

## Способ получения водной вытяжки и сухих этанольных экстрактов травы (смесь цветков с листьями) и стебля зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.), обладающих ингибирующей активностью на репликацию коронавируса SARS-CoV-2 *in vitro*

Елена И. Казачинская<sup>1,2</sup>, Юлия В. Кононова<sup>1</sup>, Алла В. Иванова<sup>2</sup>, Лариса Н. Зибарева<sup>3</sup>, Александр А. Чепурнов<sup>1</sup>, Владимир В. Романюк<sup>4</sup>, Апенди А. Бийболатов<sup>5</sup>, Марина А. Гуляева<sup>6</sup>, Александр М. Шестопалов<sup>1,7</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт вирусологии Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

<sup>4</sup>Научно-производственная фирма (НПФ) «Золотая долина», Новосибирск, Россия

<sup>5</sup>Дагестанский государственный медицинский университет, Махачкала, Россия

<sup>6</sup>Факультет естественных наук Новосибирского государственного университета, Новосибирск, Россия

<sup>7</sup>Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

### Контактное лицо

Елена И. Казачинская, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник ФИЦ ФТМ СО РАН, ведущий научный сотрудник ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»; 630559 Россия, Новосибирская область, Новосибирск, р/п Кольцово 32-1.

Тел. +79095307441

Email [lena.kazachinskaja@mail.ru](mailto:lena.kazachinskaja@mail.ru)

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

### Формат цитирования

Казачинская Е.И., Кононова Ю.В., Иванова А.В., Зибарева Л.Н., Чепурнов А.А., Романюк В.В., Гуляева М.А., Шестопалов А.М. Способ получения водной вытяжки и сухих этанольных экстрактов травы (смесь цветков с листьями) и стебля зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.), обладающих ингибирующей активностью на репликацию коронавируса SARS-CoV-2 *in vitro* // Юг России: экология, развитие. 2023. Т.18, N 3. С. 103-117. DOI: 10.18470/1992-1098-2023-3-103-117

Получена 22 июня 2023 г.

Прошла рецензирование 2 августа 2023 г.

Принята 10 августа 2023 г.

### Список сокращений

COVID-19 – coronavirus disease, 2019;  
SARS-CoV-2 – severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; ЦПД – цитопатическое действие;  
ТЦПД<sub>50</sub>/мл – тканевая цитопатическая доза;  
МОИ – множественность инфекции, CC<sub>50</sub> – 50%-ная цитотоксическая концентрация; EC<sub>50</sub> – 50%-ная эффективная концентрация, БАВ – биологически активные вещества, ДМСО – диметилсульфоксид.

### Резюме

**Цель.** Оценка *in vitro* ингибирующей активности водных вытяжек и сухих этанольных экстрактов зверобоя продырявленного на репликацию SARS-CoV-2 по трем схемам эксперимента – прямая инаktivация (нейтрализация) вируса, а также «профилактика» и «лечение» клеток.

**Материалы и методы.** Лабораторный штамм SARS-CoV-2/human/RUS/Nsk-FRCFTM-1/2020 пассирован на культуре клеток Vero. Приготовлены водные вытяжки и сухие этанольные экстракты частей растения *Hypericum perforatum* L., собранного в период цветения в Новосибирской области. Сухие экстракты растворяли в ДМСО. Образцы сравнения – сухие этанольные экстракты чаги, специи гвоздики и черного чая.

**Результаты.** Показано, что водная вытяжка травы (смесь цветков с листьями) *H. perforatum* L. при прямой инаktivации вируса активна в разведении 1/4096. Для сухого этанольного экстракта травы *H. perforatum* L., выявлены 50%-ные эффективные концентрации (EC<sub>50</sub>), равные 2,44±0,87; 8,79±1,91 и 14,65±1,91 мкг/мл, соответственно, при прямой инаktivации, а также по «профилактической» схеме и при «лечении» клеток. С учетом цитотоксичности и в сравнении с контрольными образцами значения селективных индексов (SI<sub>50</sub>) исследуемых растительных препаратов при прямой инаktivации были более высокие, чем при других схемах экспериментов и распределились следующим образом (по убывающей): 204,92; 153,68; 115,27; 32,01 и 21,33 для сухих этанольных экстрактов черного чая из Индии, специи гвоздики, травы (смесь цветков с листьями) зверобоя продырявленного, чаги и стебля зверобоя продырявленного, соответственно. Методом ВЭЖХ показано, что в этанольном экстракте травы *H. perforatum* L. содержится большее количество флавоноидов, чем в экстракте стеблей. Тем не менее, противовирусная активность выявлена и для экстракта стеблей этого растения с EC<sub>50</sub>, равными 14,65±1,91; 78,13±20,05 и 117,19±15,31 мкг/мл (по трем схемам экспериментов), соответственно.

**Заключение.** Для приготовления противовирусных препаратов можно использовать в качестве сырья растение *H. perforatum* L. целиком, включая стебли.

### Ключевые слова

SARS-CoV-2, зверобой продырявленный (*Hypericum perforatum* L.), ингибирующая активность.

# A method for obtaining aqueous and dry ethanol extracts of grass (a mixture of flowers with leaves) and a stalk of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) with inhibitory activity on the replication of the SARS-CoV-2 coronavirus *in vitro*

Elena I. Kazachinskaia<sup>1,2</sup>, Yulia V. Kononova<sup>1</sup>, Alla V. Ivanova<sup>2</sup>, Larisa N. Zibareva<sup>3</sup>, Alexander A. Chepurnov<sup>1</sup>, Vladimir V. Romanyuk<sup>4</sup>, Apendi A. Biibolatov<sup>5</sup>, Marina A. Gulyaeva<sup>6</sup> and Alexander M. Shestopalov<sup>1,6</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Virology, Federal Research Centre of Fundamental and Translational Medicine (FRCFTM), Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup>State Research Centre of Virology and Biotechnology, VECTOR, Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Novosibirsk, Russia

<sup>3</sup>National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

<sup>4</sup>Zolotaya Dolina Research and Production Company, Novosibirsk, Russia

<sup>5</sup>Dagestan State Medical University, Makhachkala, Russia

<sup>6</sup>Department of Natural Science, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

<sup>7</sup>Dagestan State University, Makhachkala, Russia

## Principal contact

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

Tel. +79095307441

Email [lena.kazachinskia@mail.ru](mailto:lena.kazachinskia@mail.ru)

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

## How to cite this article

Kazachinskaia E.I., Kononova Yu.V., Ivanova A.V., Zibareva L.N., Chepurnov A.A., Romanyuk V.V., Gulyaeva M.A., Shestopalov A.M. A method for obtaining aqueous and dry ethanol extracts of grass (a mixture of flowers with leaves) and a stalk of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) with inhibitory activity on the replication of the SARS-CoV-2 coronavirus *in vitro*. *South of Russia: ecology, development*. 2023, vol. 18, no. 3, pp. 103-117. (In Russian) DOI: 10.18470/1992-1098-2023-3-103-117

Received 22 June 2023

Revised 2 August 2023

Accepted 10 August 2023

## Abbreviations list

COVID-19 – coronavirus disease, 2019;  
SARS-CoV-2 – severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; CE – cytopathic effect;  
MOI – multiplicity of infection, TCID<sub>50</sub> – 50 % tissue culture infectious doses; CC<sub>50</sub> – % cytotoxic concentration, EC<sub>50</sub> – 50 % effective concentration;  
BAS – biologically active substances,  
DMSO – Dimethyl sulfoxide.

## Abstract

**Aim.** *In vitro* evaluation of the inhibitory activity of aqueous extracts and dry ethanol extracts of St John's wort (*Hypericum perforatum* L.) on the replication of SARS-CoV-2 according to three experimental schemes – direct inactivation (neutralisation) of the virus as well as "prevention" and "treatment" of cells.

**Materials and Methods.** The laboratory strain SARS-CoV-2/human/RUS/Nsk-FRCFTM-1/2020 was passed on Vero cell culture. Water extracts and dry ethanol extracts of parts of *H. perforatum* L. collected during the flowering period in the Novosibirsk region were prepared. Dry extracts were dissolved in DMSO. Comparison samples are dry ethanol extracts of *chaga*, cloves and black tea.

**Results.** It is shown that the aqueous extract of grass (a mixture of flowers with leaves) of *H. perforatum* L. with direct inactivation of the virus it is active in dilution of 1/4096. For the dry ethanol extract of the herb *H. perforatum* L., 50 % effective concentrations (EC<sub>50</sub>) were found equal to 2.44±0.87; 8.79±1.91 and 14.65±1.91 µg/ml respectively with direct inactivation as well as according to the "preventive" scheme and with the "treatment" of cells. Taking into account cytotoxicity, as well as in comparison with control samples, the values of selective indices (SI<sub>50</sub>) of the studied herbal preparations during direct inactivation were higher than with other experimental schemes and were distributed as follows (in descending order): 204.92; 153.68; 115.27; 32.01 and 21.33 for dry ethanol extracts of black tea from India, cloves, herbs, a mixture of flowers with leaves, of *H. perforatum*, *chaga* and the stems of *H. perforatum* respectively. The HPLC method has shown that the ethanol extract of the herb *H. perforatum* L. contains a greater amount of flavonoids than the extract of stems. Nevertheless, antiviral activity was also detected for the extract of stems of this plant with EC<sub>50</sub> equal to 14.65±1.91; 78.13±20.05 and 117.19±15.31 µg/ml (according to three experimental schemes), respectively.

**Conclusion.** For the preparation of antiviral drugs the whole plant of *H. perforatum* L., including stems, can be used as raw materials.

## Key Words

SARS-CoV-2, St John's wort (*Hypericum perforatum* L.), inhibitory activity.

**ВВЕДЕНИЕ**

По данным ВОЗ по состоянию на начало января 2023 г. во всем мире было зарегистрировано более 659 миллионов подтвержденных случаев и более 6,6 миллионов смертей от COVID-19 (coronavirus disease) [1]. Передача возбудителя этой болезни – SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) от человека к человеку, в основном, происходит воздушно-капельным путем при тесном контакте с людьми, имеющими симптомы ОРЗ. У большинства инфицированных людей проявляются легкие симптомы, включая лихорадку, кашель, чихание, насморк, головные боли и усталость. Однако могут развиваться тяжелые формы заболеваний, характеризующиеся легочной дисфункцией и острым респираторным дистресс-синдромом (ОРДС) до полиорганной недостаточности и смерти. Основные рецепторы для «проникновения» SARS-CoV-2 в чувствительную клетку – ACE2 (ангиотензин-превращающий фермент 2) и TMPRSS2 (трансмембранная сериновая протеаза 2), экспрессируются в клетках многих органов, что может указывать на возможность прямой вирус-индуцированной патологии внелегочных очагов [2]. Появление новых вариантов SARS-CoV-2 в результате мутаций в структурных и неструктурных белках, создает неизбежные препятствия в программах вакцинации [3]. Лечение от новой болезни по «золотому стандарту» до сих пор отсутствует [4]. Перепрофилирование ранее одобренных лекарственных препаратов в качестве возможных противовирусных средств при COVID-19 пока не привело к успеху [5]. До сих пор нет зарегистрированных препаратов прямого анти-SARS-CoV-2 действия, а по одобренным для лечения (например, по ремдесивиру – ингибитору вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразы (RdRp), на сегодняшний день результаты нескольких клинических испытаний отличаются по эффективности [6]. По литературным данным, иммуносупрессивная терапия для контроля синдрома «цитокинового шторма» в тяжелых случаях протекания COVID-19 повышает риск проявления разного рода оппортунистических инфекций бактериальной и вирусной природы. Сообщается о выделении в клинических образцах госпитализированных пациентов аэробных плесневых грибов рода *Aspergillus* spp., дрожжеподобных грибов родов *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans* и *Pneumocystis jirovecii* (carinii), круглых червей рода *Strongyloides stercoralis*, туберкулезных микобактерий (*Mycobacterium tuberculosis*), внутриклеточного паразитического одноклеточного эукариота *Toxoplasma gondii*, золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*), энтерококка фекального (*Enterococcus faecalis*), синегнойной палочки (*Pseudomonas aeruginosa*), клебсиелл (*Klebsiella pneumoniae*), а также герпесвирусов (HSVs) разных видов, например, Цитомегаловирус (CMV) и Herpes Simplex Virus (HSV) [7–10]. SARS-CoV-2 может поражать центральную и периферическую нервную систему, вызывая многочисленные неврологические заболевания [11], в частности депрессию [12–14]. Таким образом, для лечения пациентов с COVID-19 предпочтительнее использовать препараты комплексного воздействия – с противовоспалительными и антибактериальными свойствами, прямого антивирусного действия [15; 16], а также с антидепрессивными свойствами [17].

Известно, что лекарственные растения проявляют широкий спектр терапевтических эффектов, включая противовоспалительное, противомикробное и противовирусное действие [18]. Кроме того, в отличие от химически синтезированных препаратов, направленных на одну мишень (на структурные белки или ферменты) конкретного вируса, биологически активные вещества (БАВ) растений могут одновременно и/или сочетано влиять на все важные стадии «жизненного» цикла разных вирусов – на проникновение в клетку, репликацию, транскрипцию, сборку и выход из инфицированной клетки [19].

В обзоре, опубликованном в январе 2022 г., Garg с соавт. обсудили полезность 140 видов растений для лечения психической депрессии и, в результате анализа литературных данных, зверобой продырявленный (*Hypericum perforatum* L.; «трава Святого Иоанна», St. John's wort) представлен авторами на первом месте по антидепрессивным свойствам [20]. Кроме того, в научной литературе сообщается о подтверждении многофункциональной биологической активности *H. perforatum* L., например, его эфирного масла и различных экстрактов (водных, водно-спиртовых и масляных), проявляющейся в таких эффектах как ранозаживляющее, антиоксидантное, антиноцицептивное (обезболивающее), противоопухолевое, антиангиогенное (ингибирование роста микрососудов обеспечивающих рост опухоли и метастазирование), противовоспалительное, иммуномодулирующее, а также антибактериальное и противовирусное действие [21; 22]. Эти эффекты связывают с богатым химическим составом препаратов, полученных из *H. perforatum* L. В основном, это уникальные для этого рода растений вещества – гиперин (производное антрахинона, пигмент красного цвета, с содержанием 1,0–1,5 % в водно – этанольных экстрактах) [23] и гиперфорин (полифенольный компонент с содержанием в водно – этанольных экстрактах приблизительно 0,3 % [21]. Общее содержание флавоноидов в водно – этанольных экстрактах *H. perforatum* L. от 2,0 до 4,0 % [21].

Есть сообщения об ингибировании гиперином репликации вируса диареи крупного рогатого скота [24], гепатита С [25], ВИЧ [24], гриппа [26], утиного ротавируса [27]. В литературе есть данные об активности гиперина и этилацетатного экстракта травы *H. perforatum* L. и в отношении некоторых коронавирусов (coronaviruses, CoVs), например, против  $\gamma$ -CoV инфекционного бронхита птиц (infectious bronchitis virus, IBV) *in vitro* и *in vivo* [28; 29]. По мнению Chen H. с соавт. анти-IBV эффект гиперина может быть связан с ингибированием как апоптоза, так и продукции активных форм кислорода инфицированными клетками. Активность этилацетатного экстракта эти же авторы связывают с комбинацией гиперозида, кверцитрина, кверцетина, гиперина и псевдогиперина [29]. Zhang с соавт описали активность очищенного гиперина (производства Sigma) при «лечении» клеток, инфицированных  $\alpha$ -коронавирусом, вызывающим эпидемическую диарею свиней (porcine epidemic diarrhea virus, PEDV). По данным анализа *in silico* установлена молекулярная стыковка между гиперином и 3-химотрипсиноподобной протеазой (3CLpro) (она же основная протеаза, main-protease, Mpro) PEDV [30]. По результатам молекулярного докинга несколькими научными группами предсказана фармакокинетическая активность гиперина против SARS-CoV-2

путем нацеливания на Mpro/3CLpro этого вируса [31–33]. da Rocha Matos A. с соавт. показали *in vitro*, что по схеме «лечения» клеток, инфицированных SARS-CoV-2 (бразильский изолят 2020 г., MOI 0,01), гиперинцицин ингибировал вирусную репликацию дозозависимым образом до концентрации препарата 0,01 мМ/мл. По данным анализа *in silico*, авторы предполагают, что гиперинцицин может быть лигандом для двух ферментов SARS-CoV-2 - Mpro/3CLpro и RdRp [34]. Mohamed с соавт. (группа авторов из Германии и Египта) использовали цельный неочищенный сухой метанольный экстракт сухой травы *H. perforatum* L. (производство Indena S.p.AS, Милан, Италия), по результатам ВЭЖХ содержащий 7,8% флавоноидов, 4,4% гиперфорина, 0,28% общего количества гиперинцицинов, и выявили *in vitro* эффективные концентрации диапазоне 1,5–15,0 мкг/мл (при растворении сухого экстракта в ДМСО) по трем схемам эксперимента (инактивация – предварительная инкубация вируса с растворенным экстрактом перед нанесением на монослой клеток, «профилактика» –

обработка этим экстрактом монослоя клеток Vero перед их заражением и «лечение» – обработка клеток экстрактом после их заражения вирусом) [35].

Целью настоящей работы было исследование *in vitro* ингибирующей активности сухих этанольных экстрактов травы (смесь цветков с листьями) и отдельно стеблей *H. perforatum* L., произрастающего в Новосибирской области, на репликацию SARS-CoV-2 по трем схемам эксперимента – прямая инактивация (нейтрализация) вируса, а также «профилактика» и «лечение» клеток.

#### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

**Растительное сырье.** Зверобой продырявленный (верхняя часть растения со стеблем длиной 30–40 см (рис. 1) был собран в период цветения в Новосибирской области (54°48'10.08" с.ш. 83°5'44.88" в.д.). Завяливание и просушку растительного сырья проводили в проветриваемом затемненном помещении при температуре 22–25°C.



**Рисунок 1.** Зверобой продырявленный, собранный в период цветения в Новосибирской области (54°48'10.08" с.ш. 83°5'44.88" в.д.). Фото авторов

**Figure 1.** St John's wort collected during flowering period in the Novosibirsk region (54°48'10.08" N 83°5'44.88" E). Photo by the authors

**Приготовление сухих этанольных экстрактов *Hypericum perforatum* L. и контрольных образцов** – плодового тела чаги (*Inonotus obliquus* Ach. Ex Pers. Pil., Basidiomycota), специи гвоздики (*Syzygium aromaticum* L., Myrtaceae) и черного чая (*Camellia sinensis* L. Kuntze, Theaceae) проводили как описано [36]. Для исследований сухие экстракты растворяли в ДМСО из расчета 2000 мкг/мл при 100 об./мин на механической качалке при комнатной температуре в течение суток.

**Культура клеток.** Использовали линию клеток Vero (клетки эпителия почки африканской зеленой мартышки), чувствительную к SARS-CoV-2, как описано [37].

**Цитотоксичность исследуемых растительных препаратов и контрольных образцов анализировали** при нанесении растительных препаратов на культуру Vero в поддерживающей питательной среде двойным шагом (с разведения ½ для водных вытяжек и с

концентрации 2000 мкг/мл по сухому веществу для этанольных экстрактов). Определяли эффективные разведения для водных вытяжек и 50%-ную цитотоксическую концентрацию в мл (50% cytotoxic concentration, CC<sub>50</sub>/мл) для сухих экстрактов как описано [36].

**Вирус.** Лабораторный штамм SARS-CoV-2/human/RUS/Nsk-FRCFTM-1/2020, выделенный и пассированный как описано [37]. Титр инфекционного SARS-CoV-2 выражали в ТЦПД<sub>50</sub>/мл (тканевых цитопатических дозах вируса, вызывающего 50%-е цитопатическое действие (ЦПД) на инфицированные клетки в лунках). ЦПД SARS-CoV-2 можно наблюдать в световой микроскоп, как показано [38] или фиксировать инфицированные клетки по общепринятой методике: в течение 30 мин раствором формальдегида и 0,05 %-ным раствором кристаллического фиалетового, содержащего 20 % этилового спирта.



**Анализ ингибирующей активности** растительных препаратов проводили методом классической реакции нейтрализации (инактивации) вирусов как нами недавно описано в работе по исследованию антител пациентов, переболевших COVID-19 [39], т.е. с предварительной инкубацией экстрактов (в соответствующих разведениях) с вирусом перед нанесением на культуру клеток Vero, а также по «профилактической» схеме (нанесение разведений экстрактов на монослой клеток за один час перед их инфицированием) и схеме «лечения» клеток (при предварительном инфицировании клеток в течение часа), как описано в работе [36]. Использовали вирусный препарат с инфекционным титром  $10^3$  ТЦПД<sub>50</sub>/мл.

**Статистическую обработку результатов** по определению значений  $CC_{50}$  и 50 %-х эффективных концентраций ( $EC_{50}$ ) проводили с применением метода Спирмена-Кербера в программе Excel при 95 %-ном уровне надежности ( $p \leq 0.05$ ). Для статистической обработки все анализы *in vitro* проводили и фиксировали в четырех повторах в двух независимых экспериментах.

**Селективный индекс** (Selectivity index, SI) для исследуемых экстрактов рассчитывали по общепринятой формуле:  $SI_{50} = CC_{50} / EC_{50}$ , с учетом токсичности, выявленной на момент времени, совпадающий со временем фиксации результатов по цитопатическому действию (ЦПД) SARS-CoV-2 в контрольных рядах инфицированных клеток.

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

**Анализ БАВ методом ВЭЖХ** выполнен на жидкостном хроматографе «Shimadzu LC-20AD» (Япония). Результаты образцов снимали при 3-х длинах волн: 254 нм (для обнаружения экидистероидов), 272 нм – для всех фенольных соединений, включая флавоноиды, 344-350 нм для выявления флавоноидов. Идентификацию сигналов на хроматограммах осуществляли сопоставлением времен удерживания в минутах ( $T_R$ , мин) и максимумов поглощения компонентов экстрактов и стандартных образцов соединений в нанометрах ( $\lambda$ , нм) – катехин ( $T_R = 6.609$  мин;  $\lambda = 279$  нм), катехина гидрат (6.644; 279), хлорогеновая к-та (7.512; 326); галловая к-та (7.623; 272); кофеин (7.803; 273); шафтозид (12.407; 336/271); ориентин (13.231; 348/267); дегидрохверцетин (15.348; 287); 20-гироксиэкидизон (17.268; 247); гиперозид (17.485; 256/354); рутин (18.088; 256/355); изокверцетрин (18.106; 256/355); цинарозид (18.536; 348/254); кверцетрин гидрат (22.631; 256/349); мирицетин (24.413; 373/253); кверцетин (31.870; 255/369); лютеолин (34.875; 348/253); кемпферол (41.711; 366/266); апигенин (41.814; 338/267) (производство Sigma Aldrich), чистота  $\geq 95$  %. Содержание БАВ рассчитывалось по площадям пиков образца и соответствующих стандартов с помощью калибровочной кривой, построенной с использованием программного обеспечения LC Postrun Calibration Curve. Анализ проводили в трех повторах, статистические расчеты осуществляли в программе Microsoft Excel, 2007.

## ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### 1. Определение цитотоксичности, ингибирующей (эффективной) активности на репликацию SARS-CoV-2, индексов селективности препаратов *H. perforatum* L. и контрольных образцов

По результатам, представленным в табл. 1 видно, что цитотоксичность водных вытяжек травы (смесь цветков с листьями) и стебля *H. perforatum* L. была невысокая –  $\frac{1}{4}$  и  $\frac{1}{2}$ , так же как и контрольных образцов – водных вытяжек чаги ( $\frac{1}{2}$ ) и черного чая ( $\frac{1}{4}$ ). Более заметная токсичность ( $1/16$ ) выявлена для водной вытяжки специи гвоздики, при этом ингибирующая активность в прямой инактивации была одинакова ( $1/4096$ ) для всех исследованных водных вытяжек – травы *H. perforatum* L., чаги, гвоздики и черного чая. Водная вытяжка стебля *H. perforatum* L. проявила активность в разведении  $1/512$ .

По значениям  $EC_{50}$  против  $10^3$  ТЦПД<sub>50</sub>/мл SARS-CoV-2 эффективность сухих этанольных экстрактов, растворенных в ДМСО, можно представить в следующем порядке (по убывающей) в прямой инактивации: специя гвоздика ( $1,22 \pm 0,31$  мкг/мл), черный чай ( $1,83 \pm 0,24$  мкг/мл), трава (смесь цветков с листьями) *H. perforatum* L. ( $2,44 \pm 0,87$  мкг/мл), чага ( $7,32 \pm 0,96$  мкг/мл) и стебель *H. perforatum* L. ( $14,65 \pm 1,91$  мкг/мл) (табл. 1); по «профилактической» схеме – чага ( $7,32 \pm 0,96$  мкг/мл), трава (смесь цветков с листьями) *H. perforatum* L. ( $8,79 \pm 1,91$  мкг/мл), специя гвоздика ( $13,67 \pm 2,51$  мкг/мл), черный чай ( $29,30 \pm 3,83$  мкг/мл) и стебель *H. perforatum* L. ( $78,13 \pm 20,05$  мкг/мл) (табл. 2); по схеме «лечения» клеток – черный чай ( $12,70 \pm 2,80$  мкг/мл), чага ( $13,67 \pm 2,51$  мкг/мл), трава (смесь цветков с листьями) *H. perforatum* L. ( $14,65 \pm 1,91$  мкг/мл), специя гвоздика ( $23,44 \pm 5,79$ ) и стебель *H. perforatum* L. ( $117,19 \pm 15,31$  мкг/мл) (табл. 2).

С учетом цитотоксичности и в результате сравнения показано, что значения  $SI_{50}$  исследуемых сухих этанольных экстрактов при прямой инактивации были более высокие, чем при других схемах экспериментов и распределились следующим образом (по убывающей): 204,92; 153,68; 115,27; 32,01 и 21,33 для сухих этанольных экстрактов черного чая из Индии (контрольный образец), специи гвоздики (контрольный образец), травы (смесь цветков с листьями) зверобоя продырявленного, чаги (контрольный образец) и стебля зверобоя продырявленного, соответственно (табл. 1).

По «профилактической» схеме (нанесение разведений экстрактов на монослой клеток за один час перед их инфицированием)  $SI_{50} = 12,44$  экстракта травы (смесь цветков с листьями) *H. perforatum* L. был чуть меньше, чем у экстракта черного чая ( $15,10$ ), но выше, чем у экстрактов чаги ( $9,61$ ) и гвоздики ( $8,00$ ) (табл. 2). По схеме «лечения» клеток  $SI_{50} = 7,47$  экстракта травы (смесь цветков с листьями) *H. perforatum* L. оказался почти равным с показателями  $SI_{50}$  чаги ( $5,14$ ) и гвоздики ( $4,66$ ) (табл. 2). Из всех исследованных растительных препаратов для экстракта черного чая выявлены самые высокие показатели  $SI_{50}$  по трем схемам экспериментов – 204,92; 15,10 и 36,91, что связано с его невысокой цитотоксичностью.

По данным литературы анти-SARS-CoV-2 активность экстрактов чая связана с синергическим действием его полифенолов на гликопротеин S (spike) вирусной оболочки и фермент Mpro/3CLpro этого вируса [40–42].

**Таблица 1.** Результаты по определению цитотоксичности и ингибирующей (эффективной) концентрации водных вытяжек и сухих этанольных экстрактов травы (смесь цветков с листьями) и стеблей *H. perforatum* L.) и контрольных образцов на репликацию SARS-CoV-2 при прямой инаktivации (нейтрализации)

**Table 1.** Results of determination of cytotoxicity and inhibitory (effective) concentration of aqueous extracts and dry ethanol extracts of grass (a mixture of flowers with leaves) and stems of *H. perforatum* L.) and control samples on replication of SARS-CoV-2 with direct inactivation (neutralization)

Сухое растительное сырье Dry vegetable raw materials	Цитотоксичность и эффективные концентрации в разведениях* и в мкг/мл** при прямой нейтрализации (инаktivации) в течение 1 ч при 37°C перед инфицированием клеток линии Vero. А также индексы селективности для сухих этанольных экстрактов Cytotoxicity and effective concentrations in dilutions* and in µg/ml** with direct neutralization (inactivation) for 1 h at 37°C before infection of Vero cells. Also selectivity indices for dry ethanol extracts				
	Водные вытяжки * Aqueous extracts*		Сухие этанольные экстракты**, растворенные в ДМСО Dry ethanol extracts** dissolved in DMSO		
	цитотоксичность cytotoxicity	эффективное разведение effective breeding	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>	SI <sub>50</sub>
<b>Трава (смесь цветков с листьями) <i>H. perforatum</i> L.</b> Herbal (mixture of flowers and leaves) <i>H. perforatum</i> L.	1/4	1/4096	281,25±61,25	2,44±0,87	115,27
<b>Стебли <i>H. perforatum</i> L.</b> Stems of <i>H. perforatum</i> L.	1/2	1/512	312,50±80,19	14,65±1,91	21,33
<b>Чара <i>Inonotus obliquus</i> Ach. Ex Pers. Pil.</b> Chaga <i>Inonotus obliquus</i> Ach. Ex Pers. Pil.	1/2	1/4096	234,38±30,62	7,32±0,96	32,01
<b>Гвоздика (специя) <i>Syzygium aromaticum</i> L.</b> Cloves (spice) <i>Syzygium aromaticum</i> L.	1/16	1/4096	187,50±46,30	1,22±0,31	153,68
<b>Черный чай <i>Camellia sinensis</i> L.</b> Black tea <i>Camellia sinensis</i> L.	1/4	1/4096	375,00±92,60	1,83±0,24	204,92
<b>Отриц. контроли</b> Negative controls	нет токсичности no toxicity		нет эффекта no effect		

Примечание: для водных вытяжек представлены медианные значения разведений (n=8); отрицательные контроли: для водных вытяжек – кипяченая дистиллированная вода с поддерживающей питательной средой для клеток (с 2 % прогорелой сыворотки крови крупного рогатого скота) в соотношении 1/2 и поддерживающая среда для клеток; для сухих этанольных экстрактов – поддерживающая среда для клеток и объем ДМСО как растворителя, соответствующий его объему в исследуемых сухих экстрактах, разведенных в этом растворителе  
Note: for aqueous extracts median dilution values are presented (n=8); negative controls: for aqueous extracts boiled distilled water with a supporting nutrient medium for cells (with 2% of blood serum of cattle) in a ratio of 1/2 and a supporting medium for cells; for dry ethanol extracts – supporting medium for cells and volume of DMSO as a solvent corresponding to its volume in the studied dry extracts diluted in this solvent

## 2. Анализ ВЭЖХ биологически активных веществ этанольных экстрактов травы (смесь цветков с листьями) и стеблей *H. perforatum* L., а также контрольных образцов

По данным ВЭЖХ (рис. 2 а), этанольный экстракт травы (смесь цветков с листьями) *H. perforatum* L. более насыщен флавоноидами, чем экстракт стебля (рис. 2 б). Общими оказались соединения с временем удерживания (Tr, мин) и максимумом поглощения (λ, нм) – шафтозид с Tr=12.864 и λ=273/332 (с содержанием 0,80 % в экстракте травы и 0,37 % в экстракте стебля) и не идентифицированный флавоноид (с Tr=19.077 и λ=257/349) с почти равным содержанием – 1,15 и 1,03 %. В экстракте травы *H. perforatum* L. выявлено 1,35 % цинарозида (с Tr=18.711, λ=257/351) и 1,16 % кверцетрина гидрата (с Tr=23.426, λ=255/348) (табл. 3).

В этанольном экстракте специи гвоздики (*S. aromaticum* L.) выявлено 4 флавоноида, один из которых идентифицирован как кверцетрин гидрат,

другой – предположительно, рутин или изокверцетрин (которые имеют одинаковые максимумы поглощения 255/355 нм и близкие времена удерживания в мин) (рис. 3 а). В экстракте чаги обнаружено фенольное соединение с характеристиками Tr = 8.033 и λ=274 нм (рис. 3 б), свойственными галловой кислоте, содержание которой составило 0,56 %. По данным хроматограммы (рис. 3 с), мажорным компонентом (17,64 %) в экстракте черного чая, вероятно, является комплекс соединений с пиком по времени удерживания 51.386–52.109 мин (λ=366/272/251 и 366/272/250 нм). Кроме того, в экстракте черного чая содержится галловая кислота (6,70 %) или это общий пик с кофеином, т.к. их характеристики очень близки – галловая кислота (7.623 мин; 272 нм) и кофеин (7.803 мин; 273 нм). Катехин, катехин гидрат и эпикатехин в этанольном экстракте чая не обнаружены.

В данном исследовании нет данных (в связи с отсутствием стандартного образца) по содержанию в

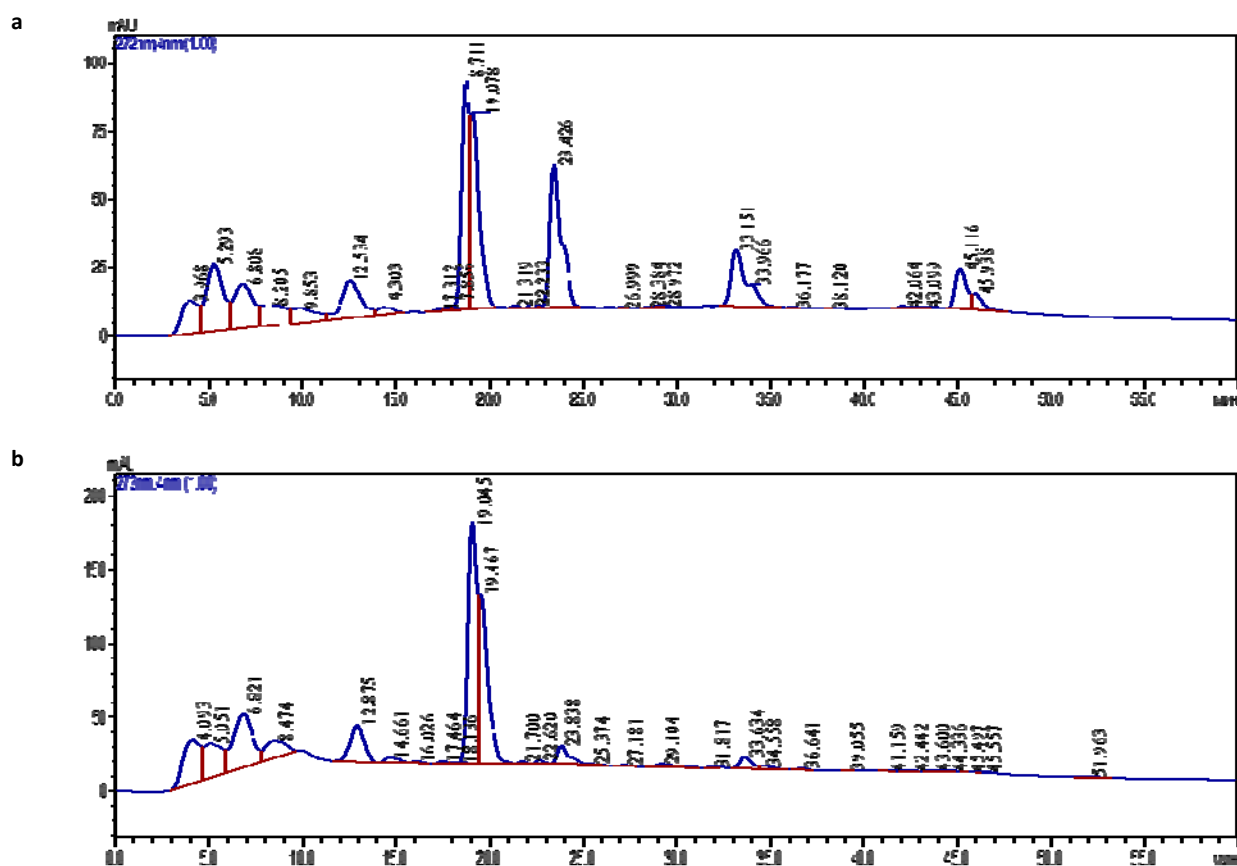
этанольных экстрактах гиперина, который может непосредственно проявлять антивирусную активность и его основная мишень SARS-CoV-2 это Mpro/3CLpro [31–34] и, возможно, RdRp [34]. Тем не менее, по литературным данным известно, что полифенольные соединения также обладают антивирусной активностью, в частности, против SARS-CoV, блокируя как Mpro/3CLpro, папаин-подобную протеазу (PLpro) и хеликазу (nsP13), так и белок S и, соответственно, препятствуя взаимодействию вирусной частицы с клеточными рецепторами [43]. Swargiary с соавт. по результатам *in silico* предсказали, что галлокатехин галлат обладает хорошим связыванием с Mpro/3CLpro и PLpro SARS-CoV-2 [44], а Jena с соавт. выявили для куркумина и катехина высокий потенциал связывания с S-белком SARS-CoV-2 [45]. С использованием рекомбинантного белка Mpro/3CL SARS-CoV-2 показана 50 %-ная ингибирующая активность ( $IC_{50}$ ) 49-ти коммерчески доступных полифенольных соединений (Sigma). Например, результаты с  $IC_{50}$  (в  $\mu M$ ): кверцетин –  $93,0 \pm 5,0$ ; EGCG –  $171,0 \pm 5,0$ ; хлорогеновая кислота –  $140,0$ ; кофейная кислота –  $197,0 \pm 1,0$  и т.д. [46]. Флавоноид нарингенин может быть многообещающим новым фармакологическим соединением для безопасной и эффективной терапии при COVID-19, т.к. в концентрации  $62,5 \mu M$  ингибирует репликацию SARS-CoV-2 в клетках Vero E6 (обработанных препаратом за 1 ч до заражения) [47].

По литературным данным, шафтозид наряду с другими флавоноидами (кверцетином, изокверцитрином и др.) *in silico* проявляет наибольшую энергию связи в комплексе с белком нуклеокапсида (N) и Mpro/3CLpro SARS-CoV-2 [48]. После скрининга 12-ти китайских растительных лекарственных средств и 125-ти соединений, полученных из корня солодки Yi с соавт. обнаружили, что популярный натуральный продукт шафтозид ингибирует Mpro/3CLpro и PLpro со значениями  $IC_{50}$  равными  $1,73 \pm 0,22$  и  $3,91 \pm 0,19$  мкмоль/л соответственно, и инфекционный SARS-CoV-2 в клетках Vero E6 с  $EC_{50}$   $11,83 \pm 3,23$  мкмоль/л. Масс-спектрометрический анализ, расчеты квантовой механики/молекулярной механики, а также сайт-направленный мутагенез показали, что противовирусная активность шафтозида связана с нековалентными взаимодействиями с H41, G143 и R188 Mpro/3CLpro и K157, E167 и A246 PLpro. Более того, протеомный анализ и анализ цитокинов показали, что шафтозид также регулирует иммунный ответ и воспаление клеток-хозяев. Противовоспалительная активность шафтозида была подтверждена на мышах с острым повреждением легких, вызванным липополисахаридом. Авторы считают, что фармакокинетические свойства и невысокая токсичность шафтозида может быть многообещающей основой препарата-кандидата для профилактики COVID-19 и лечения заболевших [49].

**Таблица 2.** Результаты по определению цитотоксичности и ингибирующей (эффективной) концентрации водных вытяжек и сухих этанольных экстрактов травы (смесь цветков с листьями) и стеблей *H. perforatum* L.) и контрольных образцов на репликацию SARS-CoV-2 по схемам «профилактики» и «лечения» клеток

**Table 2.** Results of determination of cytotoxicity and inhibitory (effective) concentration of aqueous extracts and dry ethanol extracts of grass (a mixture of flowers with leaves) and stems of *H. perforatum* L.) and control samples on replication of SARS-CoV-2 according to schemes of "prevention" and "treatment" of cells

Сухое растительное сырье Dry vegetable raw materials	50%-ные цитотоксичные и эффективные концентрации в мкг/мл этанольных экстрактов, а также индексы селективности 50% cytotoxic and effective concentrations in $\mu g$ /ml of ethanol extracts as well as selectivity indices					
	Результаты по «профилактической» схеме (нанесение разведений экстрактов на монослой клеток за один час перед их инфицированием) Results according to the "preventive" scheme (application of dilutions of extracts on a monolayer of cells one hour before their infection)			Результаты по схеме «лечения» клеток (при предварительном инфицировании клеток в течение часа) Results according to scheme of "treatment" of cells (with preliminary infection of cells within an hour)		
	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>	SI <sub>50</sub>	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>	SI <sub>50</sub>
<b>Трава (смесь цветков с листьями) <i>H. perforatum</i> L.</b> Herbal (mixture of flowers and leaves) <i>H. perforatum</i> L.	109,38±20,05	8,79±1,91	12,44	109,38±20,05	14,65±1,91	7,47
<b>Стебли <i>H. perforatum</i> L.</b> Stems of <i>H. perforatum</i> L.	437,5±80,19	78,13±20,05	5,60	437,5±80,19	117,19±15,3 1	3,73
<b>Чага <i>Inonotus obliquus</i> Ach.</b> Ex Pers. Pil. Chaga <i>Inonotus obliquus</i> Ach. Ex Pers. Pil.	70,31±15,31	7,32±0,96	9,61	70,31±15,31	13,67±2,51	5,14
<b>Гвоздика (специя) <i>Syzygium aromaticum</i> L.</b> Cloves (spice) <i>Syzygium aromaticum</i> L.	109,38±20,05	13,67±2,51	8,00	109,38±20,05	23,44±5,79	4,66
<b>Черный чай <i>Camellia sinensis</i> L.</b> Black tea <i>Camellia sinensis</i> L.	468,75±61,25	29,30±3,83	15,10	468,75±61,25	12,70±2,80	36,91
<b>Отриц. контроли</b> Negative controls	нет токсичности no toxicity	нет эффекта no effect		нет токсичности no toxicity	нет эффекта no effect	



**Рисунок 2.** Хроматограмма экстрактов *H. perforatum* L. при длине волны 272 нм для всех фенольных соединений, включая флавоноиды – **a.** Экстракт (смесь цветков с листьями); **b.** Экстракт стеблей

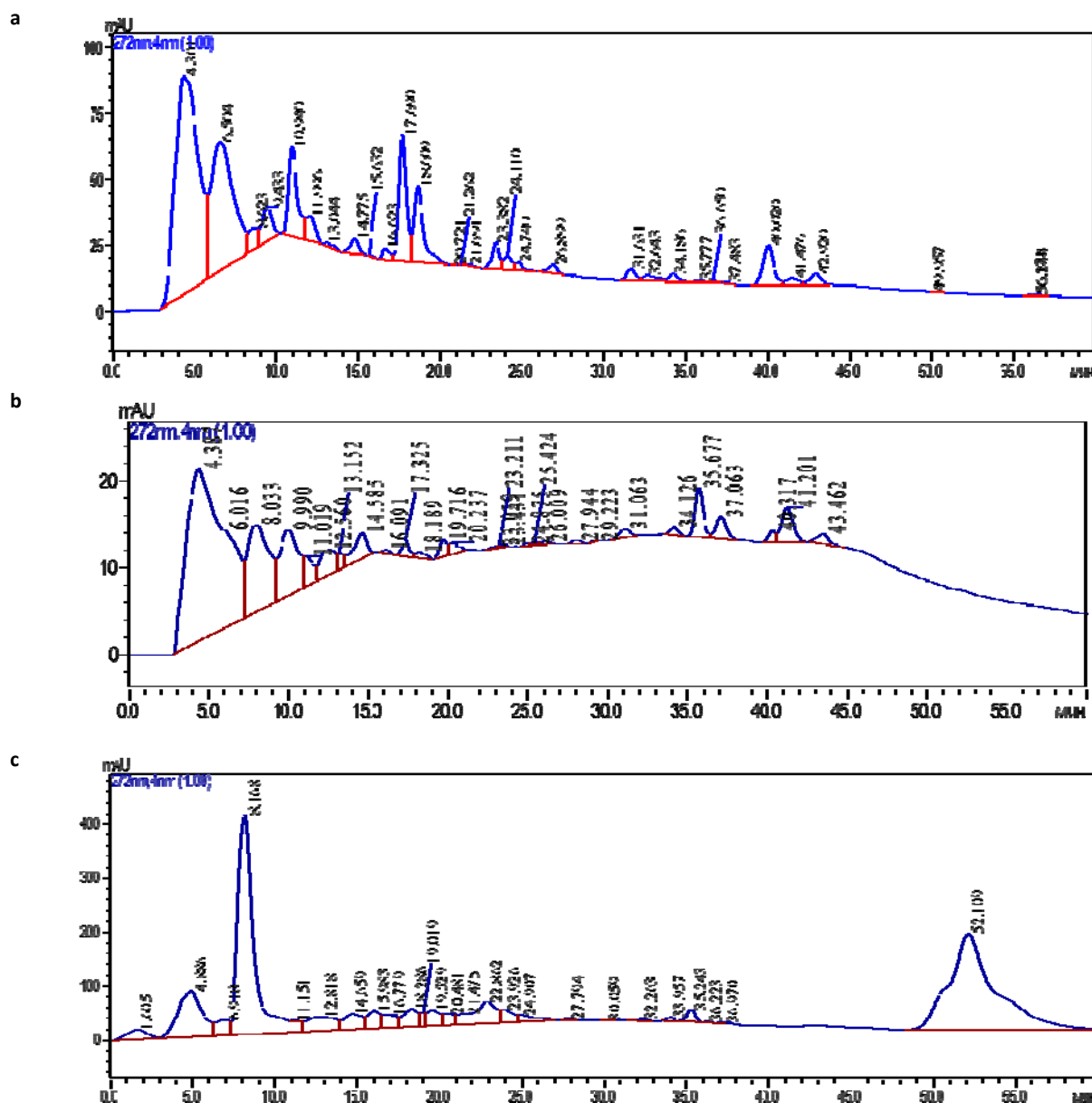
**Figure 1.** Chromatogram extracts of *H. perforatum* L. at a wavelength of 272 nm for all phenolic compounds including flavonoids – **a.** Extract (mixture of flowers and leaves); **b.** Extract of the stems

**Таблица 3.** Характеристики соединений, обнаруженных в экстрактах травы *H. perforatum* L.

**Table 3.** Characteristics of compounds found in herbal extracts of *H. perforatum* L.

Экстракты Extracts of <i>H. perforatum</i> L.	T <sub>г</sub> , мин Tr, min	λ, нм λ, nm	Площадь Area	Площадь пика, % Peak area, %	Навеска, мг Sample, mg	Содержание в сух. образце, % Content in a dry sample, %	Компоненты Compounds
Экстракт травы (смесь цветков с листьями) Herbal extract (mixture of flowers and leaves)	12.534	272/333	950192	6,3430	21,3	0,80	Шафтозид Shaftoside
	18.711	257/351	2591749	17,3011		1,35	Цинарозид Cinaroside
	19.078	256/352	2212398	14,7688		1,15	Неидент. флавоноид Unidentified flavonoid
	23.426	255/348	2235524	14,9232		1,16	Кверцетрин гидрат Guercetin hydrate
Экстракт стеблей Extract of stems	12.875	273/332	1253606	6,5546	100	0,37	Шафтозид Shaftoside
	19.045	257/349	5606175	29,3126		1,03	Неидент. флавоноид Unidentified flavonoid
	19.467	256/352	3591294	18,7775		0,66	Неидент. флавоноид Unidentified flavonoid





**Рисунок 3.** Хроматограммы при длине волны 272 нм для всех фенольных соединений, включая флавоноиды

Примечание: а. Экстракт специи гвоздики; б. Экстракт чаги; с. Экстракт черного чая

**Figure 3.** Chromatograms at 272 nm for all phenolic compounds, including flavonoids

Note: a. Extract of *S. aromaticum* L.; b. Extract of *I. obliquus*; c. Extract of black tea

Цинарозид (также называемый лутеолин 7-глюкозидом (luteolin 7-glucoside), по результатам многочисленных исследований, обладает множеством фармакологических свойств, таких как противовоспалительные, антибактериальные, антиоксидантные и противоопухолевые [50]. В препринте статьи Moezzi с соавт. (в ноябре 2022 г.) по результатам молекулярного докинга *in silico* показано, что основные флавоноиды шалфея лекарственного (*Salvia officinalis*, Lamiaceae) – рутин, лутеолин-7-глюкозид и апигенин обладают более высокой аффинностью связывания с Mpro/3CLpro SARS-CoV-2, чем коммерческие противовирусные препараты (лопинавир, ремдесивир и фавипиравир) [51].

Методом ВЭЖХ мы выявили в этанольном экстракте травы (смесь цветков с листьями) *H. perforatum* L. флавоноиды: шафтозид (с содержанием 0,80 %), цинарозид (1,35 %) и кверцетрина гидрат (1,16 %)

(табл. 3). Можно предположить, что анти-SARS-CoV-2 активность этанольных экстрактов зверобоя продырявленного, в большей степени может быть связана с шафтозидом, т.к. он обнаружен и в экстракте стебля этого растения (0,37 %).

По данным литературы, готовые фармакологические препараты зверобоя продырявленного с известной антидепрессивной и противовоспалительной активностью, могут быть полезны при лечении пациентов с COVID-19 [52]. Исследования прямой антивирусной активности препаратов, приготовленных из этого растения, также являются перспективными. Как, например, представлены данные молекулярного докинга (*in silico*) da Rocha Matos с соавт. о том, что гиперцин *H. perforatum* L. оказался одним из лучших лигандов для двух ферментов SARS-CoV-2 - Mpro/3CLpro и RdRp [34]. В китайском патенте, опубликованном 06.07.2021, описан

способ получения водного экстракта травы *H. perforatum* L. в соотношении 1/10 (по весу) ультразвуковой обработкой сырья в дистиллированной воде (3-хкратно) при температуре 50°C в течение 30 минут, фильтрованием объединенной смеси, концентрированием и высушиванием концентрата. На основании исследований *in vitro* по ингибированию рекомбинантной Mpro/3CLpro SARS-CoV-2, авторами предложены варианты использования сухого водного экстракта в виде лосьона для дезинфекции рук, раствора для полоскания рта, раствор для промывания глаз, носа и ушей. Экстракт также можно использовать в виде раствора для ванн, в составе шампуня и моющих средств, а также герметично упакованных влажных салфеток [53]. В Европейском патенте Scholz с соавт. (авторы из Германии) для лечения и профилактики инфекции, вызванной SARS-CoV-2, представлены композиции, содержащие метанольные или этанольные экстракты травы зверобоя продырявленного, с целью получения средств в виде растворов для полоскания рта и ингаляции, спрея для носа, леденцов, таблеток и жевательных резинок, а также в виде растворов для инъекций, содержащих очищенный гиперидин и/или псевдогиперидин. По результатам анализа *in vitro* показано потенциальное воздействие экстрактов зверобоя продырявленного с дозой 25 мкг/мл как на псевдовиреус VSV, содержащий S белок SARS-CoV-2, так и на инфекционный коронавирус. Прямая нейтрализация и схемы «профилактики» / «лечения» клеток привели в данном случае к снижению вирусной нагрузки на три логарифмических шага [54]. Доказательством воздействия БАВ *H. perforatum* L. на структурный S белок SARS-CoV-2 может быть работа Mohamed с соавт., в которой они продемонстрировали, что метанольный экстракт травы этого растения активен при прямой инактивации разных вариантов SARS-CoV-2 (Альфа, Бета, Дельта и Омикрон), также как и при схемах «профилактики» и «лечения» клеток в диапазоне эффективных концентраций 1,5–15,0 мкг/мл [35]. Эти данные свидетельствуют о широком механизме действия БАВ метанольного экстракта травы *H. perforatum* L. – как на наружный гликопротеин S (таким образом, нарушая взаимодействие вируса с клеточными рецепторами), так и, возможно, на вирусные ферменты Mpro/3CLpro и RdRp (ингибируя вирусную репликацию внутри инфицированной клетки).

По данным Owen с соавт. БАВ растений могут одновременно и/или сочетано влиять на все важные стадии «жизненного» цикла разных вирусов – на проникновение в клетку, репликацию, транскрипцию, сборку и выход из инфицированной клетки [19]. Наши результаты являются подтверждением разного механизма действия БАВ этанольных экстрактов *H. perforatum* L. на SARS-CoV-2. Кроме того, по нашим данным, стебли зверобоя продырявленного также можно использовать для приготовления противовирусных препаратов с целью экономии растительного сырья.

#### БЛАГОДАРНОСТЬ

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда No 22-24-00199, <https://rscf.ru/project/22-24-00199/>.

#### ACKNOWLEDGMENT

This study was supported by the Russian Science Foundation according to research project No 22-24-00199, <https://rscf.ru/project/22-24-00199/>.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Сайт ВОЗ. URL: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports> (дата обращения: 12.01.2023)
2. Ning Q., Wu D., Wang X., Xi D., Chen T., Chen G., Wang H., Lu H., Wang M., Zhu L. et al. The mechanism underlying extrapulmonary complications of the coronavirus disease 2019 and its therapeutic implication // *Signal Transduct Target Ther.* 2022. V. 7. Article number: 57. DOI: 10.1038/s41392-022-00907-1
3. Harvey W.T., Carabelli A.M., Jackson B. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape // *Nat Rev Microbiol.* 2021. V. 19. N 7. P. 409–424. DOI: 10.1038/s41579-021-00573-0
4. Chuang S.-T., Buchwald P. Broad-Spectrum Small-Molecule Inhibitors of the SARS-CoV-2 Spike-ACE2 Protein-Protein Interaction from a Chemical Space of Privileged Protein Binders // *Pharmaceuticals (Basel).* 2022. V. 15. N 9. Article ID: 1084. DOI: 10.3390/ph15091084
5. 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. Iss. 1. C. 497–503. DOI:10.1080/14756366.2021.1873977
6. 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 // *Revista Española de Quimioterapia.* 2022. V. 35. N 2. P. 115–130. DOI: 10.37201/req/158.2021
7. Abdoli A., Falahi S., Kenarkoobi A. COVID-19-associated opportunistic infections: a snapshot on the current reports // *Clinical and Experimental Medicine.* 2021. V. 22. N 3. P. 327–346. DOI: 10.1007/s10238-021-00751-7
8. Seeßle J., Hippchen T., Schnitzler P., Gsenger J., Giese T., Merle U. High rate of HSV-1 reactivation in invasively ventilated COVID-19 patients: Immunological findings // *PLoS ONE.* 2021. V. 16. N 7. Article ID: e0254129. DOI: 10.1371/journal.pone.0254129
9. Franceschini E., Cozzi-Lepri A., Santoro A., Bacca E., Lancellotti G., Menozzi M., Gennari W., Meschiari M., Bedini A., Orlando G. et al. Herpes Simplex Virus Re-Activation in Patients with SARS-CoV-2 Pneumonia: A Prospective, Observational Study // *Microorganisms.* 2021. V. 9. N 9. Article number: 1896. DOI: 10.3390/microorganisms9091896
10. Murgia F., Fiamma M., Serra S., Marras G., Argiolas R., Mattana C., Mattu M.G., Garau M. C., Doneddu S., Olla S. et al. The impact of the secondary infections in ICU patients affected by COVID-19 during three different phases of the SARS-CoV-2 pandemic // *Clin Exp Med.* 2022. V. 23. P. 1251–1263. DOI: 10.1007/s10238-022-00959-1
11. Wan D., Du T., Hong W., Chen L., Que H., Lu S., Peng X. Neurological complications and infection mechanism of SARS-CoV-2 // *Signal Transduction and Targeted Therapy.* 2021. N 6. Article number: 406. DOI: 10.1038/s41392-021-00818-7
12. Nawrot J., Gornowicz-Porowska J., Budzianowski J., Nowak G., Schroeder G., Kurczewska J. Medicinal Herbs in the Relief of Neurological, Cardiovascular, and Respiratory Symptoms after COVID-19 Infection A Literature Review // *Cells.* 2022. V. 11. N 12. Article number: 1897. DOI: 10.3390/cells11121897
13. Premraj L., Kannapadi N.V., Briggs J., Seal S.M., Battaglini D., Fanning J., Suen J., Robba C., Fraser J., Cho S.-M. Mid and long-term neurological and neuropsychiatric manifestations of post-COVID-19 syndrome: A meta-analysis // *J Neurol Sci.* 2022. V. 434. Article ID: 120162. DOI: 10.1016/j.jns.2022.120162

14. Chippa V., Aleem A., Anjum F. Book: Post Acute Coronavirus (COVID-19) Syndrome. In: StatPearls [Internet]. 2022. PMID: 34033370.
15. Soleymani S., Naghizadeh A., Karimi M., Zarei A., Mardi R., Kordafshari G., Esmaealzadeh N., Zargaran A. COVID-19: General Strategies for Herbal Therapies // J Evid Based Integr Med. 2022. V. 27. DOI: 10.1177/2515690X211053641
16. Calderon M., Gysin G., Gujjar A., McMaster A., King L., Comandé D., Hunter E., Payne B. Bacterial co-infection and antibiotic stewardship in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis // BMC Infect Dis. 2023. V. 23. Article number: 14. DOI: 10.1186/s12879-022-07942-x
17. Bonnet U., Juckel G. COVID-19 Outcomes: Does the Use of Psychotropic Drugs Make a Difference? Accumulating Evidence of a Beneficial Effect of Antidepressants-A Scoping Review // J Clin Psychopharmacol. 2022. V. 42. N 3. P. 284–292. DOI:10.1097/JCP.0000000000001543
18. Buza V., Niculae M., Hanganu D., Pall E., Burtescu R.F., Olah N.-K., Matei-Lațiu M.-C., Vlasiuc I., Ioan I., Szakacs A.R., Ielciu I., Ștefănuț L.C. Biological Activities and Chemical Profile of *Gentiana asclepiadea* and *Inula helenium* Ethanolic Extracts // Molecules. 2022. V. 27. Iss. 11. DOI: 10.3390/molecules27113560
19. Owen L., Laird K., Shivkumar M. Antiviral plant-derived natural products to combat RNA viruses: Targets throughout the viral life cycle // Lett Appl Microbiol. 2022. V. 75. N 3. P. 476–499. DOI: 10.1111/lam.13637
20. Garg P., Alambayan J., Garg V. Herbal Approaches in the Management of Mental Depression // CNS Neurol Disord Drug Targets. 2022. DOI: 10.2174/1871527321666220128091408
21. Galeotti N. Hypericum perforatum (St John's wort) beyond depression: A therapeutic perspective for pain conditions // J Ethnopharmacol. 2017. N 200. P. 136–146. DOI: 10.1016/j.jep.2017.02.016
22. Vuko E., Dunkić V., Rušić M., Nazlić M., Mandić N., Soldo B., Šprung M., Fredotović Ž. Chemical Composition and New Biological Activities of Essential Oil and Hydrosol of *Hypericum perforatum* L. ssp. *veronense* (Schränk) H. Lindb // Plants. 2021. V. 10. N 5. DOI: 10.3390/plants10051014
23. Rizzo P., Altschmied L., Ravindran B.M., Rutten T., D'Auria J.C. The Biochemical and Genetic Basis for the Biosynthesis of Bioactive Compounds in *Hypericum Perforatum* L., One of the Largest Medicinal Crops in Europe // Genes. 2020. V. 11. N 10. DOI: 10.3390/genes11101210
24. Prince A.M., Pascual D., Meruelo D., Liebes L., Mazur Y., Dubovi E., Mandel M., Lavie G. Strategies for evaluation of enveloped virus inactivation in red cell concentrates using hypericin // Photochem Photobiol. 2000. V. 71. N 2. P. 188–195. DOI: 10.1562/0031-8655(2000)071<0188:sfeoev>2.0.co;2
25. Shih C.-M., Wu C.-H., Wu W.-J., Hsiao Y.-M., Ko J.-L.. Hypericin inhibits hepatitis C virus replication via deacetylation and down-regulation of heme oxygenase-1 // Phytomedicine. 2018. V. 46. P. 193–198. DOI: 10.1016/j.phymed.2017.08.009
26. Pu X., Liang J., Wang X., Xu T., Hua L., Shang R. Anti-influenza A virus effect of Hypericum perforatum L. extract // Virol. Sin. 2009. V. 24. P. 19–27. DOI:10.1007/s12250-009-2983-x
27. Du X., Xiao R., Fu H., Yuan Z., Zhang W., Yin L., He C., Li C., Zhou J., Liu G., Shu G., Chen Z. Hypericin-loaded graphene oxide protects ducks against a novel duck reovirus // Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl. 2019. V. 105. Article ID: 110052. DOI: 10.1016/j.msec.2019.110052
28. Chen H., Feng R., Muhammad I., Abbas G., Zhang Y., Ren Y., Huang X., Zhang R., Diao L., Wang X., et al. Protective effects of hypericin against infectious bronchitis virus induced apoptosis and reactive oxygen species in chicken embryo kidney cells // Poult. Sci. 2019. V. 98. P. 6367–6377. DOI: 10.3382/ps/pez465
29. Chen H., Muhammad I., Zhang Y., Ren Y., Zhang R., Huang X., Diao L., Liu H., Li X., Sun X., Abbas G., Li G. Antiviral Activity Against Infectious Bronchitis Virus and Bioactive Components of *Hypericum perforatum* L // Front Pharmacol. 2019. V. 10. DOI: 10.3389/fphar.2019.01272
30. Zhang Y., Chen H., Zou M., Oerlemans R., Shao C., Ren Y., Zhang R., Huang X., Li G., Cong Y. Hypericin Inhibit Alpha-Coronavirus Replication by Targeting 3CL Protease // Viruses. 2021. V. 13. N 9. DOI: 10.3390/v13091825
31. Islam R., Parves M.R., Paul A.S., Uddin N., Rahman M.S., Mamun A.A., Hossain M.N., Ali M.A., Halim M.A. A molecular modeling approach to identify effective antiviral phytochemicals against the main protease of SARS-CoV-2 // J. Biomol. Struct. Dyn. 2021. V. 39. N 9. P. 3213–3224. DOI: 10.1080/07391102.2020.1761883
32. Shivanika C., Kumar D.S., Ragunathan V., Tiwari P., Sumitha A., Devi B.P. Molecular docking, validation, dynamics simulations, and pharmacokinetic prediction of natural compounds against the SARS-CoV-2 main-protease // J. Biomol. Struct. Dyn. 2022. V. 40. N 2. P. 585–611. DOI: 10.1080/07391102.2020.1815584
33. Saravanan K.M., Zhang H., Senthil R., Vijayakumar K.K., Sounderrajan V. Wei Y., Shakila H. Structural basis for the inhibition of SARS-CoV2 main protease by Indian medicinal plant-derived antiviral compounds // J. Biomol. Struct. Dyn. 2022. V. 40. N 5. P. 1970–1978. DOI: 10.1080/07391102.2020.1834457
34. 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. V. 13. DOI: 10.3389/fmicb.2022.828984
35. Mohamed F.F., Anhlán D., Schöföbänker M., Schreiber A., Classen N., Hensel A., Hempel G., Scholz W., Kühn J., Hrincius E.R., Ludwig S. *Hypericum perforatum* and Its Ingredients Hypericin and Pseudohypericin Demonstrate an Antiviral Activity against SARS-CoV-2 // Pharmaceuticals (Basel). 2022. V. 15. N 5. P. 530. DOI: 10.3390/ph1505053
36. Казачинская Е.И., Романова В.Д., Иванова А.В., Чепурнов А.А., Муртазалиева З.А., Кононова Ю.В., Шауло Д.Н., Романюк В.В., Шестопалов А.М. Ингибирующая активность сухих этанольных экстрактов *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
37. 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
38. 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
39. 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 // Pathogens. 2021. V. 10. N 11. DOI:10.3390/pathogens10111421
40. 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. DOI: 10.1016/j.combiomed.2020.104137

41. 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. DOI: 10.1016/j.phymed.2020.153286
42. 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
43. Shoaib S., Ansari M.A., Kandasamy G., Vasudevan R., Hani U., Chauhan W., Alhumaidi M.S., Altammar K.A., Azmi S., Ahmad W., Wahab S., Islam N. An Attention towards the Prophylactic and Therapeutic Options of Phytochemicals for SARS-CoV-2: A Molecular Insight // *Molecules*. 2023. V. 28. N 2. DOI: 10.3390/molecules28020795
44. Swargiary A., Mahmud S., Saleh M.A. Screening of phytochemicals as potent inhibitor of 3-chymotrypsin and papain-like proteases of SARS-CoV-2: An in silico approach to combat COVID-19 // *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2022. V. 40. P. 2067–2081. DOI: 10.1080/07391102.2020.1835729
45. Jena A.B., Kanungo N., Nayak V., Chainy G.B.N., Dandapat J. Catechin and curcumin interact with S protein of SARS-CoV-2 and ACE2 of human cell membrane: Insights from computational studies // *Sci. Rep.* 2021. Article number: 2043. DOI: 10.1038/s41598-021-81462-7
46. Nguyen T., Jung J.-H., Kim M.-K., Lim S., Choi J.-M., Chung B., Kim D.-W., Kim D. The inhibitory effects of plant derivate polyphenols on the main protease of SARS coronavirus 2 and their structure–activity relationship // *Molecules*. 2021. V. 26. DOI: 10.3390/molecules26071924
47. Clementi N., Scagnolari C., D'Amore A., Palombi F., Criscuolo E., Frasca F., Pierangeli A., Mancini N., Antonelli G., Clementi M., et al. Naringenin is a powerful inhibitor of SARS-CoV-2 infection *in vitro* // *Pharmacol. Res.* 2021. V. 163. DOI: 10.1016/j.phrs.2020.105255
48. Jupudi S., Rajala S., Gaddam N.R., Swaminathan G., Peesa J.P., Rajagopal K. Azam M.A. Revisiting the South Indian traditional plants against several targets of SARS-CoV-2 - An In silico approach // *Curr. Comput.-Aided Drug Des.* 2022. DOI: 10.2174/1573409919666221230105758.
49. Yi Y., Zhang M., Xue H., Yu R., Bao Y.-O., Kuang Y., Chai Y., Ma W., Wang J., Shi X. et al. Schaftoside inhibits 3CL<sup>pro</sup> and PL<sup>pro</sup> of SARS-CoV-2 virus and regulates immune response and inflammation of host cells for the treatment of COVID-19 // *Acta Pharm. Sin. B.* 2022. V. 12. N 11. P. 4154–4164. DOI: 10.1016/j.apsb.2022.07.017
50. Ji J., Wang Z., Sun W., Li Z., Cai H., Zhao E., Cui H. Effects of Cynaroside on Cell Proliferation, Apoptosis, Migration and Invasion through the MET/AKT/mTOR Axis in Gastric Cancer // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. N 22. DOI: 10.3390/ijms222212125
51. Moezzi M.S. Comprehensive in silico screening of flavonoids against SARS-CoV-2 main protease // *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2022. P. 1–14. DOI: 10.1080/07391102.2022.2142297
52. Masiello P., Novelli M., Beffy P., Menegazzi M. Can Hypericum perforatum (SJW) prevent cytokine storm in COVID-19 patients? // *Phytother. Res.* 2020. V. 34. N 7. P. 1471–1473. DOI: 10.1002/ptr.6764
53. Ge Guangbo, Zhu Guanghao, Zhang Yani, Xiong Yuan, Hu Qing, Chen Hongzhuan Hypericum perforatum extract for inhibiting coronavirus 3CL proteolytic enzyme and medical application thereof // *Patent China*. CN113069486. 06.07.2021
54. Scholz W., Ludwig S., Hempel G., Hensel A. Compositions for treating SARS-CoV2 infection // *Patent Germany*. EP4094756A1-2022-11-30.
2. Ning Q., Wu D., Wang X., Xi D., Chen T., Chen G., Wang H., Lu H., Wang M., Zhu L. et al. The mechanism underlying extrapulmonary complications of the coronavirus disease 2019 and its therapeutic implication. *Signal Transduct Target Therapy*, 2022, vol. 7, article number: 57. DOI: 10.1038/s41392-022-00907-1
3. Harvey W.T., Carabelli A.M., Jackson B. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. *Nat Rev Microbiol.*, 2021, vol. 19, no. 7, pp. 409–424. DOI: 10.1038/s41579-021-00573-0
4. Chuang S.-T., Buchwald P. Broad-Spectrum Small-Molecule Inhibitors of the SARS-CoV-2 Spike-ACE2 Protein-Protein Interaction from a Chemical Space of Privileged Protein Binders. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2022, vol. 15, no. 9, article id: 1084. DOI: 10.3390/ph15091084
5. 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 Inhibition Medicinal Chemistry*, 2021, vol. 36, no. 1, pp. 497–503. DOI:10.1080/14756366.2021.1873977
6. 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 Bouza E. Pharmacological treatment of COVID-19: an opinion paper. *Revista Española de Quimioterapia*, 2022, vol. 35, no. 2, pp. 115–130. DOI: 10.37201/req/158.2021
7. Abdoli A., Falahi S., Kenarkoobi A. COVID-19-associated opportunistic infections: a snapshot on the current reports. *Clinical and Experimental Medicine*, 2021, vol. 22, no. 3, pp. 327–346. DOI: 10.1007/s10238-021-00751-7
8. Seeßle J., Hippchen T., Schnitzler P., Gsenger J., Giese T., Merle U. High rate of HSV-1 reactivation in invasively ventilated COVID-19 patients: Immunological findings. *PLoS ONE*, 2021, vol. 16, no. 7, article id: e0254129. DOI: 10.1371/journal.pone.0254129
9. Franceschini E., Cozzi-Lepri A., Santoro A., Bacca E., Lancellotti G., Menozzi M., Gennari W., Meschiari M., Bedini A., Orlando G. et al. Herpes Simplex Virus Re-Activation in Patients with SARS-CoV-2 Pneumonia: A Prospective, Observational Study. *Microorganisms*, 2021, vol. 9, no. 9, article number: 1896. DOI: 10.3390/microorganisms9091896
10. Murgia F., Fiamma M., Serra S., Marras G., Argiolas R., Mattana C., Mattu M.G., Garau M. C., Doneddu S., Olla S. et al. The impact of the secondary infections in ICU patients affected by COVID-19 during three different phases of the SARS-CoV-2 pandemic. *Clin Exp Med.*, 2022, vol. 23, pp. 1251–1263. DOI: 10.1007/s10238-022-00959-1
11. Wan D., Du T., Hong W., Chen L., Que H., Lu S., Peng X. Neurological complications and infection mechanism of SARS-CoV-2. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2021, no. 6, article number: 406. DOI: 10.1038/s41392-021-00818-7
12. Nawrot J., Gornowicz-Porowska J., Budzianowski J., Nowak G., Schroeder G., Kurczewska J. Medicinal Herbs in the Relief of Neurological, Cardiovascular, and Respiratory Symptoms after COVID-19 Infection A Literature Review. *Cells*, 2022, vol. 11, no. 12, article number: 1897. DOI: 10.3390/cells11121897
13. Premraj L., Kannapadi N.V., Briggs J., Seal S.M., Battaglini D., Fanning J., Suen J., Robba C., Fraser J., Cho S.-M. Mid and long-term neurological and neuropsychiatric manifestations of post-COVID-19 syndrome: A meta-analysis. *Journal of the Neurological Sciences*, 2022, vol. 434, article id: 120162. DOI: 10.1016/j.jns.2022.120162
14. Chippa V., Aleem A., Anjum F. Book: Post Acute Coronavirus (COVID-19) Syndrome. In: StatPearls [Internet]. 2022. PMID: 34033370. Bookshelf id: NBK570608
15. Soleymani S., Naghizadeh A., Karimi M., Zarei A., Mardi R., Kordafshari G., Esmaealzadeh N., Zargaran A. COVID-19:

## REFERENCES

1. WHO website. Available at: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports> (accessed 12.01.2023)



- General Strategies for Herbal Therapies. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 2022, vol. 27. DOI: 10.1177/2515690X211053641
16. Calderon M., Gysin G., Gujjar A., McMaster A., King L., Comandé D., Hunter E., Payne B. Bacterial co-infection and antibiotic stewardship in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infectious Diseases*, 2023, vol. 23, article number: 14. DOI: 10.1186/s12879-022-07942-x
  17. Bonnet U., Juckel G. COVID-19 Outcomes: Does the Use of Psychotropic Drugs Make a Difference? Accumulating Evidence of a Beneficial Effect of Antidepressants-A Scoping Review. *J Clin Psychopharmacol*, 2022, vol. 42, no. 3, pp. 284–292. DOI:10.1097/JCP.0000000000001543
  18. Buza V., Niculae M., Hanganu D., Pall E., Burtescu R.F., Olah N.-K., Matei-Lațiu M.-C., Vlasiciu I., Iozon I., Szakacs A.R., Ielciu I., Ștefănuț L.C. Biological Activities and Chemical Profile of *Gentiana asclepiadea* and *Inula helenium* Ethanolic Extracts. *Molecules*, 2022, vol. 27, iss. 11. DOI: 10.3390/molecules27113560
  19. Owen L., Laird K., Shivkumar M. Antiviral plant-derived natural products to combat RNA viruses: Targets throughout the viral life cycle. *Letters in Applied Microbiology*, 2022, vol. 75, no. 3, pp. 476–499. DOI: 10.1111/lam.13637
  20. Garg P., Alambayan J., Garg V. Herbal Approaches in the Management of Mental Depression. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2022, vol. 22, no. 1, pp. 98–124. DOI: 10.2174/1871527321666220128091408
  21. Galeotti N. *Hypericum perforatum* (St John's wort) beyond depression: A therapeutic perspective for pain conditions. *Journal of Ethnopharmacology*, 2017, vol. 200, pp. 136–146. DOI: 10.1016/j.jep.2017.02.016
  22. Vuko E., Dunkić V., Rušić M., Nazlić M., Mandić N., Soldo B., Šprung M., Fredotović Ž. Chemical Composition and New Biological Activities of Essential Oil and Hydrosol of *Hypericum perforatum* L. ssp. *veronense* (Schränk) H. Lindb. *Plants*, 2021, vol. 10, no. 5. DOI: 10.3390/plants10051014
  23. Rizzo P., Altschmied L., Ravindran B.M., Rutten T., D'Auria J.C. The Biochemical and Genetic Basis for the Biosynthesis of Bioactive Compounds in *Hypericum Perforatum* L., One of the Largest Medicinal Crops in Europe. *Genes*, 2020, vol. 11, no. 10. DOI: 10.3390/genes11101210
  24. Prince A.M., Pascual D., Meruelo D., Liebes L., Mazur Y., Dubovi E., Mandel M., Lavie G. Strategies for evaluation of enveloped virus inactivation in red cell concentrates using hypericin. *Photochem Photobiology*, 2000, vol. 71, no. 2, pp. 188–195. DOI: 10.1562/0031-8655(2000)071<0188:sfeoev>2.0.co;2
  25. Shih C.-M., Wu C.-H., Wu W.-J., Hsiao Y.-M., Ko J.-L. Hypericin inhibits hepatitis C virus replication via deacetylation and down-regulation of heme oxygenase-1. *Phytomedicine*, 2018, vol. 46, pp. 193–198. DOI: 10.1016/j.phymed.2017.08.009
  26. Pu X., Liang J., Wang X., Xu T., Hua L., Shang R. Anti-influenza A virus effect of *Hypericum perforatum* L. extract. *Virologica sinica*, 2009, vol. 24, pp. 19–27. DOI:10.1007/s12250-009-2983-x
  27. Du X., Xiao R., Fu H., Yuan Z., Zhang W., Yin L., He C., Li C., Zhou J., Liu G., Shu G., Chen Z. Hypericin-loaded graphene oxide protects ducks against a novel duck reovirus. *Mater. Sci. Eng. C. Biol. Appl.*, 2019, vol. 105, article id: 110052. DOI: 10.1016/j.msec.2019.110052
  28. Chen H., Feng R., Muhammad I., Abbas G., Zhang Y., Ren Y., Huang X., Zhang R., Diao L., Wang X., et al. Protective effects of hypericin against infectious bronchitis virus induced apoptosis and reactive oxygen species in chicken embryo kidney cells. *Poult. Sci.*, 2019, vol. 98, pp. 6367–6377. DOI: 10.3382/ps/pez465
  29. Chen H., Muhammad I., Zhang Y., Ren Y., Zhang R., Huang X., Diao L., Liu H., Li X., Sun X., Abbas G., Li G. Antiviral Activity Against Infectious Bronchitis Virus and Bioactive Components of *Hypericum perforatum* L. *Front. Pharmacol.*, 2019, vol. 10. DOI: 10.3389/fphar.2019.01272
  30. Zhang Y., Chen H., Zou M., Oerlemans R., Shao C., Ren Y., Zhang R., Huang X., Li G., Cong Y. Hypericin Inhibit Alpha-Coronavirus Replication by Targeting 3CL Protease. *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 9. DOI: 10.3390/v13091825
  31. Islam R., Parves M.R., Paul A.S., Uddin N., Rahman M.S., Mamun A.A., Hossain M.N., Ali M.A., Halim M.A. A molecular modeling approach to identify effective antiviral phytochemicals against the main protease of SARS-CoV-2. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 2021, vol. 39, no. 9, pp. 3213–3224. DOI: 10.1080/07391102.2020.1761883
  32. Shivanika C., Kumar D.S., Ragunathan V., Tiwari P., Sumitha A., Devi B.P. Molecular docking, validation, dynamics simulations, and pharmacokinetic prediction of natural compounds against the SARS-CoV-2 main-protease. *J. Biomol Struct Dyn.*, 2022, vol. 40, no. 2, pp. 585–611. DOI: 10.1080/07391102.2020.1815584
  33. Saravanan K.M., Zhang H., Senthil R., Vijayakumar K.K., Sounderrajan V. Wei Y., Shakila H. Structural basis for the inhibition of SARS-CoV2 main protease by Indian medicinal plant-derived antiviral compounds. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 2022, vol. 40, no. 5, pp. 1970–1978. DOI: 10.1080/07391102.2020.1834457
  34. 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, vol. 13, article id: 828984. DOI: 10.3389/fmicb.2022.828984
  35. 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. DOI: 10.3390/ph1505053
  36. Kazachinskaia E.I., Romanova V.D., Ivanova A.V., Chepurinov A.A., Kononova Y.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. DOI: 10.18470/1992-1098-2-22-4-111-129 (In Russian)
  37. 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/RUs/nsk-FRCfTM-1/2020 coronavirus isolate from a patient in Novosibirsk. *Journal Infectology*, 2020, vol. 12, no. 3, pp. 42–50. DOI:10.22625/2072-6732-2020-12-3-42-50. (In Russian)
  38. Kazachinskaia 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. DOI: 10.18470/1992-1098-2022-2-76-90 (In Russian)
  39. 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. *Patogens*, 2021, vol. 10, no. 11. DOI:10.3390/pathogens10111421
  40. 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. DOI: 10.1016/j.combiomed.2020.104137
  41. 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. DOI: 10.1016/j.phymed.2020.153286
42. 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
43. Shoaib S., Ansari M.A., Kandasamy G., Vasudevan R., Hani U., Chauhan W., Alhumaidi M.S., Altammar K.A., Azmi S., Ahmad W., Wahab S., Islam N. An Attention towards the Prophylactic and Therapeutic Options of Phytochemicals for SARS-CoV-2: A Molecular Insight. *Molecules*, 2023, vol. 28, no. 2. DOI: 10.3390/molecules28020795
44. Swargiary A., Mahmud S., Saleh M.A. Screening of phytochemicals as potent inhibitor of 3-chymotrypsin and papain-like proteases of SARS-CoV-2: An in silico approach to combat COVID-19. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 2022, vol. 40, pp. 2067–2081. DOI: 10.1080/07391102.2020.1835729
45. Jena A.B., Kanungo N., Nayak V., Chainy G.B.N., Dandapat J. Catechin and curcumin interact with S protein of SARS-CoV-2 and ACE2 of human cell membrane: Insights from computational studies. *Sci. Rep.*, 2021, article number: 2043. DOI: 10.1038/s41598-021-81462-7
46. Nguyen T., Jung J.-H., Kim M.-K., Lim S., Choi J.-M., Chung B., Kim D.-W., Kim D. The inhibitory effects of plant derivate polyphenols on the main protease of SARS coronavirus 2 and their structure–activity relationship. *Molecules*, 2021, vol. 26. DOI: 10.3390/molecules26071924
47. Clementi N., Scagnolari C., D'Amore A., Palombi F., Criscuolo E., Frasca F., Pierangeli A., Mancini N., Antonelli G., Clementi M., et al. Naringenin is a powerful inhibitor of SARS-CoV-2 infection *in vitro*. *Pharmacol. Res.*, 2021, vol. 163. DOI: 10.1016/j.phrs.2020.105255
48. Jupudi S., Rajala S., Gaddam N.R., Swaminathan G., Peesa J.P., Rajagopal K. Azam M.A. Revisiting the South Indian traditional plants against several targets of SARS-CoV-2 - An In silico approach. *Curr. Comput.-Aided Drug Des.*, 2022. DOI: 10.2174/1573409919666221230105758
49. Yi Y., Zhang M., Xue H., Yu R., Bao Y.-O., Kuang Y., Chai Y., Ma W., Wang J., Shi X. et al. Schaftoside inhibits 3CL<sup>pro</sup> and PL<sup>pro</sup> of SARS-CoV-2 virus and regulates immune response and inflammation of host cells for the treatment of COVID-19. *Acta Pharm. Sin. B*, 2022, vol. 12, no. 11, pp. 4154–4164. DOI: 10.1016/j.apsb.2022.07.017
50. Ji J., Wang Z., Sun W., Li Z., Cai H., Zhao E., Cui H. Effects of Cynaroside on Cell Proliferation, Apoptosis, Migration and Invasion through the MET/AKT/mTOR Axis in Gastric Cancer. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 22, no. 22. DOI: 10.3390/ijms222212125
51. Moezzi M.S. Comprehensive in silico screening of flavonoids against SARS-CoV-2 main protease. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 2022, pp. 1–14. DOI: 10.1080/07391102.2022.2142297
52. Masiello P., Novelli M., Beffy P., Menegazzi M. Can *Hypericum perforatum* (SJW) prevent cytokine storm in COVID-19 patients? *Phytother. Res.*, 2020, vol. 34, no. 7, pp. 1471–1473. DOI: 10.1002/ptr.6764
53. Ge Guangbo, Zhu Guanghao, Zhang Yani, Xiong Yuan, Hu Qing, Chen Hongzhan *Hypericum perforatum* extract for inhibiting coronavirus 3CL proteolytic enzyme and medical application thereof. Patent China. CN113069486. 06.07.2021
54. Scholz W., Ludwig S., Hempel G., Hensel A. Compositions for treating SARS-CoV2 infection. Patent Germany. EP4094756A1-2022-11-30.

#### КРИТЕРИИ АВТОРСТВА

Елена И. Казачинская оформила литературный обзор, провела эксперименты по исследованию ингибирующей активности, а также обработала результаты.

Юлия В. Кононова внесла идею исследования, культивировала клетки Vero, провела титрование вируса и подготовку аликвот с определенным инфекционным титром.

Алла В. Иванова работала с сухим растительным сырьем по разделению на отдельные части (листья, цветки, стебли), провела экстракцию для получения сухих экстрактов и эксперименты по тестированию цитотоксичности экстрактов.

Лариса Н. Зибарева провела анализ БАВ высокоэффективной жидкостной хроматографией.

Александр А. Чепурнов наработал SARS-CoV-2/human/RUS/Nsk-FRCFTM-1/2020.

Владимир В. Романюк провел сбор растительного сырья в природе и определение вида *Hypericum perforatum* L.

Марина А. Гуляева и Апенди А. Бийболатов участвовали в составлении литературного обзора и редактировании рукописи до подачи в редакцию.

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. Kazachinskaia designed the literature review and conducted experiments for study of inhibitory activity and processed the results.

Yulia V. Kononova introduced the idea of the study, cultured Vero cells, titrated the virus and prepared aliquots with an infectious titer.

Alla V. Ivanova worked with dry plant raw materials by dividing them into separate parts (stems, inflorescences, leaves), carried out extraction to obtain dry extracts and conducted experiments for testing of cytotoxicity.

Larisa N. Zibareva analyzed BAS with high-performance liquid chromatography.

Alexander A. Chepurinov cultivated SARS-CoV-2/human/RUS/Nsk-FRCFTM-1/2020.

Vladimir V. Romanyuk collected plant raw materials in nature and determined the type of *Hypericum perforatum* L.

Marina A. Gulyaeva and Apendi A. Biibolatov participated in the preparation of the literature review and edited the manuscript before submission to the Editor.

Alexander M. Shestopalov led the organisational and material aspects of the laboratory research. 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. Kazachinskaya <https://orcid.org/0000-0002-1856-6147>

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

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

Лариса Н. Зибарева / Larisa N. Zibareva <https://orcid.org/0000-0002-4417-8340>

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

Владимир В. Романюк / Vladimir V. Romanyuk <https://orcid.org/000-0002-6860-9168>

Апенди А. Бийболатов / Apendi A. Biibolatov <https://orcid.org/0009-0008-3921-0407>

Марина А. Гуляева / Marina A. Gulyaeva <https://orcid.org/0000-0003-3945-5339>

Александр М. Шестопалов / Alexander M. Shestopalov <https://orcid.org/0000-0002-9734-0620>