

УДК 578.832; 582.929.4; 615.281

ПРОТИВОГРИППОЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА LAMIACEAE

© М.А. Проценко^{1*}, Н.А. Мазуркова¹, Е.И. Филиппова¹, Т.А. Кукушкина², И.Е. Лобанова²,
Ю.А. Пишеничкина², Г.И. Высочина²

¹ Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»
Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, 630559 (Россия),
e-mail: protsenko_ma@vector.nsc.ru

² Центральный сибирский ботанический сад СО РАН,
ул. Золотодолинская, 101, Новосибирск, 630090 (Россия)

В ходе настоящего исследования показано, что в отношении вируса гриппа субтипа H5N1 активность проявили водные и этанольные экстракты растений *Nepeta cataria*, *Nepeta sibirica*, *Scutellaria baicalensis*, *Hyssopus officinalis*, *Betonica officinalis*, а также водные экстракты *Dracocephalum moldavica*, *Glechoma hederacea*, *Mentha arvensis*, *Prunella vulgaris*, *Melissa officinalis* и этанольные экстракты *Mentha piperita*, *Mentha crispa*, *Origanum vulgare*, *Hyssopus officinalis*, *Salvia verticillata*. Наивысший противовирусный эффект в отношении субтипа H5N1 проявили водные извлечения *Nepeta cataria* и *Glechoma hederacea* (ИН 3.75).

Выявлена противовирусная активность водных и этанольных экстрактов *Scutellaria baicalensis*, *Mentha piperita*, *Mentha arvensis*, *Mentha crispa*, водного экстракта *Dracocephalum moldavica* и этанольных экстрактов *Glechoma hederacea*, *Origanum vulgare*, *Prunella vulgaris*, *Hyssopus officinalis*, *Betonica officinalis*, *Salvia verticillata* в отношении вируса гриппа субтипа H3N2. Наивысшую вируснейтрализующую активность в отношении субтипа H3N2 показал этанольный экстракт *Betonica officinalis* (ИН 4.25).

Проведен химический анализ надземной части растений семейства Lamiaceae. Показано, что наивысшее содержание флавонолов в пересчете на воздушно-сухую массу сырья наблюдалось у *Dracocephalum nutans* (4.47±0.04%), наивысшее содержание танинов установлено в *Mentha arvensis* (17.62±0.78%), а наибольшее содержание катехинов обнаружено у *Nepeta cataria* (0.43±0.007%).

Таким образом, экстракты растений семейства Lamiaceae являются перспективными источниками для дальнейших исследований с целью разработки новых противовирусных препаратов.

Ключевые слова: Lamiaceae, сухие экстракты, флавоноиды, противовирусная активность, вирус гриппа.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Введение

По оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ежегодные эпидемии гриппа приводят к 3–5 миллионам случаев тяжелой болезни и к 290–650 тыс. случаев смерти [1]. В наше время борьба с заболеванием, вызываемым вирусом гриппа типа А, включает вакцинопрофилактику и лечение с комплексным применением этиотропных, патогенетических и симптоматических лекарственных средств [2]. Для лечения и профилактики гриппа ВОЗ рекомендует использовать препараты этиотропного действия, оказывающие непосредственное прямое воздействие на размножение вируса. Однако на сегодняшний день отсутствуют достаточно эффективные противовирусные средства для предотвращения эпидемий и пандемий гриппа А.

Проценко Мария Анатольевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник,
e-mail: protsenko_ma@vector.nsc.ru
Мазуркова Наталья Алексеевна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией препаратов природного происхождения, e-mail: mazurkova@vector.nsc.ru

Окончание на С. 182.

Так, все циркулирующие в настоящее время вирусы гриппа устойчивы к противовирусным препаратам класса адамантанов (таким как амантадин и римантадин), являющихся ингибиторами М2-каналов, что связано с возникновением мутаций в гене М2 белка, приводящих к появлению резистентности вируса гриппа к римантадину [3, 4].

* Автор, с которым следует вести переписку.

Ситуацию усугубляет тот факт, что одной из главных проблем профилактики и лечения заболеваний, вызываемых вирусом гриппа, является высокая скорость изменчивости данного вируса вследствие быстропротекающих мутаций, что приводит к снижению эффективности применяемых препаратов. Вследствие этого создание новых эффективных и безопасных противовирусных препаратов будет актуально всегда.

Препараты растительного происхождения, применяемые человечеством еще с древнейших времен, даже сегодня являются предпочтительными по сравнению с синтетическими, что обусловлено их низкой токсичностью при достаточной эффективности, широким спектром фармакологического действия и минимумом нежелательных побочных эффектов по сравнению с синтетическими препаратами.

Растения семейства *Lamiaceae* (яснотковых) представляются перспективными источниками для создания новых противовирусных препаратов. В настоящее время имеются исследования, подтверждающие наличие противовирусного эффекта как у экстракционных препаратов, так и отдельных фракций видов растений данного семейства.

Например, водные экстракты *Nepeta nepetella*, *N. coerulea*, *N. tuberosa* обладают противовирусной активностью против вирусов с разным геномом (ДНК-содержащего вируса простого герпеса типа I и РНК-содержащего вируса везикулярного стоматита) [5]. Экстракты, полученные из листьев *Ocimum basilicum*, способны ингибировать репликацию вируса Зика в клетках Vero [6]. Обнаружено, что стахионовая кислота А, полученная из травы *Basilicum polystachyon*, проявляет ингибирующую активность в отношении вируса денге [7]. Этанольный экстракт листьев *Mentha piperita* L., содержащий высокое количество фенолоксидов и флавоноидов, проявлял противовирусную активность против респираторно-синцитиального вируса [8]. Вещество сальвиамин G, выделенное из корневищ *Salvia miltiorrhiza*, проявляло умеренную ингибирующую активность в отношении вируса простого герпеса 1-го типа и вируса гриппа А (H3N2) [9]. А дитерпеноиды, полученные из культур *Salvia miltiorrhiza*, проявляли ингибирующую активность в отношении ВИЧ-1 [10].

Выявлено, что метаболиты *Glechoma hederacea* обладают противовирусной активностью в отношении вируса Эпштейн-Барра. Водные экстракты *Prunella vulgaris* показывают активность в отношении вируса простого герпеса I-го и II-го типов и ВИЧ-1 [11]. Водные экстракты *Melissa officinalis* проявляют активность в отношении вируса простого герпеса I-го и II-го типов [11, 12]. Экстракты *Scutellaria baicalensis* активны в отношении вирусов гепатита, ВИЧ-1, респираторно-синцитиального вируса, вирусов гриппа и вируса Эпштейн-Барра [11]. А флавоноид байкалин, выделенный из корней *S. baicalensis*, способен ингибировать вирус гриппа А (H1N1 и H3N2) [13].

Экспериментальная часть

Объектами исследования служили наземные части растений семейства Lamiaceae, собранные в 2018 году в Новосибирской области. Названия растений и места их сбора приведены в таблице 1.

Получение сухих этанольных экстрактов: 2 г сырья помещали в коническую колбу с обратным холодильником вместимостью 100 мл, добавляли 30 мл 70% этилового спирта. Экстрагировали на водяной бане при температуре 60 °С в течение 1 ч. Далее извлечение отделяли от сырья фильтрованием через стеклянный фильтр (размер пор 10-16 мкм). Процедуру экстракции 70% этиловым спиртом повторяли еще три раза. Все извлечения объединяли, упаривали на ротационном испарителе и досушивали в сушильном шкафу при температуре 60 °С [14].

Получение сухих водных экстрактов: 2 г сырья помещали в круглодонную колбу с обратным холодильником вместимостью 100 мл, прибавляли 60 мл воды очищенной, смесь нагревали при температуре 95 °С в течение 1 ч, отделяли экстракт от сырья фильтрованием через стеклянный фильтр (размер пор 10–16 мкм). Процедуру экстракции повторяли с 40 мл воды. Охлажденные экстракты упаривали и сушили при температуре 60 °С [14].

Филиппова Екатерина Игоревна – научный сотрудник,
e-mail: filippova_ei@vector.nsc.ru

Кукушкина Татьяна Абдулхаировна – старший научный сотрудник,
e-mail: kukushkina-phyto@yandex.ru

Лобанова Ирина Евгеньевна – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник,
e-mail: irevlob@ngs.ru

Пишеничкина Юлия Анатольевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник,
e-mail: scutel@yandex.ru

Высочина Галина Ивановна – доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией фитохимии,
e-mail: vysochina_galina@mail.ru

Для тестирования токсичности и противовирусной активности этанольных и водных экстрактов растений использовали перевиваемую культуру клеток почки собаки кокер-спаниеля (MDCK), полученную из коллекции культур клеток ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Таблица 1. Наименование исследуемых растений и места их сбора

| Название на русском | Название на латыни | Место сбора |
|--|--|---|
| Змееголовник молдавский Иссоп лекарственный (соцветия белые, розовые и синие) Буквица лекарственная | <i>Dracocephalum moldavica</i> L. <i>Hyssopus officinalis</i> L. (соцветия белые, розовые и синие) <i>Betonica officinalis</i> L. | Экспериментальный участок ЦСБС СО РАН |
| Змееголовник поникший Будра плющевидная Прунелла обыкновенная (Березовка) Мелисса лекарственная | <i>Dracocephalum nutans</i> L. <i>Glechoma hederacea</i> L. <i>Prunella vulgaris</i> L. (Березовка) <i>Melissa officinalis</i> L. | НСО, Тогучинский район, окрестности п. Железнодорожный, на берегу р. Иня НСО, Тогучинский район, окрестности с. Березовка, на берегу р. Иня НСО, Тогучинский район, окрестности с. Березовка, закорочаренный болотный луг НСО, Тогучинский район, дачный участок в окрестностях с. Березовка |
| Непета кошачья Непета сибирская Шлемник байкальский Мята курчавая Душица обыкновенная Шалфей мутовчатый | <i>Nepeta cataria</i> L. <i>Nepeta sibirica</i> L. <i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi <i>Mentha crispera</i> L. <i>Origanum vulgare</i> L. <i>Salvia verticillata</i> L. | Коллекционный участок лекарственных растений ЦСБС СО РАН |
| Мята перечная Мята полевая | <i>Mentha piperita</i> L. <i>Mentha arvensis</i> L. | Новосибирск окрестности Академгородка, дачный участок |
| Прунелла обыкновенная (Академгородок) | <i>Prunella vulgaris</i> L. (Академгородок) | Новосибирск окрестности Академгородка, опушка смешанного леса |

Монослой клеток MDCK выращивали в 96-луночных планшетах (по 100 мкл клеточной суспензии с концентрацией 1×10^5 кл./мл) в среде DMEM (ООО «БиолоТ», Россия) в присутствии 5% эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота («HyClone», США). Планшеты с клетками помещали в термостат при температуре +37 °C, 5% CO₂ и 100% влажности на 2–3 сут. до образования клеточного монослоя.

Для определения токсических концентраций экстрактов образцы разводили в 2, 5, 10, 50, 100, 500, 1000, 10000 раз средой DMEM и оценивали наличие токсического действия в монослое культуры клеток MDCK или Vero с помощью инвертированного микроскопа. Разведения образца вносили по 100 мкл в соответствующие лунки планшета, и планшеты помещали в термостат при температуре +37 °C, 5% CO₂ и 100% влажности. Через 2–3 сут. с помощью инвертированного микроскопа оценивали наличие токсического действия в монослое клеток MDCK. Рассчитывали максимально переносимые концентрации растительных экстрактов для данной клеточной культуры.

В работе использовали штаммы вируса гриппа А: штамм вируса гриппа птиц A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) и штамм вируса гриппа человека A/Aichi/2/68 (H3N2), полученные из Государственной коллекции возбудителей вирусных инфекций и риккетсиозов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Для определения противовирусной активности образцов в монослой культуры клеток MDCK вносили по 50 мкл выбранного разведения экстракта на среде DMEM, содержащей 2 мкг/мл трипсина TPCK (Sigma, США), и 50 мкл разведенной от 1 до 8 с десятикратным шагом вируссодержащей аллантоисной жидкости (ВАЖ) на среде DMEM с 2 мкг/мл трипсина. Клетки инкубировали 2 сут при температуре 37 °C в атмосфере 5% CO₂ в термостате TC-1/80 СПУ (Россия). Через 2 сут в каждой лунке с помощью инвертированного микроскопа регистрировали цитопатическое действие в монослое клеток и определяли наличие вируса в среде культивирования по реакции гемагглютинации с 1% суспензией эритроцитов кур. Определяли титры вируса в Ig ТЦД₅₀/мл (десятичных логарифмов 50% тканевых цитопатических доз в мл) в контроле (50% инфицирующая доза – ИД₅₀ in vitro без препарата) и в опыте (ИД₅₀ in vitro с препаратом), а затем высчитывали индекс нейтрализации (ИН) вирусов под влиянием препарата: $ИН = ИД_{50} \text{контроль} - ИД_{50} \text{опыт (Ig)}$.

В качестве контроля использовали: клетки MDCK, культивируемые в питательной среде DMEM, содержащей 2 мкг/мл трипсина, и клетки MDCK, инфицированные вирусом гриппа A/Aichi/2/68 и A/chicken/Kurgan/05/2005 без внесения растительного экстракта.

Содержание флавоноидов (флавонолов и флавонов) в сухом растительном сырье определяли спектрофотометрическим методом В.В. Беликова и М.С. Шрайбер, в котором использована реакция комплексообразования с хлоридом алюминия:

1 г сырья экстрагируют на кипящей водяной бане 70% этанолом с обратным холодильником в течение 30 мин. Фильтруют в мерную колбу на 200 мл. Извлечение повторяют три раза. Объединенный экстракт доводят этанолом до метки. 2 мл извлечения помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 2 мл 2% хлористого алюминия и доводят этанолом до метки. Измеряют оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 415 нм. В качестве раствора сравнения применяют раствор, состоящий из 2 мл извлечения, 1 мл 3% раствора уксусной кислоты, доводят объем до 25 мл этанолом. Концентрацию флавоноидов находят по графику, построенному по рутину («Sigma», США) [14].

Количественное содержание катехинов определяли спектрофотометрическим методом, основанным на способности катехинов давать малиновое окрашивание с раствором ванилина в концентрированной соляной кислоте:

В две мерные пробирки переносят по 0.8 мл этанольного извлечения, в одну из них прибавляют 4 мл 1% раствора ванилина в концентрированной соляной кислоте. Обе пробирки доводят до 5 мл концентрированной соляной кислотой. Вторая пробирка содержит раствор сравнения. Плотность раствора измеряют на спектрофотометре СФ-56 при длине волны 502 нм. Пересчетный коэффициент рассчитан по (±)-катехину «Sigma» (Sigma-Aldrich, St.Louis, USA) [16].

Количественное определение танинов. Навеску сырья 2.0 г помещали в колбу и добавляли 250 мл воды очищенной. Экстрагировали при умеренном кипячении в течение 30 мин. Охлаждали, переносили в мерную колбу на 250 мл и доводили водой до метки. Часть извлечения (20 мл) центрифугировали в течение 5 мин при 3000 об./мин. 10 мл центрифугата переносили в мерную колбу на 100 мл, добавляли 10 мл 2% водного раствора аммония молибденовокислого. Содержимое колбы доводили водой до метки, оставляли на 15 мин. Интенсивность образовавшейся окраски измеряли на спектрофотометре СФ-56 при длине волны 420 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Расчет танинов производили по стандартному образцу ГСО танина [17].

Статистическую обработку и сравнение результатов осуществляли стандартными методами [18] с помощью пакета компьютерных программ «Statistica 6,0» (StatSoft Inc. 1984-2001) [19] с оценкой достоверности отличий при $p \leq 0.05$.

Обсуждение результатов

Полученные из наземной части растений семейства Lamiaceae сухие этанольные и водные извлечения были тестированы на токсичность и противовирусную активность. Максимально переносимая концентрация экстрактов для клеток MDCK находилась в пределах от 0.5 до 5 мг/мл.

Индекс нейтрализации вирусов является одним из важных критериев оценки противовирусного эффекта разрабатываемых противовирусных препаратов. В соответствии с Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [20] препараты, которые вызывают снижение инфекционности вирусов в культуре клеток на величину не менее 2.0 Ig, являются перспективными для проведения дальнейших исследований *in vivo*.

Результаты исследования ингибирования репродукции вируса гриппа А субтипов H5N1 и H3N2 в клетках MDCK под действием растительных экстрактов представлены в таблицах 2 и 3 соответственно.

Как видно из таблицы 2, активность в отношении вируса гриппа субтипа H5N1 показали водные и этанольные экстракты растений *Nepeta cataria*, *Nepeta sibirica*, *Scutellaria baicalensis*, *Hyssopus officinalis* (синий), *Betonica officinalis*. Также вируснейтрализующую активность проявили водные экстракты *Dracocephalum moldavica*, *Glechoma hederacea*, *Mentha arvensis*, *Prunella vulgaris*, *Melissa officinalis* и этанольные экстракты *Mentha piperita*, *Mentha crispa*, *Origanum vulgare*, *Hyssopus officinalis* (розовый), *Salvia verticillata*. Наивысший противовирусный эффект в отношении субтипа H5N1 проявили водные извлечения *Nepeta cataria* и *Glechoma hederacea* (ИН 3.75).

Выявлена противовирусная активность в отношении вируса гриппа субтипа H3N2 водных и этанольных экстрактов *Scutellaria baicalensis*, *Mentha piperita*, *Mentha arvensis*, *Mentha crispa*, водного экстракта *Dracocephalum moldavica* и этанольных экстрактов *Glechoma hederacea*, *Origanum vulgare*, *Prunella vulgaris*, *Hyssopus officinalis* (розовый и синий), *Betonica officinalis*, *Salvia verticillata* (табл. 3). Наивысшая вируснейтрализующая активность в отношении субтипа H3N2 отмечена у этанольного экстракта *Betonica officinalis* (ИН 4.25).

Таблица 2. Противовирусная активность экстрактов растений семейства *Lamiaceae* в отношении вируса гриппа A/chicken/ Kurgan/05/2005 (H5N1)

| Наименование растения | Водные экстракты | | | Этанольные экстракты | | |
|--|------------------|-----------------------------|--------|----------------------|-----------------------------|--------|
| | МПК, мг/мл | IgТЦД ₅₀ /мл± Sm | ИН, lg | МПК, мг/мл | IgТЦД ₅₀ /мл± Sm | ИН, lg |
| <i>Dracocephalum moldavica</i> | 2.5 | 3.0±0.29* | 3.25 | 1 | 4.5±0.0* | 1.75 |
| <i>Dracocephalum nutans</i> | 1 | 4.5±0.0* | 1.75 | 1 | 4.5±0.0* | 1.75 |
| <i>Nepeta cataria</i> | 5 | 2.5±0.0* | 3.75 | 1 | 3.5±0.0* | 2.75 |
| <i>Nepeta sibirica</i> | 2.5 | 4.0±0.29* | 2.25 | 2.5 | 3.5±0.0* | 2.75 |
| <i>Scutellaria baicalensis</i> | 2.5 | 3.5±0.0* | 2.75 | 1 | 4.0±0.29* | 2.25 |
| <i>Glechoma hederacea</i> | 3.33 | 2.5±0.0* | 3.75 | 3.33 | 4.5±0.29* | 1.75 |
| <i>Mentha piperita</i> | 1.43 | 4.5±0.0* | 1.75 | 1 | 3.5±0.0* | 2.75 |
| <i>Mentha arvensis</i> | 1 | 4.0±0.29* | 2.25 | 1 | 4.5±0.29* | 1.75 |
| <i>Mentha crispa</i> | 1 | 5.5±0.41 | 0.75 | 1 | 4.0±0.0* | 2.25 |
| <i>Origanum vulgare</i> | 1 | 4.5±0.0* | 1.75 | 1 | 3.5±0.0* | 2.75 |
| <i>Prunella vulgaris</i> (Березовка) | 0.5 | 4.0±0.29* | 2.25 | 1 | 5.0±0.0* | 1.25 |
| <i>Prunella vulgaris</i> (Академгородок) | 1 | 3.0±0.29* | 3.25 | 1 | 4.5±0.29* | 1.75 |
| <i>Melissa officinalis</i> | 5 | 3.0±0.29* | 3.25 | 3.33 | 4.5±0.0* | 1.75 |
| <i>Hyssopus officinalis</i> (белый) | 2.5 | 5.0±0.29* | 1.25 | 1 | 4.5±0.0* | 1.75 |
| <i>Hyssopus officinalis</i> (розовый) | 2.5 | 5.0±0.29* | 1.25 | 2.5 | 4.0±0.0* | 2.25 |
| <i>Hyssopus officinalis</i> (синий) | 2.5 | 4.0±0.29* | 2.25 | 2.5 | 4.0±0.0* | 2.25 |
| <i>Betonica officinalis</i> | 2.5 | 3.0±0.29* | 3.25 | 2.5 | 4.0±0.0* | 2.25 |
| <i>Salvia verticillata</i> | 1.43 | 6±0.29 | 0.25 | 5 | 3.5±0.41* | 2.75 |
| Контроль | – | 6.25±0.38 | – | – | 6.25±0.38 | – |

Примечание: МПК – максимально переносимая концентрация; IgТЦД₅₀/мл – десятичный логарифм 50% тканевой цитопатической дозы; Sm – стандартное отклонение; ИН – индекс нейтрализации; * – отличие от соответствующего контроля по t-критерию Стьюдента при p≤0.05.

Таблица 3. Противовирусная активность экстрактов растений семейства *Lamiaceae* в отношении вируса гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2)

| Наименование растения | Водные экстракты | | | Этанольные экстракты | | |
|--|------------------|-----------------------------|--------|----------------------|-----------------------------|--------|
| | МПК, мг/мл | IgТЦД ₅₀ /мл± Sm | ИН, lg | МПК, мг/мл | IgТЦД ₅₀ /мл± Sm | ИН, lg |
| <i>Dracocephalum moldavica</i> | 2.5 | 2.5±0.0* | 3.75 | 1 | 5.5±0.0 | 0.75 |
| <i>Dracocephalum nutans</i> | 1 | 6±0.29 | 0.25 | 1 | 5±0.29* | 1.25 |
| <i>Nepeta cataria</i> | 5 | 5±0.29* | 1.25 | 1 | 5.5±0.0 | 0.75 |
| <i>Nepeta sibirica</i> | 2.5 | 4.5±0.0* | 1.75 | 2.5 | 4.5±0.0* | 1.75 |
| <i>Scutellaria baicalensis</i> | 2.5 | 4±0.29* | 2.25 | 1 | 4±0.29* | 2.25 |
| <i>Glechoma hederacea</i> | 3.33 | 6±0.29 | 0.25 | 3.33 | 3±0.29* | 3.25 |
| <i>Mentha piperita</i> | 1.43 | 3.5±0.0* | 2.75 | 1 | 3.5±0.41* | 2.75 |
| <i>Mentha arvensis</i> | 1 | 2.5±0.0* | 3.75 | 1 | 3±0.29* | 3.25 |
| <i>Mentha crispa</i> | 1 | 2.5±0.0* | 3.75 | 1 | 3.5±0.0* | 2.75 |
| <i>Origanum vulgare</i> | 1 | 4.5±0.0* | 1.75 | 1 | 4±0.29* | 2.25 |
| <i>Prunella vulgaris</i> (Березовка) | 0.5 | 4.5±0.0* | 1.75 | 1 | 3.5±0.41* | 2.75 |
| <i>Prunella vulgaris</i> (Академгородок) | 1 | 5±0.29* | 1.25 | 1 | 4±0.29* | 2.25 |
| <i>Melissa officinalis</i> | 5 | 5±0.29* | 1.25 | 3.33 | 5.5±0.0 | 0.75 |
| <i>Hyssopus officinalis</i> (белый) | 2.5 | 5±0.29* | 1.25 | 1 | 4.5±0.0* | 1.75 |
| <i>Hyssopus officinalis</i> (розовый) | 2.5 | 4.5±0.0* | 1.75 | 2.5 | 3.5±0.0* | 2.75 |
| <i>Hyssopus officinalis</i> (синий) | 2.5 | 4.5±0.0* | 1.75 | 2.5 | 3.5±0.0* | 2.75 |
| <i>Betonica officinalis</i> | 2.5 | 6±0.29 | 0.25 | 2.5 | 2±0.29* | 4.25 |
| <i>Salvia verticillata</i> | 1.43 | 4.5±0.0* | 1.75 | 5 | 4.0±0.0* | 2.25 |
| Контроль | – | 6.25±0.25 | – | – | 6.25±0.25 | – |

Примечание: МПК – максимально переносимая концентрация; IgТЦД₅₀/мл – десятичный логарифм 50% тканевой цитопатической дозы; Sm – стандартное отклонение; ИН – индекс нейтрализации; * – отличие от соответствующего контроля по t-критерию Стьюдента при p≤0.05.

Следует отметить, что противовирусный эффект в отношении обоих субтипов вируса гриппа проявили водный и этанольный экстракты *Scutellaria baicalensis*, водные экстракты *Dracocephalum moldavica* и *Mentha arvensis* и этанольные экстракты *Mentha piperita*, *Mentha crispa*, *Origanum vulgare*, *Hyssopus officinalis*

(розовый и синий), *Betonica officinalis*, *Salvia verticillata*. При этом ни один из экстрактов растений *Dracocephalum nutans* и *Hyssopus officinalis* (белый) не показал заметной противовирусной активности в отношении исследуемых субтипов вируса гриппа А.

Полученные результаты противовирусной активности сухих экстрактов, полученных из растений семейства Lamiaceae, доказывают возможность разработки и создания на их основе новых лекарственных препаратов для профилактики и лечения вируса гриппа А.

Проведен анализ содержания фенольных соединений (флавоноидов, танинов и катехинов) в надземной части растений семейства Lamiaceae. Результаты представлены на рисунках 1–3.

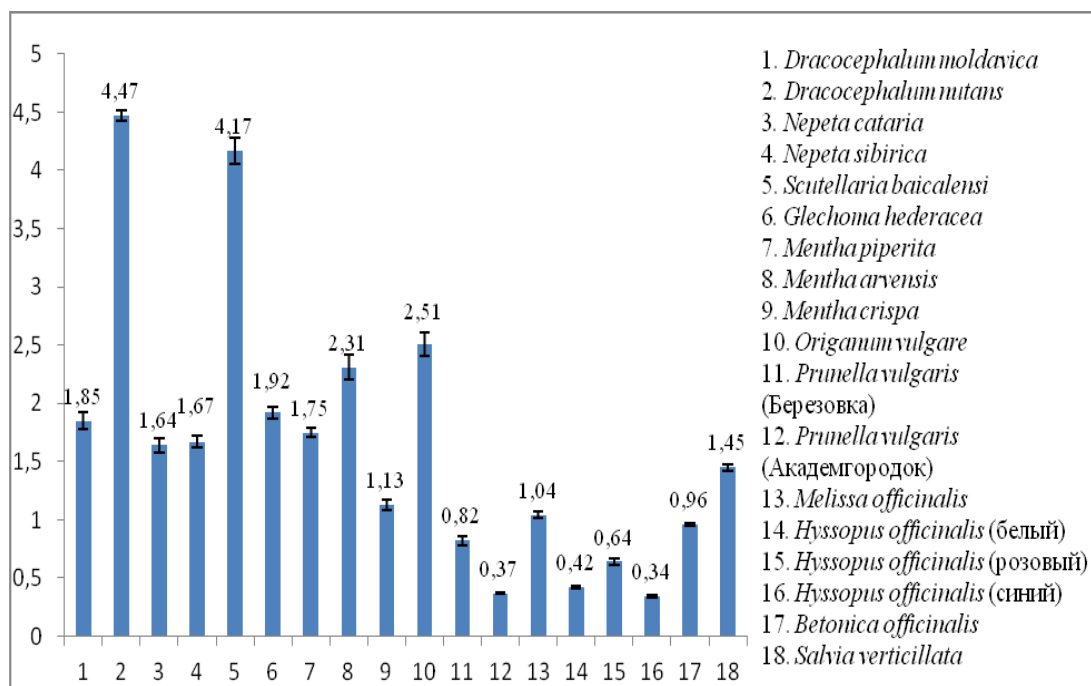


Рис. 1. Содержание флавоноидов в растениях семейства Lamiaceae (% на воздушно-сухую массу сырья)

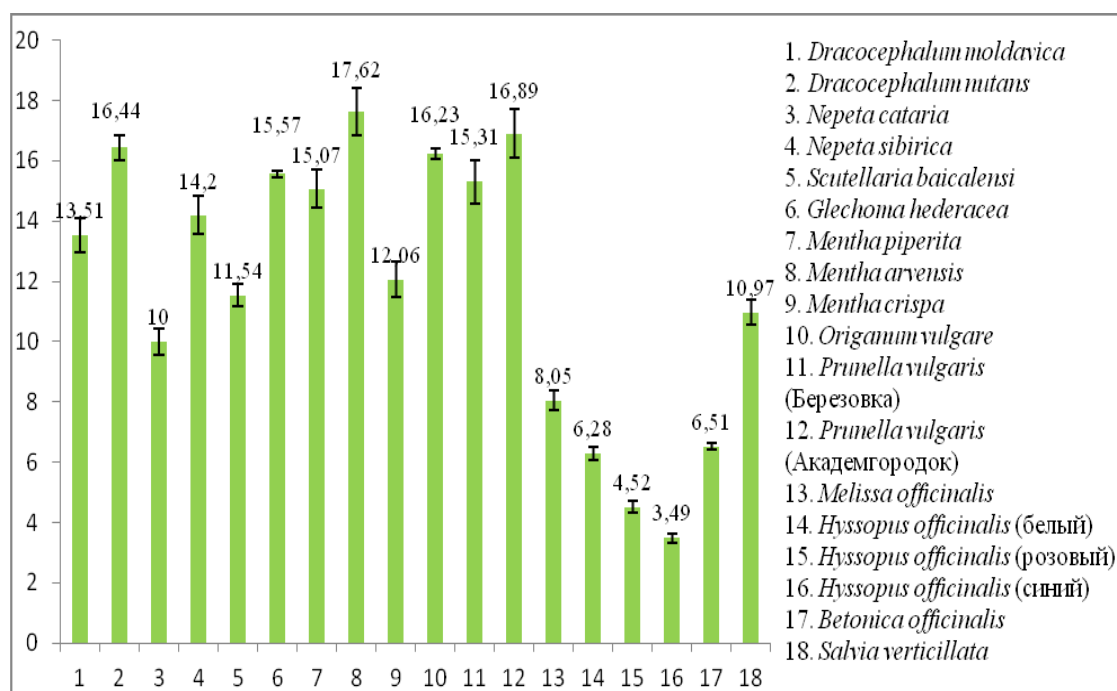


Рис. 2. Содержание танинов в растениях семейства Lamiaceae (% на воздушно-сухую массу сырья)

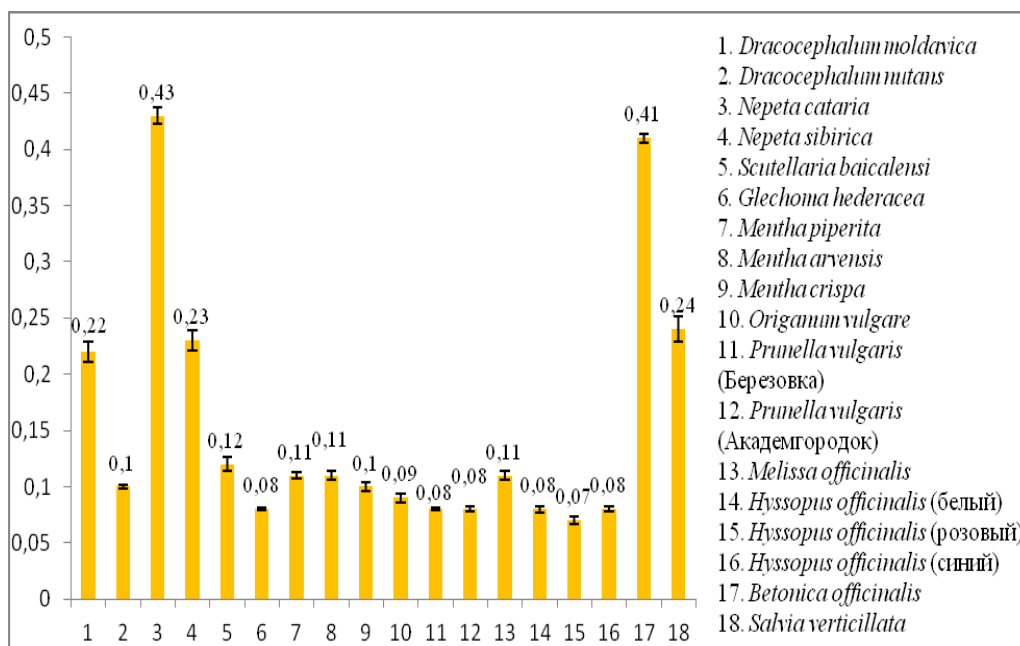


Рис. 3. Содержание катехинов в растениях семейства Lamiaceae (% на воздушно-сухую массу сырья)

Результаты исследования химического состава растительного сырья показали, что наивысшее содержание флавоноидов (рис. 1) наблюдалось у растений *Dracocephalum nutans* ($4.47 \pm 0.04\%$) и *Scutellaria baicalensis* ($4.17 \pm 0.11\%$), наименьшее – у *Prunella vulgaris* ($0.82 \pm 0.04\%$, $0.37 \pm 0.01\%$) и *Hyssopus officinalis* ($0.42 \pm 0.01\%$, $0.64 \pm 0.03\%$, $0.34 \pm 0.01\%$). В то же время наибольшее содержание танинов (рис. 2) обнаружено в *Dracocephalum nutans* ($16.44 \pm 0.41\%$), *Glechoma hederacea* ($15.57 \pm 0.11\%$), *Mentha piperita* ($15.07 \pm 0.64\%$), *Mentha arvensis* ($17.62 \pm 0.78\%$), *Origanum vulgare* ($16.23 \pm 0.16\%$) и *Prunella vulgaris* ($15.31 \pm 0.72\%$, $16.89 \pm 0.81\%$), а наименьшее – *Hyssopus officinalis* ($6.28 \pm 0.21\%$, $4.52 \pm 0.2\%$, $3.49 \pm 0.15\%$) и *Betonica officinalis* ($6.51 \pm 0.11\%$). Самое высокое содержание катехинов (рис. 3) выявлено у *Nepeta cataria* ($0.43 \pm 0.007\%$) и *Betonica officinalis* ($0.41 \pm 0.004\%$), при этом самое низкое содержание катехинов обнаружено у *Glechoma hederacea* ($0.08 \pm 0.001\%$), *Origanum vulgare* ($0.09 \pm 0.004\%$), *Prunella vulgaris* ($0.08 \pm 0.001\%$, $0.08 \pm 0.002\%$) и *Hyssopus officinalis* ($0.08 \pm 0.003\%$, $0.07 \pm 0.003\%$, $0.08 \pm 0.002\%$).

Выявлена корреляционная зависимость между содержанием в растительном сырье катехинов и противогриппозной активностью экстрактов, полученных из этих растений (коэффициент корреляции 0.33 – 0.43). Из чего был сделан вывод о том, что данная группа фенольных соединений может влиять на противогриппозный эффект растительных экстрактов.

Выводы

Исследована противогриппозная активность *in vitro* 15 видов растений семейства Lamiaceae в отношении вируса гриппа А. Доказана эффективность экстрактов растений *Dracocephalum moldavica*, *Scutellaria baicalensis*, *Glechoma hederacea*, *Mentha piperita*, *Mentha arvensis*, *Mentha crispa*, *Origanum vulgare*, *Prunella vulgaris*, *Hyssopus officinalis* (розовый и синий), *Betonica officinalis*, *Salvia verticillata* в отношении вируса гриппа штаммов A/Aichi/2/68 (H3N2) и A/chicken/ Kurgan/05/2005 (H5N1). В то же время экстракты *Nepeta cataria*, *Nepeta sibirica*, *Melissa officinalis* проявили активность исключительно в отношении штамма A/chicken/ Kurgan/05/2005.

Проведено количественное определение флавонолов, катехинов и танинов надземной части растений семейства Lamiaceae. Показано, что наивысшее содержание флавонолов в пересчете на воздушно-сухую массу сырья наблюдалось у *Dracocephalum nutans* ($4.47 \pm 0.04\%$), наивысшее содержание танинов установлено в *Mentha arvensis* ($17.62 \pm 0.78\%$), а наибольшее содержание катехинов обнаружено у *Nepeta cataria* ($0.43 \pm 0.007\%$).

Таким образом, экстракты растений семейства Lamiaceae являются перспективными источниками для дальнейших исследований с целью разработки новых противогриппозных препаратов.

Список литературы

1. Всемирная организация здравоохранения: информационный бюллетень по гриппу, март 2018. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/influenza-%28seasonal%29>
2. Ершов Ф.И., Романцев М.Г. Лекарственные средства, применяемые при вирусных заболеваниях. М., 2007. 368 с.
3. Li K.S., Guan Y., Wang J., Smith G.J.D., Xu K.M., Duan L., Rahardjo A.P., Puthavathana P., Buranathai C., Nguyen T.D., Estoepongstle A.T.S., Chaisingh A., Auewarakul P., Long H.T., Hanh N.T.H., Webby R.J., Poon L.L.M., Chen H., Shortridge K.F., Yuen K.Y., Webster R.G., Peiris J.S.M. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia // *Nature*. 2004. Vol. 430. N6996. Pp. 209–213. DOI: 10.1038/nature02746.
4. Watts J. Asian nations step up action to curb spread of avian influenza // *Lancet*. 2004. Vol. 363. N9406. P. 373. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)15475-5.
5. Abad M.J., Guerra J.A., Bermejo P., Irurzun A., Carrasco L. Search for antiviral activity in higher plant extracts // *Phytother Res*. 2000. Vol. 14. N8. Pp. 604–607. DOI: 10.1002/1099-1573(200012)14:8<604::aid-ptr678>3.0.co;2-l.
6. Singh P., Chakraborty P., He D.H., Mergia A. Extract prepared from the leaves of *Ocimum basilicum* inhibits the entry of Zika virus // *Acta Virol*. 2019. Vol. 63. N3. Pp. 316–321. DOI: 10.4149/av_2019_307.
7. Tan Y.P., Houston S.D., Modhiran N., Savchenko A.I., Boyle G.M., Young P.R., Watterson D., Williams C.M. Stachyonic Acid: A Dengue Virus Inhibitor from *Basilicum polystachyon* // *Chemistry*. 2019. Vol. 25. N22. Pp. 5664–5667. DOI: 10.1002/chem.201900591.
8. Li Y., Liu Y., Ma A., Bao Y., Wang M., Sun Z. In vitro antiviral, anti-inflammatory, and antioxidant activities of the ethanol extract of *Mentha piperita* L. // *Food Sci. Biotechnol*. 2017. Vol. 26. N6. Pp. 1675–1683. DOI: 10.1007/s10068-017-0217-9.
9. Yin Z.K., Feng Z.M., Jiang J.S., Zhang X., Zhang P.C., Yang Y.N. Two new tanshinone derivatives from the rhizomes of *Salvia miltiorrhiza* and their antiviral activities // *J. Asian Nat. Prod. Res*. 2020. Vol. 22. N1. Pp. 24–29. DOI: 10.1080/10286020.2019.1645132.
10. Zhang D., Guo J., Zhang M., Liu X., Ba M., Tao X., Yu L., Guo Y., Dai J. Oxazole-Containing Diterpenoids from Cell Cultures of *Salvia miltiorrhiza* and Their Anti-HIV-1 Activities. // *J. Nat. Prod*. 2017. Vol. 80. N12. Pp. 3241–3246. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.7b00659.
11. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 4. Семейства Caprifoliaceae – Lobeliaceae. СПб.; М., 2011. 630 с.
12. Astani A., Reichling J., Schnitzler P. *Melissa officinalis* extract inhibits attachment of herpes simplex virus in vitro // *Chemotherapy*. 2012. Vol. 58. N1. Pp. 70–77. DOI: 10.1159/000335590.
13. Li R., Wang L. Baicalin inhibits influenza virus A replication via activation of type I IFN signaling by reducing miR-146a // *Mol. Med. Rep*. 2019. Vol. 20. N6. Pp. 5041–5049. DOI: 10.3892/mmr.2019.10743.
14. Проценко М.А. Разработка технологии экспериментальных образцов препаратов из высших базидиомицетов: дис. ... канд. биол. наук. Кольцово, 2016. 178 с.
15. Беликов В.В., Шрайбер М.С. Методы анализа флавоноидных соединений // *Фармация*. 1970. №1. С.66–72.
16. Кукушкина Т.А., Зыков А.А., Обухова Л.А. Манжетка обыкновенная (*Alchemilla vulgaris* L.) как источник лекарственных средств // *Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: материалы VII Международного Съезда*. СПб., 2003. С. 64–69.
17. Федосеева Л.М. Изучение дубильных веществ подземных и надземных органов бадана толстолистного (*Bergenia crassifolia* (L.) Fitch.), произрастающего на Алтае // *Химия растительного сырья*. 2005. №2. С. 45–50.
18. Закс Л. Статистическое оценивание. М., 1976. 598 с.
19. Халафян А.А. *Statistica 6. Статистический анализ данных*. 2-е изд. М., 2010. 528 с.
20. Хабриев Р.У. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ: справочник*. 2-е изд., перераб. и доп. М., 2005. 832 с.

Поступила в редакцию 29 октября 2020 г.

После переработки 3 февраля 2021 г.

Принята к публикации 8 февраля 2021 г.

Для цитирования: Проценко М.А., Мазуркова Н.А., Филиппова Е.И., Кукушкина Т.А., Лобанова И.Е., Пшеничкина Ю.А., Высочина Г.И. Противогриппозная активность экстрактов растений семейства *Lamiaceae* // *Химия растительного сырья*. 2021. №2. С. 181–190. DOI: 10.14258/jcrpm.2021028744.

Protsenko M.A.^{1*}, Mazurkova N.A.¹, Filippova E.I.¹, Kukushkina T.A.², Lobanova I.E.², Pshenichkina Yu.A.², Vysochina G.I.² ANTI-INFLUENZA ACTIVITY OF PLANT EXTRACTS OF THE LAMIACEAE FAMILY

¹ State Research Center of Virology and Biotechnology Vector, Koltsovo, Novosibirsk region, 630559 (Russia), e-mail: protsenko_ma@vector.nsc.ru

² Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Zolotodolinskaya str., 101, Novosibirsk, 630090 (Russia)

In this work, it was revealed that water and ethanol extracts of the plants *Nepeta cataria*, *Nepeta sibirica*, *Scutellaria baicalensis*, *Hyssopus officinalis*, *Betonica officinalis*, and water extracts of *Dracocephalum moldavica*, *Glechoma hederacea*, *Mentha arvensis*, *Prunella vulgaris*, *Melissa officinalis* ethanol extracts of *Mentha piperita*, *Mentha crispa*, *Origanum vulgare*, *Hyssopus officinalis*, *Salvia verticillata* showed antiviral activity against the influenza virus subtype H5N1. Aqueous extracts of *Nepeta cataria* and *Glechoma hederacea* (NI 3.75) showed the highest antiviral effect against the H5N1 subtype.

It was revealed the antiviral activity against influenza virus subtype H3N2 of aqueous and ethanol extracts of *Scutellaria baicalensis*, *Mentha piperita*, *Mentha arvensis*, *Mentha crispa*, aqueous extract of *Dracocephalum moldavica* and ethanol extracts of *Glechoma hederacea*, *Origanum vulgare*, *Prunella vulgaris*, *Hyssopus officinalis*, *Betonica officinalis*, *Salvia verticillata*. Ethanol extract of *Betonica officinalis* (NI 4.25) showed the highest virus neutralizing activity against the H3N2 subtype.

It was carried out chemical analysis of the aerial parts of plants of the Lamiaceae family. It was shown that the highest content of flavonols was observed in *Dracocephalum nutans* (4.47±0.04%), the highest content of tannins was found in *Mentha arvensis* (17.62 ± 0.78%), and the highest content catechins were found in *Nepeta cataria* (0.43 ± 0.007%).

Thus, plant extracts of the Lamiaceae family are promising sources for further studies to develop new antiviral drugs.

Keywords: Lamiaceae, dry extracts, flavonoids, antiviral activity, influenza virus.

References

1. *Vsemirnaya organizatsiya zdavookhraneniya: informatsionnyy byulleten' po grippu, mart 2018*. [World Health Organization: Influenza Fact Sheet, March 2018]. URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/influenza-%28seasonal%29>. (in Russ.).
2. Yershov F.I., Romantsev M.G. *Lekarstvennyye sredstva, primenyayemyye pri virusnykh zabolevaniyakh*. [Medicines used for viral diseases]. Moscow, 2007, 368 p. (in Russ.).
3. Li K.S., Guan Y., Wang J., Smith G.J.D., Xu K.M., Duan L., Rahardjo A.P., Puthavathana P., Buranathai C., Nguyen T.D., Estoepangestle A.T.S., Chaisingh A., Auewarakul P., Long H.T., Hanh N.T.H., Webby R.J., Poon L.L.M., Chen H., Shorridge K.F., Yuen K.Y., Webster R.G., Peiris J.S.M. *Nature*, 2004, vol. 430, no. 6996, pp. 209–213. DOI: 10.1038/nature02746.
4. Watts J. *Lancet*, 2004, vol. 363, no. 9406, p. 373. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)15475-5.
5. Abad M.J., Guerra J.A., Bermejo P., Irurzun A., Carrasco L. *Phytother Res.*, 2000, vol. 14, no. 8, pp. 604–607. DOI: 10.1002/1099-1573(200012)14:8<604::aid-ptr678>3.0.co;2-l.
6. Singh P., Chakraborty P., He D.H., Mergia A. *Acta Virol.*, 2019, vol. 63, no. 3, pp. 316–321. DOI: 10.4149/av_2019_307.
7. Tan Y.P., Houston .SD., Modhiran N., Savchenko A.I., Boyle G.M., Young P.R., Watterson D., Williams C.M. *Chemistry*, 2019, vol. 25, no. 22, pp. 5664–5667. DOI: 10.1002/chem.201900591.
8. Li Y., Liu Y., Ma A., Bao Y., Wang M., Sun Z. *Food Sci. Biotechnol.*, 2017, vol. 26, no. 6, pp. 1675–1683. DOI: 10.1007/s10068-017-0217-9.
9. Yin Z.K., Feng Z.M., Jiang J.S., Zhang X., Zhang P.C., Yang Y.N. *J. Asian Nat. Prod. Res.*, 2020, vol. 22, no. 1, pp. 24–29. DOI: 10.1080/10286020.2019.1645132.
10. Zhang D., Guo J., Zhang M., Liu X., Ba M., Tao X., Yu L., Guo Y., Dai J. *J. Nat. Prod.*, 2017, vol. 80, no. 12, pp. 3241–3246. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.7b00659.
11. *Rastitel'nyye resursy Rossii: Dikorastushchiye tsvetkovyye rasteniya, ikh komponentnyy sostav i biologicheskaya aktivnost'. T. 4. Semeystva Caprifoliaceae – Lobeliaceae*. [Plant resources of Russia: Wild flowering plants, their component composition and biological activity. Vol. 4. Families Caprifoliaceae - Lobeliaceae]. St.-Petersburg; Moscow, 2011, 630 p. (in Russ.).
12. Astani A., Reichling J., Schnitzler P. *Chemotherapy*, 2012, vol. 58, no. 1, pp. 70–77. DOI: 10.1159/000335590.
13. Li R., Wang L. *Mol. Med. Rep.*, 2019, vol. 20, no. 6, pp. 5041–5049. DOI: 10.3892/mmr.2019.10743.
14. Protsenko M.A. *Razrabotka tekhnologii eksperimental'nykh obraztsov preparatov iz vysshikh bazidiomitsetov: dis. ... kand. biol. nauk*. [Development of technology for experimental samples of drugs from higher basidiomycetes: dis. ... Cand. biol. sciences]. Kol'tsovo, 2016, 178 p. (in Russ.).
15. Belikov V.V., Shrayber M.S. *Farmatsiya*, 1970, no. 1, pp. 66–72. (in Russ.).
16. Kukushkina T.A., Zykov A.A., Obukhova L.A. *Aktual'nyye problemy sozdaniya novykh lekarstvennykh preparatov prirodnogo proiskhozhdeniya: materialy VII Mezhdunarodnogo S'yezda*. [Actual problems of creating new medicines of natural origin: materials of the VII International Congress]. St.-Petersburg, 2003, pp. 64–69. (in Russ.).
17. Fedoseyeva L.M. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2005, no. 2, pp. 45–50. (in Russ.).
18. Zaks L. *Statisticheskoye otsenivaniye*. [Statistical estimation]. Moscow, 1976, 598 p. (in Russ.).

* Corresponding author.

19. Khalafyan A.A. *Statistica 6. Statisticheskiy analiz dannykh. 2-ye izd.* [Statistica 6. Statistical data analysis. 2nd ed.]. Moscow, 2010, 528 p. (in Russ.).
20. Khabriyev R.U. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv: spravochnik. 2-ye izd., pererab. i dop.* [Guidelines for experimental (preclinical) study of new pharmacological substances: a handbook. 2nd ed., Rev. and add.]. Moscow, 2005, 832 p. (in Russ.).

Received October 29, 2020

Revised February 3, 2021

Accepted February 8, 2021

For citing: Protsenko M.A., Mazurkova N.A., Filippova E.I., Kukushkina T.A., Lobanova I.E., Pshenichkina Yu.A., Vysochina G.I. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2021, no. 2, pp. 181–190. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2021028744.