

АКТИВНОСТЬ ЭЛЛАГИТАНИНА ГЕРАНИИНА ПРОТИВ РНК- И ДНК-СОДЕРЖАЩИХ ВИРУСОВ

Салихов Ш.И.¹, Зиявитдинов Ж.Ф.¹, Ощепкова Ю.И.¹, Бердиев Н.Ш.¹,
Ашуров Ж.М.¹, Карамов Э.В.², Андропова В.Л.², Федякина И.Т.², Ларичев В.Ф.²,
Гайдаров А.О.², Колундин М.С.², Дергоусов А.А.², Тенцов Ю.Ю.², Тургиев А.С.²,
Иванов А.В.³

¹ Институт биоорганической химии им. академика А.С. Садыкова АН РУз,
г. Ташкент,

² ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии
им. почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, г. Москва

³ ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской
академии наук, г. Москва

XULOSA

Tadqiqotning maqsadi. Gripp virusi, SARS-CoV-2, OIV, HSV-1 va HSV-2 - bir-biriga bog'liq bo'lmagan to'rtta oila vakillariga qarshi geraniin preparatini o'rganish.

Materiallar va tadqiqot usullari. Geraniinning ruxsat beruvchi hujayra kulturalarida inson immunitet tanqisligi viruslari (OIV-1), gripp, herpes simplex viruslari (HSV-1 va HSV-2) va SARS-CoV-2 ning ko'payishiga ta'sirini o'rganish.

Olingan natijalar. Geraniin deb aniqlangan va ajratilgan preparatning antivirus faolligi mass-spektrometriya, rentgen difraksiyasi va Xirshfeld sirt tahlili yordamida o'rganildi. Geraniin preparati ruxsat beruvchi hujayra kulturalarida inson immunitet tanqisligi viruslari (OIV-1), gripp, herpes simplex viruslari (HSV-1 va HSV-2) va SARS-CoV-2 ning in vitro replikatsiyasini inhibe qilishi ko'rsatildi.

Xulosa. Olingan geraniin preparati keng spektrli antiviral vosita sifatida keyingi rivojlanish uchun asosiy mezonlarga javob beradi deb taxmin qilinadi.

Kalit so'zlar: odam immunitet tanqisligi virusi, gripp virusi, herpes simplex virusi, SARS-CoV-2, polifenollar, geranium.

Эллагитанин гераниин был впервые выделен в 1975 г. из японской герани (*Geranium thunbergii* Siebold ex Lindl. & Paxton) [40] – растения, традиционно используемого в Японии при кишечных расстройствах, – основным гидролизуемым танином которого он является (более 10% сухой массы листа) [39]. В дальнейшем гераниин был обнаружен в растениях (семейств Geraniaceae, Anacardiaceae, Elaeocarpaceae, Euphorbiaceae, Erythroxylaceae, Nymphaeaceae, Phyllanthaceae, Rosaceae и Sapindaceae [9]), которые применяются в аюрведической [6], тибетской [21] и китайской медицине [24], а также являются средствами традиционной фитотерапии в Латинской Америке [50] и Африке [17].

SUMMARY

The aim of the study. Study of geraniin against representatives of four unrelated families – influenza virus, SARS-CoV-2, HIV, HSV-1 and HSV-2.

Material and research methods. To study the effect of geraniin on the reproduction of human immunodeficiency viruses (HIV-1), influenza, herpes simplex viruses (HSV-1 and HSV-2) and SARS-CoV-2 in permissive cell cultures.

Results. The antiviral activity of a drug isolated and identified as geraniin was studied using mass spectrometry, X-ray diffraction, and Hirshfeld surface analysis. The geraniin drug was shown to inhibit the in vitro replication of human immunodeficiency viruses (HIV-1), influenza, herpes simplex viruses (HSV-1 and HSV-2), and SARS-CoV-2 in permissive cell cultures.

Conclusion. It is assumed that the resulting drug, geraniin, meets the main criteria for further development as a broad-spectrum antiviral agent.

Keywords: human immunodeficiency virus, influenza virus, herpes simplex virus, SARS-CoV-2, polyphenols, geranium.

За полвека, прошедших с открытия гераниина, биологические свойства этого эллагитанина были достаточно подробно исследованы. Показано, что гераниин обладает антинеопластической [24,38,49], антигипертензивной [27], остеопротекторной [30], остеогенной [33], нейропротекторной [54], антигипергликемической [41] и антигельминтной [17] активностями. В Японии гераниин является фармакопейным препаратом и назначается в качестве средства лечения диареи [31, 48].

Растительные полифенолы способны подавлять вирусы, принадлежащие к неродственным семействам [34] за счёт наличия нескольких точек приложения активности в жизненном цикле конкретного вируса [3] (включающих в том числе клеточные

структуры [42]). Гераниин не является исключением – продемонстрирована его активность против вирусов гриппа [10,11,19], риновирусов [51], респираторно-синцитиального вируса [51], метапневмовируса [51], вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) [36, 37], вируса денге [1,2,13], вируса Зика [13], вирусов гепатита В (HBV) [15,25,29], гепатита С (HCV) [26], вирусов герпеса первого (HSV-1) [23, 45, 52] и второго (HSV-2) типов [52,55–57] и энтеровируса 71 [53].

В период пандемии COVID-19 было опубликовано несколько работ, авторы которых на основании моделирования *in silico* и подавления активности вирусных ферментов в бесклеточных системах высказали предположения о возможной активности гераниина против SARS-CoV-2 [4,5,7,14,20]. Никакого подтверждения в экспериментах *in vitro* на пермисивных клетках, инфицированных SARS-CoV-2, эти предположения не получили (в препринте 2022 г. [18] приведен только диапазон активных концентраций гераниина, но продолжения этого исследования до сих пор не последовало). В связи с этим нами была создана технология выделения гераниина из герани кроваво-красной (*Geranium sanguineum* L.), произрастающей в Республике Узбекистан [43], и начата работа по изучению биологических свойств получаемых препаратов с целью разработки отечественного лекарства с широким спектром противовирусной активности.

В настоящем сообщении показана, что разработанная нами технология выделения позволяет получить препараты гераниина, активные против представителей четырёх неродственных семейств – вируса гриппа, SARS-CoV-2, ВИЧ, HSV-1 и HSV-2.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Химикаты. Ацетонитрил (Sigma-Aldrich, США), метанол (Sigma-Aldrich, США), трифторуксусная кислота (Sigma-Aldrich, США), муравьиная кислота (Sigma-Aldrich, США), хлороформ и Na₂SO₄ (Химпром, Россия), диметилсульфоксид (LabBase, Корея), ацетон, уксусная кислота и этилацетат (Навоизот, Узбекистан), этанол (Биокимё, Узбекистан).

Выделение, очистка и идентификация гераниина. Гераниин был получен и идентифицирован в соответствии с ранее разработанной технологией [43].

Кристаллизация гераниина. Монокристаллы гераниина были получены путем растворения 20 мг соединения в 1 мл смеси этанола и воды (1:1, об./об.). Раствор осторожно нагревали до 50 °С для полного растворения, а затем оставляли медленно испаряться при комнатной температуре в статических условиях. Через 48 часов образовались мелкие игольчатые кристаллы бледно-желтого цвета. Из полученной партии были тщательно отобраны монокристаллы, пригодные для рентгеноструктурного анализа (SCXRD).

Определение структуры. Данные рентгеновской дифракции монокристаллов гераниина были получены при температуре 298 К на дифрактометре

XtaLAB Synergy, оснащенном микрофокусной отпаянной рентгеновской трубкой (PhotonJet, Cu K α излучение, $\lambda = 1,54184$ Å) и детектором HyPix-3000. Использовался зеркальный монохроматор, данные получены в режиме ω -сканирования с разрешением детектора 100000 пикселей/мм. Обработка данных проводилась с помощью программного пакета CrysAlisPro.

Общие принципы оценки противовирусной активности. Все вирусы и клетки были получены соответственно из Государственной коллекции вирусов и Российской коллекции клеточных культур Института вирусологии им. Д.И. Ивановского (подразделение Научно-исследовательского центра эпидемиологии и Микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России).

Для приготовления маточных растворов исследуемых препаратов и препаратов сравнения во всех случаях использовался ДМСО. Рабочие растворы готовили путём разведения маточных растворов соответствующими средами культивирования; конечная концентрация ДМСО не превышала 1%. Препараты сравнения служили положительным контролем; в качестве отрицательного контроля использовались рабочие растворы без полифенолов и препаратов сравнения.

В каждой вирус-клеточной системе для полифенолов и препаратов сравнения определялись диапазоны цитотоксичности. Полумаксимальные цитотоксические концентрации (ЦК₅₀) определяли из кривых зависимости доли клеток, сохранивших жизнеспособность после инкубации с препаратом (относительно количества клеток, инкубированных в отсутствие препарата), от его концентрации по уравнениям нелинейной регрессии (4 параметра).

Исследования противовирусной активности проводили в концентрациях вне установленных диапазонов цитотоксичности. О противовирусной активности судили по разнице между уровнями репродукции вируса в отсутствие (контроль) и в присутствии препарата (опыт):

$$A = A_k - A_o,$$

где A_k и A_o – уровни репродукции вируса в контроле и в опыте. Для каждой концентрации препарата рассчитывали коэффициент ингибирования репродукции вируса (КИ), или индекс защиты:

$$КИ = [(A_k - A_o) / A_k] \times 100 (\%) \dots \dots \dots (1);$$

Полумаксимальную эффективную концентрацию препаратов (ИК50) определяли из кривых зависимости КИ от концентрации по уравнениям нелинейной регрессии (4 параметра). Индекс селективности (ИС) рассчитывали по формуле [16]:

$$ИС = ЦК50 / ИК50 \dots \dots \dots (2).$$

Вирус гриппа А и SARS-CoV-2. Изучение влияния полифенолов на репродукцию вируса гриппа А и SARS-CoV-2 проводилось согласно протоколам, описанным ранее [8]. В качестве препаратов сравнения использовались осельтамивир (Sigma-Aldrich,

США) и нилматревил (Zenji Pharmaceuticals, Китай). Поскольку о влиянии препаратов на репродукцию судили по разнице в титрах вируса, выраженной в логарифмах ($\Delta \lg \text{TCID}_{50}$), максимальные значения этого параметра для каждого препарата были включены в таблицы 1 и 2.

ВИЧ-1. Изучение влияния полифенолов на репродукцию ВИЧ-1 проводилось согласно протоколу, описанному ранее [35]. В качестве препарата сравнения использовался азидотимидин (ингибитор обратной транскриптазы ВИЧ) производства Sigma-Aldrich (США).

HSV-1 и HSV-2. Изучение влияния полифенолов на репродукцию HSV-1 и HSV-2 проводилось согласно протоколам, описанным ранее [12,22]. Титр вирусных стоков определялся методом Sarisky и соавт. [44]. В качестве препарата сравнения использовали гексагидрат тринатриевой соли фосфомуравьиной кислоты – фоскарнет производства Sigma Aldrich (США). Для каждого препарата, помимо ИК₅₀, определялась концентрация, обеспечивающая полное (максимальное) подавление репродукции вируса (ИК₉₅). Был использован индекс 95 (а не 100), так как в отсутствие препаратов цитопатические эффекты наблюдались в 95–100% инфицированных клеток, а в культурах неинфицированных клеток, не подвергавшихся воздействию препаратов, ~5% теряли жизнеспособность к концу периода инкубации (через 48 часов).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Последовательная экстракция высушенной надземной части герани кровавокрасной (*G. sanguineum*), произрастающей на территории Республики Узбекистан, 40% водным этанолом и этилацетатом с последующим осаждением хлороформом позволила получить комплекс полифенолов растения с выходом 4.67% от массы исходного сырья. Фракция водорастворимых полифенолов была выделена методом гидрофобной хроматографии с выходом 49% от массы полифенольного комплекса. Гераниин был выделен из этой фракции полупрепаративной ВЭЖХ с выхо-

дом 75.5% от общей массы водорастворимых полифенолов и степени чистоты более 95%.

Окончательная структура компонента, представляющего собой дегидроэллагитанин - гераниин, была подтверждена методом рентгеновской дифракции.

В процессе выделения и очистки гераниина было обнаружено, что он может образовывать моноклинную кристаллическую систему с пространственной группой $P2_1$. Чтобы определить структуру этой новой формы кристаллогидрата, мы использовали рентгеноструктурный анализ при температуре 298 К. В дополнение к рентгеноструктурному анализу мы провели анализ поверхности Хиршфельда и сгенерировали двумерные графики отпечатков пальцев с помощью пакета Crystal Explorer [46]. Стандартное разрешение для трехмерных поверхностей d_{norm} было нанесено на фиксированную цветовую шкалу в диапазоне от -0,6891 (красный) до 2,7014 (синий) а.е. Эти анализы позволили нам визуализировать межмолекулярные взаимодействия гераниина в его кристаллической решетке.

Активность гераниина в отношении респираторных вирусов и ВИЧ-1. Значение ИК₅₀ в отношении вируса гриппа для исследуемого препарата гераниина (10.83 мкг/мл; Таб. 1) сопоставимо с результатами, полученными ранее Жоо с соавт. (5.3 мкг/мл) [19] и Choi с соавт. (34 мкг/мл) [10]. Аналогичным образом, мы не нашли отличий в активности против SARS-CoV-2 между исследуемым препаратом гераниина (ИК₅₀ = 5.2 мкг/мл; Таб. 2) и геранином, выделенным из *Elaeocarpus sylvestris*, который подавлял репликацию вируса в интервале концентраций 1–25 мкг/мл [18] (данный препринт является единственной публикацией, в которой описано воздействие гераниина на репродукцию SARS-CoV-2 в клетках Vero E6, но авторы не приводят значений ИК₅₀ и ИС). Что касается активности исследуемого препарата гераниина в отношении ВИЧ, наши данные (ИК₅₀ = 1.6 мкг/мл, ИС = 25.6; Таб. 3) практически совпадают с результатами, опубликованными Notka с соавт. (ИК₅₀ = 0.46 мкг/мл, ИС = 29.27) [37].

Таблица 1

Влияние гераниина на репродукцию вируса гриппа A/California/07/2009 (H1N1) pdm в клетках MDCK

Препарат	$\Delta \lg \text{max}$	ИК ₅₀ , мкг/мл	ЦК ₅₀ , мкг/мл	ИС
Гераниин	4.5	10.83	288	26
Озельтамивир	6.0	0.02	> 10	> 500

Таблица 2

Влияние гераниина на репродукцию вируса SARS-CoV-2 (HCoV-19/Russia/Moscow-PMVL-12/2020, EPI_ISL_572398) в клетках Vero E6

Препарат	$\Delta \lg \text{max}$	ИК ₅₀ , мкг/мл	ЦК ₅₀ , мкг/мл	ИС
Гераниин	4.75	5.2	65.4	12.6
Нирматрелвир	6.0	0.1	> 20	> 200

Активность гераниина в отношении вирусов простого герпеса HSV-1 и HSV-2. Об уровне репликации вирусов судили по количеству клеток с вирус-индуцированными цитопатическими эффектами (ЦПЭ). Определяли ИК₅₀ и ИК₉₅ (концентрации, в при-

сутствии которых ингибируется развитие вирус-индуцированных ЦПЭ на 50% и 95%, соответственно) и ЦК₅₀ (концентрацию, вызывающую гибель 50% клеток). Из представленных в таблице 4 данных видно, что гераниин был более активен против HSV-2.

Судя по значениям ИС, он оказался существенно более эффективным ингибитором обоих вирусов, чем фоскарнет (препарат второй очереди для лечения

герпесвирусных инфекций, вызванных резистентными штаммами), который был использован в качестве положительного контроля.

Таблица 3

Влияние гераниина на репродукцию ВИЧ-1 (HIV-1) в клетках МТ-4

Препарат	ИК ₅₀ , мкг/мл	ЦК ₅₀ , мкг/мл	ИС
Гераниин	1.6	41	25.6
Азидотимидин	0.002	3.6	1800

Хотя способность гераниина подавлять HSV-1 и HSV-2 хорошо документирована и в целом согласуется с результатами настоящей работы, прямое сопоставление наших (Таблица 4) и полученных ранее данных не представляется корректным из-за большого разброса в опубликованных значениях ЦК₅₀

и ИК₅₀ [23, 45, 52, 55-57]. Причиной несовпадения опубликованных количественных результатов являются, вероятно, различия в постановке экспериментов и источниках гераниина (и, следовательно, в составе / чистоте исследовавшихся веществ).

Таблица 4

Противовирусная активность гераниина в культуре клеток Vero E6, инфицированных эталонными штаммами HSV-1 или HSV-2 (множественность заражения 0,1 БОЕ/кл).

Препарат	ЦК ₅₀	HSV-1 ₁₂			HSV-2 _{ВН}		
		ИК ₅₀	ИК ₉₅	ИС	ИК ₅₀	ИК ₉₅	ИС
	мкг/мл	мкг/мл			мкг/мл		
Гераниин	65.92	1.20	1.56	55	0.39	6.25	169
Фоскарнет	>125	15.60	62.50	> 8	7.80	31.25	> 16

ВЫВОДЫ

В данном исследовании мы подтвердили активность препарата гераниина, выделенного из *G. sanguineum* L. против нескольких неродственных вирусов (вируса гриппа А, ВИЧ-1, HSV-1 и HSV-2) и доказали, что гераниин действительно подавляет *in vitro* репродукцию SARS-CoV-2 в клетках Vero E6.

Таким образом, наш препарат гераниин соответствует критериям дальнейшей разработки в качестве противовирусного препарата широкого спектра действия. Наши текущие результаты свидетельствуют о его значительной перспективности при назначении пациентам с ослабленным иммунитетом, инфицированным вариантами HSV, не поддающимися лечению по стандартным схемам.

ЛИТЕРАТУРА

- Abdul Ahmad, S.A.; Palanisamy, U.D.; Khoo, J.J.; Dhanoa, A.; Syed Hassan, S. Efficacy of geraniin on dengue virus type-2 infected BALB/c mice. *Virol J* 2019, 16, 26, doi:10.1186/s12985-019-1127-7.
- Abdul Ahmad, S.A.; Palanisamy, U.D.; Tejo, B.A.; Chew, M.F.; Tham, H.W.; Syed Hassan, S. Geraniin extracted from the rind of *Nephelium lappaceum* binds to dengue virus type-2 envelope protein and inhibits early stage of virus replication. *Virol J* 2017, 14, 229, doi:10.1186/s12985-017-0895-1.
- Ahn, M.J.; Yoon, K.D.; Min, S.Y.; Lee, J.S.; Kim, J.H.; Kim, T.G.; Kim, S.H.; Kim, N.G.; Huh, H.; Kim, J. Inhibition of HIV-1 reverse transcriptase and protease by phlorotannins from the brown alga *Ecklonia cava*. *Biol Pharm Bull* 2004, 27, 544-547, doi:10.1248/bpb.27.544.
- Aribisala, J.O.; Aruwa, C.E.; Uthman, T.O.; Nurain, I.O.; Idowu, K.; Sabiu, S. Cheminformatics Bioprospection of Broad Spectrum Plant Secondary Metabolites Targeting the Spike Proteins of Omicron Variant and Wild-Type SARS-CoV-2. *Metabolites* 2022, 12, doi:10.3390/metabo12100982.
- Arokiyaraj, S.; Stalin, A.; Kannan, B.S.; Shin, H. Geranii Herba as a Potential Inhibitor of SARS-CoV-2 Main 3CL(pro), Spike RBD, and Regulation of Unfolded Protein Response: An In Silico Approach. *Antibiotics (Basel)* 2020, 9, doi:10.3390/antibiotics9120863.
- Baliga MS, Dsouza JJ. Amla (*Emblica officinalis* Gaert), a wonder berry in the treatment and prevention of cancer. *Eur J Cancer Prev* 2011, 20, 225–239.
- Boadu, A.; Agoni, C.; Karpoomath, R.; Soliman, M.; Nlooto, M. Repurposing antiviral phytochemicals from the leaf extracts of *Spondias mombin* (Linn) towards the identification of potential SARSCOV-2 inhibitors. *Sci Rep* 2022, 12, 10896, doi:10.1038/s41598-022-14558-3.
- Buloyan, S.; Harutyunyan, A.; Gasparyan, H.; Sakeyan, A.; Shahkhatuni, A.; Zakirova, N.F.; Yusubalieva, G.; Kirillov, I.M.; Fedyakina, I.T.; Solyev, P.N.; et al. Piperazine-Substituted Pyranopyridines Exhibit Antiproliferative Activity and Act as Inhibitors of HBV Virion Production. *Int J Mol Sci* 2025, 26, doi:10.3390/ijms26093991.
- Cheng HS, Ton SH, Kadir KA. Ellagitannin geraniin: a review of the natural sources, biosynthesis, pharmacokinetics and biological effects. *Phytochem Rev* 2017, 16, 159–193. doi: 10.1007/s11101-016-9464-2
- Choi, J.G.; Kim, Y.S.; Kim, J.H.; Chung, H.S. Antiviral activity of ethanol extract of *Geranii Herba* and its components against influenza viruses via

- neuraminidase inhibition. *Sci Rep* 2019, 9, 12132, doi:10.1038/s41598-019-48430-8.
11. Derksen, A.; Hensel, A.; Hafezi, W.; Herrmann, F.; Schmidt, T.J.; Ehrhardt, C.; Ludwig, S.; Kuhn, J. 3-O-galloylated procyanidins from *Rumex acetosa* L. inhibit the attachment of influenza A virus. *PLoS One* 2014, 9, e110089, doi:10.1371/journal.pone.0110089.
12. Fateev, I.V.; Sasmakov, S.A.; Abdurakhmanov, J.M.; Ziyaev, A.A.; Khasanov, S.S.; Eshboev, F.B.; Ashirov, O.N.; Frolova, V.D.; Eletskaia, B.Z.; Smirnova, O.S.; et al. Synthesis of Substituted 1,2,4-Triazole-3-Thione Nucleosides Using *E. coli* Purine Nucleoside Phosphorylase. *Biomolecules* 2024, 14, doi:10.3390/biom14070745.
13. Haddad, J.G.; Grauzdyte, D.; Koishi, A.C.; Viranaicken, W.; Venskutonis, P.R.; Nunes Duarte Dos Santos, C.; Despres, P.; Diotel, N.; El Kalamouni, C. The Geraniin-Rich Extract from Reunion Island Endemic Medicinal Plant *Phyllanthus phillyreifolius* Inhibits Zika and Dengue Virus Infection at Non-Toxic Effect Doses in Zebrafish. *Molecules* 2020, 25, doi:10.3390/molecules25102316.
14. Hiremath, S.; Kumar, H.D.V.; Nandan, M.; Mantesh, M.; Shankarappa, K.S.; Venkataravanappa, V.; Basha, C.R.J.; Reddy, C.N.L. In silico docking analysis revealed the potential of phytochemicals present in *Phyllanthus amarus* and *Andrographis paniculata*, used in Ayurveda medicine in inhibiting SARS-CoV-2. *3 Biotech* 2021, 11, 44, doi:10.1007/s13205-020-02578-7.
15. Huang, R.L.; Huang, Y.L.; Ou, J.C.; Chen, C.C.; Hsu, F.L.; Chang, C. Screening of 25 compounds isolated from *Phyllanthus* species for anti-human hepatitis B virus in vitro. *Phytother Res* 2003, 17, 449-453, doi:10.1002/ptr.1167.
16. Indrayanto, G.; Putra, G.S.; Suhud, F. Validation of in-vitro bioassay methods: Application in herbal drug research. *Profiles Drug Subst Excip Relat Methodol* 2021, 46, 273-307, doi:10.1016/bs.podrm.2020.07.005.
17. Jato J, Orman E, Boakye YD, Belga FN, Ndjonka D, Oppong Bekoe E, Liebau E, Spiegler V, Hensel A, Agyare C. Influence of fecal fermentation on the anthelmintic activity of proanthocyanidins and ellagitannins against human intestinal nematodes and *Caenorhabditis elegans*. *Front Pharmacol*. 2024, 15, 1390500. doi: 10.3389/fphar.2024.1390500.
18. Jeon, H.; Lee, Y.-G.; Yang, Y.J.; Jeong, Y.J.; Kwon, J.H.; Park, J.-H.; Kim, H.; Kang, S.; Tark, D.; Lee, G.-H.; et al. Anti-SARS-CoV-2 Efficacy of *Elaeocarpus sylvestris* Extract Verified by in silico, in vitro, Preclinical, and Clinical Studies. *SSRN* 2022, doi:10.2139/ssrn.4000447.
19. Joo, Y.H.; Lee, Y.G.; Lim, Y.; Jeon, H.; Kim, E.H.; Choi, J.; Hong, W.; Jeon, H.; Ahrweiler, M.; Kim, H.; et al. Potent antiviral activity of the extract of *Elaeocarpus sylvestris* against influenza A virus in vitro and in vivo. *Phytomedicine* 2022, 97, 153892, doi:10.1016/j.phymed.2021.153892.
20. Kim, Y.S.; Chung, H.S.; Noh, S.G.; Lee, B.; Chung, H.Y.; Choi, J.G. Geraniin Inhibits the Entry of SARS-CoV-2 by Blocking the Interaction between Spike Protein RBD and Human ACE2 Receptor. *Int J Mol Sci* 2021, 22, doi:10.3390/ijms22168604.
21. Kletter C, Kriechbaum M. Li Ga Dur. In: Kletter C, Kriechbaum M (eds) *Tibetan medicinal plants*. 2001. Medpharm GmbH Scientific Publishers, Stuttgart
22. Krasnov, V.P.; Andronova, V.L.; Belyavsky, A.V.; Borisevich, S.S.; Galegov, G.A.; Kandarakov, O.F.; Gruzdev, D.A.; Vozdvizhenskaya, O.A.; Levit, G.L. Large Subunit of the Human Herpes Simplex Virus Terminase as a Promising Target in Design of Anti-Herpesvirus Agents. *Molecules* 2023, 28, doi:10.3390/molecules28217375.
23. Lee, Y.G.; Park, D.W.; Kwon, J.E.; Kim, H.; Kang, S.C. *Elaeocarpus sylvestris* var. *ellipticus* Extract and Its Major Component, Geraniin, Inhibit Herpes Simplex Virus-1 Replication. *Plants (Basel)* 2024, 13, doi:10.3390/plants13111437.
24. Li J, Wang S, Yin J, Pan L. Geraniin induces apoptotic cell death in human lung adenocarcinoma A549 cells in vitro and in vivo. *Can J Physiol Pharmacol* 2013, 91, 1016–1024. doi: 10.1139/cjpp-2013-0140
25. Li, J.; Huang, H.; Zhou, W.; Feng, M.; Zhou, P. Anti-hepatitis B virus activities of *Geranium carolinianum* L. extracts and identification of the active components. *Biol Pharm Bull* 2008, 31, 743-747, doi:10.1248/bpb.31.743.
26. Li, Y.; Yu, S.; Liu, D.; Proksch, P.; Lin, W. Inhibitory effects of polyphenols toward HCV from the mangrove plant *Excoecaria agallocha* L. *Bioorg Med Chem Lett* 2012, 22, 1099-1102, doi:10.1016/j.bmcl.2011.11.109.
27. Lin SY, Wang CC, Lu YL, Wu WC, Hou WC. Antioxidant, anti-semicarbazide-sensitive amine oxidase, and anti-hypertensive activities of geraniin isolated from *Phyllanthus urinaria*. *Food Chem Toxicol* 2008, 46, 2485–2492. doi: 10.1016/j.fct.2008.04.007
28. Liu D, Su Z, Wang C, Gu M, Xing S. Separation and purification of hydrolysable tannin from *Geranium wilfordii* Maxim by reversed-phase and normal-phase highspeed counter-current chromatography. *J Sep Sci* 2010, 33, 2266–2271
29. Liu, C.; Cai, D.; Zhang, L.; Tang, W.; Yan, R.; Guo, H.; Chen, X. Identification of hydrolyzable tannins (punicalagin, punicalin and geraniin) as novel inhibitors of hepatitis B virus covalently closed circular DNA. *Antiviral Res* 2016, 134, 97-107, doi:10.1016/j.antiviral.2016.08.026.
30. Lu Y, He B, Zhang X, Yang R, Li S, Song B, Zhang Y, Yun Y, Yan H, Chen P, Shen Z. Osteoprotective effect of geraniin against ovariectomy-induced bone loss in rats. *Bioorg Med Chem Lett* 2015, 25, 673–679. doi: 10.1016/j.bmcl.2014.11.081
31. Luger P, Weber M, Kashino S, Amakura Y, Yoshida

- T, Okuda T, Beurskens G, Dauter Z. Structure of the tannin geraniin based on conventional X-ray data at 295 K and on synchrotron data at 293 and 123 K. *Acta Crystallogr B* 1998, 54, 687–694
32. Luger, P., Weber, M., Kashino, Amakura, Y., Yoshida, T., Okuda, T., Beurskens, G & Dauter, Z. (1998). *Acta Cryst. B* 54, 687-694.
33. Mo J, Yang R, Li F, He B, Zhang X, Zhao Y, Shen Z, Chen P. Geraniin promotes osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) via activating β -catenin: a comparative study between BMSCs from normal and osteoporotic rats. *J Nat Med* 2019, 73, 262–272. doi: 10.1007/s11418-018-1242-6
34. Mohan, S.; Elhassan Taha, M.M.; Makeen, H.A.; Alhazmi, H.A.; Al Bratty, M.; Sultana, S.; Ahsan, W.; Najmi, A.; Khalid, A. Bioactive Natural Antivirals: An Updated Review of the Available Plants and Isolated Molecules. *Molecules* 2020, 25, doi:10.3390/molecules25214878.
35. Nifant'ev, I.; Siniavin, A.; Karamov, E.; Kosarev, M.; Kovalchuk, S.; Turgiev, A.; Nametkin, S.; Bagrov, V.; Tavgorkin, A.; Ivchenko, P. A New Approach to Developing Long-Acting Injectable Formulations of Anti-HIV Drugs: Poly(Ethylene Phosphoric Acid) Block Copolymers Increase the Efficiency of Tenofovir against HIV-1 in MT-4 Cells. *Int J Mol Sci* 2020, 22, doi:10.3390/ijms22010340.
36. Notka, F.; Meier, G.; Wagner, R. Concerted inhibitory activities of *Phyllanthus amarus* on HIV replication in vitro and ex vivo. *Antiviral Res* 2004, 64, 93-102, doi:10.1016/j.antiviral.2004.06.010.
37. Notka, F.; Meier, G.R.; Wagner, R. Inhibition of wild-type human immunodeficiency virus and reverse transcriptase inhibitor-resistant variants by *Phyllanthus amarus*. *Antiviral Res* 2003, 58, 175-186, doi:10.1016/s0166-3542(02)00213-9.
38. Okabe S, Suganuma M, Imayoshi Y, Taniguchi S, Yoshida T, Fujiki H. New TNF- α releasing inhibitors, geraniin and corilagin, in leaves of *Acer nikoense*, *Megusurino-ki*. *Biol Pharm Bull* 2001, 24, 1145–1148. doi: 10.1248/bpb.24.1145
39. Okuda T, Yoshida T, Nayeshiro H. Constituents of *Geranium thunbergii* Sieb. et Zucc. IV. Ellagitannins. (2). Structure of geraniin. *Chem Pharm Bull* 1977, 25, 1862–1969. doi: 10.1248/cpb.25.1862
40. Okuda, T.; Yoshida, T.; Mori, K. Constituents of *Geranium thunbergii* Sieb. et Zucc. II. Ellagitannins. *Yakugaku Zasshi* 1975, 95(12), 1462-1466.
41. Palanisamy UD, Ling LT, Manaharan T, Appleton D. Rapid isolation of geraniin from *Nephelium lappaceum* rind waste and its anti-hyperglycemic activity. *Food Chem* 2011, 127, 21–27. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.12.070
42. Rani, A.; Saini, V.; Patra, P.; Prashar, T.; Pandey, R.K.; Mishra, A.; Jha, H.C. Epigallocatechin Gallate: A Multifaceted Molecule for Neurological Disorders and Neurotropic Viral Infections. *ACS Chem Neurosci* 2023, 14, 2968-2980, doi:10.1021/acscchemneuro.3c00368.
43. Salikhov, S.I.; Egorov, A.M.; Karamov, E.V.; Oshchepkova, Y.I.; Turgiev, A.S.; Ziyavitdinov, Z.F.; Kornilaeva, G.V.; Berdiev, N.S.; Fedyakina, I.T.; Larichev, V.F. An agent with antiviral activity against coronavirus infection SARS-COV-2. Patent UZ FAP 2665, 14.02.2025 2025.
44. Sarisky, R.T.; Nguyen, T.T.; Duffy, K.E.; Wittrock, R.J.; Leary, J.J. Difference in incidence of spontaneous mutations between Herpes simplex virus types 1 and 2. *Antimicrob Agents Chemother* 2000, 44, 1524-1529, doi:10.1128/AAC.44.6.1524-1529.2000.
45. Siqueira, E.; Lima, T.L.C.; Boff, L.; Lima, S.G.M.; Lourenco, E.M.G.; Ferreira, E.G.; Barbosa, E.G.; Machado, P.R.L.; Farias, K.J.S.; Ferreira, L.S.; et al. Antiviral Potential of *Spondias mombin* L. Leaves Extract Against Herpes Simplex Virus Type-1 Replication Using In Vitro and In Silico Approaches. *Planta Med* 2020, 86, 505-515, doi:10.1055/a-1135-9066.
46. Spackman, P. R., Turner, M. J., McKinnon, J. J., Wolff, S. K., Grimwood, D. J., Jayatilaka, D. & Spackman, M. A. (2021). *J. Appl. Cryst.* 54, 1006–1011.
47. Spackman, P.R.; Turner, M.J.; McKinnon, J.J.; Wolff, S.K.; Grimwood, D.J.; Jayatilaka, D.; Spackman, M.A. CrystalExplorer: a program for Hirshfeld surface analysis, visualization and quantitative analysis of molecular crystals. *J Appl Crystallogr* 2021, 54, 1006-1011, doi:10.1107/S1600576721002910.
48. Tsukuma H, Hiyama T, Tanaka S, Nakao M, Yabuuchi T, Kitamura T, Nakanishi K, Fujimoto I, Inoue A, Yamazaki H, Kawashima T. Risk factors for hepatocellular carcinoma among patients with chronic liver disease. *N Engl J Med* 1993, 328, 1797–1801
49. Vassallo A, Vaccaro MC, De Tommasi N, Dal Paiz F, Leone A. Identification of the plant compound geraniin as a novel Hsp90 inhibitor. *PLoS ONE* 2013, 8, e74266. doi: 10.1371/journal.pone.0074266
50. Velazquez-Gonzalez C, Carino-Cotes R, Gayosso de Lucio JA, Ortiz MI, Arciniega MDLO, Altamirano-Baez DA, Jumenes-Angeles L, Bautista-Avila M. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Geranium bellum* and its isolated compounds. *BMC Complement Altern Med* 2014, 14, 506
51. Wang, C.; Huang, Y.M.; Zhao, J.; Bai, Y.M.; Yan, C.Q.; Du, G.H.; Zheng, L.S.; Liu, A.L. Fumarprotocetraric acid and geraniin were identified as novel inhibitors of human respiratory syncytial virus infection in vitro. *Front Cell Infect Microbiol* 2024, 14, 1484245, doi:10.3389/fcimb.2024.1484245.
52. Yang, C.M.; Cheng, H.Y.; Lin, T.C.; Chiang, L.C.; Lin, C.C. The in vitro activity of geraniin and 1,3,4,6-tetra-O-galloyl-beta-D-glucose isolated from *Phyllanthus urinaria* against herpes simplex virus type 1 and type 2 infection. *J Ethnopharmacol* 2007,

- 110, 555-558, doi:10.1016/j.jep.2006.09.039.
53. Yang, Y.; Zhang, L.; Fan, X.; Qin, C.; Liu, J. Antiviral effect of geraniin on human enterovirus 71 in vitro and in vivo. *Bioorg Med Chem Lett* 2012, 22, 2209-2211, doi:10.1016/j.bmcl.2012.01.102.
54. Youn K, Jun M. In vitro BACE1 inhibitory activity of geraniin and corilagin from *Geranium thunbergii*. *Planta Med* 2013, 79, 1038–1042. doi: 10.1055/s-0032-1328769
55. Zhang, H.; Cheng, L.; Ju, F. In vitro and silico studies of geraniin interfering with HSV-2 replication by targeting glycoprotein D. *Nat Prod Res* 2024, 38, 2053-2059, doi:10.1080/14786419.2023.2241153.
56. Zhang, H.; Gao, M.H.; Chen, Y.; Liu, T. Network Pharmacology-Based Systematic Analysis of Molecular Mechanisms of *Geranium wilfordii* Maxim for HSV-2 Infection. *Evid Based Complement Alternat Med* 2021, 2021, 1009551, doi:10.1155/2021/1009551.
57. Zhang, H.; Li, Z.; Li, C.; Chen, R.; Liu, T.; Jiang, Y. Antiviral Effect of Polyphenolic Substances in *Geranium wilfordii* Maxim against HSV-2 Infection Using in vitro and in silico Approaches. *Evid Based Complement Alternat Med* 2022, 2022, 7953728, doi:10.1155/2022/7953728.
-