Пучкова Л.И., Косогова Т.А., Горбунова И.А., Локтев В.Б., и др. Протективная активность водных экстрактов из высших грибов при экспериментальной герпесвирусной инфекции у белых мышей. *Антибиотики и химиотерапия*. 2013; 58(9-10): 8-12.

10. Горностай Т.Г., Хаснатинов М.А., Соловаров И.С., Данчинова Г.А., Боровский Г.Б. Противовирусные свойства водных экстрактов мицелия *Inonotus rheades* в отношении вируса клещевого энцефалита *in vitro*. В кн.: Бычков И.В., Казаков А.Л. (ред.) *Актуальные проблемы науки Прибайкалья*. Вып. 3. Иркутск: Изд-во ИГУ; 2020: 21-25.

11. Shang Z, Li XM, Li CS, Wang BG. Diverse secondary metabolites produced by marine-derived fungus *Nigrospora* sp. MA75 on various culture media. *Chem Biodiversity*. 2012; 9: 1338-1348. doi: 10.1002/cbdv.201100216

12. You BL, Lee HZ, Chung KR, Lee MH, Huang MJ, Tien N, et al. Enhanced production of ganoderic acids and cytotoxicity of *Ganoderma lucidum* using solid-medium culture. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2012; 76(8): 1529-1534. doi: 10.1271/bbb.120270

13. Xu X, Zhu J. Enhanced phenolic antioxidants production in submerged cultures of *Inonotus obliquus* in a ground corn stover medium. *Biochem Eng J*. 2011; 58-59: 103-109. doi: 10.1016/j.bej.2011.09.003

14. Vlasenko VA, Ilyicheva TN, Teplyakova TV, Svyatchenko SV, Asbaganov SV, Zmitrovich IV, et al. Antiviral activity of total polysaccharide fraction of water and ethanol extracts of *Pleurotus pulmonarius* against the influenza A virus. *Curr Res Environ Appl Mycol J Fungal Biol*. 2020; 10(1): 224-235. doi: 10.5943/cream/10/1/22

15. Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Пучкова Т.А., Смирнов Д.А., Бисько Н.А., Поединок Н.Л. Влияние условий глубинного культивирования лекарственного гриба *Ganoderma lucidum* (Рейши) на образование полисахаридов. *Биотехнология*. 2007; (6): 34-41.

16. Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А., Злобин В.И., Ляпунов А.В., Арбатская Е.В., Чапоргина Е.А., и др. Вирус клещевого энцефалита в Монголии. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2012; (4): 9-12.

17. Gould EA, Clegg JCS. Growth, titration and purification of togaviruses. In: Mahy BWJ. (ed.) *Virology: A Practical Approach*. Oxford: IRL Press; 1985: 43-48.

## REFERENCES

1. Kozlova IV, Tkachev SE, Savinova YuS, Demina TV, Doroshchenko EK, Lisak OV, et al. The ecology features of tick-borne encephalitis virus of European subtype in Siberia. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2017; 16(1): 22-25. doi: 10.31631/2073-3046-2017-16-1-22-25. (In Russ.)

2. Aitov KA, Burdanova TM, Verkhozina MM, Demina TV, Dzhioev YuP, Kozlova IV, et al. Tick-borne encephalitis in Eastern Siberia: Etiology, molecular epidemiology and peculiarities of the clinical course. *Infectious Diseases: News, Opinions, Training*. 2018; 7(3): 31-40. doi: 10.24411/2305-3496-2018-13005. (In Russ.)

3. Zhong X, Ren K, Lu S, Yang S, Sun D. Progress of research on *Inonotus obliquus*. *Chin J Integr Med*. 2009; 15(2): 156-160. doi: 10.1007/s11655-009-0156-2

4. Filippova EI, Mazurkova NA, Kabanov AS, Teplyakova TV, Ibragimova ZB, Makarevich EV, et al. Antiviral properties of aqueous extracts isolated from higher basidiomycetes as respect to pandemic influenza virus A(H1N1)2009. *Nauchnoe obozrenie. Biologicheskie nauki*. 2014; (1): 129-130. (In Russ.)

5. Gashnikova NM, Kosogova TA, Puchkova LI, Balakhnin SM, Teplyakova TV. Anti-viral activity extracts from basidial mushrooms regarding the virus human immunodeficiency. *Nauka I sovremennost*. 2011; (12-1): 12-18. (In Russ.)

6. Shibnev VA, Garaev TM, Finogenova MP, Kalnina LB, Nosik DN. Antiviral activity of aqueous extracts of the birch fungus *Inonotus obliquus* on the human immunodeficiency virus. *Problems of Virology*. 2015; 60(2): 35-38. (In Russ.)

7. Pan HH, Yu XT, Li T, Wu HL, Jiao CW, Cai MH, et al. Aqueous extract from a Chaga medicinal mushroom, *Inonotus obliquus* (higher basidiomycetes), prevents herpes simplex virus entry through inhibition of viral-induced membrane fusion. *Int J Med Mushrooms*. 2013; 15(1): 29-38. doi: 10.1615/IntJMedMushr.v15.i1.40

8. Teplyakova TV, Bulychiev LE, Kosogova TA, Ibragimova ZhB, Yurganova IA, Kabanov AS, et al. Antiviral activity of extracts from basidiomycetes for orthopoxviruses. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2012; 3(113): 99-101. doi: 10.21055/0370-1069-2012-3-99-101. (In Russ.)

9. Razumov IA, Kazachinskaya EI, Puchkova LI, Kosogova TA, Gorbunova IA, Loktev VB, et al. Protective activity of aqueous extracts from higher mushrooms against *Herpes simplex virus* type-2 on albino mice model. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2013; 58(9-10): 8-12. (In Russ.)

10. Gornostay TG, Khasnatinov MA, Solovarov IS, Danchinova GA, Borovskii GB. Antiviral properties of water extracts of mycelium *Inonotus rheades*, against the virus of tick-borne encephalitis virus *in vitro*. In: Bychkov IV, Kazakov AL. (eds.) *Actual problems of science in the Baikal region. Issue 3*. Irkutsk: Izdatelstvo ISU; 2020: 21-25. (In Russ.)

11. Shang Z, Li XM, Li CS, Wang BG. Diverse secondary metabolites produced by marine-derived fungus *Nigrospora* sp. MA75 on various culture media. *Chem Biodiversity*. 2012; 9: 1338-1348. doi: 10.1002/cbdv.201100216

12. You BL, Lee HZ, Chung KR, Lee MH, Huang MJ, Tien N, et al. Enhanced production of ganoderic acids and cytotoxicity of *Ganoderma lucidum* using solid-medium culture. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2012; 76(8): 1529-1534. doi: 10.1271/bbb.120270

13. Xu X, Zhu J. Enhanced phenolic antioxidants production in submerged cultures of *Inonotus obliquus* in a ground corn stover medium. *Biochem Eng J*. 2011; 58-59: 103-109. doi: 10.1016/j.bej.2011.09.003

14. Vlasenko VA, Ilyicheva TN, Teplyakova TV, Svyatchenko SV, Asbaganov SV, Zmitrovich IV, et al. Antiviral activity of total polysaccharide fraction of water and ethanol extracts of *Pleurotus pulmonarius* against the influenza A virus. *Curr Res Environ Appl Mycol J Fungal Biol*. 2020; 10(1): 224-235. doi: 10.5943/cream/10/1/22

15. Babitskaya VG, Shcherba VV, Puchkova TA, Smirnov DA, Bisko NA, Poyedinok NL. Effect of the conditions for submerged culturing of the medicinal fungus *Ganoderma lucidum* (Rei Shi) on the polysaccharide production. *Biotechnologia*. 2007; (6): 34-41. (In Russ.)

16. Khasnatinov MA, Danchinova GA, Zlobin VI, Liapunov AV, Arbatskaya EV, Tchaporgina EA, et al. Tick-borne encephalitis virus in Mongolia. *Sibirskii Medicinskii Zhurnal (Irkutsk)*. 2012; 111(4): 9-12. (In Russ.)

17. Gould EA, Clegg JCS. Growth, titration and purification of togaviruses. In: Mahy BWJ. (ed.) *Virology: A Practical Approach*. Oxford: IRL Press; 1985: 43-48.

**Сведения об авторах**

**Хаснатинов Максим Анатольевич** – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: khasnatinov@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8441-3640>

**Горностай Татьяна Геннадьевна** – кандидат фармацевтических наук, младший научный сотрудник лаборатории физиологической генетики, ФГБНУ Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, e-mail: t.g.gornostay@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1120-2148>

**Соловаров Иннокентий Сергеевич** – младший научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: keschass@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9936-5330>

**Полякова Марина Станиславовна** – ведущий инженер лаборатории физиологической генетики научный сотрудник лаборатории физиологической генетики, ФГБНУ Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН; e-mail: poljakova.m@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4125-0212>

**Данчинова Галина Анатольевна** – доктор биологических наук, руководитель лаборатории трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: dan-chin@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6705-3070>

**Боровский Геннадий Борисович** – доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории физиологической генетики, ФГБНУ Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, e-mail: borovskii@sifibr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5089-5311>

**Information about the authors**

**Maxim A. Khasnatinov** – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Transmissible Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: khasnatinov@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8441-3640>

**Tatyana G. Gornostai** – Cand. Sc. (Pharm.), Junior Research Officer at the Laboratory of Physiological Genetics, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, e-mail: t.g.gornostay@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1120-2148>

**Innokentii S. Solovarov** – Junior Research Officer at the Laboratory of Transmissible Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: keschass@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9936-5330>

**Marina S. Polyakova** – Leading Engineer at the Laboratory of Physiological Genetics, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, e-mail: poljakova.m@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4125-0212>

**Galina A. Danchinova** – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Arthropod-Borne Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: dan-chin@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6705-3070>

**Gennadii B. Borovskii** – Dr. Sc. (Biol.), Chief Research Officer at the Laboratory of Physiological Genetics, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, e-mail: borovskii@sifibr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5089-5311>

**Вклад авторов**

Хаснатинов М.А. – разработка дизайна исследования, планирование экспериментов, выполнение экспериментов, анализ, интерпретация и обсуждение результатов, подготовка публикации.

Горностай Т.Г. – разработка дизайна исследования, планирование экспериментов, выполнение экспериментов, анализ, интерпретация и обсуждение результатов, подготовка публикации.

Соловаров И.С. – выполнение экспериментов, анализ, интерпретация и обсуждение результатов, подготовка публикации.

Полякова М.С. – планирование экспериментов, выполнение экспериментов, анализ, интерпретация и обсуждение результатов, подготовка публикации.

Данчинова Г.А. – планирование исследования, анализ, интерпретация и обсуждение результатов, подготовка публикации.

Боровский Г.Б. – разработка дизайна исследования, планирование экспериментов, анализ, интерпретация и обсуждение результатов, написание рукописи.

Статья получена: 15.12.2020. Статья принята: 08.02.2021. Статья опубликована: 26.02.2021.

Received: 15.12.2020. Accepted: 08.02.2021. Published: 26.02.2021.