

Оригинальная статья / Original article

УДК 578.7

DOI: 10.18470/1992-1098-2022-3-135-152

Ингибирующая активность водных экстрактов чайных композиций, индивидуальных ингредиентов для их составления и некоторых растений на репликацию вируса простого герпеса 2 типа *in vitro*

Елена И. Казачинская¹, Александр А. Чепурнов¹, Арсения А. Шелемба¹,
Сакинат А. Гусейнова², Магомед Г. Магомедов³, Юлия В. Кононова¹,
Владимир В. Романюк⁴, Александр М. Шестопалов¹

¹Научно-исследовательский институт вирусологии Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины» Сибирского отделения Российской Академии наук (ФИЦ ФТМ СО РАН), Новосибирск, Россия

²Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

³Дагестанский государственный медицинский университет, Махачкала, Россия

⁴Научно-производственная фирма (НПФ) «Золотая долина», Новосибирск, Россия

Контактное лицо

Елена И. Казачинская, доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник ФИЦ ФТМ СО РАН;
630559 Россия, г. Новосибирск, р/п Кольцово 32-1.
Тел. +79095307441

Email lena.kazachinskaja@mail.ru

ORCID <https://orcid.org/0000-0002-1856-6147>

Формат цитирования

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, N 3. С. 135-152. DOI:
10.18470/1992-1098-2022-3-135-152

Получена 27 июня 2022 г.

Прошла рецензирование 1 августа 2022 г.

Принята 15 августа 2022 г.

Список сокращений

HSV-2 – Herpes simplex virus type 2; HSVs – Herpes
Simplex Viruses; COVID-19 – coronavirus disease,
2019; SARS-CoV-2 – severe acute respiratory
syndrome coronavirus 2; CMV – Cytomegalovirus;
VZV – Herpes Zoster virus (Varicella Zoster virus);
HIV – Human Immunodeficiency Virus;
ЦПД – цитопатическое действие;
БОЕ – бляшкообразующая единица;
ТЦПД₅₀/мл – тканевая цитопатическая доза;
CC₅₀ – 50%-ная цитотоксическая концентрация (50%
cytotoxic concentration), EC₅₀ – 50%-ная эффективная
концентрация (50% effective concentration);
EC₁₀₀ – 100%-ная эффективная концентрация.

Резюме

Цель. Анализ *in vitro* ингибирующей активности водных экстрактов готовых чайных композиций, растительного сырья, а также растений из разных семейств на репликацию вируса простого герпеса 2 типа (HSV-2).

Материал и методы. Вирусный штамм MS HSV-2 был пассирован на культуре клеток Vero. Противовирусную (ингибирующую) активность водных экстрактов исследовали *in vitro* по классической схеме нейтрализации (инактивации) вируса.

Результаты. При сравнении с контрольными образцами водных экстрактов чаги и травы манжетки обыкновенной с 50%-ми эффективными концентрациями, равными 21,36±3,92 и 39,67±8,75 мкг/мл (по сухому сырью) против 10³ БОЕ/мл HSV-2, превосходящая ингибирующая активность (от 15,25±3,92 до 1,71±0,54 мкг/мл) выявлена для экстрактов чайных композиций на основе черного и зеленого чая, а также индивидуальных ингредиентов для их составления – черного чая, листьев мяты перечной, цветов лаванды узколистной и специи гвоздики. Из экстрактов, полученных из растений, не входящих в состав готовых чайных композиций, интерес представляют ферментированные листья кипрея узколистного (*Epilobium angustifolium* L., *Onagraceae*) и трава молочая двух видов *Euphorbia pilosa* L. и *E. esula* L. (*Euphorbiaceae*) с ингибирующей активностью в концентрациях 10,675±1,96; 2,29±0,57 и 1,71±0,54 мкг/мл, соответственно.

Заключение. Представленные результаты могут стать основой для поиска индивидуальных биологически активных веществ растительного происхождения, ингибирующих репликацию HSV-2, а также для разработки эффективных лекарственных препаратов в виде чайных напитков и/или составов для местного применения для снижения рецидивов хронического герпеса.

Ключевые слова

Чайные композиции, растительное сырье, водные экстракты, антивирусная активность, вирус простого герпеса 2 типа (Herpes simplex virus type 2, HSV-2).

Inhibitory activity of aqueous extracts of tea compositions, individual ingredients for their preparation and some plants against replication of *Herpes simplex virus type 2 in vitro*

Elena I. Kazachinskaia¹, Alexander A. Chepurnov¹, Arseniya A. Shelemba¹,
Sakinat A. Guseinova², Magomed G. Magomedov³, Yulia V. Kononova¹,
Vladimir V. Romanyuk⁴ and Alexander M. Shestopalov¹

¹Research Institute of Virology, Federal Research Centre of Fundamental and Translational Medicine, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

²Dagestan State University, Makhachkala, Russia

³Dagestan State Medical University, Makhachkala, Russia

⁴Zolotaya Dolina Research and Production Company, Novosibirsk, Russia

Principal contact

Elena I. Kazachinskaia, Doctor of Biology, Leading Researcher of the Research Institute of Virology, Federal Research Centre of Fundamental and Translational Medicine, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences; r/p Koltsovo 32-1, Novosibirsk, Russia 630559.

Tel. +79095307441

Email lena.kazachinskaia@mail.ru

ORCID <https://orcid.org/0000-0002-1856-6147>

How to cite this article

Kazachinskaia E.I., Chepurnov A.A., Shelemba A.A., Guseinova S.A., Magomedov M.G., Kononova Yu.V., Romanyuk V.V., Shestopalov A.M. Inhibitory activity of aqueous extracts of tea compositions, individual ingredients for their preparation and some plants against replication of *Herpes simplex virus type 2 in vitro*. *South of Russia: ecology, development*. 2022, vol. 17, no. 3, pp. 135-152. (In Russian) DOI: 10.18470/1992-1098-2022-3-135-152

Received 27 June 2022

Revised 1 August 2022

Accepted 15 August 2022

Abbreviations list

HSV-2 – Herpes simplex virus type 2; HSVs – Herpes Simplex Viruses; COVID-19 – coronavirus disease, 2019; SARS-CoV-2 – severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; CMV – Cytomegalovirus; VZV – Herpes Zoster virus (Varicella Zoster virus); HIV – Human Immunodeficiency Virus; CE – cytopathic effect; PFU – plaque - forming units; TCPD₅₀/ml – 50% tissue cytopathic doses; CC₅₀ – % cytotoxic concentration, EC₅₀ – 50% effective concentration; EC₁₀₀ – 100% effective concentration.

Abstract

Aim. *In vitro* analysis of the inhibitory activity of aqueous extracts of tea compositions, plant raw materials and as well as plants from different families against replication of Herpes simplex virus type 2.

Material and Methods. The viral strain MS of HSV-2 was passivated on Vero cell culture. Antiviral (inhibitory) activity of aqueous extracts was studied *in vitro* according to the classical scheme of neutralization (inactivation) of the virus.

Results. For comparison we used control samples of aqueous extracts of Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) and grass of *Alchemilla vulgaris* L. with EC₅₀ equal to 21.36±3.92 and 39.67±8.75 µg/ml (for dry raw materials) versus 10³ PFU/ml HSV-2. As a result the prevailing activity (from 15.25±3.92 to 1.71±0.54 µg/ml) was identified for extracts of tea compositions based on black and green tea, as well as individual ingredients for their composition – black tea, leaves of *Mentha piperita* L., flowers of *Lavandula angustifolia* Mill. and clove spices (*Syzygium aromaticum* L.). Extracts obtained from plants that are not part of tea compositions of interest are fermented leaves of *Epilobium angustifolium* L. (*Onagraceae*) and grass of two species *Euphorbia* (*E. pilosa* L. and *E. esula* L., *Euphorbiaceae*) with inhibitory activity at concentrations of 10.675±1.96; 2.29±0.57 and 1.71±0.54 µg/ml, respectively.

Conclusion. The results presented can become the basis for the search for individual biologically active substances of plant origin that inhibit HSV-2 replication as well as for the development of effective medicines in the form of tea beverages and/or formulations for topical use to reduce relapses of chronic herpes.

Key Words

Tea compositions, raw materials of herbs, aqueous extracts, antiviral activity, Herpes simplex virus type 2, HSV-2.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время на фоне продолжающейся борьбы с COVID-19 и глобальным распространением новых генетических вариантов SARS-CoV-2 [1] появились данные о том, что иммуносупрессивная терапия с использованием кортикостероидов и блокаторов цитокинов для контроля синдрома «цитокинового шторма» в тяжелых случаях коронавирусной болезни повышает риск проявления оппортунистических инфекций, вызванных такими микроорганизмами как высшие аэробные плесневые грибы рода *Aspergillus* spp., дрожжеподобные грибы родов *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans* и *Pneumocystis jirovecii* (carinii), круглые черви рода *Strongyloides stercoralis*, туберкулезные микобактерии *Mycobacterium tuberculosis*, внутриклеточный паразитический одноклеточный эукариот *Toxoplasma gondii*, а также герпесвирусы (HSV) разных видов, например, Цитомегаловирус (CMV) и Herpes Simplex Virus (HSV) [2; 3]. У переболевших COVID-19 отмечается увеличение числа диагнозов опоясывающего лишая, вызываемого герпесвирусом вида *Varicella Zoster* (VZV) [4]. Активация человеческого герпеса 6 типа (Human Herpes 6, HHV-6) способствует усугублению иммунодефицитных состояний у переболевших COVID-19 и проявлению розового отрубевидного лишая (*Pityriasis rosea*), вызываемого дрожжеподобным грибом *Malassezia furfur* [5]. Seeßle с соавт. обнаружили высокую частоту реактивации HSV-1 (83,3%, 15 из 18 случаев) у пациентов COVID-19, подключенных к аппарату искусственной вентиляции легких [6]. Описан герпесный энцефалит при активации HSV-1 с подозрением на предшествующую инфекцию COVID-19 [7] и ко-инфекция HSV-2 с HIV на фоне коронавирусной болезни [8]. Кроме того, Al-Dwairi с соавт. сообщили о клиническом случае герпетического кератита, который произошел через 2 дня после вакцинации мРНК SARS-CoV [9].

Вирусы простого герпеса (HSV) эволюционировали совместно с человеком в течение многих тысяч лет и имеют высокую распространенность среди населения во всем мире [10]. HSV-1, HSV-2 и VZV относятся к роду *Simplexviruses* (подсемейства *Alphaherpesvirinae*) семейства *Herpesviridae* и имеют односегментный линейный ДНК-геном с низкой частотой мутаций [11]. Инфицирование людей HSV-1 (с лабиальной формой инфекции) во всем мире составляет 67%, в то время как HSV-2 (с генитальной формой инфекции) встречается реже – этим вирусом заражено ~11% населения мира с самой высокой распространенностью в Африке [12]. Тем не менее, HSV-2 вызывает одну из наиболее распространенных инфекций, передающихся половым путем. По данным ВОЗ, во всем мире почти 492 миллиона человек в возрасте 15–49 лет хронически инфицированы HSV-2 [13]. HSV-2 вызывает рецидивирующие болезненные поражения гениталий, что часто связано с негативными психосоциальными последствиями, такими как стыд, тревога и депрессия [14]. Женщины в два раза чаще заражаются HSV-2 [15] и инфекция может передаваться при родах от матери к младенцу с тяжелыми последствиями для него [16]. HSV-2 в значительной степени связан с повышенным риском приобретения и передачи ВИЧ (HIV). По оценкам, в 2009–2018 гг. во всем мире 5,6 (4,5–7,0) миллиона случаев гетеросексуальной ВИЧ-инфекции были обусловлены рецидивами HSV-2 [17]. Есть предположение, что HSV-2

является кофактором высокого риска развития инвазивной карциномы шейки матки при сопутствующем заражении вирусом папилломы человека (Human papillomavirus, HPV) [18]. Несмотря на успех в разработке вакцин для профилактики ветряной оспы (у детей) и снижения риска проявления, опоясывающего лишая (у взрослых), вызываемых одним и тем же этиологическим агентом – Herpes Zoster virus (VZV), на сегодняшний день не существует эффективной вакцины против HSV-1 или HSV-2 [19]. Многочисленные наружные гликопротеины вирусных частиц способствуют уклонению HSV-1 и HSV-2 от факторов иммунного ответа [10]. Эти патогены устанавливают пожизненную латентную инфекцию в тройничных или пояснично-крестцовых ганглиях, которая может быть реактивирована при определенных физиологических и психологических стрессах, усталости, ультрафиолетовом облучении, физических травмах, аномальном уровне гормонов, иммуносупрессии, менструации, лихорадке и инфекциях верхних дыхательных путей, вызванных другими патогенами. Не существует средств для полной элиминации HSV-1 и HSV-2 из организма. Известные противовирусные препараты (ацикловир и родственные ему синтетические нуклеозидные аналоги, а также ингибиторы ДНК-полимеразы) обычно используются для предотвращения, сокращения или уменьшения тяжести реактивации латентных герпесвирусов [20]. В последнее время сообщается о некоторых ограничениях использования этих препаратов, в основном, связанных как с их долгосрочной токсичностью, так и вирусной резистентностью [20; 21].

На основании научных данных известно, что растительные препараты могут быть эффективными средствами лечения, поскольку содержащиеся в них компоненты действуют через различные механизмы, подавляя экспрессию вирусных генов на поздней стадии вирусной инфекции или ингибируя кальцевые каналы, что потенциально усложняет развитие резистентности патогенов [22]. Например, противовирусная активность флавоноидов (растительных полифенолов) изучается с 1990-х гг., после получения Mucisc соавт. результатов на клеточной культуре (*in vitro*) по синергическому эффекту на подавление репликации HSV-1 и HSV-2 ацикловира с такими веществами как кверцетин, кверцитрин (кверцетин-3-L-рамнозид) и апигенин [23], выделяемыми из различных видов растений. Биологически активные полифенольные соединения (катехины и теафлавины) в изобилии содержатся в сырье зеленого и черного чая [24], а также и других растениях [25].

Исследование противовирусных свойств природных веществ, получаемых при употреблении чая, может также стать прогрессом в поиске эффективных средств альтернативного лечения при HSV-2. В нескольких исследованиях было показано, что сложный эфир эпигаллокатехина и галловой кислоты – эпигаллокатехин-3-галлат (Epigallocatechin-3-Gallate, EGCG), который является основным и наиболее биологически активным полифенолом, содержащимся в экстрактах чая, обладает противовоспалительными свойствами и защитным действием против повреждения нейронов [26]. Кроме того, есть сообщения об ингибирующем эффекте растительных полифенольных соединений на репликацию некоторых герпесвирусов, в том числе HSV-1 и HSV-2, Epstein-Barr virus (Human gammaherpesvirus 4), а также вирусов из других

семейств – птичьего гриппа H5N1, гепатитов В и С, HIV-1, денге серотипа 2 (DENV-2), Сендай (Sendai virus), Коксаки (Coxsackie B virus type 1), Чикунгунья (Chikungunya virus), вируса Японского энцефалита (Japanese encephalitis virus) [27], а также SARS-CoV [28] и SARS-CoV-2 [29].

Целью данного исследования был анализ *in vitro* ингибирующей активности водных экстрактов готовых чайных композиций и растительного сырья (индивидуальных ингредиентов для их составления), а также растений из разных семейств на репликацию HSV-2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Чайные композиции и растительное сырье (ингредиенты для чайных композиций) использовали такие же, как описано нами ранее [30]. Разработка и производство чайных композиций ООО НПФ «Золотая долина», г. Новосибирск. Шесть готовых чайных композиций, не содержащих ароматизаторов, из них два вида на основе зеленого чая, три вида на основе черного чая и один на основе цветов *гибискуса* с добавлением растительного сырья: листьев *мяты перечной*, цветов *лаванды*, кожуры апельсина, семян *аниса* и *тмина*, травы *тимьяна алтайского*, специй *гвоздики* и *корицы*, корня *дягиля*, ягод *клюквы*, лишайника вида *цетрария*. Все растительное сырье и специи (2020 г. заготовки и закупки) предоставлены ООО НПФ «Золотая долина» (г. Новосибирск). Места сбора или поставщик растительного сырья указаны в работе [30].

Растения, не входящие в состав готовых чайных композиций, были собраны авторами в летние сезоны 2019–2020 гг. Плодовое тело базидиального гриба *чага* (*Inonotus obliquus*, *Basidiomycota*) и листья *кипрея узколистного* (*Epilobium angustifolium* L., *Onagraceae*) – Салаирский кряж, Маслянинский район Новосибирской области). Плодовое тело базидиального гриба *рейши* (*Ganoderma lucidum*, *Basidiomycota*) – Алтайский край. Трава *молочая* (*Euphorbia pilosa* L. (*Euphorbiaceae*)), трава *манжетки обыкновенной* (*Alchemilla vulgaris* L., *Rosaceae*), трава *водосбора* (*Aquilegia* L., *Ranunculaceae*), первые молодые листья *чемерицы* (*Veratrum* L., *Melanthiaceae*), трава *шульци косматой* (*Schulzia crinita* Pall., *Apiaceae*), хвоя с «колосками» *пыльцы можжевельника сибирского* (*Juniperus sibirica* Burgsd., *Cupressaceae*) – Горный Алтай, урочище Манас (выше села Эдиган). Трава *полыни сизой* (*Artemisia glauca* Pall., *Asteraceae*), трава *донника лекарственного* (*Melilotus officinalis* L., *Fabaceae*), трава *молочая* (*E. esula* L., *Euphorbiaceae*) – село Уртам Томской области. Трава *молочая* (*E. esula* L., *Euphorbiaceae*) – берег озера Хорошее в Карасукском районе Новосибирской области. Ферментация листьев *кипрея узколистного* проведена сотрудниками ООО НПФ «Золотая долина» (г. Новосибирск). Под определением «трава» подразумевается наземная часть растения, состоящая из стебля, листьев и соцветий.

Приготовление водных экстрактов описано в работе [30].

Контрольные образцы

Использовали водные экстракты измельченного плодового тела базидиального гриба *чага* (*Inonotus*

obliquus, *Basidiomycota*) и травы *манжетки обыкновенной* (*Alchemilla vulgaris* L., *Rosaceae*), т.к. для таких препаратов описана активность против HSV-2 *in vitro* [31; 32].

Культура клеток

Перевиваемую культуру клеток *Vero* (клетки почки африканской зеленой мартышки) из собственной коллекции ФИЦ ФТМ СО РАН культивировали на питательной среде Игла MEM 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).

Вирус

Штамм MS HSV-2, полученный из Американской коллекции вирусных штаммов и описанный в работе [33], ранее был любезно предоставлен авторам д.-ром М.А. Суслопаровым для исследования ингибирующей активности растительных и химически синтезированных препаратов [31; 34]. HSV-2 хранился в виде мозговой суспензии инфицированных мышей-сосунков линии Balb/c при минус 80°C. Вирусный препарат нарабатывали «слепым» пассажем на перевиваемой культуре клеток *Vero*, выращенных до монослоя в полистироловых культуральных флаконах объемом 175 см² на питательной среде с 2% прогретой эмбриональной сыворотки крови крупного рогатого скота (КРС).

Цитотоксичность приготовленных экстрактов определяли по значениям 50%-ной цитотоксической концентрации как описано [30].

Противовирусную (ингибирующую) активность

приготовленных экстрактов против HSV-2 исследовали *in vitro* (в четырех повторях в двух независимых экспериментах) по классической схеме нейтрализации (инактивации) вируса, как нами описано недавно для исследования таких же препаратов на ингибирующую активность против SARS-CoV-2 [30]. Кратко: перед нанесением на монослой клеток *Vero*, выращенных в 96-луночных планшетах, растительные экстракты в объеме 100 мкл/лунка (с разведения от 1/2 двойным шагом, т.е. с 50 мг/мл исходной концентрации по сухому веществу) предварительно инкубировали с инфекционным вирусом в течение 1 часа при 37°C, а затем наносили на монослой клеток. После инкубации на клетках смеси экстрактов с вирусом в течение 1 часа при 37°C, монослой отмывали и оставляли в поддерживающей питательной среде до появления ЦПД в контрольных лунках.

Учет результатов по ингибированию репликации HSV-2 проводили визуально при наблюдении в инвертированный микроскоп (Микромед, Россия) при 10-кратном увеличении. Результат оценивали в соответствии с «Руководством....» [35].

Статистическую обработку результатов проводили с применением общепринятого метода Спирмена-Кербера в программе Excel при 95%-ном уровне надежности ($p \leq 0.05$).

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**1. Оценка цитотоксичности приготовленных водных экстрактов**

Согласно данным литературы, цитотоксичность любых препаратов проверяется на культуре клеток, чувствительных к вирусу, выбранному для анализа ингибирования его репликации [36]. Мы использовали культуру клеток Vero (рис. 1 а), подходящую для эффективной репликации HSV-2 как описано нами ранее [34] и наблюдали токсичное влияние растительных экстрактов на клеточный монослой в течение 5-ти суток. Определение CC_{50} в мл на 2-е сутки наблюдения (это время совпадает с проявлением ЦПД вируса на клетки с выбранной для работы инфекционной дозой в 50% лунок) показало, что, в основном, водные экстракты оказались мало токсичны для клеток Vero в концентрациях по сухому веществу – в диапазоне 100,0–25,0 мг/мл медианных значений или

от 18750,0±4629,98 до 93750,0±12249,77 мкг/мл средних значений с доверительными интервалами при 95%-ном уровне надежности ($p \leq 0.05$) (рис. 2, табл. 1). Тем не менее, наиболее цитотоксичными из всех тестируемых препаратов оказались экстракты специи гвоздики (с CC_{50} =18750,0±4629,98 мкг/мл); травы молочая вида *E. esula* L., собранной рядом с селом Уртам Томской обл. (CC_{50} =20312,5±4482,96 мкг/мл); черного чая из Непала (CC_{50} =21875,0±4009,68 мкг/мл); черного чая из Шри-Ланка (21875,0±4009,68 мкг/мл); черного чая из Аргентины (CC_{50} =28125,0±6124,89 мкг/мл). Для остальных экстрактов отмечена менее заметная токсичность для клеток – от 31250,0±8019,36 мкг/мл для черного чая из Вьетнама и Индии и до 93750,0±12249,77 мкг/мл, например, для экстрактов листьев мяты перечной, зеленого чая из Китая, семян тмина и травы водосбора (рис. 2, табл. 1).

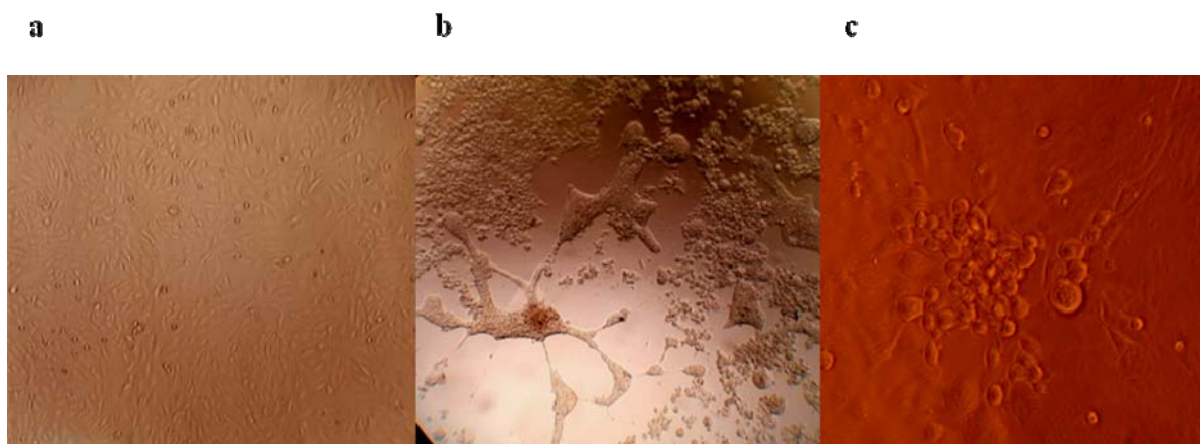


Рисунок 1. Культура клеток Vero (фото авторов).

Примечание: **a** – монослой чистой культуры клеток; **b** – 100%-цитопатический эффект HSV-2 на инфицированные клетки;

c – одна БОЕ в лунке 96-луночного культурального планшета при наблюдении в световой микроскоп при 10-кратном увеличении

Figure 1. Vero cell culture (photo by the authors).

Note: **a** – monolayer of Vero cell culture; **b** – 100% cytopathic effect of the HSV-2 on infected cells; **c** – one PFU in the well of a 96-well culture plate when observed in a light microscope at 10x magnification

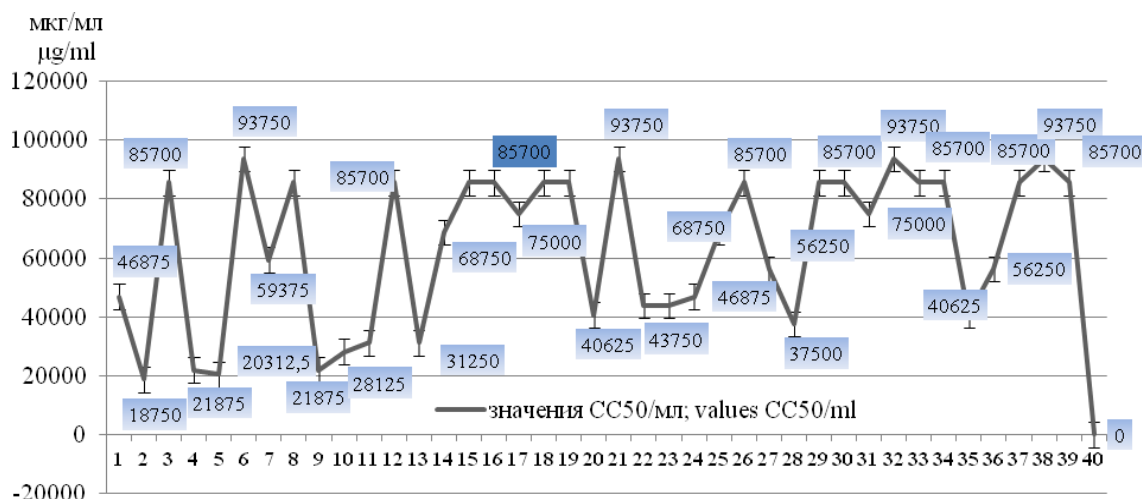


Рисунок 2. Результаты исследования цитотоксичности водных экстрактов чайных композиций и растительного сырья на культуре клеток Vero

Figure 2. Results of the study of cytotoxicity of aqueous extracts of tea compositions and plant raw materials on Vero cell culture

Примечание: значения CC_{50} представлены в мкг/мл средних значений с доверительными интервалами при уровне надежности 95% ($p \leq 0.05$). Цифры на горизонтальной линии соответствуют следующим образцам: 1 – трава молочая (*Euphorbia pilosa* L., *Euphorbiaceae*), место сбора Горный Алтай, урочище Манас (выше села Эдиган); 2 – специя гвоздика (*Syzygium aromaticum* L.,

Myrtaceae); 3 – цветы лаванды (*Lavandula angustifolia* MILL., Lamiaceae); 4 – черный чай из Непала; 5 – трава молочая (*E. esula* L., Euphorbiaceae), место сбора Томская обл., село Уртам; 6 – листья мяты перечной (*Mentha piperita* L., Lamiaceae); 7 – чайная композиция №3 (черный чай+трава тимьяна алтайского+специя гвоздика); 8 – чайная композиция №1 (зеленый чай+листья мяты перечной+цветы лаванды); 9 – черный чай из Шри-Ланка; 10 – черный чай из Аргентины; 11 – черный чай из Вьетнама; 12 – ферментированные листья кипрея узколистного (*Epilobium angustifolium* L., Onagraceae); 13 – черный чай из Индии; 14 – чайная композиция №4 (черный чай+семена тмина+корень дягиля); 15 – чайная композиция №5 (черный чай+ягоды клюквы+цетрария); 16 – измельченное плодовое тело чаги *Inonotus obliquus* (Basidiomycota); 17 – чайная композиция №2 (зеленый чай+кожура апельсина+семена аниса); 18 – трава тимьяна алтайского (*Thymus altaicus*, Lamiaceae); 19 – трава манжетки обыкновенной (*Alchemilla vulgaris* L., Rosaceae); 20 – специя корица (*Cinnamomum cassia* L., Lauraceae); 21 – зеленый чай из Китая; 22 – ягоды клюквы (*Oxycoccus*, Ericaceae); 23 – трава молочая (*E. esula* L., Euphorbiaceae), место сбора Карасукский район Новосибирской области, берег озера Хорошее; 24 – гриб рейши (*Ganoderma lucidum*, Basidiomycota); 25 – семена бадьяна (*Illicium anisatum* L., Illiciaceae); 26 – корень дягиля (*Angelica archangelica* L., Apiaceae); 27 – трава полыни серой (*Artemisia glauca* Pall., Asteraceae); 28 – чайная композиция №6 (цветы гибискуса+кожура апельсина+специя корица); 29 – семена аниса (*Pimpinella anisum* L., Apiaceae); 30 – хвоя с «колосками» пыльцы можжевельника сибирского (*Juniperus sibirica* Burgsd., Cupressaceae); 31 – лишайник цетрария (*Cetraria islandica* L., Parmeliaceae); 32 – семена тмина (*Carum carvi* L., Apiaceae); 33 – первые листья чемерицы (*Veratrum* L., Melanthiaceae); 34 – цветы гибискуса (*Hibiscus sabdariffa* L., Malvaceae); 35 – корка апельсина (*Citrus sinensis* L., Rutaceae); 36 – корень солодки голой (*Glycyrrhiza glabra* L., Fabaceae); 37 – трава шульци косматой (*Schulzia crinite* Pall., Apiaceae); 38 – трава водосбора (*Aquilegia* L., Ranunculaceae); 39 – трава донника лекарственного (*Melilotus officinalis* L., Fabaceae); 40 – отрицательный контроль: кипяченая дистиллированная вода и ростовая среда для клеток Vero (1/1 по объему). Под определением «трава» подразумевается наземная часть растения, состоящая из стебля, листьев и соцветий. На темном фоне представлен показатель CC_{50} в мкг/мл контрольных образцов: 16 – измельченное плодовое тело чаги (*Inonotus obliquus*, Basidiomycota) и 19 – трава манжетки обыкновенной (*Alchemilla vulgaris* L., Rosaceae), соответственно

Note: CC_{50} values are presented in $\mu\text{g}/\text{ml}$ of average values with confidence intervals at 95% reliability level ($p \leq 0.05$). The numbers on the horizontal line correspond to the following samples: 1 – grass of *Euphorbia pilosa* L. (Euphorbiaceae), gathering place Gorny Altai, Manas tract (above the village of Edigan); 2 – spice clove (*Syzygium aromaticum* L., Myrtaceae); 3 – flowers of *Lavandula angustifolia* Mill. (Lamiaceae); 4 – black tea from Nepal; 5 – grass of *Euphorbia esula* L. (Euphorbiaceae), gathering place Tomsk region (near with village of Urtam); 6 – leaves of *Mentha piperita* L., Lamiaceae); 7 – tea compositions №3 (black tea+grass of *Thymus altaicus*+spice clove); 8 – tea compositions №1 (green tea+leaves of *Mentha piperita* L.+flowers of *Lavandula angustifolia* MILL.); 9 – black tea from Sri Lanka; 10 – black tea from Argentina; 11 – black tea from Vietnam; 12 – fermented leaves of *Epilobium angustifolium* L. (Onagraceae); 13 – black tea from India; 14 – tea compositions №4 (black tea+seeds of *Carum carvi* L.+root of *Angelica archangelica* L.); 15 – tea compositions №5 (black tea+berries of *Oxycoccus*+lichen *Cetraria islandica* L.); 16 – crushed fruit body of *Inonotus obliquus* (Basidiomycota); 17 – tea compositions №2 (green tea+peel of *Citrus sinensis* L.+seeds of *Pimpinella anisum* L.); 18 – grass of *Thymus altaicus* (Lamiaceae); 19 – grass of *Alchemilla vulgaris* L. (Rosaceae); 20 – spice cinnamon (*Cinnamomum cassia* L., Lauraceae); 21 – green tea from China; 22 – berries of *Oxycoccus* (Ericaceae); 23 – grass of *E. esula* L. (Euphorbiaceae), the gathering place is Karasuksky district of Novosibirsk region, the shore of lake Khoroshee; 24 – *Ganoderma lucidum* (Basidiomycota); 25 – seeds of *Illicium anisatum* L. (Illiciaceae); 26 – root of *Angelica archangelica* L. (Apiaceae); 27 – grass of *Artemisia glauca* Pall. (Asteraceae); 28 – tea compositions № 6 (flowers of *Hibiscus sabdariffa* L.+peel of *Citrus sinensis* L.+ spice cinnamon; 29 – seeds of *Pimpinella anisum* L. (Apiaceae); 30 – «paws» with pollen of *Juniperus sibirica* Burgsd., (Cupressaceae); 31 – lichen species *Cetraria islandica* L. (Parmeliaceae); 32 – seeds of *Carum carvi* L. (Apiaceae); 33 – young first leaves of *Veratrum* L. (Melanthiaceae); 34 – flowers of *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae); 35 – peel of *Citrus sinensis* L. (Rutaceae); 36 – root of *Glycyrrhiza glabra* L. (Fabaceae); 37 – grass of *Schulzia crinite* Pall. (Apiaceae); 38 – grass of *Aquilegia* L. (Ranunculaceae); 39 – grass of *Melilotus officinalis* L. (Fabaceae); 40 – negative control: boiled distilled water and growth medium for Vero cells (1/1 by volume). The definition of «grass» refers to the ground part of the plant, consisting of a stem, leaves and inflorescences. The CC_{50}/ml values in $\mu\text{g}/\text{ml}$ of control samples are presented on a dark background: No.16 – crushed fruit body of *Inonotus obliquus* (Basidiomycota) and No.19 – grass of *Alchemilla vulgaris* L. (Rosaceae), accordingly

Известно, что природные вещества обладают меньшей токсичностью, чем фармакологические химически синтезированные препараты [21]. Выявленные нами значения $CC_{50}/\text{мл}$ для готовых чайных композиций на основе черного и зеленого чая оказались в диапазоне концентраций от $87500,0 \pm 16038,37$ до $37500,0 \pm 9259,96$ мкг/мл (рис. 2 табл. 1), что подтверждает низкую цитотоксичность водных растительных экстрактов. По данным литературы, например, при исследовании ингибирующей активности против HSV-1 и HSV-2 водных экстрактов, содержащих полынь метельчатую (*Artemisia capillaries* Thunb., Asteraceae), ревеня лекарственный (*Rheum officinale* Baillon, Polygonaceae) и гардению жасминовидную (*Gardenia jasminoids* Ellis, Rubiaceae), показано, что эти препараты не проявляли цитотоксического эффекта на культуру клеток при концентрации 500 мкг/мл или ниже и имели среднее значение $CC_{50}=850,7 \pm 1,7$ мкг/мл [37].

2. Исследование ингибирующей активности водных экстрактов растительного сырья на репликацию HSV-2
«Урожай» HSV-2 от «слепого пассажа» при инфицировании монослоя клеток Vero, выращенных в культуральных флаконах объемом 175 см², 10%-ной суспензией мозга инфицированных мышей-сосунков

линии Balb/c, собирали при 100%-ном цитопатическом действии вируса на чувствительные клетки, когда они округляются и/или сливаются в синцитии (рис. 1 b), но еще прикреплены к поверхности ростового флакона или лунки планшета. Инфекционный титр HSV-2 в супернатанте питательной среды от разрушенных 3-х кратным замораживанием/оттаиванием инфицированных клеток Vero выражали в БОЕ/мл, т.к. цитопатическое действие этого вируса легко идентифицируется на монослое инфицированных клеток до одной БОЕ, состоящей из нескольких инфицированных клеток (рис. 1 c). Мы использовали HSV-2 в разведении 10^{-3} супернатанта, что в данных экспериментах соответствовало инфекционному титру 10^3 БОЕ/мл или 100 тканевых цитопатических доз (ТЦПД₅₀) в 50% лунок в объеме 100 мкл лунки 96-луночного планшета, как принято в соответствии с «Руководством....» [35]. Оценивали как общепринятую 50%-ную ингибирующую (эффективную) концентрацию (EC_{50} в мкг/мл), так и 100%-ный антивирусный эффект, т.к. этот показатель также встречается в научной литературе при описании подходов к поиску растительных препаратов, подавляющих инфекционность HSV-2 [38].

В качестве основного контрольного образца использовали водный экстракт измельченного плодового тела *чагу* (*I. obliquus*) с ранее выявленной нами активностью аналогичного препарата *in vitro* против используемого штамма MS HSV-2 [31]. По литературным данным широкая биологическая активность *I. obliquus* связана с полисахаридами, но механизмы их действия пока находятся на стадии изучения. При этом отмечается низкая цитотоксичность препаратов этого гриба из семейства *Basidiomycota* и факт, что из-за различий в среде обитания и методах экстракции состав и концентрации полученных полисахаридов не одинаковы [39]. В качестве дополнительного контрольного образца использовали водный экстракт травы *манжетки обыкновенной* (*Alchemilla vulgaris* L.), собранной в горном Алтае (Чемальский район Республики Алтай, выше села Эдиган в урочище Манас у подножия горы Кабарга (51°5'22"N 86°32'1"E), т.к. ранее Мазурковой с соавт. описана противогерпетическая активность экстрактов разных частей этого растения, собранного также в горном Алтае, но на Семинском перевале (51°2'43"N 85°36'13"E) [32].

В результате, по данным, представленным на рис. 3 а и в табл. 1 видно, что при сравнении с контрольными образцами водных экстрактов *I. obliquus* и *A. vulgaris* L. с EC_{50} равной 21,36±3,92 и 39,66±8,75 мкг/мл, соответственно, против 10^3 БОЕ/мл HSV-2, приблизительно равная ингибирующая активность выявлена для экстрактов готовой чайной композиции №2 на основе зеленого чая с добавлением кожуры *апельсина* и семян *аниса* (с EC_{50} =22,88±2,99 мкг/мл), а также экстрактов сырья для приготовления чайных композиций – это трава *тимьяна алтайского* с EC_{50} =30,51±7,82 мкг/мл, зеленый чай из Китая и кора корицы (пряность) с EC_{50} =61,03±15,66 мкг/мл.

Превосходящая ингибирующая активность экстрактов *I. obliquus* и *A. vulgaris* L. против 10^3 БОЕ/мл HSV-2 обнаружена как для экстрактов готовых чайных композиций: состав №3 (черный чай+трава *тимьяна алтайского*+специя гвоздика) с EC_{50} =3,81±1,38 мкг/мл; состав №1 (зеленый чай+листья *мяты перечной*+цветы *лаванды*) с EC_{50} =5,34±0,98 мкг/мл; состав №4 (черный чай+семена *тмина*+корень *дягиеля*) с EC_{50} =13,73±2,99 мкг/мл и состав №5 (черный чай+ягоды *клюквы*+*цетрария*) с EC_{50} =15,25±3,92 мкг/мл, так и для экстрактов используемого растительного сырья для составления чайных композиций – это пряность гвоздика и цветы *лаванды* с EC_{50} =1,71±0,54 мкг/мл, черный чай из Непала с EC_{50} =1,90±0,49 мкг/мл, листья *мяты перечной* с EC_{50} =2,476±0,55 мкг/мл; черные чаи из Шри-Ланка, Аргентины, Вьетнама и Индии с EC_{50} =7,63±1,96, 9,15±2,26, 9,15±2,26 и 12,20±3,92 мкг/мл, соответственно (рис. 3 а, табл. 1).

Для экстрактов других растений, не входящих в состав готовых чайных композиций и исследованных в рамках антивирусной активности против 10^3 БОЕ/мл HSV-2, превосходящая ингибирующая активность контрольных образцов выявлена для экстракта ферментированных листьев *кипрея узколистного* (*Epilobium angustifolium* L., *Onagraceae*) с EC_{50} =10,675±1,96 мкг/мл. Но более высокая антигерпетическая активность с EC_{50} =1,71±0,54 и 2,285±0,57 мкг/мл (рис. 3 а, табл. 1), соответственно, обнаружена для экстрактов травы *молочая* двух видов – *Euphorbia pilosa* L. и *E. esula* L. (*Euphorbiaceae*),

собранных в урочище Манас Горного Алтая и рядом с селом Уртам в Томской области.

Результаты по низкой ингибирующей активности других экстрактов со значениями EC_{50} , превышающими 100,0 мкг/мл, т.е. в диапазоне концентраций от 134,27±35,02 до 5078,13±1120,74 мкг/мл и от 9375,0±2314,99 до 40625,0±8965,92 мкг/мл, соответственно, представлены на рис. 3 б, с. и в табл. 1.

По данным, представленным на рис. 4 а, б и в табл. 1 также видно, что 100%-ный ингибирующий эффект на 10^3 БОЕ/мл HSV-2 и выявленные показатели EC_{100} /мл водных экстрактов, в основном, коррелировали с показателями EC_{50} /мл этих препаратов. При сравнении с диапазоном показателей инактивации вируса экстрактами травы *манжетки обыкновенной* (EC_{100} =366,20±47,85 мкг/мл) и *чагу* (EC_{100} =683,59±125,30 мкг/мл), по убывающей активности препараты можно распределить следующим образом: экстракты *молочая* вида *E. pilosa* L., произрастающего в горном Алтае (с EC_{100} =42,71±7,83 мкг/мл), специи гвоздики (с EC_{100} =79,39±17,51 мкг/мл), цветов *лаванды* (с EC_{100} =91,55±11,96 мкг/мл), ферментированных листьев *кипрея узколистного* и травы *молочая* вида *E. esula* L., произрастающего в Томской области (с EC_{100} =183,10±23,93 мкг/мл), травы *тимьяна алтайского* и пряности корицы с EC_{100} =341,79±62,65 мкг/мл, листьев *мяты перечной* (с EC_{100} =683,59±125,30 мкг/мл). Противовирусная активность экстрактов черного чая из Непала, Шри-Ланка, Индии Шри-Ланка, Индии, Вьетнама и Аргентины оказалась выявлена с показателями EC_{100} =85,44±15,66, 170,90±31,32, 170,90±31,32, 195,31±62,65 и 207,52±56,47 мкг/мл, соответственно.

Готовые чайные композиции, кроме №6 (состав: цветы *гибискуса*+кожура *апельсина*+специя корица), свежеприготовленные в объеме 150 мл в стеклянных емкостях и используемые для исследования при остывании до комнатной температуры в объеме 1 мл (т.е. 13,33 мг/мл или 13333,33 мкг/мл) в лунках 24-луночных планшето с добавлением 1 мл питательной среды для монослоя клеток, на 100% ингибировали репликацию препарата HSV-2 с инфекционным титром 10^3 БОЕ/мл. Этот результат соотносится с показателями цитотоксичности (CC_{50} /мл) (рис. 2) и данными по эффективным концентрациям (EC_{50} /мл и EC_{100} /мл) этих чайных композиций, представленными на рис. 3 а,б,с, рис. 4 а,б и табл. 1, соответственно.

Появление устойчивых к лекарственным препаратам штаммов HSV-2 определяет острую необходимость в разработке новых противогерпетических препаратов с различными механизмами действия [22]. Идет постоянный поиск альтернативной или дополнительной стратегии в лечении этой инфекции. Исследуются вещества, способные ингибировать репликацию HSV-2 *in vitro* с эффективностью, сравнимой с эффективностью референтного антигерпетического препарата ацикловира [40]. Hassan с соавт. показали, что эфирное масло, полученное из травы *тимьяна* вида *Thymus bovei* Benth., произрастающего в Египте, обладает *in vitro* очевидным ингибирующим действием с EC_{50} =1,92 мкг/мл на репликацию HSV-2 (с инфекционным титром 10^2 ТЦПД₅₀/мл) в культуре клеток *Vero* при сравнении с активностью ацикловира с EC_{50} =1,94 мкг/мл против такой же инфекционной дозы вируса.

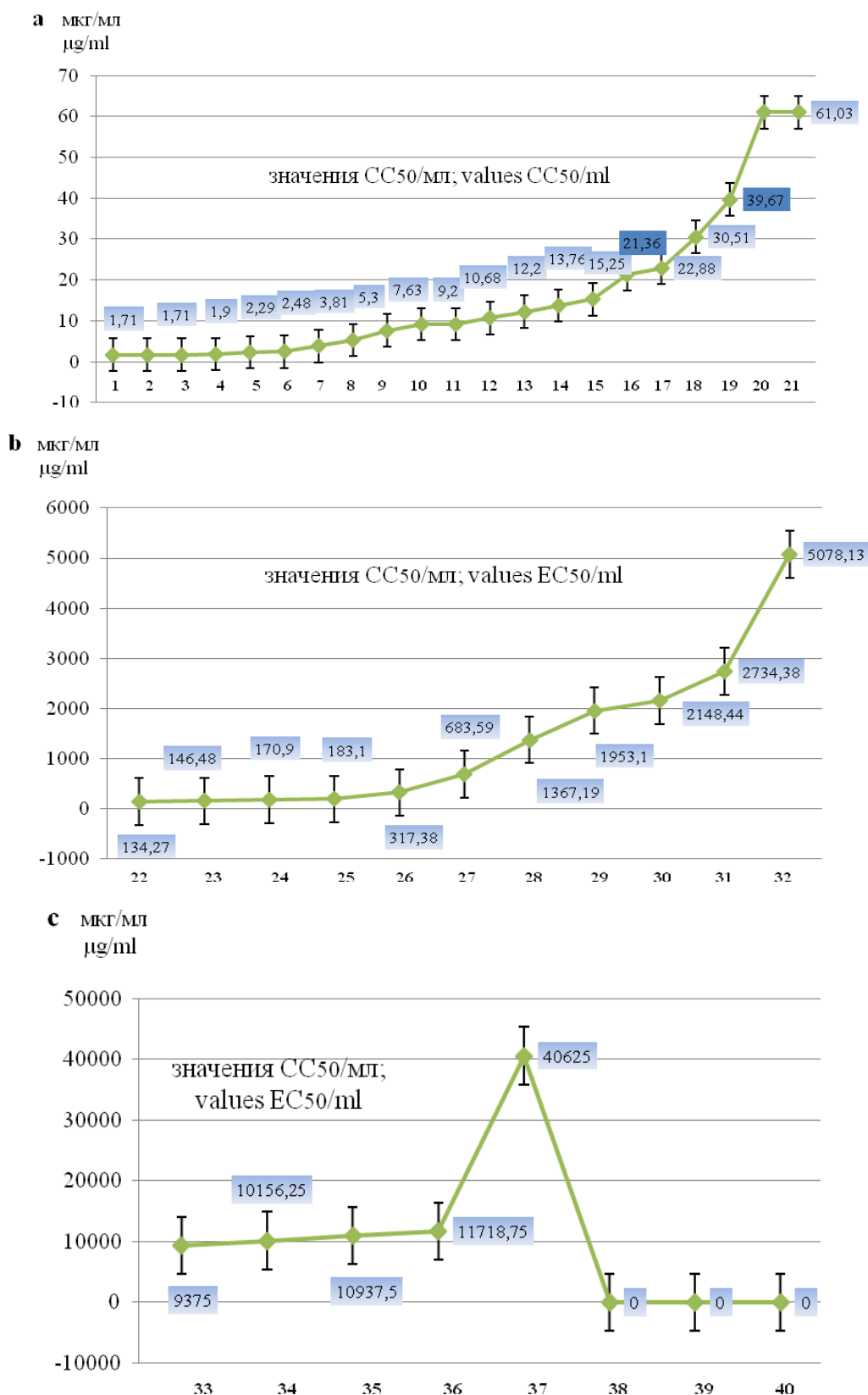


Рисунок 3. Результаты по определению 50%-ной ингибирующей (эффективной) концентрации (EC_{50} в мкг/мл) водных экстрактов против 10^3 БОЕ/мл HSV-2

Примечание: **а** – экстракты под номерами 1 – 21; на темном фоне представлены показатели EC_{50} в мкг/мл контрольных образцов (№16 – *I. obliquus* и №19 – *A. vulgaris* L.); **б** – экстракты под номерами 22 – 32; **в** – экстракты под номерами 33 – 39 и отрицательный контроль (№40). Номера образцов соответствуют их нумерации в рис. 2 и табл. 1.

Figure 3. Results on determination of 50% inhibitory (effective) concentration (EC_{50} in μg/ml) of water extracts against 10^3 PFU HSV-2

Note: **а** – extracts No. 1 – 21; EC_{50} values in μg/ml of control samples are presented on a dark background (No. 16 – *I. obliquus* and No. 19 – *A. vulgaris* L.); **б** – extracts No. 22 – 32; **в** – extracts numbered 33 – 39 and negative control (No. 40).

The sample numbers correspond to their numbering in Fig. 2 and Table 1.

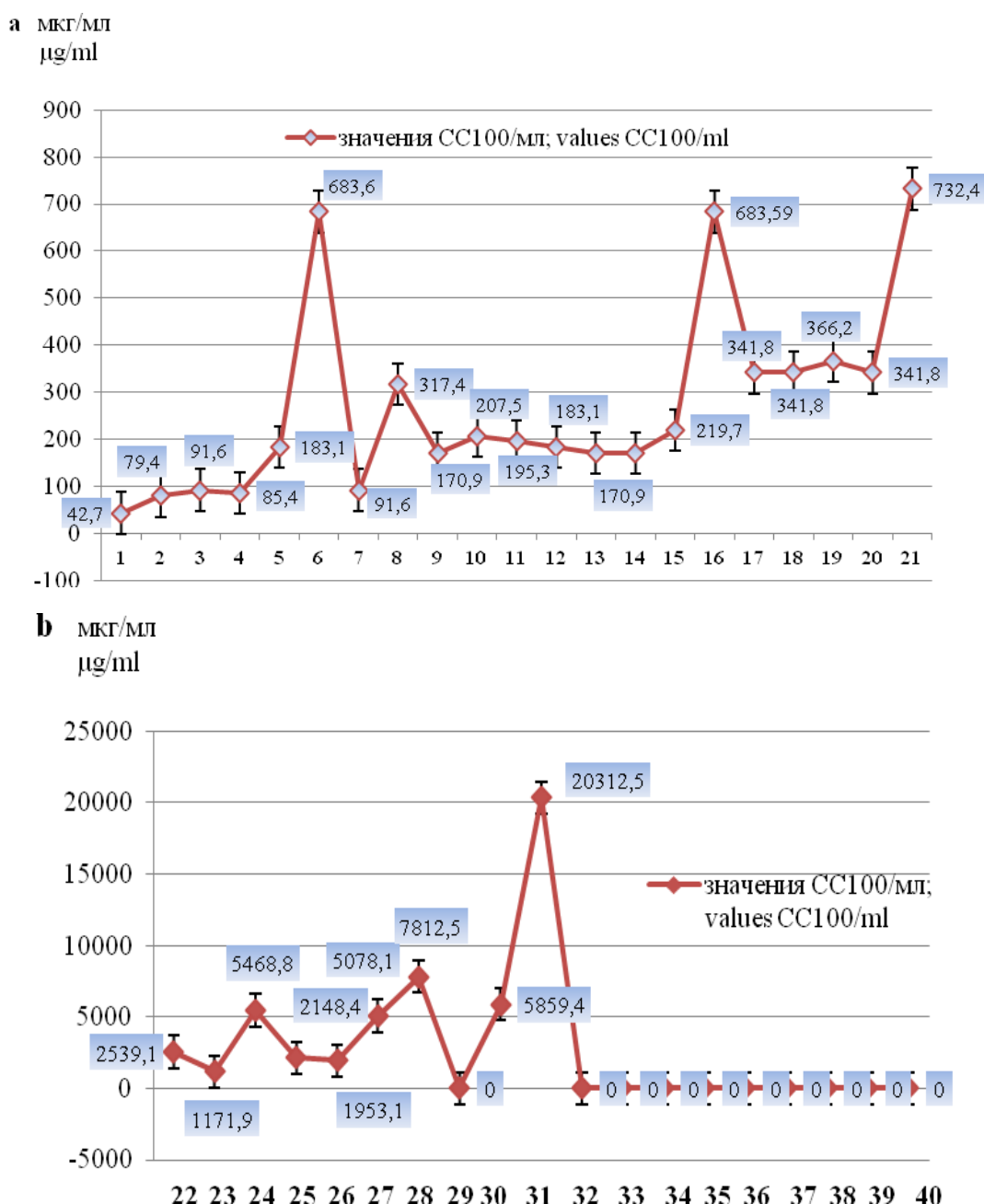


Рисунок 4. Результаты по определению 100%-ной ингибирующей (эффективной) концентрации (EC_{100} в мкг/мл) водных экстрактов против 10^3 БОЕ/мл HSV-2.

Примечание: **а** – экстракты под номерами 1–21; **б** – экстракты под номерами 22–39 и отрицательный контроль (№40). Номера образцов соответствуют их нумерации в рис. 2 и табл. 1.

Figure 4. Results of determination of 100% inhibitory (effective) concentration (EC_{50} in μg/ml) of water extracts against 10^3 PFU HSV-2.

Note: **а** – extracts No. 1–21; **б** – extracts No. 22–39 and negative control (No. 40). The sample numbers correspond to their numbering in Fig. 2 and Table 1.

Ингибирующую активность препаратов авторы определяли по снижению титра вируса при инфицировании монослоя клеток Vero после предварительной их обработки разведениями эфирного масла (т.е. по «профилактической» схеме эксперимента). С использованием метода молекулярного докинга (виртуального скрининга аффинности молекул) этими авторами определен механизм действия гераниола, выделенного из водно-этанольного экстракта надземных частей этого растения методом газовой хроматографии – это связывание с

активным сайтом вирусной сериновой протеазы, которая важна для репликации HSV-2 и, следовательно, представляет собой одну из вирусных мишеней для терапевтического вмешательства [36]. Эти же авторы ранее по «профилактической» схеме эксперимента *in vitro* показали почти равную с ацикловиром ингибирующую активность против HSV-2 концентрированного выпариванием водного экстракта цветов *Hibiscus sabdariffa* L. за счет его биоактивного соединения – протокатехиновой кислоты [41].

Таблица 1. Результаты по цитотоксичности и ингибирующей (инактивирующей) активности растительных экстрактов в 50% и 100%-ных эффективных концентрациях на репликацию HSV-2 *in vitro*
Table 1. Results of cytotoxicity and inhibitory (inactivating) the activity of plant extracts in 50% and 100% effective concentrations on HSV-2 replication *in vitro*

Номер образца Number in order	Название растительного сырья Name of the raw materials of herbs	CC ₅₀ мкг/мл CC ₅₀ µg/ml	EC ₅₀ мкг/мл EC ₅₀ µg/ml	EC ₁₀₀ мкг/мл EC ₁₀₀ µg/ml
1	трава <i>молочая</i> (<i>Euphorbia pilosa</i> L.)* grass of <i>E. pilosa</i> L.*	46875,0±6124,89	1,71±0,54	42,71±7,83
2	гвоздика (специя) spice clove (<i>Syzygium aromaticum</i> L.)	18750,0±4629,98	1,71±0,54	79,39±17,51
3	цветы <i>лаванды</i> flowers of <i>Lavandula angustifolia</i> MILL.	85700,0±16038,72	1,71±0,54	91,55±11,96
4	черный чай из Непала black tea from Nepal	21875,0±4009,68	1,90±0,49	85,44±15,66
5	трава <i>молочая</i> (<i>E. esula</i> L.**) ** grass of <i>E. esula</i> L. **	20312,5±4482,96	2,29±0,57	183,10±23,93
6	листья <i>мяты перечной</i> leaves of <i>Mentha piperita</i> L.	93750,0±12249,77	2,48±0,55	683,59±125,30
7	чайная композиция №3 (черный чай+трава <i>тимьяна алтайского</i> +специя гвоздика) tea compositions №3 (black tea+grass of <i>Thymus altaicus</i> +spice clove)	59375,0±18374,66	3,81±1,38	91,55±11,96
8	чайная композиция №1 (зеленый чай+листья <i>мяты перечной</i> +цветы <i>лаванды</i>) tea compositions №1 (green tea+leaves of <i>Mentha piperita</i> L.+flowers of <i>Lavandula angustifolia</i> MILL.)	85700,0±16038,72	5,34±0,98	317,37±70,04
9	черный чай из Шри-Ланка black tea from Sri Lanka	21875,0±4009,68	7,63±1,96	170,90±31,32
10	черный чай из Аргентины black tea from Argentina	28125,0±6124,89	9,15±2,26	207,52±56,47
11	черный чай из Вьетнама black tea from Vietnam	31250,0±8019,36	9,15±2,26	195,31±62,65
12	ферментированные листья <i>кипрея узколистного</i> fermented leaves of <i>Epilobium angustifolium</i> L.	85700,0±16038,72	10,68±1,96	183,10±23,93
13	черный чай из Индии black tea from India	31250,0±8019,36	12,20±3,92	170,90±31,32
14	чайная композиция №4 (черный чай+семена <i>тмина</i> +корень <i>дягиля</i>) tea compositions №4 (black tea+seeds of <i>Carum carvi</i> L.+ root of <i>Angelica archangelica</i> L.)	68750,0±17931,83	13,73±2,99	170,90±31,32
15	чайная композиция №5 (черный чай+ягоды <i>клюквы</i> + <i>цетрария</i>) tea compositions №5 (black tea+berries of <i>Oxycoccus</i> + <i>Cetraria islandica</i> L.)	85700,0±16038,72	15,25±3,92	219,72±47,85
16	чага <i>Inonotus obliquus</i>	85700,0±16038,72	21,36±3,92	683,59±125,30
17	чайная композиция №2 (зеленый чай+кожура апельсина+семена <i>аниса</i>) tea compositions №2 (green tea+peel of <i>Citrus sinensis</i> L.+ seeds of <i>Pimpinella anisum</i> L.)	75000,0±18519,92	22,88±2,99	341,79±62,65
18	трава <i>тимьяна алтайского</i> grass of <i>Thymus altaicus</i> (Lamiaceae)	85700,0±16038,72	30,51±7,82	341,79±62,65

19	трава манжетки обыкновенной grass of <i>Alchemilla vulgaris</i> L.	85700,0±16038,72	39,67±8,75	366,20±47,85
20	корица (специя) spice cinnamon (bark of <i>Cinnamomum cassia</i> L.)	40625,0±8965,92	61,03±15,66	341,79±62,65
21	зеленый чай из Китая green tea from China	93750,0±12249,77	61,03±15,66	732,42±95,70
22	ягоды клюквы berries of <i>Oxycoccus</i>	43750,0±8019,36	134,27±35,02	2539,06±560,37
23	трава молочая (<i>E. esula</i> L.)*** grass of <i>E. esula</i> L.***	43750,0±8019,36	146,48±36,17	1171,88±289,37
24	гриб рейши <i>Ganoderma lucidum</i>	46875,0±6124,89	170,90±31,33	5468,75±1002,42
25	семена бадьяна seeds of <i>Illicium anisatum</i> L.	68750,0±17931,83	183,10±23,93	2148,44±560,37
26	корень дягиля root of <i>Angelica archangelica</i> L.	85700,0±16038,72	317,38±70,04	1953,13±501,21
27	полынь серая (сизая) grass of <i>Artemisia glauca</i> Pall.	56250,0±12249,77	683,59±125,30	5078,13±1120,74
28	чайная композиция №6 (цветы гибискуса+кожура апельсина+специя корица) tea compositions №6 (flowers of <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.+ peel of <i>Citrus sinensis</i> L.+ spice cinnamon)	37500,0±9259,96	1367,19±250,60	7812,5±2004,84
29	семена аниса seeds of <i>Pimpinella anisum</i> L.	85700,0±16038,72	1953,13±501,21	0
30	хвоя и «колоски» с пыльцой можжевельника сибирского «paws» with pollen of <i>Juniperus sibirica</i> Burgsd.	85700,0±16038,72	2148,44±560,37	5859,38±765,61
31	лишайник цетрария <i>Cetraria islandica</i> L.	75000,0±18519,92	2734,38±501,21	20312,5±4482,96
32	семена тмина seeds of <i>Carum carvi</i> L.	93750,0±12249,77	5078,13±1120,74	0
33	молодые первые листья чемерицы young first leaves of <i>Veratrum</i> L.	85700,0±16038,72	9375,0±2314,99	0
34	цветы гибискуса flowers of <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	85700,0±16038,72	10156,25±2241,48	0
35	корка апельсина peel of <i>Citrus sinensis</i> L.	40625,0±8965,92	10937,5±3273,59	0
36	корень солодки root of <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	56250,0±12249,77	11718,75±1531,22	0
37	трава шалфея козлят grass of <i>Schulzia crinite</i> Pall.	85700,0±16038,72	40625,0±8965,92	0
38	трава водосбора grass of <i>Aquilegia</i> L.	93750,0±12249,77	0	0
39	трава донника лекарственного grass of <i>Melilotus officinalis</i> L.	85700,0±16038,72	0	0
40	negative control: boiled distilled water and growth medium for <i>Vero</i> cells	0	0	0

Примечание: * трава молочая (*Euphorbia pilosa* L.), место сбора Горный Алтай, урочище Манас; ** трава молочая (*E. esula* L.), место сбора Томская обл., село Уртам; *** трава молочая (*E. esula* L.), место сбора Карасукский район Новосибирской области, берег озера Хорошее)

Note: * grass of *Euphorbia pilosa* L., gathering place Gorny Altai, Manas tract (above the village of Edigan); ** grass of *E. esula* L., gathering place Tomsk region (near with village of Urtam); *** grass of *E. esula* L. (*Euphorbiaceae*), the gathering place is Karasuksky district of Novosibirsk region, the shore of the lake with name Good)

Известно, что HSVs поражают не только эпителиальные клетки и нейроны, но и практически любой тип клеток в организме, включая иммунные клетки, такие как дендритные (dendritic cells, DCs) и натуральные киллеры (natural killer cells, NK cells), благодаря тому, что основные рецепторы для этих патогенов широко распространены в тканях и клетках человека [42].

Частица вириона HSVs заключена в оболочку из липидного бислоя, содержащую, по меньшей мере, 20 вирусных белков, из которых 13 являются гликопротеинами [43]. Интерактивный комплекс вирусных гликопротеинов gB, gD/gH/gL, gK и других оболочечных белков опосредует связывание со специфическими клеточными рецепторами для проник-

новения HSVs в клетки за счет слияния вирусной оболочки с плазматической мембраной. Аналогичным образом, вирусные гликопротеины, экспрессируемые на поверхности клеток, опосредуют межклеточное слияние и способствуют распространению вируса в организме [44]. Прямое действие биологически активных молекул на гликопротеины на стадии прикрепления вирионов к рецепторам также может быть механизмом ингибирования вирусной репликации [45; 46]. Поэтому мы использовали метод классической реакции нейтрализации вируса (т.е. прямой инактивации вирионов перед нанесением на монослой клеток Vero) для первичного анализа ингибирующей активности экстрактов готовых чайных композиций и растительного сырья (индивидуальных ингредиентов для их составления), а также растений из разных семейств на репликацию HSV-2 *in vitro*. В результате, при сравнении с показателями EC₅₀/мл приготовленных контрольных образцов водных экстрактов измельченного плодового тела чаги (*I. obliquus*) и травы манжетки обыкновенной (*A. vulgaris* L.) – 21,36±3,92 и 39,67±8,75 мкг/мл, соответственно, против 10³ БОЕ/мл HSV-2, эффективность которых была ранее описана как нами в работе [31], так и другими авторами [32], превосходящая ингибирующая активность (от 15,25±3,92 до 1,71±0,54 мкг/мл) выявлена для экстрактов готовых чайных композиций на основе черного и зеленого чая, а также индивидуальных ингредиентов для их составления – это сырье черного чая (импортированное из Индии, Вьетнама, Аргентины, Шри-Ланка и Непала), листья мяты перечной (*Mentha piperita* L., *Lamiaceae*), цветы лаванды (*Lavandula angustifolia* Mill., *Lamiaceae*) и специи гвоздики (*Syzygium aromaticum* L., *Myrtaceae*). Из растительного сырья, не входящего в состав данных чайных композиций, интерес представляют экстракты ферментированных листьев кипрея узколистного (*Epilobium angustifolium* L., *Onagraceae*) и травы молочая двух видов – *Euphorbia pilosa* L. и *E. esula* L. (*Euphorbiaceae*) с 50%-ной ингибирующей активностью в концентрациях 10,675±1,96; 2,29±0,57 и 1,71±0,54 мкг/мл против 10³ БОЕ/мл HSV-2 (рис. 3 а,б,с, табл. 1).

100%-ный ингибирующий эффект и выявленные показатели EC₁₀₀ водных экстрактов, в основном, коррелировали с показателями EC₅₀ этих препаратов. При сравнении с диапазоном показателей инактивации вируса экстрактами травы манжетки обыкновенной (EC₁₀₀=366,20±47,85 мкг/мл) и чаги (EC₁₀₀=683,59±125,30 мкг/мл), по убывающей активности можно распределить экстракты следующих растений: молочай вида *E. pilosa* L., произрастающий в горном Алтае (с EC₁₀₀=42,71±7,83 мкг/мл), специю гвоздика (с EC₁₀₀=79,39±17,51 мкг/мл), цветы лаванды (с EC₁₀₀=91,55±11,96 мкг/мл), ферментированные листья кипрея узколистного и траву молочая вида *E. esula* L., произрастающего в Томской области (с EC₁₀₀=183,10±23,93 мкг/мл), траву тимьяна алтайского и пряность корица (с EC₁₀₀=341,79±62,65 мкг/мл), листья мяты перечной (с EC₁₀₀=683,59±125,30 мкг/мл). Противовирусная активность экстрактов черного чая из Непала, Шри-Ланка, Индии Шри-Ланка и Индии, Вьетнама и Аргентины оказалась выявлена с показателями EC₁₀₀=85,44±15,66, 170,90±31,32 и 170,90±31,32, 195,31±62,65 и 207,52±56,47 мкг/мл, соответственно (рис. 4 а,б, табл. 1). Исследованные экстракты готовых чайных композиций, кроме №6

(состав: (цветы *гибискуса*+кожура *апельсина*+специя корица), свежеприготовленные в объеме стандартной чайной чашки – 150 мл на 100% ингибировали репликацию препарата HSV-2 с инфекционным титром 10³ БОЕ/мл. Эти результаты соотносятся с показателями цитотоксичности (CC₅₀/мл) (рис. 2, табл. 1) и данными по эффективным концентрациям (EC₅₀/мл и EC₁₀₀/мл) этих чайных композиций (при титровании с 50 мкг/мл исходной концентрации по сухому веществу), представленными на рис. 3 а,б,с, рис. 4 а,б и в табл. 1, соответственно.

Ранее Cheng H.-Y. с соавт. показали, что при обработке чувствительной культуры клеток как по «профилактической» схеме эксперимента (т.е. перед их инфицированием HSV-1 или HSV-2), а также предварительная инкубация с вирусной суспензией (т.е. прямая инактивация вирионов) водных экстрактов *полыни метельчатой* (*A. capillaries* Thunb.), *ревеня лекарственного* (*R. officinale* Baillon) и *гардении жасминовидной* (*G. jasminoids* Ellis), значения 50%-ных и 90%-ных ингибирующих концентраций на вирусную репликацию составили в диапазоне концентраций 142,5–150,1 и 191,3–393,9 мкг/мл против 10³ ТЦПД₅₀/мл HSV-1 и в диапазоне 19,6–29,4 и 42,2–97,7 мкг/мл против HSV-2, соответственно [37]. Есть сообщение, что экстракт прополиса (смолистого вещества, которое пчелы собирают с растений и модифицируют своими ферментами) может обладать большей активностью против герпесвирусов, чем ацикловир [47].

В обзоре по широкому анализу литературы с 1975 по 2020 гг. по антивирусному потенциалу растительного сырья против HSVs (1 и 2 типа), из 66-ти видов растений, экстракты которых активны против HSV-1, только по препаратам 10-ти растений описана ингибирующая активность против HSV-2 – это экстракты семян *гармалы обыкновенной* (*Peganum harmala* L., *Zygophyllaceae*), травы *центеллии азиатской* (*Centella asiatica* L., *Apiaceae*), смолы *фисташкового дерева* (*Pistacia lentiscus* L., *Anacardiaceae*), коры корня и стебля *сумаха душного* (*Rhus aromatica*, *Anacardiaceae*), корней и стебля *хвоща ветвистого* (*Equisetum giganteum*, *Equisetaceae*), листьев *копайферы* (*Copaifera reticulate*, *Fabaceae*), коры *акацуи* (*Vachellia nilotica*, *Fabaceae*), листьев кустарникового молочая *педилантуса* (*Pedilanthus tithymaloides*, *Euphorbiaceae*) и коры *птерокарпия* (*Pterocarya stenoptera*, *Juglandaceae*) [48]. Показано, что метанольный экстракт семян *гармалы обыкновенной* (*P. harmala*), произрастающей в Тунисе, на культуре клеток проявил активность против 10⁴ БОЕ/мл HSV-2 при концентрации 3,2 мкг/мл как во время «проникновения» вируса в чувствительные клетки, так и при «выходе» новообразованных вирионов. А индивидуальное химическое соединение, выделенное хроматографическим методом и идентифицированное как гармин (Harmine), проявило синергический эффект с ацикловиром, поэтому авторы рекомендуют использовать это сочетание препаратов для пациентов с ослабленным иммунитетом при активации у них герпесвирусной инфекции [49]. Метанольный экстракт свежей коры *акацуи* вида *V. nilotica* (это растение используется в традиционной медицине азиатских и африканских стран для лечения многих заболеваний, включая заболевания, передающиеся половым путем), оказался эффективным против 10⁵ БОЕ/мл HSV-2 при концентрации 4,71 мкг/мл, а к вирусному штамму,

резистентному к ацикловиру, – при концентрации 6,71 мкг/мл. Исследование механизма действия показало, что метанольный экстракт непосредственно инактивировал инфекционность вирусных частиц [50]. По мнению индийских ученых, метанольный экстракт листьев ботанического вида кустарникового молочая *педилантуса* (*P. tithymaloides*), оказывает мощную ингибирующую активность против 10^3 БОЕ/мл HSV-2 с EC_{50} в диапазоне 8–52 мкг/мл. Индивидуальное химическое соединение, выделенное методом хроматографии и идентифицированное как лютеолин (Luteolin), проявило еще более высокую активность с показателями $EC_{50}=22\text{--}27$ мкг/мл и $EC_{100}=40\text{--}49$ мкг/мл [51]. Водно-этанольный экстракт корня и стеблей *хвоща ветвистого* *E. giganteum* (это растение используется женщинами племени Такана в Боливийской Амазонии для гигиены половых органов, а также для лечения инфекции или воспаления половых органов) был эффективен на культуре клеток *in vitro* против 10^2 БОЕ/мл HSV-2 с $EC_{50}=18$ мкг/мл, а 100%-ное ингибирование вирусной репликации наблюдалось при концентрации 100 мкг/мл на стадии прикрепления вируса и его «входа» в клетки. Далее в экспериментах *in vivo* на мышах показано, что у животных при одновременном введении им вируса и экстракта, не было клинических проявлений заболевания и репликации HSV-2 в половых путях и спинном мозге [38].

В настоящее время появляются сообщения об одновременном исследовании ингибирующей активности растительных препаратов против нового коронавируса и герпесвирусов. Например, Zannella с соавт. показали, что метанольный экстракт листьев

виноградной лозы *Vitis vinifera* (Vitaceae) был способен ингибировать репликацию как HSV-1, так и SARS-CoV-2 *in vitro* на ранних стадиях инфекции путем прямой инактивации вирионов при очень низкой концентрации – 10 мкг/мл [52]. Из исследованных нами водных экстрактов против HSV-2, некоторые из них ранее проявили высокую ингибирующую активность и на репликацию SARS-CoV-2 [30]. При сравнении с основным контрольным образцом водного экстракта чаги (*I. obliquus*), для которого описана ингибирующая активность *in vitro* против этих двух патогенов [31; 53], в наших экспериментах наиболее эффективными против 10^3 БОЕ/мл HSV-2 и 10^3 ТЦПД₅₀/мл SARS-CoV-2 (по значениям EC_{50} до 100 мкг/мл) оказались водные экстракты следующего растительного сырья: специи гвоздики ($1,71\pm 0,54$ и $10,67\pm 1,95$ мкг/мл), цветов лаванды ($1,71\pm 0,54$ и $18,30\pm 4,51$ мкг/мл), листьев мяты перечной ($2,48\pm 0,55$ и $16,77\pm 4,37$ мкг/мл), ферментированных листьев кипрея узколистного ($10,68\pm 1,96$ и $33,56\pm 8,75$ мкг/мл), травы тимьяна алтайского ($30,51\pm 7,82$ и $67,13\pm 17,51$), а также сырья черного чая, экспортированного из Непала ($1,90\pm 0,49$ и $11,43\pm 1,48$ мкг/мл), из Шри-Ланка ($7,63\pm 1,96$ и $30,51\pm 6,56$ мкг/мл), из Аргентины ($9,15\pm 2,26$ и $16,77\pm 4,37$ мкг/мл), из Вьетнама ($9,15\pm 2,26$ и $30,51\pm 6,56$ мкг/мл), из Индии ($12,20\pm 3,92$ и $15,25\pm 3,91$ мкг/мл) и зеленого чая из Китая ($61,03\pm 15,66$ и $39,66\pm 8,75$ мкг/мл, соответственно) (табл. 2). Эти результаты очень многообещающие и подтверждают, что натуральные экстракты могут быть использованы при разработке противовирусных препаратов широкого спектра действия.

Таблица 2. Сравнение ингибирующей активности водных экстрактов растительного сырья (по значениям EC_{50} /мл) на репликацию 10^3 БОЕ/мл HSV-2 и 10^3 ТЦПД₅₀/мл SARS-CoV-2 (по данным [30])

Table 2. Comparison of the inhibitory activity of aqueous extracts of plant raw materials (values of EC_{50} /ml) on replication of 10^3 PFU/ml HSV-2 and 10^3 TCPD₅₀/ml SARS-CoV-2 (according to [30])

Номер образца Number in order	Название растительного сырья Name of the herbal raw materials	10^3 БОЕ/мл HSV-2 10^3 PFU/мл HSV-2	10^3 ТЦПД ₅₀ /мл SARS-CoV-2 10^3 TCPD ₅₀ /мл SARS-CoV-2
1	гвоздика (специя) spice clove (<i>Syzygium aromaticum</i> L.)	$1,71\pm 0,54$	$10,67\pm 1,95$
2	цветы лаванды flowers of <i>Lavandula angustifolia</i> MILL.	$1,71\pm 0,54$	$18,30\pm 4,51$
3	черный чай из Непала black tea from Nepal	$1,90\pm 0,49$	$11,43\pm 1,48$
4	листья мяты перечной leaves of <i>Mentha piperita</i> L.	$2,48\pm 0,55$	$16,77\pm 4,37$
5	черный чай из Шри-Ланка black tea from Sri Lanka	$7,63\pm 1,96$	$30,51\pm 6,56$
6	черный чай из Аргентины black tea from Argentina	$9,15\pm 2,26$	$16,77\pm 4,37$
7	черный чай из Вьетнама black tea from Vietnam	$9,15\pm 2,26$	$30,51\pm 6,56$
8	ферментированные листья кипрея узколистного fermented leaves of <i>Epilobium angustifolium</i> L.	$10,68\pm 1,96$	$33,56\pm 8,75$
9	черный чай из Индии black tea from India	$12,20\pm 3,92$	$15,25\pm 3,91$

10	чара <i>Inonotus obliquus</i>	21,36±3,92	13,72±2.99
11	трава тимьяна алтайского grass of <i>Thymus altaicus</i> (Lamiaceae)	30,51±7,82	67,13±17,51
12	корица (специя) spice cinnamon (bark of <i>Cinnamomum cassia</i> L.)	61,03±15,66	134,25±35,02
20	зеленый чай из Китая green tea from China	61,03±15,66	39,66±8,75
21	ягоды клюквы berries of <i>Oxycoccus</i>	134,27±35,02	39,66±8,75
22	корень дягиля root of <i>Angelica archangelica</i> L.	317,38±70,04	61,02±15,66
23	семена аниса seeds of <i>Pimpinella anisum</i> L.	1953,13±501,21	61,02±15,66
24	лишайник цетрария <i>Cetraria islandica</i> L.	2734,38±501,21	33,56±8,75
25	семена тмина seeds of <i>Carum carvi</i> L.	5078,13±1120,74	366,20±47,84
26	цветы гибискуса flowers of <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	10156,25±2241,48	0
33	корка апельсина peel of <i>Citrus sinensis</i> L.	10937,5±3273,59	341,79±62,64
34	корень солодки голой root of <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	11718,75±1531,22	30,51±7,82

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты по ингибирующей (инактивирующей) активности исследованных водных экстрактов против HSV-2 может стать основой для поиска индивидуальных биологически активных веществ растительного происхождения, ингибирующих репликацию этого патогена, а также для разработки эффективных лекарственных препаратов в виде чайных напитков и/или составов для местного применения для снижения рецидивов хронического герпеса. Выявленное инактивирующее действие водных экстрактов некоторых растений на репликацию двух вирусов – ДНК-содержащего HSV-2 и РНК-содержащего SARS-CoV-2, может предполагать их широкую биологическую активность, связанную, скорее всего, с полифенольными соединениями. По литературным данным, спиртовые экстракты демонстрируют высокие уровни общего содержания флавоноидов, в том числе полифенольных соединений. Но полученные нами результаты согласуются с сообщениями, в которых вода также описывается как подходящий растворитель для извлечения этих веществ из растительного материала [36]. Предполагается дальнейшее исследование с использованием этанольных экстрактов растений и определением профиля биологически активных соединений.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Aleem A., Akbar Samad A.B., Slenker A.K. Emerging Variants of SARS-CoV-2 And Novel Therapeutics Against Coronavirus (COVID-19). 2022 May 12. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.
2. Abdoli A., Falahi S., Kenarkoobi A. COVID-19-associated opportunistic infections: a snapshot on the current reports // Clin Exp Med. 2022. V. 22. P. 327-346. DOI: 10.1007/s10238-021-00751-7
3. Franceschini E., Cozzi-Lepri A., Santoro A., Bacca E., Lancellotti G., Menozzi M., Gennari W., Meschiari M., Bedini A., Orlando G., Puzzolante C., Digaetano M., Milic J., Codeluppi M., Pecorari M.,

- Carli F., Cuomo G., Alfano Gaetano, Corradi L., Tonelli R., De Maria N., Busani S., Biagioni E., Coloretto I., Guaraldi G., Sarti M., Luppi M., Cini E., Girardis M., Gyssens I.C., Mussini C. Herpes Simplex Virus Re-Activation in Patients with SARS-CoV-2 Pneumonia: A Prospective, Observational Study // Microorganisms. 2021. V. 9. N 9. P. 1896. DOI: 10.3390/microorganisms9091896
4. Maia C.M.F., Marques N.P., de Lucena E.H.G., de Rezende L.F., Martelli D.R.B., Martelli-Júnior H. Increased number of Herpes Zoster cases in Brazil related to the COVID-19 pandemic // Int. J. Infect. Dis. 2021. N 104. P. 732-733. DOI: 10.1016/j.ijid.2021.02.033
5. Dursun R., Temiz S.A. The clinics of HHV-6 infection in COVID-19 pandemic: Pityriasis rosea and Kawasaki disease // Dermatol. Ther. 2020. N 33. e13730. DOI: 10.1111/dth.13730
6. Seeßle J., Hippchen T., Schnitzler P., Gsenger J., Giese T., Merle U. High rate of HSV-1 reactivation in invasively ventilated COVID-19 patients: Immunological findings // PLoS ONE. 2021. V. 16. N 7. e0254129. DOI: 10.1371/journal.pone.0254129
7. Lovati C., Osio M., Pantoni L. Diagnosing herpes simplex-1 encephalitis at the time of COVID-19 pandemic // Neurol Sci. 2020. V. 41. N 6. P. 1361-1364. DOI: 10.1007/s10072-020-04461-y
8. Alharthy A., Faqih F., Noor A., Memish Z.A., Karakitsos D. Co-infection of human immunodeficiency virus, herpes simplex virus-2 and SARS-CoV-2 with false-negative real-time polymerase chain reaction // Singapore Med J. 2022. V. 63(6). P. 345-347. DOI: 10.11622/smedj.2020158
9. Al-Dwairi R.A., Aleshawi A., Adi S., Abu-Zreig L. Reactivation of Herpes Simplex Keratitis on a Corneal Graft Following SARS-CoV-2 mRNA Vaccination // Med Arch. 2022. V. 76. N 2. P. 146-148. DOI: 10.5455/medarch.2022.76.146-148
10. Tognarelli E.I., Palomino T.F., Corrales N., Bueno S.M., Kalergis A.M., González P.A. Herpes Simplex Virus Evasion of Early Host Antiviral Responses // Front Cell Infect Microbiol. 2019. V. 9. pp. 127. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00127
11. Koelle D.M., Norberg P., Fitzgibbon M.P., Russell R.M., Greninger A.L., Huang M.-L., Stensland L., Jing L., Magaret A.S., Diem K., Selke S., Xie H., Celum C., Lingappa J.R., Jerome K.R., Wald A., Johnston C. Worldwide circulation of HSV-2 × HSV-1 recombinant strains // Sci Rep. 2017. N 7. P. 44084. DOI: 10.1038/srep44084

12. Forni D., Pontremoli C., Clerici M., Pozzoli U., Cagliani R., Sironi M. Recent out-of-Africa migration of human herpes simplex viruses // *Mol. Biol. Evol.* 2020. N 37. P. 1259-1271. DOI: 10.1093/molbev/msaa001
13. James C., Harfouche M., Welton N.J., Turner K.M., Abu-Raddad L.J., Gottlieb S.L., Looker K.J. Herpes simplex virus: Global infection prevalence and incidence estimates, 2016 // *Bull. World Health Organ.* 2020. N 98. P. 315-329. DOI: 10.2471/BLT.19.237149
14. Trembl J., Gazdová M., Šmejkal K., Šudomová M., Kubatka P., Hassan Sherif T.S. Natural Products-Derived Chemicals: Breaking Barriers to Novel Anti-HSV Drug Development // *Viruses.* 2020. V. 12. N 2. pp. 154. DOI: 10.3390/v12020154
15. McQuillan G., Kruszon-Moran D., Flagg E.W., Paulose-Ram R. Prevalence of Herpes Simplex Virus Type 1 and Type 2 in Persons Aged 14-49: United States, 2015-2016 // *NCHS Data Brief.* 2018. N 304. P. 1-8.
16. Egan K.P., Wu S., Wigdahl B., Jennings S.R. Immunological control of herpes simplex virus infections // *J. Neurovirol.* 2013. N 19. P. 328-345. DOI: 10.1007/s13365-013-0189-3
17. Silhol R., Coupland H., Baggaley R.F., Miller L., Staadegaard L., Gottlieb S.L., Stannah J., Turner K.M.E., Vickerman P., Hayes R., Mayaud P., Looker K.J., Boily M.-C. What is the burden of heterosexually-acquired HIV due to HSV-2? Global and regional model-based estimates of the proportion and number of HIV infections attributable to HSV-2 infection // *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2021. V. 88. Iss. 1. P. 19-30. DOI: 10.1097/QAI.0000000000002743
18. Mrazova V., Golais F.B. A Possible Role of Human Herpes Viruses Belonging to the Subfamily Alphaherpesvirinae in the Development of Some Cancers // *Klin Onkol.* Spring. 2018. V. 31. N 3. P. 178-183. DOI: 10.14735/amko2018178
19. Aschner C.B., Herold B.C. Alphaherpesvirus Vaccines // *Curr Issues Mol Biol.* 2021. N 41. P. 469-508. DOI: 10.21775/cimb.041.469
20. Whitley R., Baines J. Clinical management of herpes simplex virus infections: Past, present, and future // *F1000 Res.* 2018. no. 7. F1000 Faculty Rev-1726. DOI: 10.12688/f1000research.16157.1
21. 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. N 26. Article number: 2515690X20978394. DOI: 10.1177/2515690X20978394
22. Ding L., Jiang P., Xu X., Lu W., Yang C., Li L., Zhou P., Liu S. T-type calcium channels blockers inhibit HSV-2 infection at the late stage of genome replication // *Eur J Pharmacol.* 2021. N 892. Article number: 173782. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173782
23. Mucsi L., Gyulai Z., Béládi I. Combined effects of flavonoids and acyclovir against herpesviruses in cell cultures // *Acta Microbiol Hung.* 1992. V. 39. N 2. P. 137-47.
24. Mhatre S., Srivastava T., Naik S., Patravale V. Antiviral activity of green tea and black tea polyphenols in prophylaxis and treatment of COVID-19: A review // *Phytomedicine.* 2020. V. 85. Article number: 153286. DOI: 10.1016/j.phymed.2020.153286
25. Musarra-Pizzo M., Pennisi R., Ben-Amor I., Smeriglio A., Mandalari G., Sciortino M.T. In Vitro Anti-HSV-1 Activity of Polyphenol-Rich Extracts and Pure Polyphenol Compounds Derived from Pistachios Kernels (*Pistacia vera* L.) // *Plants (Basel).* 2020. V. 9. N 2. P. 267. DOI: 10.3390/plants9020267
26. Cascella M., Bimonte S., Muzio M.R., Schiavone V., Cuomo A. The efficacy of Epigallocatechin-3-gallate (green tea) in the treatment of Alzheimer's disease: an overview of pre-clinical studies and translational perspectives in clinical practice // *Infect Agent Cancer.* 2017. N 12. P. 36. DOI: 10.1186/s13027-017-0145-6
27. Zakaryan H., Arabyan E., Oo A., Zandi K. Flavonoids: promising natural compounds against viral infections // *Arch Virol.* 2017. V. 162. N 9. P. 2539-2551. DOI: 10.1007/s00705-017-3417-y
28. Jo S., Kim S., Shin D.H., Kim M.-S. Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids // *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2020. V. 35. N 1. P. 145-151. DOI: 10.1080/14756366.2019.1690480
29. Mhatre S., Srivastava T., Naik S., Patravale V. Antiviral activity of green tea and black tea polyphenols in prophylaxis and treatment of COVID-19: A review // *Phytomedicine.* 2021. N 85. Article number: 153286. DOI: 10.1016/j.phymed.2020.153286
30. 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. N 2. С. 76-90. DOI: 10.18470/1992-1098-2022-2-76-9
31. Разумов И.А., Косонова Т.А., Казачинская Е.И., Пучкова Л.И., Щербакowa Н.С., Горбунова И.А., Михайловская И.Н., Локтев В.Б., Теплякова Т.В. Противовирусная активность водных экстрактов и полисахаридных фракций, полученных из мицелия и плодовых тел высших грибов // *Антибиотики и химиотерапия.* 2010. Т. 55. N 9-10. С. 14-18.
32. Мазуркова Н.А., Кукушкина Т.А., Высочина Г.И., Ибрагимова Ж.Б., Лобанова И.Е., Филиппова Е.И., Мазуркова О.Ю., Макаревич Е.В., Шишкина Л.Н., Агафонов А.П. Изучение противогерпетической активности экстрактов манжетки обыкновенной (*Alchemilla vulgaris* L.) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. Т. 1. N 14. С. 118-127.
33. Сулопаров М.А., Глотов А.Г., Глотова Т.И. Изучение эффективности лечебно-профилактического действия сверхмалых доз антител к гамма интерферону на экспериментальной мышинной модели герпес-вирусной инфекции // *Антибиотики и химиотерапия.* 2004. Т. 49. N 10. С. 3-6.
34. Шаполова Е.Г., Ломовский О.И., Казачинская Е.И., Локтев В.Б., Теплякова Т.В. Антивирусная активность композитов диоксида кремния с полифенолами, полученных механохимическим методом из растительного сырья // *Химико-фармацевтический журнал.* 2016. Т. 50. N 9. С. 25-29.
35. Фисенко В.П. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Минздрав РФ, ЗАО «ИИА «Ремедиум», Москва. 2000. 398 с.
36. Hassan S.T.S., Berchova-Bimova K., Šudomova M., Malanik M., Šmejkal K., Rengasamy K.R.R. In Vitro Study of Multi-Therapeutic Properties of *Thymus bovei* Benth. Essential Oil and Its Main Component for Promoting Their Use in Clinical Practice // *J. Clin. Med.* 2018. N 7. P. 283. DOI: 10.3390/jcm7090283
37. Cheng H.-Y., Lin L.-T., Huang H.-H., Yang C.-M., Lin C.-C. Yin Chen Hao Tang, a Chinese prescription, inhibits both herpes simplex virus type-1 and type-2 infections in vitro // *Antiviral Res.* 2008. V. 77. N 1. P. 14-19. DOI: 10.1016/j.antiviral.2007.08.012
38. Churqui M.P., Lind L., Thörn K., Svensson A., Savolainen O., Aranda K.T., Kristina E. 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. N 210. P. 192-197. DOI: 10.1016/j.jep.2017.08.010
39. Lu Y., Jia Y., Xue Z., Li N., Liu J., Chen H. Recent Developments in *Inonotus obliquus* (Chaga mushroom) Polysaccharides: Isolation, Structural Characteristics, Biological Activities and Application // *Polymers (Basel).* 2021. V. 13. N 9. P. 1441. DOI: 10.3390/polym13091441
40. Lugini A., Sibille G., Moggetti B., Sainas S., Pippione A.C., Giorgis M., Boschi D., Lolli M.L., Griabaud G. Effective deploying of a novel DHODH inhibitor against herpes simplex type 1 and type 2 replication // *Antiviral Res.* 2021. V. 189. Article number: 105057. DOI: 10.1016/j.antiviral.2021.105057
41. Hassan S.T.S., Švajdlenka E., Berchová-Bímová K. Hibiscus sabdariffa L. and Its Bioactive Constituents Exhibit Antiviral Activity against HSV-2 and Anti-enzymatic Properties against Urease by an ESI-MS Based Assay // *Molecules.* 2017. V. 22. N 5. P. 722. DOI: 10.3390/molecules22050722
42. Krummenacher C., Baribaud F., de Leon M.P., Baribaud I., Whitbeck J.C., Xu R., Cohen G. H., Eisenberg R.J. Comparative

usage of herpesvirus entry mediator A and nectin-1 by laboratory strains and clinical isolates of herpes simplex virus // *Virology*. 2004. V. 322. N 2. P. 286-299. DOI: 10.1016/j.virol.2004.02.005

43. Arduino P.G., Porter S.R. Herpes Simplex Virus Type 1 infection: Overview on relevant clinico-pathological features // *J. Oral Pathol. Med.* 2008. V. 37. P. 107-121. DOI: 10.1111/j.1600-0714.2007.00586.x

44. Jambunathan N., Clark C.M., Musarrat F., Chouljenko V.N., Rudd J., Kousoulas K.G. Two Sides to Every Story: Herpes Simplex Type-1 Viral Glycoproteins gB, gD, gH/gL, gK, and Cellular Receptors Function as Key Players in Membrane Fusion // *Viruses*. 2021. V. 13. N 9. P. 1849. DOI: 10.3390/v13091849

45. Smith G.A. Navigating the Cytoplasm: Delivery of the Alphaherpesvirus Genome to the Nucleus // *Curr Issues Mol Biol.* 2021. N 41. P. 171-220. DOI: 10.21775/cimb.041.171

46. Connolly S.A., Jardetzky T.S., Longnecker R. The structural basis of herpesvirus entry // *Nat Rev Microbiol.* 2021. V. 19. N 2. P. 110-121. DOI: 10.1038/s41579-020-00448-w

47. Demir S., Atayoglu A.T., Galeotti F., Garzarella E.U., Zaccaria V., Volpi N., Karagoz A., Sahin F. Antiviral activity of different extracts of standardized propolis preparations against HSV // *Antivir Ther.* 2020. V. 25. N 7. P. 353-363. DOI: 10.3851/IMP3383

48. Mohan S., Taha M.M.E., Makeen H.A., Alhazmi H.A., Bratty M.A., Sultana S., Ahsan W., Najmi A., Khalid A. Bioactive Natural Antivirals: An Updated Review of the Available Plants and Isolated Molecules // *Molecules*. 2020. V. 25. N 21. P. 4878. DOI: 10.3390/molecules25214878

49. 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. N 114. P. 291-298. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.12.017

50. 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. N 213. P. 403-408. DOI: 10.1016/j.jep.2017.11.039

51. Ojha D., Das R., Sobia P., Dwivedi V., Ghosh S., Samanta A., Chattopadhyay D. Pedilanthus tithymaloides Inhibits HSV Infection by Modulating NF- κ B Signaling // *PLoS One*. 2015. V. 10. N 9. e0139338. DOI: 10.1371/journal.pone.0139338

52. Zannella C., Giugliano R., Chianese A., Buonocore C., Vitale G.A., Sanna G., Sarno F., Manzin A., Nebbioso A., Termolino P., Altucci L., Massimiliano G., de Pascale D., Franci G. Antiviral Activity of *Vitis vinifera* Leaf Extract against SARS-CoV-2 and HSV-1 // *Viruses*. 2021. V. 13. N 7. P. 1263. DOI: 10.3390/v13071263

53. Теплякова Т.В., Пьянков О.В., Скарнович М.О., Бормотов Н.И., Потешкина А.Л., Овчинникова А.С., Косогова Т.А., Матеррамова А.В., Маркович Н.А., Филиппова Е.И. Ингибитор репликации коронавируса SARS-CoV-2 на основе водного экстракта гриба *Inonotus obliquus*. // Пат. РФ N 2741714C1; опубл. 28.01.2021 в Бюл. N 4.

REFERENCES

1. Aleem A., Akbar Samad A.B., Slenker A.K. Emerging Variants of SARS-CoV-2 And Novel Therapeutics Against Coronavirus (COVID-19). 2022 May 12. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.

2. Abdoli A., Falahi S., Kenarkoobi A. COVID-19-associated opportunistic infections: a snapshot on the current reports. *Clin Exp Med.* 2022, vol. 22, pp. 327-346. DOI: 10.1007/s10238-021-00751-7

3. Franceschini E., Cozzi-Lepri A., Santoro A., Bacca E., Lancellotti G., Menozzi M., Gennari W., Meschiari M., Bedini A., Orlando G., Puzzolante C., Digaetano M., Milic J., Codeluppi M., Pecorari M., Carli F., Cuomo G., Alfano Gaetano, Corradi L., Tonelli R., De Maria N., Busani S., Biagioni E., Coloretto I., Guaraldi G., Sarti M., Luppi M., Clini E., Girardis M., Gyssens I.C., Mussini C. Herpes Simplex Virus Re-Activation in Patients with SARS-CoV-2 Pneumonia: A

Prospective, Observational Study. *Microorganisms*, 2021, vol. 9, no. 9, pp. 1896. DOI: 10.3390/microorganisms9091896

4. Maia C.M.F., Marques N.P., de Lucena E.H.G., de Rezende L.F., Martelli D.R.B., Martelli-Júnior H. Increased number of Herpes Zoster cases in Brazil related to the COVID-19 pandemic. *Int. J. Infect. Dis.*, 2021, no. 104, pp. 732-733. DOI: 10.1016/j.ijid.2021.02.033

5. Dursun R., Temiz S.A. The clinics of HHV-6 infection in COVID-19 pandemic: Pityriasis rosea and Kawasaki disease. *Dermatol. Ther.*, 2020, no. 33, e13730. DOI: 10.1111/dth.13730

6. Seeßle J., Hippchen T., Schnitzler P., Gsenger J., Giese T., Merle U. High rate of HSV-1 reactivation in invasively ventilated COVID-19 patients: Immunological findings. *PLoS ONE*, 2021, vol. 16, no. 7, e0254129. DOI: 10.1371/journal.pone.0254129

7. Lovati C., Osio M., Pantoni L. Diagnosing herpes simplex-1 encephalitis at the time of COVID-19 pandemic. *Neurol Sci.*, 2020, vol. 41, no. 6, pp. 1361-1364. DOI: 10.1007/s10072-020-04461-y

8. Alharthy A., Faqih F., Noor A., Memish Z.A., Karakitsos D. Co-infection of human immunodeficiency virus, herpes simplex virus-2 and SARS-CoV-2 with false-negative real-time polymerase chain reaction. *Singapore Med J.*, 2022, vol. 63(6), pp. 345-347. DOI: 10.11622/smedj.2020158

9. Al-Dwairi R.A., Aleshawi A., Adi S., Abu-Zreig L. Reactivation of Herpes Simplex Keratitis on a Corneal Graft Following SARS-CoV-2 mRNA Vaccination. *Med Arch.*, 2022, vol. 76, no. 2, pp. 146-148. DOI: 10.5455/medarch.2022.76.146-148

10. Tognarelli E.I., Palomino T.F., Corrales N., Bueno S.M., Kalergis A.M., González P.A. Herpes Simplex Virus Evasion of Early Host Antiviral Responses. *Front Cell Infect Microbiol.*, 2019, vol. 9, pp. 127. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00127

11. Koelle D.M., Norberg P., Fitzgibbon M.P., Russell R.M., Greninger A.L., Huang M.-L., Stensland L., Jing L., Magaret A.S., Diem K., Selke S., Xie H., Celum C., Lingappa J.R., Jerome K.R., Wald A., Johnston C. Worldwide circulation of HSV-2 $\times$ HSV-1 recombinant strains. *Sci Rep.*, 2017, no. 7, pp. 44084. DOI: 10.1038/srep44084

12. Forni D., Pontremoli C., Clerici M., Pozzoli U., Cagliani R., Sironi M. Recent out-of-Africa migration of human herpes simplex viruses. *Mol. Biol. Evol.*, 2020, no. 37, pp. 1259-1271. DOI: 10.1093/molbev/msaa001

13. James C., Harfouche M., Welton N.J., Turner K.M., Abu-Raddad L.J., Gottlieb S.L., Looker K.J. Herpes simplex virus: Global infection prevalence and incidence estimates, 2016. *Bull. World Health Organ.*, 2020, no. 98, pp. 315-329. DOI: 10.2471/BLT.19.237149

14. Tremblay J., Gazdová M., Šmejkal K., Šudomová M., Kubatka P., Hassan Sherif T.S. Natural Products-Derived Chemicals: Breaking Barriers to Novel Anti-HSV Drug Development. *Viruses*, 2020, vol. 12, no. 2, pp. 154. DOI: 10.3390/v12020154

15. McQuillan G., Kruszon-Moran D., Flagg E.W., Paulose-Ram R. Prevalence of Herpes Simplex Virus Type 1 and Type 2 in Persons Aged 14-49: United States, 2015-2016. *NCHS Data Brief.*, 2018, no. 304, pp. 1-8.

16. Egan K.P., Wu S., Wigdahl B., Jennings S.R. Immunological control of herpes simplex virus infections. *J. Neurovirol.*, 2013, no. 19, pp. 328-345. DOI: 10.1007/s13365-013-0189-3

17. Silhol R., Coupland H., Baggaley R.F., Miller L., Staadegaard L., Gottlieb S.L., Stannah J., Turner K.M.E., Vickerman P., Hayes R., Mayaud P., Looker K.J., Boily M.-C. What is the burden of heterosexually-acquired HIV due to HSV-2? Global and regional model-based estimates of the proportion and number of HIV infections attributable to HSV-2 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr.*, 2021, vol. 88, iss. 1, pp. 19-30. DOI: 10.1097/QAI.0000000000002743

18. Mrazova V., Golais F.B. A Possible Role of Human Herpes Viruses Belonging to the Subfamily Alphaherpesvirinae in the Development of Some Cancers. *Klin Onkol. Spring.*, 2018, vol. 31, no. 3, pp. 178-183. DOI: 10.14735/amko2018178

19. Aschner C.B., Herold B.C. Alphaherpesvirus Vaccines. *Curr Issues Mol Biol.*, 2021, no. 41, pp. 469-508. DOI: 10.21775/cimb.041.469

20. Whitley R., Baines J. Clinical management of herpes simplex virus infections: Past, present, and future. *F1000 Res.*, 2018, no. 7. F1000 Faculty Rev-1726. DOI: 10.12688/f1000research.16157.1
21. 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, no. 26, article number: 2515690X20978394. DOI: 10.1177/2515690X20978394
22. Ding L., Jiang P., Xu X., Lu W., Yang C., Li L., Zhou P., Liu S. T-type calcium channels blockers inhibit HSV-2 infection at the late stage of genome replication. *Eur J Pharmacol.*, 2021, no. 892, article number: 173282. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173282
23. Mucsi I., Gyulai Z., Béliádi I. Combined effects of flavonoids and acyclovir against herpesviruses in cell cultures. *Acta Microbiol Hung.*, 1992, vol. 39, no. 2, pp. 137-47.
24. Mhatre S., Srivastava T., Naik S., Patravale V. Antiviral activity of green tea and black tea polyphenols in prophylaxis and treatment of COVID-19: A review. *Phytomedicine*, 2020, vol. 85, article number: 153286. DOI: 10.1016/j.phymed.2020.153286
25. Musarra-Pizzo M., Pennisi R., Ben-Amor I., Smeriglio A., Mandalari G., Sciortino M.T. In Vitro Anti-HSV-1 Activity of Polyphenol-Rich Extracts and Pure Polyphenol Compounds Derived from Pistachios Kernels (*Pistacia vera* L.). *Plants (Basel)*, 2020, vol. 9, no. 2, pp. 267. DOI: 10.3390/plants9020267
26. Cascella M., Bimonte S., Muzio M.R., Schiavone V., Cuomo A. The efficacy of Epigallocatechin-3-gallate (green tea) in the treatment of Alzheimer's disease: an overview of pre-clinical studies and translational perspectives in clinical practice. *Infect Agent Cancer.*, 2017, no. 12, pp. 36. DOI: 10.1186/s13027-017-0145-6
27. Zakaryan H., Arabyan E., Oo A., Zandi K. Flavonoids: promising natural compounds against viral infections. *Arch Virol.*, 2017, vol. 162, no. 9, pp. 2539-2551. DOI: 10.1007/s00705-017-3417-y
28. Jo S., Kim S., Shin D.H., Kim M.-S. Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids. *J Enzyme Inhib Med Chem.*, 2020, vol. 35, no. 1, pp. 145-151. DOI: 10.1080/14756366.2019.1690480
29. Mhatre S., Srivastava T., Naik S., Patravale V. Antiviral activity of green tea and black tea polyphenols in prophylaxis and treatment of COVID-19: A review. *Phytomedicine*, 2021., no. 85, article number: 153286. DOI: 10.1016/j.phymed.2020.153286
30. Kazachinskaja E.I., Chepurinov A.A., Kononova Yu.V., Shelemba A.A., Romanyuk V.V., Magomedov M.G., Shestopalov A.M. Inhibitory activity of tea compositions and their constituent ingredients on SARS-CoV-2 replication in vitro. *South of Russia: ecology, development*, 2022, vol. 17, no. 2, pp. 76-90. (In Russian) DOI: 10.18470/1992-1098-2022-2-76-90
31. Razumov I.A., Kosogova T.A., Kazachinskaja E.I., Puchkova L.I., Shcherbakova N.C., Gorbunova I.A., Mikhailovskaya I.N., Loktev V.B., Teplyakova T.V. Antiviral activity of aqueous extracts and polysaccharide fractions obtained from mycelium and fruiting bodies of higher fungi. Antibiotiki i khimioterapiya [Antibiotics and chemotherapy]. 2010, vol. 55, no. 9-10, pp. 14-18. (In Russian)
32. Mazurkova N.A., Kukushkina T.A., Vysochina G.I., Ibragimova G.B., Lobanova I.E., Filippova E.I., Mazurkova O.Ju., Makarevich E.V., Shishkina L.N., Agafonov A.P. The study of the antiherpetic activity of extracts of the common cuff (*Alchemilla vulgaris* L.). Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv [Drug development & registration]. 2016, vol. 1, no. 14, pp. 118-127. (In Russian)
33. Susloparov M.A., Glotov A.G., Glotova T.I. To study the effectiveness of the therapeutic and prophylactic effect of ultra-low doses of antibodies to gamma interferon on an experimental mouse model of herpes virus infection. Antibiotiki i khimioterapiya [Antibiotics and chemotherapy]. 2004, vol. 49, no. 10, pp. 3-6. (In Russian)
34. Shapolova E.G., Lomovsky O.I., Kazachinskaja E.I., Loktev V.B., Teplyakova T.V. Antiviral Activity of Silicon Dioxide Composites with Polyphenols Obtained by Mechanochemical Method from Plant Raw Materials. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal* [Chemico-pharmaceutical J.]. 2016, vol. 50, no. 9, pp. 25-29. (In Russian)
35. Fisenko V.P. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv* [Guidelines for experimental (preclinical) study of new pharmacological substances]. Moscow, 2000, 398 p. (In Russian)
36. Hassan S.T.S., Berchova-Bimova K., Šudomova M., Malanik M., Smejkal K., Rengasamy K.R.R. In Vitro Study of Multi-Therapeutic Properties of *Thymus bovei* Benth. Essential Oil and Its Main Component for Promoting Their Use in Clinical Practice. *J. Clin. Med.*, 2018, no. 7, pp. 283. DOI: 10.3390/jcm7090283
37. Cheng H.-Y., Lin L.-T., Huang H.-H., Yang C.-M., Lin C.-C. Yin Chen Hao Tang, a Chinese prescription, inhibits both herpes simplex virus type-1 and type-2 infections *in vitro*. *Antiviral Res.*, 2008, vol. 77, no. 1, pp. 14-19. DOI: 10.1016/j.antiviral.2007.08.012
38. Churqui M.P., Lind L., Thörn K., Svensson A., Savolainen O., Aranda K.T., Kristina E. 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, no. 210, pp. 192-197. DOI: 10.1016/j.jep.2017.08.010
39. Lu Y., Jia Y., Xue Z., Li N., Liu J., Chen H. Recent Developments in *Inonotus obliquus* (Chaga mushroom) Polysaccharides: Isolation, Structural Characteristics, Biological Activities and Application. *Polymers (Basel)*, 2021, vol. 13, no. 9, pp. 1441. DOI: 10.3390/polym13091441
40. Luganini A., Sibille G., Moggetti B., Sainas S., Pippione A.C., Giorgis M., Boschi D., Lolli M.L., Griboaud G. Effective deploying of a novel DHODH inhibitor against herpes simplex type 1 and type 2 replication. *Antiviral Res.*, 2021, vol. 189, article number: 105057. DOI: 10.1016/j.antiviral.2021.105057
41. Hassan S.T.S., Švajdenka E., Berchová-Bimová K. Hibiscus sabdariffa L. and Its Bioactive Constituents Exhibit Antiviral Activity against HSV-2 and Anti-enzymatic Properties against Urease by an ESI-MS Based Assay. *Molecules*, 2017, vol. 22, no. 5, pp. 722. DOI: 10.3390/molecules22050722
42. Krummenacher C., Baribaud F., de Leon M.P., Baribaud I., Whitbeck J.C., Xu R., Cohen G. H., Eisenberg R.J. Comparative usage of herpesvirus entry mediator A and nectin-1 by laboratory strains and clinical isolates of herpes simplex virus. *Virology*, 2004, vol. 322, no. 2, pp. 286-299. DOI: 10.1016/j.virol.2004.02.005
43. Arduino P.G., Porter S.R. Herpes Simplex Virus Type 1 infection: Overview on relevant clinico-pathological features. *J. Oral Pathol. Med.*, 2008, vol. 37, pp. 107-121. DOI: 10.1111/j.1600-0714.2007.00586.x
44. Jambunathan N., Clark C.M., Musarrat F., Chouljenko V.N., Rudd J., Kousoulas K.G. Two Sides to Every Story: Herpes Simplex Type-1 Viral Glycoproteins gB, gD, gH/gL, gK, and Cellular Receptors Function as Key Players in Membrane Fusion. *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 9, pp. 1849. DOI: 10.3390/v13091849
45. Smith G.A. Navigating the Cytoplasm: Delivery of the Alphaherpesvirus Genome to the Nucleus. *Curr Issues Mol Biol.*, 2021, no. 41, pp. 171-220. DOI: 10.21775/cimb.041.171
46. Connolly S.A., Jardetzky T.S., Longnecker R. The structural basis of herpesvirus entry. *Nat Rev Microbiol.*, 2021, vol. 19, no. 2, pp. 110-121. DOI: 10.1038/s41579-020-00448-w
47. Demir S., Atayoglu A.T., Galeotti F., Garzarella E.U., Zaccaria V., Volpi N., Karagoz A., Sahin F. Antiviral activity of different extracts of standardized propolis preparations against HSV. *Antivir Ther.*, 2020, vol. 25, no. 7, pp. 353-363. DOI: 10.3851/IMP3383
48. Mohan S., Taha M.M.E., Makeen H.A., Alhazmi H.A., Bratty M.A., Sultana S., Ahsan W., Najmi A., Khalid A. Bioactive Natural Antivirals: An Updated Review of the Available Plants and Isolated Molecules. *Molecules*, 2020, vol. 25, no. 21, pp. 4878. DOI: 10.3390/molecules25214878
49. 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. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.12.017
50. 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, no. 213, pp. 403-408. DOI: 10.1016/j.jep.2017.11.039

51. Ojha D., Das R., Sobia P., Dwivedi V., Ghosh S., Samanta A., Chattopadhyay D. Pedilanthus tithymaloides Inhibits HSV Infection by Modulating NF- κ B Signaling. *PLoS One*, 2015, vol. 10, no. 9, e0139338. DOI: 10.1371/journal.pone.0139338

52. Zannella C., Giugliano R., Chianese A., Buonocore C., Vitale G.A., Sanna G., Sarno F., Manzin A., Nebbioso A., Termino P.,

Altucci L., Massimiliano G., de Pascale D., Franci G. Antiviral Activity of *Vitis vinifera* Leaf Extract against SARS-CoV-2 and HSV-1. *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 7, pp. 1263. DOI: 10.3390/v13071263

53. Teplyakova T.V., Pyankov O.V., Skarnovich M.O., Bormotov N.I., Poteshkina A.L., Ovchinnikova A.S., Kosogova T.A., Magerramova A.V., Markovich N.A., Filippova E.I. An inhibitor of SARS-CoV-2 coronavirus replication based on an aqueous extract of the fungus *Inonotus obliquus*. Patent of the Russian Federation no. 2741714C1 published in Bulletin of Inventions no. 4 28.01.2021. (In Russian)

КРИТЕРИИ АВТОРСТВА

Елена И. Казачинская внесла идею исследования, оформила литературный обзор, приготовила водные экстракты растительного сырья, провела эксперименты по реакции нейтрализации (инактивации) вируса и обработку результатов. Александр А. Чепурнов и Арсения А. Шелемба культивировали инфекционный HSV-2, проводили титрование вируса и подготовку аликвот с определенным инфекционным титром. Юлия В. Кононова культивировала Vero и проводила эксперименты по анализу цитотоксичности экстрактов. Владимир В. Романюк разработал чайные композиции. Сакинат А. Гусейнова и Магомед Г. Магомедов участвовали в поиске литературных источников и корректировали рукопись до подачи в редакцию. Александр М. Шестопалов руководил организационной частью исследования. Все вышеуказанные авторы участвовали в обсуждении полученных результатов в формате научной дискуссии. Все авторы в равной степени участвовали в написании рукописи, и несут ответственность при обнаружении плагиата, самоплагиата или других неэтических проблем.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Elena I. Kazachinskaia developed the concept of the study, designed a literary review, prepared aqueous extracts of plant raw materials, conducted experiments on the virus neutralisation (inactivation) reaction and processed the results. Alexander A. Chepurinov and Arseniya A. Shelemba cultivated infectious HSV-2, titrated the virus and prepared aliquots with a certain infectious titer. Yulia V. Kononova cultivated Vero and conducted experiments to analyse the cytotoxicity of extracts. Vladimir V. Romanyuk developed tea compositions. Sakinat A. Guseinova and Magomed G. Magomedov participated in the search for literary sources and corrected the manuscript before submission to the editor. Alexander M. Shestopalov the organisational part of the study. All authors participated in the discussion of the results obtained in the format of a scientific discussion. All authors are equally participated in the writing of the manuscript and are responsible for plagiarism, self-plagiarism and other ethical transgressions.

NO CONFLICT OF INTEREST DECLARATION

The authors declare no conflict of interest.

ORCID

Елена И. Казачинская / Elena I. Kazachinskaia <https://orcid.org/0000-0002-1856-6147>
 Александр А. Чепурнов / Alexander A. Chepurinov <https://orcid.org/0000-0002-5966-8633>
 Юлия В. Кононова / Yulia V. Kononova <https://orcid.org/0000-0002-3677-3668>
 Арсения А. Шелемба / Arseniya A. Shelemba <https://orcid.org/0000-0001-7840-1478>
 Сакинат А. Гусейнова / Sakinat A. Guseinova <https://orcid.org/0000-0001-5634-2737>
 Магомед Г. Магомедов / Magomed G. Magomedov <https://orcid.org/0000-0003-1897-6784>
 Владимир В. Романюк / Vladimir V. Romanyuk <https://orcid.org/0000-0002-6860-9168>
 Александр М. Шестопалов / Alexander M. Shestopalov <https://orcid.org/0000-0002-9734-0620>