Оригинальная статья / Research article

УДК 615.322

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-3-2022

Check for updates

CC BY 4.0

Разработка и изучение растительной композиции для комплексной терапии гриппа А

А. Али Альшами[1], А. В. Панов[1], С. А. Кедик[1], Э. А. Амиргулова[1], Е. Н. Ветрова[2], Е. А. Доровских[3], Т. Ю. Ковалева[3]✉

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет» (РТУ МИРЭА). 119571, Россия, г. Москва, пр-т Вернадского, д. 78

[2] Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ "НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи" Минздрава РФ). 123098, Россия, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18

[3] Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

✉ **Контактное лицо:** Ковалева Татьяна Юрьевна. **E-mail:** tatyana_kovaleva_75@inbox.ru

ORCID: А. Али Альшами – https://orcid.org/0009-0007-6894-7507;
А. В. Панов – https://orcid.org/0000-0002-1603-143X;
С. А. Кедик – https://orcid.org/0000-0003-2610-8493;
Э. А. Амиргулова – https://orcid.org/0009-0005-7938-3079;
Е. Н. Ветрова – https://orcid.org/0000-0003-1902-5278;
Е. А. Доровских – https://orcid.org/0000-0002-2741-1796;
Т. Ю. Ковалева – https://orcid.org/0000-0002-5961-9030.

Статья поступила: 24.01.2025 **Статья принята в печать:** 23.06.2025 **Статья опубликована:** 27.06.2025

Резюме

Введение. Грипп типа А является социально значимым инфекционным заболеванием. Вариабельность вируса, мутации и реассортация затрудняют вакцинопрофилактику, требуется разработка новых лекарственных препаратов для специфический терапии, так как к имеющимся появилась устойчивость. Противовирусной активностью против вируса гриппа типа А обладает ряд растительных экстрактов, исследования в этой области актуальны. Также актуальна разработка лекарственного растительного сбора, как обладающего специфической противовирусной активностью, так и воздействующего на симптомокомплекс, сопровождающий данное заболевание.

Цель. Разработать лекарственный растительный сбор для специфического и симптоматического лечения гриппа типа А.

Материалы и методы. Рассмотрены 14 фармакопейных видов лекарственного растительного сырья и 3 растительные композиции на их основе. Исследования биологически активных веществ в сырье проводились по методикам Государственной фармакопеи РФ XV издания. Определение противовирусной активности проводили на культуре линии клеток почки собаки (MDCK) с использованием реакции гемагглютинации.

Результаты и обсуждение. Изучено количественное содержание основных групп БАВ (полисахариды, дубильные вещества, флавоноиды и аскорбиновая кислота) в 3 вариантах растительных композиций (сборы №№ 1, 2 и 3) и отварах на их основе. Установлен вариант растительной композиции с максимальным содержанием БАВ. Показана противовирусная активность против вируса гриппа А двух растительных композиций.

Заключение. Предложен состав лекарственного растительного сбора, перспективного для комплексной терапии гриппа, доказано его противовирусное действие против вируса гриппа типа А.

Ключевые слова: вирус гриппа А, полисахариды, флавоноиды, аскорбиновая кислота, дубильные вещества, противовирусное действие, реакция гемагглютинации

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. А. Али Альшами, Е. А. Доровских, Т. Ю. Ковалева провели количественное определение содержания БАВ в сборах и отварах. А. Али Альшами, Э. А. Амиргулова и Е. Н. Ветрова определили токсичность и противовирусную активность экстрактов. Т. Ю. Ковалева, А. В. Панов и С. А. Кедик провели статистическую обработку и интерпретацию результатов. Все авторы принимали участие в обсуждении результатов и написании текста статьи.

© Али Альшами А., Панов А. В., Кедик С. А., Амиргулова Э. А., Ветрова Е. Н., Доровских Е. А., Ковалева Т. Ю., 2025
© Ali Alshami A., Panov A. V., Kedik S. A., Amirgulova E. A., Vetrova E. N., Dorovskikh E. A., Kovaleva T. Yu., 2025

Для цитирования: Али Альшами А., Панов А. В., Кедик С. А., Амиргулова Э. А., Ветрова Е. Н., Доровских Е. А., Ковалева Т. Ю. Разработка и изучение растительной композиции для комплексной терапии гриппа А. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(3). https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-3-2022

The development and study of herbal composition for complex therapy of influenza A

Anas Ali Alshami[1], Aleksey V. Panov[1], Stanislav A. Kedik[1], Elza A. Amirgulova[1], Elizaveta N. Vetrova[2], Ekaterina A. Dorovskikh[3], Tatyana Yu. Kovaleva[3]✉

[1] MIREA – Russian Technological University. 78, prospekt Vernadskogo, Moscow, 119571, Russia
[2] N. F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology & Microbiology. 18, Gamaleyi str., Moscow, 123098, Russia
[3] I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

✉ **Corresponding author:** Tatyana Yu. Kovaleva. **E-mail:** tatyana_kovaleva_75@inbox.ru

ORCID: Anas Ali Alshami – https://orcid.org/0009-0007-6894-7507;
Aleksey V. Panov – https://orcid.org/0000-0002-1603-143X;
Stanislav A. Kedik – https://orcid.org/0000-0003-2610-8493;
Elza A. Amirgulova – https://orcid.org/0009-0005-7938-3079;
Elizaveta N. Vetrova – https://orcid.org/0000-0003-1902-5278;
Ekaterina A. Dorovskikh – https://orcid.org/0000-0002-2741-1796;
Tatyana Yu. Kovaleva – https://orcid.org/0000-0002-5961-9030.

Received: 24.01.2025 **Accepted:** 23.06.2025 **Published:** 27.06.2025

Abstract

Introduction. Influenza type A is a socially significant infectious disease. Viral variability, mutations and reassortment make vaccination difficult. New drugs for specific therapy need to be developed because resistance to the existing drugs has appeared. A number of plant extracts have antiviral activity against the influenza type A virus, research is relevant in this area. The development of a species is also relevant, which has both specific antiviral activity and affects the symptom complex accompanying this disease.

Aim. To develop a medicinal herbal collection for specific and symptomatic treatment of influenza type A.

Materials and methods. There were considered 14 pharmacopoeial types of medicinal plant raw materials and 3 herbal compositions based on them. The studies of biologically active substances in raw materials were carried out according to the methods of the State Pharmacopoeia of Russian Federation, 15th edition. Determination of antiviral activity was carried out on Madin-Darby canine kidney cells (MDCK) culture using the hemagglutination reaction.

Results and discussion. There were studied the quantitative content of the main groups of biologically active substances (polysaccharides, tannins, flavonoids and ascorbic acid) in 3 variants of herbal compositions (collection No.No. 1, 2 and 3) and decoctions based on them. The variant of the herbal composition with the maximum content of biologically active substances was established. Antiviral activity against the influenza A virus of two herbal compositions was demonstrated.

Conclusion. The composition of the medicinal herbal collection is proposed, which is promising for complex therapy of influenza. The antiviral effect against the influenza virus type A has been proven.

Keywords: influenza A virus, polysaccharides, flavonoids, ascorbic acid, tannins, antiviral effect, hemagglutination reaction

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Anas Ali Alshami, Ekaterina A. Dorovskikh, Tatyana Yu. Kovaleva conducted a quantitative determination of biologically active substances content in the species and decoctions. Anas Ali Alshami, Elza A. Amirgulova and Elizaveta N. Vetrova determined the toxicity and antiviral activity of the extracts. Tatyana Yu. Kovaleva, Aleksey V. Panov and Stanislav A. Kedik conducted statistical processing and interpretation of the results. All authors took part in the discussion of the results and writing the text of the article.

For citation: Ali Alshami A., Panov A. V., Kedik S. A., Amirgulova E. A., Vetrova E. N., Dorovskikh E. A., Kovaleva T. Yu. The development and study of herbal composition for complex therapy of influenza A. *Drug development & registration*. 2025;14(3). (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-3-2022

ВВЕДЕНИЕ

Грипп типа А является самым распространенным инфекционным заболеванием человека, что свидетельствует о высокой социальной значимости этого заболевания. Влияние пандемий гриппа известно из истории 20 века, когда были описаны три крупные пандемии гриппа: испанский грипп H1N1 (1918), азиатский грипп H2N2 (1957) и гонконгский грипп H3N2 (1968). Испанский грипп считается крупнейшим в истории, число жертв оценивалось в 50 миллионов. В XXI веке были зарегистрированы две эпидемии птичьего и свиного гриппа. В 2003 году высоковирулентные штаммы вируса гриппа птиц H5N1 и H7N7 вызвали летальные случаи гриппа среди жителей Южной Азии. В 2009 свиной грипп (H1N1). По оценкам ВОЗ, в 2009 году случилось 18 449 смертей от вируса гриппа [1]. Недавно появились новые подтипы, такие как H7N7 и H7N2, H9N2, H7N9 [2–4]. Согласно данным ВОЗ, ежегодно регистрируется около 1 миллиарда случаев сезонного гриппа, в том числе 3–5 миллионов случаев тяжелой формы заболевания, а каждый год от респираторных патологий, вызванных вирусами гриппа, умирает от 290 000 до 650 000 человек[1].

Вирус гриппа – это оболочечный вирус, принадлежащий к семейству *Orthomyxoviridae*, роду *Alphainfluenzavirus* (гриппа А) [5]. Широкое распространение и высокий пандемический потенциал вируса гриппа А обусловлен его структурно-функциональными особенностями. Выделяют 2 основные особенности: (1) высокая частота ошибок вирусной РНК-полимеразы при репликации обеспечивает высокую генетическую вариабельность вируса гриппа (так называемый антигенный дрейф), (2) сегментированный геном вируса гриппа способствует реассортации (антигенный шифт). Данные особенности обеспечивают высокую адаптивную способность вируса гриппа А к разным хозяевам, а также феномен возникновения устойчивости вируса к применяемым противовирусным препаратам, в том числе вакцин против гриппа А. Поэтому поиск этиотропных комбинированных противовирусных препаратов остается актуальным на сегодняшний день. Грипп относится к одной из немногих вирусных инфекций, для которых применяют специфическую противовирусную терапию [6–9].

Лечение гриппа основано на применении: 1) терапевтических препаратов прямого действия – ингибиторов нейраминидазы (занамивира, озельтамивира фосфата); ранее также использовались амантадин и римантадин, направленные на трансмембранную область белка М2 вируса гриппа, однако у вирусов гриппа к ним уже сформировалась устойчивость; 2) индукторов интерферонов (арбидол, кагоцел, циклоферон и др.)[2] [10–12].

Несмотря на доступность этих препаратов, грипп продолжает наносить ущерб здоровью и благополучию человека, поскольку имеющиеся лекарственные препараты не обладают сильной противовирусной активностью против всех штаммов вируса гриппа; кроме того, часто появляются новые резистентные штаммы или возвращаются старые вирулентные штаммы [13, 14].

Поиск и разработка противовирусных препаратов против гриппа продолжается, несколько препаратов в настоящее время находятся на поздних стадиях клинических исследований, большинство из них отличаются по механизму действия от применяемых на практике препаратов [9].

Таким образом, актуальной задачей является поиск новых средств для лечения гриппа. Как показали отечественные и зарубежные исследования, растительные источники являются перспективными с этой точки зрения. У многих растительных экстрактов и индивидуальных биологически активных веществ, выделенных из растительного сырья, уже имеется доказанное противовирусное действие в отношении разнообразных вирусов, вызывающих болезни человека.

Например, установлена активность препаратов из плодов калины обыкновенной для профилактики и терапии инфекций вируса простого герпеса (ВПГ) [15]. Также изучалось противогерпетическое действие *in vivo* касталагина, соединения эллаготанина, полученного из дуба черешчатого. Было обнаружено, что касталагин оказывает мощное ингибирующее действие *in vitro* против вируса простого герпеса 1 и 2 типа [16]. Также исследования показали, что экстракты и индивидуальные соединения (татанан А, акориновая кислота, акорон, акорадин, акоронен, каламендиол и др., всего изучено 24 соединения) из корневищ аира обыкновенного могут бороться с различными вирусами: вирусом денге [17, 18], вирусом SARS-CoV-2 [19], вирусом простого герпеса (ВПГ), вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), вирусом гепатита В (ВГВ), что было доказано несколькими исследователями [20]. Тритерпеновые сапонины солодки уральской обладают хорошей ингибирующей активностью в отношении и энтеровируса 71 (EV71), и вируса Коксаки А16 (CVA16) [21, 22], и вируса гриппа A/WSN/33 (H1N1) [23, 24]. Эфирное масло травы тысячелистника обыкновенного эффективно против вируса SARS-CoV-2 и вируса болезни Ньюкасла [25, 26]. Была показана эффективность экстракта хвоща полевого против вирусов гриппа А (H1N1) [27].

[1] Грипп (сезонный). ВОЗ. Доступно по: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal). Ссылка активна на 12.01.2025.

[2] Грипп у взрослых. Доступно по: https://diseases.medelement.com/disease/%D0%B3%D1%80%D0%B8%D0%BF%D0%BF-%D1%83-%D0%B2%D0%B7%D1%80%D0%BE%D1%81%D0%BB%D1%8B%D1%85-%D0%BA%D0%BF-%D1%80%D1%84-2022/17526?ysclid=m5sfjvnelt564640007. Ссылка активна на 12.01.2025.

Некоторые индивидуальные фенольные соединения – коричная кислота, кофейная кислота, хлорогеновая кислота, феруловая кислота, *n*-кумаровая кислота, выделенные из листьев подорожника большого, – и водно-спиртовой и водный экстракты листьев подорожника большого показали ингибирующее действие на вирус простого герпеса 1 типа и аденовирусы человека (HAdV3, HAdV5 и HAdV7) [28–30]. Результаты некоторых исследований также показывают, что экстракты бессмертника песчаного обладают противовирусным действием как против вируса простого герпеса 1 типа (ВПГ-1), так и против вируса парагриппа-3 (ПГ-3) [31]. Установлено, что молекула тимола, одного из основных компонентов эфирного масла тимьяна ползучего и душицы обыкновенной, обладает высокой биологической активностью против вируса – возбудителя COVID-19 [32]. Жидкий экстракт корней элеутерококка колючего также подавлял продуктивную репликацию риновируса человека (РВ), респираторно-синцитиального вируса (РСВ) и вируса гриппа А [33]. Сообщается, что крапива двудомная проявляет противовирусную активность в отношении ряда вирусов, включая вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), вирус иммунодефицита кошек (ВИК) и ротавирус [34, 35]. Эфирное масло травы душицы обыкновенной оказывало ингибирующее действие на вирус желтой лихорадки, норовирус, мышиный норовирус и птичий коронавирус (AvCov) [36–39]. Водные и водно-спиртовые экстракты из травы душицы обыкновенной обладают значительной противовирусной активностью против вируса артериита лошадей (ВАЛ) и вируса чумы собак (ВЧС) [40]. Комплекс эллаготанинов очищенного экстракта из соплодий ольхи серой обладает значительной анти-ВИЧ-активностью, эффективно подавляя репродукцию ВИЧ *in vitro* [41]. Плоды шиповника коричного оказывают общеукрепляющее, тонизирующее (стимулируют основной обмен веществ) и противовоспалительное (усиливают фагоцитарную активность лейкоцитов) действие [42]. Поэтому их добавляют в запатентованные растительные противовирусные препараты [43, 44].

В мировой медицинской практике идет поиск видов лекарственных растений, комбинаций лекарственного растительного сырья для профилактики и лечения вируса гриппа, купирования сопутствующих симптомов, укрепления иммунитета и смягчения неблагоприятных побочных эффектов, связанных с токсичностью отдельных, принимаемых одновременно препаратов [45–48].

Лекарственные растительные сборы являются удобной формой применения, обладают целым рядом положительных свойств, главное из которых – комплексное воздействие на патогенез заболевания. На основе данных научной литературы нами были составлены 3 растительные композиции, характеризующиеся комплексным воздействием на организм больного гриппом и обладающие противовоспалительным, иммуномодулирующим, отхаркивающим и др. действием. Кроме того, некоторые компоненты обладают доказанным противовирусным действием на вирус гриппа А. В таблице 1 представлены виды лекарственного растительного сырья и их доказанная фармакологическая активность, актуальная для комплексного лечения гриппа А.

Актуальной задачей является изучение противовирусного действия на вирус гриппа А разработанных растительных комбинаций.

Таблица 1. Состав и фармакологическая активность компонентов растительных композиций

Table 1. Composition and pharmacological activity of herbal compositions components

Лекарственное растительное сырье Medicinal plant materials	**Фармакологическое действие, актуальное в терапии гриппа А и предупреждении его осложнений** Pharmacological action relevant in the treatment of influenza A and prevention of its complications	**Литература** References	**Сбор № 1** Collection No. 1	**Сбор № 2** Collection No. 2	**Сбор № 3** Collection No. 3
Шиповника плоды Rose hips	Поливитаминное, желчегонное, иммуномодулирующее Multivitamin, choleretic, immunomodulatory	[50]	✓	✓	✓
Калины обыкновенной плоды Guelder-rose fruits	Противовирусное, антисептическое, иммуномодулирующее Antiviral, antiseptic, immunomodulatory	[51]	✓	✓	✓
Дуба кора Oak bark	Антисептическое, иммуномодулирующее Antiseptic, immunomodulatory	[52]	✓	✓	✓
Аира обыкновенного корневища Sweet flag rhizomes	Противовоспалительное, иммуномодулирующее Anti-inflammatory, immunomodulatory	[53]	✓	✓	✓

Окончание таблицы 1

Лекарственное растительное сырье Medicinal plant materials	**Фармакологическое действие, актуальное в терапии гриппа А и предупреждении его осложнений** Pharmacological action relevant in the treatment of influenza A and prevention of its complications	**Литература** References	**Сбор № 1** Collection No. 1	**Сбор № 2** Collection No. 2	**Сбор № 3** Collection No. 3
Солодки корни Licorice roots	Противовоспалительное, отхаркивающее, иммуномодулирующее. Противовирусное против вируса гриппа А (H1N1) и (H5N1) Anti-inflammatory, expectorant, immunomodulatory. Antiviral against influenza A (H1N1) and (H5N1) virus	[23, 24, 54–56]	✓	✓	✓
Тысячелистника обыкновенного трава Common yarrow herb	Кровоостанавливающее. Противовирусное против вируса гриппа А (H3N2) и (H5N1) Hemostatic. Antiviral against influenza A (H3N2) and (H5N1) virus	[57, 58]	✓		
Хвоща полевого трава Field horsetail herb	Укрепляющее легочную ткань. Противовирусное против вируса гриппа А (H1N1) Strengthening lung tissue. Antiviral against influenza A (H1N1) virus	[27, 59]	✓	✓	✓
Подорожника большого листья Common plantain leaves	Противовоспалительное, отхаркивающее, кровоостанавливающее. Противовирусное против вируса гриппа А (H3N2) и (H5N1) Anti-inflammatory, expectorant, hemostatic. Antiviral against influenza A (H3N2) and (H5N1) virus	[58, 60, 61]	✓	✓	✓
Бессмертника песчаного цветки Yellow everlasting flowers	Желчегонное. Противовирусное против вируса парагриппа-3 (PI-3) = параинфлюэнца-3 Choleretic. Antiviral against parainfluenza virus-3 (PI-3) = parainfluenza-3	[31, 62]	✓	✓	✓
Тимьяна ползучего трава Creeping thyme herb	Отхаркивающее, антисептическое, противовоспалительное Expectorant, antiseptic, anti-inflammatory	[63]	✓		
Элеутерококка колючего корневища и корни Eleutherococcus senticosus rhizomes and roots	Адаптогенное, иммуномодулирующее. Противовирусное против вируса гриппа А (H1N1) Adaptogenic, immunomodulatory. Antiviral against influenza A virus (H1N1)	[33, 64]	✓	✓	✓
Крапивы двудомной листья Stinging nettle leaves	Укрепляющее легочную ткань, кровоостанавливающее Strengthening lung tissue, hemostatic	[65]		✓	✓
Душицы обыкновенной трава Oregano herb	Отхаркивающее, антисептическое, противовоспалительное. Противовирусное против вируса гриппа А (H1N1, H5N1 и H3N2) Expectorant, antiseptic, anti-inflammatory. Antiviral against influenza A virus (H1N1, H5N1 and H3N2)	[66–68]			✓
Ольхи соплодия Alder fruits	Антисептическое, иммуномодулирующее Antiseptic, immunomodulatory	[69]	✓	✓	✓

МАТЕРИАЛЫ

1. Объектами исследования служили 3 растительные композиции из 14 фармакопейных видов лекарственного растительного сырья (сборы №№ 1, 2 и 3) (таблица 1), составленные в соответствии с требованиями ОФС.1.4.1.0020 «Сборы». Все сырье было приобретено в аптечной сети и соответствовало требованиям Государственной фармакопеи РФ XV издания (ГФ РФ XV) [49].

2. Штамм вируса гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2) получен из Государственной коллекции вирусов Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи Министерства здравоохранения Российской Федерации. Вирус представлял собой аллантоисную жидкость куриных эмбрионов.

3. Для выполнения исследования использовали линию клеток почек собаки Madine-Darby Canine Kidney (MDCK). Линия клеток получена из Государственной коллекции клеточных культур ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (подразделение Институт вирусологии им. Д. И. Ивановского).

4. Для культивирования клеток в эксперименте использовали питательную среду DMEM с глутамином и содержанием глюкозы 4,5 г/л (НПП «ПанЭко», Россия). Среда представляет собой прозрачную жидкость красноватого цвета, без опалесценции и осадка, содержащую антибиотики (100 ед/мл пенициллина и 100 ед/мл стрептомицина).

МЕТОДЫ

1. Определение содержания суммы флавоноидов проводили спектрофотометрически после реакции комплексообразования с раствором хлорида алюминия на приборе Cary 60 UV-Vis (Agilent Technologies, США). Визуализация результатов проводилась с помощью программного обеспечения UV-Vis scan.

2. Определение содержания дубильных веществ в пересчете на танин проводили перманганатометрическим титрованием по методике ОФС.1.5.3.0008 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения».

3. Определение содержания аскорбиновой кислоты проводили титрованием водного извлечения 2,6-дихлорфенолиндофенолом натрия.

4. Определение содержания полисахаридов проводили гравиметрически после осаждения 95%-м этанолом из водного раствора.

5. Приготовление отвара. Отвар готовили по методике ОФС.1.4.1.0018 «Настои и отвары», соотношение сырья и экстрагента 1 : 10, с учетом коэффициента водопоглощения.

6. Пассивирование клеточной культуры. Удаление образовавшегося монослоя клеток со дна культурального флакона (НПП «ПанЭко», Россия) осуществляли ферментативным способом при помощи трипсина. Из матраса для выращивания культур слили среду и один раз промыли 1 мл раствора трипсина-версена (ООО «БиолоТ», Россия), предварительно нагретым до 37 °С. Далее клетки инкубировали в минимальном объеме раствора трипсина-версена в течение 10 мин при 37 °С. После инкубации встряхивали флакон до тех пор, пока клеточный монослой не перешел в состояние суспензии.

Затем проводили посев полученной суспензии в новую посуду (культуральный флакон, 96-луночный планшет) с добавлением свежей порции питательной среды DMEM (НПП «ПанЭко», Россия). Для обеспечения роста клеток в среду также добавляли 10%-ю телячью эмбриональную сыворотку (ТЭС) (HyClone, Thermo Fisher Scientific, США), антибиотики (100 ед/мл пенициллина и 100 ед/мл стрептомицина) и L-глутамин [70]. Рассеянную культуру клеток культивировали при 37 °С в атмосфере 5%-го CO_2 до формирования конфлюэнтного монослоя.

7. Микроскопия клеточного монослоя. Визуальный контроль монослоя клеток проводили при помощи инвертированного микроскопа (Nikon Eclipse TS100), используя объективы 10×, 40×, 60×. Микроскопический анализ применяли для оценки состояния культуры, выявления цитопатического действия (ЦПД) и проверки на отсутствие контаминантов (бактерий и грибов) [71].

8. Анализ токсичности препаратов. Токсичность исследуемых растительных препаратов проверяли на культуре клеток MDCK. Для каждых рассматриваемых водных образцов готовили серию двукратных разведений в среде DMEM. Из лунок 96-луночного планшета (АО «Фирма Медполимер», Россия) со сформированным клеточным монослоем предварительно отбирали питательную среду, затем вносили приготовленные заранее разведения. В лунки, предназначенные для контроля (не менее 4 лунок), вносили по 100 мкл соответствующей среды для культивирования. Затем клетки инкубировали в течение 72 ч при 37 °С и 5%-го CO_2. Жизнеспособность клеток в присутствии исследуемых препаратов определяли по активности митохондриальных дегидрогеназ, способных восстанавливать желтый МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид) (Sigma, Германия) в фиолетовые кристаллы формазана [72].

Спустя 72 ч инкубации клетки производили замену среды DMEM и вносили по 10 мкл стерильного раствора МТТ (концентрацией 5 мг/мл), разведенных в 1 мл среды для культивирования, и инкубировали при 37 °С и 5%-го CO_2 в течение 2 ч. По истечении данного времени из каждой лунки отбирали среду и добавляли по 100 мкл ДМСО. Смесь тщательно ресуспендировали до растворения кристаллов формазана. Затем проводили измерение оптической плот-

ности при длине волны 595 нм на планшетном спектрофотометре АИФР-01 УНИПЛАН (ЗАО «ПИКОН», Россия).

Значения концентраций, при которых оптическая плотность клеток в присутствии препаратов в 2 раза меньше оптической плотности контроля клеток без исследуемых водных препаратов, принимали за 50%-ю цитотоксическую концентрацию (CC_{50}). Разведения, вызывающие 50 % и менее гибели популяции клеток в сравнении с контролем, являются значимыми и рассматриваются в дальнейших опытах [73]. В результатах учитывали среднее значение 3 измерений ± стандартное отклонение.

9. Заражение клеток. В опыт брали 96-луночный планшет с 3-дневным монослоем клеток. Перед заражением вирусом гриппа А производили замену культуральной среды DMEM средой, содержащей 1 мкг/мл трипсина (Sigma-Aldrich, США). Затем вносили по 10 мкл аллантоисной жидкости, содержащей вирус, к клеткам, содержащим 100 мкл среды с трипсином, и титровали до 5 лунки включительно, производя 10-кратные разведения. На каждое разведение вируса брали не менее 4 лунок. Схематично эту процедуру можно представить следующим образом:

Исходный вирус $\rightarrow 10^{-1} \rightarrow 10^{-2} \rightarrow 10^{-3} \rightarrow 10^{-4} \rightarrow 10^{-5}$.

Контакт клеток с вирусом проводили в течение 2 ч при 37 °С в CO_2-инкубаторе. Для культивирования вируса гриппа А использовали метод наращивания вируса в куриных эмбрионах. Множественность инфицирования клеточных культур в опытах составила 0,1–0,0001 $TCID_{50}$/клетка.

После проявления вирусной инфекции (24 ч при 37 °С для вируса гриппа) осуществляли мониторинг наличия цитопатического действия вируса (ЦПД) и определяли инфекционный титр вируса в опыте (в присутствии препаратов) и контроле (без препаратов, только вирус) по методу Рида и Менча. Инфекционный титр вируса выражали в цитопатогенной дозе, вызывающей гибель 50 % клеток монослоя ($TCID_{50}$) [75–78].

10. Реакция гемагглютинации. Активность вируса гриппа А устанавливали методом РГА. В основе реакции лежит способность некоторых вирусов агглютинировать (связывать) эритроциты при помощи поверхностных белков гемагглютининов.

Реакцию гемагглютинации ставили следующим образом: в лунки 96-луночного планшета добавляли 25 мкл раствора PBS, далее переносили по 25 мкл пробы образцов (пункт 9) и проводили титрование. После чего вносили равное количество 2%-й суспензии человеческих эритроцитов. Результаты реакции учитывали через 30–40 мин при температуре +4 °С. За титр вируса принимали величину, обратную разведению вирусной суспензии, при котором наблюдалась выраженная агглютинация эритроцитов [77, 78].

10.1. Приготовление фосфатно-буферного раствора. Фосфатно-буферный физиологический раствор (PBS) готовили следующим образом: фосфатно-буферную таблетку (Sigma Chemical Co, Великобритания) добавляли в колбу с дистиллированной водой (200 мл). Колбу тщательно перемешивали до полного растворения фосфатной таблетки. В итоге получали раствор с концентраций 0,01 М (pH 7,2 ± 0,2), который затем стерилизовали и хранили при температуре +40 °С.

10.2. Приготовление 2%-й суспензии человеческих эритроцитов. Для приготовления 2%-й суспензии человеческих эритроцитов в работе использовали цельную кровь 0 (I) группы, взятую в вакуумную пробирку с антикоагулянтом ЭДТА (Greiner Bio-One GmbH, Австрия), и проводили следующие действия: 2 мл осадка человеческих эритроцитов доводили раствором PBS (0,01М) до 10 мл, перемешивали 1–2 мин и центрифугировали в течение 10 мин при скорости вращения 1000 об/мин. Отмывку эритроцитов проводили 3 раза и далее суспензию использовали в реакции гемагглютинации (пункт 10).

11. Изучение противовирусной активности исследуемых растительных препаратов. Для определения противовирусной активности растительных препаратов исследуемые образцы в рабочей концентрации 12,5 мг/мл вносили спустя 2 ч после этапа заражения клеток (пункт 9). После инкубации растительных препаратов с зараженными клетками определяли инфекционный титр вируса.

Способность исследуемых водных образцов оказывать противовирусный эффект определяли по снижению титра вируса в зараженных клетках. Детекцию вируса гриппа А осуществляли методом РГА (пункт 10).

В качестве критерия противовирусной активности образцов используется разница между титрами вируса в контрольной и опытных группах $\Delta \lg TCID_{50}$/мл, измеряемая в логарифмах.

В вирусологических исследованиях принято считать удовлетворительным противовирусный эффект при действии лекарственных средств, если:

$$\Delta \lg TCID_{50} \geq 2{,}0. \quad (1)$$

Противовирусный эффект исследуемых образцов *in vitro* оценивали по показателям 1, 3.

Снижение уровня накопления вируса под воздействием образца:

$$\Delta \lg TCID_{50} = A_к - A_о. \quad (2)$$

Индекс защиты, или коэффициент ингибирования (КИ), в процентах:

$$КИ = \frac{A_к - A_о}{A_к} \cdot 100\ \%, \quad (3)$$

где $A_к$ – контрольные значения ($\lg TCID_{50}$); $A_о$ – опытные значения ($\lg TCID_{50}$).

При подавлении инфекционного титра вируса и КИ = 50 %, что означает защиту 50 % клеток от действия вируса, данный препарат может использоваться для дальнейших доклинических исследований на животных. Концентрация, обеспечивающая КИ = 95–100 %, гарантирует полную защиту клеток культуры от воздействия вируса и может быть применена для изучения *in vivo* [79].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание биологически активных соединений в трех вариантах растительной композиции

Определение содержания биологически активных соединения (флавоноидов, полисахаридов, дубильных веществ и аскорбиновой кислоты) в растительных композициях проводилось по методикам ГФ РФ XV, представленным выше.

Были получены спектры поглощения комплекса с хлоридом алюминия (рисунки 1 и 2). Поскольку максимумы поглощения были близки к максимуму комплекса рутина с хлоридом алюминия, то пересчет вели на рутин.

Получаемые результаты содержания БАС в трех растительных композициях представлены в таблице 2 и на рисунке 3.

Согласно полученным данным, среднее содержание флавоноидов, дубильных веществ и аскорбиновой кислоты в сборе № 3 является наибольшим значением показателей по сравнению со сбором № 1 и сбором № 2. Это связано с тем, что он содержит траву душицы с относительно высоким количеством флавоноидов, дубильных веществ и аскорбиновой кислоты. Но содержание полисахаридов в сборе № 2 выше, чем в сборе № 1 и сборе № 3. Это связано с тем, что он содержит листья крапивы, в которых содержание полисахаридов относительно высоко.

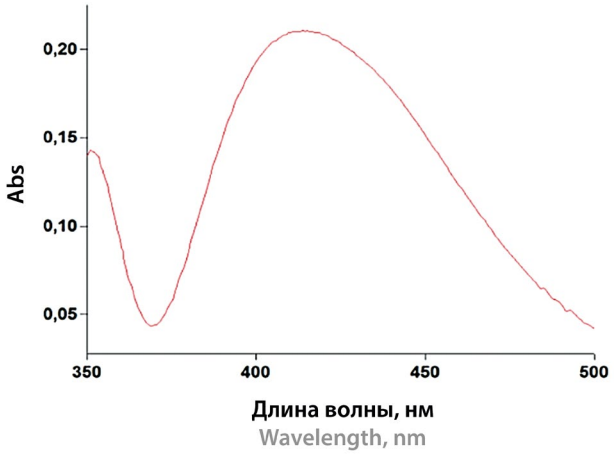


Рисунок 1. Спектр поглощения комплекса рутина с хлоридом алюминия

Figure 1. Absorption spectrum of the rutin complex with aluminum chloride

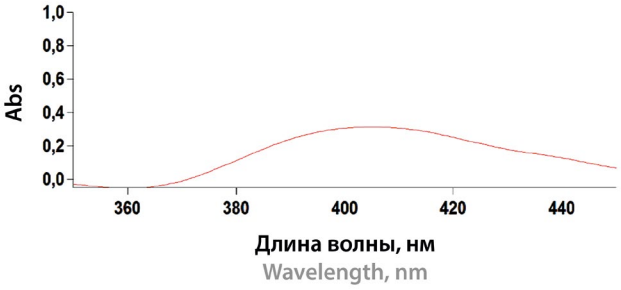


Рисунок 2. Спектр поглощения комплекса флавоноидов водно-спиртового извлечения (70%-й спирт)

Figure 2. Absorption spectrum of the flavonoid complex of hydroalcoholic extract (70 % alcohol)

Таблица 2. Содержание биологически активных веществ в растительных композициях (при *P* = 0,95, *t*(95,4) = 2,78)

Table 2. Content of biologically active substances in plant compositions (*P* = 0.95, *t*(95.4) = 2.78)

Биологически активные вещества Biologically active substances	**Содержание, %** Content, %		
	Сбор № 1 Collection No. 1	**Сбор № 2** Collection No. 2	**Сбор № 3** Collection No. 3
Сумма флавоноидов в пересчете на рутин Total flavonoids in terms of rutin	0,559 ± 0,024	0,545 ± 0,014	0,625 ± 0,021
Дубильные вещества в пересчете на танин Total tannins in terms of tannin	3,27 ± 0,16	3,33 ± 0,10	3,65 ± 0,12
Полисахариды Polysaccharides	4,02 ± 0,15	6,11 ± 0,30	5,99 ± 0,22
Аскорбиновая кислота Ascorbic acid	0,089 ± 0,005	0,097 ± 0,002	0,106 ± 0,006

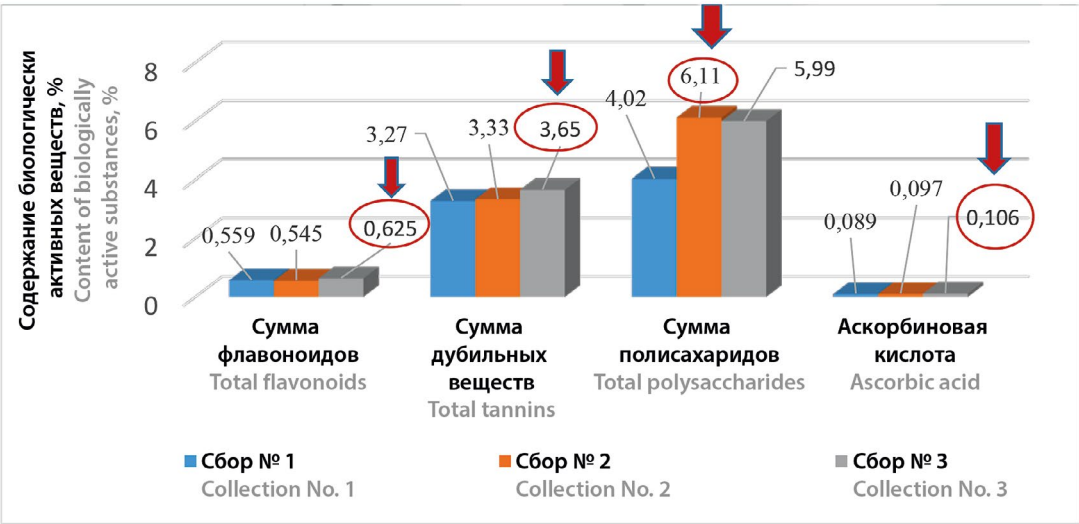


Рисунок 3. **Содержание биологически активных веществ в растительных композициях**

Figure 3. **Content of biologically active substances in plant compositions**

Содержание биологически активных веществ в отварах растительной композиции

Полученные водные извлечения оценивали по количественному содержанию дубильных веществ в пересчете на танин, суммы флавоноидов в пересчете на рутин, полисахаридов и аскорбиновой кислоты.

Определение содержания биологически активных соединений в отварах растительных композиций проводилось по методикам ГФ РФ XV, описанным выше.

Результаты определения биологически активных веществ представлены в таблице 3 и на рисунке 4.

На рисунке 4 представлены результаты, полученные при анализе отваров трех вариантов растительных композиций по всем исследованным показателям. Видно, что наибольшее содержание анализируемых веществ, за исключением флавоноидов, определено в отваре сбора № 3. Большее содержание флавоноидов в отваре первой растительной композиции, вероятно, обусловлено их качественным составом, преобладанием растворимых в воде.

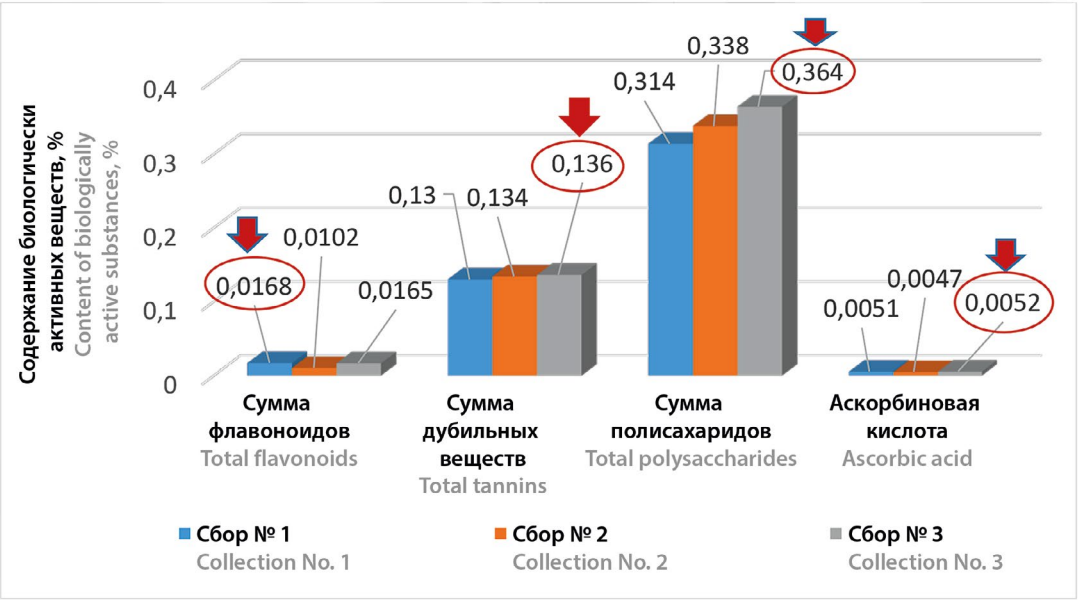


Рисунок 4. **Содержание биологически активных веществ в отварах растительных композиций**

Figure 4. **Content of biologically active substances in decoctions of herbal compositions**

Таблица 3. **Содержание биологически активных веществ в отварах растительных композиций (при $P = 0{,}95$, $t(95{,}4) = 2{,}78$)**

Table 3. **Content of biologically active substances in decoctions of herbal compositions ($P = 0.95$, $t(95.4) = 2.78$)**

Биологически активные вещества Biologically active substances	Содержание, % Content, %		
	Сбор № 1 Collection No. 1	Сбор № 2 Collection No. 2	Сбор № 3 Collection No. 3
Сумма флавоноидов в пересчете на рутин Total flavonoids in terms of rutin	0,0168 ± 0,0008	0,0102 ± 0,0005	0,0165 ± 0,0006
Дубильные вещества в пересчете на танин Total tannins in terms of tannin	0,130 ± 0,007	0,134 ± 0,007	0,136 ± 0,004
Полисахариды Polysaccharides	0,314 ± 0,009	0,338 ± 0,009	0,364 ± 0,016
Аскорбиновая кислота Ascorbic acid	0,0051 ± 0,0004	0,0047 ± 0,0002	0,0052 ± 0,0004

Оценка цитотоксичности исследуемых растительных препаратов на клеточной линии MDCK

Анализ цитотоксичности растительных препаратов в концентрациях 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125 мг/мл проводили при помощи МТТ-теста и микроскопии клеточной культуры.

В культуре клеток MDCK исследуемые растительные препараты по результатам МТТ-теста показали некие цитотоксические действия при больших концентрациях: от 100 мг/мл до 50 мг/мл (гибель клеток более 50 %). При концентрации растительных препаратов 25 мг/мл и ниже наблюдалось увеличение процента жизнеспособности клеток. По полученным данным рассчитывали процент жизнеспособности клеток в сравнении с контролем, результаты представлены в таблице 4 и на рисунке 5, показания оптической плотности приведены в таблице 5.

Таблица 4. **Исследование цитотоксичности растительных препаратов в различных концентрациях на культуре клеток MDCK**

Table 4. **The study of cytotoxicity of herbal drugs in different concentrations on MDCK**

Концентрация, мг/мл Concentration, mg/ml	Процент жизнеспособности, % Viability percentage, %			Контроль клеток Cell control
	Сбор № 1 Collection No. 1	Сбор № 2 Collection No. 2	Сбор № 3 Collection No. 3	
100	26,0 ± 6,9	25,0 ± 7,4	26,3 ± 4,6	100
50	47,9 ± 10,0	35,9 ± 4,8	42,0 ± 16,7	
25	66,9 ± 6,2	54,1 ± 7,1	63,2 ± 8,2	
12,5	75,3 ± 1,00	70,9 ± 10,1	77,4 ± 3,1	
6,25	84,6 ± 8,2	80,7 ± 7,8	87,5 ± 2,3	
3,125	91,9 ± 4,5	95,6 ± 3,0	93,6 ± 3,7	

Таблица 5. **Исследование цитотоксичности растительных препаратов в различных концентрациях на культуре клеток MDCK**

Table 5. **The study of cytotoxicity of herbal drugs in different concentrations on MDCK**

Концентрация, мг/мл Concentration, mg/ml	Оптическая плотность Optical Density			Контроль клеток Cell control
	Сбор № 1 Collection No. 1	Сбор № 2 Collection No. 2	Сбор № 3 Collection No. 3	
100	0,262 ± 0,069	0,252 ± 0,074	0,265 ± 0,047	1,008
50	0,483 ± 0,101	0,362 ± 0,048	0,424 ± 0,168	
25	0,675 ± 0,062	0,545 ± 0,071	0,637 ± 0,082	
12,5	0,759 ± 0,010	0,715 ± 0,102	0,780 ± 0,030	
6,25	0,853 ± 0,083	0,813 ± 0,079	0,882 ± 0,023	
3,125	0,926 ± 0,045	0,967 ± 0,031	0,943 ± 0,037	

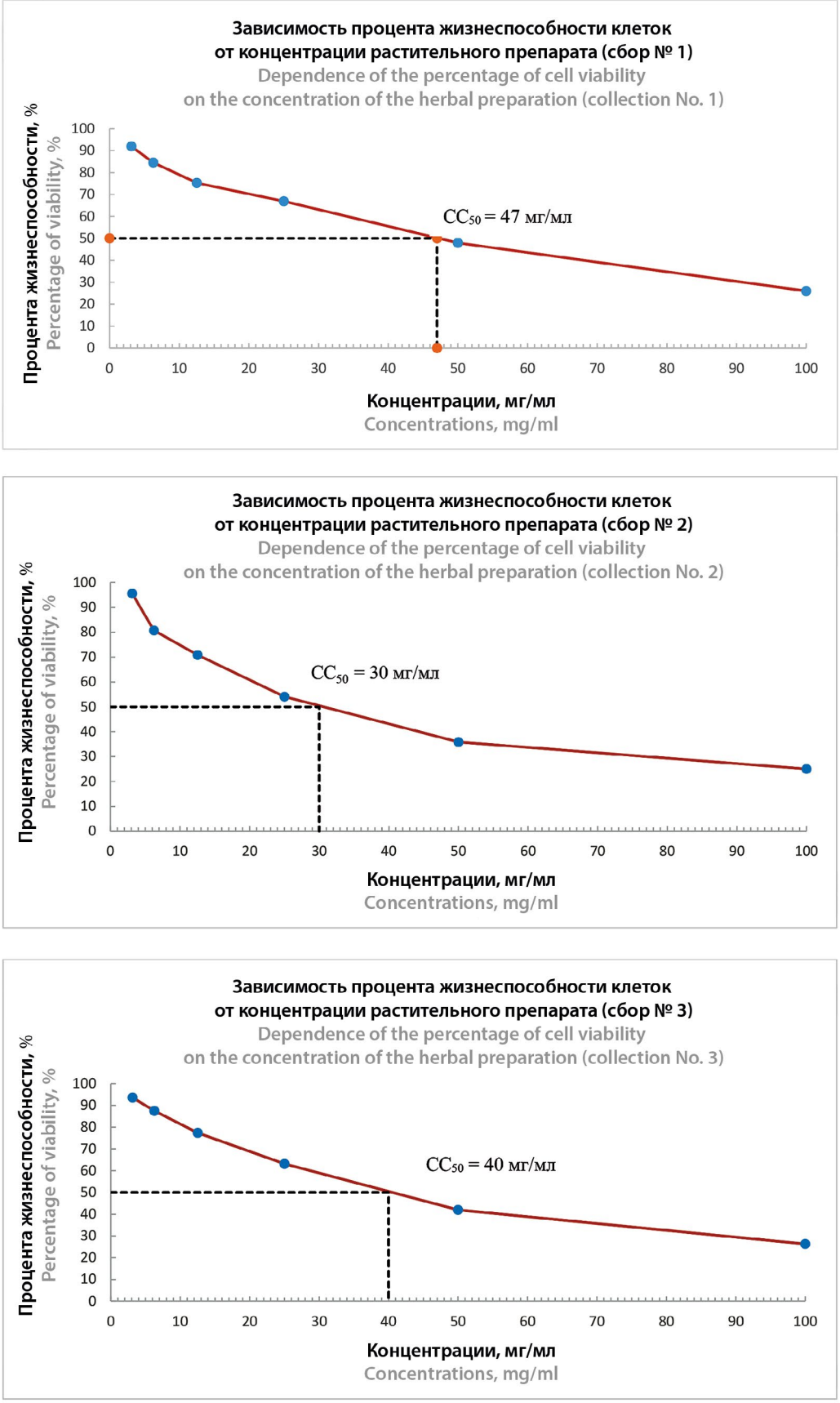


Рисунок 5. **Кривые нахождения цитотоксических концентраций растительных препаратов по методу МТТ-теста**

Figure 5. **Courbe for finding cytotoxic concentrations of herbal drugs using the MTT test method**

Таблица 6. **Концентрация CC_{50} исследуемых растительных препаратов для клеточной культуры MDCK**

Table 6. **CC_{50} concentration of the studied herbal drugs for MDCK cell culture**

Исследуемые препараты Investigational drugs	График Schedule	R^2	CC_{50}, мг/мл CC_{50}, mg/ml
Сбор № 1 Collection No. 1	$y = 91{,}7e^{-0{,}013x}$	0,997	47
Сбор № 2 Collection No. 2	$y = -20{,}78 \ln(x) + 120{,}06$	0,994	30
Сбор № 3 Collection No. 3	$y = -20{,}08 \ln(x) + 122{,}68$	0,967	40

Для исследуемых препаратов были рассчитаны цитотоксические концентрации CC_{50}, которые находились в пределах от 50 мг/мл до 25 мг/мл.

Концентрации CC_{50} рассчитывали, используя математическую модель для разведений каждого водного образца (таблица 6). Соотношение цитотоксических концентраций представлено в таблице 6.

Сбор № 2 имеет наименьшую концентрацию CC_{50} и, соответственно, большую токсичность среди рассматриваемых водных образцов. Предположительно, бóльшая токсичность сбора № 2 в сравнении с остальными водными извлечениями при исследовании в культуре клеток MDCK связана с преобладанием листьев крапивы двудомной, содержащей комплекс активных веществ: дубильные вещества, фитонциды и сапонины, способные легче проникать через клеточную мембрану. Сбор № 1 не содержит листьев крапивы двудомной и обладает меньшей токсичностью из всех исследуемых образцов. Сбор № 3 включает траву душицы, которая, вероятно, может уменьшить воздействие крапивы на клетки MDCK.

Также жизнеспособность клеточной линии MDCK была оценена методом световой микроскопии. Ниже представлены микроскопические наблюдения для сбора № 2 (рисунок 6). Сбор № 1 и сбор № 3 продемонстрировали сходные результаты. Высокие концентрации препаратов оказывали сильное воздействие на клетки, вызывая морфологические изменения в сравнении с контрольными клетками. Эти изменения включали: пикноз клеточного ядра, изменение формы клеток – контрольные клетки (к.к) имеют полигональную форму, а при концентрации 100 мг/мл становятся более набухшими и сморщенными, теряют межклеточный контакт. При концентрациях 50 и 25 мг/мл наблюдается полигональная форма клеток, однако клеточный контакт также нарушен. При воздействии препарата в концентрации 12,5 мг/мл клетки растут вплотную друг к другу и сохраняют полигональную форму. Следовательно, выбор данной концентрации в качестве рабочей концентрации препаратов оказался целесообразным при последующих опытах.

Таким образом, результаты, полученные при микроскопической оценке морфологии клеток, полностью коррелируют с показаниями МТТ-теста.

Оценка противовирусных свойств исследуемых растительных препаратов

Для оценки противовирусных свойств исследуемые препараты в концентрации 12,5 мг/мл, являющейся нетоксической для клеточной линии MDCK, инкубировали с вирусом гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2) после заражения клеток через 2 ч с инфекционным титром 5,0 lg $TCID_{50}$, после чего оценивали падение инфекционного титра вируса по формулам (1) и (3).

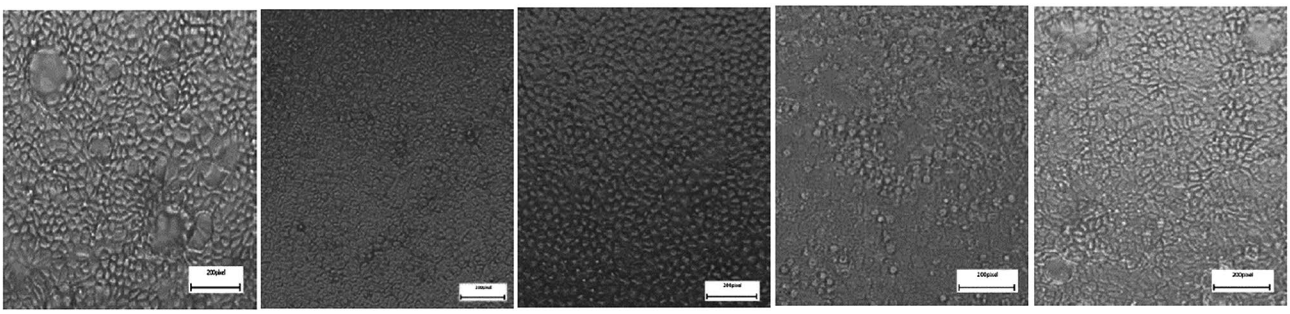
Сборы № 2 и № 3 проявили способность подавлять цитопатическое действие вируса гриппа А в культуре клеток MDCK на 30 % (КИ = 30 %), сбор № 1 – на 10 % (КИ = 10 %) при концентрации 12,5 мг/мл (таблица 7).

Таблица 7. **Противовирусная активность исследуемых растительных препаратов в культуре клеток MDCK**

Table 7. **Antiviral activity of the studied herbal drugs in MDCK cell culture**

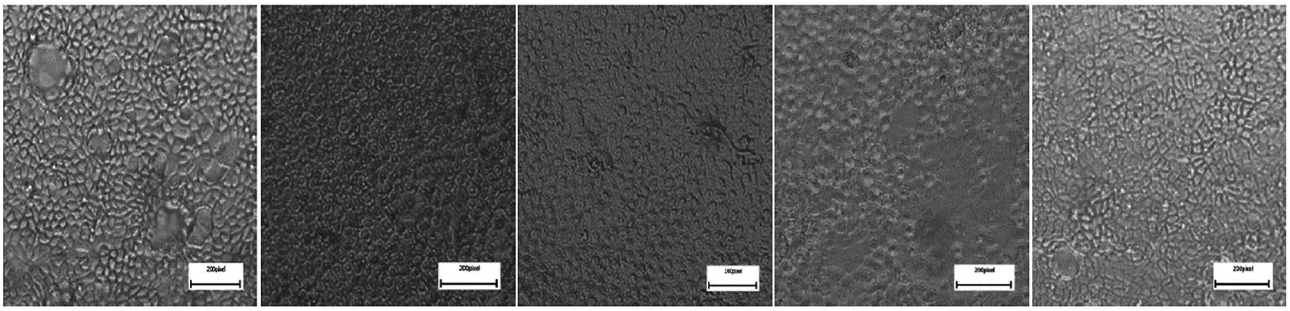
Исследуемые препараты Investigational drugs	Концентрация препаратов, мг/мл Concentration of drugs, mg/ml	Инфекционный титр вируса lg $TCID_{50}$ Infectious titer of the virus lg $TCID_{50}$	Подавление инфекционного титра Δlg $TCID_{50}$ Suppression of infectious titer Δlg $TCID_{50}$	КИ, % CI, %
Сбор № 1 Collection No. 1	12,5	4,5	0,5	10,0
Сбор № 2 Collection No. 2	12,5	3,5	1,5	30,0
Сбор № 3 Collection No. 3	12,5	3,5	1,5	30,0
Контроль вируса Virus control		5	–	–

Соответственно, препараты с преобладанием листьев крапивы двудомной обладали бóльшей биологической активностью на клеточную линию MDCK. Рассматриваемые препараты представляют собой отвары, подвергающиеся более термодлительному нагреванию, что может повлиять на проявление био-



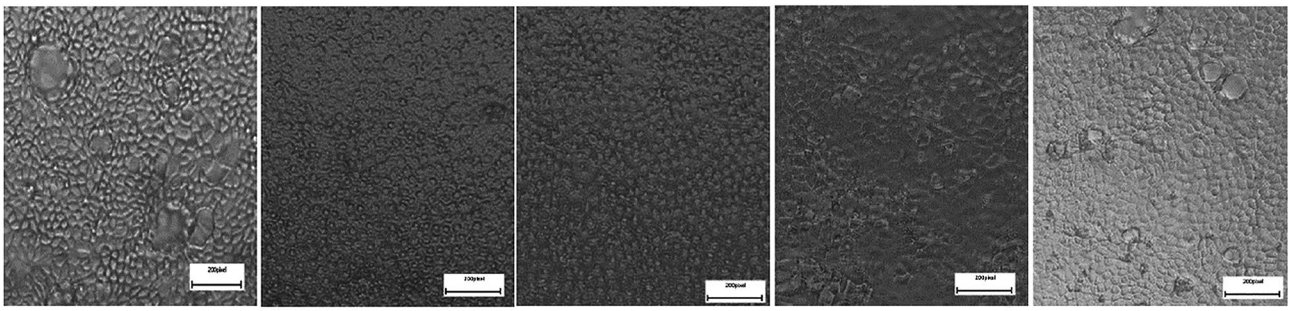
к.к.	100 мг/мл	50 мг/мл	25 мг/мл	12,5 мг/мл
k.k.	100 mg/ml	50 mg/ml	25 mg/ml	12.5 mg/ml

Сбор № 1
Collection No. 1



к.к.	100 мг/мл	50 мг/мл	25 мг/мл	12,5 мг/мл
k.k.	100 mg/ml	50 mg/ml	25 mg/ml	12.5 mg/ml

Сбор № 2
Collection No. 2



к.к.	100 мг/мл	50 мг/мл	25 мг/мл	12,5 мг/мл
k.k.	100 mg/ml	50 mg/ml	25 mg/ml	12.5 mg/ml

Сбор № 3
Collection No. 3

Рисунок 6. Клетки MDCK в присутствии растительных препаратов спустя 72 часа инкубации

Figure 6. MDCK cells in the presence of plant drugs after 72 hours of incubation

логических свойств сбора № 1, многие активные соединения, содержащиеся в травах тимьяна ползучего и тысячелистника обыкновенного, улетучиваются ввиду такой обработки препарата. В связи с этим возможен более щадящий способ извлечения компонентов, например настаивание. Для увеличения эффективности действия препаратов необходимо также более детальное изучение лекарственных растений, применяемых во всех исследуемых препаратах, и исключение тех, которые могут уменьшить биологическое действие активных соединений растений.

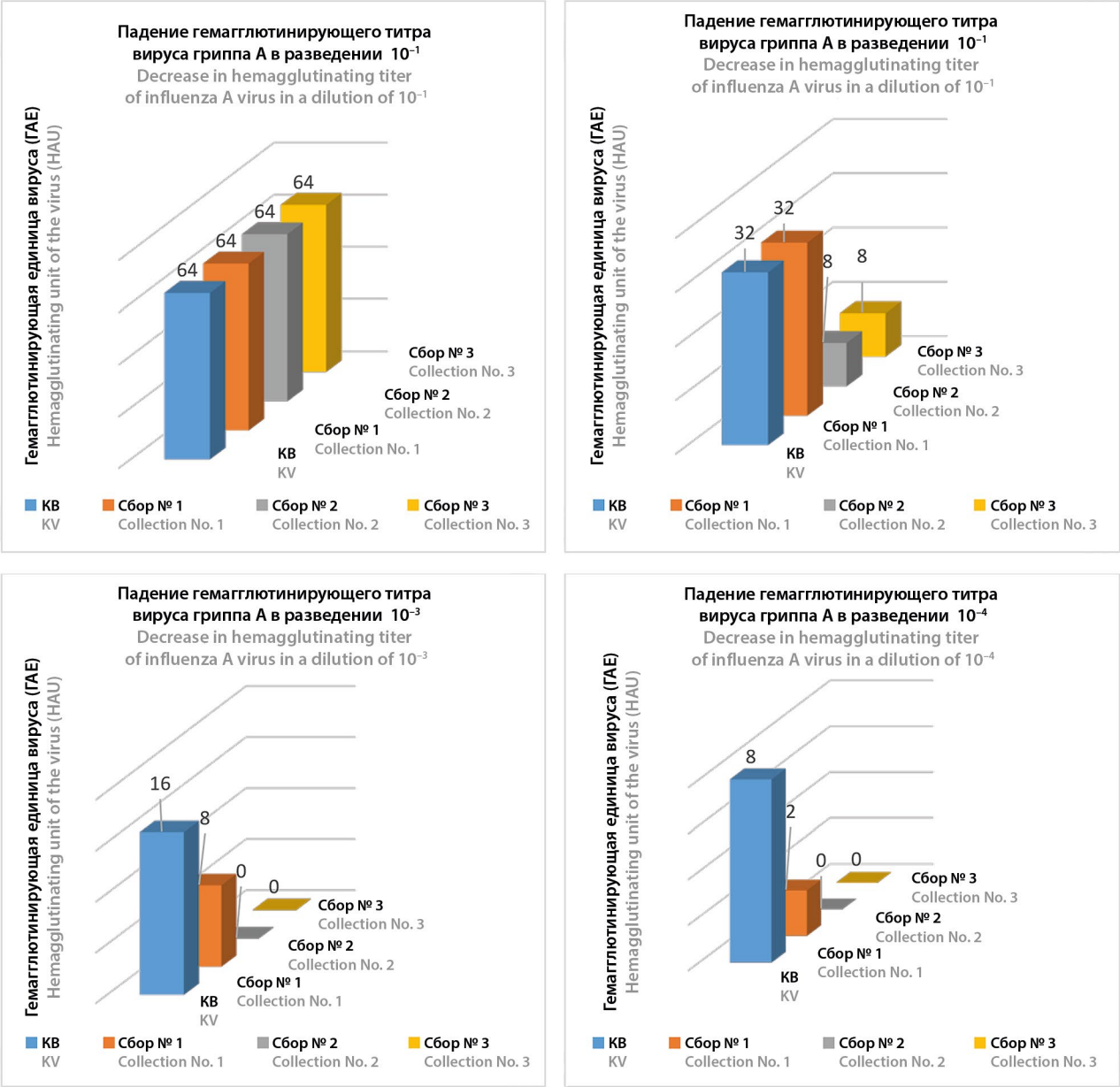


Рисунок 7. Сравнение гемагглютинирующих титров вируса гриппа А в присутствии исследуемых растительных препаратов

Figure 7. Comparison of hemagglutinating titers of influenza A virus in the presence of the studied herbal drugs

Активность вируса гриппа А в присутствии исследуемых препаратов также определяли с помощью реакции гемагглютинации. Показания гемагглютинирующих титров вируса представлены на рисунке 7.

В самом низком разведении (10^{-1}) гемагглютинирующий титр вируса составил 64 ГАЕ, снижения активности вируса препаратами не наблюдалось. В разведении 10^{-2} титр исходного вируса составил 32 ГАЕ, наблюдалось ингибирование действия вируса гриппа А растительными препаратами (сборы № 2 и 3), гемагглютинирующие титры составили 8 ГАЕ. Гемагглютинирующая активность вируса гриппа А была полностью подавлена водными препаратами (сборы № 2 и 3) при исходных титрах контрольного вируса 16 и 8 ГАЕ в разведениях 10^{-3} и 10^{-4} соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе анализа данных научной литературы предложены составы трех растительных композиций, включающих 14 фармакопейных видов лекарственного растительного сырья (плоды шиповника, плоды калины обыкновенной, кора дуба, корневища аира обыкновенного, корни солодки, трава тысячелистника обыкновенного, трава хвоща полевого,

листья подорожника большого, цветки бессмертника песчаного, трава тимьяна ползучего, корневища и корни элеутерококка колючего, листья крапивы двудомной, трава душицы обыкновенной, соплодия ольхи серой), для комплексной терапии гриппа. Проведено сравнительное изучение данных композиций и их отваров по содержанию флавоноидов, дубильных веществ, полисахаридов и аскорбиновой кислоты. Установлено, что составы №№ 2 и 3 и их отвары содержат больше данных БАВ. Изучено противовирусное действие против вируса гриппа типа А отваров трех разработанных составов. Установлено наличие противовирусного действия, при этом оно коррелирует с процентным содержанием БАВ в отварах. Хотя определенные соединения этих растений (дубильные вещества, флавоноиды), по данным литературы, могут обуславливать это действие, вполне вероятно, что терапевтический эффект является результатом их синергического действия, которое может быть дополнено уже не специфическим противовирусным действием, а противовоспалительным, иммуномодулирующим и прочим влиянием на макроорганизм полисахаридов и аскорбиновой кислоты. Несмотря на слабые противовирусные свойства растительного препарата, он будет эффективен в комплексной терапии вируса гриппа А.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chernyshova A. I., Zhirnov O. P. Two Phylogenetic Cohorts of the Nucleocapsid Protein NP and Their Correlation with the Host Range of Influenza A Viruses. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2024;516:93–97. DOC: 10.1134/S1607672924700789.
2. Krejcova L., Michalek P., Hynek D., Adam V., Kizek R. Structure of influenza viruses, connected with influenza life cycle. *Journal of Metallomics and Nanotechnologies*. 2015;2(1):13–19.
3. Lina B. History of influenza pandemics. In: Raoult D., Drancourt M., editors. Paleomicrobiology. Past Human Infections. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2008. P. 199–211. DOI: 10.1007/978-3-540-75855-6_12.
4. Wu Z.-Q., Zhang Y., Zhao N., Yu Z., Pan H., Chan T.-C., Zhang Z.-R., Liu S.-L. Comparative Epidemiology of Human Fatal Infections with Novel, High (H5N6 and H5N1) and Low (H7N9 and H9N2) Pathogenicity Avian Influenza A Viruses. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2017;14(3):263. DO: 10.3390/ijerph14030263.
5. Walker P. J., Siddell S. G., Lefkowitz E. J., Mushegian A. R., Adriaenssens E. M., Alfenas-Zerbini P., Dempsey D. M., Dutilh B. E., García M. L., Hendrickson R. C., Junglen S., Krupovic M., Kuhn J. H., Lambert A. J., Łobocka M., Oksanen H. M., Orton R. J., Robertson D. L., Rubino L., Sabanadzovic S., Simmonds P., Smith D. B., Suzuki N., Van Doorslaer K., Vandamme A.-M., Varsani A., Zerbini F. M. Recent changes to virus taxonomy ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2022). *Archives of Virology*. 2022;167(11):2429–2440. DOI: 10.1007/s00705-022-05516-5.
6. Saunders-Hastings P., Krewski D. Reviewing the History of Pandemic Influenza: Understanding Patterns of Emergence and Transmission. *Pathogens*. 2016;5(4):66. DOI: 10.3390/pathogens5040066.
7. Treanor J. J. Influenza viruses. In: Kaslow R. A., Stanberry L. R., Powers A. M., editors. Viral Infections of Humans. Epidemiology and Control. New York: Springer US; 2023. P. 1–57.
8. Woźniak-Kosek A., Kempińska-Mirosławska B., Hoser G. Detection of the influenza virus yesterday and now. *Acta Biochimica Polonica*. 2014;61(3):465–470.
9. Васин А. В. Новые подходы к разработке средств диагностики и химиотерапии гриппа с использованием геномных и постгеномных технологий. Дис. ... док. биол. наук. Санкт-Петербург; 2018. 38 с. Доступно по: https://www.dissercat.com/content/novye-podkhody-k-razrabotke-sredstv-diagnostiki-i-khimioterapii-grippa-s-ispolzovaniem-genom. Ссылка активна на 12.01.2025.
10. Mehrbod P., Abdalla M. A., Njoya E. M., Ahmed A. S., Fotouhi F., Farahmand B., Gado D. A., Tabatabaian M., Fasanmi O. G., Eloff J. N., McGaw L. J., Fasina F. O. South African medicinal plant extracts active against influenza A virus. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2018;18(1):112. DOI: 10.1186/s12906-018-2184-y.
11. Mousa H. A.-L. Prevention and Treatment of Influenza, Influenza-Like Illness, and Common Cold by Herbal, Complementary, and Natural Therapies. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*. 2017;22(1):166–174. DOI: 10.1177/2156587216641831.
12. Kim Y., Narayanan S., Chang K.-O. Inhibition of influenza virus replication by plant-derived isoquercetin. *Antiviral Research*. 2010;88(2):227–235. DOI: 10.1016/j.antiviral.2010.08.016.
13. Oriola A. O., Oyedeji A. O. Essential Oils and Their Compounds as Potential Anti-Influenza Agents. *Molecules*. 2022;27(22):7797. DOI: 10.3390/molecules27227797.
14. Takashita E. Influenza Polymerase Inhibitors: Mechanisms of Action and Resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2021;11(5):a038687. DOI: 10.1101/cshperspect.a038687.
15. Lipkowski A., Litwińska B. The use of viburnum opulus or its tissues or products thereof for the prevention or treatment of herpes virus infections. Patent № WO2012091589A1. 05.07.2012. Available at: https://patents.google.com/patent/WO2012091589A1/da. Accessed: 12.01.2025.
16. Stoyanova A., Popatanasov A., Rashev V., Tancheva L., Quideau S., Galabov A. S. Effect of castalagin against HSV-1 infection in newborn mice. *Natural Product Research*. 2023;37(24):4156–4161. DOI: 10.1080/14786419.2023.2173191.
17. Yao X., Ling Y., Guo S., Wu W., He S., Zhang Q., Zou M., Nandakumar K. S., Chen X., Liu S. Tatanan A from the *Acorus calamus* L. root inhibited dengue virus proliferation and infections. *Phytomedicine*. 2018;42:258–267. DOI: 10.1016/j.phymed.2018.03.018.
18. Tribudi Y. A., Agustin A. T., Setyaningtyas D. E., Gusmalawati D. Bioactive Compound Profile and Biological Modeling Reveals the Potential Role of Purified Methanolic Extract of Sweet Flag (*Acorus calamus* L.) in Inhibiting the Dengue Virus (DENV) NS3 Protease-Helicase. *Indonesian Journal of Chemistry*. 2022;22(2):331–341. DOI: 10.22146/ijc.68317.
19. Huang Y., Li Z., Ma Y., Wu Q., Kong J., Zhao L., Li S., Li J. Screening for Active Compounds of Acorus calamus against SARS-CoV-2 Viral Protease and Mecha-

nism Prediction. *Pharmaceuticals*. 2024;17(3):325. DOI: 10.3390/ph17030325.
20. Joshi S. V., Gupta S., Tripathi K., Mishra S., Kumar S. Antiviral plants of India. Cuttack: APRF Publisher; 2024.
21. Wang J., Chen X., Wang W., Zhang Y., Yang Z., Jin Y., Ge H. M., Li E., Yang G. Glycyrrhizic acid as the antiviral component of Glycyrrhiza uralensis Fisch. against coxsackievirus A16 and enterovirus 71 of hand foot and mouth disease. *Journal of Ethnopharmacology*. 2013;147(1):114–121. DOI: 10.1016/j.jep.2013.02.017.
22. Kuo K.-K., Chang J.-S., Wang K.-C., Chiang L.-C. Water extract of *Glycyrrhiza uralensis* inhibited enterovirus 71 in a human foreskin fibroblast cell line. *The American Journal of Chinese Medicine*. 2009;37(2):383–394. DOI: 10.1142/S0192415X09006904.
23. Song W., Si L., Ji S., Wang H., Fang X.-M., Yu L.-Y., Li R.-Y., Liang L.-N., Zhou D., Ye M. Uralsaponins M-Y, antiviral triterpenoid saponins from the roots of *Glycyrrhiza uralensis*. *Journal of Natural Products*. 2014;77(7):1632–1643. DOI: 10.1021/np500253m.
24. Li Z., Dong M., Chen Z., Zhang C., Jiang J., Liu M., Cui Q. Combining virus-based affinity ultrafiltration method with serum pharmacochemistry to identify the antiviral pharmacodynamic substances in licorice. *Journal of Ethnopharmacology*. 2025;338(Part 1):118978. DOI: 10.1016/j.jep.2024.118978.
25. Angourani H. R., Zare A., Moghadam M. M., Ramazani A., Mastinu A. Investigation on the Essential Oils of the Achillea Species: From Chemical Analysis to the In Silico Uptake against SARS-CoV-2 Main Protease. *Life*. 2023;13(2):378. DOI: 10.3390/life13020378.
26. Rezatofighi S. E., Seydabadi A., Seyyed Nejad S. M. Evaluating the Efficacy of Achillea millefolium and Thymus vulgaris Extracts Against Newcastle Disease Virus in Ovo. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2014;7(2):e9016. DOI: 10.5812/jjm.9016.
27. Moradi M.-T., Karimi A., Lorıgooini Z., Pourgheysari B., Alidadi S., Hashemi L. In vitro anti influenza virus activity, antioxidant potential and total phenolic content of twelve Iranian medicinal plants. *Marmara Pharmaceutical Journal*. 2017;21(4):843–851. DOI: 10.12991/mpj.2017.10.
28. Chiang L. C., Chiang W., Chang M. Y., Ng L. T., Lin C. C. Antiviral activity of Plantago major extracts and related compounds in vitro. *Antiviral Research*. 2002;55(1):53–62. DOI: 10.1016/s0166-3542(02)00007-4.
29. Chiang L.-C., Chiang W., Chang M.-Y., Lin C.-C. *In vitro* cytotoxic, antiviral and immunomodulatory effects of *Plantago major* and *Plantago asiatica*. *The American Journal of Chinese Medicine*. 2003;31(2):225–234. DOI: 10.1142/S0192415X03000874.
30. Povnitsa O., Bilyavska L., Pankivska Yu., Likhanov A., Dorovskyh A., Lysenko V., Lokshin M., Zahorodnia S. In vitro Antiviral Activity of Leaf Extracts Plantago major, Plantago lanceolata, Rubus idaeus. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*. 2022;(1):49–62. DOI: 10.15407/microbiolj84.01.044.
31. Kutluk I., Aslan M., Orhan I. E., Özçelik B. Antibacterial, antifungal and antiviral bioactivities of selected Helichrysum species. *South African Journal of Botany*. 2018;119:252–257. DOI: 10.1016/j.sajb.2018.09.009.
32. Kaya S., Erkan S., Karakaş D. Investigation of the Effect of Main Components of Wild Thyme on Covid-19 by Computational Methods. *Cumhuriyet Science Journal*. 2023;44(4):665–670. DOI: 10.17776/csj.1328641.
33. Glatthaar-Saalmüller B., Sacher F., Esperester A. Antiviral activity of an extract derived from roots of Eleutherococcus senticosus. *Antiviral Research*. 2001;50(3):223–228. DOI: 10.1016/s0166-3542(01)00143-7.
34. Knipping K., Garssen J., van't Land B. An evaluation of the inhibitory effects against rotavirus infection of edible plant extracts. *Virology Journal*. 2012;9:137. DOI: 10.1186/1743-422X-9-137.
35. Uncini Manganelli R.E., Zaccaro L., Tomei P. E. Antiviral activity in vitro of *Urtica dioica* L., *Parietaria diffusa* M. et K. and *Sambucus nigra* L. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005;98(3):323–327. DOI: 10.1016/j.jep.2005.01.021.
36. Meneses Lopez R., Ocazionez R. E., Martinez J. R., Stashenko E. E. Inhibitory effect of essential oils obtained from plants grown in Colombia on yellow fever virus replication in vitro. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2009;8:8. DOI: 10.1186/1476-0711-8-8.
37. Gilling D. H., Kitajima M., Torrey J. R., Bright K. R. Antiviral efficacy and mechanisms of action of oregano essential oil and its primary component carvacrol against murine norovirus. *Journal of Applied Microbiology*. 2014;116(5):1149–1163. DOI: 10.1111/jam.12453.
38. Sánchez G., Aznar R. Evaluation of Natural Compounds of Plant Origin for Inactivation of Enteric Viruses. *Food and Environmental Virology*. 2015;7:183–187. DOI: 10.1007/s12560-015-9181-9.
39. Okino C. H., Melito G. R., de Almeida Astolfo M. E., Da Mata Martins M. E., Junior S. B., Ferreira M. D. Antiviral Effect of Different Essential Oils on Avian Coronavirus. *Avian Diseases*. 2024;68(3):254–258. DOI: 10.1637/aviandiseases-D-24-00015.
40. Blank D. E., de Oliveira Hübner S., Alves G. H., Lima Cardoso C. A., Freitag R. A., Cleff M. B. Chemical composition and antiviral effect of extracts of *Origanum vulgare*. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 2019;10(7):188–196. DOI: 10.4236/abb.2019.107014.
41. Trokhymchuk T. Yu., Shalamay A. S., Zavelevich M. P., Palchykovska L. G., Vasylchenko O. V., Rybalko S. L., Starosyla D. B., Diadiun S. T. Anti-HIV activity of ellagitannins from alder tree fruits. *Biopolymers and Cell*. 2018;34(3):218–228. DOI: 10.7124/bc.00097C.
42. Гончарова О. В. Фитотерапия в профилактике ОРИ у детей. *Практика педиатра*. 2011;5:39–43.
43. Плетнёв В. В. Капли Плетнева, обладающие противовирусным и иммуномодулирующим эффектами. Патент РФ на изобретение № RU2553308C1. 10.06.2015. Доступно по: https://patents.google.com/patent/RU2553308C1/ru. Ссылка активна на 12.01.2025.
44. Печеневский А. В., Печеневский А. А., Косенко Н. В., Северцев В. А. Сбор лекарственных растений, обладающий противовирусным, противомикробным и иммуномодулирующим действиями. Патент РФ на изобретение № RU2160596C1. 20.12.2000. Доступно по: https://patents.google.com/patent/RU2160596C1/ru. Ссылка активна на 12.01.2025.
45. Chon H. Medicinal herbs and plant extracts for influenza: Bioactivity, mechanism of anti-influenza effects, and modulation of immune responses. *Studies in Natural Products Chemistry*. 2012;38:305–323. DOI: 10.1016/B978-0-444-59530-0.00011-3.
46. Adetunji C. O., Ajayi O. O., Akram M., Olaniyan O. T., Chishti M. A., Abel I., Olaniyan S., Adetunji J. B., Olaniyan M., Awotunde S. O. Medicinal plants used in the treatment

of influenza A virus infections. In: Dua K., Nammi S., Chang D., Kumar Chellappan D., Gupta G., Collet T., editors. Medicinal Plants for Lung Diseases. A Pharmacological and Immunological Perspective. New York: Springer; 2021. P. 417–435.
47. Kim S., Kim Y., Kim J. W., Hwang Y. B., Kim S. H., Jang Y. H. Antiviral Activity of Plant-derived Natural Products against Influenza Viruses. *Journal of Life Science*. 2022;32(5):375–390.
48. Boora S., Khan A., Soniya K., Yadav S., Kaushik S., Kumar R., Chhikara S., Kaushik S. Antiviral potential of medicinal plants against influenza viruses: A systematic review. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2023;16(3):1503–1513. DOI: 10.52711/0974-360X.2023.00247.
49. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2023. 3576 с.
50. Сергунова Е. В., Сорокина А. А. Изучение фенольных соединений плодов и лекарственных форм шиповника методом ВЭЖХ. *Фармация*. 2012;5:11–13.
51. Sharifi-Rad J., Quispe C., Vergara C. V., Kitic D., Kostic M., Armstrong L., Khan Shinwari Z., Talha Khalil A., Brdar-Jokanović M., Ljevnaić-Mašić B., Varoni E. M., Iriti M., Leyva-Gómez G., Herrera-Bravo J., Salazar L. A., Cho W. C. Genus *Viburnum*: Therapeutic Potentialities and Agro-Food-Pharma Applications. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021;2021:3095514. DOI: 10.1155/2021/3095514.
52. Ştefănescu R., Ciurea C.N., Mare A. D., Man A., Nisca A., Nicolescu A., Mocan A., Babotă M., Coman N.-A., Tanase C. Quercus Robur Older Bark—A Source of Polyphenolic Extracts with Biological Activities. *Applied Sciences*. 2022;12(22):11738. DOI: 10.3390/app122211738.
53. Yadav D., Srivastava S., Tripathi Y. B. Acorus calamus: A review. *International Journal of Scientific Research in Biological Sciences*. 2019;6(4):62–67. DOI: 10.26438/ijsrbs/v6i4.6267.
54. Yang Y.-N., Liu Y.-Y., Feng Z.-M., Jiang J.-S., Zhang P.-C. Seven new flavonoid glycosides from the roots of Glycyrrhiza uralensis and their biological activities. *Carbohydrate Research*. 2019;485:107820. DOI: 10.1016/j.carres.2019.107820.
55. He R., Ma T.-T., Gong M.-X., Xie K.-L., Wang Z.-M., Li J. The correlation between pharmacological activity and contents of eight constituents of Glycyrrhiza uralensis Fisch. *Heliyon*. 2023;9(3):e14570. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e14570.
56. Saifulazmi N. F., Rohani E. R., Harun S., Bunawan H., Hamezah H. S., Nor Muhammad N. A., Azizan K. A., Ahmed Q. U., Fakurazi S., Mediani A., Sarian M. N. A Review with Updated Perspectives on the Antiviral Potentials of Traditional Medicinal Plants and Their Prospects in Antiviral Therapy. *Life*. 2022;12(8):1287. DOI: 10.3390/life12081287.
57. Лекарственное растительное сырье. М.: Издательство стандартов; 1980. 296 с.
58. 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):64–72.
59. Ботиров Э. Х., Боначева В. М., Коломиец Н. Э. Химический состав и биологическая активность метаболитов растений рода *Equisetum* L. *Химия растительного сырья*. 2021;1:5–26. DOI: 10.14258/jcprm.2021017760.
60. Kizi K. S. A. Pharmacological Properties of Plantago *Major* L. and Its Active Constituents. *International Journal of Medical Science and Public Health Research*. 2022;3(4):9–12. DOI: 10.37547/ijmsphr/Volume03Issue04-03.
61. Adom M. B., Taher M., Mutalabisin M. F., Amri M. S., Abdul Kudos M. B., Wan Sulaiman M. W. A., Sengupta P., Susanti D. Chemical constituents and medical benefits of Plantago major. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017;96:348–360. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.09.152.
62. Куркин В. А. Основы фитотерапии. Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава»; 2009. 963 с.
63. Гагуева А. У., Степанова Э. Ф. Лекарственные препараты отхаркивающего действия. Роль растительных источников в терапии кашля: изученность, ассортимент, востребованность. *Астраханский медицинский журнал*. 2018;13(4):23–31. DOI: 10.17021/2018.13.4.23.31.
64. Jia A., Zhang Y., Gao H., Zhang Z., Zhang Y., Wang Z., Zhang J., Deng B., Qiu Z., Fu C. A review of *Acanthopanax senticosus* (Rupr and Maxim.) harms: From ethnopharmacological use to modern application. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021;268:113586. DOI: 10.1016/j.jep.2020.113586.
65. Bhusal K. K., Magar S. K., Thapa R., Lamsal A., Bhandari S., Maharjan R., Shrestha S., Shrestha J. Nutritional and pharmacological importance of stinging nettle (*Urtica dioica* L.): A review. *Heliyon*. 2022;8(6):e09717. DOI: 10.1016/j.heliyon.2022.e09717.
66. Sharifi-Rad M., Berkay Yılmaz Y., Antika G., Salehi B., Tumer T. B., Kulandaisamy Venil C., Das G., Patra J. K., Karazhan N., Akram M., Iqbal M., Imran M., Sen S., Acharya K., Dey A., Sharifi-Rad J. Phytochemical constituents, biological activities, and health-promoting effects of the genus *Origanum*. *Phytotherapy Research*. 2021;35(1):95–121. DOI: 10.1002/ptr.6785.
67. Protsenko M. A., Mazurkova N. A., Filippova E. I., Kukushkina T. A., Lobanova I. E., Pshenichkina Y. A., Vysochina G. I. Anti-Influenza Activity of Extracts from Plants of the Lamiaceae Family. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2022;48(7):1534–1541. DOI: 10.1134/S1068162022070238.
68. Sargin S. A. Potential anti-influenza effective plants used in Turkish folk medicine: A review. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021;265:113319. DOI: 10.1016/j.jep.2020.113319.
69. Dahija S., Čakar J., Vidic D., Maksimović M., Parić A. Total phenolic and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activities of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn., *Alnus incana* (L.) Moench and *Alnus viridis* (Chaix) DC. extracts. *Natural Product Research*. 2014;28(24):2317–2320. DOI: 10.1080/14786419.2014.931390.
70. Ильичева Т. Н., Нетесов С. В., Гуреев В. Н. Практикум по микробиологии «Вирусы гриппа». Новосибирск: Новосибирский национальный исследовательский государственный университет; 2012. 86 с.
71. Фрешни Р. Я. Культура животных клеток: практическое руководство. М: БИНОМ. Лаборатория знаний; 2010. 691 с.
72. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*. 1983;65(1–2):55–63. DOI: 10.1016/0022-1759(83)90303-4.
73. Reed L. J., Muench H. A simple method of Estimating fifty per cent endpoints. *American Journal of Epidemiology*. 1938;27(3):493–497. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a118408.
74. Davies H. W., Appleyard G., Cunningham P., Pereira M. S. The use of a continuous cell line for the isolation of influenza viruses. *Bulletin of the World Health Organization*. 1978;56(6):991–993.
75. Klenk H.-D., Rott R., Orlich M., Blödorn J. Activation of influenza A viruses by trypsin treatment. *Virology*. 1975;68(2):426–439. DOI: 10.1016/0042-6822(75)90284-6.

76. Суханова С. М., Путручук Е. М., Генералов А. А. Трипсин. Свойства и применение в производстве биологических лекарственных препаратов. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2018;18(2):106–113. DOI: 10.30895/2221-996X-2018-18-2-106-113.
77. McAuley J. L., Gilbertson B. P., Trifkovic S., Brown L. E., McKimm-Breschkin J. L. Influenza Virus Neuraminidase Structure and Functions. *Frontiers in Microbiology*. 2019;10:39. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00039.
78. Здродовского П. Ф., Соколова М. И., ред. Руководство по лабораторной диагностике вирусных и риккетсиозных болезней. М.: Медицина; 1965. 591с.
79. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ. М.: Изд-во Медицина, Изд-во Шико; 2005. 826 с.

REFERENCES

1. Chernyshova A. I., Zhirnov O. P. Two Phylogenetic Cohorts of the Nucleocapsid Protein NP and Their Correlation with the Host Range of Influenza A Viruses. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2024;516:93–97. DOC: 10.1134/S1607672924700789.
2. Krejcova L., Michalek P., Hynek D., Adam V., Kizek R. Structure of influenza viruses, connected with influenza life cycle. *Journal of Metallomics and Nanotechnologies*. 2015;2(1):13–19.
3. Lina B. History of influenza pandemics. In: Raoult D., Drancourt M., editors. Paleomicrobiology. Past Human Infections. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2008. P. 199–211. DOI: 10.1007/978-3-540-75855-6_12.
4. Wu Z.-Q., Zhang Y., Zhao N., Yu Z., Pan H., Chan T.-C., Zhang Z.-R., Liu S.-L. Comparative Epidemiology of Human Fatal Infections with Novel, High (H5N6 and H5N1) and Low (H7N9 and H9N2) Pathogenicity Avian Influenza A Viruses. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2017;14(3):263. DO: 10.3390/ijerph14030263.
5. Walker P. J., Siddell S. G., Lefkowitz E. J., Mushegian A. R., Adriaenssens E. M., Alfenas-Zerbini P., Dempsey D. M., Dutilh B. E., García M. L., Hendrickson R. C., Junglen S., Krupovic M., Kuhn J. H., Lambert A. J., Łobocka M., Oksanen H. M., Orton R. J., Robertson D. L., Rubino L., Sabanadzovic S., Simmonds P., Smith D. B., Suzuki N., Van Doorslaer K., Vandamme A.-M., Varsani A., Zerbini F. M. Recent changes to virus taxonomy ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2022). *Archives of Virology*. 2022;167(11):2429–2440. DOI: 10.1007/s00705-022-05516-5.
6. Saunders-Hastings P., Krewski D. Reviewing the History of Pandemic Influenza: Understanding Patterns of Emergence and Transmission. *Pathogens*. 2016;5(4):66. DOI: 10.3390/pathogens5040066.
7. Treanor J. J. Influenza viruses. In: Kaslow R. A., Stanberry L. R., Powers A. M., editors. Viral Infections of Humans. Epidemiology and Control. New York: Springer US; 2023. P. 1–57.
8. Woźniak-Kosek A., Kempińska-Mirosławska B., Hoser G. Detection of the influenza virus yesterday and now. *Acta Biochimica Polonica*. 2014;61(3):465–470.
9. Vasin A. V. New approaches to the development of diagnostics and chemotherapy for influenza using genomic and postgenomic technologies. [Dissertation.] St. Petersburg; 2018. 38 p. Available at: https://www.dissercat.com/content/novye-podkhody-k-razrabotke-sredstv-diagnostiki-i-khimioterapii-grippa-s-ispolzovaniem-genom. Accessed: 12.01.2025. (In Russ.)
10. Mehrbod P., Abdalla M. A., Njoya E. M., Ahmed A. S., Fotouhi F., Farahmand B., Gado D. A., Tabatabaian M., Fasanmi O. G., Eloff J. N., McGaw L. J., Fasina F. O. South African medicinal plant extracts active against influenza A virus. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2018;18(1):112. DOI: 10.1186/s12906-018-2184-y.
11. Mousa H. A.-L. Prevention and Treatment of Influenza, Influenza-Like Illness, and Common Cold by Herbal, Complementary, and Natural Therapies. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*. 2017;22(1):166–174. DOI: 10.1177/2156587216641831.
12. Kim Y., Narayanan S., Chang K.-O. Inhibition of influenza virus replication by plant-derived isoquercetin. *Antiviral Research*. 2010;88(2):227–235. DOI: 10.1016/j.antiviral.2010.08.016.
13. Oriola A. O., Oyedeji A. O. Essential Oils and Their Compounds as Potential Anti-Influenza Agents. *Molecules*. 2022;27(22):7797. DOI: 10.3390/molecules27227797.
14. Takashita E. Influenza Polymerase Inhibitors: Mechanisms of Action and Resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2021;11(5):a038687. DOI: 10.1101/cshperspect.a038687.
15. Lipkowski A., Litwińska B. The use of viburnum opulus or its tissues or products thereof for the prevention or treatment of herpes virus infections. Patent № WO2012091589A1. 05.07.2012. Available at: https://patents.google.com/patent/WO2012091589A1/da. Accessed: 12.01.2025.
16. Stoyanova A., Popatanasov A., Rashev V., Tancheva L., Quideau S., Galabov A. S. Effect of castalagin against HSV-1 infection in newborn mice. *Natural Product Research*. 2023;37(24):4156–4161. DOI: 10.1080/14786419.2023.2173191.
17. Yao X., Ling Y., Guo S., Wu W., He S., Zhang Q., Zou M., Nandakumar K. S., Chen X., Liu S. Tatanan A from the *Acorus calamus* L. root inhibited dengue virus proliferation and infections. *Phytomedicine*. 2018;42:258–267. DOI: 10.1016/j.phymed.2018.03.018.
18. Tribudi Y. A., Agustin A. T., Setyaningtyas D. E., Gusmalawati D. Bioactive Compound Profile and Biological Modeling Reveals the Potential Role of Purified Methanolic Extract of Sweet Flag (*Acorus calamus* L.) in Inhibiting the Dengue Virus (DENV) NS3 Protease-Helicase. *Indonesian Journal of Chemistry*. 2022;22(2):331–341. DOI: 10.22146/ijc.68317.
19. Huang Y., Li Z., Ma Y., Wu Q., Kong J., Zhao L., Li S., Li J. Screening for Active Compounds of Acorus calamus against SARS-CoV-2 Viral Protease and Mechanism Prediction. *Pharmaceuticals*. 2024;17(3):325. DOI: 10.3390/ph17030325.
20. Joshi S. V., Gupta S., Tripathi K., Mishra S., Kumar S. Antiviral plants of India. Cuttack: APRF Publisher; 2024.
21. Wang J., Chen X., Wang W., Zhang Y., Yang Z., Jin Y., Ge H. M., Li E., Yang G. Glycyrrhizic acid as the antiviral component of Glycyrrhiza uralensis Fisch. against coxsackievirus A16 and enterovirus 71 of hand foot and mouth disease. *Journal of Ethnopharmacology*. 2013;147(1):114–121. DOI: 10.1016/j.jep.2013.02.017.
22. Kuo K.-K., Chang J.-S., Wang K.-C., Chiang L.-C. Water extract of *Glycyrrhiza uralensis* inhibited enterovirus 71 in a human foreskin fibroblast cell line. *The American*

Journal of Chinese Medicine. 2009;37(2):383–394. DOI: 10.1142/S0192415X09006904.
23. Song W., Si L., Ji S., Wang H., Fang X.-M., Yu L.-Y., Li R.-Y., Liang L.-N., Zhou D., Ye M. Uralsaponins M-Y, antiviral triterpenoid saponins from the roots of *Glycyrrhiza uralensis*. *Journal of Natural Products*. 2014;77(7):1632–1643. DOI: 10.1021/np500253m.
24. Li Z., Dong M., Chen Z., Zhang C., Jiang J., Liu M., Cui Q. Combining virus-based affinity ultrafiltration method with serum pharmacochemistry to identify the antiviral pharmacodynamic substances in licorice. *Journal of Ethnopharmacology*. 2025;338(Part 1):118978. DOI: 10.1016/j.jep.2024.118978.
25. Angourani H. R., Zare A., Moghadam M. M., Ramazani A., Mastinu A. Investigation on the Essential Oils of the Achillea Species: From Chemical Analysis to the In Silico Uptake against SARS-CoV-2 Main Protease. *Life*. 2023;13(2):378. DOI: 10.3390/life13020378.
26. Rezatofighi S. E., Seydabadi A., Seyyed Nejad S. M. Evaluating the Efficacy of Achillea millefolium and Thymus vulgaris Extracts Against Newcastle Disease Virus in Ovo. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2014;7(2):e9016. DOI: 10.5812/jjm.9016.
27. Moradi M.-T., Karimi A., Lorıgooini Z., Pourgheysari B., Alidadi S., Hashemi L. In vitro anti influenza virus activity, antioxidant potential and total phenolic content of twelve Iranian medicinal plants. *Marmara Pharmaceutical Journal*. 2017;21(4):843–851. DOI: 10.12991/mpj.2017.10.
28. Chiang L. C., Chiang W., Chang M. Y., Ng L. T., Lin C. C. Antiviral activity of Plantago major extracts and related compounds in vitro. *Antiviral Research*. 2002;55(1):53–62. DOI: 10.1016/s0166-3542(02)00007-4.
29. Chiang L.-C., Chiang W., Chang M.-Y., Lin C.-C. *In vitro* cytotoxic, antiviral and immunomodulatory effects of *Plantago major* and *Plantago asiatica*. *The American Journal of Chinese Medicine*. 2003;31(2):225–234. DOI: 10.1142/S0192415X03000874.
30. Povnitsa O., Bilyavska L., Pankivska Yu., Likhanov A., Dorovskyh A., Lysenko V., Lokshin M., Zahorodnia S. In vitro Antiviral Activity of Leaf Extracts Plantago major, Plantago lanceolata, Rubus idaeus. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*. 2022;(1):49–62. DOI: 10.15407/microbiolj84.01.044.
31. Kutluk I., Aslan M., Orhan I. E., Özçelik B. Antibacterial, antifungal and antiviral bioactivities of selected Helichrysum species. *South African Journal of Botany*. 2018;119:252–257. DOI: 10.1016/j.sajb.2018.09.009.
32. Kaya S., Erkan S., Karakaş D. Investigation of the Effect of Main Components of Wild Thyme on Covid-19 by Computational Methods. *Cumhuriyet Science Journal*. 2023;44(4):665–670. DOI: 10.17776/csj.1328641.
33. Glatthaar-Saalmüller B., Sacher F., Esperester A. Antiviral activity of an extract derived from roots of Eleutherococcus senticosus. *Antiviral Research*. 2001;50(3):223–228. DOI: 10.1016/s0166-3542(01)00143-7.
34. Knipping K., Garssen J., van't Land B. An evaluation of the inhibitory effects against rotavirus infection of edible plant extracts. *Virology Journal*. 2012;9:137. DOI: 10.1186/1743-422X-9-137.
35. Uncini Manganelli R.E., Zaccaro L., Tomei P. E. Antiviral activity in vitro of *Urtica dioica* L., *Parietaria diffusa* M. et K. and *Sambucus nigra* L. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005;98(3):323–327. DOI: 10.1016/j.jep.2005.01.021.
36. Meneses Lopez R., Ocazionez R. E., Martinez J. R., Stashenko E. E. Inhibitory effect of essential oils obtained from plants grown in Colombia on yellow fever virus replication in vitro. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2009;8:8. DOI: 10.1186/1476-0711-8-8.
37. Gilling D. H., Kitajima M., Torrey J. R., Bright K. R. Antiviral efficacy and mechanisms of action of oregano essential oil and its primary component carvacrol against murine norovirus. *Journal of Applied Microbiology*. 2014;116(5):1149–1163. DOI: 10.1111/jam.12453.
38. Sánchez G., Aznar R. Evaluation of Natural Compounds of Plant Origin for Inactivation of Enteric Viruses. *Food and Environmental Virology*. 2015;7:183–187. DOI: 10.1007/s12560-015-9181-9.
39. Okino C. H., Melito G. R., de Almeida Astolfo M. E., Da Mata Martins M. E., Junior S. B., Ferreira M. D. Antiviral Effect of Different Essential Oils on Avian Coronavirus. *Avian Diseases*. 2024;68(3):254–258. DOI: 10.1637/aviandiseases-D-24-00015.
40. Blank D. E., de Oliveira Hübner S., Alves G. H., Lima Cardoso C. A., Freitag R. A., Cleff M. B. Chemical composition and antiviral effect of extracts of *Origanum vulgare*. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 2019;10(7):188–196. DOI: 10.4236/abb.2019.107014.
41. Trokhymchuk T. Yu., Shalamay A. S., Zavelevich M. P., Palchykovska L. G., Vasylchenko O. V., Rybalko S. L., Starosyla D. B., Diadiun S. T. Anti-HIV activity of ellagitannins from alder tree fruits. *Biopolymers and Cell*. 2018;34(3):218–228. DOI: 10.7124/bc.00097C.
42. Goncharova O. V. Phytotherapy in the prevention of acute respiratory infections in children. Pediatrician's Practice. 2011;5:39–43. (In Russ.)
43. Pletnev V. V. Pletnev's drops with antiviral and immunomodulatory effects. Patent RUS № RU2553308C1. 10.06.2015. Available at: https://patents.google.com/patent/RU2553308C1/ru. Accessed: 12.01.2025. (In Russ.)
44. Pechenevskiy A. V., Pechenevskiy A. A., Kosenko N. V., Severtsev V. A. A collection of medicinal plants with antiviral, antimicrobial and immunomodulatory effects. Patent RUS № RU2160596C1. 20.12.2000. Available at: https://patents.google.com/patent/RU2160596C1/ru. Accessed: 12.01.2025. (In Russ.)
45. Chon H. Medicinal herbs and plant extracts for influenza: Bioactivity, mechanism of anti-influenza effects, and modulation of immune responses. *Studies in Natural Products Chemistry*. 2012;38:305–323. DOI: 10.1016/B978-0-444-59530-0.00011-3.
46. Adetunji C. O., Ajayi O. O., Akram M., Olaniyan O. T., Chishti M. A., Abel I., Olaniyan S., Adetunji J. B., Olaniyan M., Awotunde S. O. Medicinal plants used in the treatment of influenza A virus infections. In: Dua K., Nammi S., Chang D., Kumar Chellappan D., Gupta G., Collet T., editors. Medicinal Plants for Lung Diseases. A Pharmacological and Immunological Perspective. New York: Springer; 2021. P. 417–435.
47. Kim S., Kim Y., Kim J. W., Hwang Y. B., Kim S. H., Jang Y. H. Antiviral Activity of Plant-derived Natural Products against Influenza Viruses. *Journal of Life Science*. 2022;32(5):375–390.
48. Boora S., Khan A., Soniya K., Yadav S., Kaushik S., Kumar R., Chhikara S., Kaushik S. Antiviral potential of medicinal plants against influenza viruses: A systematic review. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2023;16(3):1503–1513. DOI: 10.52711/0974-360X.2023.00247.

49. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XV edition. Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation; 2023. 3576 p. (In Russ.)
50. Sergunova E. V., Sorokina A. A. Investigation of phenolic compounds of brier (*Rosa cinnamomea*) fruits and formulations by high performance liquid chromatography. *Pharmacy*. 2012;5:11–13. (In Russ.)
51. Sharifi-Rad J., Quispe C., Vergara C. V., Kitic D., Kostic M., Armstrong L., Khan Shinwari Z., Talha Khalil A., Brdar-Jokanović M., Ljevnaić-Mašić B., Varoni E. M., Iriti M., Leyva-Gómez G., Herrera-Bravo J., Salazar L. A., Cho W. C. Genus *Viburnum*: Therapeutic Potentialities and Agro-Food-Pharma Applications. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021;2021:3095514. DOI: 10.1155/2021/3095514.
52. Ștefănescu R., Ciurea C.N., Mare A. D., Man A., Nisca A., Nicolescu A., Mocan A., Babotă M., Coman N.-A., Tanase C. Quercus Robur Older Bark—A Source of Polyphenolic Extracts with Biological Activities. *Applied Sciences*. 2022;12(22):11738. DOI: 10.3390/app122211738.
53. Yadav D., Srivastava S., Tripathi Y. B. Acorus calamus: A review. *International Journal of Scientific Research in Biological Sciences*. 2019;6(4):62–67. DOI: 10.26438/ijsrbs/v6i4.6267.
54. Yang Y.-N., Liu Y.-Y., Feng Z.-M., Jiang J.-S., Zhang P.-C. Seven new flavonoid glycosides from the roots of Glycyrrhiza uralensis and their biological activities. *Carbohydrate Research*. 2019;485:107820. DOI: 10.1016/j.carres.2019.107820.
55. He R., Ma T.-T., Gong M.-X., Xie K.-L., Wang Z.-M., Li J. The correlation between pharmacological activity and contents of eight constituents of Glycyrrhiza uralensis Fisch. *Heliyon*. 2023;9(3):e14570. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e14570.
56. Saifulazmi N. F., Rohani E. R., Harun S., Bunawan H., Hamezah H. S., Nor Muhammad N. A., Azizan K. A., Ahmed Q. U., Fakurazi S., Mediani A., Sarian M. N. A Review with Updated Perspectives on the Antiviral Potentials of Traditional Medicinal Plants and Their Prospects in Antiviral Therapy. *Life*. 2022;12(8):1287. DOI: 10.3390/life12081287.
57. Medicinal plant raw materials. Moscow: Izdatel'stvo standartov; 1980. 296 p. (In Russ.)
58. Lobanova I. E., Filippova E. I., Vysochina G. I., Mazurkova N. A. Antiviral properties of wild and cultivated plants of southwestern Siberia. Flora and vegetation of Asian Russia; 2016;2(22):64–72. (In Russ.)
59. Botirov E. K., Bonacheva V. M., Kolomiets N. E. Chemical composition and biological activity of metabolites of the genus *Equisetum*. *Chemistry of plant raw material*. 2021;1:5–26. (In Russ.) DOI: 10.14258/jcprm.2021017760.
60. Kizi K. S. A. Pharmacological Properties of Plantago *Major* L. and Its Active Constituents. *International Journal of Medical Science and Public Health Research*. 2022;3(4):9–12. DOI: 10.37547/ijmsphr/Volume03Issue04-03.
61. Adom M. B., Taher M., Mutalabisin M. F., Amri M. S., Abdul Kudos M. B., Wan Sulaiman M. W. A., Sengupta P., Susanti D. Chemical constituents and medical benefits of Plantago major. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017;96:348–360. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.09.152.
62. Kurkin V. A. Fundamentals of Phytotherapy. Samara: LLC "Ofort", GOU VPO «SamGMU Roszdrava»; 2009. 963 p. (In Russ.)
63. Gagueva A. U., Stepanova E. F. Drug products is expectorative action. The role of plant sources in therapy of cough: the coverage of studies, range, demand. *Astrakhan Medical Journal*. 2018;13(4):23–31. (In Russ.) DOI: 10.17021/2018.13.4.23.31.
64. Jia A., Zhang Y., Gao H., Zhang Z., Zhang Y., Wang Z., Zhang J., Deng B., Qiu Z., Fu C. A review of *Acanthopanax senticosus* (Rupr and Maxim.) harms: From ethnopharmacological use to modern application. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021;268:113586. DOI: 10.1016/j.jep.2020.113586.
65. Bhusal K. K., Magar S. K., Thapa R., Lamsal A., Bhandari S., Maharjan R., Shrestha S., Shrestha J. Nutritional and pharmacological importance of stinging nettle (*Urtica dioica* L.): A review. *Heliyon*. 2022;8(6):e09717. DOI: 10.1016/j.heliyon.2022.e09717.
66. Sharifi-Rad M., Berkay Yılmaz Y., Antika G., Salehi B., Tumer T. B., Kulandaisamy Venil C., Das G., Patra J. K., Karazhan N., Akram M., Iqbal M., Imran M., Sen S., Acharya K., Dey A., Sharifi-Rad J. Phytochemical constituents, biological activities, and health-promoting effects of the genus *Origanum*. *Phytotherapy Research*. 2021;35(1):95–121. DOI: 10.1002/ptr.6785.
67. Protsenko M. A., Mazurkova N. A., Filippova E. I., Kukushkina T. A., Lobanova I. E., Pshenichkina Y. A., Vysochina G. I. Anti-Influenza Activity of Extracts from Plants of the Lamiaceae Family. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2022;48(7):1534–1541. DOI: 10.1134/S1068162022070238.
68. Sargin S. A. Potential anti-influenza effective plants used in Turkish folk medicine: A review. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021;265:113319. DOI: 10.1016/j.jep.2020.113319.
69. Dahija S., Čakar J., Vidic D., Maksimović M., Parić A. Total phenolic and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activities of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn., *Alnus incana* (L.) Moench and *Alnus viridis* (Chaix) DC. extracts. *Natural Product Research*. 2014;28(24):2317–2320. DOI: 10.1080/14786419.2014.931390.
70. Ilyicheva T. N., Netesov S. V., Gureev V. N. Microbiology practical work "Influenza viruses". Novosibirsk: Novosibirsk State University; 2012. 86 p. (In Russ.)
71. Freshni R. Ya. Animal Cell Culture: A Practical Guide. Moscow: BINOM. Laboratoriya znaniy; 2010. 691 p. (In Russ.)
72. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*. 1983;65(1–2):55–63. DOI: 10.1016/0022-1759(83)90303-4.
73. Reed L. J., Muench H. A simple method of Estimating fifty per cent endpoints. *American Journal of Epidemiology*. 1938;27(3):493–497. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a118408.
74. Davies H. W., Appleyard G., Cunningham P., Pereira M. S. The use of a continuous cell line for the isolation of influenza viruses. *Bulletin of the World Health Organization*. 1978;56(6):991–993.
75. Klenk H.-D., Rott R., Orlich M., Blödorn J. Activation of influenza A viruses by trypsin treatment. *Virology*. 1975;68(2):426–439. DOI: 10.1016/0042-6822(75)90284-6.
76. Sukhanova S. M., Putruchuk E. M., Generalov A. A. Trypsin. Properties and Use in the Production of Biological Medicinal Products. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2018;18(2):106–113. (In Russ.) DOI: 10.30895/2221-996X-2018-18-2-106-113.
77. McAuley J. L., Gilbertson B. P., Trifkovic S., Brown L. E., McKimm-Breschkin J. L. Influenza Virus Neuraminidase Structure and Functions. *Frontiers in Microbiology*. 2019;10:39. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00039.
78. Zdrodovsky P. F., Sokolova M. I., editors. Guide to laboratory diagnostics of viral and rickettsial diseases. Moscow: Meditsina; 1965. 591 p. (In Russ.)
79. Guide to experimental (preclinical) study of pharmacological substances. Moscow: Medicina Publishing House, Shiko Publishing House; 2005. 826 p. (In Russ.)