

Оригинальная статья / Original article

УДК 578.7

DOI: 10.18470/1992-1098-2022-4-111-129

Ингибирующая активность сухих этанольных экстрактов *Artemisia* spp. на репликацию SARS-CoV-2 *in vitro*

Елена И. Казачинская^{1,2}, Валерия Д. Романова¹, Алла В. Иванова², Александр А. Чепурнов¹, Зумруд А. Муртазалиева³, Юлия В. Кононова¹, Дмитрий Н. Шауло⁴, Владимир В. Романюк⁵, Александр М. Шестопапов¹

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

²ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»), Новосибирск, Россия

³Дагестанский государственный медицинский университет, Махачкала, Россия

⁴Центральный сибирский ботанический сад (ЦСБС) СО РАН, Новосибирск, Россия

⁵ООО Научно-производственная фирма (НПФ) «Золотая долина», Новосибирск, Россия

Контактное лицо

Елена И. Казачинская, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, Научно-исследовательский институт вирусологии Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины» и ведущий научный сотрудник, ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»; 630559 Россия, Новосибирская область, г. Новосибирск, рабочий поселок Кольцово, 32-1.
Тел. +79095307441
Email lena.kazachinskaja@mail.ru
ORCID <https://orcid.org/0000-0002-1856-6147>

Формат цитирования

Казачинская Е.И., Романова В.Д., Иванова А.В., Чепурнов А.А., Муртазалиева З.А., Кононова Ю.В., Шауло Д.Н., Романюк В.В., Шестопапов А.М. Ингибирующая активность сухих этанольных экстрактов *Artemisia* spp. на репликацию SARS-CoV-2 *in vitro* // Юг России: экология, развитие. 2022. Т.17, N 4. С. 111-129. DOI: 10.18470/1992-1098-2022-4-111-129

Получена 29 октября 2022 г.

Прошла рецензирование 10 ноября 2022 г.

Принята 14 ноября 2022 г.

Список сокращений

COVID-19 – coronavirus disease, 2019;
SARS-CoV-2 – severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; ЦПД – цитопатическое действие; ТЦПД₅₀/мл – тканевая цитопатическая доза; MOI – множественность инфекции, CC₅₀ – 50%-ная цитотоксическая концентрация; EC₅₀ – 50%-ная эффективная концентрация, БАВ – биологически активные вещества, ДМСО – диметилсульфоксид

Резюме

Цель. Анализ *in vitro* ингибирующей активности сухих этанольных экстрактов некоторых *Artemisia* spp., произрастающих в Новосибирской области, на репликацию SARS-CoV-2.

Материалы и методы. Лабораторный штамм SARS-CoV-2/human/RUS/Nsk-FRCFTM-1/2020 пассирован на культуре клеток Vero. Приготовлены сухие этанольные экстракты частей растения (стеблей, цветов, листьев) шести видов полыни: *Artemisia vulgaris* L., *A. glauca* (Pall. Ex Willd.), *A. dracunculus* L. (из трех мест произрастания), *A. absinthium* L., *A. frigida* Willd., *A. sieversiana* Ehrh. ex Willd. Сухие экстракты растворяли в ДМСО. Анализ *in vitro* ингибирующей активности экстрактов на репликацию SARS-CoV-2 (в инфекционном титре 10³ ТЦПД₅₀/мл) проводили в культуре клеток Vero Е6 методом прямой инактивации (нейтрализации) вирионов, а также по схемам «профилактики» и «лечения» клеток. Образцы сравнения – сухие этанольные экстракты чаги, специи гвоздики и черного чая.

Результаты. Экстракты листьев *Artemisia* spp. оказались наиболее эффективны при прямой инактивации вирионов по равной и убывающей активности – *A. vulgaris*, *A. dracunculus**, *A. absinthium*, *A. dracunculus****, *A. dracunculus****, *A. dracunculus****, *A. frigida*, *A. glauca* и *A. sieversiana* в диапазоне 50%-ных эффективных концентраций 1,10±0,24 – 11,72±2,89 мкг/мл. Экстракты цветов *A. vulgaris*, *A. glauca*, *A. dracunculus**, *A. dracunculus****, *A. dracunculus****, *A. frigida* и *A. sieversiana*, также содержат БАВ, действующие как деструктивно на вирионы, так и после проникновения вируса в клетки. Для экстрактов стеблей стабильно высокие значения EC₅₀ выявлены для *A. glauca* (6,84±1,35; 7,81±2,00; 14,06±3,06 мкг/мл) по результатам трех схем экспериментов.

Заключение. Полученные результаты могут стать основой для разработки недорогих отечественных препаратов для лечения и/или профилактики COVID-19.

Ключевые слова

SARS-CoV-2, растительные препараты, ингибирующая активность.

Inhibitory activity of dry ethanol extracts of *Artemisia* spp. on SARS-CoV-2 replication *in vitro*

Elena I. Kazachinskaia^{1,2}, Valeriya D. Romanova¹, Alla V. Ivanova², Alexander A. Chepurnov¹, Zumrud A. Murtazaliev³, Yulia V. Kononova¹, Dmitri N. Shaulo⁴, Vladimir V. Romanyuk⁵ and Alexander M. Shestopalov¹

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

²“Vector” State Research Centre of Virology and Biotechnology, Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Novosibirsk, Russia

³Dagestan State Medical University, Makhachkala, Russia

⁴Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

⁵Zolotaya Dolina Research and Production Co., Novosibirsk, Russia

Principal contact

Elena I. Kazachinskaia, Doctor of Biology, Leading Scientist, Research Institute of Virology, Federal Research Centre of Fundamental and Translational Medicine, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences and Leading Scientist, “Vector”, State Research Centre of Virology and Biotechnology, Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare; 32-1, working settlement of Koltsovo, Novosibirsk, Novosibirskaya oblast, 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., Romanova V.D., Ivanova A.V., Chepurnov A.A., Murtazaliev Z.A., Kononova Yu.V., Shaulo D.N., Romanyuk V.V., Shestopalov A.M. Inhibitory activity of dry ethanol extracts of *Artemisia* spp. on SARS-CoV-2 replication *in vitro*. *South of Russia: ecology, development*. 2022, vol. 17, no. 4, pp. 111-129. (In Russian) DOI: 10.18470/1992-1098-2022-4-111-129

Received 29 October 2022

Revised 10 November 2022

Accepted 14 November 2022

Abbreviations list

COVID-19 – coronavirus disease, 2019;
SARS-CoV-2 – severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; CE – cytopathic effect;
MOI – multiplicity of infection,
TCID₅₀ – 50% tissue culture infectious doses;
CC₅₀ – % cytotoxic concentration,
EC₅₀ – 50% effective concentration;
BAS – biologically active substances,
DMSO – Dimethyl sulfoxide

Abstract

Aim. *In vitro* analysis of the inhibitory activity of dry ethanol extracts of some *Artemisia* spp. growing in the Novosibirsk region for SARS-CoV-2 replication.

Materials and Methods. The laboratory strain SARS-CoV-2/human/RUS/Nsk-FRCFTM-1/2020 was passed on Vero cell culture. Dry ethanol extracts of plant parts (stems, flowers, leaves) of six types of *Artemisia* were prepared. The types used were: *A. vulgaris* L.; *A. glauca* (Pall. Ex Willd.); *A. dracunculus* L. (from three growth locations); *A. absinthium* L.; *A. frigida* Willd.; and *A. sieversiana* Ehrh. ex Willd. Dry extracts were dissolved in DMSO. *In vitro* analysis of the inhibitory activity of extracts against SARS-CoV-2 (an infectious titer of 10³ TCID₅₀/ml) replication was performed in a Vero E6 cell culture. To do this, the method of direct inactivation (neutralization) of virions, as well as schemes of “preventive” and “therapeutic” of cells, were used. Comparison samples were dry ethanol extracts of *Inonotus obliquus*, *Syzygium aromaticum* L. and *Camellia sinensis* L.

Results. Extracts of leaves of *Artemisia* spp. proved to be most effective in direct inactivation of virions. By equal and decreasing activity these are the species: *A. vulgaris*; *A. dracunculus**; *A. absinthium*; *A. dracunculus****; *A. dracunculus***; *A. frigida*; *A. glauca*; and *A. sieversiana* with a 50% effective concentration of range 1.10±0.24 – 11.72±2.89 µg/ml. Extracts of flowers of *A. vulgaris*, *A. glauca*, *A. dracunculus**, *A. dracunculus****, *A. dracunculus****, *A. frigida* and *A. sieversiana* also contain biologically active substances which act both destructively on virions and after the virus has entered cells. For extracts of stems consistently high values of EC₅₀ were found for *A. glauca* (6.84±1.35; 7.81±2.00 and 14.06±3.06 µg/ml) according to the results of three experimental schemes.

Conclusion. The results obtained can become the basis for the development of inexpensive domestic drugs for the treatment and/or prevention of COVID-19.

Key Words

SARS-CoV-2, herbal preparations, inhibitory activity.

ВВЕДЕНИЕ

Род *Artemisia* L. (Asteraceae), названный в честь греческой богини охоты и плодородия Артемиды, объединяет, по данным обзора Bora с соавт. 2011 г., более 500 видов полыни различных жизненных форм (травы, кустарники и реже деревья) [1]. В «Списке растений» World Flora Online на 2022 г. указано более двух тысяч видов рода *Artemisia* [2]. Виды полыней распространены преимущественно в теплой зоне северного полушария, но отчасти заходящие в Арктику [3]. Многие из них адвентивные, а некоторые являются даже инвазивными [4] и в то же время некоторые виды занесены в международную Красную книгу (Red List) – *A. umbelliformis*, *A. bhutanica*, *A. panicii*, *A. granatensis*, *A. argentea*, *A. gorgonum*, *A. kauaiensis*, *A. insipida*, *A. genipi*, *A. eriantha*, *A. oelandica*, *A. molinieri*, *A. tridentate* [5]. Традиционно и этнофармакологически *Artemisia* spp. используются как в качестве добавок (специй) к пище и напиткам, так и для лечения ряда заболеваний [4] и определенных проблем со здоровьем, таких как раздражительность, бессонница, стресс, тревога, депрессия, эпилепсия и психоневроз [2]. Широкое распространение, разнообразие компонентного состава и обусловленный этим широкий спектр фармакологических эффектов сделали растения рода *Artemisia* популярными средствами народной медицины, обеспечили их изучение и последующее внедрение в официальную медицину [4]. Самый известный в мире вид – это полынь однолетняя *A. annua* L., которая издавна применялась в китайской народной медицине [4] и стала источником артемизинина – сесквитерпенового лактона, обладающего противомаларийной активностью, за открытие которого китайская ученая Youyou Tu в 2015 г. получила Нобелевскую премию по физиологии и медицине [6]. К настоящему времени в составе *A. annua* L. идентифицировано более 600 химических компонентов – вторичных метаболитов [7], которые в разных сочетаниях и количествах встречаются и у других представителей рода *Artemisia*, в связи с этим растительные препараты этих растений обладают различными терапевтическими эффектами – противомаларийным, антиоксидантным, противоопухолевым, спазмолитическим, гепатопротекторным, антиноцицептивным (обезболивающим), противоревматическим, противовоспалительным, антисептическим, антибактериальным и противовирусным действием [2; 4].

На сегодняшний день для растительных препаратов (водных, этанольных и метанольных экстрактов целых растений или отдельных частей в виде листьев и соцветий) 23-х видов *Artemisia*, произрастающих в разных регионах мира, описана противовирусная активность при 17-ти различных типах заболеваний, вызываемых разными вирусами: *A. annua* L. (Корея, Китай, Испания, Иран, Германия, Африка) – против HIV-1 (Human immunodeficiency virus 1), BVDV (Bovine viral diarrhoea virus), HBV (Hepatitis B virus), HCV (Hepatitis C virus), HSV-1 (Herpes simplex virus type 1), IV-A (Influenza virus A), SARS-CoV (Severe acute respiratory syndrome corona virus) и SARS-CoV-2; *A. afra* Jacq. Ex Willd. (Эфиопия, Германия) – против HIV-1, HIV-2, SARS-CoV-2; *A. abyssinica* Schtz. Bip ex A. Richard. (Эфиопия) – против HIV-1, HIV-2; *A. arborescens* (Vaill.) L. (Италия) – против HSV-1, HSV-2;

A. campestris L. (Bhfy) – против HSV-1; *A. campestris* subsp. *glutinosa* (Besser) Batt. (Испания) – против HIV-1; *A. capillaris* Thunb. (Япония, Китай, Корея) – против HIV, HBV, EBV (Human gammaherpesvirus type 4 (Epstein-Barr virus)); *A. chamaemelifolia* Vill. (Иран, Болгария) – против HSV-1, HSV-2; *A. caruifolia* Roxb. (Непал, Китай) – против HIV-1, HSV-1, IV-A; *A. douglasiana* Bess. (Аргентина) – против HSV-1, JUNV (Junin virus), DEN-2 (Dengue virus type 2); *A. fragrans* Willd. (Иран) – против HSV-1; *A. glabella* Kar. et Kir. (Казахстан) – FCV (Feline calicivirus), IV (штамм Rostok 34), NDV (Newcastle disease virus); *A. herba-alba* Asso. (Марокко) – против HSV-1, SV (Sindbis virus), PV (Polio virus), SARS-CoV; *A. incana* L. Druce (Иран) – против HSV-1; *A. kermanensis* Podl. (Иран) – против HSV-1; *A. mendozana* D.C. (v.n. ajenjo) (Аргентина) – против HSV-1, JUNV, DEN-2; *A. morrissonensis* Hayata. (Китай) – HBV; *A. persica* Boiss. (Иран) – против HSV-1; *A. princeps* var. *orientalis* (Корея) – против MNV-1 (Murine norovirus 1), FCV; *A. scoparia* Waldst. & Kit. (Китай) – против IV; *A. verlotiorum* Lamotte. (Италия) – против FIV (Feline immunodeficiency virus); *A. vulgaris* L. (Армения, Иран) – против YFV-17D (штамм 17D Yellow fever virus); *A. absinthium* L. (Марокко, Индия) – против HIV-1, HSV-1, HBV, SV, PV. Антивирусную активность *Artemisia* spp. связывают с многочисленными флавоноидами, такими как полиметоксифлавоноиды, и терпенами, такими как артемизинин и артезунат [2].

В литературе в настоящее время есть всего несколько сообщений об ингибирующей активности *in vitro* препаратов полыни против SARS-CoV-2, в основном, это вид *A. annua* L., например: (1) Сао с соавт. в 2020 г. провели в Китае анализ девяти коммерчески доступных соединений, синтезированных на основе артемизинина (Artemisinin, Artemether, Artesunate, Dihydroartemisinin, Artemisinic acid, Arteether, Lumefantrine, Arteannuin B, Artemisone, растворенные в ДМСО) против инфекционного вируса (штамм nCoV-2019BetaCoV/Wuhan/WIV04/2019) по «профилактической» схеме эксперимента (культуру клеток Vero E6 сначала обрабатывали химическими препаратами в течение 1 ч при 37°C, затем инфицировали при множественности инфекции (multiplicities of infection, MOI) 0,01 в течение 1 ч и после инкубации инокулят удаляли). В результате, самыми эффективными на стадии после «проникновения» вируса признаны артеаннуин В, артезунат и дигидроартемизинин с 50%-ными эффективными концентрациями (EC₅₀), равными 10,28±1,12 мМ, 12,98±5,30 мМ и 13,31±1,24 мМ, соответственно, которые могут быть клинически достигнуты в плазме после внутривенного введения. Это первое исследование препаратов полыни подчеркнуло потенциал артемизининов для лечения от COVID-19 [8]; (2) в сентябре 2021 г. опубликована статья по результатам совместного исследования Nie с соавт. (авторы из Германии и Дании) сухих водных и этанольных экстрактов листьев *A. afra* Jacq. Ex Willd. (сборной во Франции) и *A. annua* L. (страны сбора растительного сырья – США, Бразилия, Чад, Буркина-Фасо), растворенных в ДМСО, при прямой инактивации вирионов с инфекционным титром 100 PFU (plaque forming units) SARS-CoV-2/human/Germany/BavPat 1/2020) (вирус обрабатывали экстрактами в течение часа при 37°C перед нанесением

на культуру клеток Vero E6 в диапазоне концентраций 0,01–10,0 мг/мл (для водных экстрактов в соотношении сырье/экстрагент – 1/10) и с EC₅₀ от 0,0004 ± 0,0001 мкг/мл до 0,46 ± 0,09 мкг/мл (для этанольного экстракта *A. afra*) и 0,11 ± 0,04 до 2,66 ± 1,48 мкг/мл (для этанольного экстракта *A. annua*). Для приготовления этанольных экстрактов использовали соотношение сырье/экстрагент – 1/5 [9]; **(3)** три работы Nair с соавт. из США: **(3.1.)** в июне 2021 г. результаты об эффективности (без корреляции от общего количества флавоноидов или артемизина) чайных настоев листьев *A. annua* L. (в соотношении сырье/экстрагент – 1/100), собранных на четырех континентах (в США, Бразилии, Китае, Эфиопии, Кении, Бурунди) против двух вариантов SARS-CoV-2, выделенных в США и Африке (USA/WA12020, UK variant B.1.1.7 (CA_CDC_5574/2020) и B.1.351 (hCoV-19/South Africa/KRISP-EC-K005321/2020, соответственно), на этапе после проникновения вируса (клетки Vero E6 сначала обрабатывали растительными препаратами в течение 1 часа, затем заражали с MOI 0,1) с 50%-ной ингибирующей концентрацией (IC₅₀) по сухому веществу в диапазоне 13,5–57,4 мкг/мл, а при пересчете по содержанию флавоноидов и артемизина – 0,01–0,14 мкг/мл и 0,1–8,7 мМ, соответственно [10]; **(3.2.)** в феврале 2022 г. результаты также об эффективности чайных настоев листьев *A. annua* L. на культуре клеток Vero E6, но уже против пяти вирусных вариантов (с MOI 0,1), включая Delta (USA WA1; alpha, B.1.1.7; beta, B.1.351; gamma, P.1; delta, B.1.617.2; карра, B.1.617.1) при концентрации по сухому веществу в диапазоне IC₅₀ от 11,0 до 67,7 мкг/мл и в диапазоне IC₉₀ от 59,5 до 160,6 мкг/мл, что при пересчете по содержанию артемизина варьировалось от 0,3 до 8,4 мМ и от 1,4 до 25,0 мМ, соответственно, на этапе после проникновения вируса [11]; **(3.3)** в июле 2022 г. Nair с соавт. в препринте статьи, которая будет опубликована в декабре, сообщили об эффективности чайных настоев листьев *A. annua* L. на культуре клеток Vero E6 против варианта Omicron (и трех его субвариантов с высокой степенью передачи) с концентрациями по сухому веществу в диапазоне IC₅₀ от 20,0 до 106 мкг/мл, что при пересчете по содержанию артемизина варьировалось от 0,5 до 16,5 мМ на этапе после проникновения вируса [12]; **(4)** в Турции проведено исследование культивируемой *A. annua* L. с применением 21-го вида экстракции (ультразвуковая мацерация всей наземной части растения с использованием различных растворителей – воды, 95%-го этанола, 80%-го метанола и др. с дальнейшей лиофилизацией экстрактов) по выбору более подходящего экстрагента для артемизинина. В результате, *in vitro* с использованием псевдотипированной системы, экспрессирующей гликопротеин S (spike) SARS-CoV-2 и моделированием *in silico* показано, что нейтрализующая активность БАВ экстрактов не зависит от количества артемизинина и, скорее всего, более связана с влиянием полученных растительных препаратов на основную вирусную протеазу (main protease, Mpro, также известной как 3-CLpro (3-chymotrypsin-like protease, 3-химотрипсиноподобная протеаза), чем с воздействием на конформацию структурного гликопротеина S [13]; **(5)** недавно появилось сообщение из Казахстана об исследовании ингибирующей активности водного и этанольного экстрактов (соотношение сырье/экстрагент 1/10, 50%-й спирт), а также бутанольной фракции

этанольного экстракта дикорастущей *A. annua* L., собранной в фазе цветения в предгорьях Заилийского Алатау, против SARS-CoV-2 (штамм hCoV-19/Kazakhstan/20679/2020) с MOI 0,01. При «профилактической» схеме эксперимента (экстрактами, растворенными в ДМСО, обрабатывали культуру клеток Vero E6 до заражения) было показано, что все растительные препараты обладают способностью подавлять вирусную репликацию при концентрации 667 мкг/мл с токсичностью 2000 мкг/мл [14].

В 2021 г. ВОЗ объявила, что в рамках своего исследования COVID-19 «Solidarity Therapeutics Plus» она включила внутривенное введение артезуната в качестве одного из трех препаратов нового назначения для лечения COVID-19 [15]. Результаты клинических испытаний ожидаются не ранее 2023 г. (последнее обращение 11 июля 2022 г., <https://www.isrctn.com/ISRCTN18066414>). Независимо от итогов этих испытаний, основываясь на данных, полученных *in vitro* по эффективности экстрактов *A. annua* L. против всех протестированных вирусных вариантов (на сегодняшний день 10), Nair с соавт. настоятельно призывают ВОЗ рассмотреть возможность включения капсулированных препаратов высушенных листьев *A. annua* L. в качестве отдельного компонента для исследования на пациентах [12].

Вид *A. annua* L. происходит из Китая и имеет там долгую историю культивирования. Растение занесено и натурализовано во многих странах юго-восточной Азии, Европы, юго-восточных частях Северной и Южной Америки т.к. может произрастать в различных прохладных, умеренных и субтропических географических районах [16]. В коммерческих целях этот вид полыни культивируется в Бразилии, Камеруне, Эфиопии, Кении, Мозамбике, Танзании, Уганде, Замбии, Индии и Таиланде. В промышленном масштабе сырьё (траву) выращивают также в Афганистане, Австралии, Иране и Турции. В России природные популяции *A. annua* встречаются на Кавказе, в Сибири и Приморском крае [17] и в Республике Бурятия [18]. В Бурятии так же широко распространена полынь *A. sieversiana* Ehrh. ex Willd. [18]. На территории РФ произрастают примерно 170 разных видов полыни [19]. Единственным официальным лекарственным растением из рода *Artemisia* в РФ признана *A. absinthium* L., такие препараты как «Полыни горькой трава» и «Полыни настойка» входят в Государственный реестр лекарственных средств и применяются при заболеваниях желудочно-кишечного тракта [20]. Препараты *A. absinthium* L. и других видов полыни, например, полыни цитварной *A. cina* Berg. и полыни обыкновенной *A. vulgaris* L. поступают в коммерческую сеть на основании Росстандарта общероссийского классификатора продукции [21]. Потенциал и интерес для исследования разной биологической активности видов *Artemisia* L. в мире широкий, например, по поиску в PubMed отобразилось 244 результата, в том числе 35 публикаций за 2022 г. (на момент времени 01.11.2022 г.).

По данным литературы, во флоре Сибири обнаружено 84 вида *Artemisia* L., в лесостепной зоне Западной Сибири в пределах Новосибирской области произрастает 22 вида. Многие виды полыней имеют обширный ареал, большую сырьевую массу, успешно интродуцируются, что определяет перспективы их практического использования, например, для

получения эфирных масел, т.к. практически все виды являются эфирноносими. Перспективны для использования в качестве флавоноидосодержащего сырья шесть видов полыни с содержанием флавоноидов 2% и более – по убывающей это *A. pontica*, *A. glauca*, *A. dracunculus*, *A. vulgaris*, *A. campestris*, *A. absinthium* и чуть меньшее количество таких веществ содержит *A. frigida*. Показано, что в культуре индивидуальные растения *A. dracunculus* и *A. absinthium* содержат самые высокие концентрации флавоноидов в репродуктивных органах в фазе массового цветения независимо от возраста. В листьях содержание веществ более низкое, чем в цветах, а в стеблях – самое низкое. Все исследованные виды рода

Artemisia обладают антимикробной активностью [22]. Антивирусная активность этих видов не изучалась.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Растительное сырье

Шесть видов *Artemisia* spp. были собраны в период цветения в разных районах Новосибирской области (табл. 1). Определение видов проводили с использованием справочника [24] на местности и в лаборатории «Гербарий» Центрального сибирского ботанического сада СО РАН, г. Новосибирск. Растительное сырье сушили при температуре 18–25°C в проветриваемом помещении, защищенном от солнечных лучей. После сушки сырье тщательно разделяли на отдельные части (стебли, цветы, листья) и сохраняли при комнатной температуре.

Таблица 1. Виды полыни и места сбора
Table 1. *Artemisia* spp. and collection locations

Полынь обыкновенная (чернобыльник) <i>A. vulgaris</i> L.	Лесной массив на территории ЦСБС СО РАН (54°48'10.08" с. ш. 83°5'44.88" в. д.) Forest on the territory of the Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences (54°48'10.08" nl. 83°5'44.88" el.)
Полынь горькая <i>A. absinthium</i> L.	Лесной массив на территории ЦСБС СО РАН (54°48'10.08" с. ш. 83°5'44.88" в. д.) Forest on the territory of the Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences (54°48'10.08" nl. 83°5'44.88" el.)
Полынь серая (сизая) <i>A. glauca</i> Pall. Ex Willd.	Черепановский район, окрестности деревни Крутишка (54°10'50" с. ш. 83°08'55" в. д.) Cherepanovsky district, near the village of Krutishka (54°10'50" nl. 83°08'55" el.)
Полынь тархун (эстрагон) <i>A. dracunculus</i> L.*	г. Бердск (54°45' с. ш. 83°06' в. д.) City of Berdsk (54°45' nl. 83°06' el.)
Полынь тархун (эстрагон) <i>A. dracunculus</i> L.**	Черепановский район, окрестности деревни Крутишка (54°10'50" с. ш. 83°08'55" в. д.) Cherepanovsky district, near the village of Krutishka (54°10'50" nl. 83°08'55" el.)
Полынь тархун (эстрагон) <i>A. dracunculus</i> L.***	Коченевский район, окрестности рабочего поселка Коченево (55°01' с. ш. 82°13' в. д.) Kochenevski district, surroundings of the working settlement Kochenevo (55°01' nl. 82°13' el.)
Полынь холодная <i>A. frigida</i> Willd	Сузунский район, окрестности села Верх-Сузун (53°40'47" с. ш. 82°17'20" в. д.) Suzunskiy district. Near the settlement of Verkh-Suzun (53°40'47" nl. 82°17'20" el.)
Полынь Сиверса <i>A. sieversiana</i> Ehrh. ex Willd.	Сузунский район, окрестности села Верх-Сузун (53°40'47" с. ш. 82°17'20" в. д.) Suzunskiy district. Near the settlement of Verkh-Suzun (53°40'47" nl. 82°17'20" el.)

Получение этанольных экстрактов

Сухое измельченное сырье в соотношении 1/10 по весу (1 г/10 г) заливали очищенным 70% этиловым спиртом и выдерживали семь суток на механической качалке при комнатной температуре и 100 об./мин. Жидкости (этанольные экстракты) фильтровали через капроновую ткань и высушивали в асептических условиях при 30±2°C в открытых ч. Петри. Сухой осадок этанольных экстрактов хранили при комнатной температуре.

(ДМСО) из расчета 200 мг/мл на механической качалке при комнатной температуре и 100 об./мин. в течение суток.

В качестве препаратов сравнения (контрольных образцов) использовали также приготовленные сухие этанольные экстракты плодового тела чаги (*Inonotus obliquus* Ach. ex Pers. Pil., Basidiomycota) и специи гвоздики (*Syzygium aromaticum* L., Myrtaceae), т.к. для водных вытяжек этого растительного сырья описана анти-SARS-CoV-2 активность [25; 26]. Кроме того, был приготовлен сухой этанольный экстракт черного чая (*Camellia sinensis* L. Kuntze, Theaceae), т.к., по данным литературы, это растение рассматривается как потенциальное

Подготовка растительных препаратов для исследования цитотоксичности и ингибирующей активности на вирусную репликацию: растворение сухих экстрактов проводили в диметилсульфоксиде

лекарственное средство против COVID-19 [27; 28] и описана высокая ингибирующая активность зеленого и черного чая на инфекционный SARS-CoV-2 *in vitro* [29]. Сырье (чага с Салаирского кряжа Маслянинского района НСО, специя гвоздика из Вьетнама и черный чай, экспортированный из Индии), любезно предоставлено ООО НПФ «Золотая долина», г. Новосибирск.

Культура клеток

Перевиваемую культуру клеток линий Vero и Vero E6 (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).

Новый коронавирус, лабораторный штамм SARS-CoV-2/human/RUS/Nsk-FRCFTM-1/2020, выделенный на культуре клеток Vero из образца мазка носоглотки больного человека, позитивного на наличие вирусной РНК SARS-CoV-2 при анализе в лаборатории по диагностике COVID-19 при ФИЦ ФТМ СО РАН, был описан в работах по исследованию антивирусной активности [26; 30; 31]. Вирус пассировали на культуре клеток Vero в поддерживающей питательной среде с 2% эмбриональной сыворотки крови КРС. Титр инфекционного SARS-CoV-2, выражали в ТЦПД₅₀/мл (тканевых цитопатических дозах вируса, вызывающего цитопатическое действие (ЦПД) на инфицированные клетки Vero E6 в 50% лунк). ЦПД SARS-CoV-2 можно наблюдать в световой микроскоп, как показано [26; 30] или проводить фиксацию инфицированных клеток в течение 30 мин раствором формальдегида и 0,05%-ным раствором кристаллического фиолетового с 20% спирта, как описано [32].

Цитотоксичность исследуемых растительных препаратов и контрольных образцов определяли по 50%-ной токсичной концентрации в мл (50% cytotoxic concentration, CC₅₀/ml) как описано [33] при нанесении растительных препаратов на чувствительную для SARS-CoV-2 клеточную культуру Vero E6, выращенную до монослоя в лунках 96-луночных планшетов (Corning, США), в поддерживающей питательной среде (с 2% прогретой сыворотки крови КРС) в разведениях для титрования двойным шагом и выдерживали в течение 1 часа при 37°C. Затем, в первом варианте, монослой клеток отмывали и оставляли в поддерживающей питательной среде или, во втором варианте, монослой клеток от экстрактов, раститрованных в поддерживающей питательной среде, не отмывали. Цитотоксическое действие растительных препаратов оценивали каждые сутки (срок наблюдения 5 суток).

Отрицательные контроли: поддерживающая питательная среда для клеток Vero E6 и ДМСО в объемах, соответствующих содержанию этого растворителя в исследуемых растительных препаратах.

Анализ ингибирующей активности исследуемых растительных препаратов и контрольных образцов при прямой нейтрализации (инактивации) SARS-CoV-2 проводили методом классической реакции

нейтрализации (инактивации) вирусов как нами недавно описано для исследования антител пациентов, переболевших COVID-19 [31] и для водных вытяжек растительного сырья [26]. Кратко: растительные препараты (титрование в 96-луночных планшетах двойным шагом с определенной исходной концентрацией по сухому веществу в объеме 100 мкл/лунка) предварительно (перед нанесением на монослой клеток Vero E6, выращенных в 96-луночных планшетах) инкубировали с SARS-CoV-2 в титре 10³ ТЦПД₅₀/мл (в соответствии с [34]) в течение 1 часа при 37°C в CO₂-инкубаторе. После инкубации смесей экстрактов с вирусной суспензией на клетках течение 1 часа при 37°C, монослой клеток отмывали и оставляли в поддерживающей питательной среде до проявления ЦПД вируса в контрольных лунках, содержащих инфицированные клетки. Учет результатов по ингибированию вирусной репликации проводили визуально при наблюдении в инвертированный микроскоп при 10-кратном увеличении, а затем после фиксации клеток в течение 30 мин раствором формальдегида и 0,05%-ным раствором кристаллического фиолетового с 20% спирта, как описано [32].

Анализ ингибирующей активности исследуемых растительных препаратов и контрольных образцов по «профилактической» схеме (нанесение разведений экстрактов на монослой клеток перед их инфицированием) проводили, как описано [35], следующим образом: один час экспозиции экстрактов, раститрованных в поддерживающей питательной среде, с монослоем клеток Vero E6 и затем в лунки вносили вирусный препарат в разведении, соответствующем инфекционной дозе 10³ ТЦПД₅₀/мл и оставляли в покое при 37°C в CO₂-инкубаторе.

Анализ ингибирующей активности растительных препаратов по схеме «лечения» клеток (при предварительном инфицировании клеток) проводили, как описано в [35], следующим образом: монослой клеток Vero E6 инфицировали вирусным препаратом в разведении, соответствующем титру 10³ ТЦПД₅₀/мл, в течение 1 часа при 37°C. Затем после отмывки, на монослой клеток в лунки вносили разведения экстрактов в поддерживающей питательной среде и оставляли в покое для «лечения» клеток при 37°C в CO₂-инкубаторе.

Для статистической обработки все анализы *in vitro* проводили и фиксировали в четырех повторах в двух независимых экспериментах.

Статистическую обработку результатов по определению цитотоксичности и эффективным концентрациям проводили с применением метода Спирмена-Кербера в программе Excel при 95%-ном уровне надежности (p≤0.05).

Селективный индекс (Selectivity index, SI) для 50%-х цитотоксичных и эффективных концентраций исследуемых экстрактов рассчитывали по формуле: SI₅₀=CC₅₀/EC₅₀ как описано [33], с учетом токсичности, выявленной на четвертые сутки наблюдения (совпадение со временем фиксации результатов по ЦПД 10³ ТЦПД₅₀/мл SARS-CoV-2 в контрольных рядах инфицированных клеток).

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**1. Приготовление сухих этанольных экстрактов полыней, выбор образцов сравнения и анализ цитотоксичности исследуемых растительных препаратов**

Для исследования потенциальной активности против SARS-CoV-2, нами были собраны в природе Новосибирской области в период цветения несколько видов полыней: *Artemisia vulgaris* L., *A. glauca* (Pall. Ex Willd.), *A. dracunculul* L. (из трех мест произрастания), *A. absinthium* L., *A. frigida* Willd., *A. sieversiana* Ehrh. ex Willd (табл. 1), видоспецифичность которых определяли на местах произрастания с использованием справочника [24] и затем в свежесобранном виде подтверждали в лаборатории «Гербарий» Центрального сибирского ботанического сада СО РАН, г. Новосибирск. После сушки растительное сырье разделяли на отдельные части (стебли, цветы, листья), из которых были приготовлены сухие этанольные экстракты. Этиловый спирт (70%) использовали в качестве экстрагента, т.к. по данным литературы, этот растворитель активно извлекает из растительного сырья, наряду с широким спектром БАВ, флавоноиды и терпеноиды [23], которые обладают активностью против разных вирусов и являются преобладающими соединениями в растениях рода *Artemisia* [2].

В качестве контрольных образцов сравнения были использованы также 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), т.к. для водных вытяжек этого растительного сырья описана анти-SARS-CoV-2 активность *in vitro* [25; 26; 29; 36]. Например, Shahtad с соавт. связывают антивирусное действие экстрактов *I. obliquus* с полисахаридами [37], что было подтверждено Тепляковой с соавт. при выявлении ингибирующей активности чаги в виде лиофильно высушенных и концентрированных водных экстрактов в диапазоне EC50=0,75 – 11,6 мкг/мл в исследовании *in vitro* с SARS-CoV-2 (штамм nCoV/Victoria/1/2020 SARS-CoV-2 по «профилактической» схеме эксперимента (т.е. с обработкой растительными препаратами клеток линии Vero и Vero E6 перед их заражением) [25]. Ishimoto с соавт. показали, что предварительная обработка вирионов SARS-CoV-2 (штамм JPN/TY/WK-521) перед инфицированием клеток линии Vero E6 (т.е. при прямой инактивации) водными экстрактами зеленого или черного чая снижали вирусный титр на 5 lg (при сравнении с контролем инфицированных клеток). Авторы предполагают синергическое действие полифенолов зеленого чая (эпигаллокатехином галлатом, эпигаллокатехином, эпикатехином галлатом и эпикатехином) или теафлавинов черного чая на гликопротеин S (spike) вирусной оболочки и 3CLpro SARS-CoV-2 [29].

Данных по ингибирующей активности этанольных экстрактов *I. obliquus* и *C. sinensis* на SARS-CoV-2 *in vitro* в литературе не обнаружено. Ранее полученные нами результаты по активности водной вытяжки *S. aromaticum* (в концентрации 10,67±1,95 мкг/мл из расчета по исходному сухому растительному сырью) против инфекционной дозы 10³ ТЦПД₅₀/мл штамма SARS-CoV-2/human/RUS/Nsk-FRCFTM-1/2020 *in vitro* при прямой инактивации вирионов [26], скорее всего, были первыми в научной

литературе. Vicidomini с соавторами в обзоре, опубликованном в марте 2021 г., по возможной молекулярной основе терапевтического потенциала этой специи при COVID-19, приводят примеры по ее применению как в качестве кулинарной приправы к пище или в парфюмерном производстве, так и по использованию в качестве средства от различных проблем со здоровьем. Например, эфирное масло гвоздики находит применение в стоматологической помощи, включая лечение инфекций десен, а также при ожогах, пищеварительных расстройствах и респираторных инфекциях. Специя содержит бета-каротин, витамины B1, B6, C, K, A, рибофлавин и большое количество минералов, таких как магний, марганец, калий, железо и селен. Американское управление по контролю за продуктами и лекарствами (FDA) подтвердило безопасность бутонов гвоздики, гвоздичного масла и некоторых ингредиентов гвоздики в качестве пищевой добавки, в то время как ВОЗ установила допустимую суточную дозу гвоздики для людей в 2,5 мг/кг массы тела. Результаты экспериментальных исследований нескольких научных групп подтверждают другие замечательные свойства *S. aromaticum* – такие как антиангиогенная, противоопухолевая, антиоксидантная, противовоспалительная и антимутагенная активность, которые связаны с содержанием вещества класса фенолов – евгенола (Eugenol (4-allyl-2-methoxyphenol). Описана ингибирующая активность этанольных и метанольных экстрактов специи гвоздики на вирус простого герпеса (herpes simplex virus, HSV) и на рекомбинантную протеазу вируса гепатита С. Показано, что евгенол в чистом виде способен *in vitro* ингибировать репликацию вирусов гриппа А и Эбола [38].

Цитотоксичность сухих этанольных экстрактов полыни и контрольных образцов, растворенных в ДМСО, мы оценивали на культуре клеток Vero E6, чувствительной к SARS-CoV-2 [39], в двух вариантах, когда: 1) монослой клеток отмывали от раститрованных двойным шагом экстрактов и оставляли в поддерживающей питательной среде и 2) монослой клеток от экстрактов, раститрованных в поддерживающей питательной среде, не отмывали. Цитотоксическое действие растительных препаратов оценивали каждые сутки (срок наблюдения 5 суток). Как видно по результатам, представленным на рис. 1, при первом варианте (с отмывкой клеток от экстрактов), цитотоксичность растительных препаратов была более низкой (верхняя линия графика синего цвета), чем при оставлении их на монослое клеток (нижняя линия графика красного цвета) до момента (4 суток), совпадающего с ЦПД SARS-CoV-2 с инфекционным титром 10³ ТЦПД₅₀/мл. Самая высокая цитотоксичность (при двух вариантах) оказалась для экстрактов *S. aromaticum* (187,50±46,30 и 109,38±20,05 мкг/мл) и *I. obliquus* (250,00±80,19 и 156,25±40,09 мкг/мл) (рис. 1). Ранее для водной вытяжки (без концентрирования) *S. aromaticum* нами также была выявлена самая высокая цитотоксичность (10100,0±2293,67 мкг/мл) по сравнению с водными вытяжками других растений, в том числе и *I. obliquus* (62500,0±16038,71 мкг/мл из расчета по концентрации исходного сухого растительного сырья) [26]. В данном случае при концентрировании этанольных экстрактов посредством высушивания их жидкой фазы цитотоксичность препаратов значительно повысилась, но, скорее всего,

это не связано с используемым экстрагентом. Например, по данным Тепляковой с соавт. цитотоксичность чаги в виде лиофильно высушенных и концентрированных водных экстрактов (разных образцов, отличающихся по температурным и временным параметрам экстракции) составила от 90,0; 100,0; 118,0 и до $\geq 300,0$ мкг/мл в варианте без отмывки экстрактов с монослоя клеток [25], что свидетельствует о высокой концентрации БАВ и заметной цитотоксичности водного экстракта *I. obliquus*, полученного даже без использования этанола.

Выявленная нами цитотоксичность этанольного экстракта листьев черного чая *C. sinensis* (750,00 \pm 40,10 и 437,50 \pm 80,19 мкг/мл) сопоставима с цитотоксичностью исследуемых этанольных экстрактов полыней – в диапазоне CC_{50} от 1750 \pm 320,77 мкг/мл до 281,25 \pm 61,35 мкг/мл в варианте с отмывкой монослоя от экстракта и в диапазоне CC_{50} от 375,00 \pm 48,99 мкг/мл до 137,50 \pm 35,86 мкг/мл в варианте без отмывки. Диапазон CC_{50} экстрактов полыней был довольно широк при сравнении препаратов, приготовленных из разных частей растений (стеблей, цветов, листьев) – прослеживается более высокая цитотоксичность экстрактов листьев *Artemisia* spp., особенно у вида *A. vulgaris* L. – 281,25 \pm 61,35 мкг/мл при отмывке клеток и 150,00 \pm 37,04 мкг/мл без отмывки. Для экстракта листьев вида *A. sieversiana* в первом варианте с отмывкой значение CC_{50} равно 406,25 \pm 89,66 мкг/мл, что является примерно средним показателем токсичности по нашим данным, но в варианте без отмывки монослоя клеток от экстракта наблюдалась самая высокая цитотоксичность (137,50 \pm 35,86 мкг/мл) среди исследованных растительных препаратов (рис. 1).

В целом, при сравнении с данными литературы, цитотоксичность приготовленных нами этанольных экстрактов *Artemisia* spp. оказалась невысокой. Например, Liu H. с соавт. по результатам анализа эффективности экстракта (на основе 70%-го этанола) корня шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis*, Lamiales) против SARS-CoV-2 (штамм С-Тан-пCoV Wuhan strain 01) сообщили данные по CC_{50} , предположительно, равной более чем 500 мкг/мл, т.к. авторы титровали экстракт с этой концентрации и не выявили его токсичности [40]. Zannella с соавт. в 2021 г. показали, что для экстракта (на основе 75% метанола) листьев виноградной лозы (*Vitis vinifera*, Vitaceae), способного ингибировать *in vitro* репликацию SARS-CoV-2, также не было выявлено цитотоксичности при самой высокой используемой концентрации растительного препарата – 500 мкг/мл [41]. Mohamed с соавт. в апреле 2022 г. сообщили об активности против изолята hCoV-19/Germany/FI1103201/2020 (EPI-ISL_463008) *in vitro* метанольного экстракта зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum*, Hypericaceae) (производство компании Indena S.p.AS, Милан, Италия в виде сухого препарата), цитотоксичность которого, по крайней мере, превышает 100 мкг/мл [42].

2. Анализ ингибирующей активности растительных препаратов на репликацию SARS-CoV-2 при прямой нейтрализации (инактивации)

Данный метод исследования позволяет определить влияние препаратов на конформацию наружного вирусного S белка SARS-CoV-2, ответственного за слияние с рецепторами инфицируемой клетки [9], т.к. блокирование этого важного этапа «жизненного» цикла

вируса может остановить распространение патогена на ранней стадии болезни.

В результате, по ингибирующей активности на репликацию SARS-CoV-2 при прямой нейтрализации (инактивации) вирионов в инфекционной дозе 10^3 ТЦПД₅₀/мл для контрольных образцов этанольных экстрактов *C. sinensis*, *S. aromaticum* и *I. obliquus* выявлены показатели EC_{50} в мл в средних значениях (по убывающей) – 1,10 \pm 0,24 мкг/мл, 1,22 \pm 0,31 мкг/мл и 6,84 \pm 1,35 мкг/мл, соответственно (рис. 2). Для *Artemisia* spp. равные по значениям EC_{50} с контрольными образцами (в диапазоне концентраций от 1,10 \pm 0,24 мкг/мл до 6,84 \pm 1,35 мкг/мл) оказались показатели EC_{50} этанольных экстрактов следующих частей растений: листья и цветы *A. vulgaris* (1,10 \pm 0,24 мкг/мл); листья и цветы *A. dracunculus** (1,10 \pm 0,24 мкг/мл); листья *A. absinthium* (1,10 \pm 0,24 мкг/мл); листья *A. dracunculus**** (1,10 \pm 0,24 мкг/мл); стебли *A. dracunculus**** (1,46 \pm 0,36 мкг/мл); цветы *A. dracunculus**** (3,42 \pm 0,62 мкг/мл); цветы *A. absinthium* (3,42 \pm 0,62 мкг/мл); листья *A. dracunculus*** (3,66 \pm 0,48 мкг/мл); листья *A. frigida* (4,88 \pm 1,25 мкг/мл); листья и стебли *A. glauca* (6,84 \pm 1,35 мкг/мл). Для остальных препаратов значения EC_{50} этанольных экстрактов *Artemisia* spp. следующие (по убывающей) – листья *A. sieversiana* (11,72 \pm 2,89 мкг/мл), стебли *A. absinthium* (12,70 \pm 2,80 мкг/мл), цветы *A. glauca* (13,67 \pm 2,51 мкг/мл), стебли *A. vulgaris* (14,65 \pm 1,91 мкг/мл), стебли *A. dracunculus*** (21,48 \pm 5,6 мкг/мл), стебли *A. dracunculus** (27,34 \pm 5,01 мкг/мл), цветы *A. dracunculus*** (37,11 \pm 10,02 мкг/мл), цветы *A. frigida* (54,69 \pm 10,02 мкг/мл), стебли *A. frigida* (58,59 \pm 7,66 мкг/мл), стебли *A. sieversiana* (58,59 \pm 7,66 мкг/мл) и цветы *A. sieversiana* (109,38 \pm 20,05 мкг/мл) (рис. 2).

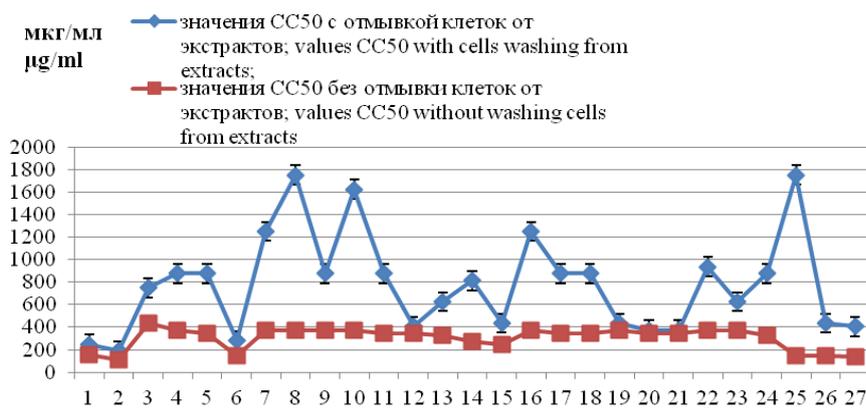
Необходимо отметить, что экстракты листьев *Artemisia* spp. оказались наиболее эффективны при прямой инактивации вирионов SARS-CoV-2. В стеблях полыней, скорее всего, содержится наименьшее количество БАВ, способных влиять на конформацию гликопротеинов S. Исключением является вид *A. dracunculus****, т.к. экстракты всех частей этого растения проявили высокую ингибирующую активность: листья – 1,10 \pm 0,24 мкг/мл, стебли – 1,46 \pm 0,36 мкг/мл и цветы – 3,42 \pm 0,62 мкг/мл.

Для экстрактов листьев и цветов *A. vulgaris* показатели EC_{50} оказались равными 1,10 \pm 0,24 мкг/мл. Для экстрактов листьев и стеблей *A. glauca* показатели EC_{50} выявлены – 6,84 \pm 1,35 мкг/мл. Вид *A. absinthium* в виде экстрактов листьев и цветов также проявил высокую ингибирующую (нейтрализующую) активность с EC_{50} равными 1,10 \pm 0,24 мкг/мл и 3,42 \pm 0,62 мкг/мл, соответственно. У видов *A. frigida* и *A. sieversiana* только экстракты листьев проявили заметную активность с EC_{50} =4,88 \pm 1,25 мкг/мл и 11,72 \pm 2,89 мкг/мл. Для экстрактов стеблей и цветов этих видов полыни выявлены самые низкие показатели EC_{50} – 58,59 \pm 7,66 мкг/мл и 54,69 \pm 10,02 мкг/мл, 58,59 \pm 7,66 мкг/мл и 109,38 \pm 20,05 мкг/мл, соответственно (рис. 2).

Общий профиль эффективности при прямой инактивации вирионов контрольных образцов и видов полыни с учетом суммы средних концентраций всех частей растений (стеблей, листьев и цветов) можно представить в следующем порядке (по убывающей): *C. sinensis* (1,10 \pm 0,24 мкг/мл), *S. aromaticum* (1,22 \pm 0,31 мкг/мл), *A. dracunculus**** (1,99 \pm 0,4 мкг/мл), *I. obliquus* (6,84 \pm 1,35 мкг/мл), *A. vulgaris* (5,62 \pm 0,80 мкг/мл), *A.*

absinthium (5,75±1,22), *A. glauca* (9,12±1,74 мкг/мл), *A. dracuncul** (9,85±1,83 мкг/мл), *A. dracuncul*** (17,75±5,37 мкг/мл), *A. frigida* (39,38±6,31 мкг/мл),

A. sieversiana (59,89±10,20 мкг/мл), что наглядно продемонстрировано на диаграмме (рис. 2).



1. *I. obliquus* (плодовое тело, fruit body) 250,00±80,19 - 156,25±40,09
2. *S. aromaticum* (бутоны стеблей, buds of spike) 187,50±46,30 - 109,38±20,05
3. *C. sinensis* (листья, leaves) 750,00±40,10 - 437,50±80,19
4. *A. vulgaris* (стебли, stems) 875,00±160,39 - 375,00±48,99
5. *A. vulgaris* (цветы, flowers) 875,00±160,39 - 350,00±64,15
6. *A. vulgaris* (листья, leaves) 281,25±61,35 - 150,00±37,04
7. *A. glauca* (стебли, stems) 1250,00±320,77 - 375,00±48,99
8. *A. glauca* (цветы, flowers) 1750±320,77 - 375,00±48,99
9. *A. glauca* (листья, leaves) 875,00 - 375,00±48,99
10. *A. dracuncul** (стебли, stems) 1625,00±358,64 - 375,00±48,99
11. *A. dracuncul** (цветы, flowers) 875,00±160,39 - 350,00±64,15
12. *A. dracuncul** (листья, leaves) 406,25±89,66 - 350,00±64,15
13. *A. absinthium* (стебли, stems) 625,00±160,39 - 325,00±71,73
14. *A. absinthium* (цветы, flowers) 812,00±179,32 - 275,00±71,73
15. *A. absinthium* (листья, leaves) 437,50±80,19 - 250,00±64,15
16. *A. dracuncul*** (стебли, stems) 1250,00±320,77 - 375,00±48,99
17. *A. dracuncul*** (цветы, flowers) 875,00±160,39 - 350,00±64,15
18. *A. dracuncul*** (листья, leaves) 875,00±160,39 - 350,00±64,15
19. *A. dracuncul**** (стебли, stems) 437,50±79,88 - 375,00±48,99
20. *A. dracuncul**** (цветы, flowers) 375,00±92,60 - 350,00±64,15
21. *A. dracuncul**** (листья, leaves) 375,00±92,60 - 350,00±64,15
22. *A. frigida* (стебли, stems) 937,50±122,50 - 375,00±48,99
23. *A. frigida* (цветы, flowers) 625,00±160,39 - 375,00±48,99
24. *A. frigida* (листья, leaves) 875,00±160,39 - 325,00±71,73
25. *A. sieversiana* (стебли, stems) 1750±320,77 - 150,00±37,04
26. *A. sieversiana* (цветы, flowers) 437,50±79,88 - 150,00±37,04
27. *A. sieversiana* (листья, leaves) 406,25±89,66 - 137,50±35,86

Рисунок 1. Значения цитотоксичности (CC₅₀) этанольных экстрактов

Примечания: значения CC₅₀ представлены в мкг/мл средних значений с доверительными интервалами при уровне надежности 95% (p≤0,05). Цифры на горизонтальной линии соответствуют образцам (номерам) экстрактов. Районы сбора растительного сырья: *A. dracuncul** – окрестности г. Бердск (54°45' с. ш. 83°06' в. д.); *A. dracuncul*** – Черепановский район, окрестности деревни Крутишка (54°10'50" с. ш. 83°08'55" в. д.); *A. dracuncul**** – Коченевский район, окрестности р/п Коченево (55°01' с. ш. 82°13' в. д.)

Figure 1. Cytotoxicity values (CC₅₀) of ethanol extracts

Note: CC₅₀/ml values are presented in µg/ml of average values with confidence intervals at 95% reliability level (p≤0.05). The numbers on the horizontal line correspond to the samples (numbers) of extracts. Areas of collection of plant raw materials: *A. dracuncul** – collection location - city of Berdsk (54°45' N 83°06' E); *A. dracuncul*** – Cherepanovsky district, neighborhood of village of Krutishka (54°10'50" N 83°08'55" E); and *A. dracuncul**** – village of Kochenevo, Kochenevsky district (55°01' N 82°13' E)

Для сравнения противовирусной активности исследованных нами экстрактов *Artemisia* spp. на репликацию SARS-CoV-2 при прямой нейтрализации (инактивации) вирионов необходимо привести литературные данные. Например, Nie с соавт. в 2021 г. показали результаты по высокой ингибирующей

эффективности этанольных экстрактов листьев полыней видов *A. annua* и *A. afra* – с EC₅₀ в диапазоне концентраций от 0,0004 ± 0,0001 мкг/мл до 0,46 ± 0,09 мкг/мл (для экстракта *A. afra*) и от 0,11 ± 0,04 до 2,66 ± 1,48 мкг/мл (для экстракта *A. annua*) против 100 PFU (не указан объем, содержащий вирус с таким

инфекционным титром) [9]. Zannella с соавт. в 2021 г. показали, что метанольный экстракт листьев виноградной лозы (*Vitis vinifera*) способен ингибировать репликацию SARS-CoV-2 (инфицирующая доза авторами не указана) *in vitro* на ранних стадиях инфекции путем прямой инактивации вирионов при очень низкой, по мнению авторов, концентрации – 10 мкг/мл [41]. Ishimoto с соавт. выявили противовирусную активность водных экстрактов зеленого и черного чая в диапазоне концентраций 3440–13750 мкг/мл при снижении инфекционного титра SARS-CoV-2 на 5 lg [29]. Mohamed с соавт. в апреле 2022 г. сообщили об активности метанольного экстракта травы зверобоя продыряв-

ленного (*H. perforatum*) при трех экспериментальных протоколах (прямая инактивация вируса перед инфицированием клеток линии Vero, обработка клеток экстрактами до или после заражения, т.е. «профилактическая» и «лечебные» схемы). По мнению авторов, самая мощная противовирусная активность (в диапазоне концентраций 1,5–15 мкг/мл) выявлена при прямой инактивации вируса (при MOI=1), т.е. были получены доказательства того, что экстракт содержит БАВ (скорее всего, это гиперин – производное антрахинона, пигмент красного цвета), которые могут оказывать прямое блокирующее действие на вирионы SARS-CoV-2 [42].

- *I. obliquus* (плодовое тело) и стебли *Artemisia* spp., *I. obliquus* (fruit body) and stems of *Artemisia* spp.;
- *S. aromaticum* (бутоны специи гвоздики) и цветы *Artemisia* spp., *S. aromaticum* (buds of spice) and flowers of *Artemisia* spp.
- *C. sinensis* (листья) и листья *Artemisia* spp., *C. sinensis* (leaves) and leaves of *Artemisia* spp.

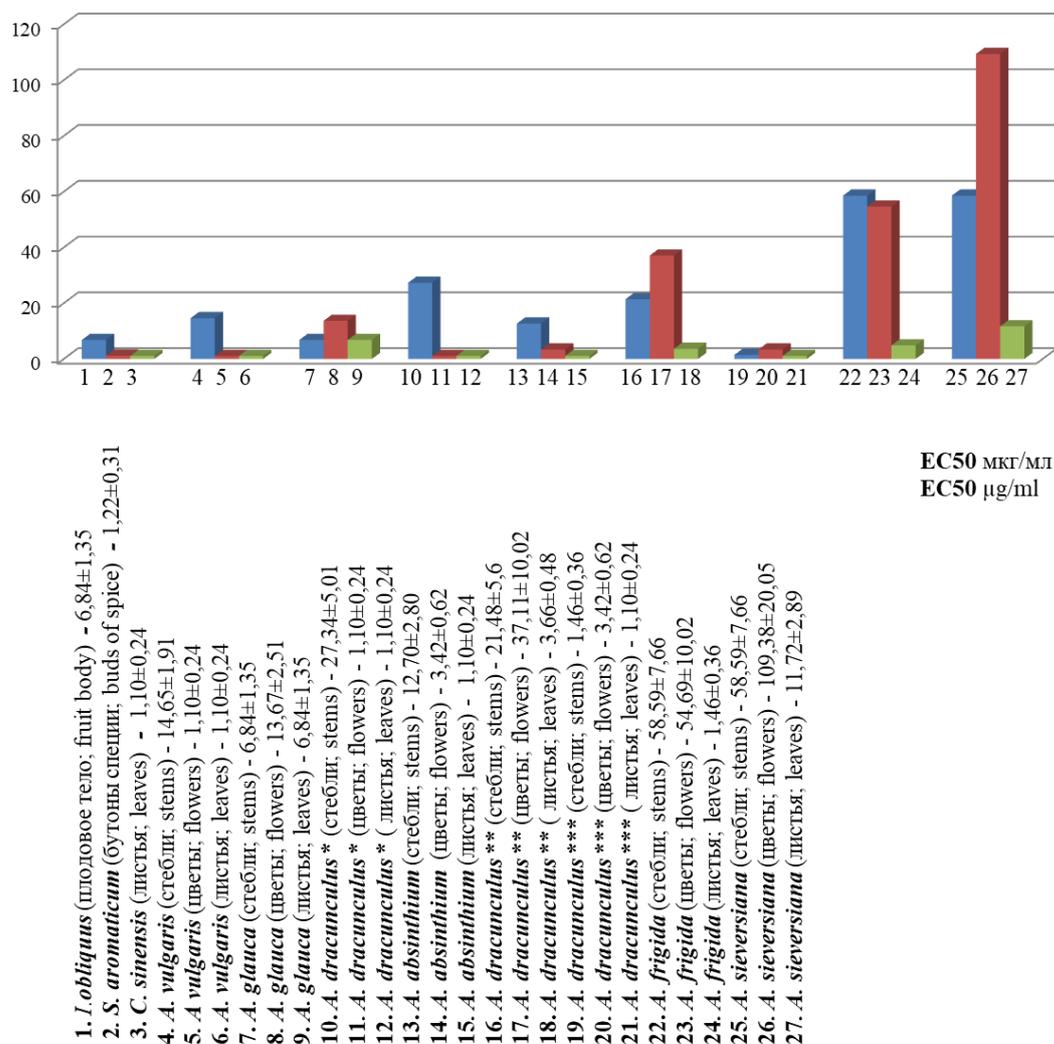


Рисунок 2. Сравнение 50%-ных эффективных концентраций экстрактов контрольных образцов и разных частей полыней – стеблей, цветов и листьев на ингибирующую активность репликации SARS-CoV-2 при прямой нейтрализации (инактивации) вируса

Figure 2. Comparison of 50% effective concentrations of extracts of control samples and different parts of *Artemisia* spp. (stems, flowers and leaves) on the inhibitory activity of SARS-CoV-2 replication during direct neutralization (inactivation) of virus

3. Анализ ингибирующей активности растительных препаратов на репликацию SARS-CoV-2 по «профилактической» схеме и схеме «лечения» клеток, а также сравнение с результатами по прямой инактивации (нейтрализации)

Для анализа возможного наличия в растительных экстрактах БАВ, действующих на другие важные этапы «жизненного» цикла вируса, кроме его прикрепления к клеточным рецепторам, используют такие схемы экспериментов как «профилактическая» схема (нанесение разведений экстрактов на монослой клеток перед их инфицированием) и схема «лечения» клеток (при предварительном инфицировании клеток) [35].

Данные по ингибирующей активности контрольных образцов и экстрактов частей растений (стеблей, листьев и цветов) *Artemisia* spp. на репликацию SARS-CoV-2 при «профилактической» схеме и по схеме «лечения» клеток представлены на рис. 3. В результате, по ингибирующей активности на репликацию SARS-CoV-2 при двух этих схемах экспериментов экстракт чаги оказался более эффективен при предварительной обработке монослоя клеток перед инфицированием – с $EC_{50}=7,32\pm 0,96$ мкг/мл (и этот результат почти аналогичен значению EC_{50} при прямой инактивации вирионов – $6,84\pm 1,35$ мкг/мл), чем при схеме «лечения» инфицированных клеток – $17,58\pm 3,83$ мкг/мл. Экстракт *S. sinensis* наоборот более заметно проявился при схеме «лечения» с $EC_{50}=9,77\pm 2,51$ мкг/мл, чем при «профилактике» – $13,67\pm 2,51$ мкг/мл (для сравнения – при прямой инактивации его $EC_{50}=1,10\pm 0,24$ мкг/мл). Экстракт *S. aromaticum* более эффективен при предварительной обработке монослоя клеток перед инфицированием – $13,67\pm 2,51$ мкг/мл, чем при схеме «лечения» – $23,44\pm 5,79$ мкг/мл (для сравнения – при прямой инактивации его $EC_{50}=1,22\pm 0,31$ мкг/мл).

При сравнении с почти равными значениями EC_{50} экстракта *I. obliquus* по трем схемам экспериментов, значения EC_{50} экстрактов *S. aromaticum* ($1,22\pm 0,31$; $13,67\pm 2,51$; $23,44\pm 5,79$ мкг/мл) и *S. sinensis* ($1,10\pm 0,24$; $23,44\pm 5,79$; $9,77\pm 2,51$ мкг/мл) отличались примерно в 10 и 20 раз (рис. 3), т.е. эти экстракты оказались более эффективными именно при прямой инактивации вирионов. Тем не менее, такие значения EC_{50} вполне сопоставимы с литературными данными по ингибирующей активности других растительных препаратов на репликацию SARS-CoV-2. Например, с 50%-ной ингибирующей концентрацией (IC_{50}) из расчета по сухому веществу в диапазоне 13,5–57,4 мкг/мл чайных настоев листьев *A. annua* L. на этапе после проникновения вируса (по «профилактической» схеме) против двух вариантов SARS-CoV-2, выделенных в США и Африке [10]; в диапазоне IC_{50} от 11,0 до 67,7 мкг/мл против пяти вирусных вариантов, включая Delta [11]; в диапазоне IC_{50} от 20,0 до 106 мкг/мл против варианта Omicron и трех его субвариантов [12].

Анализ данных по трем значениям EC_{50} для каждого из полученных нами сухих этанольных экстрактов частей растений (стеблей, листьев и цветов) *Artemisia* spp. на репликацию SARS-CoV-2, при сравнении с прямой инактивацией вирионов (первые числа в строках), по «профилактической» схеме (вторые числа в строках) и по схеме «лечения» клеток (третьи числа в строках) выглядит, соответственно, следующим образом: *A. vulgaris* – стебель ($14,65\pm 1,91$; $24,44\pm 3,06$; $24,44\pm 3,06$ мкг/мл), цветы ($1,10\pm 0,24$; $15,63\pm 4,00$;

$24,44\pm 3,06$ мкг/мл), листья ($1,10\pm 0,24$; $21,88\pm 4,00$; $24,44\pm 3,06$ мкг/мл), *A. glauca* – стебель ($6,84\pm 1,35$; $7,81\pm 2,00$; $14,06\pm 3,06$ мкг/мл), цветы ($13,67\pm 2,51$; $21,88\pm 4,00$; $14,06\pm 3,06$ мкг/мл), листья ($6,84\pm 1,35$; $14,06\pm 3,06$; $7,81\pm 2,00$ мкг/мл), *A. dracunculus** – стебель ($27,34\pm 5,01$; $17,19\pm 4,48$; $24,44\pm 3,06$ мкг/мл), цветы ($1,10\pm 0,24$; $7,81\pm 2,00$; $24,44\pm 3,06$ мкг/мл), листья ($1,10\pm 0,24$; $15,63\pm 4,00$; $5,86\pm 0,76$ мкг/мл); *A. absinthium* – стебель ($12,70\pm 2,80$; 0; $87,5\pm 16,03$ мкг/мл), цветы ($3,42\pm 0,62$; 0; 0 мкг/мл), листья ($1,10\pm 0,24$; $15,63\pm 4,00$; $24,44\pm 3,06$ мкг/мл); *A. dracunculus*** – стебель ($21,48\pm 5,6$; $11,60\pm 1,53$; $46,88\pm 6,12$ мкг/мл), цветы ($37,11\pm 10,02$; $7,81\pm 2,00$; $24,44\pm 3,06$ мкг/мл), листья ($3,66\pm 0,48$; $10,94\pm 2,00$; $43,75\pm 8,01$ мкг/мл); *A. dracunculus**** – стебель ($1,46\pm 0,36$; $37,5\pm 9,26$; 0 мкг/мл), цветы ($3,42\pm 0,62$; $21,88\pm 4,00$; $87,5\pm 16,03$ мкг/мл), листья ($1,10\pm 0,24$; $10,94\pm 2,00$; $24,44\pm 3,06$ мкг/мл); *A. frigida* – стебель ($58,59\pm 7,66$; $14,06\pm 3,06$; $14,06\pm 3,06$ мкг/мл); цветы ($54,69\pm 10,02$; $5,86\pm 0,76$; $24,44\pm 3,06$ мкг/мл), листья ($4,88\pm 1,25$; $11,60\pm 1,53$; $43,75\pm 8,01$ мкг/мл); *A. sieversiana* – стебель ($58,59\pm 7,66$; 0; 0 мкг/мл), цветы ($109,38\pm 20,05$; $46,88\pm 6,12$; $11,60\pm 1,53$ мкг/мл), листья ($11,72\pm 2,89$; $3,90\pm 1,00$; $10,16\pm 2,24$ мкг/мл) (рис. 2, 3).

Полученные значения EC_{50} демонстрируют, что при том, что экстракты листьев *Artemisia* spp. по равной и убывающей активности – *A. vulgaris*, *A. dracunculus**, *A. absinthium*, *A. dracunculus****, *A. dracunculus***, *A. frigida*, *A. glauca* и *A. sieversiana* (в диапазоне концентраций $1,10\pm 0,24$ – $11,72\pm 2,89$ мкг/мл) оказались наиболее эффективны при прямой инактивации вирионов SARS-CoV-2, при «профилактической» схеме также был показан хороший результат экстрактов листьев *A. sieversiana* ($3,90\pm 1,00$ мкг/мл), *A. dracunculus*** ($10,94\pm 2,00$ мкг/мл), *A. dracunculus**** ($10,94\pm 2,00$ мкг/мл), *A. frigida* ($11,60\pm 1,53$ мкг/мл), *A. glauca* ($14,06\pm 3,06$ мкг/мл), *A. dracunculus** ($15,63\pm 4,00$ мкг/мл), *A. absinthium* ($15,63\pm 4,00$ мкг/мл). По схеме «лечения» клеток следует отметить экстракты листьев *A. dracunculus** ($5,86\pm 0,76$ мкг/мл); *A. glauca* ($7,81\pm 2,00$ мкг/мл) и *A. sieversiana* ($10,16\pm 2,24$ мкг/мл).

Экстракты цветов *Artemisia* spp., скорее всего, также содержат БАВ, действующие как деструктивно на вирус, так и после проникновения вируса в клетки – это *A. vulgaris*, *A. glauca*, *A. dracunculus**, *A. dracunculus***, *A. dracunculus****, *A. frigida* и *A. sieversiana*. Экстракт цветов *A. absinthium* с высоким значением $EC_{50}=3,42\pm 0,62$ мкг/мл проявился только при прямой инактивации, т.к. в двух других схемах экспериментов результат для него отрицательный.

Для экстрактов стеблей стабильно высокие значения EC_{50} по результатам трех схем экспериментов выявлены для *A. glauca* ($6,84\pm 1,35$; $7,81\pm 2,00$; $14,06\pm 3,06$ мкг/мл). Для остальных видов значения EC_{50} экстрактов стеблей изменяются по результатам трех схем экспериментов – *A. vulgaris* ($14,65\pm 1,91$; $24,44\pm 3,06$; $24,44\pm 3,06$ мкг/мл), *A. dracunculus** ($27,34\pm 5,01$; $17,19\pm 4,48$; $24,44\pm 3,06$ мкг/мл), *A. dracunculus*** ($21,48\pm 5,6$; $11,60\pm 1,53$; $46,88\pm 6,12$ мкг/мл), *A. frigida* ($58,59\pm 7,66$; $14,06\pm 3,06$; $14,06\pm 3,06$ мкг/мл). Экстракт стеблей *A. dracunculus**** с высоким значением $EC_{50}=1,46\pm 0,36$ мкг/мл проявился только при прямой инактивации, т.к. при «профилактической» схеме $EC_{50}=37,5\pm 9,26$ мкг/мл, а при схеме «лечения» результат для него отрицательный. Экстракт стеблей *A. sieversiana* с невысоким значением $EC_{50}=58,59\pm 7,66$

мкг/мл инактивировал живой вирус, а в двух других схемах результат для него отрицательный. Тем не менее, эти данные предполагают наличие в стеблях, как и в листьях и цветах видов *Artemisia* некоторого

количества БАВ, способных инактивировать SARS-CoV-2 и/или ингибировать его ферменты, необходимые для репликации.

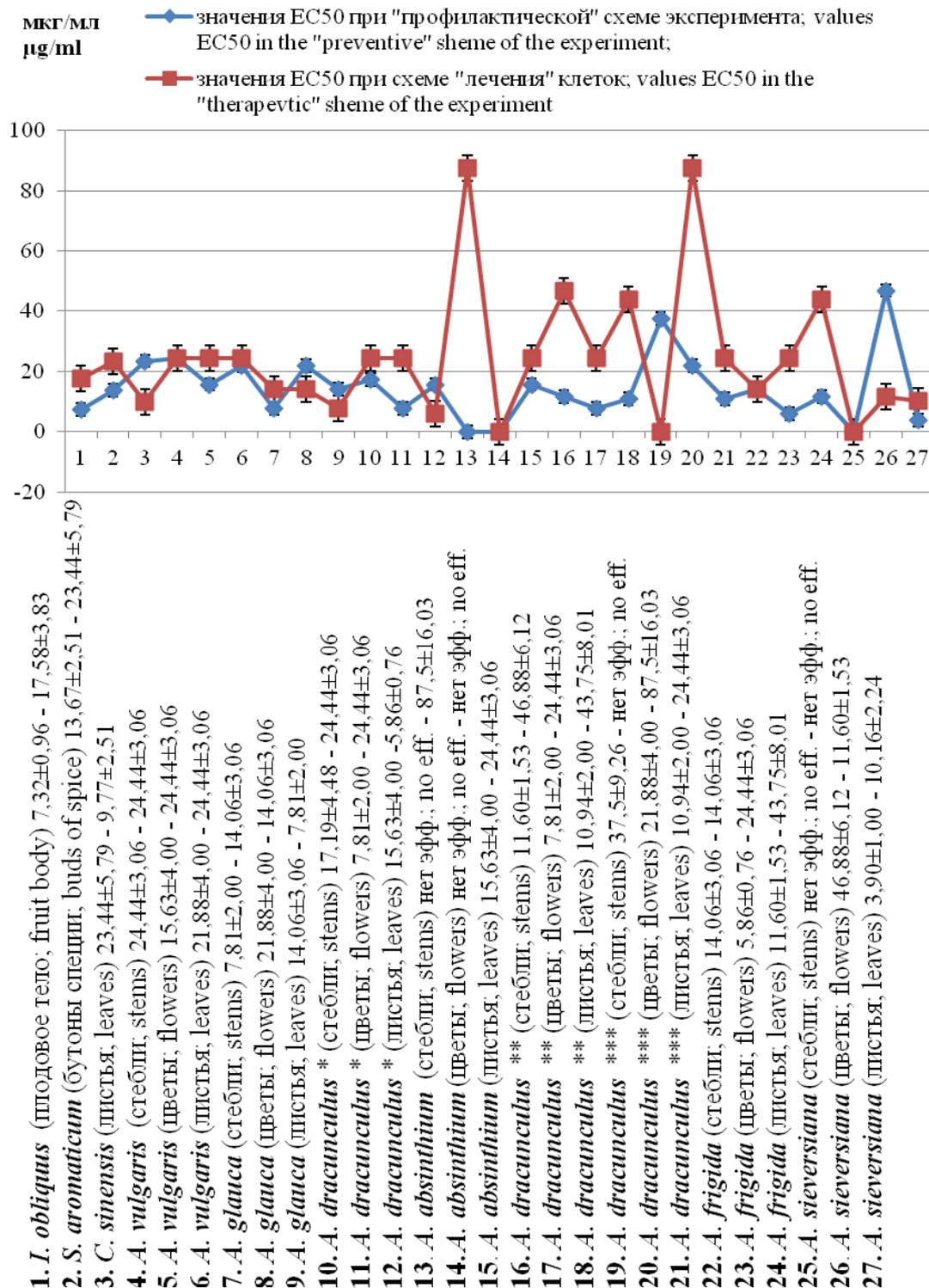


Рисунок 3. Значения 50%-ных эффективных концентраций экстрактов контрольных образцов и разных частей полыней – стеблей, цветов и листьев на ингибирующую активность репликации SARS-CoV-2 при «профилактической» и «лечебной» схемам экспериментов

Примечания: нет эфф. – нет эффекта

Figure 3. The values of 50% effective concentrations of extracts of control samples and different parts of *Artemisia* spp. (stems, flowers and leaves) on the inhibitory activity of SARS-CoV-2 replication in the "preventive" and "therapeutic" experimental schemes

Note: no eff. – no effect

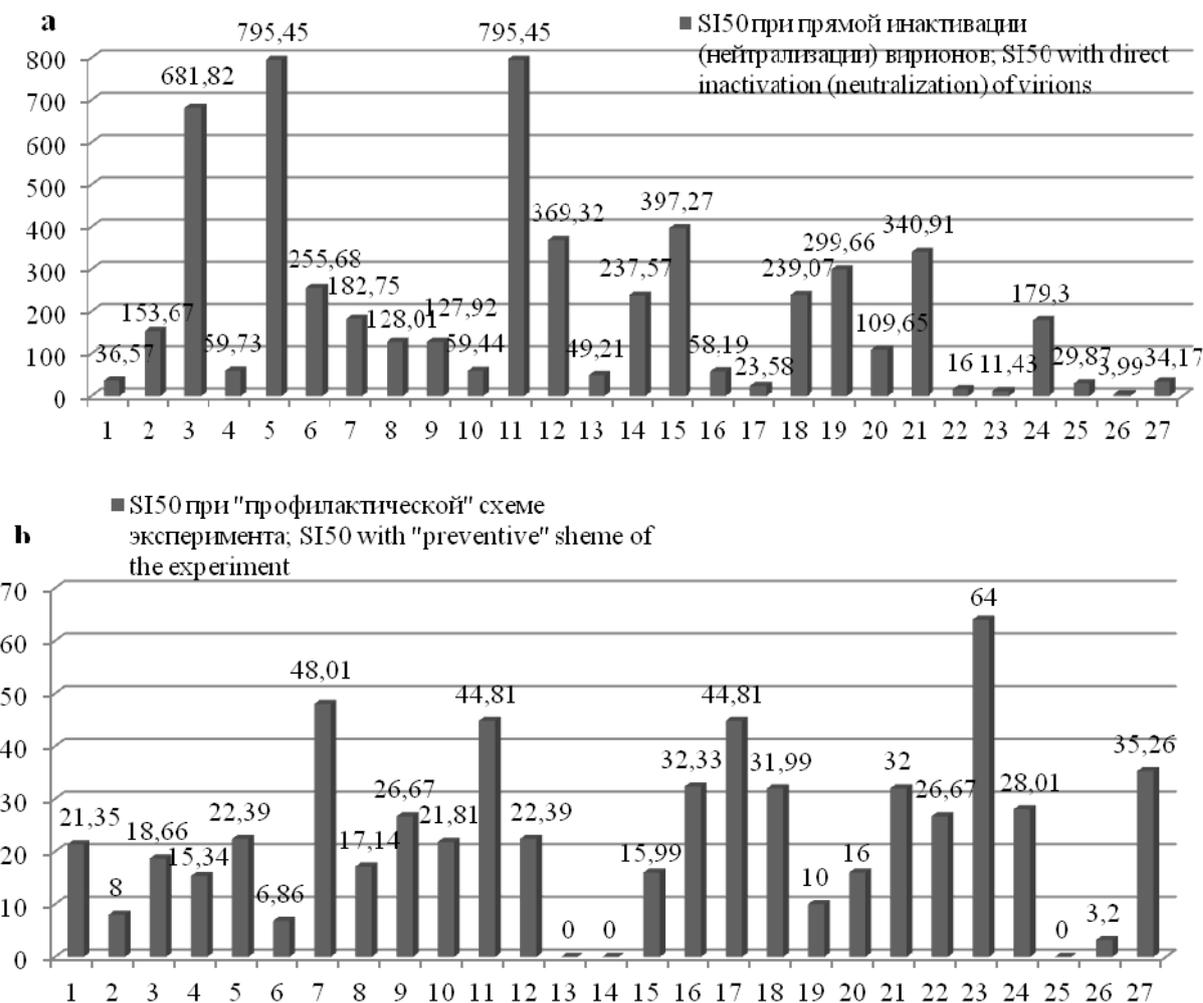
4. Определение индексов селективности для исследованных этанольных экстрактов полыни и контрольных образцов

На основании полученных данных по цитотоксичности (CC_{50}) (рис. 1) и эффективным концентрациям (EC_{50}) исследуемых растительных препаратов по трем схемам экспериментов по их инактивирующей (нейтрализующей) активности (рис. 2), а также по «профилактической» и схеме «лечения» клеток (рис. 3) были рассчитаны индексы селективности (SI_{50}) и представлены в виде диаграммы (рис. 4), по которой можно сделать выводы о предполагаемом терапевтическом эффекте как контрольных образцов сухих этанольных экстрактов *C. sinensis*, *S. aromaticum* и *I. obliquus*, для которых эти результаты также получены впервые, так и для отдельных частей (стеблей, цветов, листьев) *Artemisia* spp.

В результате по трем схемам экспериментов получены следующие значения SI_{50} : при прямой инактивации от 3,99 для экстракта цветов *A. sieversiana* (образец №26) до 795,45 для экстракта цветов *A. vulgaris* (образец №5) и экстракта цветов *A. dracuncul** (образец №11); по «профилактической» схеме от 3,2 для экстракта цветов *A. sieversiana* (образец №26) до 64,0 для экстракта цветов *A. frigida* (образец №23) и по схеме «лечения» от 3,71 для экстракта стебля *A. absinthium* (образец №13) до 59,73

для экстракта листьев *A. dracuncul** (образец №12) (рис. 4).

По данным литературы, индексы селективности по результатам исследований *in vitro* варьируют в широком диапазоне и зависят от цитотоксичности анализируемых препаратов. Например, для разных фракций мало токсичных, по мнению Trujillo-Correa с соавт., для клеток Vero (с CC_{50} от 130,5 до 625,7 мкг/мл) этанольных экстрактов коры древесного растения *Psidium guajava* (Myrtaceae) при EC_{50} от 16,7 до 134,4 мкг/мл против вируса денге) показатели SI_{50} представлены в значениях от 1,0 до 35,4 [43]. Мазуркова с соавт. определили SI_{50} от 5,12 до 109,56 для этанольных экстрактов корней и наземных органов манжетки обыкновенной (*Alchemilla vulgaris*, Rosaceae) с EC_{50} от 4,79 до 19,95 мкг/мл против вирусов простого герпеса 1 и 2 типов (при CC_{50} в диапазоне 56,23–676,08 мкг/мл) [44]. Теплякова с соавт. в заявке на патент по ингибирующему действию лиофильно высушенных и концентрированных водных экстрактов *I. obliquus* на штамм nCoV/Victoria/1/2020 SARS-CoV-2 представили значение SI_{50} в диапазоне 16,73–155,5 для разных образцов при показателях EC_{50} =0,75–11,6 мкг/мл [25]. Для синтезированного препарата НИОХ-14 в отношении вирусов осповакцины и экстремелии с EC_{50} =0,004±0,001 мкг/мл и CC_{50} =470±90 мкг/мл SI_{50} оказался равным 117000 [45].



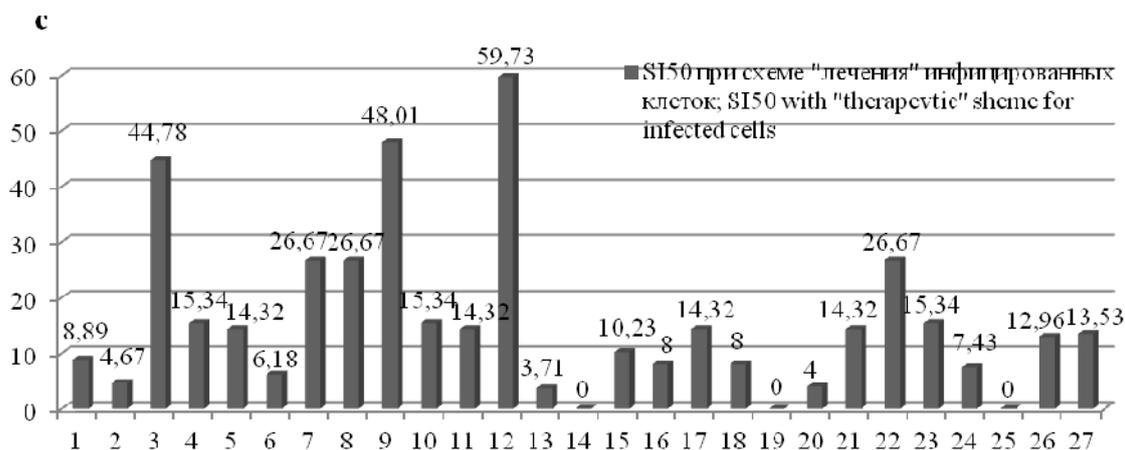


Рисунок 4. Индексы селективности для исследованных этанольных экстрактов контрольных образцов и отдельных частей (стеблей, цветов, листьев) *Artemisia* spp.

Примечание: номера по горизонтальной линии соответствуют нумерации в рис. 1, 2 и 3;

a. данные по схеме прямой инактивации (нейтрализации) вируса; **b.** данные по «профилактической» схеме;

c. данные по схеме «лечения» инфицированных клеток

Figure 4. Selectivity indices for the studied ethanol extracts of control samples and individual parts (stems, flowers, leaves) of *Artemisia* spp.

Note: the numbers on the horizontal line correspond to the numbering in Figs. 1, 2 and 3;

a. data from the scheme of direct inactivation (neutralization) of virus; **b.** data from the "preventive" scheme;

c. data from the "therapeutic" scheme of infected cells

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

До сих пор нет зарегистрированных препаратов прямого анти-SARS-CoV-2 действия. Например, лечение пациентов с COVID-19 проводится ремдесивиром – ингибитором вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразы (RdRp), одобренным FDA (U.S. Food and Drug Administration) и EMA (European Medicines Agency) для применения при других вирусных инфекциях. Но на сегодняшний день результаты клинических испытаний противоречивы, и их нельзя считать однозначно убедительными [46]. Известно, что белками – мишенями для противовирусных препаратов могут быть как RdRp, которая отвечает за репликацию вирусной РНК, так и основная вирусная протеаза 3CLpro [47], а также рецепторсвязывающий домен (RBD) белка S, взаимодействующий с клеточными рецепторами [48]. Нейтрализующие моноклональные антитела (МКА), специфичные к RBD, были одобрены в США в качестве вариантов лечения COVID-19 для экстренного использования в случае угрозы смерти пациента. Но такие препараты дорогие в производстве и репертуар терапевтических МКА против SARS-CoV-2 необходимо постоянно проверять на эффективность и расширять их «ассортимент» в связи с появлением новых вирусных вариантов [49]. Поэтому идеальными лекарственными препаратами при COVID-19 могут стать вещества, ингибирующие несколько вирусных мишеней. В настоящее время проводят тестирование *in silico* большого количества молекул природного происхождения по поиску возможных лекарств от этой болезни [47]. Несмотря на огромные мировые усилия по созданию вакцины, смертельная пандемия по-прежнему представляет угрозу для человечества. Таким образом, использование потенциально эффективных растительных лекарственных средств является еще одним подходом к предотвращению распространения SARS-CoV-2 [13].

Полученные нами данные по анализу ингибирующей активности отдельных частей (стеблей,

цветов, листьев) *Artemisia* spp. на репликацию SARS-CoV-2 по трем схемам экспериментов – это прямая инактивация (нейтрализация) вируса, а также по схемам «профилактики» и «лечения» клеток актуальны, т.к. для дальнейших исследований можно расширить видовой состав полыней, произрастающих в Новосибирской области и в других регионах РФ, а также оценить запасы природного сырья. Перспективные виды и сорта растений рода *Artemisia* L. можно интродуцировать и вводить в культуру, как описано [50]. На основе вида *A. absinthium* L., признанного официальным лекарственным растением в РФ и *A. vulgaris* L., разрешенной к продаже, можно провести дополнительные клинические исследования с использованием нескольких вирусных штаммов и разработать ТУ для производства капсулированных препаратов высушенных листьев, как рекомендуют Nair с соавт. на основании результатов по эффективности препаратов листьев *A. annua* L. против SARS-CoV-2 [12]. Другие виды полыней, представленные в данной работе, также необходимо тщательно изучить в этом направлении. Например, в Китае в самом начале пандемии COVID-19 для профилактической и лечебной ароматерапии в госпиталях использовали полынь серебристую *A. argyi* [51].

Таким образом, на основании полученных нами результатов можно сказать, что все исследованные *Artemisia* spp. по отдельным частям растений можно использовать как для хроматографического определения состава БАВ, так и выделения индивидуальных соединений для анализа их ингибирующего действия на репликацию SARS-CoV-2 и/или других вирусов.

БЛАГОДАРНОСТЬ

1. Экспериментальная работа выполнялась при поддержке гранта РНФ №19-74-10055. Анализ и интерпретация данных выполнялись в рамках

государственного задания ФИЦ ФТМ (тема №122012400086-2).

2. Работа частично выполнена в рамках государственного задания 122120600015-2.

ACKNOWLEDGMENT

1. The experimental work was carried out with the support of RNF grant No. 19-74-10055. Analysis and interpretation of the data were carried out within the framework of the state task of the FRCFTM (topic No. 122012400086-2).

2. The work was partially performed within the framework of the state assignment 122120600015-2

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Bora K.S., Sharma A. The genus *Artemisia*: a comprehensive review // *Pharmaceutical Biology*. 2011. V. 49. N 1. P. 101–109. DOI: 10.3109/13880209.2010.497815
- Hussain A. A phylogenetic perspective of antiviral species of the genus *Artemisia* (Asteraceae-Anthemideae): A proposal of anti SARS-CoV-2 (COVID-19) candidate taxa // *J Herb Med*. 2022. N 36. Article number: 100601. DOI: 10.1016/j.hermed.2022.100601
- Леонова Т.Г. Полынь – *Artemisia* L. // Флора европейской части СССР. СПб: Наука, 1994. Т. VII. С. 150–174.
- Sharifi-Rad J., Herrera-Bravo J., Semwal P., Painuli S., Badoni H., Ezzat Shahira M., Farid M.M., Merghany R.M., Aborehab N.M., Salem M.A., Sen S., Acharya K., Lapava N., Martorell M., Tynybekov B., Calina D., Cho W.C. *Artemisia* spp.: An Update on Its Chemical Composition, Pharmacological and Toxicological Profiles. *Oxid Med Cell Longev*. 2022. V. 2022. Article ID: 5628601. DOI: 10.1155/2022/5628601
- Red List. Internet resource. URL: <https://www.iucnredlist.org/search/list?taxonomies=115307&searchType=species> (дата обращения: 01.11.2022)
- Su X.Z., Miller L.H. The discovery of artemisinin and the Nobel Prize in Physiology or Medicine // *Science China Life Sciences*. 2015. N 58. P. 1175–1179. DOI: 10.1007/s11427-015-4948-7
- Agrawal P.K., Agrawal C., Blunden G. *Artemisia* Extracts and Artemisinin-Based Antimalarials for COVID-19 Management: Could These Be Effective Antivirals for COVID-19 Treatment? // *Molecules*. 2022. V. 27. N 12. Article number: 3828. DOI: 10.3390/molecules27123828
- Cao R., Hu H., Li Yu., Wang X., Xu M., Liu J., Zhang H., Yan Y., Zhao L., Li W., Zhang T., Xiao D., Guo X., Li Y., Yang J., Hu Z., Wang M., Zhong W. Anti-SARS-CoV-2 Potential of Artemisinins *In Vitro* // *ACS Infect Dis*. 2020. V. 6. N 9. P. 2524–2531. DOI: 10.1021/acscinfecdis.0c00522
- 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. V. 18(1). Article number: 182. DOI: 10.1186/s12985-021-01651-8
- Nair M.S., Huang Y., Fidock D.A., Polyak S.J., Wagoner J., Towler M.J., Weathers P.J. *Artemisia annua* L. extracts inhibit the in vitro replication of SARS-CoV-2 and two of its variants // *J Ethnopharmacol*. 2021. N 274. Article ID: 114016. DOI: 10.1016/j.jep.2021.114016
- Nair M.S., Huang Y., Fidock D.A., Towler M.J., Weathers P.J. *Artemisia annua* L. hot-water extracts show potent activity in vitro against Covid-19 variants including delta // *J Ethnopharmacol*. 2022. N 284. Article number: 114797. DOI: 10.1016/j.jep.2021.114797
- Nair M.S., Huang Y., Weathers P.J. SARS-CoV-2 omicron variants succumb *in vitro* to *Artemisia annua* hot water extracts // *BioRxiv*. 2022. Preprint. DOI: 10.1101/2022.07.22.501141
- Dogan K., Erol E., Orhan M.D., Degirmenci Z., Kan T., Gungor A., Yasa B., Avsar T., Cetin Y., Durdagi S., Guzel M. Instant determination of the artemisinin from various *Artemisia annua* L. extracts by LC-ESI-MS/MS and their in-silico modelling and in vitro antiviral activity studies against SARS-CoV-2 // *Phytochem Anal*. 2022. V. 33. N 2. P. 303–319. DOI: 10.1002/pca.3088
- Журинов М.Ж., Мифтахова А.Ф., Шустов А.В., Кеер В., Солодова Е.В. Ингибирующая активность экстрактов против коронавируса // *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*. 2022. N 3. С. 25–31.
- Kupferschmidt K. WHO relaunches global drug trial with three new candidates // *Science*. 2021. V. 373. N 6555. P. 606–607. DOI: 10.1126/science.373.6555.606
- Wang D., Shi C., Alamgir K., Kwon S., Pan L., Zhu Y., Yang X. Global assessment of the distribution and conservation status of a key medicinal plant (*Artemisia annua* L.): The roles of climate and anthropogenic activities // *Sci Total Environ*. 2022. N 821. Article number: 153378. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.153378
- Коновалов Д.А., Хамилонов А.А. Биологически активные соединения полыни однолетней. Эфирное масло // *Фармация и фармакология*. 2016. Т. 4. N 4. С. 4–33. DOI.org/10.19163/2307-9266-2016-4-4-4-33
- Zhigzhitzharova S.V., Dylenova E.P., Gulyaev S.M., Randalova T.E., Taraskin V.V., Tykheev Z.A., Radnaeva L.D. Composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia annua* // *L Nat Prod Res*. 2020. V. 34(18). P. 2668–2671. DOI: 10.1080/14786419.2018.1548461
- Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Дагестан. URL: https://05.rospotrebnadzor.ru/371/-/asset_publisher/m7XL/content/%D0%BF%D0%BE%D0%BB%D1%8B%D0%BD%D1%8C-%D0%B3%D0%BE%D1%80%D1%8C%D0%BA%D0%B0%D1%8F (дата обращения: 01.10.2022)
- Государственный реестр лекарственных средств. URL: <http://grls.rosminzdrav.ru> (дата обращения: 01.10.2022)
- Приказ Росстандарта общероссийского классификатора продукции. URL: <https://normative.kontur.ru/document?moduleId=1&documentId=56864> (дата обращения: 01.10.2022)
- Шалдаева Т.М. Особенности накопления флавоноидов в полынях (*Artemisia* L.) лесостепной зоны Западной Сибири // Автореф. канд. дисс. Новосибирск, 2007. 18 с. URL: <https://www.dissercat.com/content/osobennosti-nakopleniya-flavonoidov-v-polyunyakh-artemisia-l-lesostepnoy-zony-zapadnoy-sibiri/read> (дата обращения: 01.10.2022)
- Евсеева С.Б., Сысыев Б.Б. Экстракты растительного сырья как компоненты косметических и наружных лекарственных средств: ассортимент продукции, особенности получения (обзор) // *Фармация и фармакология*. 2016. N 3. С. 4–37. DOI: 10.19163/2307-9266-2016-4-3-4-37
- Красноборов И.М. Полынь – *Artemisia* L. // Определитель растений Новосибирской области. Новосибирск: Наука, 2000. С. 335–339.
- Теплякова Т.В., Пьянков О.В., Скарнович М.О., Бормотов Н.И., Потешкина А.Л., Овчинникова А.С., Косогова Т.А., Магеррамова 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. №4.
- 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: 10.18470/1992-1098-2022-2-76-90
27. Mhatre S., Naik S., Patravale V. A molecular docking study of EGCG and theaflavin digallate with the druggable targets of SARS-CoV-2 // *Comput Biol Med*. 2021. N 129. Article number: 104137. DOI: 10.1016/j.combiomed.2020.104137
28. 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. V. 85. Article number: 153286. DOI: 10.1016/j.phymed.2020.153286
29. 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. V. 74. N 1. P. 2–7. DOI: 10.1111/lam.13591
30. Чепурнов А.А., Шаршов К.А., Казачинская Е.И., Кононова Ю.В., Казачкова Е.А., Хрипко О.П., Юрченко К.С., Алексеев А.Ю., Воевода М.И., Шестопалов А.М. Антигенные свойства изолята коронавируса SARS-CoV-2/human/RUS/Nsk-FRCFTM-1/2020, выделенного от пациента в Новосибирске // *Журнал инфектологии*. 2020. Т. 12. N 3. С. 42–50. DOI: 10.22625/2072-6732-2020-12-3-42-50
31. Kazachinskaja 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. V. 10. N 11. Article number: 1421. DOI: 10.3390/pathogens10111421
32. Case J.B., Bailey A.L., Kim A.S., Chen R.E., Diamond M.S. Growth, detection, quantification, and inactivation of SARS-CoV-2 // *Virology*. 2020. N 548. P. 39–48. DOI: 10.1016/j.virol.2020.05.015
33. 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. N 7. Article number: 283. DOI: 10.3390/jcm7090283
34. Фисенко В.П. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Минздрав РФ, ЗАО «ИИА «Ремедиум», М. 2000. 398 с.
35. Tolah A.M., Altayeb L.M., Alandijany T.A., Dwivedi V.D., El-Kafrawy S.A., Azhar E.I. Computational and In Vitro Experimental Investigations Reveal Anti-Viral Activity of Licorice and Glycyrrhizin against Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 // *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021. V. 14. N 12. Article number: 1216. DOI: 10.3390/ph14121216
36. 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. V. 24. N 2. P. 23–30. DOI: 10.1615/IntJMedMushrooms.2021042012
37. Shahzad F., Anderson D., Najafzadeh M. The Antiviral, Anti-Inflammatory Effects of Natural Medicinal Herbs and Mushrooms and SARS-CoV-2 Infection // *Nutrients*. 2020. V. 12. N 9. Article number: 2573. DOI: 10.3390/nu12092573
38. Vicidomini C., Roviello V., Roviello G. Molecular Basis of the Therapeutical Potential of Clove (*Syzygium aromaticum* L.) and Clues to Its Anti-COVID-19 Utility // *Molecules*. 2021. V. 26. N 7. Article number: 1880. DOI: 10.3390/molecules26071880
39. Зайковская А.В., Гладышева А.В., Карташов М.Ю., Таранов О.С., Овчинникова А.С., Шиповалов А.В., Пьянков О.В. Изучение в условиях *in vitro* биологических свойств штаммов коронавируса SARS-CoV-2, относящихся к различным генетическим вариантам // *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022. N 1. С. 94–100. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-94-100
40. Liu H., Ye F., Sun Q., Liang H., Li C., Li S., Lu R., Huang B., Tan W., Lai L. *Scutellaria baicalensis* extract and baicalin inhibit replication of SARS-CoV-2 and its 3C-like protease in vitro CoV-2 // *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2021. V. 36. N 1. P. 497–503. DOI:10.1080/14756366.2021.1873977
41. 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. Article number: 1263. DOI: 10.3390/v13071263
42. Mohamed F.F., Anhlan D., Schöfbänker M., Schreiber A., Classen N., Hensel A., Hempel G., Scholz W., Kühn J., Hrinčius E.R., Ludwig S. *Hypericum perforatum* and Its Ingredients Hypericin and Pseudohypericin Demonstrate an Antiviral Activity against SARS-CoV-2 // *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022. V. 15. N 5. Article number: 530. DOI: 10.3390/ph15050530
43. Trujillo-Correa A.I., Quintero-Gil D.C., Diaz-Castillo F., Quiñones W., Robledo S.M., Martinez-Gutierrez M. In vitro and in silico anti-dengue activity of compounds obtained from *Psidium guajava* through bioprospecting // *BMC Complement Altern Med*. 2019. V. 19. N 1. Article number: 298. DOI: 10.1186/s12906-019-2695-1
44. Мазуркова Н.А., Кукушкина Т.А., Высочина Г.И., Ибрагимова Ж.Б., Лобанова И.Е., Филиппова Е.И., Мазурков О.Ю., Макаревич Е.В., Шишкина Л.Н., Агафонов А.П. Изучение противогерпетической активности экстрактов манжетки обыкновенно (*Alchemilla vulgaris* L.) // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2016. N 1. С. 118–127. URL: https://www.pharmjournal.ru/jour/article/view/230?locale=ru_RU (дата обращения: 01.10.2022)
45. Мазурков О.Ю. Противовирусная активность, безвредность и биодоступность субстанции кандидатного противооспенного препарата НИОХ-14. Дисс. к.б.н., Кольцово, 2020. URL: <http://www.vector.nsc.ru/userfiles/files/diss/mazurkov/dmazurkov.pdf> (дата обращения: 01.10.2022)
46. García-Lledó A., Gómez-Pavón J., Castillo J.G.D., Hernández-Sampelayo T., Martín-Delgado M.C., Sánchez F.J.M., Martínez-Sellés M., García J.M.M., Guillén S.M., Rodríguez-Artalejo F.J., Ruiz-Galiana J., Cantón R., Ramos P.D.L., García-Botella A., Bouza E. Pharmacological treatment of COVID-19: an opinion paper // *Rev Esp Quimioter*. 2022. V. 35. N 2. P. 115–130. DOI: 10.37201/req/158.2021
47. da Rocha Matos A., Caetano B.C., de Almeida Filho J.L., de Carvalho Martins J.S.C., de Oliveira M.G.P., das Chagas Sousa T., Horta M.A.P., Siqueira M.M., Fernandez J.H. Identification of Hypericin as a Candidate Repurposed Therapeutic Agent for COVID-19 and Its Potential Anti-SARS-CoV-2 Activity // *Front Microbiol*. 2022. N 13. Article number: 828984. DOI: 10.3389/fmicb.2022.828984
48. Prateeksha G., Rana T.S., Ashthana A.K., Barik S.K., Singh B.N. Screening of cryptogamic secondary metabolites as putative inhibitors of SARS-CoV-2 main protease and ribosomal binding domain of spike glycoprotein by molecular docking and molecular dynamics approaches // *J Mol Struct*. 2021. N 1240. Article number: 130506. DOI: 10.1016/j.molstruc.2021.130506
49. Peng L., Hu Y., Mankowski M., Ren P., Chen R.E., Wei J., Zhao M., Li T., Tripler T., Ye L., Chow R.D., Fang Z., Wu C., Dong M.B., Cook M., Wang G., Clark P., Nelson B., Klein D., Sutton R., Diamond M.S., Wilen C.B., Xiong Y., Chen S. Monospecific and bispecific monoclonal SARS-CoV-2 neutralizing antibodies that maintain potency against B.1.617 // *Nat Commun*. 2022. V. 13. N 1. Article number: 1638. DOI: 10.1038/s41467-022-29288-3

50. Логвиненко Л.А., Шевчук О.М., Кравченко Е.Н. Интродукционное изучение некоторых видов полыни коллекции ароматических и лекарственных растений Никитского ботанического сада // Аграрный вестник Урала. 2019. N 4(183). С. 59–63. DOI: 10.32417/article_5cf9f5c5bfb246.48831055

51. Zhao Z., Li Y., Zhou L., Zhou X., Xie B., Zhang W., Sun J. Prevention and treatment of COVID-19 using Traditional Chinese Medicine: a review // *Phytomedicine*. 2021. N 85. Article number: 153308. DOI: 10.1016/j.phymed.2020.153308

REFERENCES

- Bora K.S., Sharma A. The genus *Artemisia*: a comprehensive review. *Pharmaceutical Biology*, 2011, vol. 49, no. 1, pp. 101–109. DOI: 10.3109/13880209.2010.497815
- Hussain A.A. phylogenetic perspective of antiviral species of the genus *Artemisia* (Asteraceae-Anthemideae): A proposal of anti SARS-CoV-2 (COVID-19) candidate taxa. *J Herb Med.*, 2022, no. 36, article number: 100601. DOI: 10.1016/j.hermed.2022.100601
- Leonova T.G. Wormwood – *Artemisia* L. Flora of the European part of the USSR. St. Petersburg: The Science, 1994, vol. VII, pp. 150–174. (In Russian)
- Sharifi-Rad J., Herrera-Bravo J., Semwal P., Painuli S., Badoni H., Ezzat Shahira M., Farid M.M., Merghany R.M., Aborehab N.M., Salem M.A., Sen S., Acharya K., Lapava N., Martorell M., Tynybekov B., Calina D., Cho W.C. *Artemisia* spp.: An Update on Its Chemical Composition, Pharmacological and Toxicological Profiles. *Oxid Med Cell Longev*. 2022, iss. 2022, article number: 5628601. DOI: 10.1155/2022/5628601
- Red List. URL: <https://www.iucnredlist.org/search/list?taxonomies=115307&searchType=species> (Date of application 1.10.2022)
- Su X.Z., Miller L.H. The discovery of artemisinin and the Nobel Prize in Physiology or Medicine. *Science China Life Sciences.*, 2015, no. 58, pp. 1175–1179. DOI: 10.1007/s11427-015-4948-7
- Agrawal P.K., Agrawal C., Blunden G. *Artemisia* Extracts and Artemisinin-Based Antimalarials for COVID-19 Management: Could These Be Effective Antivirals for COVID-19 Treatment? *Molecules.*, 2022, vol. 27, no. 12, article number: 3828. DOI: 10.3390/molecules27123828
- Cao R., Hu H., Li Yu., Wang X., Xu M., Liu J., Zhang H., Yan Y., Zhao L., Li W., Zhang T., Xiao D., Guo X., Li Y., Yang J., Hu Z., Wang M., Zhong W. Anti-SARS-CoV-2 Potential of Artemisinins In Vitro. *ACS Infect Dis*. 2020, vol. 6, no. 9, pp. 2524–2531. DOI: 10.1021/acinfedcis.0c00522
- 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. *Virology*, 2021, vol. 18(1), article number: 182. DOI: 10.1186/s12985-021-01651-8
- Nair M.S., Huang Y., Fidock D.A., Polyak S.J., Wagoner J., Towler M.J., Weathers P.J. *Artemisia annua* L. extracts inhibit the in vitro replication of SARS-CoV-2 and two of its variants. *J Ethnopharmacol.*, 2021, no. 274, article number: 114016. DOI: 10.1016/j.jep.2021.114016
- Nair M.S., Huang Y., Fidock D.A., Towler M.J., Weathers P.J. *Artemisia annua* L. hot-water extracts show potent activity in vitro against Covid-19 variants including delta. *J Ethnopharmacol.*, 2022, no. 284, article number: 114797. DOI: 10.1016/j.jep.2021.114797
- Nair M.S., Huang Y., Weathers P.J. SARS-CoV-2 omicron variants succumb *in vitro* to *Artemisia annua* hot water extracts. *BioRxiv*. Preprint. 2022. DOI: 10.1101/2022.07.22.501141
- Dogan K., Erol E., Orhan M.D., Degirmenci Z., Kan T., Gungor A., Yasa B., Avsar T., Cetin Y., Durdagi S., Guzel M. Instant determination of the artemisinin from various *Artemisia annua* L. extracts by LC-ESI-MS/MS and their in-silico modelling and in vitro antiviral activity studies against SARS-CoV-2. *Phytochem Anal.*, 2022, vol. 33, no. 2, pp. 303–319. DOI: 10.1002/pca.3088
- Zhurinov M.Zh., Miftakhova A.F., Shustov A.V., Keyer V., Solodova E.V. Inhibitory activity of extracts against coronavirus. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*. 2022, no. 3, pp. 25–31. (In Russian)
- Kupferschmidt K. WHO relaunches global drug trial with three new candidates *Science*. 2021, vol. 373, no. 6555, pp. 606–607. DOI: 10.1126/science.373.6555.606
- Wang D., Shi C., Alamgir K., Kwon S., Pan L., Zhu Y., Yang X. Global assessment of the distribution and conservation status of a key medicinal plant (*Artemisia annua* L.): The roles of climate and anthropogenic activities. *Sci Total Environ.*, 2022, no. 821, article number: 153378. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.153378
- Konovalov D.A., Khamilonov A.A. Biologically active compounds of *Artemisia annua*. Essential oil. *Pharmacy & Pharmacology*, 2016, vol. 4, no. 4, pp. 4–33. (In Russian) DOI: 10.19163/2307-9266-2016-4-4-4-33
- Zhigzhitzhapova S.V., Dylenova E.P., Gulyaev S.M., Randalova T.E., Taraskin V.V., Tykheev Z.A., Radnaeva L.D. Composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia annua* L. *Nat Prod Res*. 2020, vol. 34(18), pp. 2668–2671. DOI: 10.1080/14786419.2018.1548461
- Office of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare in the Republic of Dagestan. Available at: https://05.rospotrebnadzor.ru/371/-/asset_publisher/m7XL/content/%D0%BF%D0%BE%D0%BB%D1%8B%D0%BD%D1%8C-%D0%B3%D0%BE%D1%80%D1%8C%D0%BA%D0%B0%D1%8F (accessed 1.10.2022) (In Russian)
- State Register of Medicines. Available at: <http://grls.rosminzdrav.ru>. (accessed 04.10.2022) (In Russian)
- The order of the Rosstandart of the All-Russian classifier of products. Available at: <https://normative.kontur.ru/document?moduleId=1&documentId=56864> (accessed 1.10.2022). (In Russian)
- Shalaeva T.M. Features of flavonoid accumulation in wormwood (*Artemisia* L.) of the forest-steppe zone of Western Siberia. // Abstract of the cand. diss. Novosibirsk, 2007. 18 p. Electronic library of dissertations. Available at: <https://www.dissertcat.com/content/osobennosti-nakopleniya-flavonoidov-v-polynyakh-artemisia-l-lesostepnoi-zony-zapadnoi-sibiri/read> (accessed 1.10.2022). (In Russian)
- Evsheeva S.B., Sysuev B.B. Plant raw material extracts as components of cosmetic products and formulations for topical administration the products range, the production characteristics (review). *Pharmacy & Pharmacology*, 2016, no. 3, pp. 4–37. (In Russian) DOI: 10.19163/2307-9266-2016-4-3-4-37
- Krasnoborov I.M. *Polyn' – Artemisia L. Opredelitel' rastenii Novosibirskoi oblasti* [Wormwood - *Artemisia* L. Determinant of plants of the Novosibirsk region]. Novosibirsk, Nauka Publ., 2000, pp. 335–339. (In Russian)
- Tepliyakova T.V., Pyankov O.V., Skarnovich M.O., Bormotov N.I., Poteshkina A.L., Ovchinnikova A.S., Kosogova T.A., Mageramova 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. (In Russian)
- Kazachinskaya E.I., Chepurinov A.A., Kononova Y.V., Shelemba A.A., Romanyuk 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
- Mhatre S., Naik S., Patravale V. A molecular docking study of EGCG and theaflavin digallate with the druggable targets of

- SARS-CoV-2. *Comput Biol Med.*, 2021, no. 129, article number:104137. DOI: 10.1016/j.combiomed.2020.104137
28. 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, vol. 85, article number: 153286. DOI: 10.1016/j.phymed.2020.153286
29. 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. DOI: 10.1111/lam.13591
30. Chepurinov A.A., Sharshov K.A., Kazachinskaya E.I., Kononova Yu.V., Kazachkova E.A., Khripko O.P., Yurchenko K.S., Alekseev A.Yu., Voevoda M.I., Shestopalov A.M. Antigenic properties of sARs-CoV-2/human/RU/nsk-FRCfM-1/2020 coronavirus isolate from a patient in Novosibirsk. *Journal Infectology*, 2020, vol. 12, no. 3, pp. 42–50. (In Russian) DOI: 10.22625/2072-6732-2020-12-3-42-50
31. Kazachinskaia E.I., Chepurinov 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. *Pathogens*, 2021, vol. 10, no. 11, article number: 1421. DOI: 10.3390/pathogens10111421
32. Case J.B., Bailey A.L., Kim A.S., Chen R.E., Diamond M.S. Growth, detection, quantification, and inactivation of SARS-CoV-2. *Virology*, 2020, no. 548, pp. 39–48. DOI: 10.1016/j.virol.2020.05.015
33. 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, article number: 283. DOI: 10.3390/jcm7090283
34. Fisenko V.P. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv* [Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances]. Moscow. 2000, 398 p. (In Russian)
35. Tolah A.M., Altayeb L.M., Alandijany T.A., Dwivedi V.D., El-Kafrawy S.A., Azhar E.I. Computational and In Vitro Experimental Investigations Reveal Anti-Viral Activity of Licorice and Glycyrrhizin against Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2021, vol. 14, no. 12, article number: 1216. DOI: 10.3390/ph14121216
36. 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. DOI: 10.1615/IntJMedMushrooms.2021042012
37. Shahzad F., Anderson D., Najafzadeh M. The Antiviral, Anti-Inflammatory Effects of Natural Medicinal Herbs and Mushrooms and SARS-CoV-2 Infection. *Nutrients*. 2020, vol. 12, no. 9, article number: 2573. DOI: 10.3390/nu12092573
38. Vicidomini C., Roviello V., Roviello G. Molecular Basis of the Therapeutic Potential of Clove (*Syzygium aromaticum* L.) and Clues to Its Anti-COVID-19 Utility. *Molecules*, 2021, vol. 26, no. 7, article number: 1880. DOI: 10.3390/molecules26071880
39. Zaykovskaya A.V., Gladysheva A.V., Kartashov M.Yu., Taranov O.S., Ovchinnikova A.S., Shipovalov A.V., P'yankov O.V. In vitro Study of Biological Properties of SARS-CoV-2 Coronavirus Strains Related to Various Genetic Variants. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2022, no. 1, pp. 94–100. (In Russian) DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-94-100
40. Liu H., Ye F., Sun Q., Liang H., Li C., Li S., Lu R., Huang B., Tan W., Lai L. *Scutellaria baicalensis* extract and baicalin 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. DOI: 10.1080/14756366.2021.1873977
41. 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, vol. 13, no. 7, article number: 1263. DOI: 10.3390/v13071263
42. Mohamed F.F., Anhlán D., Schöfbänker M., Schreiber A., Classen N., Hensel A., Hempel G., Scholz W., Kühn J., Hrinčius E.R., Ludwig S. *Hypericum perforatum* and Its Ingredients Hypericin and Pseudohypericin Demonstrate an Antiviral Activity against SARS-CoV-2. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2022, vol. 15, no. 5, article number: 530. DOI: 10.3390/ph15050530
43. Trujillo-Correa A.I., Quintero-Gil D.C., Diaz-Castillo F., Quiñones W., Robledo S.M., Martínez-Gutierrez M. In vitro and in silico anti-dengue activity of compounds obtained from *Psidium guajava* through bioprospecting. *BMC Complement Altern Med.*, 2019, vol. 19, no. 1, article number: 298. DOI: 10.1186/s12906-019-2695-1
44. Mazurkova N.A., Kukushkina T.A., Vysochina G.I., Ibragimova Zh.B., Lobanova I.E., Filippova E.I., Mazurkov O.Yu., Makarevich E.V., Shishkina L.N., Agafonov A.P. Study of antiherpetic activity of lady's Mantle (*Alchemilla vulgaris* L.) extracts. *Drug development & registration*, 2016, no. 1, pp. 118–127. Available at: https://www.pharmjournal.ru/jour/article/view/230?locale=ru_RU (accessed 1.10.2022) (In Russian)
45. Mazurkov O.Yu. Antiviral activity, harmlessness and bioavailability of the substance of the candidate anti-inflammatory drug NIOCH-14: PhD Thesis. Koltsovo. 2020. Available at: <http://www.vector.nsc.ru/userfiles/files/diss/mazurkov/dmazurkov.pdf> (accessed 01.10.2022) (In Russian)
46. García-Lledó A., Gómez-Pavón J., Castillo J.G.D., Hernández-Sampelayo T., Martín-Delgado M.C., Sánchez F.J.M., Martínez-Sellés M., García J.M.M., Guillén S.M., Rodríguez-Artalejo F.J., Ruiz-Galiana J., Cantón R., Ramos P.D.L., García-Botella A., Bouza E. Pharmacological treatment of COVID-19: an opinion paper. *Rev Esp Quimioter.* 2022, vol. 35, no. 2, pp. 115–130. DOI: 10.37201/req/158.2021
47. da Rocha Matos A., Caetano B.C., de Almeida Filho J.L., de Carvalho Martins J.S.C., de Oliveira M.G.P., das Chagas Sousa T., Horta M.A.P., Siqueira M.M., Fernandez J.H. Identification of Hypericin as a Candidate Repurposed Therapeutic Agent for COVID-19 and Its Potential Anti-SARS-CoV-2 Activity. *Front Microbiol.*, 2022, no. 13, article number: 828984. DOI: 10.3389/fmicb.2022.828984
48. Prateeksha G., Rana T.S., Ashthana A.K., Barik S.K., Singh B.N. Screening of cryptogamic secondary metabolites as putative inhibitors of SARS-CoV-2 main protease and ribosomal binding domain of spike glycoprotein by molecular docking and molecular dynamics approaches. *J Mol Struct.*, 2021, no. 1240, article number: 130506. DOI: 10.1016/j.molstruc.2021.130506
49. Peng L., Hu Y., Mankowski M., Ren P., Chen R.E., Wei J., Zhao M., Li T., Tripler T., Ye L., Chow R.D., Fang Z., Wu C., Dong M.B., Cook M., Wang G., Clark P., Nelson B., Klein D., Sutton R., Diamond M.S., Wilen C.B., Xiong Y., Chen S. Monospecific and bispecific monoclonal SARS-CoV-2 neutralizing antibodies that maintain potency against B.1.617. *Nat Commun.*, 2022, vol. 13, no. 1, article number: 1638. DOI: 10.1038/s41467-022-29288-3
50. Logvinenko L.A., Shevchuk O.M., Kravchenko E.N. Introduction study of some species of the Holitone of the collection of aromatic and medicinal plants of the Nikita Botanical Gardens. *Agrarnyi vestnik Urala*. 2019, no. 4(183), pp. 59–63. (In Russian) DOI: 10.32417/article_5cf9f5c5bfb246.48831055

51. Zhao Z., Li Y., Zhou L., Zhou X., Xie B., Zhang W., Sun J. Prevention and treatment of COVID-19 using Traditional

Chinese Medicine: A review. *Phytomedicine*, 2021, no. 85, article number: 153308. DOI: 10.1016/j.phymed.2020.153308

КРИТЕРИИ АВТОРСТВА

Елена И. Казачинская внесла идею исследования, оформила литературный обзор, провела сбор растительного сырья в природе и эксперименты по исследованию ингибирующей активности, а также обработала результаты. Валерия Д. Романова провела сбор растительного сырья в природе и экстракцию, тестирование цитотоксичности растительных препаратов, провела поиск литературы. Алла В. Иванова работала с сухим растительным сырьем по разделению на отдельные части (стебли, соцветия, листья), провела экстракцию. Александр А. Чепурнов наработал SARS-CoV-2/human/RUS/Nsk-FRCFTM-1/2020. Зумруд А. Муртазалиева участвовала в составлении литературного обзора и редактировании рукописи до подачи в редакцию. Юлия В. Кононова культивировала клетки *Vero* и *VeroE6*, провела титрование вируса и подготовку аликвот с определенным инфекционным титром, провела тестирование цитотоксичности растительных препаратов. Дмитрий Н. Шауло провел определение видов полыни в лаборатории «Гербарий» Центрального сибирского ботанического сада СО РАН. Владимир В. Романюк руководил экспедицией и провел определение видов полыни в природе в местах произрастания. Александр М. Шестопалов руководил организационной и материальной частью лабораторного 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. Kazachinskaja presented the idea of the study, designed a literary review, collected plant raw materials in nature and conducted experiments to study inhibitory activity and also processed the results. Valeriya D. Romanova collected plant raw materials in nature and made extractions, tested the cytotoxicity of herbal preparations and conducted a literature search. Alla V. Ivanova worked with dry plant raw materials by dividing them into separate parts (stems, inflorescences, leaves) and carried out extraction. Alexander A. Chepurnov cultivated SARS-CoV-2/human/RUS/Nsk-FRCFTM-1/2020. Zumrud A. Murtazaliev participated in the preparation of the literature review and edited the manuscript before submission to the Editor. Yulia V. Kononova cultured *Vero* and *Vero E6* cells, titrated the virus and prepared aliquots with a certain infectious titer and tested the cytotoxicity of herbal preparations. Dmitri N. Shaulo identified the types of wormwood in the «Herbarium» laboratory of the Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch, Russian Academy of Science, Novosibirsk. Vladimir V. Romanyuk led the expedition and identified the types of wormwood in nature in the places where they grew. Alexander M. Shestopalov led the organizational and material aspects of the laboratory research. 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. Kazachinskaja <https://orcid.org/0000-0002-1856-6147>

Валерия Д. Романова / Valeriya D. Romanova <https://orcid.org/0000-0002-0485-4818>

Алла В. Иванова / Alla V. Ivanova <https://orcid.org/0000-0001-9102-6756>

Александр А. Чепурнов / Alexander A. Chepurnov <https://orcid.org/0000-0002-5966-8633>

Зумруд А. Муртазалиева / Zumrud A. Murtazaliev <https://orcid.org/0000-0001-9131-677X>

Юлия В. Кононова / Yulia V. Kononova <https://orcid.org/0000-0002-3677-3668>

Дмитрий Н. Шауло / Dmitri N. Shaulo <https://orcid.org/0000-0002-1835-8532>

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>