

Инактивирующая и ингибирующая активность сухих этанольных экстрактов полыни (*Artemisia* spp.) на вирус простого герпеса второго типа *in vitro*

Елена И. Казачинская^{1,3}, Виктория В. Величко², Валерия Д. Романова¹, Дмитрий С. Круглов², Дарья Л. Прокушева², Александр А. Чепурнов¹, Юлия В. Кононова¹, Лифон Фу⁴, Шуай Шао⁵, Марина А. Гуляева¹, Александр М. Шестопалов¹

¹Научно-исследовательский институт вирусологии Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины (ФИЦ ФТМ СО РАН), Новосибирск, Россия

²Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск, Россия

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

⁴Ведущая лаборатория микробиологии и иммунологии патогенов CAS, Институт микробиологии Китайской академии наук, Пекин, Китай

⁵Национальный институт радиологической защиты, Центр по контролю за заболеваемостью, Пекин, Китай

Контактное лицо

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

Email lena.kazachinskaia@mail.ru

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

Формат цитирования

Казачинская Е.И., Величко В.В., Романова В.Д., Круглов Д.С., Прокушева Д.Л., Чепурнов А.А., Кононова Ю.В., Фу Л., Шао Ш., Гуляева М.А., Шестопалов А.М. Инактивирующая и ингибирующая активность сухих этанольных экстрактов полыни (*Artemisia* spp.) на вирус простого герпеса второго типа *in vitro* // Юг России: экология, развитие. 2025. Т.20, N 2. С. 14-36. DOI: 10.18470/1992-1098-2025-2-2

Получена 12 марта 2025 г.

Прошла рецензирование 24 апреля 2025 г.

Принята 28 апреля 2025 г.

Список сокращений

HSVs (*Herpes Simplex viruses*) – вирусы простого герпеса, CC50 (50% cytotoxic concentration) – 50%-ная цитотоксичная концентрация, EC50 (50% effective concentrations) – 50%-ная эффективная концентрация, БОЕ – бляшко-образующие единицы, БАВ – биологически активные вещества, ДМСО – диметилсульфоксид, ЦПД – цитопатическое действие

Резюме

Цель – оценка *in vitro* инактивирующей и ингибирующей активности сухих этанольных экстрактов разных видов полыни (*Artemisia* spp.), произрастающих в природе Новосибирской области и Республики Алтай, на репликацию вируса простого герпеса 2 типа (*Herpes simplex virus*, HSV-2).

Собрано растительное сырье и приготовлены сухие этанольные экстракты разных видов полыни. Использован лабораторный штамм MS HSV-2. Анализ инактивирующей и ингибирующей активности экстрактов проводили на культуре клеток Vero E6 по общепринятым методикам. Образец сравнения – лиофилизированный препарат ацикловир («ФАРМЛЕНД», Республика Беларусь). Содержание биологически активных веществ (БАВ) в экстрактах проводили методом прямой и дифференциальной спектрофотометрии.

Выявлена инактивирующая и ингибирующая активность сухих этанольных экстрактов *Artemisia* spp., растворенных в ДМСО, в диапазоне 50 %-ных эффективных концентраций (EC₅₀) от 2,46±0,63 мкг/мл до 218,75±40,09 мкг/мл в реакциях прямая инактивация (нейтрализация) вируса и от 13,67±2,50 до 218,75±40,09 мкг/мл по схемам «профилактика» заражения и «лечение» инфицированных клеток, соответственно. Методом спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой области света в экстрактах определено процентное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, полифенольных соединений в пересчете на катехин и суммы оксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту.

На основе полученных результатов можно сделать вывод о наличии в этанольных экстрактах *Artemisia* spp., растворенных в ДМСО, БАВ (флавоноидов, полифенольных соединений и оксикоричных кислот), способствующих инактивации свободных вирионов и эффективно действующих на репликацию HSV-2 внутри инфицированных клеток *in vitro*.

Ключевые слова

HSV-2, виды полыни, этанольные экстракты, инактивирующая и ингибирующая активность, спектрофотометрия.

Inactivating and inhibitory activity of dry ethanol extracts of wormwood (*Artemisia* spp.) on herpes simplex virus of the 2 type *in vitro*

Elena I. Kazachinskaia^{1,3}, Victoriya V. Velichko², Valeriya D. Romanova¹, Dmitriy S. Kruglov², Dar'ya L. Prokusheva², Alexander A. Chepurnov¹, Yulia V. Kononova¹, Lifeng Fu⁴, Shuai Shao⁵ and Marina A. Gulyaeva^{1,6}, Alexander M. Shestopalov¹

¹Research Institute of Virology, Federal Research Centre of Fundamental and Translational Medicine (FRCFTM), Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

²Faculty of Pharmacy, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

³Vector State Research Centre of Virology and Biotechnology, Federal Service for Surveillance in the Sphere, Consumers Rights Protection and Human Welfare, Novosibirsk, Russia

⁴CAS Key Laboratory of Pathogen Microbiology and Immunology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing, China

⁵National Institute for Radiological Protection, China CDC, Beijing, China

Principal contact

Elena I. Kazachinskaia, Doctor of Biology, Leading Researcher, Research Institute of Virology, FRCFTM, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; 32-1 Koltsovo, Novosibirsk, Novosibirskiy region, Russia 630559. Tel. +79095307441 Email lena.kazachinskia@mail.ru ORCID <https://orcid.org/0000-0002-1856-6147>

How to cite this article

Kazachinskaia E.I., Velichko V.V., Romanova V.D., Kruglov D.S., Prokusheva D.L., Chepurnov A.A., Kononova Yu.V., Fu L., Shao Sh., Gulyaeva M.A., Shestopalov A.M. Inactivating and inhibitory activity of dry ethanol extracts of wormwood (*Artemisia* spp.) on herpes simplex virus of the 2 type *in vitro*. *South of Russia: ecology, development*. 2025; 20(2):14-36. (In Russ.) DOI: 10.18470/1992-1098-2025-2-2

Received 12 March 2025

Revised 24 April 2025

Accepted 28 April 2025

Abbreviations list

HSVs – Herpes Simplex viruses, CC₅₀ – 50% cytotoxic concentration, EC₅₀ – 50% effective concentrations), PFU – plaque-forming units, BAS – biologically active substances, DMSO – Dimethyl sulfoxide, CPE – cytopathic effect

Abstract

Aim. *In vitro* assessment of the inactivating and inhibitory activity of dry ethanol extracts of various wormwood species (*Artemisia* spp.) native to the Novosibirsk region and Altai Republic on the replication of *Herpes simplex virus* type 2 (HSV-2).

Vegetable raw materials were collected and dry ethanol extracts of various types of wormwood were prepared. The laboratory strain MS HSV-2 was used. The inactivating and inhibitory activity of the extracts was analysed on Vero E6 cell culture according to generally accepted methods. The comparison sample is the lyophilized drug acyclovir (FARMLAND, Republic of Belarus). The content of biologically active substances (BAS) in the extracts was carried out by mass spectrometry.

The inactivating and inhibitory activity of dry ethanol extracts of *Artemisia* spp. dissolved in DMSO was revealed in the range of 50 % effective concentrations (EC₅₀) from 2.46±0.63 µg/ml to 218.75±40.09 µg/ml in the reactions of direct inactivation (neutralization) of the virus and from 13.67±2.50 to 218.75±40.09 µg/ml according to the schemes of "prevention" of infection and "treatment" of infected cells, respectively. The percentage of flavonoids in terms of rutin, polyphenolic compounds in terms of catechin and oxycoric acids in terms of chlorogenic acid was determined by spectrophotometry in extracts.

Based on the results obtained it can be concluded that ethanol extracts of *Artemisia* spp. dissolved in DMSO contain BAS (these are flavonoids, polyphenolic compounds and oxycoric acids) that promote the inactivation of free virions and effectively act on HSV-2 replication inside infected cells *in vitro*.

Key Words

HSV-2, wormwood species (spp.), ethanol extracts, inactivating and inhibitory activity, mass spectrometry.

ВВЕДЕНИЕ

Род вируса простого герпеса человека (*Human Simplex virus, Herpesviridae*) включает в себя два нейротропных подтипа (серотипа) – HSV-1 и HSV-2, которые проникают в организм через слизистые оболочки и кожу, вызывают пожизненные латентные инфекции в нейронах периферической и центральной нервных системах [1]. Вирусы простого герпеса (*Herpes simplex viruses, HSVs*) – «близкородственные» по многим характеристикам патогены (по строению вириона, структуре генома, нейровирулентности и др.), но однозначно рассматриваются как эволюционно независимые единицы [2]. HSVs занимают отдельные, частично совпадающие экологические ниши – литическая инфекция HSV-1 обычно поражает ротовую полость или глаза, а латентная фаза протекает в тройничном ганглии; литическая репликативная фаза HSV-2 чаще всего поражает аногенитальную область, а латентная фаза протекает в пояснично-крестцовых ганглиях [3]. В одном организме HSV-1 и HSV-2 могут сосуществовать одновременно, что подтверждается как анализами ПЦР, так и серологическими методами (вестерн-блоттингом и ИФА) [4]. Также описаны и рекомбинанты HSV-1×HSV-2, циркулирующие в человеческой популяции [5]. Ключевыми особенностями HSVs являются короткий цикл репликации, приводящий к лизису клеток-«хозяев» [6]. У иммунокомпетентных лиц первичные инфекции и реактивации HSVs чаще всего протекают бессимптомно или в легкой форме [7]. У пациентов с ослабленным иммунитетом (особенно в случае дефицита Т-клеток), инфекции, вызванные вирусами герпеса, представляют собой такие проблемы, как – повышенная частота, большая тяжесть болезни (характеризующаяся более глубокими, обширными и длительными поражениями), наряду с риском гематогенной диссеминации [8] и, наконец, риск отбора патогенных мутантов, устойчивых к противовирусному лечению [9]. HSVs, наряду с *Toxoplasma gondii*, вирусом краснухи, цитомегаловирусом, относятся к TORCH-инфекциям – это группа внутриутробных инфекций, которыми эмбрион или плод может заразиться во время беременности матери или при прохождении родовых путей. Патогены TORCH могут проникать в околоплодные воды и преодолевать плацентарные защитные механизмы, препятствующие вертикальной передаче микроорганизмов [10]. HSVs передаются трансплацентарным или восходящим путем из влагалища или шейки матки, даже если плодные оболочки остаются неповрежденными. Во время беременности у большинства инфицированных женщин заболевание протекает бессимптомно или с неспецифическими симптомами. Отсутствие клинических проявлений может привести к поздней диагностике врожденной или неонатальной HSV-инфекции, что повышает уровень заболеваемости и смертности новорожденных [11].

Основные факты о HSVs по данным ВОЗ на конец 2024 г. (по состоянию на 2020 г. как последний год, за который имеются оценки во всем мире): 3,8 миллиарда человек (64,2 %) в возрасте до 50 лет инфицированы HSV-1 (который является основной причиной орального герпеса); глобальная численность носителей HSV-2 (который является основной причиной генитального герпеса) оценивается на уровне 519,5 миллиона человек (13,3 %) среди лиц в возрасте от 15 до 49 лет;

болезни, вызванные HSVs, проявляются такими симптомами, как болезненные пузырьки или язвы на слизистых оболочках или коже, которые могут с течением времени возникать повторно (т.е. происходит рецидив хронической инфекции); большинство герпетических инфекций остаются нераспознанными т.к. протекают бессимптомно; инфицирование герпесом серотипа HSV-2 повышает риск инфицирования ВИЧ и способствует передаче этого вируса другим людям [12].

Инфекции, вызванные HSV-2, чаще всего передаются половым путем, и распространенность серопозитивности увеличивается с 20–30 % в возрасте 15–29 лет до 35–60 % в возрасте 60 лет [13]. Факторы риска заражения HSV-2 включают непосредственный контакт с биологическими жидкостями (например, слюной, спермой или цервикальной жидкостью влагалища) серопозитивного человека, содержащими инфекционный вирус, чаще всего во время полового акта. Из-за низкой устойчивости вне организма вирус может оставаться заразным лишь в течение нескольких дней на влажных поверхностях. Поэтому способы передачи, отличные от полового акта, незначительны [14]. HSV-2 может проявляться в виде первичной инфекции с болезненными язвами на половых органах, ранами, корками, болезненной лимфаденопатией и дизурией (нарушение мочеиспускания). Классическими признаками являются пятнистые или папулезные поражения кожи и слизистых оболочек, переходящие в везикулы и пустулы, которые часто сохраняются до 3-х недель. Поражения половых органов могут быть особенно болезненными, вызывая отек вульвы у женщин, жгучую боль и дизурию. Часто могут возникать системные симптомы, в том числе лихорадка, головная боль и недомогание, которые часто вызваны сопутствующей виремией [14]. Для генитального герпеса, вызванного HSV-1, не характерны частые рецидивы, в отличие от инфицирования HSV-2 [15]. Важно отметить, что люди с генитальной HSV-1-инфекцией подвержены риску заражения HSV-2 [16]. Реактивация HSV-2 может привести к сакральному радикулиту и невровоспалению, которое распространяется в головной мозг по нервным путям, вызывая головные боли (мигрень) [17]. Некоторые данные свидетельствуют о том, что сопутствующее заражение HSV-2 играет важную роль в онкогенезе вируса папилломы человека (*Human Papillomavirus, HPV*) [18]. Ко-инфекция HSV-2 с ВИЧ увеличивает выделение герпеса из половых органов и его вирулентность (патогенность), а заражение герпесом коррелирует с повышением уровня виремии ВИЧ и, соответственно, его вирулентности [19]. Считается, что инфекции, вызванные ВИЧ и HSV-2, очень часто возникают одновременно и усугубляют друг друга, т.к. HSV-2 увеличивает количество активированных CD4⁺ Т-клеток (которые являются клетками-мишенями для ВИЧ) и вызывает повреждения слизистой оболочки половых органов, тем самым облегчая проникновение ВИЧ и развитие инфекции [19]. ВИЧ-инфекция способствует ухудшению состояния, связанного с HSV-2, из-за снижения иммунитета. Об этом свидетельствуют более высокие показатели субклинического выделения герпеса, а также более частые и тяжелые поражения половых органов у людей, живущих с ВИЧ [20]. С начала вспышки COVID-19 некоторыми авторами подчеркивалась возможная связь между инфициро-

ванием SARS-CoV-2 и ко-инфекцией или реактивацией разных видов вирусов герпеса - как HSVs, так и *Varicella-Zoster Virus*, *Human Cyto-Megalovirus*, *Epstein-Barr Virus*, *Human Herpesvirus* (HHV-6A, HHV-6B, HHV-7) и *Kaposi's Sarcoma Herpesvirus* (KSHV, HHV-8). В дополнение к активации герпесов при естественной инфекции SARS-CoV-2, показано, что все вакцины, одобренные на сегодняшний день в Европе, по-видимому, способны вызывать реактивацию вирусов герпеса [21]. За последние несколько десятилетий было проведено множество исследований по разработке вакцин для профилактики или лечения HSVs-инфекций, включая ослабленные живые вакцины, инаktivированные цельновирионные, субъединичные (белковые), на основе нуклеиновой кислоты, генно-инженерные живые вирусы и синтетические пептидные препараты [15], которые также потенциально могли бы снизить уровень заражения ВИЧ и вирусом папилломы человека, однако идеальный кандидат на вакцину остается неясным [22]. Эта дилемма в первую очередь возникает из-за сложной природы патогенеза HSVs и механизмов уклонения от противовирусных иммунных реакций организма-«хозяина», что создает серьезные проблемы при выявлении эффективных мишеней для вакцин, способных вызывать и поддерживать устойчивый иммунный ответ [23]. Кроме того, в настоящее время молекулярные механизмы латентной инфекции HSVs недостаточно ясны [22]. С помощью синтетических противовирусных препаратов – аналогов нуклеозидов, таких как ацикловир (Acyclovir, ACV) и его производные, можно контролировать симптоматические HSVs-инфекции, т.к. они специфически встраиваются в вирусную ДНК и, таким образом, предотвращают вирусную репликацию в эпителии [24] и способствуют снижению тяжести и частоты симптомов болезни, но не приводят к излечению хронической инфекции [12]. Приобретение вирусом лекарственной устойчивости можно констатировать при отсутствии клинического ответа на лечение ACV через неделю после начала терапии. Фоскарнет – ингибитор пирофосфатного аналога ДНК-полимеразы HSVs, применяют для лечения в случае резистентности герпеса к ACV, а также больных с ВИЧ и пациентов с ослабленным иммунитетом. В настоящее время в США и Европе лицензированы ингибиторы вирусной ДНК-полимеразы – ACV, валацикловир (Valacyclovir), фамцикловир (Famciclovir), фоскарнет (Foscarnet), цидофовир (Cidofovir), бринцидофовир (Brincidofovir), ганцикловир (Ganciclovir). В Европе, кроме того, лицензированы ингибиторы комплекса хеликазы-праймазы – бривудин (Brivudin) и аменавир (Amenavir). Для всех этих препаратов описаны серьезные побочные эффекты: нейротоксичность, нефротоксичность, лекарственный гепатит, желудочно-кишечные расстройства и т.д. [25]. Вирусная резистентность к ACV, по оценкам, составляет от 5 до 30 %. Очевидно, что необходимы альтернативные концепции лечения герпесвирусных инфекций и это требует разработки и внедрения в практику новых малотоксичных противовирусных препаратов с различными мишенями противовирусного действия [26]. Полифенольные молекулы, получаемые из растений, в последнее время приобрели популярность как мощные нетоксичные противовирусные соединения [27]. Было показано, что полифенольные соединения подавляют репликацию ДНК и

PHK-содержащих вирусов, вызывающих болезни человека, с помощью различных механизмов действия на разных молекулярных уровнях. Например, Stamos с соавт. сообщили, что эпигаллокатехин-3-галлат (epigallocatechin-3-gallate, EGCG) и его стабильный аналог EGCG-стеарат (EGCG-S), выделенные из листьев чая (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze, *Theaceae*), блокируют *in vitro* прикрепление свободных вирионов HSV-2 к чувствительным клеткам в концентрации 75 μ M (25 мкг/мл). Эти результаты подтверждены данным *in silico* – EGCG-S имеет высокую аффинность связывания с вирусным гликопротеином gD [27]. Фенольные кислоты могут ингибировать ДНК-полимеразу HSVs – важнейший фермент, необходимый для вирусной репликации [28]. Наличие хлорогеновой, кофейной и ванилиновой кислот, а также других полифенольных соединений, обнаруженных в сухом этанольном экстракте баклажана (*Solanum melongena* L., *Solanaceae*), растворенном в ДМСО, авторы связывают с воздействием на экспрессию вирусного gB HSV-1 со значением 50 %-й ингибирующей концентрацией (IC₅₀) 83,4 мкг/мл [29]. Описаны исследования разных флавоноидов, активных против HSVs, таких как, например, рутин, кверцетин, кемпферол, лютеолин, теофлавин-3,3'-дигаллат и др. [30]. В научных центрах разных стран исследуются цельные экстракты растений на активность против HSVs, т.к. они содержат широкий диапазон биологически активных веществ (БАВ). Авторами отмечается, что БАВ растительных препаратов могут влиять на разные этапы «жизненного» цикла HSV-2, как на блокирование прикрепления и проникновения вируса в чувствительную клетку, так и на ингибирование вирусной репликации внутри инфицированной клетки. Соотношение этих механизмов действия БАВ цельных растительных экстрактов составляет примерно 1/1 [31].

Известно, что препараты разных видов полыней (*Artemisia* spp., *Asteraceae*) обладают широким спектром различных терапевтических эффектов – противопаразитарным, инсектицидным, мочегонным, желчегонным, противомаларийным, гепатопротекторным, спазмолитическим, противодиабетическим, противоревматическим, антиоксидантным, антиоцицептивным, противоопухолевым, противовоспалительным, нейпротекторным, антисептическим, антибактериальным, а также противовирусным действием [32]. В литературе в настоящее время описана активность *in vitro* препаратов (водных, метанольных и этанольных экстрактов целых растений или отдельных частей в виде листьев и соцветий) 23-х видов полыней, произрастающих в разных регионах мира, против 17-ти видов вирусов – ВИЧ, гриппа, гепатита С, SARS-CoV-2 и др., в том числе и против HSVs, в основном, против HSV-1. Это такие виды полыней как *A. annua* L. (регионы произрастания: Корея, Китай, Испания, Иран, Германия, Африка), *A. arborescens* (Vaill.) L. (Италия), *A. chamaemelifolia* Vill. (Иран, Болгария), *A. caruifolia* Roxb. (Непал, Китай), *A. douglasiana* Bess. (Аргентина), *A. fragrans* Willd. (Иран), *A. herba-alba* Asso. (Марокко), *A. incana* L. Druce (Иран), *A. kermanensis* Podl. (Иран), *A. mendozaana* D.C. (v.n. ajenjo) (Аргентина), *A. persica* Boiss. (Иран), *A. absinthium* L. (Марокко, Индия). Антивирусную активность *Artemisia* spp. связывают с многочисленными флавоноидами (такими как, например, полиметоксифлавоноиды), и терпенами (такими как,

например, артемизин и артезунат [33]. Несколько научных групп выявили активность эфирного масла листьев *A. arborescens* (Vaill.) L. (Италия) [34], эфирного масла травы *A. chamaemelifolia* Vill. (Иран и Болгария) [35] и этанольного экстракта листьев *A. argyi* H. Lev. & Vaniot (Китай) против HSV-2 [36].

Целью работы была оценка *in vitro* ингибирующей и ингибирующей активности сухих этанольных экстрактов разных видов полыни (*Artemisia* spp.), произрастающих в природе Новосибирской области и Республики Алтай, на репликацию вируса простого герпеса 2 типа (*Herpes simplex virus*, HSV-2).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Растительное сырье. Определение видов растений проводили на местности с использованием данных [37] и в лаборатории «Гербарий» Центрального сибирского ботанического сада СО РАН, г. Новосибирск. Разные виды полыни были собраны в период цветения в природе (в районах Новосибирской области и в Чемальском районе Республики Алтай) и некоторые из них описаны ранее [38] – *A. vulgaris* L., *A. absinthium* L., (Лесной массив на территории Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (ЦСБС СО РАН), г. Новосибирск, 54°48'10.08" с.ш. 83°5'44.88" в.д.); *A. glauca* Pall. Ex Willd. (Новосибирская область, Черепановский район, окрестности деревни Крутишка, 54°10'50" с.ш. 83°08'55" в.д.); *A. dracunculus* L.* (г. Бердск, 54°45' с.ш. 83°06' в.д.), *A. dracunculus* L.** (Новосибирская область, Черепановский район, окрестности деревни Крутишка 54°10'50" с.ш. 83°08'55" в.д.), *A. dracunculus* L.*** (Новосибирская область, Коченевский район, окрестности р.п. Коченево, 55°01' с.ш. 82°13' в.д.); *A. frigida* Willd.* и *A. sieversiana* Ehrh. ex Willd.* (Новосибирская область, Сузунский район, окрестности села Верх-Сузун, 53°40'47" с.ш. 82°17'20" в.д.); *A. frigida* Willd.***, *A. sieversiana* Ehrh. ex Willd.** и *A. macrantha* Ledeb (Чемальский муниципальный район Республики Алтай России, село Эдиган, 51°06'25" с.ш. 86°15'35" в.д. Сухое растительное сырье для получения экстрактов разделяли на отдельные части (стебли, соцветия, листья). Вид *A. pontica* L. собран в пос. Усть-Сумы Каргатского района Новосибирской области (54°50'39" с.ш. 80°14'56" в.д.) и идентифицирован на кафедре фармакогнозии и ботаники НГМУ и исследован в виде экстракта травы.

Основные материалы и методы: получение этанольных экстрактов отдельных частей полыни, подготовка растительных препаратов (растворение сухих экстрактов в диметилсульфоксиде (ДМСО) для исследования цитотоксичности и ингибирующей активности на вирусную репликацию, используемые культура клеток Vero E6 и отрицательные контроли, описаны ранее [38].

В качестве препарата сравнения использовали лиофилизированный препарат ацикловир («ФАРМЛЕНД», Республика Беларусь), растворенный в физиологическом растворе.

Цитотоксичность исследуемых растительных препаратов и ацикловира определяли согласно [39] по 50 %-ной цитотоксичной концентрации в мл (50 % cytotoxic concentration, CC₅₀/ml) на культуре клеток Vero E6 в лунках 96-луночных планшетов (Corning, США), в

поддерживающей питательной среде. В первом варианте эксперимента монослой клеток отмывали и оставляли в поддерживающей питательной среде, а во втором варианте монослой клеток не отмывали от экстрактов.

Вирус простого герпеса 2 типа (HSV-2, штамм MS) пассировали на чувствительной для вируса культуре клеток Vero E6 [40].

Инфекционный титр HSV-2 выражали в бляшко-образующих единицах в мл (БОЕ/мл) как показано в работах [41] и [36].

Анализ ингибирующей активности исследуемых растительных препаратов и ацикловира при прямой нейтрализации (инактивации) свободных вирионов HSV-2 проводили методом общепринятой классической реакции нейтрализации (инактивации) вирусов, в соответствии с «Руководством...» [42], в течение 1 часа при 37 °С в CO₂-инкубаторе до проявления цитопатического действия (ЦПД) вируса в контрольных лунках, содержащих инфицированные клетки.

Анализ ингибирующей активности исследуемых растительных препаратов и контрольных образцов по «профилактической» схеме (нанесение разведений экстрактов на монослой клеток перед их инфицированием) проводили, как описано нами ранее [38].

Анализ ингибирующей активности растительных препаратов по схеме «лечения» клеток (при предварительном инфицировании клеток) проводили, как описано нами ранее [38].

Учет результатов проводили визуально в соответствии с [36] при наблюдении в инвертированный микроскоп при 10-кратном увеличении, а затем после фиксации клеток в течение 30 мин раствором формальдегида и 0,05 %-ным раствором кристаллического фиалетового с 20 % спирта.

Эффективность инактивации и ингибирования репликации вируса экстрактами выражали в 50 %-х эффективных концентрациях (50 % effective concentrations, EC₅₀) по общепринятым методикам и как описано [38].

Селективный индекс (Selectivity index, SI) для 50 %-х цитотоксичных и эффективных концентраций исследуемых экстрактов рассчитывали по общепринятой формуле: SI₅₀=CC₅₀/EC₅₀ как описано [39].

Статистическую обработку результатов по определению цитотоксичности (CC₅₀) и 50 %-ным эффективным концентрациям (EC₅₀) проводили с применением метода Спирмена-Кербера в программе Excel при 95 %-ном уровне надежности (p<0,05). Все анализы *in vitro* проводили и фиксировали в четырех повторях в двух независимых экспериментах. Чтобы подтвердить специфичность противовирусной активности (по значению EC₅₀) в трех в схемах эксперимента (нейтрализация, «лечение» инфицированных клеток и «профилактика» заражения)

исследованных экстрактов по сравнению с их цитотоксичностью (по значению CC_{50}) был проведен однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). В каждый анализ были включены 34 экстракта ($n=8$, т.е. четыре технических повтора в двух независимых экспериментах). В целях выявления различий между конкретными экстрактами был проведен множественный попарный анализ с использованием t-критерия Стьюдента (Welch's t-test, без предположения равенства дисперсий). Суммарное количество попарных сравнений в каждом анализе составило 561. Для коррекции уровня значимости в условиях множественных сравнений была применена поправка Холма (Holm correction). Для оценки зависимости противовирусной активности экстрактов от состава БАВ провели корреляционный анализ по методу Пирсона.

Определение процентного содержания БАВ в растительных экстрактах проводили методами прямой и дифференциальной спектрофотометрии, как описано [43]. Получение извлечения: 0,1 г экстракта растворяли в 10 мл 70 % этанола. В две мерные колбы на 10 мл добавили по 100 мкл полученного раствора и 100 мкл 3 % уксусной кислоты. Далее в одной из колб приготовили раствор А, добавив 70 % этанол до метки; во вторую колбу добавили 1 мл 2 % раствора $AlCl_3$ в 90 % этаноле и затем довели до метки 70 % этанолом – раствор В. После 30 мин выдержки проводили снятие спектров раствора А относительно 70 % этанола и измерение оптической плотности на длине волны 282 нм (характерный максимум катехина) и 330 нм (характерный максимум для хлорогеновой кислоты). Для определения флавоноидов проводили снятие

спектра раствора В относительно раствора А и измерение оптической плотности при длине волны 410 нм – характерный максимум хромогенного комплекса рутина и $AlCl_3$.

Определение содержания X в % полифенольных соединений в пересчете на катехин, суммы оксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту и суммы флавоноидов в пересчете на рутин проводили по формуле Бугера-Ламберта-Бера по величине оптической плотности измеренной на характерной длине волны максимума для катехина – 282 нм [44] хлорогеновой кислоты – 330 нм и флавоноидов в пересчете на рутин 410 нм [ГФ РФ 15].

$$X = \frac{D \cdot V_2 \cdot V_{МК}}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot V_a \cdot m_2}$$

D – оптическая плотность

V_2 – объем экстрагента, в котором развели навеску, мл

$V_{МК}$ – объем мерной колбы, мл

V_a – объем аликвоты, мл

m_2 – масса навески экстракта, г

$A_{1\text{см}}^{1\%}$ – процентный коэффициент экстинкции катехина, хлорогеновой кислоты и рутина с $AlCl_3$

Статистический анализ полученных результатов (объем выборки – $n=10$) проводили по стандартной методике с определением среднего арифметического, стандартного отклонения и доверительного интервала. Расчет выполнялся с использованием программы Microsoft Excel. Спектры исследуемого извлечения и стандартных образцов представлены на рис. 1.

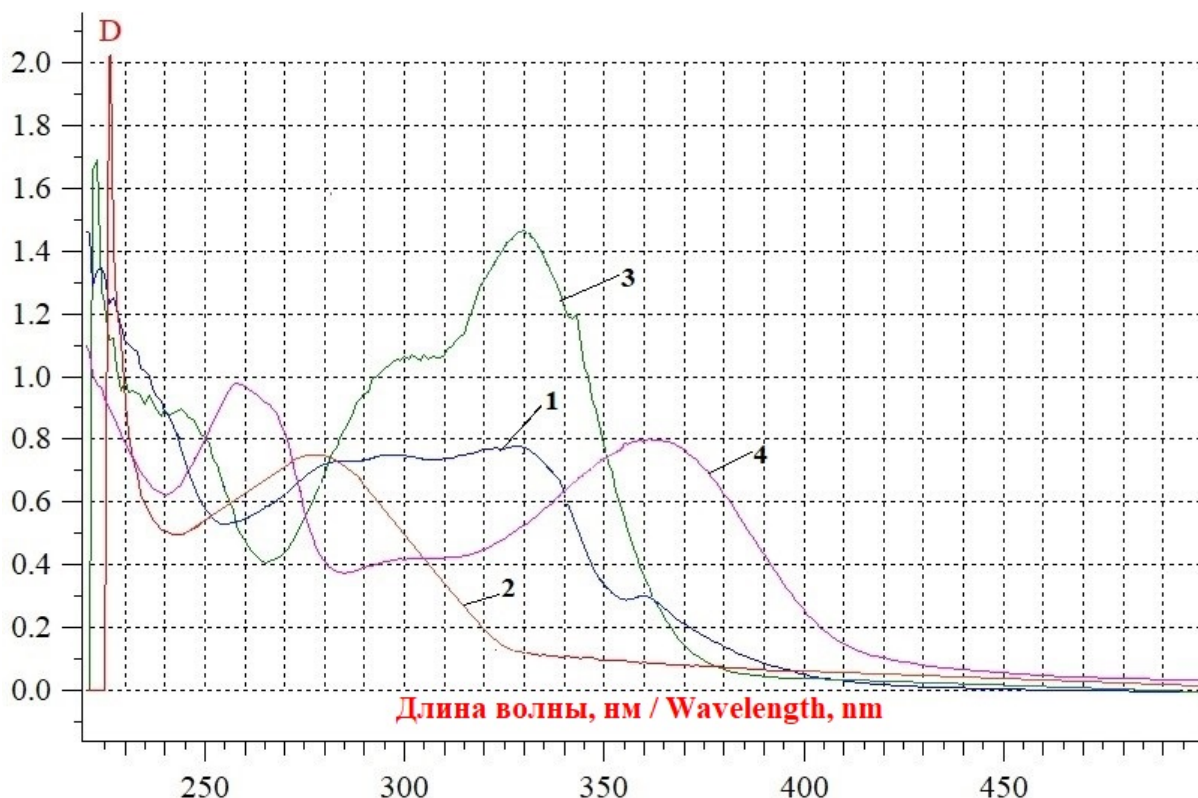


Рисунок 1. УФ-спектры извлечения (1) и стандартных образцов катехина (2), хлорогеновой кислоты (3) и рутина (4)
Figure 1. UV-vis spectra: extract (1) and reference samples of catechin (2), chlorogenic acid (3) and rutin (4)

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Тестирование цитотоксичности экстрактов полыни и анализ инактивирующей активности на свободные вирионы HSV-2 при прямой нейтрализации

По данным, представленным в табл. 1, видно, что из всех исследованных экстрактов более высокую цитотоксичность проявляют сухие этанольные экстракты листьев *A. dracunculus** и *A. dracunculus**** – 437,50±80,18 мкг/мл, а также *A. vulgaris* – 633,12±171,25. Экстракт травы *A. macrantha* с CC_{50} = 875,0±160,32 мкг/мл оказался более токсичным, чем экстракт травы *A. pontica* (6750,00±2151,81 мкг/мл). Экстракты стеблей, в основном, оказались практически не токсичны для клеток VeroE6 – при концентрации 1750±320,77 мкг/мл, за исключением *A. vulgaris* (875,0±160,32 мкг/мл) и *A. dracunculus**** (750,00±185,19 мкг/мл). Экстракты соцветий также, в основном, проявили низкую цитотоксичность со значением CC_{50} , равной 1750±320,77 мкг/мл, за исключением *A. dracunculus** (437,50±80,18 мкг/мл), *A. dracunculus**** (750,00±185,19 мкг/мл), *A. sieversiana*** (875,0±160,32 мкг/мл). Ацикловир, как контрольный образец, в данном тестировании оказался токсичен при 3125,00±801,93 мкг/мл (табл. 1). По данным литературы, цитотоксичность спиртовых (метанольных и этанольных) растительных экстрактов в диапазоне 100–500 мкг/мл считается невысокой [45–47].

Вирусы простого герпеса необычны тем, что, в отличие от большинства оболочечных вирусов, им требуется, по меньшей мере, четыре гликопротеина – gD, gB, gH и gL – для проникновения в клетки-мишени [48]. Прямая инаktivация (нейтрализация) HSV-2 влияет на его способность адсорбироваться и проникать в клетки-«хозяева», поэтому этот метод применяется для первичного скрининга препаратов с антивирусным действием [40; 49–51]. В наших экспериментах при прямой инаktivации HSV-2 с инфекционным титром

10^3 БОЕ/мл выявлены 50 %-ные концентрации (EC_{50}) в таком диапазоне: для экстрактов листьев полыней от 2,46±0,63 мкг/мл (*A. vulgaris*) до 27,34±5,01 мкг/мл (*A. frigida** и *A. frigida***); для экстрактов стеблей от 27,34±5,01 мкг/мл (*A. glauca*) до 218,75±40,09 мкг/мл (*A. dracunculus***) и для экстрактов соцветий от 8,29±2,50 мкг/мл (*A. dracunculus****) до 117,18±15,30 мкг/мл (*A. absinthium*); для экстрактов травы *A. macrantha* и *A. pontica* – 13,67±2,50 и 30,85±7,91 мкг/мл, соответственно. В соответствии с показателями CC_{50} , наиболее высокие индексы селективности (SI_{50}) экстрактов в при прямой инаktivации HSV-2 можно расположить в следующем порядке (по убывающей) для экстрактов листьев: 257 (*A. vulgaris*), 179,67 (*A. sieversiana**), 119,53 (*A. frigida***), 102,45 (*A. absinthium*), 92,53 (*A. glauca*) и 90,47 (*A. dracunculus****). Высокий показатель SI_{50} выявлен для экстракта травы *A. pontica* – 218,80, что связано с его самой низкой токсичностью среди исследованных препаратов полыни (CC_{50} =6750,00±2151,81 мкг/мл) (табл. 1). По данным Cheng с соавт., метанольный экстракт листьев *Pterocarya stenoptera* C. DC. (*Juglandaceae*) при прямой инаktivации вируса с EC_{50} в диапазоне концентраций 8,0–52,0 мкг/мл оказывает высокую вирулицидную активность против 10^3 БОЕ/мл HSV-2 [50]. Liu соавт. показали, что сухой этанольный экстракт полыни и вида *A. argyi* в концентрации 10 мкг/мл оказывает мощное прямое противовирусное действие как на обычные, так и на устойчивые к ACV штаммы HSV-1 и HSV-2 [36]. Ацикловир по механизму действия встраивается в вирусную ДНК, предотвращая репликацию вируса внутри инфицированной клетки [24], тем не менее, в наших экспериментах по нейтрализации HSV-2 одного часа экспозиции оказалось достаточно для проникновения препарата в клетки и проявление активности при концентрации препарата 29,29±7,22 мкг/мл и SI_{50} =106,69 (табл. 1).

Таблица 1. Результаты по цитотоксичности и инактивирующей активности экстрактов полыни на свободные вирионы HSV-2 при прямой нейтрализации

Table 1. Results on cytotoxicity and inactivating activity of wormwood extracts on free HSV-2 virions during direct neutralisation

Вид полыни Type of wormwood	Части растения Parts of plant	50%-ная цитотоксичная концентрация (в мкг/мл) CC_{50} in µg/ml	50%-ная эффективная концентрация (в мкг/мл) EC_{50} in µg/ml	SI_{50}
полынь обыкновенная (чернобыльник) <i>A. vulgaris</i>	Листья Leaves	633,12±171,25	2,46±0,63	257,36
	Стебель Stem	875,0±160,32	54,68±10,02	16,00
	Соцветия Inflorescences	1750±320,77	42,96±11,20	40,76
полынь серая (сизая) <i>A. glauca</i>	Листья Leaves	812,50±179,31	8,78±1,91	92,53
	Стебель Stem	1750±320,77	27,34±5,01	64,00
	Соцветия Inflorescences	1750±320,77	54,68±10,02	32,00
полынь тархун (эстрагон)* <i>A. dracunculus*</i>	Листья Leaves	437,50±80,18	6,83±1,24	64,00
	Стебель Stem	1750±320,77	58,59±7,65	29,86
	Соцветия Inflorescences	437,50±80,18	54,68±10,02	8,00

полынь горькая A. absinthium	Листья Leaves	750,00±185,19	7,32±0,94	102,45
	Стебель Stem	1750±320,77	109,37±20,04	16,00
	Соцветия Inflorescences	1750±320,77	117,18±15,30	14,93
полынь тархун (эстрагон)** A. dracunculus**	Листья Leaves	1750±320,77	23,43±5,78	74,69
	Стебель Stem	1750±320,77	218,75±40,09	8,00
	Соцветия Inflorescences	1750±320,77	109,37±20,04	16,00
полынь тархун (эстрагон)*** A. dracunculus***	Листья Leaves	437,50±80,18	13,67±2,50	32,00
	Стебель Stem	750,00±185,19	54,68±10,02	13,71
	Соцветия Inflorescences	750,00±185,19	8,29±2,50	90,47
полынь холодная* A. frigida*	Листья Leaves	1750±320,77	27,34±5,01	64,00
	Стебель Stem	1750±320,77	54,68±10,02	32,00
	Соцветия Inflorescences	1750±320,77	27,34±5,01	64,00
полынь Сиверса* A. sieversiana*	Листья Leaves	875,0±160,32	4,87±1,24	179,67
	Стебель Stem	1750±320,77	54,68±10,02	32,00
	Соцветия Inflorescences	1750±320,77	27,34±5,01	64,00
полынь холодная** A. frigida**	Листья Leaves	1750±320,77	27,34±5,01	64,00
	Стебель Stem	1750±320,77	54,68±10,02	32,00
	Соцветия Inflorescences	1750±320,77	14,64±1,91	119,53
полынь Сиверса** A. sieversiana**	Листья Leaves	875,0±160,32	19,53±5,01	44,80
	Стебель Stem	1750±320,77	54,68±10,02	32,00
	Соцветия Inflorescences	875,0±160,32	27,34±5,01	32,00
полынь крупноцветковая A. macrantha	Трава Grass	875,0±160,32	13,67±2,50	64,00
	Стебель Stem	1750±320,77	109,37±20,04	16,00
полынь понтийская A. pontica	Трава Grass	6750,00±2151,81	30,85±7,91	218,80
Ацикловир / Aciclovir		3125,00±801,93	29,29±7,22	106,69
Отрицательные контроли Negative controls		-	-	-

Примечание: – нет эффекта; трава – это соцветия и лист; отрицательные контроли (поддерживающая питательная среда для культуры клеток и ДМСО в объемах, соответствующих содержанию этого растворителя в исследуемых растительных препаратах, и физиологический раствор для растворения ацикловира; **A. dracunculus*** (г. Бердск), **A. dracunculus**** (Черепановский район, окрестности деревни Крутишка), **A. dracunculus***** (р.п. Коченево); **A. frigida*** и **A. sieversiana*** (Сузунский район, окрестности села Верх-Сузун), **A. frigida****, **A. sieversiana**** и **A. macrantha** (Чемальский муниципальный район Республики Алтай России, село Эдиган). HSV-2 использовали с инфекционным титром 10³ БОЕ/мл

Note: – there is no effect; grass is an inflorescence and a leaf; negative controls (a supportive nutrient medium for cell culture and DMSO in volumes corresponding to the content of this solvent in the studied herbal preparations and a saline solution for dissolving acyclovir; **A. dracunculus*** (city Berdsk), **A. dracunculus**** (Cherepanovsky district, surroundings of the village of Krutishka), **A. dracunculus***** (Kochenevo village); **A. frigida*** and **A. sieversiana*** (Suzun district, surroundings of the village of Verh-Suzun), **A. frigida****, **A. sieversiana**** and **A. macrantha** (Chemalsky municipal district of the Altai Republic of Russia, village of Edigan). HSV-2 was used with an infectious titer of 10³ PFU/ml

Результаты однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) подтвердили наличие статистически значимых различий в показателях цитотоксичности экстрактов разных видов полыни (для схемы нейтрализации вируса) между группами: $F(33, 238) = 20,78$, $p = 6,76 \times 10^{-53}$, F критическое = 1,49 (табл. 2). Это свидетельствует о выраженной вариабельности цитотоксического действия экстрактов отдельных частей растений на клеточную культуру и необходимости уточнения различий с использованием парных статистических тестов. Для определения парных статистически значимых различий между экстрактами был проведен множественный анализ t-критерием Стьюдента (Welch's t-test, без предположения равенства дисперсий). Для учета множественных сравнений применена поправка Холма к p-value. Всего было проведено 561 сравнение. Полученные результаты показали, что наименее токсичными (т.е. с наибольшими значениями CC_{50}) оказались: стеблевые и травяные экстракты *A. frigida*, *A. sieversiana*, *A. dracunculus*, *A. macrantha* – CC_{50} до 2000 мкг/мл; *A. pontica* – CC_{50} от 333,3 до 1000 мкг/мл и ацикловир (контроль) с $CC_{50}=1111,1$ мкг/мл. В то же время,

наиболее токсичными оказались: экстракты листьев *A. vulgaris*, *A. absinthium*, *A. dracunculus* (Бердск, Коченево) с $CC_{50}=125-312,5$ мкг/мл и экстракты листьев *A. sieversiana* и *A. frigida* (Эдиган) – 312,5 мкг/мл. Статистически значимые различия по цитотоксичности выявлены между экстрактами: листьев и стеблей/соцветий большинства видов, географически различными образцами одного вида (например, *A. dracunculus* из Бердска и Коченево), контрольным препаратом (ацикловир) и подавляющим числом растительных образцов.

С целью определения различий между группами по EC_{50} , выявленных по схеме «нейтрализация» также был выполнен ANOVA, результаты которого показали наличие статистически значимых различий между экстрактами: $F(33, 238) = 57,61$, $p = 4,24 \times 10^{-95}$, F критическое = 1,49 (табл. 2). Таким образом, гипотеза о равенстве средних EC_{50} для всех исследованных экстрактов отвергается с высокой степенью достоверности. Это указывает на существование выраженной вариабельности антивирусной активности в зависимости от ботанического происхождения, используемой части растения и места сбора образцов.

Таблица 2. Суммарные данные по статистическому анализу различий исследованных экстрактов по цитотоксичности (по значению CC_{50}) и противовирусной активности (по значению EC_{50}) в трех в схемах эксперимента (нейтрализация, «лечение» инфицированных клеток и «профилактика» заражения)

Table 2. Summary data on the statistical analysis of differences between the studied extracts for cytotoxicity (CC_{50} value) and antiviral activity (EC_{50} value) in three experimental schemes (neutralisation, "treatment" of infected cells and "prevention" of infection)

Схема анализа Analysis scheme	F-значение F-value	P-значение P-value	F критическое F critical	Статистическая значимость Statistical significance
CC_{50} для схемы нейтрализации CC_{50} for scheme of neutralization	20,78	$6,76 \times 10^{-53}$	1,49	+
EC_{50} в реакции нейтрализации EC_{50} in the neutralization reaction	57,61	$4,24 \times 10^{-95}$	1,49	+
CC_{50} для схемы «лечение»/ «профилактика» CC_{50} for the "treatment" or "prevention" schemes	13,65	$1,53 \times 10^{-38}$	1,49	+
EC_{50} в реакции «лечение» EC_{50} in the "treatment" response	43,99	$3,89 \times 10^{-83}$	1,49	+
EC_{50} в реакции «профилактика» EC_{50} in the "prevention" reaction	50,46	$3,68 \times 10^{-89}$	1,49	+

Для более детального анализа были проведены множественные попарные сравнения между всеми экстрактами с использованием t-критерия Стьюдента (Welch's t-test для независимых выборок). Всего было выполнено 561 попарное сравнение. Для контроля вероятности ошибки первого рода была применена поправка Холма к p-value. На основании результатов t-теста установлено следующее: наиболее активные экстракты (с низким значением EC_{50}): *A. vulgaris* (листья) с $EC_{50}=2,47$ мкг/мл, *A. glauca* (листья) с $EC_{50}=8,79$ мкг/мл, *A. absinthium* (соцветия) с $EC_{50}=13,67$ мкг/мл, *A. dracunculus* (листья, Коченево) с $EC_{50}=14,65$ мкг/мл, *A. sieversiana* (листья, Сузун) с $EC_{50}=14,65$ мкг/мл. Наименее активные экстракты (с высокими значениями EC_{50}) получены из травы *A. pontica* (с $EC_{50} \approx 30,86$ мкг/мл), стеблей или травы *A. dracunculus*,

A. sieversiana, *A. frigida*, *A. macrantha* (с $EC_{50} > 109$ мкг/мл) и стебля *A. macrantha* (с $EC_{50} = 218,75$ мкг/мл). Таким образом, полученные данные показали четкую зависимость антивирусной активности экстрактов от используемой части растения, т.к. листья и соцветия продемонстрировали значительно более высокую активность по сравнению со стеблевыми и травяными экстрактами. Также отмечается географическая вариабельность активности у вида полыни *A. dracunculus*, собранной в разных географических регионах. Кроме того, анализ показал, что цитотоксичность экстрактов (при контакте с монослоем клеток в течение 1 часа и отмыжкой) варьирует в широких пределах. При этом стеблевые и травяные части растения обладают минимальной токсичностью, в то время как листья, обладающие

высокой противовирусной активностью, характеризуются умеренной или выраженной токсичностью. Это следует учитывать при расчете терапевтического индекса (SI_{50}) и дальнейшем выборе экстрактов для доклинических исследований по схеме «нейтрализация» (инактивация вируса). Контрольный препарат ацикловир в данной реакции проявил активность с $EC_{50}=29,29\pm 7,22$ мкг/мл, что можно не учитывать, т.к. его механизм действия не может быть связан с прямой инактивацией свободных вирионов – это результат проникновения препарата в инфицированные клетки в течение одного часа экспозиции с клеточным монослоем.

2. Тестирование цитотоксичности и анализ ингибирующей активности экстрактов полыни на репликацию HSV-2 по схемам «профилактика» заражения и «лечение» инфицированных клеток

Согласно данным литературы, такие схемы экспериментов как «профилактическая» схема (т.е. нанесение разведений экстрактов на монослой клеток перед их инфицированием) и схема «лечения» клеток (т.е. при предварительном инфицировании клеток и последующей обработкой препаратами) используют для анализа БАВ, действующих на важные этапы «жизненного» цикла вируса, находящегося внутри инфицированной клетки. Мы проводили тестирование цитотоксичности экстрактов, титрованных в поддерживающей питательной среде при их нанесении на монослой клеток Vero E6, и не отмывали. В результате, очевидно повышение токсичности экстрактов для клеток (табл. 3), в отличие от экспозиции в течение часа и отмывкой с монослоя, как показано выше (табл. 1). Особенно это заметно для экстрактов листьев. Например, повысилась токсичность экстрактов листьев *A. dracunculus* и *A. absinthium*, *A. dracunculus**** до $156,25\pm 40,09$ мкг/мл; *A. vulgaris* до $187,5\pm 46,29$ мкг/мл; *A. dracunculus***, *A. sieversiana**,

*A. frigida*** и *A. sieversiana** до $312,50\pm 80,18$ мкг/мл. также значительно повысились значения CC_{50} для экстрактов трав *A. macrantha* и *A. pontica* – до $312,50\pm 80,18$ и $666,66\pm 246,93$ мкг/мл, соответственно (табл. 3). По данным Karamoddini с соавт., токсичность для клеток Hela (клеток опухоли матки), используемых для исследования метанольных экстрактов видов полыни *A. annua*, *A. chamaemelifolia*, *A. campestris*, *A. fragrans*, *A. incana*, *A. persica* и *A. vulgaris* на ингибирующую активность HSV-1 по схеме «лечения» клеток (т.е. без отмывки экстрактов с монослоя), определена в диапазоне концентраций 200–400 мкг/мл [52].

В результате наших экспериментов, как и при прямой инактивации вируса, наиболее эффективными оказались экстракты листьев полыни в диапазоне концентраций от $14,64\pm 1,91$ до $54,68\pm 10,02$ мкг/мл. С учетом низкой цитотоксичности, наиболее высокие индексы селективности определены для экстракта листьев *A. glauca* – 51,22 и 32,01, соответственно. Экстракты стеблей полыни в данных схемах проявили низкую активность – в диапазоне концентраций от $54,68\pm 10,02$ до $218,75\pm 40,09$ мкг/мл. Активность экстрактов соцветий полыней определена в широком диапазоне – от $13,67\pm 2,50$ до $218,75\pm 40,09$ мкг/мл. Наиболее эффективными оказались экстракты соцветий *A. absinthium* (с $EC_{50}=13,67\pm 2,50$ мкг/мл в двух схемах и $SI_{50}=45,72$), *A. dracunculus*** (с $EC_{50}=14,64\pm 1,91$ и $27,34\pm 5,01$ мкг/мл), *A. frigida** (с $EC_{50}=27,34\pm 5,01$ мкг/мл в двух схемах и $SI_{50}=54,86$). Для экстракта травы *A. macrantha* с $EC_{50}=27,34\pm 5,01$ мкг/мл в двух схемах, $SI_{50}=11,43$ в связи с более высокой цитотоксичностью. Экстракт травы *A. pontica* был менее активен – с $EC_{50}=55,55$ и $74,07$ мкг/мл (табл. 3). Ацикловир, как и ожидалось при его проникновении в инфицированные клетки, проявил значительную эффективность по двум схемам эксперимента – «профилактической» и «лечебной» – с $EC_{50}=1,9$ мкг/мл и $SI_{50}=584,78$.

Таблица 3. Результаты по цитотоксичности и ингибирующей активности экстрактов полыни по схемам «профилактики» и «лечения» клеток, инфицированных HSV-2

Table 3. Results on cytotoxicity and inhibitory activity of wormwood extracts according to the schemes of "prevention" and "treatment" of HSV-2 infected cells

Вид полыни A type of wormwood	Части растения Parts of plant	50%-ная цитотоксичная концентрация (в мкг/мл) CC_{50} in $\mu\text{g/ml}$	Схема «профилактика» заражения Scheme of Infection "prevention"		Схема «лечение» инфицированных клеток Scheme of "treatment" of infected cells	
			EC_{50} мкг/мл EC_{50} $\mu\text{g/ml}$	SI_{50}	EC_{50} мкг/мл EC_{50} $\mu\text{g/ml}$	SI_{50}
<i>A. vulgaris</i>	Листья Leaves	$187,5\pm 46,29$	$14,64\pm 1,91$	12,80	$19,53\pm 5,01$	9,60
	Стебель Stem	$750,00\pm 185,19$	$54,68\pm 10,02$	13,71	$109,37\pm 20,04$	6,85
	Соцветия Inflorescences	$750,00\pm 185,19$	$54,68\pm 10,02$	13,71	$109,37\pm 20,04$	6,85
<i>A. glauca</i>	Листья Leaves	$750,00\pm 185,19$	$14,64\pm 1,91$	51,22	$23,43\pm 5,78$	32,01
	Стебель Stem	$875,0\pm 160,32$	$109,37\pm 20,04$	8,00	$54,68\pm 10,02$	16,00
	Соцветия Inflorescences	$750,00\pm 185,19$	$27,34\pm 5,01$	27,43	$54,68\pm 10,02$	13,71
<i>A. dracunculus</i> *	Листья Leaves	$156,25\pm 40,09$	$27,34\pm 5,01$	5,71	$27,34\pm 5,01$	5,71
	Стебель Stem	$875,0\pm 160,32$	$109,37\pm 20,04$	8,00	$203,12\pm 44,82$	4,30

	Соцветия Inflorescences	750,00±185,19	54,68±10,02	13,71	109,37±20,04	6,85
A. absinthium	Листья Leaves	156,25±40,09	27,34±5,01	5,71	54,68±10,02	2,85
	Стебель Stem	750,00±185,19	54,68±10,02	13,71	109,37±20,04	6,85
	Соцветия Inflorescences	625,00±160,38	13,67±2,50	45,72	13,67±2,50	45,72
A. dracunculus**	Листья Leaves	312,50±80,18	27,34±5,01	11,43	14,64±1,91	21,34
	Стебель Stem	1500,00±370,39	218,75±40,09	6,85	218,75±40,09	6,85
	Соцветия Inflorescences	750,00±185,19	27,34±5,01	27,43	27,34±5,01	27,43
A. dracunculus***	Листья Leaves	156,25±40,09	27,34±5,01	5,71	14,64±1,91	10,67
	Стебель Stem	312,50±80,18	54,68±10,02	5,71	54,68±10,02	5,71
	Соцветия Inflorescences	312,50±80,18	14,64±1,91	21,34	27,34±5,01	11,43
A. frigida*	Листья Leaves	750,00±185,19	54,68±10,02	13,71	109,37±20,04	6,85
	Стебель Stem	1500,00±370,39	109,37±20,04	13,71	218,75±40,09	6,85
	Соцветия Inflorescences	1500,00±370,39	27,34±5,01	54,86	27,34±5,01	54,86
A. sieversiana*	Листья Leaves	312,50±80,18	27,34±5,01	11,43	54,68±10,02	5,71
	Стебель Stem	1500,00±370,39	218,75±40,09	6,85	218,75±40,09	6,85
	Соцветия Inflorescences	750,00±185,19	109,37±20,04	6,85	218,75±40,09	3,42
A. frigida**	Листья Leaves	312,50±80,18	27,34±5,01	11,43	14,64±1,91	21,34
	Стебель Stem	750,00±185,19	109,37±20,04	6,85	109,37±20,04	6,85
	Соцветия Inflorescences	750,00±185,19	54,68±10,02	13,71	109,37±20,04	6,85
A. sieversiana**	Листья Leaves	312,50±80,18	27,34±5,01	11,43	54,68±10,02	5,71
	Стебель Stem	750,00±185,19	109,37±20,04	6,85	218,75±40,09	3,42
	Соцветия Inflorescences	750,00±185,19	54,68±10,02	13,71	109,37±20,04	6,85
A. macrantha	Трава Grass	312,50±80,18	27,34±5,01	11,43	27,34±5,01	11,43
	Стебель Stem	750,00±185,19	218,75±40,09	3,42	218,75±40,09	3,42
A. pontica	Трава Grass	666,66±246,93	55,55±23,76	12,00	74,07±27,43	9,00
Ацикловир / Aciclovir		1111,10±411,55	1,9±0,48	1,9	1,9±0,48	584,78
Отрицательные контроли Negative controls		-	-	-	-	-

Примечание: соответствует табл. 1. HSV-2 использовали с инфекционным титром 10^2 БОЕ/мл
 Note: corresponds to Table 1 but HSV-2 was used with an infectious titer of 10^2 PFU/ml.

Анализ результатов с использованием ANOVA для оценки различий в цитотоксичности экстрактов полыни для схемы «лечения» и/или «профилактики» показал наличие выраженной статистической неоднородности: $F(33, 238) = 13,65$, $p = 1,53 \times 10^{-38}$, F критическое = 1,49 (см. табл. 2). Полученные значения подтверждают существование значимых различий в токсичности между экстрактами, что обосновывает применение парных сравнений. На втором этапе были проведены

множественные попарные сравнения t-критерием Стьюдента (Welch's t-test, без предположения о равенстве дисперсий). Общее число сравнений составило 561. Для контроля ошибки первого рода в условиях множественных сравнений была применена поправка Холма к значению p-value. В результате анализа установлено, что наименее токсичными (с наибольшим значением CC_{50}) являются: стеблевые и травяные экстракты: *A. dracunculus*, *A. frigida*,

A. sieversiana, *A. macrantha* с CC_{50} до 2000 мкг/мл, *A. pontica* (трава) с CC_{50} 333,3–1000 мкг/мл и ацикловир (контроль) с CC_{50} = 1666,6 мкг/мл. Наиболее токсичными экстрактами оказались: экстракты листьев *A. vulgaris*, *A. absinthium*, *A. dracunculus* с CC_{50} =125–312,5 мкг/мл и экстракты листьев *A. sieversiana*, *A. frigida* с CC_{50} =312,5 мкг/мл. Статистически значимые различия выявлены между: листьями и стеблями большинства ботанических видов ($p < 0,05$, поправка Холма); образцами одного вида *A. dracunculus*, собранными в разных географических регионах; большинством растительных экстрактов и контрольным препаратом (ацикловир).

Чтобы подтвердить различия исследованных экстрактов в противовирусной активности по значению EC_{50} в схеме «лечение» инфицированных клеток также был проведен ANOVA. Результаты показали (см. табл. 2) наличие статистически значимых различий между группами ($F(33, 238) = 43,99$, $p < 0,0001$), что показывает, что различные растительные препараты эффективны неоднородно по этой схеме эксперимента. С целью выявления различий между конкретными экстрактами был проведен множественный попарный анализ с использованием t-критерия Стьюдента (Welch's t-test, без предположения равенства дисперсий). Суммарное количество попарных сравнений составило 561. Для коррекции уровня значимости в условиях множественных сравнений была применена поправка Холма (Holm correction). Наименьшие значения EC_{50} были выявлены для экстрактов листьев *A. absinthium* ($13,67 \pm 2,5$ мкг/мл), *A. dracunculus* (Сузун и Коченево; $14,65 \pm 1,91$ мкг/мл), а также для экстракта соцветий *A. absinthium*. Эти образцы оказались статистически значимо более эффективными ($p < 0,05$, Holm-коррекция) по сравнению с большинством других экстрактов, в том числе со всеми экстрактами стеблей и трав. Экстракты стеблей, независимо от вида полыни, показали существенно более высокие значения EC_{50} (в диапазоне 109,37–250 мкг/мл), что статистически подтверждено в ряде сравнений ($p < 0,05$). Аналогично, экстракты травы *A. pontica* и *A. macrantha* продемонстрировали высокие значения EC_{50} ($74,07 \pm 27,43$ и $218,75 \pm 40,09$ мкг/мл соответственно), значимо превышающие показатели наиболее эффективных препаратов. Выраженные различия противовирусной активности, выявленной по схеме «лечение» инфицированных клеток, между экстрактами, полученными из одного и того же вида полыни *A. dracunculus*, но собранными в разных географических точках (из Бердска, Сузуна и Коченево), также были статистически подтверждены. Это позволяет предположить влияние места сбора на концентрацию биологически активных соединений и соответствующую активность препаратов. В качестве положительного контроля использовался ацикловир (с EC_{50} = $1,9 \pm 0,48$ мкг/мл), который показал ожидаемо высокую эффективность, статистически значимо превосходя все растительные экстракты ($p < 0,001$).

Результаты ANOVA по профилактической схеме эксперимента подтвердили наличие статистически значимых различий между экстрактами ($F(33, 238) = 50,46$, $p < 0,0001$) (см. табл. 2), что свидетельствует о выраженной вариабельности EC_{50} и, следовательно, эффективности препаратов в данной схеме. Для уточнения различий между конкретными парами экстрактов были проведены множественные

попарные сравнения с использованием t-критерия Стьюдента (с допущением неравенства дисперсий). Общее количество попарных сравнений составило 561. Для контроля уровня ошибки первого рода при множественных сравнениях использована поправка Холма. В результате, наименьшие значения EC_{50} были выявлены для экстрактов листьев *A. vulgaris* и *A. glauca* (с EC_{50} = $14,65$ мкг/мл), а также экстракта соцветий *A. absinthium* (с EC_{50} = $13,67$ мкг/мл), что статистически значимо отличает их от большинства других экстрактов ($p < 0,05$, Holm-коррекция). Эти образцы проявили антигерпетическую эффективность, сопоставимую с наиболее активными экстрактами, выделенными по схеме «лечение» инфицированных клеток. Для стеблевых экстрактов (например, *A. dracunculus*, *A. sieversiana*, *A. frigida*, *A. macrantha*) определены наивысшие значения EC_{50} (до $218,75$ мкг/мл), что подтверждает их значительно меньшую эффективность. Различия между стеблевыми и листовыми/соцветий экстрактами большинства видов полыни оказались статистически значимыми. Также были выявлены также различия между экстрактами одного и того же ботанического вида, но собранными в различных географических локациях. В частности, экстракты листьев *A. dracunculus* из Коченево и Сузуна оказались значимо эффективнее, чем экстракты стеблей и соцветий этого вида полыни, собранного в Бердске. Это позволяет предполагать вклад региональных условий в вариацию накопления БАВ. Экстракты травы (*A. pontica*, *A. macrantha*) показали средние и высокие значения EC_{50} ($55,5 \pm 23,76$ и $218,75 \pm 40,09$ мкг/мл) и не отличались по эффективности от наименее активных образцов. Контрольный препарат ацикловир проявил активность с EC_{50} = $1,9 \pm 0,48$ мкг/мл, как и по схеме «лечение» инфицированных клеток, что значительно превосходит все растительные препараты по эффективности по профилактической схеме эксперимента ($p < 0,001$ в каждом попарном сравнении). В целом, статистический анализ подтвердил высокую эффективность экстрактов листьев и соцветий *A. absinthium*, *A. glauca* и *A. vulgaris* в профилактической схеме, а также продемонстрировал значимые различия, связанные как с ботанической принадлежностью, так и с анатомо-географическим происхождением сырья.

Таким образом, дополнительный статистический анализ подтверждает, что экстракты листьев и соцветий разных видов полыни обладают не только высокой антивирусной активностью (согласно выявленным показателям EC_{50}) при сравнении с литературными данными, но и более выраженной цитотоксичностью, тогда как стеблевые и травяные фракции характеризуются существенно меньшей токсичностью, но и слабой эффективностью против вируса герпеса *in vitro*. Полученные данные подчеркивают важность учета CC_{50} при выборе экстрактов для дальнейшей оценки терапевтического индекса (SI_{50}) и доклинического тестирования по схеме «лечение» инфицированных клеток и/или «профилактика» заражения.

3. Определение БАВ в экстрактах методом спектрофотометрии

Спектрофотометрический анализ показал, что экстракты ***A. dracunculus***** (место сбора Черепановский район, окрестности деревни Крутишка, $54^{\circ}10'50''$ с.ш. $83^{\circ}08'55''$ в.д.) содержит более высокий уровень

флавоноидов в процентном отношении (15,83 % в листьях, 9,89 % в стеблях, 13,17 % в соцветиях), полифенольных соединений (26,0 % в листьях, 25,0 % в стеблях, 31,60 % в соцветиях) и оксикоричных кислот (34,00 % в листьях, 12,40 % в стеблях, 12,60 % в соцветиях) в отличие от экстрактов этого вида полыни, собранных в других местах Новосибирской области – * г. Бердск (54°45' с.ш. 83°06' в.д.) и *** Коченевский район, окрестности р.п. Коченево (55°01' с.ш. 82°13' в.д.). Сравнение содержания БАВ *A. frigida*, собранной в Новосибирской области и Республике Алтай, не выявило значительных отличий, кроме того, что экстракт листьев полыни, собранной в Сузунском районе, содержит более значительное количество полифенольных соединений в пересчете на катехин – 27,20 %, чем экстракт листьев этого вида полыни, собранной в горном Алтае – 8,7 %. Немного отличается содержание БАВ в экстрактах *A. sieversiana* – в листьях и соцветиях *A. sieversiana** (место сбора Сузунский район Новосибирской области) выше уровень флавоноидов – 11,37 и 8,46 %, соответственно, чем в соответствующих экстрактах *A. sieversiana*** (место сбора Чемальский муниципальный район Республики Алтай) – 2,74 и 2,77 %, соответственно. В экстрактах листьев и стеблей *A. sieversiana*** выше уровень полифенольных соединений в пересчете на катехин – 16,30 и 16,50 %, соответственно (табл. 4).

По содержанию суммы флавоноидов в пересчете на рутин приготовленные нами экстракты (части растения) можно расположить в следующем порядке (по убывающей): соцветия *A. glauca* (26,11 %), листья *A. dracunculus*** (15,83 %), листья *A. glauca* (14,23 %), соцветия *A. dracunculus*** (13,17 %), стебель *A. glauca* и трава *A. pontica* (12,80 %), соцветия *A. frigida** (11,71%), листья *A. sieversiana** (11,37 %), соцветия *A. frigida*** (10,86 %), стебель *A. dracunculus*** (9,89 %), трава *A. macrantha* (9,71 %), листья *A. frigida*** (8,65 %), соцветия *A. sieversiana** (8,46 %), стебель *A. frigida** (6,67 %), соцветия *A. vulgaris* (6,40 %), стебель *A. sieversiana*** (6,06 %), стебель *A. frigida*** (5,43 %), соцветия *A. absinthium* (4,16 %), листья *A. vulgaris* (3,74 %), стебель *A. dracunculus***** (3,35 %), соцветия *A. dracunculus***** (2,94 %), листья *A. dracunculus** (2,66 %), соцветия *A. dracunculus** (2,11 %), листья *A. frigida** (1,59 %), стебель *A. dracunculus** (1,13 %), стебель *A. absinthium* (2,91 %), соцветия *A. sieversiana*** (2,77 %), листья *A. absinthium* (2,79 %), листья *A. sieversiana*** (2,74 %), стебель *A. macrantha* (2,0 %), стебель *A. sieversiana** (2,0 %), листья *A. dracunculus***** (0,89 %) (табл. 4).

По содержанию полифенольных соединений в пересчете на катехин экстракты (части растения) можно расположить в следующем порядке (по убывающей): соцветия *A. dracunculus*** (31,6 %), соцветия *A. glauca* (31,4 %), листья *A. glauca* (30,8 %), соцветия *A. vulgaris* (27,7 %), листья *A. frigida** (27,2 %), листья *A. dracunculus*** (26,0 %), стебель *A. dracunculus*** (25,0 %), соцветия *A. dracunculus** (21,6 %), стебель *A. glauca* (21,4 %), соцветия *A. dracunculus***** (21,3 %), соцветия *A. absinthium* (21,20 %), стебель *A. macrantha* (20,3 %), листья *A. absinthium* (20,0 %), соцветия *A. sieversiana** (19,8 %), соцветия *A. frigida*** (19,7 %), соцветия *A. frigida** (19,2 %), соцветия *A. sieversiana*** (18,2 %), листья *A. dracunculus** (16,7 %), стебель *A. sieversiana*** (16,5 %), трава *A. pontica* (16,5 %),

листья *A. sieversiana*** (16,3 %), листья *A. dracunculus**** (15,5 %), трава *A. macrantha* (15,0 %), стебель *A. dracunculus**** (15,3 %), стебель *A. absinthium* (14,6 %), стебель *A. dracunculus** (14,1 %), листья *A. sieversiana** (13,8 %), листья *A. vulgaris* (12,1 %), стебель *A. frigida** (11,8 %), стебель *A. frigida*** (11,2 %), листья *A. frigida*** (8,7 %), стебель *A. sieversiana** (6,7 %) (табл. 4).

По содержанию оксикоричных кислот в пересчете на хлоргеновую кислоту экстракты (части растения) можно расположить в следующем порядке (по убывающей): листья *A. glauca* (40,4 %), листья *A. dracunculus*** (34,0 %), соцветия *A. vulgaris* (31,0 %), трава *A. pontica* (23,9 %), соцветия *A. glauca* (23,5 %), стебель *A. macrantha* (21,1 %), соцветия *A. frigida*** (17,3 %), листья *A. vulgaris* (17,0 %), трава *A. macrantha* (16,50 %), стебель *A. sieversiana*** (16,2 %), соцветия *A. dracunculus** (14,1 %), соцветия *A. frigida** (13,4 %), листья *A. frigida** (12,8 %), соцветия *A. dracunculus*** (12,60 %), листья *A. frigida*** (12,6 %), соцветия *A. sieversiana** (12,5 %), стебель *A. dracunculus*** (12,4 %), стебель *A. glauca* (9,4 %), листья *A. sieversiana** (9,3 %), соцветия *A. sieversiana*** (9,0 %), соцветия *A. absinthium* (8,10 %), стебель *A. frigida** (6,6 %), стебель *A. frigida*** (6,4 %), листья *A. dracunculus** (6,0 %), соцветия *A. dracunculus**** (5,8 %), листья *A. absinthium* (5,7 %), листья *A. sieversiana*** (5,3 %), стебель *A. dracunculus** (4,1 %), стебель *A. sieversiana** (3,7 %), стебель *A. absinthium* (3,5 %), листья *A. dracunculus**** (3,3 %), стебель *A. dracunculus**** (2,8 %) (табл. 4).

Для определения взаимосвязи между антигерпетической активностью экстрактов полыни и содержанием БАВ был проведен корреляционный анализ, который выполнялся по методу Пирсона, позволяющему количественно оценить степень линейной связи между двумя непрерывными переменными. Выбор метода Пирсона обусловлен тем, что исходные переменные (содержание флавоноидов, полифенольных соединений и оксикоричных кислот, а также значения EC_{50} и CC_{50}) представлены в виде непрерывных чисел и варьируют в достаточно широком диапазоне. Для каждой пары переменных рассчитывался коэффициент корреляции r и соответствующее значение p -value. Последнее отражает статистическую значимость наблюдаемой связи: при $p < 0,05$ связь считается статистически значимой на 95 % уровне доверия.

Анализ экстрактов листьев полыни показал (табл. 5), что ни одна из оцененных пар «состав и активность» не продемонстрировала статистически значимой корреляции (все $p > 0,05$). Наиболее выраженной, но остающейся на уровне тенденции, оказалась положительная корреляция между уровнем полифенолов (в пересчете на катехин) и CC_{50} при нейтрализации свободных вирионов ($r = 0,518$, $p = 0,020$). Также наблюдалась положительная, но статистически незначимая корреляция между флавоноидами (в пересчете на рутин) и CC_{50} (по схемам «лечение» и/или «профилактика») ($r = 0,714$, $p = 0,088$), что может указывать на потенциальную роль полифенольных компонентов в общей антивирусной активности сухих этанольных экстрактов разных видов полыни. Содержание оксикоричных кислот не продемонстрировало сколько-нибудь систематических или значимых связей.

Таблица 4. Содержание биологически активных соединений в сухих этанольных экстрактах *Artemisia* spp. в процентах**Table 4.** Percentage content of biologically active compounds in dry ethanol extracts of *Artemisia* spp.

Вид полыни Type of wormwood	Части растения Parts of plant	Примечание Note	Флавоноиды в пересчете на рутин Flavonoids in terms of rutin	Полифенольные соединения в пересчете на катехин Polyphenolic compounds in terms of catechin	Оксикоричные кислоты в пересчете на хлорогеновую кислоту Oxycoric acids in terms of chlorogenic acid
<i>A. dracunculus</i>	Листья Leaves	*	2,66±0,05	16,70±0,56	6,00±0,15
		**	15,83±0,30	26,00±0,78	34,00±0,95
		***	0,89±0,01	15,50±0,59	3,30±0,07
	Стебель Stem	*	1,13±0,02	14,10±0,59	4,10±0,13
		**	9,89±0,17	25,00±12,40	12,40±0,39
		***	3,35±0,04	15,3±0,64	2,80±0,06
	Соцветия Inflorescences	*	2,11±0,03	21,60±0,71	14,10±0,37
		**	13,17±0,18	31,60±0,98	12,60±0,32
		***	2,94±0,06	21,30±0,72	5,80±0,15
<i>A. frigida</i>	Листья Leaves	*	1,59±0,03	27,20±0,86	12,80±0,24
		**	8,65±0,15	8,70±0,37	12,60±0,35
	Стебель Stem	*	6,67±0,10	11,8±0,35	6,60±0,19
		**	5,43±0,08	11,20±0,40	6,40±0,13
	Соцветия Inflorescences	*	11,71±0,24	19,20±0,68	13,40±0,30
		**	10,86±0,15	19,70±0,72	17,30±0,53
<i>A. sieversiana</i>	Листья Leaves	*	11,37±0,15	13,80±0,59	9,30±0,19
		**	2,74±0,05	16,30±0,55	5,30±0,14
	Стебель Stem	*	2,00±0,03	6,70±0,26	3,70±0,08
		**	6,06±0,11	16,50±0,65	16,20±0,52
	Соцветия Inflorescences	*	8,46±0,12	19,80±0,65	12,50±0,35
		*	2,77±0,05	18,20±0,64	9,00±0,25
<i>A. vulgaris</i>	Листья Leaves		3,74±0,06	12,10±0,50	17,00±0,46
	Стебель Stem		н.о. n.o.	н.о. n.o.	н.о. n.o.
	Соцветия Inflorescences		6,40±0,12	27,70±1,00	31,00±0,63
	Листья Leaves		14,23±0,26	30,80±1,06	40,40±1,24
<i>A. glauca</i>	Стебель Stem		12,80±0,25	21,40±0,66	9,40±0,18
	Соцветия Inflorescences		26,11±0,32	31,40±0,95	23,50±0,4
	Листья Leaves		2,79±0,06	20,00±0,73	5,70±0,18
<i>A. absinthium</i>	Стебель Stem		2,91±0,05	14,60±0,48	3,50±0,09
	Соцветия Inflorescences		4,16±0,06	21,20±0,67	8,10±0,16
	Трава Grass		9,71±0,13	15,00±0,57	16,50±0,34
<i>A. macrantha</i>	Стебель Stem		2,00±0,03	20,30±0,78	21,10±0,37
	Трава Grass		12,8±0,21	16,50±0,56	23,9±0,76

Примечание: значения (среднее арифметическое ± доверительный интервал)

представлены в процентах; н.о. – не определяли

Note: the values (arithmetic mean ± confidence interval) are presented as a percentage; n.o. – not determined.

Для экстрактов стеблей разных видов полыни ни один из коэффициентов корреляции не достиг уровня статистической значимости. Наиболее выраженными, но также статистически незначимыми оказались:

отрицательная корреляция между флавоноидами и ЕС₅₀ по схеме «лечения» инфицированных клеток ($r = -0,305$, $p = 0,39$), умеренная положительная корреляция между полифенолами и СС₅₀ экстрактов (для реакции

нейтрализация) ($r = 0,528$, $p = 0,077$). Аналогичная связь наблюдается между содержанием оксикоричных кислот и EC_{50} экстрактов по схеме «лечение» инфицированных клеток ($r = 0,537$, $p = 0,13$) (табл. 6). Таким образом, для стеблевой части наблюдаются лишь

слабые и разрозненные тенденции, не позволяющие однозначно интерпретировать влияние отдельных групп соединений на антивирусную активность или токсичность.

Таблица 5. Результаты корреляционного анализа взаимосвязи между антигерпетической активностью экстрактов листьев полыни и состава БАВ

Table 5. Results of the correlation analysis of the relationship between the antiherpetic activity of wormwood leaf extracts and the composition of BAS

БАВ BAS	CC_{50}^*	$p\text{-value}^*$	EC_{50}^*	$p\text{-value}^*$	$CC_{50}^{**/***}$	$p\text{-value}^{**/***}$	EC_{50}^{**}	$p\text{-value}^{**}$	EC_{50}^{***}	$p\text{-value}^{***}$
Флавоноиды Flavonoids	0,39341	0,26070	0,06634	0,85552	0,31970	0,36786	-0,26221	0,46245	-0,35982	0,30713
Полифенолы Polyphenols	0,23219	0,51860	0,16320	0,65237	0,71412	0,02034	0,35969	0,30731	0,23147	0,51994
Оксикорич- ные кислоты Oxycoric acids	0,34671	0,32635	0,08442	0,81664	0,56635	0,08785	-0,17705	0,62461	-0,32701	0,35638

Примечание: CC_{50}^* и $p\text{-value}^*$ – значения CC_{50} и $p\text{-value}$ для реакции нейтрализации; EC_{50}^* и $p\text{-value}^*$ – значения EC_{50} и $p\text{-value}$ в реакции нейтрализации; EC_{50}^{**} и $p\text{-value}^{**}$ – значения EC_{50} и $p\text{-value}$ в реакции «лечение» инфицированных клеток; EC_{50}^{***} и $p\text{-value}^{***}$ – значения EC_{50} и $p\text{-value}$ в реакции «профилактика» заражения клеток; $CC_{50}^{**/***}$ и $p\text{-value}^{**/***}$ – значения CC_{50} и $p\text{-value}$ для реакций «лечение» инфицированных клеток и «профилактика» заражения клеток

Note: CC_{50}^* and $p\text{-value}^*$ – CC_{50} and $p\text{-value}$ for the neutralisation reaction; EC_{50}^* and $p\text{-value}^*$ – EC_{50} and $p\text{-value}$ for the neutralisation reaction; EC_{50}^{**} and $p\text{-value}^{**}$ – EC_{50} and $p\text{-value}$ for the "treatment" of infected cells; EC_{50}^{***} and $p\text{-value}^{***}$ – EC_{50} and $p\text{-value}$ for the "prevention" of infection; $CC_{50}^{**/***}$ and $p\text{-value}^{**/***}$ – CC_{50} and $p\text{-value}$ for the "treatment" of infected cells and for the "prevention" of infection

Таблица 6. Результаты корреляционного анализа взаимосвязи между антигерпетической активностью экстрактов стеблей полыни и состава БАВ

Table 6. Results of the correlation analysis of the relationship between the antiherpetic activity of extracts of wormwood stems and the composition of BAS

БАВ BAS	CC_{50}^*	$p\text{-value}^*$	EC_{50}^*	$p\text{-value}^*$	$CC_{50}^{**/***}$	$p\text{-value}^{**/***}$	EC_{50}^{**}	$p\text{-value}^{**}$	EC_{50}^{***}	$p\text{-value}^{***}$
Флавоноиды Flavonoids	0,17432	0,63006	0,12766	0,72525	0,24776	0,49009	-0,30527	0,39106	0,01564	0,96580
Полифенолы Polyphenols	0,02544	0,94439	0,58214	0,07745	-0,10115	0,78098	-0,09535	0,79330	0,19927	0,58099
Оксикоричные кислоты Oxycoric acids	0,33181	0,34893	0,32135	0,36525	-0,01293	0,97173	0,22258	0,53653	0,51639	0,12648

Примечание: соответствует табл. 5

Note: corresponds to Table 5

В экстрактах соцветий разных видов полыни также не выявлено статистически значимых корреляций. Однако определенные слабые или умеренные тренды присутствуют: умеренная положительная корреляция между содержанием флавоноидов и CC_{50} при нейтрал-

зации свободных вирионов ($r = 0,588$, $p = 0,073$), слабая отрицательная корреляция между содержанием полифенольных соединений и EC_{50} по схеме «лечения» инфицированных клеток ($r = -0,291$, $p = 0,415$) (табл. 7).

Таблица 7. Результаты корреляционного анализа взаимосвязи между антигерпетической активностью экстрактов соцветий полыни и состава БАВ

Table 7. Results of the correlation analysis of the relationship between the antiherpetic activity of extracts of wormwood inflorescences and the composition of BAS

БАВ BAS	CC_{50}^*	$p\text{-value}^*$	EC_{50}^*	$p\text{-value}^*$	$CC_{50}^{**/***}$	$p\text{-value}^{**/***}$	EC_{50}^{**}	$p\text{-value}^{**}$	EC_{50}^{***}	$p\text{-value}^{***}$
Флавоноиды Flavonoids	0,58808	0,07376	0,15036	0,77207	0,27877	0,43542	-0,15390	0,67120	-0,18354	0,70270
Полифенолы Polyphenols	0,34495	0,32899	0,49434	0,14640	-0,14319	0,69311	-0,29069	0,41518	-0,28713	0,42118
Оксикорич- ные кислоты Oxycoric acids	0,41337	0,23507	-0,06655	0,85506	0,18794	0,60309	0,21491	0,55101	0,18605	0,60681

Примечание: соответствует табл. 5

Note: corresponds to Table 5

Оказалось, что ни одна из корреляций по совокупности антигерпетической активности экстрактов всех органов растений не является статистически значимой при уровне значимости $p < 0,05$. Самая близкая – между

содержанием флавоноидов и значениями CC_{50} экстрактов (для реакции нейтрализации): $r=0,315$, $p=0,079$ – это тенденция, но не достоверный результат (табл. 8).

Таблица 8. Совокупность статистически значимой антигерпетической активности экстрактов всех органов (листьев, стебля и соцветий) разных видов полыни от содержания БАВ

Table 8. Totality of statistically significant antiherpetic activity of extracts of all organs (leaves, stems and inflorescences) of different types of wormwood from the content of BAS

Показатель Indicator	Флавоноиды Flavonoids		Полифенолы Polyphenols		Оксикоричные кислоты Oxycoric acids	
	r	p-value	r	p-value	r	p-value
CC₅₀ (нейтрализация) CC ₅₀ (neutralisation)	0,315	0,0791	–0,0015	0,9933	0,258	0,1539
EC₅₀ (нейтрализация) EC ₅₀ (neutralisation)	–0,003	0,9877	0,196	0,2833	–0,101	0,5808
CC₅₀ (лечение или профилактика) CC ₅₀ (treatment or prevention)	0,162	0,3758	0,0239	0,8968	0,0183	0,9207
EC₅₀ (лечение) EC ₅₀ (treatment)	–0,235	0,1956	–0,170	0,3509	–0,142	0,4390
EC₅₀ (профилактика) EC ₅₀ (prevention)	–0,187	0,3059	–0,203	0,2653	–0,136	0,4589

Таким образом, несмотря на отсутствие строгой статистической значимости, можно предположить, что компоненты, ассоциированные с фенольным метаболизмом, могут оказывать умеренное влияние на биологические эффекты экстрактов разных видов полыни (и частей растения), в частности, на цитотоксичность. Однако вариабельность значений и ограниченный размер выборки не позволяют сделать окончательные выводы. Проведенный дополнительный статистический анализ показал, что линейные корреляции между химическим составом (в пересчете на рутин, катехин и хлорогеновую кислоту) и антивирусной активностью экстрактов разных видов полыни не носят выраженного характера, за исключением отдельных тенденций, преимущественно относящихся к цитотоксичности. Полученные данные подтверждают, что влияние БАВ на EC_{50} и CC_{50} носит многокомпонентный и, вероятно, нелинейный характер, а вклад отдельных соединений затруднительно интерпретировать без более комплексного моделирования и расширения выборки.

По данным литературы, экстракты полыни могут влиять на важные стадии «жизненного» цикла HSVs, такие как прикрепление и проникновение в чувствительную клетку, а также ингибирование вирусной репликации внутри инфицированной клетки. Например, Liu соавт. на основании данных электронной микроскопии, показали, что сухой этанольный экстракт *A. argyi* в концентрации 10 мкг/мл разрушает целостность мембраны вирусных частиц HSVs, что приводит к нарушению прикрепления и проникновения патогенов в клетку [36]. Также недавно представлены результаты по активности *in vitro* сухого этанольного экстракта полыни *A. vulgaris*, произрастающей в Китае. Авторы наблюдали 70 %-е ингибирование HSV-1 при концентрации растительного препарата 40 мкг/мл в реакции прямой инактивации вируса. Отмечается, что по данным иммуноблоттинга (с использованием специфических антител), механизм действия БАВ этого экстракта может быть связан с его прямым воздействием на структурные вирусные гликопротеины

gB и gD, т.е. на снижение способности проникновения вируса в клетки и, соответственно, уменьшение количества образования потомственных вирионов. Методом жидкостной хроматографии выявлены основные компоненты экстракта – это фенопрофен кальций (FenoprofenCa, нестероидное противовоспалительное вещество) и налоксон (Naloxone, антагонист опиоидных рецепторов). Xiao с соавт. анализом *in silico* подтверждено, что домены вирусных гликопротеинов gB и gD, необходимые для контакта с чувствительной клеткой – «хозяином», могут быть блокированы этими соединениями [53]. В Италии Sinico с соавт. количественным колориметрическим методом (Tetrazolium-based colorimetric method, MTT) было оценено эффективное влияние липосомального включения эфирного масла, полученного из листьев полыни древовидной (*A. arborescens* (Vail.) L.), на противогерпетическую активность (против HSV-1) *in vitro*. Определено также, что состав эфирного масла представляет собой сложную смесь органических соединений, среди которых монотерпеновые кетоны β-туйон и камфора составляют более 50% [54]. Saddi M. с соавт. (также в Италии) показано, что противогерпетическая активность эфирного масла *A. arborescens* обусловлена, главным образом, прямым вирулицидным действием, т.е. при непосредственном воздействии препарата на патоген. Значения IC_{50} , определенные методом по снижению количества БОЕ по сравнению с контролем на культуре клеток Vero, составили 2,4 и 4,1 мкг/мл для HSV-1 и HSV-2, соответственно. С учетом значения CC_{50} , равного 132,0 мкг/мл, SI_{50} для эфирного масла оказался достаточно высоким – на уровне 55 против HSV-1 и 32,2 против HSV-2 [34]. Эксперименты *in vivo* (на новорожденном поросенке) позволили продемонстрировать способность накопления в коже наночастиц эфирного масла *A. arborescens* в липосомальной оболочке. На основе результатов по стабильности наночастиц при хранении в течение двух лет, успешной трансдермальной доставке и положительном анти HSV-1 эффекте на культуре клеток Vero, авторы

предполагают полезность фитокомплекса эфирного масла *A. arborescens* для лечения проявлений герпеса на коже [55]. Эфирное масло, полученное из листьев калифорнийской полыни или полыни Дугласа (*A. douglasiana* Bess.), собранной в провинции Сан-Луис Аргентины, проявило *in vitro* (на культуре клеток Vero) вирулицидную активность в отношении HSV-1 в диапазоне концентраций 0,065 – 0,15 мг/мл. В эфирном масле выделены активные вещества – α -туйон (α -thujone), β -туйон (β -thujone), борнеол (borneol), п-цимен (*p*-cymene), 1,8-цинеол (1,8-cineole) и изокариофиленэпоксид (isocaryophylene-epoxide) [56]. По результатам газовой хроматографии/масс-спектрометрии, эфирное масло листьев полыни *A. mendozana* D.C. (v.n. ajenjo), естественный ареал которой находится на северо-западе Аргентины, содержит терпеноид камфору (Camphor), артемизол (Artemisole), спирт артемизии (artemisial alcohol) и терпеновый спирт борнеол (Borneol). При концентрации 0,3 мг/мл эфирное масло проявляло прямое вирулицидное действие в отношении HSV-1 на культуре клеток Vero [57]. Angelova с соавт. исследовали эфирное масло полыни ромашколистной (*A. chamaemelifolia* Vill.), собранной в Болгарии, против штаммов HSV-2 – как чувствительного к ацикловиру, так и устойчивого к этому противовирусному препарату. В результате оказалось, что растительный препарат *in vitro* снижал «урожай» инфекционного вируса двух штаммов на 80 % и 70 %, соответственно, на перевиваемой культуре клеток почек крупного рогатого скота (MDBK) при концентрации 0,562 мг/мл [35]. Karamoddini с соавт. показали, что метанольные экстракты видов полыни *A. annua*, *A. chamaemelifolia*, *A. campestris*, *A. fragrans*, *A. incana*, *A. persica* и *A. vulgaris* проявляют ингибирующую активность на репликацию HSV-1 по схеме «лечения» клеток в диапазоне 12,5–25,0 мкг/мл [52].

В наших экспериментах самая высокая инактивирующая активность с $EC_{50}=2,46\pm0,63$ мкг/мл с $SI_{50}=257,36$ была определена для экстракта листьев *A. vulgaris*. Этот же экстракт проявил и ингибирующую активность в схемах «профилактики» заражения и «лечения» инфицированных клеток с EC_{50} , равными $4,64\pm1,91$ и $19,53\pm5,01$ мкг/мл, соответственно. Полынь обыкновенная *A. vulgaris* L. (чернобыльник) в средние века называли «матерью трав», т.к. этот вид распространен почти во всем мире и имеет большое значение в истории медицины разных стран. Ареал вида – Европа, Малая Азия до Индии, Китая, Монголии, Маньчжурии, Кореи, Японии, Явы и Северной Америки. В РФ *A. vulgaris* распространена по всей европейской части, на Кавказе, в Сибири, на Дальнем Востоке и в Центральной Азии, широко интродуцирована в регионах Южной и Северной Америки. Препарат *Artemisia vulgaris herba* включена в Европейскую фармакопею в качестве гомеопатического средства благодаря наличию эфирного масла, флавоноидов, сесквитерпеноидов-лактонов и связанной с ними биологической активностью. Кроме того, этот вид полыни используется в традиционной китайской, индуистской и европейской медицине для регулирования функционирования желудочно-кишечного тракта и лечения различных гинекологических заболеваний [58]. Известно, что *A. vulgaris*, как и другие полыни содержит терпеноиды, флавоноиды, фенольные кислоты, полисахариды, фенилпропаноиды, стероиды и жирные кислоты [53].

Полынь горькая *A. absinthium* L. голарктический вид, естественный ареал которого простирается от Европы до Сибири и Западных Гималаев, Северной Африки, интродуцирован во многих регионах мира. Водный экстракт этого растения традиционно используется для облегчения боли в желудке. Несмотря на то, что использование полыни может вызывать некоторые сомнения в безопасности, в основном, из-за наличия психоактивных туйонов (производных терпенов), ее популярность как лекарственного растения очень высока. Она также является основным ингредиентом абсента – алкогольного напитка. Поэтому *A. absinthium* можно использовать как в качестве лекарственного растения, так и в пищу, при условии, что содержание туйона контролируется и не превышает допустимых пределов [59]. *A. absinthium* является единственным официальным лекарственным растением из рода *Artemisia* в РФ. Препараты «Полыни горькой трава» и «Полыни настойка» входят в Государственный реестр лекарственных средств и применяются при заболеваниях желудочно-кишечного тракта [60]. В наших экспериментах экстракт листьев *A. absinthium* проявил активность с $EC_{50}=7,32\pm0,94$ мкг/мл с $SI_{50}=102,45$ при прямой инактивации 10^3 БОЕ/мл HSV-2. Интересно, что экстракт соцветий этого вида полыней одинаково эффективен в схемах «профилактики» заражения и «лечения» инфицированных клеток с EC_{50} , равными $13,67\pm2,50$ мкг/мл и $SI_{50}=45,72$, соответственно.

Полынь римская *A. pontica* L. – многолетний вид, распространенный по всей Юго-Восточной Европе, в Сибири и Центральной Азии. По сравнению с родственными видами *Artemisia*, фитохимический профиль растительных экстрактов *A. pontica* не был всесторонне изучен, хотя в нескольких исследованиях сообщалось о присутствии сесквитерпеновых лактонов (артемина, гидрокситаурина и гидроксизудесманолидов), эфирного масла и флавоноидов – генкванина (Genkwanin) и метиловых эфиров апигенина. Надземные части *A. pontica* традиционно используются как горькое тонизирующее средство, а также как седативные и противоглистные средства. Недавние исследования доказали дополнительные полезные эффекты, такие как противовоспалительные, обезболивающие, антиоксидантные и инсектицидные свойства [61–63]. В наших экспериментах для экстракта травы *A. pontica* с $EC_{50}=30,85\pm7,91$ мкг/мл, при очень низкой цитотоксичности ($CC_{50}=6750,00\pm2151,81$ мкг/мл) при прямой инактивации вируса определен $SI_{50}=218,80$.

По данным спектрофотометрии, все части растений исследованных *Artemisia* spp. содержат флавоноиды (в пересчете на рутин от 0,89 до 26 %), полифенольные соединения (в пересчете на катехин от 6,7 до 30,80 %) и сумму оксикоричных кислот (в пересчете на хлорогеновую кислоту от 2,8 до 40,40 %). Прямой зависимости от процентного соотношения этих БАВ на инактивирующую и ингибирующую активность нами не выявлено. Полифенольные соединения могут влиять на разные стадии «жизненного» цикла вирусов сочетано или индивидуально в разной концентрации. Например, протокатеховая кислота из цветков гибискуса сабдарифа (*Hibiscus sabdariffa* L., *Malvaceae*) была идентифицирована как вещество, деактивирующее репликацию ДНК HSV-2 в клетках Vero при $EC_{50}=0,92$ мкг/мл, что эффективнее при сравнении с

активностью ACV (с $EC_{50}=1,43$ мкг/мл) и с $IS_{50}>217$ и >140 соответственно [64].

Таким образом, на основе полученных нами результатов можно сделать вывод о наличии в этанольных экстрактах *Artemisia* spp., растворенных в ДМСО, БАВ (это флавоноиды, полифенольные соединения и оксикоричные кислоты), способствующих инактивации свободных вирионов и эффективно действующих на репликацию HSV-2 внутри инфицированных клеток *in vitro*. Необходимы дополнительные исследования на определение содержания в представленных *Artemisia* spp. терпенов, таких как артемизин, артезунат и др.

БЛАГОДАРНОСТЬ

1. Заведующему лаборатории ООО НПФ «Золотая долина» (г. Новосибирск), кандидату биологических наук Романюку Владимиру Владимировичу за определение видов полыни на местности. Заведующему лабораторией «Гербарий» Центрального сибирского ботанического сада (ЦСБС) СО РАН (г. Новосибирск), кандидату биологических наук Шауло Дмитрию Николаевичу за подтверждение определенных видов и идентификацию вида *A. macrantha* Ledeb.
2. 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

1. To Dr Vladimir V. Romanyuk (Head of the laboratory of the Zolotaya Dolina research and production company, Novosibirsk) for the identification of wormwood species on the ground. To Dr Dmitry N. Shaulo (Head, Herbarium Laboratory, Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk), for confirming certain species and identifying the species *A. macrantha* Ledeb.
2. The work was supported by the Russian Science Foundation (project no. 23-64-00005) 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 of FRCFTM.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. McQuillan G., Kruszon-Moran D., Flagg E.W., Paulose-Ram R. Prevalence of Herpes Simplex Virus Type 1 and Type 2 in Persons Aged 14–49: United States, 2015–2016 // National Center for Health Statistics; Hyattsville, MD, USA: 2018. P. 1–8. CHS Data Brief. PMID: 29442994
2. Burrell S., Boutolleau D., Ryu D., Agut H., Merkel K., Leendertz F.H., Calvignac-Spencer S. Ancient Recombination Events between Human Herpes Simplex Viruses // Mol Biol Evol. 2017. V. 34. N 7. P. 1713–1721. DOI: 10.1093/molbev/msx113
3. 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. et al. Worldwide circulation of HSV-2 × HSV-1 recombinant strains // Sci Rep. 2017. N 7. Article ID: 44084. DOI: 10.1038/srep44084
4. Crawford K.H.D., Selke S., Pepper G., Goecker E., Sobel A., Wald A., Johnston C., Greninger A.L. Performance

characteristics of highly automated HSV-1 and HSV-2 IgG testing // J Clin Microbiol. 2024. V. 62. N 6. Article number: e0026324. DOI: 10.1128/jcm.00263-24
5. Casto A.M., Roychoudhury P., Xie H., Selke S., Perchetti G.A., Wofford H., Huang M.-L., Verjans G.M.G.M., Gottlieb G.S., Wald A. et al. Large, Stable, Contemporary Interspecies Recombination Events in Circulating Human Herpes Simplex Viruses // J Infect Dis. 2020. V. 221. N 8. P. 1271–1279. DOI: 10.1093/infdis/jiz199
6. Andrei G., Snoeck R. Herpes Simplex Virus Drug-Resistance: New Mutations and Insights // Current Opinion in Infectious Diseases. 2013. V. 26. N 6. P. 551–560. DOI: 0000000000000015
7. Sallee L., Boutolleau D. Management of Refractory/Resistant Herpes Simplex Virus Infections in Haematopoietic Stem Cell Transplantation Recipients: A Literature Review // Rev Med Virol. 2024. V. 34. N 5. Article number: e2574. DOI: 10.1002/rmv.2574
8. Fatahzadeh M., Schwartz R.A. Human Herpes Simplex Virus Infections: Epidemiology, Pathogenesis, Symptomatology, Diagnosis, and Management // Journal of the American Academy of Dermatology. 2007. V. 57. N 5. P. 737–763. DOI: 10.1016/j.jaad.2007.06.027
9. Brady R.C., Bernstein D.I. Treatment of herpes simplex virus infections // Antiviral Res. 2004. N 61. P. 73–81. DOI: 10.1016/j.antiviral.2003.09.006
10. Megli C.J., Coyne C.B. Infections at the maternal-fetal interface: an overview of pathogenesis and defence // Nat Rev Microbiol. 2022. V 20. N 2. P. 67–82. DOI: 10.1038/s41579-021-00610-y
11. Smith A.E., McKenney A., Rabinowitz L., Das A. Case Rep Diagnosis of neonatal herpes simplex infection from the placenta // Pediatr. 2020. N 2020. Article ID: 8898612. DOI: 10.1155/2020/8898612
12. Сайт ВОЗ. Интернет ресурс. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus> (дата обращения: 15.10.2024)
13. Groves M.J. Genital Herpes: A Review // Am Fam Physician. 2016. V. 93. N 11. P. 928–34.
14. Mathew J.Jr., Sapra A. Herpes Simplex Type 2. Book. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan. NBK554427
15. Awasthi S., Friedman H.M. An mRNA vaccine to prevent genital herpes // Transl Res. 2022. V. 242. P. 56–65. DOI: 10.1016/j.trsl.2021.12.006
16. Wald A. Genital HSV-1 infections // Sex Transm Infect. 2006. V. 82. N 3. P. 189–90. DOI: 10.1136/sti.2006.019935
17. Zheng T., Jiang L., Li G., Zeng N., Yu B., Duan S., Wang G., Liu Z. Association between human herpes simplex virus and severe headache or migraine among aged 20–49 years: a cross-sectional study // Front Neurol. 2024. N 15. Article ID: 1476863. DOI: 10.3389/fneur.2024.1476863
18. Okoye J.O., Ngokere A.A., Erinle C., Mbamalu C. Co-existence of Herpes simplex virus type 2 and two other oncoviruses is associated with cervical lesions in women living with HIV in South-Western Nigeria // Afr Health Sci. 2020. V. 20. N 3. P. 1015–1023. DOI: 10.4314/ahs.v20i3.4
19. Looker K.J., Elmes J.A.R., Gottlieb S.L., Schiffer J.T., Vickerman P., Turner K.M.E., Boily M.-C. Effect of HSV-2 infection on subsequent HIV acquisition: an updated systematic review and meta-analysis // Lancet Infect Dis. 2017. V. 17. N 12. P. 1303–1316. DOI: 10.1016/S1473-3099(17)30405-X
20. McClymont E., Tan D.H., Bondy S., Albert A., Coutlée F., Lee M., Walmsley S., Ogilvie G., Money D. HSV-2 infection and HPV incidence, persistence, and precancerous lesions in a cohort of HPV-vaccinated women living with HIV // Int J STD

- AIDS. 2023. V. 34. N 6. P. 402–407. DOI: 10.1177/09564624231154298
21. Navarro-Bielsa A., Gracia-Cazaña T., Aldea-Manrique B., Abadías-Granado I., Ballano A., Bernad I., Gilaberte Y. COVID-19 infection and vaccines: potential triggers of Herpesviridae reactivation // *An Bras Dermatol*. 2023. V. 98. N 3. P. 347–354. DOI: 10.1016/j.abd.2022.09.004
22. Bai L., Xu J., Zeng L., Zhou F. A review of HSV pathogenesis, vaccine development, and advanced applications // *Mol Biomed*. 2024. V. 5. N 1. Article number: 35. DOI: 10.1186/s43556-024-00199-7
23. Rathbun M.M., Szpara M.L. A holistic perspective on herpes simplex virus (HSV) ecology and evolution // *Advances in Virus Research*. 2021. V. 110. N 110. P. 27–57. DOI: 10.1016/bs.aivir.2021.05.001
24. 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. 4. N 8. Article ID: 1715. DOI: 10.3390/v14081715
25. Taylor M., Gerriets V. Acyclovir. Book In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023. PMID: 31194337. Bookshelf ID: NBK542180.
26. Bautista L., Sirimanatham C., Espinoza J., Cheng D., Tay S., Drayman N. A drug repurposing screen identifies decitabine as an HSV-1 antiviral // *Microbiol. Spectr*. 2024. N 12. Article number: e0175424. DOI: 10.1128/spectrum.01754-24
27. 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
28. Todorova N., Rangelov M., Dincheva I., Badjakov I., Enchev V., Markova N. Potential of Hydroxybenzoic Acids from *Graptopetalum Paraguayense* for Inhibiting of Herpes Simplex Virus DNA Polymerase—Metabolome Profiling, Molecular Docking and Quantum-Chemical Analysis // *Pharmacia*. 2022. N 69. P. 113–123. DOI: 10.3897/pharmacia.69.e79467
29. Di Sotto A., Di Giacomo S., Amatore D., Locatelli M., Vitalone A., Toniolo C., Rotino G.L., Scalzo R.L., Palamara A.T., Marocchi M.E., et al. A Polyphenol Rich Extract from *Solanum Melongena* L. DR2 Peel Exhibits Antioxidant Properties and Anti-Herpes Simplex Virus Type 1 Activity In Vitro // *Molecules*. 2018. N 23. Article number: E2066. DOI: 10.3390/molecules23082066
30. Trembl J., Gazdová M., Šmejkal K., Šudomová M., Kubatka P., Hassan S.T.S. Natural Products-Derived Chemicals: Breaking Barriers to Novel Anti-HSV Drug Development // *Viruses*. 2020. V. 12. N 2. Article number: 154. DOI: 10.3390/v12020154
31. 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 21:4878. DOI: 10.3390/molecules25214878
32. Sharifi-Rad J., Herrera-Bravo J., Semwal P., Painuli S., Badoni H., Ezzat S.M., Farid M.M., Merghany R.M., Aborehab N.M., Salem M.A. et al. *Artemisia* spp.: An Update on Its Chemical Composition, Pharmacological and Toxicological Profiles // *Oxid Med Cell Longev*. 2022. V. 2022. Article ID: 5628601. DOI: 10.1155/2022/5628601
33. Hussain A. A phylogenetic perspective of antiviral species of the genus *Artemisia* (Asteraceae-Anthemideae): A proposal of anti SARS-CoV-2 (COVID-19) candidate taxa // *J Herb Med*. 2022. N 36. Article ID: 100601. DOI: 10.1016/j.hermed.2022.100601
34. Saddi M., Sanna A., Cottiglia F., Chisu L., Casu L., Bonsignore L., De Logu A. Antiherpesvirus activity of *Artemisia arborescens* essential oil and inhibition of lateral diffusion in Vero cells // *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob*. 2007. N 6. Article ID: 10. DOI: 10.1186/1476-0711-6-10
35. Angelova P., Hinkov A., Tsvetkov V., Todorov D., Shishkova K., Dragolova D., Shishkov S., Kapchina-Toteva V. Antiherpes virus activity of extracts from *Artemisia chamaemelifolia* Vill. // *Acad. Bulg. Sci*. 2019. V. 72. N 11. P. 1475–1483. DOI: 10.7546/CRABS.2019.11.04
36. Liu P., Zhong L., Xiao J., Hu Y., Liu T., Ren Z., Wang Y., Zheng K. Ethanol extract from *Artemisia argyi* leaves inhibits HSV-1 infection by destroying the viral envelope // *Virol J*. 2023. V. 20. N 1. Article number: 8. DOI: 10.1186/s12985-023-01969-5
37. Красноборов И.М. Полынь – *Artemisia L.* // Определитель растений Новосибирской области. Новосибирск: Наука, 2000. С. 335–339.
38. Казачинская Е.И., Романова В.Д., Иванова А.В., Чепурнов А.А., Кононова Ю.В., Шауло Д.Н., Романюк В.В., Шестопапов А.М. Ингибирующая активность сухих этанольных экстрактов *Artemisia* spp. на репликацию SARS-CoV-2 *in vitro* // Юг России: экология, развитие. 2022. Т. 17. N 4. С. 111–129. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2022-4-111-129>
39. Hassan S.T.S., Berchova-Bimova K., Šudomova M., Malanik M., Smejkal K., Rengasamy K.R.R. In Vitro Study of Multi-Therapeutic Properties of *Thymus bovei* Benth. Essential Oil and Its Main Component for Promoting Their Use in Clinical Practice // *J. Clin. Med*. 2018. N 7. Article ID: 283. DOI: 10.3390/jcm7090283
40. 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. N. 20. P. 223–231. DOI: 10.1007/s13596-020-00430-0
41. 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
42. Фисенко В.П. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. Минздрав РФ, ЗАО ИИА «Ремедиум», М., 2000. 398 с.
43. Величко В.В., Круглов Д.С. Спектрофотометрическое определение А-витаминной активности каротиноидосодержащего сырья // *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2021. N 4. С. 17–26. DOI: 10.31549/2542-1174-2021-4-17-26
44. Курдюков Е.Е., Водопьянова О.А., Антропова Н.В., Митишев А.В., Евграшкина Н.Е. Методика количественного определения суммы дубильных веществ в плодах *Euterpe oleracea* // *Химия растительного сырья*. 2021. N 4. С. 225–229. DOI: 10.14258/jcprm.2021049158
45. Liu H., Ye F., Sun Q., Liang H., Li C., Li S., Lu R., Huang B., Tan W., Lai L. *Scutellaria baicalensis* extract and baicalin inhibit replication of SARS-CoV-2 and its 3C-like protease in vitro CoV-2 // *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2021. V. 36. N 1. P. 497–503. DOI: 10.1080/14756366.2021.1873977
46. Zannella C., Giugliano R., Chianese A., Buonocore C., Vitale G.A., Sanna G., Sarno F., Manzin A., Nebbioso A., Termolino P. et al. Antiviral Activity of *Vitis vinifera* Leaf Extract against SARS-CoV-2 and HSV-1 // *Viruses*. 2021. V. 13. N 7. Article ID: 1263. DOI: 10.3390/v13071263. 25;12(9):2573
47. Mohamed F.F., Anhlán D., Schöföbänker M., Schreiber A., Classen N., Hensel A., Hempel G., Scholz W., Kühn J., Hrinicius E.R. et al. *Hypericum perforatum* and Its Ingredients Hypericin and Pseudohypericin Demonstrate an Antiviral Activity against SARS-CoV-2 // *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022. V. 15. N 5. P. 530. DOI: 10.3390/ph15050530
48. White E.M., Stampfer S.D., Heldwein E.E. Expression, Purification, and Crystallization of HSV-1 Glycoproteins for

- Structure Determination // *Methods Mol Biol.* 2020. N 2060. P. 377–393. DOI: 10.1007/978-1-4939-9814-2_23
49. Benzekri R., Bouslama L., Papetti A., Hammami M., Smaoui A., Limam F. Anti HSV-2 activity of *Peganum harmala* (L.) and isolation of the active compound // *Microb Pathog.* 2018. N 114. P. 291–298. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.12.017
50. 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. N 6. P. 738–744. DOI: 10.1016/j.micinf.2004.03.009
51. 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. N 210. P. 192–197. DOI: 10.1016/j.jep.2017.08.010
52. Karamoddini M.K., Emami S.A., Ghannad M.S., Sani E.A., Sahebkar A. Antiviral activities of aerial subsets of *Artemisia* species against herpes simplex virus type 1 (HSV1) in vitro // *Asian Biomed.* 2011. V. 5. N 1. P. 63–68. DOI: 10.5372/1905-7415.0501.007
53. Xiao J., Liu P., Hu Y., Liu T., Guo Y., Sun P., Zheng J., Ren Z., Wang Y. Antiviral activities of *Artemisia vulgaris* L. extract against herpes simplex virus // *Chin Med.* 2023. V. 18. N 1. Article number: 21. DOI: 10.1186/s13020-023-00711-1
54. Sinico C., De Logu A., Lai F., Valenti D., Manconi M., Loy G., Bonsignore L., Fadda A. M. Liposomal incorporation of *Artemisia arborescens* L. essential oil and in vitro antiviral activity // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2005. V. 59. P. 161–168. DOI: 10.1016/j.ejpb.2004.06.005
55. Lai F., Sinico C., De Logu A., Zaru M., Müller R.H., Fadda A.M. SLN as a topical delivery system for *Artemisia arborescens* essential oil: In vitro antiviral activity and skin permeation study // *Int. J. Nanomed.* 2007. V. 2. N 3. P. 419–425.
56. García C.C., Talarico L., Almeida N., Colombres S., Duschatzky C., Damonte E.B. Virucidal activity of essential oils from aromatic plants of San Luis, Argentina // *Phytother. Res.* 2003. V. 17. P. 1073–1075. DOI: 10.1002/ptr.1305
57. Duschatzky C.B., Possetto M.L., Talarico L.B., García C.C., Michis F., Almeida N.V., de Lampasona M.P., Schuff C., Damonte E.B. Evaluation of chemical and antiviral properties of essential oils from South American plants // *Chem. Chemother.* 2005. V. 16. P. 247–251. DOI: 10.1177/095632020501600404
58. Ekiert H., Pajor J., Klin P., Rzepiela A., Ślesak H., Szopa A. Significance of *Artemisia Vulgaris* L. (Common Mugwort) in the History of Medicine and Its Possible Contemporary Applications Substantiated by Phytochemical and Pharmacological Studies // *Molecules.* 2020. V. 25. N 19. Article ID: 4415. DOI: 10.3390/molecules25194415
59. Государственный реестр лекарственных средств. URL: <http://grls.rosminzdrav.ru> (дата обращения: 04.01.2025)
60. Boeing T., de Souza J., da Silva R. de Cássia, Mariano L.N.B., da Silva L.M., Gerhardt G.M., Cretton S., Klein-Junior L.C., de Souza P. Gastroprotective effect of *Artemisia absinthium* L.: A medicinal plant used in the treatment of digestive disorders // *J. Ethnopharmacol.* 2023. V. 312. Article ID: 116488. DOI: 10.1016/j.jep.2023.116488
61. Макарова Д.Л., Ханина М.А., Амелеченко В.П., Домрачев Д.В., Ткачев А.В. Изучение химического состава эфирного масла *Artemisia pontica* L. флоры Сибири // *Химия растительного сырья.* 2008. N 2. С. 55–60.
62. Макарова Д.Л., Величко В.В., Ким Н.Е., Ханина М.Г., Ханина М.А. Фитохимическое исследование растений флоры Сибири // *Фармация.* 2008. N 3. С. 19–22.
63. Trifan A., Zengin G., Sinan K.I., Sieniawska E., Sawicki R., Maciejewska-Turska M., Skalikca-Woźniak K., Luca S.V. Unveiling the Phytochemical Profile and Biological Potential of *Five Artemisia* // *Antioxidants (Basel).* 2022. V. 11. N 5. Article ID: 1017. DOI: 10.3390/antiox11051017
64. Hassan S.T.S., Švajdlenka E., Berchová-Bímová K. Hibiscus sabdariffa L. and Its Bioactive Constituents Exhibit Antiviral Activity against HSV-2 and Anti-Enzymatic Properties against Urease by an ESI-MS Based Assay // *Molecules.* 2017. N 22. Article ID: 722. DOI: 10.3390/molecules22050722

REFERENCES

- McQuillan G., Kruszon-Moran D., Flagg E.W., Paulose-Ram R. Prevalence of Herpes Simplex Virus Type 1 and Type 2 in Persons Aged 14–49: United States, 2015–2016. National Center for Health Statistics; Hyattsville, MD, USA: 2018. P. 1–8. CHS Data Brief. PMID: 29442994
- Burrell S., Boutolleau D., Ryu D., Agut H., Merkel K., Leendertz F.H., Calvignac-Spencer S. Ancient Recombination Events between Human Herpes Simplex Viruses. *Mol Biol Evol.* 2017, vol. 34, no. 7, pp. 1713–1721. DOI: 10.1093/molbev/msx113
- 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. et al. Worldwide circulation of HSV-2 × HSV-1 recombinant strains. *Sci Rep.*, 2017, no. 7, article id: 44084. DOI: 10.1038/srep44084
- Crawford K.H.D., Selke S., Pepper G., Goecker E., Sobel A., Wald A., Johnston C., Greninger A.L. Performance characteristics of highly automated HSV-1 and HSV-2 IgG testing. *J Clin Microbiol.*, 2024, vol. 62, no. 6, article number: e0026324. DOI: 10.1128/jcm.00263-24
- Casto A.M., Roychoudhury P., Xie H., Selke S., Perchetti G.A., Wofford H., Huang M.-L., Verjans G.M.G.M., Gottlieb G.S., Wald A. et al. Large, Stable, Contemporary Interspecies Recombination Events in Circulating Human Herpes Simplex Viruses. *J Infect Dis.*, 2020, vol. 221, no. 8, pp. 1271–1279. DOI: 10.1093/infdis/jiz199
- Andrei G., Snoeck R. Herpes Simplex Virus Drug-Resistance: New Mutations and Insights. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 2013, vol. 26, no. 6, pp. 551–560. DOI: 0000000000000015
- Sallee L., Boutolleau D. Management of Refractory/Resistant Herpes Simplex Virus Infections in Haematopoietic Stem Cell Transplantation Recipients: A Literature Review. *Rev Med Virol.*, 2024, vol. 34, no. 5, article number: e2574. DOI: 10.1002/rmv.2574
- Fatahzadeh M., Schwartz R. A. Human Herpes Simplex Virus Infections: Epidemiology, Pathogenesis, Symptomatology, Diagnosis, and Management. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2007, vol. 57, no. 5, pp. 737–763. DOI: 10.1016/j.jaad.2007.06.027
- Brady R.C., Bernstein D.I. Treatment of herpes simplex virus infections. *Antiviral Res.*, 2004, no. 61, pp. 73–81. DOI: 10.1016/j.antiviral.2003.09.006
- Megli C.J., Coyne C.B. Infections at the maternal-fetal interface: an overview of pathogenesis and defence. *Nat Rev Microbiol.*, 2022, vol. 20, no. 2, pp. 67–82. DOI: 10.1038/s41579-021-00610-y
- Smith A.E., McKenney A., Rabinowitz L., Das A. Case Rep Diagnosis of neonatal herpes simplex infection from the placenta. *Pediatr.* 2020, no. 2020, article id: 8898612. DOI: 10.1155/2020/8898612
- The WHO website. Online resource. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus> (accessed 15.10.2024)
- Groves M.J. Genital Herpes: A Review. *Am Fam Physician.*, 2016, vol. 93, no. 11, pp. 928–34.
- Mathew J.Jr., Sapra A. Herpes Simplex Type 2. Book. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan. NBK554427.

15. Awasthi S., Friedman H.M. An mRNA vaccine to prevent genital herpes. *Transl Res.*, 2022, no. 242, pp. 56–65. DOI: 10.1016/j.trsl.2021.12.006
16. Wald A. Genital HSV-1 infections. *Sex Transm Infect.*, 2006, vol. 82, no. 3, pp. 189–90. DOI: 10.1136/sti.2006.019935
17. Zheng T., Jiang L., Li G., Zeng N., Yu B., Duan S., Wang G., Liu Z. Association between human herpes simplex virus and severe headache or migraine among aged 20–49 years: a cross-sectional study. *Front Neurol.*, 2024, no. 15, article id: 1476863. DOI: 10.3389/fneur.2024.1476863
18. Okoye J.O., Ngokere A.A., Erinle C., Mbamalu C. Co-existence of Herpes simplex virus type 2 and two other oncoviruses is associated with cervical lesions in women living with HIV in South-Western Nigeria. *Afr Health Sci.*, 2020, vol. 20, no. 3, pp. 1015–1023. DOI: 10.4314/ahs.v20i3.4
19. Looker K.J., Elmes J.A.R., Gottlieb S.L., Schiffer J.T., Vickerman P., Turner K.M.E., Boily M.-C. Effect of HSV-2 infection on subsequent HIV acquisition: an updated systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.*, 2017, vol. 17, no. 12, pp. 1303–1316. DOI: 10.1016/S1473-3099(17)30405-X
20. McClymont E., Tan D.H., Bondy S., Albert A., Coutlée F., Lee M., Walmsley S., Ogilvie G., Money D. HSV-2 infection and HPV incidence, persistence, and precancerous lesions in a cohort of HPV-vaccinated women living with HIV. *Int J STD AIDS*, 2023, vol. 34, no. 6, pp. 402–407. DOI: 10.1177/09564624231154298
21. Navarro-Bielsa A., Gracia-Cazaña T., Aldea-Manrique B., Abadías-Granado I., Ballano A., Bernad I., Gilaberte Y. COVID-19 infection and vaccines: potential triggers of Herpesviridae reactivation. *An Bras Dermatol.*, 2023, vol. 98, no. 3, pp. 347–354. DOI: 10.1016/j.abd.2022.09.004
22. Bai L., Xu J., Zeng L., Zhou F. A review of HSV pathogenesis, vaccine development, and advanced applications. *Mol Biomed.* 2024, vol. 5, no. 1, article number: 35. DOI: 10.1186/s43556-024-00199-7
23. Rathbun M.M., Szpara M.L. A holistic perspective on herpes simplex virus (HSV) ecology and evolution. *Advances in Virus Research*, 2021, vol. 110, no. 110, pp. 27–57. DOI: 10.1016/bs.aivir.2021.05.001
24. 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. 4, no. 8, article id: 1715. DOI: 10.3390/v14081715
25. Taylor M., Gerriets V. Acyclovir. Book In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023. PMID: 31194337. Bookshelf ID: NBK542180.
26. Bautista L., Sirimanatham C., Espinoza J., Cheng D., Tay S., Drayman N. A drug repurposing screen identifies decitabine as an HSV-1 antiviral. *Microbiol. Spectr.*, 2024, no. 12, article number: e0175424. DOI: 10.1128/spectrum.01754-24
27. 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
28. Todorova N., Rangelov M., Dincheva I., Badjakov I., Enchev V., Markova N. Potential of Hydroxybenzoic Acids from *Graptopetalum Paraguayense* for Inhibiting of Herpes Simplex Virus DNA Polymerase—Metabolome Profiling, Molecular Docking and Quantum-Chemical Analysis. *Pharmacia*, 2022, no. 69, pp. 113–123. DOI: 10.3897/pharmacia.69.e79467
29. Di Sotto A., Di Giacomo S., Amatore D., Locatelli M., Vitalone A., Toniolo C., Rotino G.L., Scalzo R.L., Palamara A.T., Marocchi M.E., et al. A Polyphenol Rich Extract from *Solanum Melongena* L. DR2 Peel Exhibits Antioxidant Properties and Anti-Herpes Simplex Virus Type 1 Activity In Vitro. *Molecules*, 2018, no. 23, article number: E2066. DOI: 10.3390/molecules23082066
30. Trembl J., Gazdová M., Šmejkal K., Šudomová M., Kubatka P., Hassan S.T.S. Natural Products-Derived Chemicals: Breaking Barriers to Novel Anti-HSV Drug Development. *Viruses*, 2020, vol. 12, no. 2, article id: 154. DOI: 10.3390/v12020154
31. 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
32. Sharifi-Rad J., Herrera-Bravo J., Semwal P., Painuli S., Badoni H., Ezzat S.M., Farid M.M., Merghany R.M., Aborehab N.M., Salem M.A. et al. *Artemisia* spp.: An Update on Its Chemical Composition, Pharmacological and Toxicological Profiles. *Oxid Med Cell Longev.*, 2022, vol. 2022, article id: 5628601. DOI: 10.1155/2022/5628601
33. Hussain A. A phylogenetic perspective of antiviral species of the genus *Artemisia* (Asteraceae-Anthemideae): A proposal of anti SARS-CoV-2 (COVID-19) candidate taxa. *J Herb Med.*, 2022, no. 36, article id: 100601. DOI: 10.1016/j.hermed.2022.100601
34. Saddi M., Sanna A., Cottiglia F., Chisu L., Casu L., Bonsignore L., De Logu A. Antiherpesvirus activity of *Artemisia arborescens* essential oil and inhibition of lateral diffusion in Vero cells. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, 2007, no. 6, article number: 10. DOI: 10.1186/1476-0711-6-10
35. Angelova P., Hinkov A., Tsvetkov V., Todorov D., Shishkova K., Dragolova D., Shishkov S., Kapchina-Toteva V. Antiherpes virus activity of extracts from *Artemisia chamaemelifolia* Vill. *Acad. Bulg. Sci.*, 2019, vol. 72, no. 11, pp. 1475–1483. DOI: 10.7546/CRABS.2019.11.04
36. Liu P., Zhong L., Xiao J., Hu Y., Liu T., Ren Z., Wang Y., Zheng K. Ethanol extract from *Artemisia argyi* leaves inhibits HSV-1 infection by destroying the viral envelope. *Viral J.*, 2023, vol. 20, no. 1, article number: 8. DOI: 10.1186/s12985-023-01969-5
37. Krasnoborov I.M. *Polyn' – Artemisia L.* [Wormwood – *Artemisia L.*]. In: *Opredelitel' rastenii Novosibirskoi oblasti* [Plant determinant of the Novosibirsk region]. Novosibirsk, Nauka Publ., 2000, pp. 335–339. (In Russian)
38. Kazachinskaja E.I., Romanova V.D., Ivanova A.V., Chepurinov A.A., Murtazaliev Z.A., Kononova Yu.V., Shauro 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) <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2022-4-111-129>
39. Hassan S.T.S., Berchova-Bimova K., Šudomová M., Malanik M., Šmejkal K., Rengasamy K.R.R. In Vitro Study of Multi-Therapeutic Properties of *Thymus bovei* Benth. Essential Oil and Its Main Component for Promoting Their Use in Clinical Practice. *J. Clin. Med.*, 2018, no. 7, article id: 283. DOI: 10.3390/jcm7090283
40. 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, no. 20, pp. 223–231. DOI: 10.1007/s13596-020-00430-0
41. Kazachinskaja 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
42. Fisenko V.P. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv* [Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances]. Moscow, Remedium Publ., 2000, 398 p. (In Russian)

43. Velichko V.V., Kruglov D.S. Spectrophotometric determination of A-vitamin activity of carotenoid-containing raw materials. *Journal of Siberian Medical Sciences*, 2021, no. 4, pp. 17–26. (In Russian). DOI: 10.31549/2542-1174-2021-4-17-26
44. Kurdyukov E.E., Vodop'yanova O.A., Antropova N.V., Mitishev A.V., Evgrashkina N.E. The method of quantitative determination of the amount of tannins in the fruits of Euterpe oleracea. *Khimiya Ras-titel'nogo Syr'ya*, 2021, no. 4, pp. 225–229. (In Russian). DOI: 10.14258/jcprm.2021049158
45. Liu H., Ye F., Sun Q., Liang H., Li C., Li S., Lu R., Huang B., Tan W., Lai L. *Scutellaria baicalensis* extract and baicalein inhibit replication of SARS-CoV-2 and its 3C-like protease in vitro CoV-2. *J Enzyme Inhib Med Chem.*, 2021, vol. 36, no. 1, pp. 497–503. DOI: 10.1080/14756366.2021.1873977
46. Zannella C., Giugliano R., Chianese A., Buonocore C., Vitale G.A., Sanna G., Sarno F., Manzin A., Nebbioso A., Termolino P. et al. Antiviral Activity of *Vitis vinifera* Leaf Extract against SARS-CoV-2 and HSV-1. *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 7, article id: 1263. DOI: 10.3390/v13071263.25;12(9):2573
47. Mohamed F.F., Anhlán D., Schöfänkner M., Schreiber A., Classen N., Hensel A., Hempel G., Scholz W., Kühn J., Hrinčius E.R. et al. *Hypericum perforatum* and Its Ingredients Hypericin and Pseudohypericin Demonstrate an Antiviral Activity against SARS-CoV-2. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2022, vol. 15, no. 5, pp. 530. DOI: 10.3390/ph15050530
48. White E.M., Stampfer S.D., Heldwein E.E. Expression, Purification, and Crystallization of HSV-1 Glycoproteins for Structure Determination, *Methods Mol Biol.*, 2020, no. 2060, pp. 377–393. DOI: 10.1007/978-1-4939-9814-2_23
49. Benzekri R., Bouslama L., Papetti A., Hammami M., Smaoui A., Limam F. Anti HSV-2 activity of *Peganum harmala* (L.) and isolation of the active compound. *Microb Pathog.*, 2018, no. 114, pp. 291–298. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.12.017
50. 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, no. 6, pp. 738–744. DOI: 10.1016/j.micinf.2004.03.009
51. 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, no. 210, pp. 192–197. DOI: 10.1016/j.jep.2017.08.010
52. Karamodini M.K., Emami S.A., Ghannad M.S., Sani E.A., Sahebkar A. Antiviral activities of aerial subsets of *Artemisia* species against herpes simplex virus type 1 (HSV1) in vitro. *Asian Biomed.*, 2011, vol. 5, no. 1, pp. 63–68. DOI: 10.5372/1905-7415.0501.007
53. Xiao J., Liu P., Hu Y., Liu T., Guo Y., Sun P., Zheng J., Ren Z., Wang Y. Antiviral activities of *Artemisia vulgaris* L. extract against herpes simplex virus. *Chin Med.*, 2023, vol. 18, no. 1, article number: 21. DOI: 10.1186/s13020-023-00711-1
54. Sinico C., De Logu A., Lai F., Valenti D., Manconi M., Loy G., Bonsignore L., Fadda A. M. Liposomal incorporation of *Artemisia arborescens* L. essential oil and in vitro antiviral activity. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2005, vol. 59, pp. 161–168. DOI: 10.1016/j.ejpb.2004.06.005
55. Lai F., Sinico C., De Logu A., Zaru M., Müller R.H., Fadda A.M. SLN as a topical delivery system for *Artemisia arborescens* essential oil: In vitro antiviral activity and skin permeation study. *Int. J. Nanomed.*, 2007, vol. 2, no. 3, pp. 419–425.
56. García C.C., Talarico L., Almeida N., Colombres S., Duschatzky C., Damonte E.B. Virucidal activity of essential oils from aromatic plants of San Luis, Argentina. *Phytother. Res.*, 2003, vol. 17, pp. 1073–1075. DOI: 10.1002/ptr.1305
57. Duschatzky C.B., Possetto M.L., Talarico L.B., García C.C., Michis F., Almeida N.V., de Lampasona M.P., Schuff C., Damonte E.B. Evaluation of chemical and antiviral properties of essential oils from South American plants. *Chem. Chemother.*, 2005, vol. 16, pp. 247–251. DOI: 10.1177/095632020501600404
58. Ekiert H., Pajor J., Klin P., Rzepiela A., Ślesak H., Szopa A. Significance of *Artemisia Vulgaris* L. (Common Mugwort) in the History of Medicine and Its Possible Contemporary Applications Substantiated by Phytochemical and Pharmacological Studies. *Molecules*, 2020, vol. 25, no. 19, article id: 4415. DOI: 10.3390/molecules25194415
59. The State Register of Medicines. An online resource. Available at: <http://grls.rosminzdrav.ru>. (accessed 04.01.2025)
60. Boeing T., de Souza J., da Silva R. de Cássia, Mariano L.N.B., da Silva L.M., Gerhardt G.M., Cretton S., Klein-Junior L.C., de Souza P. Gastroprotective effect of *Artemisia absinthium* L.: A medicinal plant used in the treatment of digestive disorders. *J. Ethnopharmacol.*, 2023, vol. 312, article id: 116488. DOI: 10.1016/j.jep.2023.116488
61. Makarova D.L., Khanina M.A., Amelchenko V.P., Domrachev D.V., Tkachev A.V. Study of the chemical composition of *Artemisia pontica* L. essential oil flora of Siberia. *Khimiya Ras-titel'nogo Syr'ya* [Chemistry of plant materials]. 2008, no. 2, pp. 55–60. (In Russian)
62. Makarova D.L., Velichko V.V. Kim N.E. Khanina M.G., Khanina M.A. Phytochemical study of plants of the flora of Siberia. *Farmatsiya* [Pharmacy]. 2008, no. 3, pp. 19–22. (In Russian)
63. Trifan A., Zengin G., Sinan K.I., Sieniawska E., Sawicki R., Maciejewska-Turska M., Skalikca-Woźniak K., Luca S.V. Unveiling the Phytochemical Profile and Biological Potential of Five *Artemisia*. *Antioxidants (Basel)*, 2022, vol. 11, no. 5, article id: 1017. DOI: 10.3390/antiox11051017
64. Hassan S.T.S., Švajdlénka 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, no. 22, article id: 722. DOI: 10.3390/molecules22050722

КРИТЕРИИ АВТОРСТВА

Елена И. Казачинская внесла идею исследования, провела сбор растительного сырья и приготовление этанольных экстрактов, оформила литературный обзор, провела эксперименты по исследованию ингибирующей активности, а также обработала результаты. Виктория В. Величко осуществила выбор основных групп определяемых веществ и провела пробоподготовку для анализа на спектрофотометре. Валерия Д. Романова работала с сухим растительным сырьем по разделению на отдельные части (листья, цветки, стебли), провела экстракцию для получения сухих экстрактов и эксперименты по тестированию цитотоксичности экстрактов. Дарья Л. Прокушева сбор

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Elena I. Kazachinskaya introduced the idea of the study, carried out the collection of plant raw materials and the preparation of ethanol extracts, designed a literature review, conducted experiments for study of inhibitory activity and processed the results. Victoriya V. Velichko chose the main groups of determined substances and undertook sample preparation for analysis by spectrophotometer. Valeriya D. Romanova worked with dry plant raw materials by dividing them into separate parts (stems, inflorescences, leaves) and carried out extraction to obtain dry extracts and conducted experiments for testing of cytotoxicity. Dar'ya L. Prokusheva collected, identified and prepared herb raw material from *Artemisia pontica* L. Dmitriy S. Kruglov conducted

и определение вида *Artenisia pontica* L. Дмитрий С. Круглов проведение измерений спектров на спектрофотометре, их анализ и расчет содержания БАВ. Александр А. Чепурнов культивировал вирус. Юлия В. Кононова культивировала клетки Vero E6, провела титрование вируса и подготовку аликвот с определенным инфекционным титром. Лифон Фу проводил исследования противовирусного действия экстрактов на культуре клеток. Шуай Шао проводила исследования по оценке противовирусного действия экстрактов на культуре клеток. Марина А. Гуляева координировала выполнение работ с китайскими партнерами. 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.

measurements of spectra on a spectrophotometer, their analysis and calculation of the content of biologically active substances. Alexander A. Chepurnov cultivated viruses. Yulia V. Kononova cultured Vero E6 cells, performed virus titration and aliquots with the appropriate infection titer. Lifeng Fu conducted studies of the antiviral effect of extracts on cell culture. Shuai Shao conducted evaluation studies of the antiviral effect of extracts on cell culture. Marina A. Gulyaeva coordinated the execution of works with Chinese partners. Alexander M. Shestopalov led the organisational and material part 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. Kazachinskaja <https://orcid.org/0000-0002-1856-6147>
Виктория В. Величко / Victoriya V. Velichko <https://orcid.org/0000-0002-9224-9350>
Валерия Д. Романова / Valeriya D. Romanova <https://orcid.org/000-0002-0485-4818>
Дмитрий С. Круглов / Dmitriy S. Kruglov <https://orcid.org/0000-0003-1904-7901>
Дарья Л. Прокушева / Dar`ya L. Prokusheva <https://orcid.org/0009-0009-0480-2311>
Александр А. Чепурнов / Alexander A. Chepurnov <https://orcid.org/0000-0002-5966-8633>
Юлия В. Кононова / Yulia V. Kononova <https://orcid.org/0000-0002-3677-3668>
Лифон Фу / Lifeng Fu <https://orcid.org/0000-0003-0431-5424>
Шуай Шао / Shuai Shao <https://orcid.org/0000-0003-2460-9921>
Марина А. Гуляева / Marina A. Gulyaeva <https://orcid.org/0000-0003-3945-5339>
Александр М. Шестопалов / Alexander M. Shestopalov <https://orcid.org/0000-0002-9734-0620>