

Исследование ингибирующей активности экстрактов, фракций и вторичных метаболитов *Silene* spp. (Caryophyllaceae) и *Serratula cupuliformis* (Asteraceae) на «вход» простого герпеса 2 типа в чувствительные клетки линии Vero

Елена И. Казачинская^{1,3}, Лариса Н. Зибарева², Елена С. Филоненко², Алла В. Иванова³,
Олия В. Кононова¹, Александр А. Чепурнов¹, Александр М. Шестопалов¹

¹Научно-исследовательский институт вирусологии Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины (ФИЦ ФТМ) Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Новосибирск, Россия

²Национальный исследовательский Томский государственный университет (ТГУ), Томск, Россия

³Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»), Новосибирск, Россия

Контактное лицо

Елена И. Казачинская, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник ФИЦ ФТМ, ведущий научный сотрудник ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»; 630559 Россия, Новосибирская область, г. Новосибирск, р/п Кольцово 32-1.
Тел. +79095307441

Email lana.kazachinskaia@mail.ru

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

Формат цитирования

Казачинская Е.И., Зибарева Л.Н., Филоненко Е.С., Иванова А.В., Кононова Ю.В., Чепурнов А.А., Шестопалов А.М. Исследование ингибирующей активности экстрактов, фракций и вторичных метаболитов *Silene* spp. (Caryophyllaceae) и *Serratula cupuliformis* (Asteraceae) на «вход» простого герпеса 2 типа в чувствительные клетки линии Vero // Юг России: экология, развитие. 2024. Т.19, N 1. С. 30-46. DOI: 10.18470/1992-1098-2024-1-3

Получена 4 декабря 2023 г.

Прошла рецензирование 10 января 2024 г.

Принята 15 января 2024 г.

Список сокращений

HSVs – Herpes Simplex Viruses; HSV-2 – Herpes simplex virus type 2; MOI – множественность инфекции (multiplicities of infection); ЦПД – цитопатическое действие; ТЦПД₅₀/мл – тканевая цитопатическая доза; БОЕ – бляшкообразующая единица; CC₅₀ – 50 %-ная цитотоксическая концентрация (50 % cytotoxic concentration); EC₅₀ – 50 %-ная эффективная концентрация (50 % effective concentration); EC₁₀₀ – 100 %-ная эффективная концентрация (100 % effective concentration); 20E – 20-гидроксиэкдизон; БАВ – биологически активные вещества, ДМСО – диметилсульфоксид

Резюме

Целью является анализ *in vitro* ингибирующей активности экстрактов, фракций и вторичных метаболитов растений рода *Silene* (Caryophyllaceae) и *Serratula cupuliformis* (Asteraceae) на «вход» простого герпеса 2 типа (HSV-2) в чувствительные клетки линии Vero.

Приготовлены этанольные экстракты и бутанольные фракции *Silene* spp. и *Serratula cupuliformis*. Выделены флавоноид шафтозид и экдистероид 20-гидроксиэкдизон из *Lychnis chalconica*. Анализ БАВ выполнен методом ВЭЖХ. Образцы растворяли в дистиллированной воде или ДМСО. Лабораторный штамм MS HSV-2 пассирован на культуре клеток Vero. Анализ ингибирующей активности растительных препаратов проводили на культуре клеток Vero методом прямой инактивации (нейтрализации) вирионов с инфекционным титром 10³ БОЕ/мл.

Выявлена ингибирующая активность растительных препаратов в диапазоне 50 %-ных эффективных концентраций (EC₅₀) от 2,12±0,47 до 180,99±49,24 мкг/мл при растворении в воде и от 1,99±0,44 до 57,42±14,74 мкг/мл при растворении в ДМСО, что для некоторых образцов сопоставимо с EC₅₀ препаратов сравнения (сухими этанольными экстрактами специи гвоздики, чаги и корня солодки).

Полученные результаты предполагают наличие в исследуемых растительных препаратах БАВ, действующих деструктивно на вирионы HSV-2 и влияющих на один из основных этапов его «жизненного» цикла – на «вход» вируса в чувствительные клетки.

Ключевые слова

HSV-2, растительные препараты, ингибирующая активность.

Investigation of the inhibitory activity of extracts, fractions and secondary metabolites of *Silene* spp. (Caryophyllaceae) and *Serratula cupuliformis* (Asteraceae) on the «entry» of herpes simplex type 2 into sensitive cells of the Vero line

Elena I. Kazachinskaia^{1,3}, Larisa N. Zibareva², Elena S. Filonenko², Alla V. Ivanova³, Yulia V. Kononova¹, Alexander A. Chepurinov¹ and Alexander M. Shestopalov¹

¹Research Institute of Virology, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia

²National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

³Vector State Research Centre of Virology and Biotechnology, Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare (Rospotrebnadzor), Novosibirsk, Russia

Principal contact

Elena I. Kazachinskaia, Doctor of Biology, Leading Researcher, Research Institute of Virology, Federal Research Centre for Fundamental and Translational Medicine & Leading Researcher, VECTOR State Research Centre of Virology and Biotechnology; 32-1 Koltsovo, Novosibirsk, Novosibirskiy region, 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., Zibareva L.N., Filonenko E.S., Ivanova A.V., Kononova Yu.V., Chepurinov A.A., Shestopalov A.M.

Investigation of the inhibitory activity of extracts, fractions and secondary metabolites of *Silene* spp. (Caryophyllaceae) and *Serratula cupuliformis* (Asteraceae) on the «entry» of herpes simplex type 2 into sensitive cells of the Vero line. *South of Russia: ecology, development*. 2024; 19(1):30-46. (In Russ.) DOI: 10.18470/1992-1098-2024-1-3

Received 4 December 2023

Revised 10 January 2024

Accepted 15 January 2024

Abbreviations list

HSVs – Herpes Simplex Viruses; HSV-2 – Herpes simplex virus type 2; PFU – plaque-forming units; CE – cytopathic effect; MOI – multiplicity of infection, TCID₅₀ – 50 % tissue culture infectious doses; CC₅₀ – % cytotoxic concentration, EC₅₀ – 50 % effective concentration; EC₁₀₀ – 100 % effective concentration; 20E – 20-Hydroxyecdysone; BAS – biologically active substances, DMSO – Dimethyl sulfoxide

Abstract

In vitro analysis of the inhibitory activity of extracts, fractions and secondary metabolites of plants of the genus *Silene* (Caryophyllaceae) and *Serratula cupuliformis* (Asteraceae) to the «entry» of herpes simplex type 2 (HSV-2) into sensitive cells of the Vero line.

Ethanol extracts and butanol fractions of *Silene* spp. and *Serratula cupuliformis* were prepared. The flavonoid shaftoside and the ecdysteroid 20-hydroxyecdysone from *Lychnis chalconica* were isolated. For analysis of biologically active substances (BAS) the HPLC method was used. The samples were dissolved in distilled water or DMSO. The laboratory strain MS HSV-2 was grown on Vero cell culture. *In vitro* analysis of the inhibitory activity of the herbal preparations on «entry» of HSV-2 was performed in Vero cell culture by direct inactivation (neutralisation) of virions with 10³ PFU /ml.

Effective concentrations (EC₅₀) have been identified in the range of 50 % from 2.12±0.47 to 180.99±49.24 µg/ml when preparations were dissolved in water and from 1.99±0.44 to 57.42±14.74 µg/ml when they were dissolved in DMSO. Such results for some samples is comparable to the EC₅₀ of comparison preparations (dry ethanol extracts of spice of cloves, chaga and licorice root).

The results obtained suggest the presence of BAS in the herbal preparations studied that act destructively on HSV-2 virions and affect one of the main stages of its «life» cycle – the «entry» of the virus into sensitive cells.

Key Words

HSV-2, herbal preparations, inhibitory activity.

ВВЕДЕНИЕ

По данным Международного комитета по таксономии вирусов (ICTV, 2021) [1] семейство *Herpesviridae* насчитывает 114 представителей, которые могут поражать широкий спектр видов животных (млекопитающих, птиц и рептилий) и проявляют узкую видовую специфичность, что указывает на их эволюцию с хозяевами в течение длительных периодов времени [2]. На основе организации генома и других биологических характеристиках (клеточного тропизма, скорости репликации и др.), вирусы герпеса классифицируются на три подсемейства: *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* и *Gammapherpesvirinae* [3]. Геномы герпесов кодируют более 100 генов и примерно 40 из них являются общими для всех видов *Herpesviridae* [4]. Вирусы герпеса имеют два цикла репликации: литический и латентный. Литическая репликация производит частицы для заражения других клеток и организмов, в то время как латентность (которая устанавливается пожизненно при первичном попадании патогенов в организм) характеризуется ограниченной экспрессией генов и отсутствием инфекционных частиц [5]. Частицы герпесвирусов состоят из большого линейного двухцепочечного генома (молекула дцДНК размером примерно от 100 тыс. до 250 тыс. пар оснований с низкой частотой мутаций), упакованного в икосаэдрический капсид, покрытый тегументом (слоем, состоящим из более, чем 20-ти белков), который, в свою очередь, заключен в оболочку – липидный бислой, полученный из мембраны клетки-хозяина [6; 7]. Оболочка содержит, примерно 20 интегральных белков, из которых 13 являются гликопротеинами, играющими важную роль в прикреплении вириона к различным клеточным рецепторам, проникновении вируса либо через слияние вирусной оболочки с плазматической мембраной, либо через рецептор-опосредованный эндоцитоз [4]. В настоящее время известны, по крайней мере, 10 герпесвирусов гликопротеинов, обозначаемых как gB, gC, gD, gE, gG, gH, gI, gK, gL, gM и gN. Для большинства герпесвирусов четыре или пять белков оболочки могут участвовать в процессе проникновения («входа») в клетку – это gB, gC, gD, gH и gL [6]. По данным криоэлектронных томограмм изолированных вирионов вирусные гликопротеины образуют сеть из шипов, которые различаются по длине, расстоянию между ними и углам, под которыми они выходят из мембраны [8].

Известно девять видов герпеса, заметно отличающихся по своей биологии, циркулирующих в человеческой популяции. К ним относятся вирусы простого герпеса (*Herpes simplex viruses*, HSVs) – 1 и 2 типов (HSV-1 и HSV-2) и вирус ветряной оспы (и опоясывающего лишая) *Varicella Zoster* (VZV), цитомегаловирус (*Cytomegalovirus*, CMV), вирус Эпштейна-Барра (*Epstein-Barr virus*, EBV), вирусы герпеса человека 6A, 6B и 7 (*human herpesvirus*, HHV-6A, HHV-6B, HHV-7), HHV-8 (ассоциированный с саркомой Капоши) [3]. Вирусы простого герпеса 1 и 2 типов (HSV-1 и HSV-2, *Alphaherpesvirinae*) наиболее распространенные нейротропные патогены во всем мире, вызывающие широкий спектр заболеваний у людей. HSV-1 поражает преимущественно слизистую оболочку полости рта, вызывая характерные незначительные поражения кожи и иногда энцефалит. Причиной генитального герпеса

чаще является HSV-2. Тем не менее, оба вируса могут поражать любую слизистую оболочку, часто в результате орально-генитального секса [9]. Известно, что HSVs поражают не только эпителиальные клетки и нейроны, но и практически любой тип клеток в организме, включая иммунные клетки, такие как дендритные (*dendritic cells*, DCs) и натуральные киллеры (*natural killer cells*, NK cells), благодаря тому, что основные рецепторы для этих патогенов широко распространены в тканях и клетках человека [10]. Для генитального герпеса, вызванного HSV-1, не характерны частые рецидивы. В случае же HSV-2 повторение симптомов происходит часто. Женщины заражаются HSV-2 почти в два раза чаще, чем мужчины, поскольку инфекция легче передается половым путем от мужчины к женщине. Распространенность данной инфекции возрастает с возрастом, хотя наибольшее число новых случаев инфицирования происходит среди подростков. Развитие неонатального герпеса может происходить при контакте новорожденного с HSVs в родовых путях инфицированной матери. Неонатальный герпес развивается редко, по оценкам в 10-ти из 100 тыс. деторождений в мире, тем не менее, это тяжелое состояние может приводить к стойкой неврологической инвалидности или смерти новорожденного. Наибольший риск неонатального герпеса возникает в том случае, когда женщина впервые инфицируется HSVs на поздних сроках беременности и ребенок рождается до трансплацентарного переноса антител [11; 12].

Последние эпидемиологические исследования оценивают около 66,6 % (в возрасте 0 – 49 лет) и 13,2 % (в возрасте 15 – 49 лет) глобальной серопревалентности к HSV-1 и HSV-2, соответственно, в зависимости от пола и географического региона [13]. HSV-1 и HSV-2, в основном, имеют отдельные экологические ниши, поэтому могут одновременно реплицироваться в одном организме. Так в Нигерии при обследовании беременных женщин на антитела класса IgM (маркеры острой фазы инфекции), специфичные к двум видам герпеса, были обнаружены у 2,8 % [14]. На основании результатов эволюционных исследований, есть предположение, что HSV-2 филогенетически ближе к вирусу герпеса шимпанзе (т.е. мог возникнуть в результате межвидовой передачи), чем на HSV-1 [15]. Тем не менее, геномы HSV-1 и HSV-2 очень близки и большинство гликопротеинов имеют высокую идентичность аминокислотных последовательностей, исключением является только часть гликопротеина G (gG) [16]. В связи с этим, дифференциальная диагностика болезней, вызванных HSVs, затруднена и основана на маркерах gG [17].

В настоящее время около полумиллиарда человек во всем мире инфицированы HSV-2 [6]. Генитальный герпес может быть симптоматическим или бессимптомным. Передача инфекции половым путем, бессимптомными лицами является основной причиной высокой распространенности генитального герпеса [18]. Наличие HSV-2 в половых органах при его реактивации повышает риск заражения вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ, *human immunodeficiency virus*, HIV) примерно в три раза. Кроме того, инфицированные одновременно ВИЧ и HSV-2, чаще передают ВИЧ другим лицам [11]. Также показано, что HSV-2 может активировать ВИЧ, находящийся в стадии провируса,

т.е. является кофактором прогрессирования ВИЧ-инфекции [19].

До сих пор не существует вакцины или лечебного средства для профилактики HSV-2 инфекции [20]. Хотя известно, что пассивный перенос антител от матери к плоду защищает новорожденных благодаря нейтрализующим антителам, попытки разработать эффективную вакцину против генитального герпеса для взрослых оказались неудачными [12]. По данным клинических испытаний трех вакцин против HSV-2 на основе иммунодоминантных белков (gB2/gD2, gD2) или живого вируса с дефектом репликации в генах UL5 и UL29, было показано, что: 1) титры нейтрализующих антител у добровольцев были либо низкими, либо недолговечными, либо и тем и другим; 2) вакцины не были эффективны у серопозитивных к HSV-1 женщин и у мужчин любого серостатуса. В результате, сделанные выводы о том, что: 1) HSV-2 в высокой степени адаптирован к уклонению от иммунитета хозяина, что затрудняет предотвращение попадания вируса в ганглии, которые являются местом латентности; 2) антитела от предшествующей инфекции HSV-1 могут препятствовать защите от HSV-2. Возможно, что современный подход в разработке профилактической вакцины против генитального герпеса с использованием трехвалентных мПНК-липидных наночастиц (на основе гена gD2, т.к. антитела к этому белку блокируют «вход» вируса + добавление генов gC2 и gE2, т.к. кодируемые белки блокируют активацию компонента) повысит ее способность индуцировать более высокие титры нейтрализующих антител и более длительные реакции фолликулярных хелперных клеток CD4+ Т и В-клеток памяти, чем вакцины с обычной белковой основой и адъювантами [12].

Симптоматические инфекции HSV-2 можно контролировать с помощью противовирусных препаратов – синтетических аналогов нуклеозидов, таких как ацикловир, валакцикловир и фоскарнет. Аналоги нуклеозидов встраиваются в вирусную ДНК, предотвращают репликацию вируса [21], тем самым способствуют снижению тяжести и частоты симптомов, но не приводят к излечению хронической инфекции [11]. Кроме того, описано, что при приеме этих препаратов чаще всего пациенты испытывают недомогание, реже – головокружение, усталость, тошноту, рвоту, трансаминаит и сыпь (включая синдром Стивенса-Джонсона), боль в животе, агрессию/спутанность сознания, возбуждение, алопецию, анемию, анафилаксию, ангионевротический отек, анорексию, атаксию, диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови. Острое повреждение почек из-за образования кристаллов в почечных канальцах является наиболее значительным побочным эффектом парентерального введения ацикловира. Отсутствие клинического ответа на лечение ацикловиром через неделю после начала терапии может свидетельствовать о приобретении вирусом лекарственной устойчивости [22]. Сообщается о высокой частоте устойчивых к ацикловиру герпесных инфекций среди лиц с ослабленным иммунитетом, причем самая высокая распространенность наблюдается среди реципиентов трансплантации гемопоэтических стволовых клеток [23]. Кризис устойчивости к противогерпетическим препаратам объясняется чрезмерным их использованием. Отсутствие разработки новых лекарств фармацевтической промышленностью связан со сниже-

нием экономических стимулов и сложных нормативных требований. Разработка эффективных и безопасных противовирусных препаратов стала бы шагом вперед в глобальной борьбе с HSVs-инфекциями. В связи с этим, уделяется большое внимание использованию натуральных продуктов для уменьшения тяжести и продолжительности рецидивов, связанных с HSVs, особенно HSV-2 [24]. В обзоре Tremblé с соавт. приводят анализ последних достижений (на 2020 г.) в области исследований *in vitro* и *in vivo* натуральных противогерпетических средств – это широкий спектр фенольных соединений, алкалоидов, терпеноидов, полисахаридов, пептидов и других разнообразных биологически активных веществ (БАВ), полученных из различных источников природного происхождения (из растений, лишайников, грибов, морских организмов, микроорганизмов и насекомых) [24]. В обзоре Mohan с соавт. по широкому анализу литературы с 1975 по 2020 гг. по антивирусному потенциалу растительного сырья против HSV-1 и HSV-2, отмечено, что из 66-ти видов растений, экстракты которых активны против HSV-1, только по препаратам нескольких растений из разных семейств описана ингибирующая активность против HSV-2 *in vitro* – это метанольный экстракт семян гармалы обыкновенной (*Peganum harmala* L., Nitrariaceae), водный экстракт травы центеллии азиатской (*Centella asiatica* L., Umbelliferae), метанольный экстракт смолы фисташкового дерева (*Pistacia lentiscus* L., Anacardiaceae), водный экстракт листьев манго (*Mangifera indica* L., Anacardiaceae), этанольный экстракт листьев аглаи душистой (*Aglaia odorata*, Meliaceae), водный экстракт корня и коры стебля сумаха душистого (*Rhus aromatica*, Anacardiaceae), водный экстракт листьев кешью (*Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae), этанольный экстракт листьев форадендрона (*Phoradendron crassifolium* Loranthaceae), вытяжки эфиром из коры стеблей анноны колючей (*Annona muricata* L., Annonaceae) и петунии (*Petunia nyctaginiflora* Jussieu, Solanaceae), водно-этанольный экстракт корней и стебля хвоща гиганского (*Equisetum giganteum* L., Equisetaceae), этанольный и водный экстракты листьев копаиферы (*Copaifera reticulata*, Fabaceae), метанольный экстракт коры акации нильской (*Vachellia nilotica* L., Fabaceae), метанольный экстракт листьев кустарникового молочая педилантуса (*Pedilanthus tithymaloides* Nees. ex Port., Euphorbiaceae) и метанольный экстракт коры птерокарпия (*Pterocarya stenoptera* C. DC., Juglandaceae) [25]. Этими авторами отмечается разный механизм действия БАВ растительных препаратов – как ингибирование вирусной репликации внутри инфицированной клетки, так и блокирование прикрепления и проникновения вируса в клетку. На примерах активности растительных препаратов против HSV-2 это соотношение механизма действия составляет примерно 1/1.

Представители семейства **Гвоздичные** (Caryophyllaceae) – растения рода ***Silene*** также могут быть интересны для исследований в данном направлении т.к. содержат широкий спектр БАВ – это флавоноиды и фитоэкстероиды [26]. Известно, что флавоноиды – группа природных полифенольных веществ, обладающих антиоксидантным действием, а также другими биологическими свойствами (например, антимикробными и противовоспалительными), снижают риск инфекционных заболеваний [27]. Растения рода *Silene* также содержат фитоэкстероиды (полигид-

роксилированные соединения, структурные аналоги гормонов линьки насекомых [26]. Фитоэкстероиды, содержащиеся в водорослях, грибах, папоротниках, голосеменных и покрытосеменных растениях в плане антивирусной активности практически не изучены. У людей фитоэкстероиды проявляют различные биологические, фармакологические и лекарственные свойства, такие как противодиабетическое, антиоксидантное, антимикробное, гемореологическое, гепатопротекторное, гипогликемическое, противораковое, противовоспалительное, радиопротекторное [28], антидепрессивное действие и активность по дифференцировке тканей [29].

Астровые или **Сложноцветные** (Asteraceae) – крупнейшее семейство покрытосеменных, включает множество видов, имеющих лекарственное и хозяйственное значение. Известно про антивирусную активность водных и этанольных экстрактов видов *Asteraceae*, например, против SARS-CoV-2 – полыней разных видов (*Artemisia* spp.) [30; 31], против HIV – метанольных экстрактов травы лопуха большого *Arctium lappa* L., хризантемы индийской (*Chrysanthemum indicum* L.) и крестовника (*Senecio scandens* Buch.-Ham. ex D.Don) [25]. Против HSV-1 описана активность водного экстракта пижмы девичьей (*Tanacetum parthenium* (L.) Sch.Bip.), водного экстракта полыни шелковистой (*A. kermanensis*), дихлорметанового экстракта *Scaevola gaudichaudiana*. Ингибирование вирусов связывают, скорее всего, с дубильными веществами или полифенолами, содержащимися в экстрактах этих растений [25].

Против HSV-2 описана активность разных фракций (фракционирование с использованием растворителей возрастающей полярности: петролейного эфира, хлороформа, этилацетата, бутанола и воды) метанольного экстракта наземной части пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare*) по профилактической схеме (предварительная обработка клеток растительными препаратами, а затем заражение с 10 ТЦПД₅₀/мл, (т.е. определялось ингибирование адсорбции вируса на клетках и вирулицидная активность) с EC₅₀ в диапазоне концентраций 16,0–500,0 мкг/мл и с SI₅₀=1,1–8,71 (при контрольных данных по ацикловиру EC₅₀=0,977±0,051 мкг/мл и SI₅₀=1023,0) [32]. Эти же авторы показали активность против HSV-2 экстракта корней *T. vulgaris* и механизм действия БАВ определен как ингибирование проникновения вируса и специфического прекращения экспрессии вирусного гена gG и, следовательно, уменьшения накопления вирусного белка в инфицированных клетках [33].

Serratula cupuliformis (Asteraceae) содержит флавоноиды [34], а также фитоэкстероид 20-гидроксиэксидизон (20E), который экстрагируется из наземной части растения 70% этиловым спиртом [35].

Цель данной работы – анализ *in vitro* ингибирующей активности экстрактов, фракций и вторичных метаболитов растений рода *Silene* (Caryophyllaceae) и *Serratula cupuliformis* (Asteraceae) на «вход» простого герпеса 2 типа (HSV-2) в чувствительные клетки линии Vero.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования. Этанольные экстракты, бутанольные фракции растений рода *Silene* (Caryophyllaceae), успешно интродуцированных в

Сибирском ботаническом саду ТГУ – *Silene chalcedonica* (L.) E.H.L. Krause (*Lychnis chalcedonica* L.), *Silene viridiflora* L. Sp. Pl., *S. colpophylla* Wrigley., *S. graefferi* Guss., *S. sendtneri* Boiss., *S. linicola* C.C. Gmelin, *S. caramanica* Boiss., Nakai & Kitag., *S. roemerii* Friv., *Serratula cupuliformis* (Asteraceae) и вторичные метаболиты – флавоноид шафтозид и экдистероид 20-гидроксиэксидизон, выделенные из *L. chalcedonica*. Получение растительных препаратов и методика анализа БАВ высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ) описано в работе [36]. Структуры индивидуальных соединений (флавоноида шафтозида и экдистероида 20-гидроксиэксидизона (20-E), выделенных из *L. chalcedonica*, идентифицированы ранее по данным ВЭЖХ, масс-, ¹H и ¹³C ЯМР-спектров как описано [26].

Подготовка растительных препаратов для исследования цитотоксичности и ингибирующей активности на вирусную репликацию: навески растительных препаратов растворяли в кипяченой дистиллированной воде или в диметилсульфоксиде (ДМСО).

В качестве препаратов сравнения (контрольных образцов) использовали приготовленные нами сухие этанольные экстракты (вытяжка 70%-ным этанолом в течение семи суток) плодового тела чаги (*Inonotus obliquus* (Pers.) Pilat, Hymenochaetaceae) и специи гвоздики (*Syzygium aromaticum* L., Myrtaceae), как описано [31], т.к. для водных экстрактов и вытяжек этого растительного сырья описана анти-HSV-2 активность *in vitro* при прямой инактивации (нейтрализации) [37; 38]. Кроме того, приготовили сухой этанольный экстракт корня солодки голой (*Glycyrrhiza glabra* L., Fabaceae) т.к., по данным литературы, сухой водный экстракт (растворенный в ДМСО) корня этого растения, собранного в Афганистане, проявляет *in vitro* высокую активность против HSV-1 с EC₅₀=26 мкг/мл (при CC₅₀=120 мкг/мл) при прямой инактивации [39]. Растительное сырье: чага (место сбора: Салаирский край, Маслянинский район, НСО), специя гвоздика (из Вьетнама) и корень солодки голой (выращенной в Южном Урале) любезно предоставлено ООО НПФ «Золотая долина», г. Новосибирск.

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

Штамм MS вируса простого герпеса 2-го типа (HSV-2) ранее был любезно предоставлен авторам д-ром [М.А. Сулопаровым], описан в его диссертации 2008 г. и в работах [38; 40; 41]. Инфекционный титр HSV-2 выражали в бляшкообразующих единицах (БОЕ/мл), т.к. цитопатическое действие (ЦПД) этого вируса легко идентифицируется на монослое инфицированных клеток Vero до одной БОЕ, состоящей из нескольких инфицированных клеток как показано [38].

Цитотоксичность исследуемых растительных препаратов и контрольных образцов определяли по 50%-ной цитотоксичной концентрации в мл (50 % cytotoxic concentration, CC_{50} /мл) как описано [42] при нанесении растительных препаратов на чувствительную для HSV-2 клеточную культуру Vero, 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 °С. Затем монослой клеток отмывали и оставляли в поддерживающей питательной среде. Цитотоксическое действие растительных препаратов оценивали каждые сутки (срок наблюдения 5 суток).

Отрицательные контроли. Кипяченая дистиллированная вода, поддерживающая питательная среда для клеток Vero и ДМСО в объемах, соответствующих содержанию растворителя в исследуемых растительных препаратах.

Анализ ингибирующей активности исследуемых растительных препаратов и контрольных образцов на HSV-2 проводили методом классической реакции инактивации (нейтрализации) вирусов как нами недавно описано при исследовании антивирусной активности водных вытяжек нескольких видов чайных композиций и разного растительного сырья [38]. Кратко: растительные препараты (титрование в 96-луночных планшетах двойным шагом с определенной исходной концентрации по сухому веществу в объеме 100 мкл/лунка) предварительно (перед нанесением на монослой клеток Vero, выращенных в 96-луночных планшетах) инкубировали с HSV-2 с инфекционным титром 10^3 БОЕ/мл для (в соответствии с «Руководством...» [43]) в течение 1 часа при 37 °С в CO_2 -инкубаторе. После инкубации смесей экстрактов с вирусной суспензией на клетках течение 1 часа при 37 °С, 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.

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 ($p \leq 0,05$).

Селективный индекс (Selectivity index, SI) для 50 %-х цитотоксичных и эффективных концентраций исследуемых экстрактов рассчитывали по формуле: $SI_{50} = CC_{50}/EC_{50}$ как описано [42], с учетом токсичности, выявленной на 48 ч наблюдения и совпадающей со временем фиксации результатов по ЦПД 10^3 БОЕ/мл HSV-2 в контрольных рядах инфицированных клеток.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Анализ состава и содержания химических компонентов препаратов, полученных из растений семейства Гвоздичные (Caryophyllaceae) и *Serratula cupuliformis* (Asteraceae) описан ранее [26; 34–36]. Кратко: этанольные экстракты и бутанольные фракции исследованных растений *Silene* spp. содержат в разном сочетании и количествах: 1) такие флавоноиды как шафтозид, виценин-2, витексин, ориентин, изовитексин, изокверцитрин, кверцетин, апигенин и еще неидентифицированные соединения этого класса; 2) такие фитостероиды как 20-гидроксиэкдизон (20E), 2-дезоксид-20E, 2-ацетат-20E, полиподин В, интегристерон А, 24(28)-дегидромакистерон А, стахистерон Д, экдизон, витекостерон Е, силенеозид А, силенеозид D, 26-гидроксиполиподин В, 2,22-диацетат 20,26-дигидроксиэкдизон, 3,22-диацетат 20,26-дигидроксиэкдизон, 2-дезоксидэкдизон, интегристерон А, интегристерон А, витикостерон Е, туркестерон и макистерон А [26; 36]. У вида *Serratula cupuliformis* (Asteraceae) выявлены экдистероиды – 20-гидроксиэкдизон (20E), полиподин В, макистерон А, экдизон, 2-дезоксид-20E [34] и флавоноиды – изокверцитрин, кверцетин и апигенин.

2. Анализ цитотоксичности растительных препаратов

2.1. Анализ цитотоксичности препаратов при растворении в воде

Первую партию растительных препаратов *Silene* spp. и *Serratula cupuliformis* (Asteraceae) (№№ 1–12) и контрольные образцы (№№13–15) растворяли в кипяченной охлажденной дистиллированной воде для анализа цитотоксичности и ингибирующей активности водорастворимых веществ, содержащихся как в сухих этанольных экстрактах, так и их бутанольных фракций и индивидуальных соединений – флавоноида шафтозида и экдистероида 20-гидроксиэкдизона (20-E), выделенных из *Lychnis chalconica*. Показатели цитотоксичности фиксировали на 48 ч, т.к. это время совпадало в данных экспериментах с моментом снятия результатов по ЦПД 10^3 БОЕ/мл HSV-2. В результате, цитотоксичность контрольных образцов в CC_{50} оказалась следующая: для чаги – $812,5 \pm 179,32$ мкг/мл, специи гвоздики – $750 \pm 185,20$ мкг/мл и корня солодки – $1375 \pm 358,64$ мкг/мл (табл. 1). Препараты исследуемых образцов растений рода *Silene* оказались менее токсичны: в диапазоне 50%-ных цитотоксичных концентраций (CC_{50}) для бутанольных фракций от $12687,50 \pm 2325,61$ мкг/мл (№4 *S. graefferi*) до $1125,0 \pm 77,70$ мкг/мл (№5 *S. sendtneri*), $3234,38 \pm 704,36$ мкг/мл для этанольного экстракта *S. saramanica* (№7), для флавоноида шафтозида (№11) и экдистероида 20E (№12) – $3375 \pm 440,99$ мкг/мл и $3562,5 \pm 465,49$ мкг/мл. Значения CC_{50} бутанольной фракции *Serratula cupuliformis* были $6421,875 \pm 839,11$ мкг/мл (№10) (табл. 1).

2.2. Анализ цитотоксичности препаратов при растворении в ДМСО

Вторую партию препаратов растений рода *Silene* и *Serratula cupuliformis* (№№ 16–27) и контрольные образцы сравнения (№№28–30) растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) с целью анализа активности более широкого спектра содержащихся в них соединений, чем при растворении в воде. В результате, по сравнению с водорастворимыми фракциями исследованных растительных препаратов,

было обнаружено, что их цитотоксичность повышалась при растворении в ДМСО. Так, например, у контрольных образцов сухих этанольных экстрактов показатели CC_{50} были следующими: для чаги на 48 ч наблюдения значения CC_{50} повысились с 812,5±179,32 мкг/мл (№13 в воде) до 437,5±80,19 мкг/мл (№28 в ДМСО), для специи гвоздики – с 750,0±185,20 мкг/мл (№14 в воде) до 375,0±92,60 мкг/мл (№28 в ДМСО), для корня солодки – с 1375±358,64 мкг/мл (№15 в воде) до 875,0±169,06 мкг/мл (№30 в ДМСО), т.е. приблизительно в два раза (табл. 1).

Цитотоксичность препаратов исследуемых образцов растений рода *Silene*, растворенных в ДМСО, повышалась более заметно и в разном соотношении. Так, например, значения CC_{50} повысились: для бутанольных фракций – *Lychnis chalconica* – с 10771,43±1420,97 мкг/мл (№1 в воде) до 84,77±15,54 мкг/мл (№16 в ДМСО), *S. viridiflora* – с 1873,44±488,64 мкг/мл (№2 в воде) до 850,94±155,98 мкг/мл (№17 в ДМСО), *S. colpophylla* – с 2728,13±594,11 мкг/мл (№3 в воде) до 700,0±128,31 мкг/мл (№19 в ДМСО), *S. graefferi* – с 12687,50±2325,61 мкг/мл (№4 в воде) до

1161,56±212,91 мкг/мл (№20 в ДМСО), *S. sendtneri* – с 1125,0±77,70 мкг/мл (№5 в воде) до 150,31±33,17 мкг/мл (№21 в ДМСО), *S. linicola* – с 2446,88±569,66 мкг/мл (№6 в воде) до 1012,5±250,02 мкг/мл (№22 в ДМСО), *S. caramanica* – с 9046,88±1182,10 мкг/мл (№8 в воде) до 689,06±90,03 мкг/мл (№23 в ДМСО), *S. roemerii* – с 9362,5±1716,14 мкг/мл (№9 в воде) до 2056,25±376,91 мкг/мл (№24 в ДМСО); для индивидуального флавоноида шафтозида – с 3375±440,99 мкг/мл (№11 в воде) до 1785,0±440,77 мкг/мл (№26 в ДМСО) и для индивидуального экдистероида 20Е – с 3562,5±465,49 мкг/мл (№12 в воде) до 2012,5±516,45 мкг/мл (№27 в ДМСО), соответственно. Значения CC_{50} бутанольной фракции *Serratula cupuliformis* повысились – с 6421,875±839,11 мкг/мл (№10 в воде) до 945,0±198,63 мкг/мл (№25 в ДМСО) (табл. 1). В целом, при сравнении с показателями CC_{50} этих же растительных препаратов на 4-е сутки наблюдения [36] прослеживается менее значительная их цитотоксичность на культуру клеток Vero на 48 ч после контакта.

Таблица 1. Результаты по цитотоксичности исследуемых растительных препаратов

Table 1. Results of cytotoxicity for the herbal preparations studied

Номер образца Sample number	Настительное сырье Vegetable raw materials	Вид растительного препарата Type of herbal preparation	Растворитель Solvent	CC_{50} мкг/мл CC_{50} µg/ml
1	<i>Lychnis chalconica</i>	БФ BF	дист. вода dist. water	10771,43±1420,97
2	<i>Silene viridiflora</i>	БФ BF	дист. вода dist. water	1873,44±488,64
3	<i>Silene colpophylla</i>	БФ BF	дист. вода dist. water	2728,13±594,11
4	<i>Silene graefferi</i>	БФ п/к BF p/c	дист. вода dist. water	12687,50±2325,61
5	<i>Silene sendtneri</i>	БФ BF	дист. вода dist. water	1125,0±77,70
6	<i>Silene linicola</i>	БФ BF	дист. вода dist. water	2446,88±569,66
7	<i>Silene caramanica</i>	ЭЭ п/к EE p/c	дист. вода dist. water	3234,38±704,36
8	<i>Silene caramanica</i>	БФ п/к BF p/c	дист. вода dist. water	9046,88±1182,10
9	<i>Silene roemerii</i>	БФ BF	дист. вода dist. water	9362,5±1716,14
10	<i>Serratula cupuliformis</i>	БФ BF	дист. вода dist. water	6421,875±839,11
11	Шафтозид / Shaftoside	ИФ IF	дист. вода dist. water	3375±440,99
12	20-гидроксиэкдизон 20-hydroxyecdysone	ИЭ IE	дист. вода dist. water	3562,5±465,49
13	<i>Inonotus obliquus</i>	ЭЭ EE	дист. вода dist. water	812,5±179,32
14	<i>Syzygium aromaticum</i>	ЭЭ EE	дист. вода dist. water	750,0±185,20
15	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	ЭЭ EE	дист. вода dist. water	1375±358,64
16	<i>Lychnis chalconica</i>	БФ BF	ДМСО DMSO	84,77±15,54
17	<i>Silene viridiflora</i> (надз. часть) / (aerial part)	БФ BF	ДМСО DMSO	850,94±155,98

18	<i>Silene viridiflora</i> (семена) / (seed)	БФ BF	ДМСО DMSO	796,25±145,95
19	<i>Silene colpophylla</i>	БФ BF	ДМСО DMSO	700,0±128,31
20	<i>Silene graefferi</i>	БФ п/к BF p/c	ДМСО DMSO	1161,56±212,91
21	<i>Silene sendtneri</i>	БФ BF	ДМСО DMSO	150,31±33,17
22	<i>Silene linicola</i>	БФ BF	ДМСО DMSO	1012,5±250,02
23	<i>Silene caramanica</i>	БФ п/к BF p/c	ДМСО DMSO	689,06±90,03
24	<i>Silene roemerii</i>	БФ BF	ДМСО DMSO	2056,25±376,91
25	<i>Serratula cupuliformis</i>	БФ BF	ДМСО DMSO	945,0±198,63
26	Шафтозид / Shaftoside	ИФ IF	ДМСО DMSO	1785,0±440,77
27	20-гидроксиэкдизон 20-hydroxyecdysone	ИЭ IE	ДМСО DMSO	2012,5±516,45
28	<i>Inonotus obliquus</i>	ЭЭ EE	ДМСО DMSO	437,5±80,19
29	<i>Syzygium aromaticum</i>	ЭЭ EE	ДМСО DMSO	375,0±92,60
30	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	ЭЭ EE	ДМСО DMSO	875,0±169,06
отриц. контроли negative controls				нет токсичности no toxicity

Примечания: БФ – бутанольная фракция; ЭЭ – этанольный экстракт; п/к – пастообразная консистенция; ИФ – индивидуальный флавоноид; ИЭ – индивидуальный экдистероид; дист. вода – дистиллированная вода; отриц. контроли – кипяченая дистиллированная вода и поддерживающая питательная среда для клеток Vero и ДМСО в объемах, соответствующих содержанию растворителя в исследуемых растительных препаратах
Note: BF – butanol fraction; EE – ethanol extract; p/c – paste-like consistency; IF – individual flavonoid, IE – individual ecdysteroid; dist. water – distilled water; negative controls are boiled distilled water and a supportive nutrient medium for Vero cells and DMSO in volumes corresponding to the solvent content in the studied herbal preparations

3. Анализ ингибирующей активности препаратов *Silene* spp., *Serratula cupuliformis* и контрольных образцов на репликацию HSV-2 при прямой инактивации (инактивации)

3.1. Анализ ингибирующей активности препаратов при растворении в воде

При показателях EC_{50} препаратов сравнения (сухих этанольных экстрактов, растворенных в воде) против 10^3 БОЕ/мл HSV-2 (по убывающей активности): специя гвоздика (№14) – 6,84±1,25 мкг/мл, чага (№13) – 13,67±2,51 мкг/мл и корень солодки (№15) – 46,88±11,57 мкг/мл, для препаратов исследуемых растений были выявлены следующие 50%-ные эффективные концентрации (по убывающей активности): для бутанольных фракций – *S. roemerii* (№9) – 2,12±0,47 мкг/мл, *Serratula cupuliformis* (№10) – 2,51±0,62 мкг/мл, для индивидуального флавоноида шафтозида (№11) – 2,86±0,63 мкг/мл, для бутанольной фракции *S. linicola* (№6) – 3,17±0,79 мкг/мл, для индивидуального экдистероида 20Е (№12) – 6,03±1,33 мкг/мл, для бутанольной фракции *S. sendtneri* (№5) – 15,234±3,36 мкг/мл, для этанольного экстракта *S. caramanica* (№7) – 18,248±4,03 мкг/мл, для бутанольных фракций – *S. caramanica* (№8) – 30,59±6,79 мкг/мл, *S. colpophylla* (№3) – 30,79±6,79 мкг/мл, *S. graefferi* (№4) – 99,12±18,17 мкг/мл, *Lychnis chalcidonica* (№1) – 147,27±32,50 мкг/мл и *S. viridiflora* (№2) – 180,99±49,24 мкг/мл, соответственно (табл. 2).

Таким образом, по показателям EC_{50} несколько исследованных препаратов, растворенных в воде, превосходят по ингибирующей активности на HSV-2 самые активные препараты сравнения (гвоздику (№14) с EC_{50} =6,84±1,25 мкг/мл и чагу (№13) с EC_{50} =13,67±2,51 мкг/мл) – это бутанольные фракции *S. roemerii* (№9) – 2,12±0,47 мкг/мл, *Serratula cupuliformis* (№10) – 2,51±0,62 мкг/мл, индивидуальный флавоноид шафтозид (№11) – 2,86±0,63 мкг/мл, бутанольная фракция *S. linicola* (№6) – 3,17±0,79 мкг/мл и индивидуальный экдистероид 20Е (№12) – 6,03±1,33 мкг/мл.

3.2. Анализ ингибирующей активности препаратов при растворении в ДМСО

При показателях EC_{50} препаратов сравнения (сухих этанольными экстрактов, растворенных в ДМСО) против 10^3 БОЕ/мл HSV-2 (по убывающей активности): экстракты гвоздики (№29) – 1,71±0,31 мкг/мл, чаги (№28) – 3,41±0,62 мкг/мл и корня солодки (№30) – 21,48±5,60 мкг/мл, для препаратов исследуемых растений были выявлены следующие 50%-ные эффективные концентрации (по убывающей активности): для бутанольных фракций – *S. viridiflora* (семена) (№18) – 1,99±0,44 мкг/мл, *S. sendtneri* (№21) – 7,95±2,07 мкг/мл, *S. linicola* (№22) – 9,23±1,69 мкг/мл, *Lychnis chalcidonica* (№16) – 18,16±4,48 мкг/мл, *S. colpophylla* (№19) – 18,75±4,63 мкг/мл, для индивидуального экдистероида 20Е (№27) – 18,87±4,66 мкг/мл, для бутанольных фракций *S. viridiflora* (№17) – 18,99±4,87 мкг/мл и *Serratula*

cupuliformis (№25) – 21,09±5,41 мкг/мл, для индивидуального флавоноида шафтозида (№26) – 23,24±5,96 мкг/мл, для бутанольных фракций *S. graefferi* (№20) – 25,93±6,65 мкг/мл, *S. roemerii* (№24) – 27,54±6,80 мкг/мл и *S. caramanica* (№23) – 57,42±14,74 мкг/мл, соответственно (табл. 2).

Таким образом, по показателям EC_{50} ни один из исследованных препаратов, растворенных в ДМСО, не превзошел по активности препарат сравнения – экстракт

гвоздики (№29) с $EC_{50}=1,71\pm0,31$ мкг/мл. Сравнимые показатели ингибирования выявлены только для бутанольной фракции семян *S. viridiflora* (№18) – 1,99±0,44 мкг/мл, что выше EC_{50} экстракта чаги (№28) – 3,41±0,62 мкг/мл. Для остальных препаратов *Silene* spp. и *Serratula cupuliformis* (№25) выявлены показатели EC_{50} чуть выше и/или сравнимые с показателями $EC_{50}=21,48\pm5,60$ мкг/мл контрольного образца – экстракта корня солодки (№30).

Таблица 2. Ингибирующая эффективность (по данным убывающей активности) растительных препаратов на HSV-2 при растворении в воде и ДМСО, а также содержание индивидуальных соединений флавоноида шафтозида и экидистероида 20-гидроксиэкидизона при определенных значениях EC_{50}

Table 2. Inhibitory efficiency (according to the data of decreasing activity) of herbal preparations on HSV-2 when dissolved in water and DMSO. Also indicated is the content of individual compounds of the flavonoid shaftoside and the ecdysteroid 20-hydroxyecdysone at certain values of EC_{50}

Ингибирующая активность растительных препаратов при растворении в воде Inhibitory activity of herbal preparations when dissolved in water	EC_{50} (по убывающей активности) в мкг/мл EC_{50} (by decreasing activity) in µg/ml	Содержание 20Е, мкг/мл (в EC_{50}) Content of 20Е, µg /ml (in EC_{50})	Содержание шафтозида, мкг/мл (в EC_{50}) Content of Shaftoside, µg /ml (in EC_{50})
<i>S. roemerii</i> (№9)	2,12±0,47	0,23	0,34
<i>Serratula cupuliformis</i> (№10)	2,51±0,62	0,07	-
Шафтозид (№11) / Shaftoside (N11)	2,86±0,63	-	2,86
<i>S. linicola</i> (№6)	3,17±0,79	0,24	0,39
20-гидроксиэкидизон (№12) / 20-hydroxyecdysone (N12)	6,03±1,33	6,03	-
<i>Syzygium aromaticum</i> (№14)	6,84±1,25	н.и. / n.i.	н.и. / n.i.
<i>Inonotus obliquus</i> (№13)	13,67±2,51	н.и. / n.i.	н.и. / n.i.
<i>S. sendtneri</i> (№5)	15,234±3,36	1,15	4,92
<i>S. caramanica</i> (№7)	18,248±4,03	0,17	0,76
<i>S. caramanica</i> (№8)	30,59±6,79	3,51	0,61
<i>S. colpophylla</i> (№3)	30,79±6,79	1,23	12,45
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L. (№15)	46,88±11,57	н.и. / n.i.	н.и. / n.i.
<i>S. graefferi</i> (№4)	99,12±18,17	14,68	2,51
<i>S. chalconica</i> (№1)	147,27±32,50	4,77	20,81
<i>S. viridiflora</i> (№2)	180,99±49,24	11,91	23,98
Ингибирующая активность растительных препаратов при растворении в ДМСО Inhibitory activity of herbal preparations when dissolved in DMSO	EC_{50} (по убывающей активности) в мкг/мл EC_{50} (by decreasing activity) in µg/ml	Содержание 20Е, мкг/мл (в EC_{50}) Content of 20Е, µg /ml (in EC_{50})	Содержание шафтозида, мкг/мл (в EC_{50}) Content of Shaftoside, µg /ml (in EC_{50})
<i>Syzygium aromaticum</i> (№29)	1,71±0,31	н.и. / n.i.	н.и. / n.i.
<i>S. viridiflora</i> (№18) (семена) / (seeds)	1,99±0,44	0,32	0,08
<i>Inonotus obliquus</i> (№28)	3,41±0,62	н.и. / n.i.	н.и. / n.i.
<i>S. sendtneri</i> (№21)	7,95±2,07	0,60	2,57
<i>S. linicola</i> (№22)	9,23±1,69	0,69	1,13
<i>S. chalconica</i> (№16)	18,16±4,48	0,59	2,57
<i>S. colpophylla</i> (№19)	18,75±4,63	0,75	7,58
20-гидроксиэкидизон (№27) / 20-hydroxyecdysone (N27)	18,87±4,66	18,87	-
<i>S. viridiflora</i> (№17)	18,99±4,87	1,25	2,52
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L. (№30)	21,48±5,60	н.и. / n.i.	н.и. / n.i.
<i>Serratula cupuliformis</i> (№25)	21,09±5,41	0,62	-
Шафтозид (№26) / Shaftoside (N26)	23,24±5,96	-	23,24
<i>S. graefferi</i> (№20)	25,93±6,65	3,84	0,66
<i>S. roemerii</i> (№24)	27,54±6,80	3,04	4,38
<i>S. caramanica</i> (№23)	57,42±14,74	6,58	1,15

Примечания: зеленым цветом выделены результаты по контрольным образцам для сравнения;

н.и. – не исследовали; «-» – не содержат

Note: the results of the control samples for comparison are highlighted in green; n.i. – not investigated; «-» – does not contain

4. Определение индексов селективности

(Selectivity index, SI) для 50 %-х цитотоксичных и эффективных концентраций исследуемых экстрактов

рассчитывали по формуле: $SI_{50}=CC_{50}/EC_{50}$ как описано [42], с учетом токсичности, выявленной 48 ч и совпадающей со временем фиксации результатов по

ЦПД 10^3 БОЕ/мл HSV-2 в контрольных рядах инфицированных клеток. В результате, при распределении по убывающей предполагаемой терапевтической эффективности в виде селективного индекса исследуемые препараты (в том числе и контрольные препараты сравнения) можно распределить следующим образом: бутанольные фракции *S. roemerii* (№9, в воде) – 4412,11, *Serratula cupuliformis* (№10, в воде) – 2563,62, индивидуальный флавоноид шафтозид (№11, в воде) – 1182,14, бутанольная фракция *S. linicola* (№6, в воде) – 768,01, индивидуальный экдистероид 20Е (№12, в воде) – 590,89, бутанольная фракция семян *S. viridiflora* (№18, в ДМСО) – 398,32, бутанольная фракция *S. caramanica* (№8, в воде) – 295,77, этанольный экстракт специи гвоздики (№29, в ДМСО) – 219,56, этанольный экстракт *S. caramanica* (№7, в воде) – 177,23, этанольный экстракт чаги (№28, в ДМСО) – 128,30, бутанольная фракция *S. graefferi* (№4, в воде) – 128,00, этанольный экстракт гвоздики (№14, в воде) – 109,73 и бутанольная фракция *S. linicola* (№22, в ДМСО) – 109,73, индивидуальный экдистероид 20Е (№27, в ДМСО) – 106,67, бутанольная фракция *S. colpophylla* (№3, в воде) – 88,62, индивидуальный флавоноид шафтозид (№26, в ДМСО) – 76,80, бутанольная фракция *S. roemerii* (№24, в

ДМСО) – 74,67, бутанольная фракция *S. sendtneri* (№5, в воде) – 73,85, бутанольная фракция *Lychnis chalcadonica* (№1, в воде) – 73,14, бутанольная фракция *S. viridiflora* (№17, в ДМСО) – 44,8, бутанольная фракция *S. graefferi* (№20, в ДМСО) – 44,8, бутанольная фракция *Serratula cupuliformis* (№25, в ДМСО) – 44,8, этанольный экстракт корня солодки (№30, в ДМСО) – 40,73, бутанольная фракция *S. colpophylla* (№19, в ДМСО) – 37,33, бутанольная фракция *S. sendtneri* (№21, в ДМСО) – 18,91, бутанольная фракция *S. caramanica* (№23, в ДМСО) – 12,0, бутанольная фракция *S. viridiflora* (№2, в воде) – 10,35, бутанольная фракция *Lychnis chalcadonica* (№16, в ДМСО) – 4,66 (табл. 3).

Таким образом, можно отметить, что при растворении в воде растительные препараты *Silene* spp. и *Serratula cupuliformis* (Asteraceae) менее цитотоксичны и, соответственно, для них определяются более высокие показатели SI_{50} . В связи с этим, скорее всего, связаны и более высокие показатели потенциальной терапевтической активности исследованных растительных препаратов при заражении клеток HSV-2 по сравнению с контрольными образцами – этанольными экстрактами *S. aromaticum*, *I. obliquus* и *G. glabra*.

Таблица 3. Селективные индексы растительных препаратов (по убывающей потенциальной терапевтической активности при инфекции HSV-2) при их растворении в воде или ДМСО

Table 3. Selective indices of herbal preparations (by decreasing potential therapeutic activity in HSV-2 infection) when they are dissolved in water or DMSO

Растительный препарат и его номер Herbal preparation and its number	Растворитель Solvent	Индексы селективности (SI_{50}) по убывающей активности Selective indices (SI_{50}) by decreasing activity	Содержание 20Е, мкг/мл (в EC_{50}) Content of 20E, μ g/ml (in EC_{50})	Содержание шафтозида, мкг/мл (в EC_{50}) Content of Shaftoside, μ g/ml (in EC_{50})
<i>S. roemerii</i> (№9)	вода, water	4412,10	0,23	0,34
<i>Serratula cupuliformis</i> (№10)	вода, water	2563,62	0,07	-
шафтозид (№11)	вода, water	1182,14	-	2,86
Shaftoside				
<i>S. linicola</i> (№6)	вода, water	768,01	0,24	0,39
20-гидроксиэкдизон (№12)	вода, water	590,89	6,03	-
20-hydroxyecdysone				
<i>S. viridiflora</i> (семена) (№18)	ДМСО, DMSO	398,32	0,32	0,08
<i>S. caramanica</i> (№8)	вода, water	295,77	3,51	0,61
<i>Syzygium aromaticum</i> (№29)	в ДМСО, in DMSO	219,56	н.и., n.i.	н.и., n.i.
<i>S. caramanica</i> (№7)	вода, water	177,23	0,17	0,76
<i>Inonotus obliquus</i> (№28)	ДМСО, DMSO	128,30	н.и., n.i.	н.и., n.i.
<i>S. graefferi</i> (№4)	вода, water	128,00	14,68	2,51
<i>Syzygium aromaticum</i> (№14)	вода, water	109,73	н.и., n.i.	н.и., n.i.
<i>S. linicola</i> (№22)	ДМСО, DMSO	109,73	0,69	1,13
20-гидроксиэкдизон (№27)	ДМСО, DMSO	106,67	18,87	-
20-hydroxyecdysone				
<i>S. colpophylla</i> (№3)	вода, water	88,62	1,23	12,45
шафтозид (№26)	ДМСО, DMSO	76,80	-	23,24
Shaftoside				
<i>S. roemerii</i> (№24)	ДМСО, DMSO	74,67	3,04	4,38
<i>S. sendtneri</i> (№5)	вода, water	73,85	1,15	4,92
<i>S. chalcadonica</i> (№1)	вода, water	73,14	4,77	20,81
<i>Inonotus obliquus</i> (№13)	вода, water	59,43	н.и., n.i.	н.и., n.i.
<i>S. viridiflora</i> (№17)	ДМСО, DMSO	44,8	1,25	2,52
<i>S. graefferi</i> (№20)	ДМСО, DMSO	44,8	3,84	0,66
<i>Serratula cupuliformis</i> (№25)	ДМСО, DMSO	44,8	0,62	-

<i>Glycyrrhiza glabra</i> L. (№30)	DMCO, DMSO	40,73	н.и., n.i.	н.и., n.i.
<i>S. colophylla</i> (№19)	DMCO, DMSO	37,33	0,75	7,58
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L. (№15)	вода, water	29,33		
<i>S. sendtneri</i> (№21)	DMCO, DMSO	18,91,	0,60	2,57
<i>S. caramanica</i> (№23)	DMCO, DMSO	12,0,	6,58	1,15
<i>S. viridiflora</i> (№2)	вода, water	10,35,	11,91	23,98
<i>S. chalconica</i> (№16)	DMCO, DMSO	4,66	0,59	2,57

Примечания: зеленым цветом выделены результаты по контрольным образцам для сравнения;

н.и. – не исследовали; «-» – не содержит

Note: the results of the control samples for comparison are highlighted in green; n.i. – not investigated; «-» – does not contain

По данным литературы, предполагается, что ДНК-вирусы герпеса мутируют гораздо реже, чем вирусы с РНК-геномами, из-за более высокой точности ДНК-полимеразы и механизмов корректуры при репликации [7]. Однако развитие высокопроизводительных технологий секвенирования позволяет выявлять гетерогенность и высокое разнообразие, присутствующие в клинически изолированных вирусных популяциях. Кроме того, оказалось, что в одинаковых и контролируемых селективных условиях *in vitro* HSV-2 мутирует намного быстрее, чем HSV-1 [44]. Показано, что устойчивость к ацикловиру возникает из-за приобретения HSVs мутаций в генах UL23 и UL30, кодирующих тимидинкиназу и ДНК-полимеразу, соответственно [45]. Появление штаммов HSV-2, устойчивых к лекарственным препаратам определяет острую необходимость в разработке новых противовирусных препаратов с различными механизмами действия [46]. Люди являются единственным естественным хозяином HSV-2, но исследования можно проводить на чувствительных культурах клеток (*in vitro*) и на некоторых видах животных (*in vivo*) [47; 48]. Идет постоянный поиск альтернативной или дополнительной стратегии в лечении HSV-2-инфекции. Исследованию подвергаются вещества, способные ингибировать репликацию HSV-2 *in vitro* с эффективностью, сравнимой с эффективностью референтного антигерпетического препарата ацикловира [49]. Природа – очень богатый источник этих молекул [24]. Например, Hassan с соавт. показали, что эфирное масло, полученное из травы тимьяна вида *Thymus bovei* Benth. (Lamiaceae), (произрастающего в Египте), его основной компонент гераниол, эфирное масло в сочетании с ацикловиром и сам ацикловир (контроль) проявляют выраженное ингибирующее действие на репликацию HSV-2 (с инфекционным титром 10^2 ТЦПД₅₀/мл) на культуре клеток Vero со значениями полумаксимальной эффективной концентрации (EC₅₀), равными 2,13 мкг/мл, 1,92 мкг/мл, 0,81 мкг/мл, 1,94 мкг/мл и индексами селективности (SI₅₀) – 98,59; 109,38; 259,26 и 108,25, соответственно. Ингибирующую активность препаратов авторы определяли по снижению титра вируса при инфицировании монослоя клеток после предварительной их обработки разведениями эфирного масла (т.е. по «профилактической» схеме эксперимента) [42]. Эти же авторы ранее по «профилактической» схеме эксперимента *in vitro* показали почти равную с ацикловиром (EC₅₀=0,92 мкг/мл и SI₅₀=217) ингибирующую активность концентрированного выпариванием водного экстракта цветов *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae) с EC₅₀=1,43 мкг/мл и SI₅₀=140, соответственно, против HSV-2 с инфекционным титром 10^2 ТЦПД₅₀/мл [50]. Из более свежих данных это, например, прополис (натуральное смолистое вещество, вырабатываемое пчелами) был предложен для

профилактики или лечения инфекций, вызванных HSV-2. Для преодоления плохой растворимости прополиса (в связи с чем ограничено терапевтическое применение этого препарата) была использована система доставки этанолового экстракта инкапсулированного в наночастицы, состоящие из полимолочнокислой-ко-гликолевой кислоты (poly lactic-co-glycolic acid) и хитозана, в виде модифицированной эмульсии «масло в воде». Препарат был мало цитотоксичен для клеток Vero (в диапазоне от 0 до 1,25 мг/мл) и проявлял анти-HSV-2 активность (с EC₅₀ в диапазоне от 0,80±0,16 мг/мл – 2,5 мг/мл и SI₅₀=3,12) при прямой инаktivации вирусных частиц (в инфекционном титре 200 БОЕ/мл), а также нарушал проникновение вириона и его высвобождение из клеток-хозяев. Кроме того, наблюдалось значительное снижение уровней экспрессии генов (ICP4, ICP27 и gB), связанных с вирусной репликацией [51]. В этой работе показан невысокий анти-HSV-2 эффект, но подход доставки потенциального лекарства интересен и его можно использовать с инкапсуляцией более активных растительных препаратов. Например, эффективное прямое влияние на инаktivацию вирионов HSV-2 и блокирование «входа» в чувствительную клетку, описано в следующих работах:

- 1) метанольный экстракт листьев ботанического вида кустарникового молочая педилантуса (*Pterocarya stenoptera* C. DC., Juglandaceae) оказывает, по мнению Cheng с соавт., мощную ингибирующую активность против 10^3 БОЕ/мл HSV-2 с EC₅₀ в диапазоне концентраций 8,0–52,0 мкг/мл. Индивидуальное химическое соединение лутеолин (Luteolin), выделенное методом хроматографии, также проявило высокую активность с показателями EC₅₀=22,0–27,0 мкг/мл и EC₁₀₀=40,0–49,0 мкг/мл [52];
- 2) водный экстракт корня и коры стебля сумаха душистого (*Rhus aromatica*, Anacardiaceae) продемонстрировал высокий уровень анти-HSV-2 активности при прямой инаktivации со значениями SI₅₀=628 (при этом для HSV-1 определен SI₅₀=5400). Ингибирующую активность определяли в процентном отношении – при максимальной нецитотоксической концентрации 0,25 % IC₅₀=0,0043 % для HSV-2 и 0,0005 % для HSV-1. Используя и другие схемы эксперимента, авторы сделали вывод, что растительный экстракт, по-видимому, взаимодействует не только с вирусной оболочкой, но и с поверхностью клеток-хозяев, ухудшая способность вируса адсорбироваться и проникать в эти клетки [53];
- 3) показано, что метанольный экстракт семян гармалы обыкновенной (*Peganum harmala* L., Nitrariaceae) (произрастающей в Тунисе), на культуре клеток проявил активность против 10^4 БОЕ/мл HSV-2 при ингибирующей концентрации (IC₅₀), равной 13,2 мкг/мл и SI₅₀=161, соответственно, как во время «проникновения» вируса в чувствительные клетки, так и

при «выходе» новообразованных вирионов. Тогда как эффекта защиты клеток (по «профилактической» схеме эксперимента) не наблюдалось. Индивидуальное химическое соединение (бета-карболиновый алкалоид гармин, Harmine), выделенное хроматографическим методом, проявило синергический эффект с ацикловиром и может быть полезно для пациентов с ослабленным иммунитетом при активации у них герпесвирусной инфекции [54];

4) водно-этанольный экстракт корня и стеблей хвоща гигантского (*Equisetum giganteum* L., Equisetaceae) был эффективен *in vitro* на культуре клеток против 10^2 БОЕ/мл HSV-2 с $EC_{50}=10,0-18,0$ мкг/мл, а 100 %-ное ингибирование вирусной репликации наблюдалось при концентрации 100 мкг/мл на стадии прикрепления вируса и его «входа» в клетки. Churqui с соавт. считают такие показатели мощной противовирусной активностью и далее в экспериментах *in vivo* на мышинной модели генитальной инфекции показали, что у животных линии C57bl/6 при одновременном введении им вируса и экстракта, не было клинических проявлений заболевания и репликации HSV-2 в половых путях и спинном мозге [55];

5) водно-этанольный экстракт листьев копаиферы (*Copaifera reticulata*, Fabaceae) эти же авторы определили как чуть менее эффективный препарат [55];

6) метанольный экстракт свежей коры акации нильской (*Vachellia nilotica* L., Fabaceae), оказался эффективным против 10^5 БОЕ/мл HSV-2 при концентрации 4,71 мкг/мл (при $CC_{50}=144,0$ мкг/мл и $SI_{50}=30,6$), а к вирусному штамму, резистентному к ацикловиру, – при концентрации 6,71 мкг/мл и $SI_{50}=21,5$. Исследование механизма действия показало, что метанольный экстракт непосредственно инактивировал инфекционность вирусных частиц [56];

7) метанольный экстракт смолы фисташкового дерева (*Pistacia lentiscus* L., Anacardiaceae), растворенный в ДМСО, был активен в отношении HSV-2 (при $MOI = 0,1$) с $IC_{50}=3,63\pm 0,58$ мкг/мл и $SI_{50}=51,23$ при $CC_{50}=186,0\pm 13,74$ мкг/мл [57];

8) очищенный полифенол – галлат эпигаллокатехина (epigallocatechin gallate, EGCG) и его стабильный аналог EGCG-стеарат (EGCG-S), выделенные из листьев чая (*Camellia sinensis*, Theaceae), в концентрации 75 μ M проявили ингибирование более чем на 99,9 % за счет блокирования прикрепления вирионов HSV-2 к клеткам-хозяевам. Результаты анализа *in silico* подтверждают, что EGCG-S имеет высокую аффинность связывания с гликопротеином D и таким образом, может блокировать слияние HSV-2 и клеточной мембраны, предотвращая проникновение вируса в клетку [6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами результаты по ингибирующей активности исследованных экстрактов, фракций и вторичных метаболитов *Silene* spp. (Caryophyllaceae) и *Serratula cupuliformis* (Asteraceae), а также образцов сравнения – сухих этанольных экстрактов чаги (*Inonotus obliquus*, Hymenochaetaceae), специи гвоздики (*Syzygium aromaticum*, Myrtaceae) и корня солодки голой (*Glycyrrhiza glabra* L., Fabaceae) на «вход» простого герпеса 2 типа в чувствительные клетки линии Vero согласуются по эффективности с литературными данными и могут стать основой для разработки эффективных лекарственных препаратов виде

экстрактов, инкапсулированных в наночастицы, и/или составов для местного применения для снижения рецидивов хронического герпеса.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Исследование выполнено в рамках государственного задания Минобрнауки России в Национальном исследовательском Томском государственном университете, проект № FSWM-2024-0009.

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

ACKNOWLEDGMENT

The study was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation at National Research Tomsk State University, project no. FSWM-2024-0009.

The work was carried out with the financial support of the RNF 23-64-00005 project "Genomics and Evolution of Viral Pathogens Causing the Most Common Respiratory Diseases" and within the framework of state task no. 122032300158-5 performed at the Research Institute of Virology, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Сайт Международного комитета по таксономии вирусов (ICTV, 2021). URL: <https://ictv.global/taxonomy> (дата обращения: 01.12.2023)
2. Gatherer D., Depledge D.P., Hartley C.A., Szpara M.L., Vaz P.K., Benkő M., Brandt C.R., Bryant N.A., Dastjerdi A., Doszpoly A., Gompels U.A., Inoue N., Jarosinski K.W., Kaul R., Lacoste V., Norberg P., Origgi F.C., Orton R.J., Pellett P.E., Schmid D.S., Spatz S.J., Stewart J.P., Trimpert J., Waltzek T.B., Davison A.J. ICTV Virus Taxonomy Profile: Herpesviridae 2021 // J. Gen. Virol. 2021. V. 102. N 10. Article ID: 001673. DOI: 10.1099/jgv.0.001673
3. Connolly S.A., Jardetzky T.S., Longnecker R. The structural basis of herpesvirus entry // Nat. Rev. Microbiol. 2021. V. 19. N 2. P. 110–121. DOI: 10.1038/s41579-020-00448-w
4. Jambunathan N., Clark C.M., Musarrat F., Chouljenko V.N., Rudd J., Kousoulas K.G. Two Sides to Every Story: Herpes Simplex Type-1 Viral Glycoproteins gB, gD, gH/gL, gK, and Cellular Receptors Function as Key Players in Membrane Fusion // Viruses. 2021. V. 13. N 9. Article ID: 1849. DOI: 10.3390/v13091849
5. de Souza Carneiro V.C., Pereira J.G., de Paula V.S. Family Herpesviridae and neuroinfections: current status and research in progress // Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 2022. V. 117. Article ID: e220200. DOI: 10.1590/0074-02760220200
6. Stamos J.D., Lee L.H., Taylor C., Elias T., Adams S.D. In Vitro and In Silico Analysis of the Inhibitory Activity of EGCG-Stearate against Herpes Simplex Virus-2 // Microorganisms. 2022. V. 10. N 7. Article ID: 1462. DOI: 10.3390/microorganisms10071462
7. Koelle D.M., Norberg P., Fitzgibbon M.P., Russell R.M., Greninger A.L., Huang M.-L., Stensland L., Jing L., Magaret A.S., Diem K., Selke S., Xie H., Celum C., Lingappa J.R., Jerome K.R., Wald A., Johnston C. Worldwide circulation of

- HSV-2 × HSV-1 recombinant strains // Sci. Rep. 2017. N 7. Article id: 44084. DOI: 10.1038/srep44084
8. Grünwald K., Desai P., Winkler D.C., Heymann J.B., Belnap D.M., Baumeister W., Steven A.C. Three-dimensional structure of herpes simplex virus from cryo-electron tomography // Science. 2003. V. 302. Iss. 5649. P. 1396–1398. DOI: 10.1126/science.1090284
9. Wald A., Ericsson M., Krantz E., Selke S., Corey L. Oral shedding of herpes simplex virus type 2 // Sex. Transm. Infect. 2004. V. 80. N 4. P. 272–276. DOI: 10.1136/sti.2003.007823
10. Krummenacher C., Baribaud F., de Leon M.P., Baribaud I., Whitbeck J.C., Xu R., Cohen G.H., Eisenberg R.J. Comparative usage of herpesvirus entry mediator A and nectin-1 by laboratory strains and clinical isolates of herpes simplex virus // Virology. 2004. V. 322. N 2. P. 286–299. DOI: 10.1016/j.virol.2004.02.005
11. Сайт Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ). URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus> (дата обращения: 01.12.2023)
12. Awasthi S., Friedman H.M. An mRNA vaccine to prevent genital herpes // Transl. Res. 2022. N 242. P. 56–65. DOI: 10.1016/j.trsl.2021.12.006
13. James C., Harfouche M., Welton N.J., Turner K.M., Abu-Raddad L.J., Gottlieb S.L., Looker K.J. Herpes simplex virus: global infection prevalence and incidence estimates, 2016 // Bull. World Health Organ. 2020. V. 98. N 5. P. 315–329. DOI: 10.2471/BLT.19.237149
14. Okonko I.O., Cooley T.I., Okerentugba P.O., Frank-Peterside N. Serum HSV-1 and -2 IgM in pregnant women in Port Harcourt, Nigeria // J. Immunoassay Immunochem. 2015. V. 36. N 4. P. 343–358. DOI: 10.1080/15321819.2014.952442
15. Wertheim J.O., Smith M.D., Smith D.M., Scheffler K., Kosakovsky Pond S.L. Evolutionary origins of human herpes simplex viruses 1 and 2 // Molecular biology and evolution. 2014. V. 31. N 9. P. 2356–2364. DOI: 10.1093/molbev/msu185
16. Kropp K.A., Srivatharajan S., Ritter B., Yu P., Krooss S., Polten F., Pich A., Alcamí A., Viejo-Borbolla A. Identification of the Cleavage Domain within Glycoprotein G of Herpes Simplex Virus Type 2 // Viruses. 2020. V. 12. N 12. Article ID: 1428. DOI: 10.3390/v12121428
17. Nath P., Kabir M.A., Doust S.K., Ray A. Diagnosis of Herpes Simplex Virus: Laboratory and Point-of-Care Techniques // Infect. Dis. Rep. 2021. V. 13. N 2. P. 518–539. DOI: 10.3390/idr13020049
18. Tronstein E., Johnston C., Huang M.-L., Selke S., Magaret A., Warren T., Corey L., Wald A. Genital shedding of herpes simplex virus among symptomatic and asymptomatic persons with HSV-2 infection // JAMA. 2011. V. 305. N 14. P. 1441–1449. DOI: 10.1001/jama.2011.420
19. Gornalusse G.G., Valdez R., Fenkart G., Vojtech L., Fleming L.M., Pandey U., Hughes S.M., Levy C.N., Cruz E.J.D., Calienes F.L., Kirby A.C., Fialkow M.F., Lentz G.M., Wagoner J., Jing L., Koelle D.M., Polyak S.J., Fredricks D.N., McElrath M.J., Wald A., Hladik F. Mechanisms of Endogenous HIV-1 Reactivation by Endocervical Epithelial Cells // J. Virol. 2020. V. 94. N 9. Article ID: e01904-19. DOI: 10.1128/JVI.01904-19
20. Huang Y., Song Y., Li J., Lv C., Chen Z.-S., Liu Z. Receptors and ligands for herpes simplex viruses: Novel insights for drug targeting // Drug Discov. Today. 2022. V. 27. N 1. P. 185–195. DOI: 10.1016/j.drudis.2021.10.004
21. Desai D., Londhe R., Chandane M., Kulkarni S. Altered HIV-1 Viral Copy Number and Gene Expression Profiles of Peripheral (CEM CCR5+) and Mucosal (A3R5.7) T Cell Lines Co-Infected with HSV-2 In Vitro // Viruses. 2022. V. 14. N 8. Article ID: 1715. DOI: 10.3390/v14081715
22. Taylor M., Gerriets V. Acyclovir // StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls, 2023.
23. Schalkwijk H.H., Snoeck R., Andrei G. Acyclovir resistance in herpes simplex viruses: Prevalence and therapeutic alternatives // Biochem. Pharmacol. 2022. N 206. Article ID: 115322. DOI: 10.1016/j.bcp.2022.115322
24. Trembl J., Gazdova M., Smejkal K., Sudomova M., Kubatka P., Hassan S.T.S. Natural products-derived chemicals: Breaking barriers to novel anti-HSV drug development // Viruses. 2020. N 12. Article ID: 154. DOI: 10.3390/v12020154
25. Mohan S., Taha M.M.E., Makeen H.A., Alhazmi H.A., Bratty M.A., Sultana S., Ahsan W., Najmi A., Khalid A. Bioactive Natural Antivirals: An Updated Review of the Available Plants and Isolated Molecules // Molecules. 2020. V. 25. N 21. Article ID: 4878. DOI: 10.3390/molecules25214878
26. Зибарева Л.Н., Филоненко Е.С., Черняк Е.И., Морозов С.В., Котельников О.А. Флавоноиды некоторых видов растений рода *Silene* // Химия растительного сырья. 2022. N 3. С. 109–118. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20220310592>
27. Shen N., Wang T., Gan Q., Liu S., Wang L., Jin B. Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity // Food Chem. 2022. N 383. Article id: 132531. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.132531
28. Зибарева Л.Н., Амосова Е.Н., Крылова С.Г., Зуева Е.П., Рыбалкина О.Ю., Плотников М.Б., Алиев О.И., Васильев А.С., Анищенко А.М., Сулов Н.И., Нестерова Ю.В., Поветьева Т.Н., Афанасьева О.Г., Эрст А.А., Разина Т.Г., Сафонова Е.А., Киселева Е.А. Растения родов *Silene* L. и *Lychnis* L. (Caryophyllaceae): состав химических компонентов и биологическая активность. Томск: Издательство Томского государственного университета, 2021. 496 с.
29. Arif Y., Singh P., Bajguz A., Hayat S. Phytoecdysteroids: Distribution, Structural Diversity, Biosynthesis, Activity, and Crosstalk with Phytohormones // Int. J. Mol. Sci. 2022. V. 23. N 15. Article ID: 8664. DOI: 10.3390/ijms23158664
30. Nie C., Trimpert J., Moon S., Haag R., Gilmore K., Kaufer B.B., Seiberger P.H. In vitro efficacy of Artemisia extracts against SARS-CoV-2 // Virol. J. 2021. V. 18. N 1. Article ID: 182. DOI: 10.1186/s12985-021-01651-8
31. Казачинская Е.И., Романова В.Д., Иванова А.В., Чепурнов А.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
32. Alvarez A.L., Habtemariam S., Juan-Badaturge M., Jackson C., Parra F. In vitro anti HSV-1 and HSV-2 activity of Tanacetum vulgare extracts and isolated compounds: an approach to their mechanisms of action // Phytother. Res. 2011. V. 25. N 2. P. 296–301. DOI: 10.1002/ptr.3382
33. Álvarez Á.L., Habtemariam S., Moneim A.E.A., Melón S., Dalton K.P., Parra F. A spiroketal-enol ether derivative from Tanacetum vulgare selectively inhibits HSV-1 and HSV-2 glycoprotein accumulation in Vero cells // Antiviral Res. 2015. N 119. P. 8–18. DOI: 10.1016/j.antiviral.2015.04.004

34. Zibareva L., Athipornchai A., Wonganan O., Suksamrarn A. Application of ultrasound to extraction of biologically active substances of some *Serratula* species // International Journal of Food and Biosystems Engineering. 2017. V. 5. N 1. P. 31–37.
35. Зибарева Л.Н., Еремина В.И. Способ увеличения степени извлечения экистероидов из растительных объектов // Пат. РФ N 2472519C1. 2013.
36. Казачинская Е.И., Зибарева Л.Н., Филоненко Е.С., Иванова А.В., Кононова Ю.В., Чепурнов А.А., Шестопапов А.М. Исследование ингибирующей активности экстрактов, фракций и вторичных метаболитов *Silene* spp. (*Caryophyllaceae*) и *Serratula cupuliformis* (*Asteraceae*) на репликацию коронавируса SARS-CoV-2 // Юг России: экология, развитие. 2023. Т. 18. N 1. С. 62–81. DOI: 10.18470/1992-1098-2023-1-62-81
37. Разумов И.А., Косонова Т.А., Казачинская Е.И., Пучкова Л.И., Щербакова Н.С., Горбунова И.А., Михайловская И.Н., Локтев В.Б., Теплякова Т.В. Противовирусная активность водных экстрактов и полисахаридных фракций, полученных из мицелия и плодовых тел высших грибов // Антибиотики и химиотерапия. 2010. Т. 55. N 9–10. С. 14–18.
38. Казачинская Е.И., Чепурнов А.А., Шелемба А.А., Гусейнова С.А., Магомедов М.Г., Кононова Ю.В., Романюк В.В., Шестопапов А.М. Ингибирующая активность водных экстрактов чайных композиций, индивидуальных ингредиентов для их составления и некоторых растений на репликацию вируса простого герпеса 2 типа *in vitro* // Юг России: экология, развитие. 2022. Т. 17. N 3. С. 135–152. DOI: 10.18470/1992-1098-2022-3-135-152
39. Fukuchi K., Okudaira N., Adachi K., Odai-Ide R., Watanabe S., Ohno H., Yamamoto M., Kanamoto T., Terakubo S., Nakashima H., Uesawa Y., Kagaya H., Sakagami H. Antiviral and Antitumor Activity of Licorice Root Extracts // In Vivo. 2016. V. 30. N 6. P. 777–785. DOI: 10.21873/in vivo.10994
40. Сулопаров М.А., Глотов А.Г., Глотова Т.И. Изучение эффективности лечебно-профилактического действия сверхмалых доз антител к гамма интерферону на экспериментальной мышинной модели герпес-вирусной инфекции // Антибиотики и химиотерапия. 2004. Т. 49. N 10. С. 3–6.
41. Шаполова Е.Г., Ломовский О.И., Казачинская Е.И., Локтев В.Б., Теплякова Т.В. Антивирусная активность композитов диоксида кремния с полифенолами, полученных механохимическим методом из растительного сырья // Химико-фармацевтический журнал. 2016. Т. 50. N 9. С. 25–29.
42. 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. P. 283. DOI: 10.3390/jcm7090283
43. Фисенко В.П. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. Минздрав РФ. Москва: Ремедиум, 2000. 398 с.
44. Lopez-Muñoz A.D., Rastrojo A., Martín R., Alcamí A. Herpes simplex virus 2 (HSV-2) evolves faster in cell culture than HSV-1 by generating greater genetic diversity // PLoS Pathogens. 2021. V. 17. N 8. Article ID: e1009541. DOI: 10.1371/journal.ppat.1009541
45. Burrell S., Deback C., Agut H., Boutolleau D. Genotypic characterization of UL23 thymidine kinase and UL30 DNA polymerase of clinical isolates of herpes simplex virus: natural polymorphism and mutations associated with resistance to antivirals // Antimicrob. Agents Chemother. 2010. V. 54. N 11. P. 4833–4842. DOI: 10.1128/AAC.00669-10
46. Ding L., Jiang P., Xu X., Lu W., Yang C., Li L., Zhou P., Liu S. T-type calcium channels blockers inhibit HSV-2 infection at the late stage of genome replication // Eur. J. Pharmacol. 2021. V. 892. Article ID: 173782. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173782
47. Zverev V.V., Makarov O.V., Khashukoeva A.Z., Svitich O.A., Dobrokhotova Y.E., Markova E.A., Labginov P.A., Khlinova S.A., Shulenina E.A., Gankovskaya L.V. In vitro studies of the antiherpetic effect of photodynamic therapy // Lasers Med. Sci. 2016. V. 31. N 5. P. 849–855. DOI: 10.1007/s10103-016-1912-0
48. Cardozo F.T.G.S., Larsen I.V., Carballo E.V., Jose G., Stern R.A., Brummel R.C., Camelin C.M., Rossi M.J., Simões C.M.O., Brandt C.R. In vivo anti-herpes simplex virus activity of a sulfated derivative of *Agaricus brasiliensis* mycelial polysaccharide // Antimicrob. Agents Chemother. 2013. V. 57. N 6. P. 2541–2549. DOI: 10.1128/AAC.02250-12
49. Lugini A., Sibille G., Moggetti B., Sainas S., Pippione A.C., Giorgis M., Boschi D., Lolli M.L., Griboudo G. Effective deploying of a novel DHODH inhibitor against herpes simplex type 1 and type 2 replication // Antiviral. Res. 2021. V. 189. Article id: 105057. DOI: 10.1016/j.antiviral.2021.105057
50. Hassan S.T.S., Švajdlenka E., Berchová-Bimová K. Hibiscus sabdariffa L. and Its Bioactive Constituents Exhibit Antiviral Activity against HSV-2 and Anti-enzymatic Properties against Urease by an ESI-MS Based Assay // Molecules. 2017. V. 22. N 5. P. 722. DOI: 10.3390/molecules22050722
51. Sangboonruang S., Semakul N., Sookkree S., Kantapan J., Ngo-Giang-Huong N., Khamduang W., Kongyai N., Tragoolpua K. Activity of Propolis Nanoparticles against HSV-2: Promising Approach to Inhibiting Infection and Replication // Molecules. 2022. V. 27. N 8. Article ID: 2560. DOI: 10.3390/molecules27082560
52. Cheng H.-Y., Lin T.-C., Yang C.-M., Wang K.-C., Lin C.-C. Mechanism of action of the suppression of herpes simplex virus type 2 replication by pterocarnin A // Microbes Infect. 2004. V. 6. Iss. 8. P. 738–744. DOI: 10.1016/j.micinf.2004.03.009
53. Reichling J., Neuner A., Sharaf M., Harkenthal M., Schnitzler P. Antiviral activity of *Rhus aromatica* (fragrant sumac) extract against two types of herpes simplex viruses in cell culture // Die Pharm. Int. J. Pharm. Sci. 2009. N 64. P. 538–541.
54. Benzekri R., Bouslama L., Papetti A., Hammami M., Smaoui A., Limam F. Anti HSV-2 activity of *Peganum harmala* (L.) and isolation of the active compound // Microb. Pathog. 2018. V. 114. P. 291–298. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.12.017
55. Churqui M.P., Lind L., Thörn K., Svensson A., Savolainen O., Aranda K.T., Eriksson K. Extracts of *Equisetum giganteum* L and *Copaifera reticulata* Ducke show strong antiviral activity against the sexually transmitted pathogen herpes simplex virus type 2 // J. Ethnopharmacol. 2018. V. 210. P. 192–197. DOI: 10.1016/j.jep.2017.08.010
56. Donalisio M., Cagno V., Civra A., Gibellini D., Musumeci G., Rittà M., Ghosh M., Lembo D. The traditional use of

Vachellia nilotica for sexually transmitted diseases is substantiated by the antiviral activity of its bark extract against sexually transmitted viruses // J. Ethnopharmacol. 2018. V. 213. P. 403–408. DOI: 10.1016/j.jep.2017.11.039

57. Benzekri R., Limam F., Bouslama L. Combination effect of three anti-HSV-2 active plant extracts exhibiting different modes of action // Adv. Tradit. Med. 2020. V. 20. P. 223–231. DOI: 10.1007/s13596-020-00430-0

REFERENCES

1. *Sait Mezhdunarodnogo komiteta po taksonomii virusov (ICTV, 2021)* [Website of the International Committee on Virus Taxonomy]. Available at: <https://ictp.global/taxonomy> (accessed 01.12.2023)
2. Gatherer D., Depledge D.P., Hartley C.A., Szpara M.L., Vaz P.K., Benkő M., Brandt C.R., Bryant N.A., Dastjerdi A., Doszpoly A., Gompels U.A., Inoue N., Jarosinski K.W., Kaul R., Lacoste V., Norberg P., Origi F.C., Orton R.J., Pellett P.E., Schmid D.S., Spatz S.J., Stewart J.P., Trimpert J., Waltzek T.B., Davison A.J. ICTV Virus Taxonomy Profile: Herpesviridae 2021. *Journal of General Virology*, 2021, vol. 102, no. 10, article id: 001673. DOI: 10.1099/jgv.0.001673
3. Connolly S.A., Jardetzky T.S., Longnecker R. The structural basis of herpesvirus entry. *Nature Reviews Microbiology*, 2021, vol. 19, no. 2, pp. 110–121. DOI: 10.1038/s41579-020-00448-w
4. Jambunathan N., Clark C.M., Musarrat F., Chouljenko V.N., Rudd J., Kousoulas K.G. Two Sides to Every Story: Herpes Simplex Type-1 Viral Glycoproteins gB, gD, gH/gL, gK, and Cellular Receptors Function as Key Players in Membrane Fusion. *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 9, article id: 1849. DOI: 10.3390/v13091849
5. de Souza Carneiro V.C., Pereira J.G., de Paula V.S. Family Herpesviridae and neuroinfections: current status and research in progress. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 2022, vol. 117, article id: e220200. DOI: 10.1590/0074-02760220200
6. Stamos J.D., Lee L.H., Taylor C., Elias T., Adams S.D. In Vitro and In Silico Analysis of the Inhibitory Activity of EGCG-Stearate against Herpes Simplex Virus-2. *Microorganisms*, 2022, vol. 10, no. 7, article id: 1462. DOI: 10.3390/microorganisms10071462
7. Koelle D.M., Norberg P., Fitzgibbon M.P., Russell R.M., Greninger A.L., Huang M.-L., Stensland L., Jing L., Margaret A.S., Diem K., Selke S., Xie H., Celum C., Lingappa J.R., Jerome K.R., Wald A., Johnston C. Worldwide circulation of HSV-2 × HSV-1 recombinant strains. *Scientific Reports*, 2017, no. 7, article id: 44084. DOI: 10.1038/srep44084
8. Grünwald K., Desai P., Winkler D.C., Heymann J.B., Belnap D.M., Baumeister W., Steven A.C. Three-dimensional structure of herpes simplex virus from cryo-electron tomography. *Science*, 2003, vol. 302, iss. 5649, pp. 1396–1398. DOI: 10.1126/science.1090284
9. Wald A., Ericsson M., Krantz E., Selke S., Corey L. Oral shedding of herpes simplex virus type 2. *Sexually Transmitted Infections*, 2004, vol. 80, no. 4, pp. 272–276. DOI: 10.1136/sti.2003.007823
10. Krummenacher C., Baribaud F., de Leon M.P., Baribaud I., Whitbeck J.C., Xu R., Cohen G.H., Eisenberg R.J. Comparative usage of herpesvirus entry mediator A and nectin-1 by laboratory strains and clinical isolates of herpes simplex virus. *Virology*, 2004, vol. 322, no. 2, pp. 286–299. DOI: 10.1016/j.virol.2004.02.005
11. *Sait Vsemirnoi organizatsii zdoravookhraneniya (VOZ)* [Website of the World Health Organization, WHO]. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus> (accessed 01.12.2023)
12. Awasthi S., Friedman H.M. An mRNA vaccine to prevent genital herpes. *Translational Research*, 2022, no. 242, pp. 56–65. DOI: 10.1016/j.trsl.2021.12.006
13. James C., Harfouche M., Welton N.J., Turner K.M., Abu-Raddad L.J., Gottlieb S.L., Looker K.J. Herpes simplex virus: global infection prevalence and incidence estimates, 2016. *Bulletin of the World Health Organization*, 2020, vol. 98, no. 5, pp. 315–329. DOI: 10.2471/BLT.19.237149
14. Okonko I.O., Cooke T.I., Okerentugba P.O., Frank-Peterside N. Serum HSV-1 and -2 IgM in pregnant women in Port Harcourt, Nigeria. *Journal of Immunoassay and Immunochemistry*, 2015, vol. 36, no. 4, pp. 343–358. DOI: 10.1080/15321819.2014.952442
15. Wertheim J.O., Smith M.D., Smith D.M., Scheffler K., Kosakovsky Pond S.L. Evolutionary origins of human herpes simplex viruses 1 and 2. *Molecular biology and evolution*, 2014, vol. 31, no. 9, pp. 2356–2364. DOI: 10.1093/molbev/msu185
16. Kropp K.A., Srivaratharajan S., Ritter B., Yu P., Krooss S., Polten F., Pich A., Alami A., Viejo-Borbolla A. Identification of the Cleavage Domain within Glycoprotein G of Herpes Simplex Virus Type 2. *Viruses*, 2020, vol. 12, no. 12, article id: 1428. DOI: 10.3390/v12121428
17. Nath P., Kabir M.A., Doust S.K., Ray A. Diagnosis of Herpes Simplex Virus: Laboratory and Point-of-Care Techniques. *Infectious Disease Reports*, 2021, vol. 13, no. 2, pp. 518–539. DOI: 10.3390/idr13020049
18. Tronstein E., Johnston C., Huang M.-L., Selke S., Margaret A., Warren T., Corey L., Wald A. Genital shedding of herpes simplex virus among symptomatic and asymptomatic persons with HSV-2 infection. *JAMA*, 2011, vol. 305, no. 14, pp. 1441–1449. DOI: 10.1001/jama.2011.420
19. Gornalusse G.G., Valdez R., Fenkart G., Vojtech L., Fleming L.M., Pandey U., Hughes S.M., Levy C.N., Cruz E.J.D., Calienes F.L., Kirby A.C., Fialkow M.F., Lentz G.M., Wagoner J., Jing L., Koelle D.M., Polyak S.J., Fredricks D.N., McElrath M.J., Wald A., Hladik F. Mechanisms of Endogenous HIV-1 Reactivation by Endocervical Epithelial Cells. *Journal of Virology*, 2020, vol. 94, no. 9, article id: e01904-19. DOI: 10.1128/JVI.01904-19
20. Huang Y., Song Y., Li J., Lv C., Chen Z.-S., Liu Z. Receptors and ligands for herpes simplex viruses: Novel insights for drug targeting. *Drug Discovery Today*, 2022, vol. 27, no. 1, pp. 185–195. DOI: 10.1016/j.drudis.2021.10.004
21. Desai D., Londhe R., Chandane M., Kulkarni S. Altered HIV-1 Viral Copy Number and Gene Expression Profiles of Peripheral (CEM CCR5+) and Mucosal (A3R5.7) T Cell Lines Co-Infected with HSV-2 In Vitro. *Viruses*, 2022, vol. 14, no. 8, article id: 1715. DOI: 10.3390/v14081715
22. Taylor M., Gerriets V. Acyclovir. In: StatPearls. Treasure Island (FL), StatPearls Publ., 2023.
23. Schalkwijk H.H., Snoeck R., Andrei G. Acyclovir resistance in herpes simplex viruses: Prevalence and therapeutic alternatives. *Biochemical Pharmacology*, 2022, no. 206, article id: 115322. DOI: 10.1016/j.bcp.2022.115322
24. Trembl J., Gazdova M., Smejkal K., Sodomova M., Kubatka P., Hassan S.T.S. Natural products-derived chemicals: Breaking barriers to novel anti-HSV drug development. *Viruses*, 2020, no. 12, article id: 154. DOI: 10.3390/v12020154
25. Mohan S., Taha M.M.E., Makeen H.A., Alhazmi H.A., Bratty M.A., Sultana S., Ahsan W., Najmi A., Khalid A. Bioactive Natural Antivirals: An Updated Review of the Available Plants and Isolated Molecules. *Molecules*, 2020,

- vol. 25, no. 21, article id: 4878. DOI: 10.3390/molecules25214878
26. Zibareva L.N., Filonenko E.S., Chernyak E.I., Morozov S.V., Kotelnikov O.A. Flavonoids of some plant species of the genus *Silene*. *Chemistry of plant raw materials*, 2022, no. 3, pp. 109–118. (In Russian) <https://doi.org/10.14258/jcprm.20220310592>
27. Shen N., Wang T., Gan Q., Liu S., Wang L., Jin B. Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 2022, no. 383, article id: 132531. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.132531
28. Zibareva L.N., Amosova E.N., Krylova S.G., Zueva E.P., Rybalkina O.Y., Plotnikov M.B., Aliyev O.I., Vasiliev A.S., Anishchenko A.M., Suslov N.I., Nesterova Yu.V., Povetyeva T.N., Afanasyeva O.G., Erst A.A., Razina T.G., Safonova E.A., Kiseleva E.A. *Rasteniya rodov Silene L. i Lychnis L. (Caryophyllaceae): sostav khimicheskikh komponentov i biologicheskaya aktivnost'* [Plants of the genera *Silene L.* and *Lychnis L.* (Caryophyllaceae): composition of chemical components and biological activity]. Tomsk, TSU Publ., 2021, 496 p. (In Russian)
29. Arif Y., Singh P., Bajguz A., Hayat S. Phytoecdysteroids: Distribution, Structural Diversity, Biosynthesis, Activity, and Crosstalk with Phytohormones. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, vol. 23, no. 15, article id: 8664. DOI: 10.3390/ijms23158664
30. 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 Journal*, 2021, vol. 18, no. 1, article id: 182. DOI: 10.1186/s12985-021-01651-8
31. Kazachinskaya 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. (In Russian) DOI: 10.18470/1992-1098-2022-4-111-129
32. Alvarez A.L., Habtemariam S., Juan-Badaturge M., Jackson C., Parra F. In vitro anti HSV-1 and HSV-2 activity of *Tanacetum vulgare* extracts and isolated compounds: an approach to their mechanisms of action. *Phytotherapy Research*, 2011, vol. 25, no. 2, pp. 296–301. DOI: 10.1002/ptr.3382
33. Álvarez Á.L., Habtemariam S., Moneim A.E.A., Melón S., Dalton K.P., Parra F. A spiroketal-enol ether derivative from *Tanacetum vulgare* selectively inhibits HSV-1 and HSV-2 glycoprotein accumulation in Vero cells. *Antiviral Research*, 2015, no. 119, pp. 8–18. DOI: 10.1016/j.antiviral.2015.04.004
34. Zibareva L., Athipornchai A., Wonganan O., Suksamrarn A. Application of ultrasound to extraction of biologically active substances of some *Serratula* species. *International Journal of Food and Biosystems Engineering*. 2017, vol. 5, no. 1, pp. 31–37.
35. Zibareva L.N., Yeriomina V.I. *Sposob uvelicheniya stepeni izvlecheniya ecdisteroidov iz rastitel'nykh ob"ektov* [A method for increasing the degree of extraction of ecdysteroids from plant objects]. Patent RF, no. 2472519C1, 2013.
36. Kazachinskaya E.I., Zibareva L.N., Filonenko E.S., Ivanova A.V., Kononova Y.V., Chepurinov A.A., Shestopalov A.M. Investigation of the inhibitory activity of extracts, fractions and secondary metabolites of *Silene* spp. (Caryophyllaceae) and *Serratula cupuliformis* (Asteraceae) on the replication of SARS-CoV-2 coronavirus. *South of Russia: ecology, development*, 2023, vol. 18, no. 1, pp. 62–81. (In Russian) DOI: 10.18470/1992-1098-2023-1-62-81
37. Razumov I.A., Kosogova T.A., Kazachinskaya E.I., Puchkova L.I., Shcherbakova N.C., Gorbunova I.A., Mikhailovskaya I.N., Loktev V.B., Teplyakova T.V. Antiviral activity of aqueous extracts and polysaccharide fractions obtained from mycelium and fruiting bodies of higher fungi. *Antibiotiki i khimioterapiya* [Antibiotics and chemotherapy]. 2010, vol. 55, no. 9–10, pp. 14–18. (In Russian)
38. Kazachinskaya E.I., Chepurinov A.A., Shelemba A.A., Guseinova S.A., Magomedov M.G., Kononova Yu.V., Romanyuk V.V., Shestopalov A.M. Inhibitory activity of aqueous extracts of tea compositions, individual ingredients for their preparation and some plants against replication of Herpes simplex virus type 2 *in vitro*. *South of Russia: ecology, development*, 2022, vol. 17, no. 3, pp. 135–152. (In Russian) DOI:10.18470/1992-1098-2022-3-135-152
39. Fukuchi K., Okudaira N., Adachi K., Odai-Ide R., Watanabe S., Ohno H., Yamamoto M., Kanamoto T., Terakubo S., Nakashima H., Uesawa Y., Kagaya H., Sakagami H. Antiviral and Antitumor Activity of Licorice Root Extracts. *In Vivo*, 2016, vol. 30, no. 6, pp. 777–785. DOI: 10.21873/invivo.10994
40. Susloparov M.A., Glotov A.G., Glotova T.I. To study the effectiveness of the therapeutic and prophylactic effect of ultra-low doses of antibodies to gamma interferon on an experimental mouse model of herpes virus infection. *Antibiotiki i khimioterapiya* [Antibiotics and chemotherapy]. 2004, vol. 49, no. 10, pp. 3–6. (In Russian)
41. Shapolova E.G., Lomovskii O.I., Kazachinskaya E.I., Loktev V.B., Teplyakova T.V. Antiviral Activity of Silicon Dioxide Composites with Polyphenols Obtained by Mechanochemical Method from Plant Raw Materials. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal* [Chemico-pharmaceutical Journal]. 2016, vol. 50, no. 9, pp. 25–29. (In Russian)
42. 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. *Journal of Clinical Medicine*, 2018, no. 7, p. 283. DOI: 10.3390/jcm7090283
43. Fisenko V.P. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv* [Guidelines for experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. In accordance with the order]. Moscow, Remedium Publ., 2000, 398 p. (In Russian)
44. Lopez-Muñoz A.D., Rastrojo A., Martín R., Alcamí A. Herpes simplex virus 2 (HSV-2) evolves faster in cell culture than HSV-1 by generating greater genetic diversity. *PLoS Pathogens*, 2021, vol. 17, no. 8, article id: e1009541. DOI: 10.1371/journal.ppat.1009541
45. Burrell S., Deback C., Agut H., Boutolleau D. Genotypic characterization of UL23 thymidine kinase and UL30 DNA polymerase of clinical isolates of herpes simplex virus: natural polymorphism and mutations associated with resistance to antivirals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2010, vol. 54, no. 11, pp. 4833–4842. DOI: 10.1128/AAC.00669-10
46. Ding L., Jiang P., Xu X., Lu W., Yang C., Li L., Zhou P., Liu S. T-type calcium channels blockers inhibit HSV-2 infection at the late stage of genome replication. *European Journal of Pharmacology*, 2021, vol. 892, article id: 173782. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173782
47. Zverev V.V., Makarov O.V., Khashukoeva A.Z., Svitich O.A., Dobrokhotova Y.E., Markova E.A., Labginov P.A., Khlinova S.A., Shulenina E.A., Gankovskaya L.V. In vitro studies of the antiherpetic effect of photodynamic therapy.

- Lasers in Medical Science*, 2016, vol. 31, no. 5, pp. 849–855. DOI: 10.1007/s10103-016-1912-0
48. Cardozo F.T.G.S., Larsen I.V., Carballo E.V., Jose G., Stern R.A., Brummel R.C., Camellini C.M., Rossi M.J., Simões C.M.O., Brandt C.R. In vivo anti-herpes simplex virus activity of a sulfated derivative of *Agaricus brasiliensis* mycelial polysaccharide. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2013, vol. 57, no. 6, pp. 2541–2549. DOI: 10.1128/AAC.02250-12
49. Lugini A., Sibille G., Moggetti B., Sainas S., Pippione A.C., Giorgis M., Boschi D., Lolli M.L., Gribaudo G. Effective deploying of a novel DHODH inhibitor against herpes simplex type 1 and type 2 replication. *Antiviral Research*, 2021, vol. 189, article id: 105057. DOI: 10.1016/j.antiviral.2021.105057
50. Hassan S.T.S., Švajdenka E., Berchová-Bímová K. Hibiscus sabdariffa L. and Its Bioactive Constituents Exhibit Antiviral Activity against HSV-2 and Anti-enzymatic Properties against Urease by an ESI-MS Based Assay. *Molecules*, 2017, vol. 22, no. 5, p. 722. DOI: 10.3390/molecules22050722
51. Sangboonruang S., Semakul N., Sookkree S., Kantapan J., Ngo-Giang-Huong N., Khamduang W., Kongyai N., Tragoolpua K. Activity of Propolis Nanoparticles against HSV-2: Promising Approach to Inhibiting Infection and Replication. *Molecules*, 2022, vol. 27, no. 8, article id: 2560. DOI: 10.3390/molecules27082560
52. Cheng H.-Y., Lin T.-C., Yang C.-M., Wang K.-C., Lin C.-C. Mechanism of action of the suppression of herpes simplex virus type 2 replication by pterocarnin A. *Microbes and Infection*, 2004, vol. 6, iss. 8, pp. 738–744. DOI: 10.1016/j.micinf.2004.03.009
53. Reichling J., Neuner A., Sharaf M., Harkenthal M., Schnitzler P. Antiviral activity of *Rhus aromatica* (fragrant sumac) extract against two types of herpes simplex viruses in cell culture. *Die Pharmazie—An International Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2009, no. 64, pp. 538–541.
54. Benzekri R., Bouslama L., Papetti A., Hammami M., Smaoui A., Limam F. Anti HSV-2 activity of *Peganum harmala* (L.) and isolation of the active compound. *Microbial Pathogenesis*, 2018, vol. 114, pp. 291–298. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.12.017
55. Churqui M.P., Lind L., Thörn K., Svensson A., Savolainen O., Aranda K.T., Eriksson K. Extracts of *Equisetum giganteum* L and *Copaifera reticulata* Ducke show strong antiviral activity against the sexually transmitted pathogen herpes simplex virus type 2. *Journal of Ethnopharmacology*, 2018, vol. 210, pp. 192–197. DOI: 10.1016/j.jep.2017.08.010
56. Donalizio M., Cagno V., Civra A., Gibellini D., Musumeci G., Rittà M., Ghosh M., Lembo D. The traditional use of *Vachellia nilotica* for sexually transmitted diseases is substantiated by the antiviral activity of its bark extract against sexually transmitted viruses. *Journal of Ethnopharmacology*, 2018, vol. 213, pp. 403–408. DOI: 10.1016/j.jep.2017.11.039
57. Benzekri R., Limam F., Bouslama L. Combination effect of three anti-HSV-2 active plant extracts exhibiting different modes of action. *Advances in Traditional Medicine*, 2020, vol. 20, pp. 223–231. DOI: 10.1007/s13596-020-00430-0

КРИТЕРИИ АВТОРСТВА

Елена И. Казачинская провела эксперименты по исследованию ингибирующей активности, обработала результаты, оформила литературный обзор. Лариса Н. Зибарева внесла идею исследования, оформила литературный обзор, приготовила препараты *Silene* spp., провела анализ результатов ВЭЖХ. Елена С. Филоненко приготовила препараты *Silene* spp., провела анализ БАВ ВЭЖХ. Алла В. Иванова приготовила образцы сравнения, провела тестирование цитотоксичности растительных препаратов. Александр А. Чепурнов наработал вирус. Юлия В. Кононова культивировала клетки Vero, провела титрование вируса и подготовку аликвот с определенным инфекционным титром. 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. Kazachinskaya conducted experiments to study inhibitory activity, processed the results and also designed a literature review. Larisa N. Zibareva introduced the idea of the study, designed a literature review, prepared *Silene* spp. preparations and analysed the results of HPLC. Elena S. Filonenko prepared preparations of *Silene* spp. and conducted an analysis of BAS HPL. Alla V. Ivanova prepared comparison samples and tested the cytotoxicity of herbal preparations. Alexander A. Chepurinov cultivated the virus. Yulia V. Kononova cultured Vero cells, titrated the virus and prepared aliquots with a certain infectious titer. Alexander M. Shestopalov led the organizational and material aspect of the laboratory research. All of the above 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>
Лариса Н.Зибарева / Larisa N. Zibareva <https://orcid.org/0000-0002-4417-8340>
Елена С. Филоненко / Elena S. Filonenko <https://orcid.org/0000-0002-4287-8327>
Алла В. Иванова / Alla V. Ivanova <https://orcid.org/0000-0001-9102-6756>
Юлия В. Кононова / Yulia V. Kononova <https://orcid.org/0000-0002-3677-3668>
Александр А. Чепурнов / Alexander A. Chepurinov <https://orcid.org/0000-0002-5966-8633>
Александр М. Шестопалов / Alexander M. Shestopalov <https://orcid.org/0000-0002-9734-0620>