

УДК 615.281

## **ФЕНОЛЬНЫЙ ПРОФИЛЬ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ СУХИХ ЭТАНОЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ *AGRIMONIA PILOSA LEDEB.* И НЕКОТОРЫХ ДРУГИХ РАСТЕНИЙ ПОДСЕМЕЙСТВА *ROSOIDEAE* СЕМЕЙСТВА *ROSACEAE* ДЛЯ ИНАКТИВАЦИИ SARS-COV-2 И ВИРУСА ПРОСТОГО ГЕРПЕСА ВТОРОГО ТИПА\***

© Е.И. Казачинская<sup>1,2\*\*</sup>, Л.Н. Зибарева<sup>3</sup>, А.А. Чепурнов<sup>1</sup>, А.В. Иванова<sup>2</sup>, Ю.В. Кононова<sup>1</sup>,  
Д.Н. Шауло<sup>4</sup>, В.В. Романюк<sup>5</sup>, А.М. Шестопалов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт вирусологии ФИЦ  
Фундаментальной и трансляционной медицины СО РАН, ул. Тимакова, 2,  
Новосибирск, 630117, Россия, lena.kazachinskaia@mail.ru

<sup>2</sup> ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», р.п. Кольцово, Новосибирск, 630559, Россия

<sup>3</sup> Национальный исследовательский Томский государственный  
университет, пр. Ленина, 36, Томск, 634050, Россия

<sup>4</sup> Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, ул. Золотодолинская,  
101, Новосибирск, 630090, Россия

<sup>5</sup> ООО НПФ «Золотая долина», ул. Золотодолинская, 101, Новосибирск,  
630090, Россия

Изучены антивирусная активность и фенольный состав сухих этанольных экстрактов отдельных частей (листьев, цветков и стеблей) распространенных в природе РФ представителей подсемейства *Rosoideae* семейства *Rosaceae* – репешка волосистого (*Agrimonia pilosa* Ledeb.), манжетки обыкновенной (*Alchemilla vulgaris* L.), кровохлебки аптечной (*Sanguisorba officinalis* L.), кровохлебки альпийской (*Sanguisorba alpina* Bunge) и гравилата речного (*Geum rivale* L.). В реакции прямой инактивации (нейтрализации) вируса *in vitro* выявлена активность исследованных экстрактов при растворении их в ДМСО против двух патогенов – коронавируса SARS-CoV-2 и вируса простого герпеса второго типа (HSV-2) в диапазоне 50%-х эффективных концентраций  $1.09\pm0.24$  –  $50.78\pm11.2$  мкг/мл. Показано, что экстракты проявляют низкую цитотоксичность, что влияет на значения индексов селективности. В листьях *A. pilosa* идентифицирован флавоноид цинарозид (0.79%). В экстрактах других *Rosoideae spp.* выявлены такие химические соединения как хлорогеновая кислота, рутин, кверцетин, изокверцитрин, кверцитрин гидрат, эпикатехин, виценин-2 и несколько неидентифицированных флавоноидов. Основываясь на полученных данных, можно предположить, что активность исследованных этанольных экстрактов *Rosoideae spp.* при прямой инактивации (нейтрализации) SARS-CoV-2 и HSV-2 связана с полифенольными соединениями.

Полученные результаты могут стать основой для поиска индивидуальных БАВ растительного происхождения, ингибирующих «вход» этих вирусов в чувствительную клетку, а также для разработки недорогих препаратов для профилактики и/или лечения COVID-19 и снижения рецидивов хронического генитального герпеса.

**Ключевые слова:** сухие этанольные экстракты листьев, цветков и стеблей растений *Rosoideae spp.*, фенольный состав, антивирусная активность.

**Для цитирования:** Казачинская Е.И., Зибарева Л.Н., Чепурнов А.А., Иванова А.В., Кононова Ю.В., Шауло Д.Н., Романюк В.В., Шестопалов А.М. Фенольный профиль и эффективность сухих этанольных экстрактов *Agrimonia pilosa* Ledeb. и некоторых других растений подсемейства *Rosoideae* семейства *Rosaceae* для инактивации SARS-COV-2 и вируса простого герпеса второго типа // Химия растительного сырья. 2025. №2. С. 286–299. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250214782>.

\* Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcprm.20250214782s

\*\* Автор, с которым следует вести переписку.

## Введение

Пандемия коронавирусной болезни COVID-19 (coronavirus disease, 2019 г.) началась с появлением нового РНК-содержащего SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) и вызвала беспрецедентный мировой кризис в области здравоохранения. По данным ВОЗ, на середину января 2024 г. во всем мире было зарегистрировано более 772 миллионов подтвержденных случаев COVID-19 и почти 7 миллионов смертельных исходов от этой болезни [1]. Появление новых генетических вариантов SARS-CoV-2 создает неизбежные препятствия в программах вакцинации. До сих пор нет зарегистрированных препаратов прямого анти SARS-CoV-2 действия, а по одобренным для лечения (например, по ремдесивиру – ингибитору вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразы (RdRp), на сегодняшний день результаты клинических испытаний противоречивы [2]. Кроме того, COVID-19 ассоциируется с широким спектром оппортунистических инфекций (бактериальной и грибковой природы), которые могут способствовать увеличению риска смертности, особенно в тяжелых случаях болезни [3]. Применение кортикоステроидов и блокаторов цитокинов для снижения «цитокинового шторма» при COVID-19 активирует хронические герпесвирусные инфекции разных видов, например, Cytomegalovirus и Herpes Simplex Viruses (HSVs) [4]. В настоящее время около полумиллиарда человек во всем мире хронически инфицированы ДНК-содержащим вирусом простого герпеса второго типа (*Herpes simplex virus type 2, HSV-2*), который передается в основном половым путем [5]. Несмотря на длительный период изучения HSV-2, до сих пор не существует эффективной вакцины для профилактики, а широко используемые противогерпесвирусные препараты (ацикловир и родственные ему синтетические нуклеозидные аналоги) обладают долгосрочной токсичностью и вызывают вирусную резистентность [6]. Альтернативными или дополнительными средствами лечения вирусных инфекций могут быть растительные препараты, содержащие биологически активные вещества (БАВ) – это первичные метаболиты (белки, полисахариды) и вторичные метаболиты (флавоноиды, полифенолы, кумарины, алкалоиды, проантокинидины, моно- и сесквитерпены), обладающие широким антивирусным действием как против нескольких патогенов, так и направленные на разные вирусные мишени, играющие важные роли в стадиях «жизненного» цикла вирусов [7, 8]. Кроме того, известно, что растительные препараты, как правило, обладают и другими важными фармакологическими свойствами, например, антибактериальными и противовоспалительными [9]. В литературе появляются результаты исследований по ингибированию репликации нескольких вирусов одним и тем же растительным препаратом. Например, показано, что метанольный экстракт листьев виноградной лозы (*Vitis vinifera, Vitaceae*), произрастающей в Италии, способен ингибировать репликацию как SARS-CoV-2, так и HSV-1 *in vitro* на ранних стадиях инфекции путем прямой инактивации вирионов при очень низкой концентрации – 10 мкг/мл [10]. Mostafa с соавт. (группа ученых из Египта и Саудовской Аравии) на основании своих результатов *in vitro* предполагают, что очищенный эпигаллокатехин галлат (epigallocatechin gallate, EGCG) чая, обладающий прямым антивирусным действием, может быть многообещающим вариантом лечения через механизм защиты клеток от повреждения, вызванного как системной COVID-19 при инфицировании SARS-CoV-2, так и местным обострением хронической HSV-2-инфекции [11].

В этой связи представляет интерес исследования эффективности экстрактов растений, в частности *Rosoideae spp.*, широко распространенных в природе РФ, против двух патогенов – SARS-CoV-2 и HSV-2.

## Экспериментальная часть

**Растительное сырье.** Растения были собраны в природе в период цветения – репешок обыкновенный *Agrimonia pilosa* Ledeb. (рис. 1) в Новосибирской области (лесной массив на территории ЦСБС СО РАН, 54°48'10.08" с.ш. 83°5'44.88" в.д.); остальные виды растений в горах Республики Алтай: манжетка обыкновенная *Alchemilla vulgaris* L. (\*Семинский горный перевал, 51°2'43"с.ш. 85°36'13" в.д. и \*\*Горное урочище Алес, выше села Эдиган, 51°3'43"с.ш. 86°28'28" в.д.), кровохлебка аптечная *Sanguisorba officinalis* L. и кровохлебка альпийская *S. alpina* Bunge (Семинский горный перевал), гравилат речной *Geum rivale* L. (Горное урочище Алес). Определение видов проводили с использованием справочников на местности и в лаборатории «Гербарий» Центрального сибирского ботанического сада СО РАН, Новосибирск. Растительное сырье сушили при температуре 18–25 °C в проветриваемом помещении, защищенном от солнечных лучей. После сушки сырье тщательно разделяли на отдельные части (листья, цветки, стебли) и сохраняли при комнатной температуре.



Рис. 1. Репешок волосистый (*Agrimonia pilosa* Ledeb.): *а* – общий вид растения, *б* – соцветие крупным планом (фото авторов)

*Получение сухих этанольных экстрактов* (на 70% спирте) ранее описано в работе [12].

*Анализ БАВ методом высокоеффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)* выполнен на хроматографе «Shimadzu LC-20AD» (Япония) в ТГУ с использованием стандартов соединений (с временем удержания в минутах (Тг, мин); максимумами поглощения в нанометрах ( $\lambda$ , нм) (Sigma Aldrich, США). Результаты снимали при длине волны 272 нм – для всех фенольных соединений, включая флавоноиды, как описано [13].

*Культура клеток.* Перевиваемую линию Vero E6 (клетки почки африканской зеленои мартишки) из собственной коллекции ФИЦ ФТМ СО РАН культивировали на питательной среде Игла МЕМ с L-глутамином (Биолот, Россия) с добавлением 1% Antibiotic Antimycotic Solution (SIGMA Life Science, Израиль) и 10% эмбриональной сыворотки крови крупного рогатого скота (КРС) (Capricorn Scientific, ФРГ).

*Цитотоксичность* исследуемых сухих этанольных экстрактов *Rosoideae spp.* и контрольных образцов, растворенных в диметилсульфоксида (ДМСО), проводили, как описано [12], в лунках 96-луночных планшетов на культуре клеток Vero E6, чувствительной как к HSV-2 [14], так и к SARS-CoV-2 [15]. Результат оценивали каждые сутки (срок наблюдения 5 суток) и определяли по 50%-ной цитотоксичной концентрации в мл (50% cytotoxic concentration, CC<sub>50</sub>/мл) по общепринятой методике.

*Инфекционный титр SARS-CoV-2* (штамм SARS-CoV-2/human/RUS/Nsk-FRCFTM-1/2020) выражали в тканевых цитопатических дозах вируса в мл (ТЦПД<sub>50</sub>/мл), вызывающих цитопатическое действие (ЦПД) на 50% инфицированных клеток как показано в работе [16].

*Инфекционный титр HSV-2* (штамм MS) выражали в бляшкообразующих единицах в мл (БОЕ/мл), как показано в работе [17]. Вирусы пассировали на культуре клеток Vero E6 в поддерживающей питательной среде с 2% теплоинактивированной эмбриональной сыворотки крови КРС (прогретой в течение 30 мин при 56 °C).

*Реакцию инактивации (нейтрализации) вирусов* экстрактами проводили в лунках 96-луночных планшетов по общепринятой методике как ранее описано в работах [12, 13, 18] с использованием вирусов с инфекционными титрами 10<sup>3</sup> БОЕ/мл HSV-2 и 10<sup>3</sup> ТЦПД<sub>50</sub>/мл SARS-CoV-2 соответственно.

*Препараты сравнения.* В качестве контрольных образцов использовали приготовленные сухие этанольные экстракты плодового тела чаги (*Inonotus obliquus* Ach. Ex Pers. Pil., *Basidiomycota*), специи гвоздики (*Syzygium aromaticum* L., *Myrtaceae*) и черного чая (*Camellia sinensis* L. Kuntze, *Theaceae*). Выбор препаратов сравнения обоснован ранее опубликованными собственными данными и результатами других авторов. Например, водные вытяжки чаги, гвоздики, черного и зеленого чая были активны *in vitro* как против SARS-CoV-2 [16], так и против HSV-2 [17, 19]. Эффективность сухих этанольных экстрактов чаги, гвоздики и

черного чая, растворенных в ДМСО, против SARS-CoV-2 *in vitro* была продемонстрирована в работе [12]. Ishimoto с соавт. показали *in vitro* снижение титра SARS-CoV-2 на 5 Ig при инактивации вируса водными вытяжками черного и зеленого чая [15]. Теплякова с соавт. описали эффективность концентрированных лиофилизованных водных экстрактов чаги с EC<sub>50</sub> в диапазоне концентраций 0.75–11.6 мкг/мл по «профилактической» схеме эксперимента против SARS-CoV-2 *in vitro* [20] и *in vivo* на мышах [21]. Stamos с соавт. получили результаты *in vitro* по высокой ингибирующей активности галлат эпигаллокатехина (EGCG), выделенного из *C. sinensis*, на HSV-2 [5]. Эвгенол (4-аллил-1-гидрокси-2-метоксибензол), выделенный из *S. aromaticum*, *in vitro* обладает вирулицидным действием на HSV-1 и HSV-2 с EC<sub>50</sub> 25.6 и 16.2 мкг/мл соответственно. Местное применение эвгенола замедляло у мышей развитие кератита, вызванного герпесвирусной инфекцией [22]. По результатам молекулярного докинга (*in silico*), другое химическое соединение – Tellimagrandin-II, выделенное из специи гвоздики, взаимодействует с рецептором-связывающим доменом (RBD) белка S (spike) SARS-CoV-2 [23]. Сыре (чага с Салаирского кряжа Маслянинского района Новосибирской области РФ, специя гвоздика из Вьетнама, черный чай из Индии и зеленый чай из Китая) любезно предоставлено ООО НПФ «Золотая долина» (г. Новосибирск).

*Отрицательные контроли:* поддерживающая питательная среда для культуры клеток и ДМСО в объемах, соответствующих содержанию этого растворителя в исследуемых растительных препаратах.

*Эффективность инактивации (нейтрализации) вирусов экстрактами выражали в 50%-ных эффективных концентрациях (EC<sub>50</sub>), как описано [12].*

*Селективный индекс* (Selectivity index, SI) для исследуемых экстрактов рассчитывали по общепринятой формуле: SI<sub>50</sub>=CC<sub>50</sub>/EC<sub>50</sub>, с учетом токсичности, выявленной на момент времени, совпадающей со временем фиксации результатов по ЦПД HSV-2 и SARS-CoV-2 в контрольных рядах инфицированных клеток.

*Статистическую обработку результатов* по определению показателей CC<sub>50</sub>/мл и EC<sub>50</sub>/мл проводили с применением метода Спирмена-Кербера в программе Excel при 95%-ном уровне надежности (p≤0.05). Для статистической обработки все анализы *in vitro* проводили и фиксировали в четырех повторах в двух независимых экспериментах.

### **Обсуждение результатов**

*Цитотоксичность экстрактов.* Общепринято, что преимущество традиционной медицины на основе трав заключается в более слабых побочных эффектах, чем при применении химически синтезированных фармацевтических препаратов [24]. По данным литературы, цитотоксичность сухих водных, метанольных или этанольных растительных экстрактов считается невысокой в диапазоне концентраций 480–500 мкг/мл [10, 25, 26]. В наших экспериментах мы оценивали цитотоксичность этанольных экстрактов *Rosoideae spp.* и контрольных образцов, растворенных в ДМСО, на 2 и 4 сутки, совпадающие с развитием ЦПД для 10<sup>3</sup> БОЕ/мл HSV-2 и 10<sup>3</sup> ТЦПД<sub>50</sub>/мл SARS-CoV-2 соответственно. В результате стало очевидно, что цитотоксичность повышалась с течением времени, но не превышала, например, 343.75±89.65 мкг/мл на 4 сутки для контрольного образца специи гвоздики. Для экстрактов различных частей растений *Rosoideae spp.* менее токсичными для клеток из всех препаратов оказались экстракты, приготовленные из стеблей и цветков – в диапазоне 750.0±185.20 – 875.0±160.39 мкг/мл на 4 сутки наблюдения. Некоторые экстракты листьев *Rosoideae spp.* проявили более заметную токсичность для клеток в диапазоне концентраций от 1125±224.99 до 312.5±80.19 мкг/мл на 2 и 4 сутки наблюдения соответственно (табл.).

*Анализ инактивирующей активности экстрактов на SARS-CoV-2.* Гликопротеин S определяет инфекционность SARS-CoV-2, является основной мишенью вакцинации и лечения препаратами моноклональных антител. Методика исследования, направленная на определение веществ, влияющих на конформацию этого белка при прямой инактивации (нейтрализации) позволяет выявить препараты, блокирующие слияние вируса с рецепторами инфицируемой клетки [12, 15, 25, 27–29]. В наших экспериментах при прямой инактивации 10<sup>3</sup> ТЦПД<sub>50</sub>/мл SARS-CoV-2 для контрольных образцов выявлены показатели EC<sub>50</sub>: для экстрактов специи гвоздики, черного и зеленого чая – 1.09±0.24 мкг/мл, для экстракта чаги – 6.34±1.39 мкг/мл. Показатели EC<sub>50</sub>, сравнимые с контрольными образцами, выявлены для экстрактов листьев и травы *A. pilosa* с (EC<sub>50</sub> = 1.09±0.24 и 1.83±0.24 мкг/мл); листьев *A. vulgaris\** (с EC<sub>50</sub>=1.09±0.24 мкг/мл; листьев и цветков *S. officinalis* L. (с EC<sub>50</sub> = 1.09±0.24 и 2.44±0.63 мкг/мл); листьев и цветков *G. rivale* (с EC<sub>50</sub> = 3.17±0.69 и 3.42±0.63 мкг/мл); цветков и стеблей *A. vulgaris\** (с EC<sub>50</sub> = 3.42±0.63 и 5.86±1.45 мкг/мл); листьев, стеблей и цветков *A.*

*vulgaris*\*\* (с EC<sub>50</sub> = 3.42±0.63, 4.88±1.25 и 6.84±1.25 мкг/мл); листьев и цветков *S. alpina* (с EC<sub>50</sub> = 3.42±0.63 и 6.84±1.25 мкг/мл). Остальные препараты были менее активны – в диапазоне концентраций от 7.32±0.96 мкг/мл (стебли *S. officinalis*) до 46.87±11.57 мкг/мл (стебли *S. alpina*), соответственно (табл.).

В литературе есть данные по исследованию растительных препаратов при прямой инактивации SARS-CoV-2 *in vitro*. Например, этанольный экстракт корневища имбиря (*Boesenbergia rotunda, Zingiberaceae*) ингибирует SARS-CoV-2 (в титре 25 ТЦПД<sub>50</sub>/мл) на этапе «входа» вируса в клетку с 50%-ной ингибирующей концентрацией (IC<sub>50</sub>), равной 20.42 мкг/мл (с SI<sub>50</sub>=8.20) [27]. Сухие этанольные экстракты (на 95%-м спирте) из смеси растений разных семейств (*Lamiaceae, Apiaceae, Asteraceae* и др.), растворенные в ДМСО, *in vitro* подавили инфекционность SARS-CoV-2 (100 ТЦПД<sub>50</sub>/мл) при IC<sub>50</sub> в диапазоне 163.81±14.53 – 388.27±4.72 мкг/мл (с SI<sub>50</sub>, равные 57.72 и 13.84) [28]. Сухой метанольный экстракт травы зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum L., Hypericaceae*), растворенный в ДМСО, был активен в диапазоне концентраций 1.5–15 мкг/мл при прямой инактивации SARS-CoV-2 [20]. Показано, что сухие этанольные экстракты травы полыней ингибируют «вход» SARS-CoV-2 в клетку с EC<sub>50</sub> в диапазоне от 0.0004 ± 0.0001 до 0.46±0.09 мкг/мл (экстракт *Artemisia afra*) и от 0.11±0.04 до 2.66±1.48 мкг/мл (экстракт *A. annua*) (с SI<sub>50</sub> до 275.0) [29]. Сухие этанольные экстракты частей *Artemisia spp.* (*A. vulgaris, A. dracunculus, A. absinthium, A. frigida, A. glauca* и *A. sieversiana*, произрастающих в Новосибирской области) при растворении в ДМСО были активны в прямой инактивации 10<sup>3</sup> ТЦПД<sub>50</sub>/мл SARS-CoV-2 в диапазоне EC<sub>50</sub> от 1.10±0.24 – 11.72±2.89 мкг/мл (для листьев), 1.10±0.24 – 109.38±20.05 мкг/мл (для цветков) и до 1.46±0.36 – 58.59±7.66 мкг/мл (для стеблей) соответственно, с показателями SI<sub>50</sub> в диапазоне от 3.99 до 795.45 [12]. Ishimoto с соавт. зафиксировали снижение репликации SARS-CoV-2 на 5 лг водными вытяжками черного и зеленого чая (при заваривании коммерческих пакетиков весом по 2.2 г в 140 мл и экстрагированием в течение 15 мин) [15].

Результаты по цитотоксичности и ингибирующей активности контрольных образцов и экстрактов *Rosoideae spp.*

№ об-разца	Сырье для экс-трактов	Части растения	CC <sub>50</sub> в мкг/мл на 2 сутки	CC <sub>50</sub> в мкг/мл на 4 сутки	EC <sub>50</sub> в мкг/мл против 10 <sup>3</sup> БОЕ/мл HSV-2	EC <sub>50</sub> в мкг/мл против 10 <sup>3</sup> ТЦПД <sub>50</sub> /мл SARS-CoV-2
1	<i>Inonotus obliquus</i>	плодовое тело	875.0±160.39	406.25±89.66	3.17±0.69	6.34±1.39
2	<i>Syzygium aromaticum</i>	бутоны цветков	750.0±185.20	343.75±89.65	1.59±0.70	1.09±0.24
3	<i>Camellia sinensis</i> (черный чай)	листья	1500±370.4	687.5±179.32	1.22±0.31	1.09±0.24
4	<i>Camellia sinensis</i> (зеленый чай)	листья	1125±224.99	625±160.39	3.42±0.63	1.09±0.24
5	<i>Agrimonia pilosa</i>	стебли	1750±320.77	750.0±185.20	14.65±1.91	9.76±2.50
6		трава	875.0±160.39	625±160.39	3.66±0.49	1.83±0.24
7		листья	1750±320.77	312.5±80.19	3.42±0.63	1.09±0.24
8	<i>Alchemilla vulgaris</i> *	стебли	1750±320.77	875.0±160.39	13.67±2.5	5.86±1.45
9		цветки	875.0±160.39	625±160.39	6.84±1.25	3.42±0.63
10		листья	875.0±160.39	625±160.39	4.39±0.96	1.09±0.24
11	<i>Alchemilla vul-</i>	стебли	1125±224.99	343.75±89.65	9.76±2.50	4.88±1.25
12	<i>garis</i> **	цветки	875.0±160.39	437.5±80.19	11.72±2.89	6.84±1.25
13		листья	875.0±160.39	406.25±89.66	3.42±0.63	3.42±0.63
14	<i>Sanguisorba officinalis</i>	стебли	1750±320.77	875.0±160.39	14.65±1.91	7.32±0.96
15		цветки	1125±224.99	312.5±80.19	2.44±0.63	2.44±0.63
16		листья	1500±370.4	312.5±80.19	2.19±0.48	1.09±0.24
17	<i>Sanguisorba alpina</i>	стебли	1750±320.77	875.0±160.39	187.5±46.3	46.87±11.57
18		цветки	1500±370.4	625±160.39	46.87±11.57	6.84±1.25
19		листья	1500±370.4	625±160.39	13.67±2.5	3.42±0.63
20	<i>Geum rivale</i>	стебли	1750±320.77	1500±370.4	50.78±11.2	14.65±1.91
21		цветки	1500±370.4	1125±224.99	27.34±5.01	3.42±0.63
22		листья	1500±370.4	1125±224.99	6.84±1.25	3.17±0.69

Примечание: CC<sub>50</sub> – 50%-ная цитотоксическая концентрация; EC<sub>50</sub> – 50%-ная эффективная концентрация

*Анализ инактивирующей активности экстрактов на HSV-2.* Прямая инактивация (нейтрализация) HSV-2 влияет на его способность адсорбироваться и проникать в клетки-хозяева, поэтому этот метод применяется для первичного скрининга препаратов с антивирусным действием [14, 30–33]. В наших экспериментах при прямой инактивации HSV-2 с инфекционным титром  $10^3$  БОЕ/мл выявлены показатели EC<sub>50</sub> препаратов сравнения –  $1.22\pm0.31$ ,  $1.59\pm0.70$ ,  $3.17\pm0.69$  и  $3.42\pm0.63$  мкг/мл для экстрактов черного чая, специи гвоздики, чаги и зеленого чая соответственно. Для некоторых препаратов исследуемых экстрактов частей растений *Rosoideae spp.* обнаружена довольно высокая анти-HSV-2 активность, сопоставимая с контрольными образцами, например, это экстракты листьев и цветков *S. officinalis* –  $2.19\pm0.48$  и  $2.44\pm0.63$  мкг/мл, листьев *A. vulgaris\** –  $3.42\pm0.63$  мкг/мл, листьев *A. pilosa* –  $3.42\pm0.63$  мкг/мл, травы *A. pilosa* –  $3.66\pm0.49$  мкг/мл и листьев *A. vulgaris\*\** –  $4.39\pm0.96$  мкг/мл. Также можно отметить активность экстрактов цветков *A. vulgaris\** с EC<sub>50</sub>= $6.84\pm1.25$  мкг/мл и листьев *G. rivale* с EC<sub>50</sub>= $6.84\pm1.25$  мкг/мл. Для остальных препаратов выявлена анти-HSV-2 активность в диапазоне концентраций от  $9.76\pm2.50$  мкг/мл (стебли *A. vulgaris\*\**) до  $187.5\pm46.3$  мкг/мл (стебли *S. alpina*) соответственно (табл.).

При сравнении с литературными данными эти результаты сопоставимы. Например, по мнению Cheng с соавт., диапазон показателей EC<sub>50</sub> от 8.0 до 52.0 мкг/мл против  $10^3$  БОЕ/мл HSV-2 при прямой инактивации вируса *in vitro* указывает на высокую ингибирующую активность метанольного экстракта листьев ботанического вида птерокария (*Pterocarya stenoptera* C. DC., *Juglandaceae*) [30]. Benzekri с соавт. показали, что метанольный экстракт семян гармалы обыкновенной (*Peganum harmala* L., *Nitrariaceae*) проявил активность против  $10^4$  БОЕ/мл HSV-2 с IC<sub>50</sub>, равной 13.2 мкг/мл (SI<sub>50</sub>=161.0) как во время «проникновения» вируса в чувствительные клетки, так и при «выходе» новообразованных вирионов [31]. Эти же авторы обнаружили, что метанольный экстракт смолы фисташки мастичной (*Pistacia lentiscus* L., *Anacardiaceae*), растворенный в ДМСО, был активен *in vitro* в отношении HSV-2 (при множественности инфицирования MOI = 0.1) с IC<sub>50</sub>= $3.63\pm0.58$  мкг/мл при CC<sub>50</sub>= $186.0\pm13.74$  мкг/мл и SI<sub>50</sub>=51.23 [14]. Donalisio с соавт. выявили, что метанольный экстракт коры акации нильской (*Vachellia nilotica* L., *Fabaceae*) инактивировал *in vitro* инфекционность HSV-2 (в титре  $10^5$  БОЕ/мл) при концентрации 4.71 мкг/мл (при CC<sub>50</sub>= $144.0$  мкг/мл и SI<sub>50</sub>=30.6), а к вирусному штамму, резистентному к ацикловиру, при концентрации 6.71 мкг/мл и SI<sub>50</sub>=21.5 [32]. Churqui с соавт. считают, что значения EC<sub>50</sub> от 10.0 до 18.0 мкг/мл и EC<sub>100</sub>=100 мкг/мл водно-этанольного экстракта корня и стеблей хвоща гигантского (*Equisetum giganteum* L., *Equisetaceae*) на стадии прикрепления HSV-2 (с титром  $10^2$  БОЕ/мл) и его «входа» в клетки также являются показателями мощной противовирусной активности [33]. Недавно Stamos с соавт. описали наиболее мощную анти-HSV-2 эффективность *in vitro* среди растительных препаратов – это очищенные EGCG и его стабильный аналог EGCG-стеарат, выделенные из листьев чая, в концентрации 75  $\mu$ M проявили ингибирование ЦПД HSV-2 более чем на 99.9% за счет блокирования прикрепления вирионов к клеткам-хозяевам. По результатам анализа *in silico* продемонстрировано, что EGCG-S имеет высокую аффинность связывания с гликопротеином D HSV-2 [5]. По результатам наших экспериментов, этанольный экстракт черного чая также оказался наиболее эффективным из исследованных препаратов против HSV-2 (в титре  $10^3$  БОЕ/мл) при прямой инактивации в концентрации  $1.22\pm0.31$  мкг/мл, что превосходит результаты, полученные как для других контрольных образцов – специи гвоздики (EC<sub>50</sub>= $1.59\pm0.70$  мкг/мл), чаги (EC<sub>50</sub>= $3.17\pm0.69$  мкг/мл) и зеленого чая (EC<sub>50</sub>= $3.42\pm0.63$  мкг/мл), так и для экстрактов *Rosoideae spp.* Тем не менее получены результаты, которые могут быть основой для дальнейшего изучения анти-HSV-2 активности экстрактов растений *Rosoideae spp.* и выделения из них индивидуальных веществ. Например, для этого подойдут отдельные части или целые растения *S. officinalis*, *A. pilosa*, *A. vulgaris*. По анти-HSV-2 активности интересны экстракты листьев *G. rivale* (с EC<sub>50</sub>= $6.84\pm1.25$  мкг/мл) (табл.).

*Определение индексов селективности.* Для контрольных образцов этанольных экстрактов определены следующие значения SI<sub>50</sub>: для черного чая – 1229.5 и 630.73; зеленого чая – 328.95 и 573.39; специи гвоздики – 471.69 и 315.36; экстракта чаги – 276.02 и 64.07, против SARS-CoV-2 и HSV-2, соответственно (рис. 2). Очевидно, что показатели SI<sub>50</sub> экстрактов против двух разных вирусов в основном значительно отличаются, что связано с более высокой токсичностью препаратов на 4 сутки наблюдений (для  $10^3$  ТЦПД<sub>50</sub>/мл SARS-CoV-2). Тем не менее высокие значения EC<sub>50</sub> коррелируют с более высокими показателями SI<sub>50</sub> особенно это заметно для экстрактов листьев исследованных растений *Rosoideae spp.*, например, SI<sub>50</sub>=684.93 (№16, экстракт листьев *S. officinalis*) против HSV-2 и SI<sub>50</sub>=573.39 (№10, экстракт листьев *A. vulgaris\**) против SARS-CoV-2. Для экстракта листьев *A. pilosa* показатели SI<sub>50</sub> оказались равны 511.69 и 286.7 против HSV-2 и SARS-CoV-2 соответственно. Для экстрактов цветков самые высокие показатели SI<sub>50</sub>

выявлены для *S. officinalis* (№15) – 461.06 против HSV-2 и для *Geum rivale* (№ 21) – 328.95 против SARS-CoV-2. Для некоторых экстрактов стеблей значения SI<sub>50</sub> оказались также довольно высокими, например – 119.45 (№5 и №14 – экстракты стеблей *A. pilosa* и *S. officinalis*) против HSV-2, а также 149.32 (№8, экстракт стеблей *A. vulgaris*\*) против SARS-CoV-2. На основании индексов селективности (SI<sub>50</sub>), полученных для исследованных сухих этианольных экстрактов *Rosoideae spp.* (рис. 2), можно предположить их высокий терапевтический эффект против SARS-CoV-2 и HSV-2.

При тестировании потенциальных противовирусных препаратов (химически синтезированных) значения SI<sub>50</sub>>30 считаются хорошим результатом [34]. Для растительных препаратов ввиду их невысокой цитотоксичности SI<sub>50</sub> могут быть очень высокими. Например, для сухого этианольного экстракта коры стебля эритрины аббисинской (*Erythrina abyssinica*, Fabaceae), произрастающей в Танзании, при исследовании *in vitro* против HSV-2 определен SI<sub>50</sub>>7000 при IC<sub>50</sub>=0.14 мкг/мл и механизм действия – блокирование прикрепления вируса к чувствительным клеткам и его проникновение в них путем прямого воздействия на вирусные частицы [35].

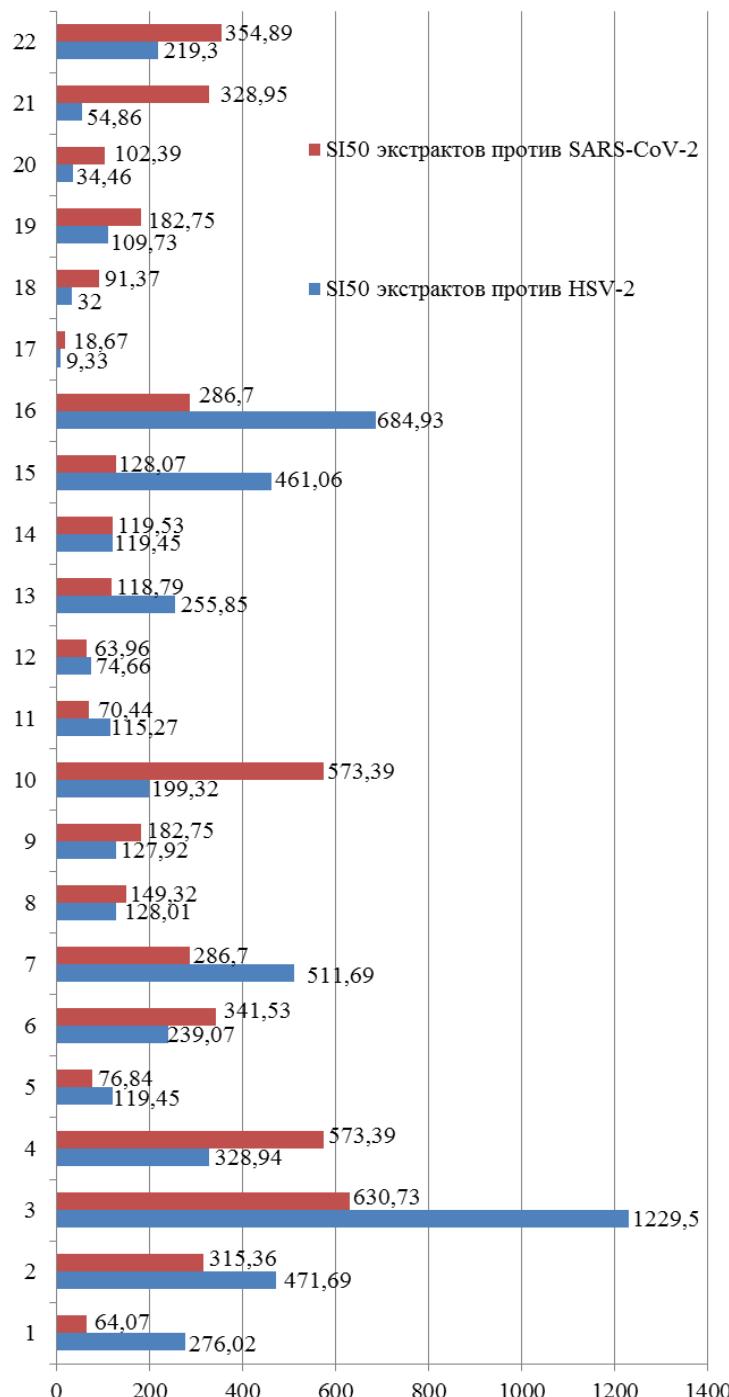


Рис. 2. Индексы селективности контрольных образцов и экстрактов *Rosoideae spp.* (номера образцов соответствует их нумерации в таблице)

*Фенольный состав сухих этанольных экстрактов A. pilosa, других Rosoideae spp. и образцов сравнения.* Согласно литературным данным [36], репешок обыкновенный является богатым источником флавоноидов, часть из которых удалось идентифицировать в настоящей работе. Анализ хроматограмм экспериментальных образцов репешка обыкновенного (рис. 1 электронного приложения) показал, что состав флавоноидов богаче в листьях, чем в траве (в смеси листьев с цветками) и в стеблях этого растения. Общим для всех экстрактов *A. pilosa* является флавоноид с временами удерживания (Tr) 18.93, 18.90 и 19.21 мин и поглощением ( $\lambda$ ) – 254/350, 254/349 и 253/352 нм, идентифицированный как цинарозид (лютеолин 7-глюкозид). Его наибольшее содержание – 0.79% оказалось в листьях. Кроме того, в экстрактах надземной части и листьев выявлен рутин с характерным поглощением 254/358 нм и временем удерживания 17.96 мин. В экстрактах травы (смеси цветков и листьев) и отдельно листьев *A. pilosa* обнаружены флавоноиды с Tr в диапазоне 21.74–25.28 мин и максимумами поглощения 267/335 нм, соответствующими производным апигенина. Самое высокое содержание (3.39%) одного из неидентифицированных производных апигенина (с Tr=24.11 мин) и рутин зафиксировано в экстракте листьев. В листьях и стеблях *A. pilosa* выявлен ряд других неидентифицированных соединений с характерным поглощением для флавоноидов – 252/343, 254/367 и 255/351 нм (табл. 1 электронного приложения).

В экстрактах манжетки обыкновенной, собранной в двух местах произрастания в горном Алтае – *A. vulgaris*\* на Семинском перевале и *A. vulgaris*\*\* в урочище Алес, содержится рутин. Содержание рутина в экстракте цветков *A. vulgaris*\* составило 2,26% (Tr=18.67 мин,  $\lambda$ =256/354 нм), 3.48% в экстракте листьев *A. vulgaris*\* (Tr=18.17 мин,  $\lambda$ =256/354 нм), 6.22% в экстракте цветков *A. vulgaris*\*\* (Tr=18.18 мин,  $\lambda$ =256/355 нм) и 1.64% в экстракте листьев *A. vulgaris*\*\* (Tr=18.24 мин,  $\lambda$ =256/355 нм). Следует заметить, что в первом образце его уровень выше в листьях, чем в цветках, тогда как в образцах из урочища Алес наблюдали максимальное содержание в цветках.

В экстрактах *A. vulgaris*\* обнаружена хлорогеновая кислота (с Tr=7.608 и 7.501 мин;  $\lambda$ =329 нм) – 2.29% в цветках и 10.07% в листьях. В экстрактах *A. vulgaris*\*\* присутствуют соединения с близкими с характеристиками Tr=7.535 и 7.395 мин, но при  $\lambda$ =276/352 и 276/331 нм, определенные как флавоны с содержанием 11.89% в цветках и 1.73% в листьях. Небольшое количество флавонов обнаружено в экстрактах *A. vulgaris*\* – в цветках 0.36% (с Tr=24.517 мин,  $\lambda$ =258/340 нм), в листьях 0.40% (с Tr=22.902 мин,  $\lambda$ =265/344 нм) и 0.11% (с Tr=25.152 мин,  $\lambda$ =256/344 нм). Во всех образцах *A. vulgaris* (как в цветках, так и листьях) выявлены неидентифицированные флавоноиды с одинаковыми или отличающимися характеристиками Tr и  $\lambda$ , причем их количество преобладает в цветках и листьях *A. vulgaris*\*\*, собранной на Семинском перевале – 10 флавоноидов (с Tr в диапазоне 14.439–28.130 мин). Кроме того, только в экстракте цветков *A. vulgaris*\*\* идентифицирован ценный в фармакологическом плане флавон виценин-2 (с Tr=9.556 мин,  $\lambda$ =274/337 нм) с высоким его содержанием – 13.43% (электронное приложение: рис. 1, табл. 2), проявляющий антиоксидантные, противовоспалительные, противоопухолевые и гепатопротекторные свойства, кроме того, антидиабетическую активность [37].

Экстракти кровохлебки вида *S. officinalis* содержат рутин (3.3% в стеблях и 6.31% в листьях). Состав флавоноидов в листьях богаче, чем в стебле (экстракт цветков не анализировали). Кверцитрин гидрат (1.27%) и кверцетин (0.08%) обнаружены только в листьях этого растения. Наряду с общими компонентами в листьях и стеблях выявлены специфические компоненты, которые пока нами не идентифицированы (электронное приложение: рис. 1, табл. 2).

Экстракти *S. alpina* также содержат рутин (13.99% в листьях, 8.86% в цветках и 0.71% в стеблях), эпикатехин (9.46% в цветках и 0.71% в стеблях), флавон с Tr=23.195 и 23.076 мин (0.52% в цветках и 0.49% в листьях). Кверцетин (0.42%) обнаружен только в цветках *S. alpina*. Количество неидентифицированных флавоноидов повышается от экстракта стеблей (два соединения), цветов (четыре соединения) до листьев (пять соединений) этого вида кровохлебки (электронное приложение: рис. 1, табл. 2).

Сравнение уровней флавоноидов в двух видах рода кровохлебки, произрастающих в одной местности (на Семинском перевале, 51°2'43"с.ш. 85°36'13" в.д.) показало, что *S. alpina* содержит значительно больше этих соединений в процентном отношении (электронное приложение: рис. 1, табл. 2).

Экстракти гравилата речного (*G. rivale*) содержат простые полифенольные соединения, наибольшее количество которых установлено в цветках и стеблях, наименьшее в листьях. Изокверцитрин идентифицирован во всех частях этого растения (0.65% в стеблях, 0.81% в цветках и 0.48 % в листьях соответственно (электронное приложение: рис. 1, табл. 2).

В этанольном экстракте специи гвоздики (*S. aromaticum*) выявлено 4 флавоноида, один из которых идентифицирован как кверцитрин гидрат, другой – предположительно, рутин или изокверцитрин (которые имеют одинаковые максимумы поглощения 255/355 нм и близкие времена удерживания). В экстракте чаги (*I. obliquus*) обнаружено фенольное соединение с характеристиками  $T_r=8.03$  мин и  $\lambda=274$  нм, свойственными галловой кислоте, содержание которой составило 0.56%. Мажорным компонентом в этанольных экстрактах черного чая (17.64%) и зеленого чая (24.14%), вероятно, является комплекс фенольных соединений с пиком по времени удерживания 51.39–52.11 мин (с  $\lambda=366/272/251$  и 366/272/250 нм). В экстракте зеленого чая обнаружены свободная галловая кислота, производное галловой кислоты, масса простых фенолов и ряд флавонов – производных апигенина и лютеолина. В экстракте черного чая также содержится галловая кислота (6.70%), причем содержание ее выше, чем в экстракте зеленого чая (3.04%). Возможно, что это общий пик галловой кислоты с кофеином, так как их характеристики очень близки – галловая кислота (7.62 мин; 272 нм), кофеин (7.80 мин; 273 нм). Катехин, катехин гидрат и эпикатехин в этанольных экстрактах черного и зеленого чая не обнаружены (рис. 2 электронного приложения).

Сравнение состава химических компонентов контрольных и экспериментальных образцов в нашем исследовании показало, что все они содержат разный набор и количественное содержание флавоноидов (полифенольных соединений). Известно, что листья чая являются источниками таких природных флавоноидов как кемпферол, кверцетин, мирицетин, а в состав флавоноидов чаги входят апигенин, рутин, кверцетин и кверцитрин, специя гвоздика содержит флавоноиды – эвгенин, кемпферол, рамнетин и эвгенитин. Полифенольные соединения чая – эпигаллокатехин (EGCG), эпигаллокатехин галлат, эпикатехин галлат обладают противовирусными свойствами как в составе водных вытяжек [15], так и в виде индивидуально выделенных соединений, например, EGCG [5]. По данным литературы, вирулицидное действие специи гвоздики на HSV-1 и HSV-2 *in vitro* связывают с фенольным соединением эвгенолом (4-аллил-1-гидрокси-2-метоксибензол) [22], потенциальная активность против SARS-CoV-2 *in silico* может быть обусловлена эллагитаннином Tellimagrandin-II [23]. Противовирусное действие водных экстрактов чаги против HSV-2 и SARS-CoV-2 объясняют наличием полисахаридов [19, 20].

## Выходы

Основываясь на полученных данных, можно предположить, что активность исследованных этанольных экстрактов репешка волосистого и других *Rosoideae spp.* (манжетки обыкновенной, кровохлебки аптечной, кровохлебки альпийской и гравилата речного) при прямой инактивации (нейтрализации) SARS-CoV-2 и HSV-2 связана с полифенольными соединениями – цинароэзидом (лютеолин 7-O-глюкозидом), хлорогеновой кислотой, рутином, кверцетином, изокверцитрином, кверцитрин гидратом, эпикатехином, виценином-2 и другими неидентифицированными флавоноидами. Представленные результаты могут стать основой для поиска индивидуальных БАВ растительного происхождения, ингибирующих «вход» этих вирусов в чувствительные клетки, а также для разработки недорогих препаратов для профилактики и/или лечения COVID-19 и снижения рецидивов хронического генитального герпеса.

## Дополнительная информация

В электронном приложении к статье (DOI: <http://www.doi.org/10.14258/jcprm.20250214806s>) приведен дополнительный экспериментальный материал, раскрывающий основные положения, изложенные в статье.

## Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта РНФ 23-64-00005 «Геномика и эволюция вирусных патогенов, вызывающих наиболее распространенные респираторные заболевания» и в рамках госзадания №122032300158-5, выполняемого в НИИ вирусологии ФИЦ ФТМ.

Результаты были получены в рамках выполнения государственного задания Минобрнауки России, проект №FSWM-2024-0009 в ТГУ.

## Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

**Список литературы**

1. Coronavirus disease (COVID-19) Epidemiological Updates and Monthly Operational Updates. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>.
2. García-Lledó A., Gómez-Pavón J., Castillo J.G.D. et al. Pharmacological treatment of COVID-19: an opinion paper // Rev. Esp. Quimioter. 2022. Vol. 35, no. 2. Pp. 115–130. <https://doi.org/10.37201/req/158.2021>.
3. Murgia F., Fiamma M., Serra S. et al. The impact of the secondary infections in ICU patients affected by COVID-19 during three different phases of the SARS-CoV-2 pandemic // Clin. Exp. Med. 2023. Vol. 23, no. 4. Pp. 1251–1263. <https://doi.org/10.1007/s10238-022-00959-1>.
4. Abdoli A., Falahi S., Kenarkoohi A. COVID-19-associated opportunistic infections: a snapshot on the current reports. // Clin. Exp. Med. 2021. Vol. 22, no. 3. Pp. 327–346. <https://doi.org/10.1007/s10238-021-00751-7>.
5. Stamos J.D., Lee L.H., Taylor C., Elias T., Adams S.D. In Vitro and In Silico Analysis of the Inhibitory Activity of EGCG-Stearate against Herpes Simplex Virus-2 // Microorganisms. 2022. Vol. 10, no. 7. 1462. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071462>.
6. Huang Y., Song Y., Li J., Lv C., Chen Z.-S., Liu Z. Receptors and ligands for herpes simplex viruses: Novel insights for drug targeting Drug // Discov. Today. 2022. Vol. 27, no. 1. Pp. 185–195. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2021.10.004>.
7. Zaynab M., Fatima M., Sharif Y. et al. Role of primary metabolites in plant defense against pathogens // Microb. Pathog. 2019. Vol. 137. 103728. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103728>.
8. Яровая О.И., Салахутдинов Н.Ф. Монотерпены и сесквитерпены в качестве стартовой платформы для создания противовирусных средств // Успехи химии. 2021. Т. 90, №4. С. 488–510. <https://doi.org/10.1070/RCR4969>.
9. Garber A., Barnard L., Pickrell C. Review of Whole Plant Extracts With Activity Against Herpes Simplex Viruses In Vitro and In Vivo // J. Evid. Based Integr. Med. 2021. Vol. 26. 2515690X20978394. <https://doi.org/10.1177/2515690X20978394>.
10. Zannella C., Giugliano R., Chianese A. et al. Antiviral Activity of Vitis vinifera Leaf Extract against SARS-CoV-2 and HSV-1 // Viruses. 2021. Vol. 13, no. 7. 1263. <https://doi.org/10.3390/v13071263>.
11. Mostafa A., Mostafa-Hedeb G., Elhady H.A., Mohamed E.A., Eledrtery A.Y., Alruwaili S.H., Al-Abd A.M., Allayeh A.K. Dual action of epigallocatechin-3-gallate in virus-induced cell Injury // J. Genet. Eng. Biotechnol. 2023. Vol. 21, no. 1. 145. <https://doi.org/10.1186/s43141-023-00624-4>.
12. Казачинская Е.И., Романова В.Д., Иванова А.В., Чепурнов А.А., Муртазалиева З.А., Кононова Ю.В., Шауло Д.Н., Романюк В.В., Шестопалов А.М. Ингибирующая активность сухих этанольных экстрактов травы (*Artemisia* spp.) на репликацию SARS-CoV-2 *in vitro* // Юг России: экология, развитие. 2022. Т. 17, №4. С. 111–129. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2022-4-111-129>.
13. Казачинская Е.И., Кононова Ю.В., Иванова А.В., Зибарева Л.Н., Чепурнов А.А., Романюк В.В., Бийболоватов А.А., Гуляева М.А., Шестопалов А.М. Способ получения водной вытяжки и сухих этанольных экстрактов травы (смесь цветков с листьями) и стебля зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.), обладающих ингибирующей активностью на репликацию коронавируса SARS-CoV-2 *in vitro* // Юг России: экология, развитие. 2023. Т. 18. №3. С. 103–117. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2023-3-103-117>.
14. Benzekri R., Limam F., Bouslama L. Combination effect of three anti-HSV-2 active plant extracts exhibiting different modes of action // Adv. Tradit. Med. 2020. Vol. 20. Pp. 223–231. <https://doi.org/10.1007/s13596-020-00430-0>.
15. Ishimoto K., Hatanaka N., Otani S., Maeda S., Xu B., Yasugi M., Moore J.E., Suzuki M., Nakagawa S., Yamasaki S. Tea crude extracts effectively inactivate severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 // Lett. Appl. Microbiol. 2022. Vol. 74, no. 1. Pp. 2–7. <https://doi.org/10.1111/lam.13591>.
16. Казачинская Е.И., Чепурнов А.А., Кононова Ю.В., Шелемба А.А., Романюк В.В., Магомедов М.Г., Шестопалов А.М. Ингибирующая активность чайных композиций и их составляющих ингредиентов на репликацию SARS-CoV-2 *in vitro* // Юг России: экология, развитие. 2022. Т. 17, №2. С. 76–90. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2022-2-76-90>.
17. Казачинская Е.И., Чепурнов А.А., Шелемба А.А., Гусейнова С.А., Магомедов М.Г., Кононова Ю.В., Романюк В.В., Шестопалов А.М. Ингибирующая активность водных экстрактов чайных композиций, индивидуальных ингредиентов для их составления и некоторых растений на репликацию вируса простого герпеса 2 типа *in vitro* // Юг России: экология, развитие. 2022. Т. 17, №3. С. 135–152. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2022-3-135-152>.
18. Kazachinskaya E.I., Chepurnov A.A., Shcherbakov D.N., Kononova Yu.V., Shanshin D.V., Romanova V.D., Khripko O.P., Saroyan T.A., Gulyaeva M.A., Voevoda M.I., Shestopalov A.M. IgG Study of Blood Sera of Patients with COVID-19 // Patogens. 2021. Vol. 10, no. 11. 1421. <https://doi.org/10.3390/patogens10111421>.
19. Теплякова Т.В., Казачинская Е.И., Рябчикова Е.И., Косогова Т.А., Таранов О.С., Омигов В.В., Локтев В.Б. Противовирусная активность водных экстрактов и некоторых препаратов из гриба чага (*Inonotus obliquus*) в отношении вируса простого герпеса 2 типа // Успехи микологии. 2012. Т. 3. С. 418–419.
20. Teplyakova T.V., Pyankov O.V., Safatov A.S., Ovchinnikova A.S., Kosogova T.A., Skarnovich M.O., Filippova E.I., Poteshkina A.L. Water Extract of the Chaga Medicinal Mushroom, *Inonotus obliquus* (Agaricomycetes), Inhibits SARS-CoV-2 Replication in Vero E6 and Vero Cell Culture Experiments // Int. J. Med. Mushrooms. 2022. Vol. 24, no. 2. Pp. 23–30. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2021042012>.

21. Шиповалов А.В., Кудров Г.А., Карташов М.Ю., Драчкова И.А., Пьянков О.В., Омигов В.В., Таранов О.С., Теплякова Т.В. Противовирусная активность водного экстракта базидиального гриба *Inonotus obliquus* в отношении вируса SARS-CoV-2 (Coronaviridae: Betacoronavirus: Sarbecovirus) в экспериментах *in vivo* на мышах линии Balb/c // Вопросы вирусологии. 2023. Т. 68, №2. С. 152–160. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-168>.
22. Benencia F., Courrèges M.C. In vitro and *in vivo* activity of eugenol on human herpesvirus // Phytother Res. 2000. Vol. 14, no. 7. Pp. 495–500. [https://doi.org/10.1002/1099-1573\(200011\)14:7<495::aid-ptr650>3.0.co;2-8](https://doi.org/10.1002/1099-1573(200011)14:7<495::aid-ptr650>3.0.co;2-8).
23. Umashankar V., Deshpande S.H., Hegde H.V., Singh I., Chattopadhyay D. Phytochemical Moieties From Indian Traditional Medicine for Targeting Dual Hotspots on SARS-CoV-2 Spike Protein: An Integrative *in-silico* Approach // Front Med. 2021. Vol. 8. 672629. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.672629>.
24. Bělonožníková K., Sladkovská E., Kavan D., Hýsková V., Hodek P., Šmíd D., Ryšlavá H. Effect of *Agrimonia eupatoria* L. and *Origanum vulgare* L. Leaf, Flower, Stem, and Root Extracts on the Survival of *Pseudomonas aeruginosa* // Molecules. 2023. Vol. 28, no. 3. 1019. <https://doi.org/10.3390/molecules28031019>.
25. Mohamed F.F., Anhlan D., Schöfbänker M., Schreiber A., Classen N., Hensel A., Hempel G., Scholz W., Kühn J., Hrincius E.R., Ludwig S. *Hypericum perforatum* and Its Ingredients Hypericin and Pseudohypericin Demonstrate an Antiviral Activity against SARS-CoV-2 // Pharmaceuticals. 2022. Vol. 15, no. 5. 530. <https://doi.org/10.3390/ph15050530>.
26. Liu H., Ye F., Sun Q., Liang H., Li C., Li S., Lu R., Huang B., Tan W., Lai L. *Scutellaria baicalensis* extract and baicalein inhibit replication of SARS-CoV-2 and its 3C-like protease *in vitro* CoV-2 // J. Enzyme Inhib. Med. Chem. 2021. Vol. 36, no. 1. Pp. 497–503. <https://doi.org/10.1080/14756366.2021.1873977>.
27. Kanjanasirirat P., Suksatu A., Manopwisedjaroen S. et al. High-content screening of Thai medicinal plants reveals Boesenbergia rotunda extract and its component Panduratin A as anti-SARS-CoV-2 agents // Sci. Rep. 2020. Vol. 10, no. 1. 19963. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77003-3>.
28. Xie P., Fang Y., Shen Z., Shao Y., Ma Q., Yang Z., Zhao J., Li H., Li R., Dong S., Wen W., Xia X. Broad antiviral and anti-inflammatory activity of Qingwenjiere mixture against SARS-CoV-2 and other human coronavirus infections // Phytomedicine. 2021, no. 93. 153808. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153808>.
29. Nie C., Trimpert J., Moon S., Haag R., Gilmore K., Kaufer B.B., Seeberger P.H. In vitro efficacy of Artemisia extracts against SARS-CoV-2 // Virol. J. 2021. Vol. 18, no. 1. 182. <https://doi.org/10.1186/s12985-021-01651-8>.
30. Cheng H.-Y., Lin T.-C., Yang C.-M., Wang K.-C., Lin C.-C. Mechanism of action of the suppression of herpes simplex virus type 2 replication by pterocarin A // Microbes Infect. 2004, no. 6. Pp. 738–744. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2004.03.009>.
31. Benzekri R., Bouslama L., Papetti A., Hammami M., Smaoui A., Limam F. Anti HSV-2 activity of *Peganum harmala* (L.) and isolation of the active compound // Microb. Pathog. 2018, no. 114. Pp. 291–298. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.12.017>.
32. Churqui M.P., Lind L., Thörn K., Svensson A., Savolainen O., Aranda K.T., Eriksson K. Extracts of *Equisetum giganteum* L. and *Copaifera reticulata* Ducke show strong antiviral activity against the sexually transmitted pathogen herpes simplex virus type 2 // J. Ethnopharmacol. 2018. Vol. 210. Pp. 192–197. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.08.010>.
33. Donalisio M., Cagno V., Civra A., Gibellini D., Musumeci G., Rittà M., Ghosh M., Lembo D. The traditional use of *Vachellia nilotica* for sexually transmitted diseases is substantiated by the antiviral activity of its bark extract against sexually transmitted viruses // J. Ethnopharmacol. 2018. Vol. 213. Pp. 403–408. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.11.039>.
34. Bugert J.J., Hucke F., Zanetta P., Bassetto M., Brancale A. Antivirals in medical biodefense // Virus Genes. 2020. Vol. 56, no. 2. Pp. 150–167. <https://doi.org/10.1007/s11262-020-01737-5>.
35. Mollel J.T., Said J.S., Masalu R.J., Hannoun C., Mbunde M.V.N., Nondo R.S.O., Bergström T., Trybala E. Anti-respiratory syncytial virus and anti-herpes simplex virus activity of six Tanzanian medicinal plants with extended studies of *Erythrina abyssinica* stem bark // J. Ethnopharmacol. 2022. Vol. 292. 115204. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115204>.
36. Шалдаева Т.М., Костикова В.А., Высоцина Г.И. Фенольные соединения *Agrimonia pilosa* Ledeb. в зависимости от фазы развития растений // Химия растительного сырья. 2021. №1. С. 151–158. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2021016628>.
37. Islam M.N., Ishita I.J., Jung H.A., Choi J.S. Vicenin 2 isolated from *Artemisia capillaris* exhibited potent anti-glycation properties // Food and Chemical Toxicology. 2014. Vol. 69. Pp. 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.03.042>.

Поступила в редакцию 8 февраля 2024 г.

После переработки 21 мая 2024 г.

Принята к публикации 15 ноября 2024 г.

*Kazachinskaya Ye.I.<sup>1,2\*</sup>, Zibareva L.N.<sup>3</sup>, Chepurnov A.A.<sup>1</sup>, Ivanova A.V.<sup>2</sup>, Kononova Yu.V.<sup>1</sup>, Shaulo D.N.<sup>4</sup>, Romanyuk V.V.<sup>5</sup>, Shestopalov A.M.<sup>1</sup> THE EFFECTIVENESS OF DRY ETHANOL EXTRACTS OF *AGRIMONIA PILOSA* LEDEB. AND SOME OTHER PLANTS OF THE *ROSOIDEAE* SUBFAMILY OF THE *ROSACEAE* FAMILY FOR INACTIVATION OF SARS-COV-2 AND HERPES SIMPLEX VIRUS 2 TYPE*

<sup>1</sup> Research Institute of Virology, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Timakova st., 2, Novosibirsk, 630117, Russia, lena.kazachinskaia@mail.ru

<sup>2</sup> State Research Center of Virology and Biotechnology Vector, Koltsovo, Novosibirsk, 630559, Russia

<sup>3</sup> National Research Tomsk State University, Lenina av., 36, Tomsk, 634050, Russia

<sup>4</sup> Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Zolotodolinskaya st., 101, Novosibirsk, 630090, Russia

<sup>5</sup> Research and Production Company Zolotaya Dolina, Zolotodolinskaya st., 101, Novosibirsk, 630090, Russia

Such representatives of the Rosoideae subfamily of the Rosaceae family *Agrimonia pilosa* Ledeb., *Alchemilla vulgaris* L., *Sanguisorba officinalis* L., *Sanguisorba alpina* Bunge and *Geum rivale* L. in nature Russian Federation are widespread. The antiviral activity and phenolic composition of dry ethanol extracts of individual parts (leaves, flowers and stems) these plants have been studied. The extracts were dissolved in DMSO and in the reaction of direct inactivation (neutralization) of virus *in vitro* their activity against two pathogens the SARS-CoV-2 and HSV-2 in the range of 50% effective concentrations of  $1.09 \pm 0.24$  –  $50.78 \pm 11.2$   $\mu\text{g}/\text{ml}$  was revealed. It has been shown that the extracts exhibit low cytotoxicity which affects the values of the selectivity indices. Flavonoid cynaroside (0.79%) have been identified in the leaves of *A. pilosa*. In extracts of other Rosoideae spp. chemical compounds such as chlorogenic acid, rutin, quercetin, isoquercitrin, quercitrin hydrate, epicatechin, vicenin-2 and several unidentified flavonoids have been identified. Based on the data obtained, it can be assumed that the activity of the studied ethanol extracts of Rosoideae spp. during direct inactivation (neutralization), SARS-CoV-2 and HSV-2 are associated with polyphenolic compounds. The results obtained can become the basis for the search for individual plant-based biologically active substances that inhibit the "entry" of these viruses into a sensitive cell, as well as for the development of inexpensive drugs for the prevention and/or treatment of COVID-19 and to reduce the recurrence of chronic genital herpes.

**Keywords:** dry ethanol extracts of leaves, flowers and stems of Rosoideae spp. plants, phenolic composition, antiviral activity.

**For citing:** Kazachinskaya Ye.I., Zibareva L.N., Chepurnov A.A., Ivanova A.V., Kononova Yu.V., Shaulo D.N., Romanyuk V.V., Shestopalov A.M. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2025, no. 2, pp. 286–299. (in Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250214782>.

## References

1. *Coronavirus disease (COVID-19) Epidemiological Updates and Monthly Operational Updates*. URL: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>.
2. García-Lledó A., Gómez-Pavón J., Castillo J.G.D. et al. *Rev. Esp. Quimioter.*, 2022, vol. 35, no. 2, pp. 115–130. <https://doi.org/10.37201/req/158.2021>.
3. Murgia F., Fiamma M., Serra S. et al. *Clin. Exp. Med.*, 2023, vol. 23, no. 4, pp. 1251–1263. <https://doi.org/10.1007/s10238-022-00959-1>.
4. Abdoli A., Falahi S., Kenarkoohi A. *Clin. Exp. Med.*, 2021, vol. 22, no. 3, pp. 327–346. <https://doi.org/10.1007/s10238-021-00751-7>.
5. Stamos J.D., Lee L.H., Taylor C., Elias T., Adams S.D. *Microorganisms*, 2022, vol. 10, no. 7, 1462. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071462>.
6. Huang Y., Song Y., Li J., Lv C., Chen Z.-S., Liu Z. *Discov. Today.*, 2022, vol. 27, no. 1, pp. 185–195. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2021.10.004>.
7. Zaynab M., Fatima M., Sharif Y. et al. *Microb. Pathog.*, 2019, vol. 137, 103728. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103728>.
8. Yarovaya O.I., Salakhutdinov N.F. *Uspekhi khimii*, 2021, vol. 90, no. 4, pp. 488–510. <https://doi.org/10.1070/RCR4969>. (in Russ.).
9. Garber A., Barnard L., Pickrell C. *J. Evid. Based Integr. Med.*, 2021, vol. 26, 2515690X20978394. <https://doi.org/10.1177/2515690X20978394>.
10. Zannella C., Giugliano R., Chianese A. et al. *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 7, 1263. <https://doi.org/10.3390/v13071263>.
11. Mostafa A., Mostafa-Hedeab G., Elhady H.A., Mohamed E.A., Eleddery A.Y., Alruwaili S.H., Al-Abd A.M., Allayeh A.K. *J. Genet. Eng. Biotechnol.*, 2023, vol. 21, no. 1, 145. <https://doi.org/10.1186/s43141-023-00624-4>.
12. Kazachinskaya Ye.I., Romanova V.D., Ivanova A.V., Chepurnov A.A., Murtazaliyeva Z.A., Kononova Yu.V., Shaulo D.N., Romanyuk V.V., Shestopalov A.M. *Yug Rossii: ekologiya, razvitiye*, 2022, vol. 17, no. 4, pp. 111–129. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2022-4-111-129>. (in Russ.).
13. Kazachinskaya Ye.I., Kononova Yu.V., Ivanova A.V., Zibareva L.N., Chepurnov A.A., Romanyuk V.V., Biybola-tov A.A., Gulyayeva M.A., Shestopalov A.M. *Yug Rossii: ekologiya, razvitiye*, 2023, vol. 18, no. 3, pp. 103–117. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2023-3-103-117>. (in Russ.).
14. Benzekri R., Limam F., Bouslama L. *Adv. Tradit. Med.*, 2020, vol. 20, pp. 223–231. <https://doi.org/10.1007/s13596-020-00430-0>.

\* Corresponding author.

15. Ishimoto K., Hatanaka N., Otani S., Maeda S., Xu B., Yasugi M., Moore J.E., Suzuki M., Nakagawa S., Yamasaki S. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2022, vol. 74, no. 1, pp. 2–7. <https://doi.org/10.1111/lam.13591>.
16. Kazachinskaya Ye.I., Chepurnov A.A., Kononova Yu.V., Shelemba A.A., Romanyuk V.V., Magomedov M.G., Shestopalov A.M. *Yug Rossii: ekologiya, razvitiye*, 2022, vol. 17, no. 2, pp. 76–90. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2022-2-76-90>. (in Russ.).
17. Kazachinskaya Ye.I., Chepurnov A.A., Shelemba A.A., Guseynova S.A., Magomedov M.G., Kononova Yu.V., Romanyuk V.V., Shestopalov A.M. *Yug Rossii: ekologiya, razvitiye*, 2022, vol. 17, no. 3, pp. 135–152. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2022-3-135-152>. (in Russ.).
18. Kazachinskaia E.I., Chepurnov A.A., Shcherbakov D.N., Kononova Yu.V., Shanshin D.V., Romanova V.D., Khripko O.P., Saroyan T.A., Gulyaeva M.A., Voevoda M.I., Shestopalov A.M. *Patogens*, 2021, vol. 10, no. 11, 1421. <https://doi.org/10.3390/patogens10111421>.
19. Teplyakova T.V., Kazachinskaya Ye.I., Ryabchikova Ye.I., Kosogova T.A., Taranov O.S., Omigov V.V., Loktev V.B. *Uspekhi mikrologii*, 2012, vol. 3, pp. 418–419. (in Russ.).
20. Teplyakova T.V., Pyankov O.V., Safarov A.S., Ovchinnikova A.S., Kosogova T.A., Skarnovich M.O., Filippova E.I., Poteshkina A.L. *Int. J. Med. Mushrooms*, 2022, vol. 24, no. 2, pp. 23–30. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2021042012>.
21. Shipovalov A.V., Kudrov G.A., Kartashov M.Yu., Drachkova I.A., P'yankov O.V., Omigov V.V., Taranov O.S., Teplyakova T.V. *Voprosy virusologii*, 2023, vol. 68, no. 2, pp. 152–160. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-168>. (in Russ.).
22. Benencia F., Courrèges M.C. *Phytother Res.*, 2000, vol. 14, no. 7, pp. 495–500. [https://doi.org/10.1002/1099-1573\(200011\)14:7<495::aid-ptr650>3.0.co;2-8](https://doi.org/10.1002/1099-1573(200011)14:7<495::aid-ptr650>3.0.co;2-8).
23. Umashankar V., Deshpande S.H., Hegde H.V., Singh I., Chattopadhyay D. *Front Med.*, 2021, vol. 8, 672629. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.672629>.
24. Bělonožníková K., Sladkovská E., Kavan D., Hýsková V., Hodek P., Šmíd D., Ryšlavá H. *Molecules*, 2023, vol. 28, no. 3. 1019. <https://doi.org/10.3390/molecules28031019>.
25. Mohamed F.F., Anhlan D., Schöfbänker M., Schreiber A., Classen N., Hensel A., Hempel G., Scholz W., Kühn J., Hrincius E.R., Ludwig S. *Pharmaceuticals*, 2022, vol. 15, no. 5, 530. <https://doi.org/10.3390/ph15050530>.
26. Liu H., Ye F., Sun Q., Liang H., Li C., Li S., Lu R., Huang B., Tan W., Lai L. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 2021, vol. 36, no. 1, pp. 497–503. <https://doi.org/10.1080/14756366.2021.1873977>.
27. Kanjanasirirat P., Suksatu A., Manopwisedjaroen S. et al. *Sci. Rep.*, 2020, vol. 10, no. 1, 19963. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77003-3>.
28. Xie P., Fang Y., Shen Z., Shao Y., Ma Q., Yang Z., Zhao J., Li H., Li R., Dong S., Wen W., Xia X. *Phytomedicine*, 2021, no. 93, 153808. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153808>.
29. Nie C., Trimpert J., Moon S., Haag R., Gilmore K., Kaufer B.B., Seeberger P.H. *Virol. J.*, 2021, vol. 18, no. 1, 182. <https://doi.org/10.1186/s12985-021-01651-8>.
30. Cheng H.-Y., Lin T.-C., Yang C.-M., Wang K.-C., Lin C.-C. *Microbes Infect.*, 2004, no. 6, pp. 738–744. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2004.03.009>.
31. Benzekri R., Bouslama L., Papetti A., Hammami M., Smaoui A., Limam F. *Microb. Pathog.*, 2018, no. 114, pp. 291–298. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.12.017>.
32. Churqui M.P., Lind L., Thörn K., Svensson A., Savolainen O., Aranda K.T., Eriksson K. *J. Ethnopharmacol.*, 2018, vol. 210, pp. 192–197. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.08.010>.
33. Donalisio M., Cagno V., Civra A., Gibellini D., Musumeci G., Rittà M., Ghosh M., Lembo D. *J. Ethnopharmacol.*, 2018, vol. 213, pp. 403–408. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.11.039>.
34. Bugert J.J., Hücke F., Zanetta P., Bassetto M., Brancale A. *Virus Genes*, 2020, vol. 56, no. 2, pp. 150–167. <https://doi.org/10.1007/s11262-020-01737-5>.
35. Molle J.T., Said J.S., Masalu R.J., Hannoun C., Mbunde M.V.N., Nondo R.S.O., Bergström T., Trybala E. *J. Ethnopharmacol.*, 2022, vol. 292, 115204. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115204>.
36. Shaldayeva T.M., Kostikova V.A., Vysochina G.I. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2021, no. 1, pp. 151–158. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2021016628>. (in Russ.).
37. Islam M.N., Ishita I.J., Jung H.A., Choi J.S. *Food and Chemical Toxicology*, 2014, vol. 69, pp. 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.03.042>.

*Received February 8, 2024**Revised May 21, 2024**Accepted November 15, 2024*

**Сведения об авторах**

*Казачинская Елена Ивановна* – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, lena.kazachinskaia@mail.ru, alenakaz@vector.nsc.ru

*Зибарева Лариса Николаевна* – доктор химических наук, старший научный сотрудник, заведующая лабораторией фитохимии, zibareva.lara@yandex.ru

*Чепурнов Александр Алексеевич* – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией особо опасных инфекций, alexa.che.purnov@gmail.com

*Иванова Алла Владимировна* – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Ivanova\_AV@vector.nsc.ru

*Кононова Юлия Владимировна* – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, yuliakononova07@yandex.ru

*Шауло Дмитрий Николаевич* – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией Гербарий, dshaulo@yandex.ru

*Романюк Владимир Владимирович* – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией, romanuyk.vladimir@aurivallis.com

*Шестопалов Александр Михайлович* – доктор биологических наук, профессор, директор, shestopalov2@mail.ru

**Information about authors**

*Kazachinskaya Elena Ivanovna* – Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher, lena.kazachinskaia@mail.ru, alenakaz@vector.nsc.ru

*Zibareva Larisa Nikolaevna* – Doctor of Chemical Sciences, Senior Researcher, Head of the Phytochemistry Laboratory, zibareva.lara@yandex.ru

*Chepurnov Alexander Alekseevich* – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Particularly Dangerous Infections, alexa.che.purnov@gmail.com

*Ivanova Alla Vladimirovna* – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Ivanova\_AV@vector.nsc.ru

*Kononova Yulia Vladimirovna* – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, yuliakononova07@yandex.ru

*Shaulo Dmitry Nikolaevich* – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher, Head of the Herbarium Laboratory, dshaulo@yandex.ru

*Romanuk Vladimir Vladimirovich* – Candidate of Biological Sciences, sciences, head of the laboratory, romanuyk.vladimir@aurivallis.com

*Shestopalov Alexander Mikhaylovich* – Doctor of Biological Sciences, Professor, Director, shestopalov2@mail.ru