

УДК 581.6: 615.28

DOI: 10.15372/KhUR2021346

## Сравнительная оценка противовирусной активности экстрактов некоторых высших растений в отношении вируса гриппа А *in vitro*

И. Е. ЛОБАНОВА<sup>1</sup>, Е. И. ФИЛИППОВА<sup>2</sup>, Т. А. КУКУШКИНА<sup>1</sup>, М. А. ПРОЦЕНКО<sup>2</sup>, Е. П. ХРАМОВА<sup>1</sup>,  
Н. А. МАЗУРКОВА<sup>2</sup>, Г. И. ВЫСОЧИНА<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Центральный сибирский ботанический сад СО РАН,  
Новосибирск (Россия)

E-mail: irevlob@ngs.ru

<sup>2</sup>Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор” Роспотребнадзора,  
Кольцово, Новосибирская область (Россия)

(Поступила 02.02.21)

### Аннотация

Исследована противовирусная активность извлечений из 14 видов растений 12 родов 9 ботанических семейств в перевиваемой культуре клеток MDCK в отношении вируса гриппа А/Aichi/2/68 (H3N2) (человека) и А/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) (птиц). Проведена фитохимическая характеристика растительного сырья данных видов на содержание некоторых групп полифенольных и терпеноидных соединений. О влиянии экстрактов растений на вирус гриппа каждого из субтипов судили по величине индекса нейтрализации. Установлено, что водные и этанольные извлечения исследованных видов растений обладают активностью разной степени выраженности в отношении каждого из субтипов вируса гриппа: от минимальных до практически 100 % вирусингибирующих значений. Стопроцентное ингибирование, избирательно в отношении каждого из двух субтипов вируса гриппа, обнаружено в экстрактах шести видов растений: трех видов *Persicaria* (*P. scabra*, *P. lapathifolia*, *P. hydropiper*), *Comarum salesovianum* (листья и цветки), *Dasiphora fruticosa* и *Hedysarum alpinum*. Их можно считать перспективными для дальнейших исследований противовирусной активности в отношении вируса гриппа человека и птиц. Фитохимическая оценка растительного сырья исследованных видов выявила, что максимальные количества флавонолов (6.42 %), катехинов (1.76 %), танинов (28.46 %) и каротиноидов (70.4 %) обнаружены в сырье разных видов растений, экстракты которых показали избирательную противогриппозную активность различной степени выраженности. Перспективные виды могут быть рекомендованы для более углубленного изучения (в качестве базовых) с целью создания фитопрепаратов противогриппозного действия в отношении РНК-геномных вирусов – вируса гриппа человека и птиц. При этом необходимо учитывать таксономическое положение вида, тип извлечения, а также часть или орган растения, используемых для исследования.

**Ключевые слова:** экстракты растений, противовирусная активность, вирус гриппа человека и птиц

### ВВЕДЕНИЕ

В современных условиях широкого распространения инфекций – эпидемий и пандемий, вызываемых вирусами, – грипп составляет до 95 % всех инфекционных заболеваний. Он до сих пор остается трудно контролируемой ин-

фекцией, в том числе и ввиду быстрого формирования устойчивости штаммов вируса гриппа к противовирусным препаратам, применяемым в современной медицинской практике [1, 2]. Поэтому поиск новых более эффективных противогриппозных средств как синтетического, так и природного происхождения по-прежнему ак-

туален [3–6]. Более приоритетными в современной фармации являются исследования и создание новых противогриппозных средств на основе природных соединений. Одним из основных источников природных соединений, обладающих противовирусными свойствами в отношении вируса гриппа, могут служить высшие растения различного ботанического уровня [7, 8]. Их нативные комплексы содержат разнообразные биологически активные вещества, которые относятся к различным классам химических соединений. Это могут быть, например, некоторые группы полифенолов, алкалоидов, терпеноидов, полисахаридов, некоторые виды органических кислот и их производных, которые находятся в растениях в свободном состоянии или в виде комплексов. Большое разнообразие биологически активных соединений может служить основой для создания новых противогриппозных препаратов, способных инактивировать вирусы гриппа (в том числе резистентные к уже существующим лекарственным препаратам) на разных стадиях их развития [9–16].

Цель настоящей работы – изучение противовирусной активности (ПВА) извлечений из растительного материала 14 видов высших растений в отношении вируса гриппа человека (A/Aichi/2/68 (H3N2)) и птиц (A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1)).

#### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалом для анализа ПВА служили растительные образцы 14 видов растений 12 родов, принадлежащих к девяти ботаническим семействам (табл. 1).

#### *Получение сухих экстрактов*

**Метод водного извлечения.** Сырье с водой нагревали при 95 °С в колбе с обратным холодильником в течение 1 ч, экстракт отфильтровывали, процедуру повторяли. Охлажденные экстракты упаривали и сушили при температуре 60 °С.

**Метод этанольного извлечения.** Использовали метод четырехкратной ремацерации при температуре 60 °С. Соотношение сырье/экстрагент (70 % этанол) = 1 : 50. Общее время экстракции составило 8 ч [18].

#### *Определение противовирусных свойств и тестирование токсичности экстрактов*

В экспериментах использовали вирус гриппа птиц A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) и адап-

тированный к лабораторным мышам штамм вируса гриппа человека A/Aichi/2/68 (H3N2), полученные из Государственной коллекции возбудителей вирусных инфекций и риккетсиозов ФБУН ГНЦ ВБ “Вектор” Роспотребнадзора (п. Кольцово, Новосибирская обл.). Нарработку и титрование вируса гриппа проводили на перевиваемой культуре клеток MDCK, полученной из коллекции культур клеток ФБУН ГНЦ ВБ “Вектор”. Титр вирусов в культуральной жидкости рассчитывали по методу Спирмена–Кербера, выражали в десятичных логарифмах 50 % тканевых цитопатических доз в мл ( $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$ ) и представляли в виде  $M \pm m (\pm I_{95})$  для 95 % доверительного уровня ( $I_{95}$ ) [19]. О влиянии экстрактов растений на вирус гриппа каждого из субтипов судили по величине индекса нейтрализации (ИН):  $\text{ИН} = \text{титр вируса контроль} - \text{титр вируса опыт} (\lg)$ .

Для определения токсичности (максимально переносимая концентрация, МПК) исследуемых водных и этанольных извлечений образцы разводили в несколько раз и оценивали наличие токсического действия в монослое культуры клеток MDCK с помощью инвертированного микроскопа. Рассчитывали МПК растительных экстрактов для данной клеточной культуры [9].

#### *Фитохимическая характеристика растительного сырья исследуемых видов растений*

Содержание флавонолов, катехинов, танинов, каротиноидов определяли спектрофотометрическим методом с помощью спектрофотометров СФ-56 (Россия) и Agilent 8453 (США).

Содержание **флавонолов** определяли по методу Беликова В. В. и Шрайбера М. С. [20], в котором использована реакция комплексообразования флавонолов с хлоридом алюминия ( $\lambda = 415 \text{ нм}$ ). Концентрацию флавонолов находили по графику, построенному по рутину Sigma-Aldrich.

Метод определения **катехинов** основан на их способности давать малиновое окрашивание с раствором ванилина в концентрированной соляной кислоте ( $\lambda = 502 \text{ нм}$ ). Концентрацию катехинов находили, используя пересчетный коэффициент по ( $\pm$ )-катехину Sigma [21].

Гидролизуемые дубильные вещества определяли методом, основанным на образовании окрашенного комплекса **танинов** с 2 % водным раствором молибдата аммония. Интенсивность образовавшейся окраски измеряли при  $\lambda = 420 \text{ нм}$ . Расчет танинов производили по стандартному образцу ГСО танина [22].

ТАБЛИЦА 1

Происхождение исследуемых видов

Русское название	Латинское название	Происхождение образца
Семейство Polygonaceae Juss.		
Горец развесистый	<i>Persicaria lapathifolia</i> (L.) Delarbre	Новосибирская обл., Тогучинский р-н, дачный участок в окрестности с. Березовка
Горец шероховатый	<i>Persicaria scabra</i> (Moench) Moldenke	То же
Горец перечный	<i>Persicaria hydropiper</i> (L.) Delarbre	Новосибирская обл., Тогучинский р-н, окрестность с. Березовка, березовый колок
Семейство Rosaceae Juss.		
Сабельник Залесова (лист)	<i>Comarum salesovianum</i> (Steph.) Aschers et Graebn.	Республика Алтай, Кош-Агачский р-н, окрестность с. Бельтир, долина р. Талдура, на высоте 2072 м от уровнем моря (географические координаты: N 49.9519°, E 87.91705°), высохший водоток к реке
Сабельник Залесова (цветки)	То же	То же
Курильский чай (лист)	<i>Dasiphora fruticosa</i> (L.) O. Schwarz	То же, на высоте 2072 м от уровня моря (географические координаты: N 49.9519°, E 87.91705°), первая речная терраса
Семейство Fabaceae Lindl.		
Копеечник альпийский	<i>Hedysarum alpinum</i> L.	Экспериментальный участок ЦСБС СО РАН
Семейство Primulaceae Batsch ex Borkh		
Вербейник обыкновенный	<i>Lysimachia vulgaris</i> L., Sp. Pl.	Новосибирская обл., Тогучинский р-н, окрестность с. Березовка, прибрежная зона р. Иня
Семейство Lamiaceae Lindl.		
Мелисса лекарственная	<i>Melissa officinalis</i> L.	Экспериментальный участок ЦСБС СО РАН
Буквица лекарственная	<i>Betonica officinalis</i> L.	То же
Семейство Scrophulariaceae Juss.		
Льнянка обыкновенная	<i>Linaria vulgaris</i> Miller	Новосибирская обл., Тогучинский р-н, окрестность пос. Железнодорожный, заброшенное поле
Очанка лекарственная	<i>Euphrasia officinalis</i> L. s. l.	То же, окрестность с. Березовка, заочкаренный болотный луг
Семейство Onagraceae Juss.		
Кипрей волосистый	<i>Epilobium hirsutum</i> L.	Новосибирская обл., Тогучинский р-н, окрестность с. Березовка, прибрежная зона р. Иня
Семейство Asteraceae		
Сушеница лесная	<i>Gnaphalium sylvaticum</i> L.	Новосибирская обл., Тогучинский р-н, окрестность с. Березовка
Семейство Lythraceae J. St.-Hil.		
Дербенник прутовидный	<i>Lythrum virgatum</i> L.	Новосибирская обл., Тогучинский р-н, окрестность с. Березовка, берег р. Иня

Примечание. Названия видов даны по Черепанову С. К. [17].

Содержание **каротиноидов** определяли, учитывая оптическую плотность ацетоново-этанольной вытяжки при длинах волн, соответствующих максимумам поглощения пигментов: хлорофиллов *a* ( $\lambda = 662$  нм) и *b* ( $\lambda = 644$  нм) и каротиноидов ( $\lambda = 440.5$  нм), и вычисляли по уравнениям Ветштейна и Хольма [23].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании проанализированы результаты по ПВА экстрактов двух типов извлечений, полученных из растительных образ-

цов 14 видов растений, принадлежащих 12 родам девяти ботаническим семействам (табл. 1–3). О величине ПВА экстрактов судили по ИН. Проведена фитохимическая оценка данного растительного сырья на содержание некоторых групп полифенольных (флавонолы, катехины и танины) и терпеноидных (каротиноиды) соединений (табл. 4). Данная работа является продолжением ранее проведенных скрининговых исследований ПВА высших растений разного таксономического уровня в отношении вируса гриппа человека A/Aichi/2/68 (H3N2) и птиц A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) [24].

ТАБЛИЦА 2

Противовирусная активность водных (В) и этанольных (Э) экстрактов растений в отношении вируса гриппа

Вид растений	Вирус гриппа А/Aichi/2/68 (H3N2)				Вирус гриппа птиц А/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1)			
	Титр вируса, lg/мл		Индекс нейтрализации (титр контроль – титр опыт), lg		Титр вируса, lg/мл		Индекс нейтрализации (титр контроль – титр опыт), lg	
	В	Э	В	Э	В	Э	В	Э
<i>Lythrum virgatum</i>	4.5	3.5	3.8	4.8	5.0	4.0	0.7	1.7
<i>Melissa officinalis</i>	2.5	–	5.8	–	5.5	–	0.2	–
<i>Betonica officinalis</i>	3.5	–	4.8	–	5.0	–	0.7	–
<i>Linaria vulgaris</i>	3.5	–	4.8	–	6.0	–	–0.3	–
<i>Euphrasia officinalis</i>	3.5	4.5	4.8	3.8	5.5	4.5	0.2	1.2
<i>Lysimachia vulgaris</i>	2.5	2.5	5.8	5.8	5.0	4.5	0.7	1.2
<i>Epilobium hirsutum</i>	3.5	6.0	4.8	2.3	4.5	4.5	1.2	1.2
<i>Persicaria lapathifolia</i>	4.5	0	3.8	8.3	4.5	0	1.2	5.7
<i>Persicaria scabra</i>	0	0	8.3	8.3	4.5	2.5	1.2	3.2
<i>Persicaria hydropiper</i>	2.5	0	5.8	8.3	3.5	3.5	2.2	2.2
<i>Gnaphalium sylvaticum</i>	4.5	4.0	3.8	4.3	5.5	4.5	0.2	1.2
<i>Comarum salesovianum</i> (лист)	0	0	8.3	8.3	0	0	5.7	5.7
<i>Comarum salesovianum</i> (цветки)	0	2.5	8.3	5.8	2.5	3.5	3.2	2.2
<i>Dasiphora fruticosa</i>	3.5	0	4.8	8.3	5.5	0	0.2	5.7
<i>Hedysarum alpinum</i>	5.5	0	2.8	8.3	0	4.5	5.7	1.2
Без экстракта	Титр вируса (без препарата), lg – 8.3				Титр вируса (без препарата), lg – 5.7			

Примечание. Прочерк означает, что анализ не проводился.

ТАБЛИЦА 3

Токсичность растительных экстрактов

Вид растений	Максимально переносимая концентрация, МПК, мг/мл	
	Водный экстракт	Этанольный экстракт
<i>Lythrum virgatum</i>	0.5	0.25
<i>Melissa officinalis</i>	2.5	–
<i>Betonica officinalis</i>	2.5	–
<i>Linaria vulgaris</i>	2.5	–
<i>Euphrasia officinalis</i>	2.5	1.0
<i>Lysimachia vulgaris</i>	0.25	0.5
<i>Epilobium hirsutum</i>	0.10	0.05
<i>Persicaria lapathifolia</i>	0.5	1.0
<i>Persicaria scabra</i>	2.5	1.0
<i>Persicaria hydropiper</i>	0.5	1.0
<i>Gnaphalium sylvaticum</i>	0.5	0.5
<i>Comarum salesovianum</i> (лист)	0.5	1.0
<i>Comarum salesovianum</i> (цветки)	0.5	0.1
<i>Dasiphora fruticosa</i>	0.5	0.25
<i>Hedysarum alpinum</i>	1.0	2.5

Примечание. Прочерк означает, что анализ не проводился.

Экстракты исследованных видов растений в отношении каждого из субтипов вируса гриппа показали ПВА разной степени выраженности:

от минимальных значений ИН до практически 100 % ингибирования вируса гриппа человека и птиц (см. табл. 2). В отношении вируса гриппа

ТАБЛИЦА 4

Фитохимическая характеристика растительного сырья видов растений с противогриппозной активностью разной степени

Виды растений	Полифенольные соединения, %			Терпеноиды (тетратерпеноиды), мг%
	Флавонолы	Танины	Катехины	Каротиноиды
<i>Lythrum virgatum</i>	1.12±0.01	21.68±0.34	0.13±0.00	13.07±0.32
<i>Melissa officinalis</i>	1.04±0.03	8.05±0.33	0.11±0.00	—*
<i>Betonica officinalis</i>	0.96±0.01	6.51±0.01	0.41±0.00	13.28±0.59
<i>Linaria vulgaris</i>	3.44±0.07	6.24±0.01	0.13±0.00	20.97±0.07
<i>Euphrasia officinalis</i>	2.35±0.01	17.85±0.35	0.37±0.00	10.43±0.40
<i>Lysimachis vulgaris</i>	3.41±0.05	10.65±0.01	0.71±0.00	12.81±0.30
<i>Epilobium hirsutum</i>	2.56±0.09	19.38±0.31	0.17±0.00	19.65±0.20
<i>Persicaria scabra</i>	3.39±0.05	14.13±0.42	0.84±0.00	27.51±0.29
<i>Persicaria lapathifolia</i>	2.82±0.07	12.65±0.41	0.49±0.00	30.91±0.15
<i>Persicaria hydropiper</i>	2.85±0.05	8.22±0.43	0.58±0.00	29.09±0.12
<i>Gnaphalium sylvaticum</i>	1.72±0.01	15.39±0.33	0.09±0.00	9.21±0.26
<i>Comarum salesovianum</i> (лист)	5.35±0.08	15.67±0.23	1.76±0.03	70.40±1.01
<i>Comarum salesovianum</i> (цветки)	5.65±0.08	12.74±0.19	0.90±0.01	7.16±0.11
<i>Dasiphora fruticosa</i> (лист)	5.45±0.08	28.46±0.43	0.64±0.01	50.60±0.76
<i>Hedysarum alpinum</i>	6.42±0.01	11.58±0.30	0.37±0.00	15.09±0.35

\* Анализ не проводился.

человека 100 % ингибирующее действие показали девять экстрактов двух типов извлечений, полученных из растительных образцов шести видов шести родов трех семейств. Среди них были три водных экстракта (*Persicaria scabra*, *Comarum salesovianum* (лист, цветки) и шесть этанольных (*P. scabra*, *Persicaria lapathifolia*, *Persicaria hydropiper*, *C. salesovianum* (лист), *Dasiphora fruticosa*, *Hedysarum alpinum*). Экстракты *P. scabra*, полученные как методом водного, так и этанольного извлечения, обладали 100 % ингибированием вируса A/Aichi/2/68 (H3N2), как и экстракты обоих типов извлечений из листьев *C. salesovianum*. Экстракты цветков этого вида, но только водные, обладали также 100 % ингибированием вируса данного субтипа (ИН 8.3 lg). Спектр распределения ПВА в отношении A/Aichi/2/68 (H3N2) остальных экстрактов показывает, что значения ИН водных экстрактов располагаются в интервале от 2.8 lg (*H. alpinum*) до 5.8 lg (*Lysimachia vulgaris*, *Melissa officinalis*, *P. hydropiper*), а этанольных — от 2.3 lg (*Epilobium hirsutum*) до 5.8 lg (*L. vulgaris*, *C. salesovianum* (цветки), что соответствует 28–70 % ингибирования данного вируса гриппа. Следует отметить, что экстракты двух типов извлечений из листьев *C. salesovianum* полностью ингибируют репродукцию обоих использованных в работе штаммов вируса гриппа. И это единственный вид (из 14 исследованных), экстракты которого, полученные ме-

тодом как водного, так и этанольного извлечения, показали 100 % ингибирование вируса гриппа субтипов H3N2 и H5N1. В отношении A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) 100 % ингибирование проявили пять экстрактов, полученных из растительных образцов четырех видов четырех родов трех семейств, из них — два водных (из *C. salesovianum* (лист), *H. alpinum*) и три этанольных (из *P. lapathifolia*, *C. salesovianum* (лист), *D. fruticosa*) экстракта. Для обоих типов извлечений 100 % ингибирование данного штамма вируса гриппа наблюдалось, как упоминалось выше, для листьев *C. salesovianum*, в то время как экстракты из цветков этого вида показали ингибирование вируса гриппа птиц только на 38–56 % (ИН 2.2–3.2 lg) (см. табл. 2). Ингибирование вируса гриппа птиц другими исследованными экстрактами было ниже максимального (ИН для водных экстрактов составляли от 0.2 lg (*D. fruticosa*, *Gnaphalium sylvaticum*, *Euphrasia officinalis*) до 3.2 lg (*C. salesovianum* (цветки), что соответствовало ингибированию от 3.5 до 56 %; ИН для этанольных экстрактов составляли от 1.2 lg (*H. alpinum*, *G. sylvaticum*, *E. hirsutum*, *L. vulgaris*, *E. officinalis*) до 3.3 lg (*P. scabra*), что соответствовало ингибированию от 21 до 56 %). В табл. 2 также показано, что активность разной степени выраженности обнаружена не только в экстрактах из растительного материала разных родов и видов, но и в экстрактах из растений разных видов, принадле-

жащих одному роду. Так, из трех видов *Persicaria* экстракты обоих типов извлечения *P. scabra*, как и этанольные экстракты *P. hydropiper*, полностью ингибируют только вирус гриппа человека (ИН 8.3 lg), в то время как этанольные экстракты *P. lapathifolia* ингибируют на 100 % оба штамма вируса гриппа (ИН 8.3 и 5.7 lg).

В целом, в отношении обоих субтипов вируса гриппа 100 % ингибирование (ИН 8.3 и 5.7 lg) проявили экстракты обоих типов извлечений из листьев *C. salesovianum*, этанольные экстракты *P. lapathifolia* и *D. fruticosa*, а также экстракты *H. alpinum*: но водный – в отношении вируса гриппа A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) (ИН 5.7 lg), а этанольный – в отношении вируса гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2) (ИН 8.3 lg). Кроме того, 100 % ингибирование только одного штамма вируса гриппа (A/Aichi/2/68 (H3N2)) было показано для экстрактов двух типов извлечения *P. scabra* и этанольного экстракта *P. hydropiper*. Таким образом, проявление степени ПВА в отношении каждого из двух субтипов вируса гриппа зависело от таксономической принадлежности вида, части (или органа) растения, используемой для анализа, а также типа извлечения.

Результаты исследования токсичности растительных образцов в культуре клеток MDCK представлены в табл. 3. В ходе исследования были определены МПК в ряду концентраций от 0.005 до 2.5 мг/мл. Из данных табл. 3 следует, что все экстракты (водные и этанольные) малотоксичны для клеток MDCK, но различаются по величине МПК. При этом МПК водных и этанольных экстрактов, как и степень ингибирования вируса гриппа, может различаться. Наиболее токсичными в данном исследовании оказались этанольные экстракты *E. hirsutum* (МПК = 0.05 мг/мл), в то время как его водные экстракты проявляли меньшую токсичность (МПК = 0.1 мг/мл). При этом для водного и этанольного экстрактов этого вида растения степень ингибирования вируса гриппа человека была различной, а вируса гриппа птиц – одинаковой (см. табл. 2, 3). Наименее токсичными (МПК = 2.5 мг/мл) оказались водные экстракты пяти видов растений (*P. scabra*, *M. officinalis*, *Borago officinalis*, *L. vulgaris* и *E. officinalis*) и этанольный – одного вида (*H. alpinum*). К тому же все они также имели разную степень ингибирования вируса гриппа человека и птиц.

Нативные комплексы растений и их составляющие представляют собой вещества и их различные комбинации, относящиеся к разным классам химических соединений, которые обла-

дают широким спектром биологической активности, в том числе и противовирусной, в частности против вируса гриппа А. В связи с этим большое значение приобретают фитохимические исследования растений. В табл. 4 представлена фитохимическая характеристика растительного сырья видов растений, экстракты которых проявили в исследовании противогриппозную активность разной степени выраженности. Обращает на себя внимание факт высокого содержания флавонолов (наиболее окисленной формы флавоноидов) в сырье практически для всех исследованных видов (от 2.35 до 6 % и выше), за исключением трех: *B. officinalis*, *L. virgatum*, *G. sylvaticum* – 0.96, 1.12 и 1.72 % соответственно). Содержание катехинов (наиболее восстановленной группы флавоноидов) находилось в пределах от 0.09 (*G. sylvaticum*) до 1.76 % (*C. salesovianum*, лист). Количество танинов в растительном материале исследованных видов колебалось от 6.24 (*L. vulgaris*) до 28.46 % (*D. fruticosa*, лист), а каротиноидов – от 7.16 (*C. salesovianum*, цветки) до 70.4 % (*C. salesovianum*, лист) (см. табл. 4). При этом виды с максимальным ингибированием вируса гриппа имели различное содержание не только флавонолов, но и других групп природных соединений. Так, в надземной части *P. lapathifolia* содержание флавонолов составляло 2.82 %, и 100 % ингибированием вируса гриппа обоих субтипов обладал этанольный экстракт. У двух других видов *Persicaria* – *P. hydropiper* и *P. scabra* – содержание флавонолов находилось приблизительно в этих же пределах (2.85–3.39 % соответственно), но 100 % ингибирование наблюдалось только в отношении вируса гриппа человека в экстрактах обоих типов извлечения *P. scabra* и этанольного экстракта – *P. hydropiper*. В листьях *C. salesovianum* и *D. fruticosa* (сем. Розоцветные) обнаружено сравнимое высокое содержание флавонолов (5.35–5.45 % соответственно), при этом 100 % ингибирование обоих штаммов вируса гриппа наблюдалось под действием водного и этанольного экстрактов из листьев *C. salesovianum* и этанольного – из листьев *D. fruticosa*. В листьях *C. salesovianum* обнаружено высокое содержание флавонолов (5.35 %) и катехинов (1.76 %), среднее – каротиноидов (70.4 %). Если сравнить фитохимические показатели листьев и цветков *C. salesovianum*, то при таком же высоком, как в листьях, содержании флавонолов (5.65 %), содержание катехинов в цветках было вдвое меньше, а каротиноидов – в 10 раз меньше, чем в листьях, и 100 % ингибирование при-

существовало только в водных экстрактах цветков и только для вируса гриппа человека. Наибольшее количество флавонолов среди исследованных видов обнаружено в надземной части растения *H. alpinum* (6.42 %); его этанольный экстракт показал 100 % ингибирование вируса гриппа человека, а водный – вируса гриппа птиц. Отметим, что растительное сырье *H. alpinum* уже используется для производства алпизарина – оригинального отечественного лекарственного препарата, разрешенного для медицинского использования в качестве антимикробного и противовирусного средства в отношении вируса герпеса и некоторых других ДНК-геномных вирусов [25]. В нашей работе показана противовирусная активность водных и этанольных извлечений из надземной части *H. alpinum* в отношении вируса гриппа человека и птиц, относящихся к РНК-геномным вирусам.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе представлены результаты исследования противовирусных свойств экстрактов двух типов извлечений из растительного материала 14 видов растений 12 родов 9 семейств в отношении вируса гриппа человека (A/Aichi/2/68 (H3N2)) и птиц (A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1)). Экстракты проявили ПВА разной степени выраженности в отношении каждого из двух субтипов вируса гриппа: от минимальной до практически 100 %, что зависело от таксономической принадлежности вида, типа извлечения, части (или органа) растения, используемой в анализе. Фитохимическая характеристика растительного сырья исследованных видов на содержание некоторых групп полифенольных и терпеноидных соединений (тетратерпеноидов) показала, что максимальные количества природных соединений этих групп присутствовали в сырье исследованных видов, экстракты из которых обладали противогриппозной активностью разной степени выраженности. Перспективными видами для дальнейших углубленных исследований ПВА можно считать следующие: три вида *Persicaria* (*P. scabra*, *P. lapathifolia*, *P. hydropiper*), *C. salezovianum* (листья и цветки), *D. fruticosa* (листья) и *H. alpinum*. Экстракты, полученные из растительного сырья этих видов, показали 100 % ингибирование, избирательное в отношении каждого из субтипов вируса гриппа А. Впервые (в эксперименте) показана активность экстрак-

тов из надземной части *H. alpinum* в отношении вируса гриппа человека (A/Aichi/2/68 (H3N2)) и птиц (A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1)).

Полученные результаты вносят определенный вклад в банк данных противовирусных средств растительного происхождения в отношении не только вируса гриппа, но и в целом в отношении РНК-геномных вирусов. Для дальнейшей работы требуются более углубленные исследования противовирусных свойств и химического состава как растительного сырья каждого из перспективных видов, так и извлечений из него.

Работа выполнена в рамках государственного задания ЦСБС СО РАН № АААА-А17-117012610051-5 по проекту “Оценка морфогенетического потенциала популяций растений Северной Азии экспериментальными методами” и в рамках выполнения государственного задания ФБУН ГНЦ ВБ “Вектор” Роспотребнадзора.

В статье использованы материалы биоресурсной научной коллекции ЦСБС СО РАН “Коллекция живых растений в открытом грунте”, USU 440534.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Ершов Ф. И. Антивирусные препараты. М.: Медицина, 1998. 192 с.
- 2 Клиническая фармакология и фармакотерапия: Учеб., 2-е изд., испр. / под ред. В. Г. Кукеса, А. К. Стародубцева. М: ГЭОТАР-Медиа, 2006. С. 617–622.
- 3 Зарубаев В. В., Анфимов П. М., Штро А. А., Гаршинина А. В., Мелешкина И. А., Карпинская Л. А., Козелецкая К. Н., Киселев О. И. Разработка новых препаратов против вируса гриппа на основе синтетических и природных соединений // Вопросы вирусологии. 2012. Т. 57, № 6. С. 30–36.
- 4 Ершов Ф. И., Полозков В. В. Современные отечественные этиотропные противогриппозные препараты // Антибиотики и химиотерапия. 2014. Т. 59, № 11–12. С. 40–44.
- 5 Levina A. S., Repkova M. N., Mazurkova N. A., Makarevich E. V., Ismagilov Z. R., Zarytova V. F. Knockdown of different influenza A virus subtypes in cell culture by a single antisense oligodeoxyribonucleotide // Int. J. Antimicrob. Agents. 2015. Vol. 46, No. 1. P. 125–128.
- 6 Филиппова Е. И., Кукушкина Т. А., Лобанова И. Е., Высочина Г. И., Мазуркова Н. А. Противовирусные свойства препарата на основе суммы флавоноидов манжетки обыкновенной (*Alchemilla vulgaris* L.) в отношении вируса гриппа // Фундаментальные исследования. 2015. № 2-23. С. 5139–5144.
- 7 Popov P. L. Plant species, using against virus infections of man and animals: Regularities of the distribution in the phylogenetic classification system // J. Stress Physiol., Biochem. 2008. Vol. 4, No. 3. P. 17–64.
- 8 Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. СПб., М. 2008–2012. Т. 1–6.
- 9 Мазуркова Н. А., Филиппова Е. И., Макаревич Е. В., Лобанова И. Е., Высочина Г. И. Высшие растения как основа для разработки противогриппозных препаратов // Вопросы биол., мед. и фармацевт. химии. 2014. № 4. С. 55–56.

- 10 Martinez J. P., Sasse F., Bronstrup M., Diez J., Meyers-hans A. Antiviral drug discovery: Broad-spectrum drugs from nature // Nat. Prod. Rep. 2015. Vol. 32. P. 29–48.
- 11 Зарубаев В. В. Производные камфоры как противогриппозные соединения широкого спектра действия. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. СПб., 2018. 48 с.
- 12 Криштанова Н. А., Сафонова М. Ю., Болотова В. Ц. Перспективы использования растительных полисахаридов в качестве лечебных и лечебно-профилактических средств // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2005. № 1. С. 212–221.
- 13 Зарубаев В. В., Аникин В. Б., Смирнов В. С. Противовирусная активность глицерретовой и глицирризиновой кислот // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 3. С. 199–206.
- 14 Пат. RU 2580304 C1, 2016.
- 15 Богоявленский А. П., Турмагамбетова А. С., Березин В. Э. Противовирусные препараты растительного происхождения // Фундаментальные исследования. Биологические науки. 2013. № 6. С. 1141–1145.
- 16 Вичканова С. А. Изучение листьев облепихи и создание на их основе отечественного противовирусного средства “Гипорамин” // Матер. V Междунар. съезда “Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения”, СПб., 5–7 июля 2001. С. 198–204.
- 17 Черепанов С. К. Сосудистые растения России и сопредельных государств. СПб., 1995. 992 с.
- 18 Костина Н. Е., Ибрагимова Ж. Б., Проценко М. А., Макаревич Е. В., Скарнович М. А., Филиппова Е. И., Горбунова И. А., Власенко В. А., Трошкова Г. П., Мазуркова Н. А., Шишкина Л. Н. Выделение, характеристика и противовирусные свойства биологически активных веществ из высших грибов Западной Сибири [Электронный ресурс] // Современные проблемы науки и образования. 2013. № 3. Режим доступа: URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=9394> (дата обращения: 17.08.2020).
- 19 Закс Л. Статистическое оценивание. М.: Статистика, 1976. 598 с.
- 20 Беликов В. В., Шрайбер М. С. Методы анализа флавоноидных соединений // Фармация. 1970. № 1. С. 66–72.
- 21 Кукушкина Т. А., Зыков А. А., Обухова Л. А. Манжетка обыкновенная (*Alchemilla vulgaris* L.) как источник лекарственных средств // Материалы VII Междунар. съезда Фитофарм-2003 “Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения”. СПб., 03–05 июля 2003. С. 64–69.
- 22 Федосеева Л. М. Изучение дубильных веществ подземных и надземных органов бадана толстолистного (*Bergenia crassifolia* (L.) Fitch.), произрастающего на Алтае // Химия растительного сырья. 2005. № 2. С. 45–50.
- 23 Методы биохимического анализа растений / Под ред. В. В. Полевого, Г. Б. Максимова. Л.: Изд-во ЛГУ, 1978. 192 с.
- 24 Лобанова И. Е., Филиппова Е. И., Высочина Г. И., Мазуркова Н. А. Противовирусные свойства дикорастущих и культивируемых растений Юго-Западной Сибири // Растительный мир Азиатской России. 2016. № 2 (22). С. 64–72.
- 25 Лекарственные средства из растений (Опыт ВИЛАР): науч. изд. / С. А. Вичканова, В. К. Колхир, Т. А. Сокольская, И. В. Воскобойникова, В. А. Быков. М.: АДРИС, 2009. 432 с.