

Андропова В.Л.¹, Гроховский С.Л.², Дерябин П.Г.¹, Гурский Г.В.², Суровая А.Н.², Ясько М.В.², Куханова М.К.², Кочетков С.Н.², Скоблов Ю.С.³, Галегов Г.А.¹

Подавление репродукции вируса простого герпеса с лекарственной устойчивостью сочетанием 15lys-bis-nt и фосфита ациклогуанозина с некоторыми противогерпетическими препаратами

¹ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия; ²ГУ РАН «НИИ молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта» РАН, 119991, г. Москва, Россия; ³ГУ РАН «НИИ биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова» РАН, 117997, г. Москва, Россия

Изучена противогерпетическая активность *in vitro* двойных и тройных комбинаций, включающих оригинальные соединения 15Lys-bis-Nt и фосфита ациклогуанозина. Впервые установлено, что при их комбинированном использовании с известными противогерпетическими агентами, активность которых не зависит от ТК ВПГ (ФМК, АраА, ЦДВ, Rib, ГЛН, α -интерферон), наблюдается потенцирующий эффект взаимодействия аддитивного или синергидного характера. Противовирусный эффект тестируемых комбинаций сохранялся на модели резистентного к ациклогуанозину штамма вируса. Исследованные комбинации могут представлять интерес для практической медицины.

Ключевые слова: *вирус простого герпеса; противовирусная активность in vitro; комбинированный эффект; лекарственная резистентность.*

The suppression of a herpes simplex virus reproduction with drug resistance by combination 15lys-bis-nt and phosphate of acycloguanosine with some antiherpetic drugs

Andronova V. L.¹, Grokhovsky S. L.², Deryabin P. G.¹, Gursky G. V.², Surovaya A. N.², Jasko M. V.², Kukhanova M. K.², Kochetkov S. N.², Skoblov Yu. S.³, Galegov G. A.¹

¹ D.I. Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health of the Russian Federation, 123098, Moscow, Russia ;

² V.A. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, 119991, Moscow, Russia;

³ M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, 117997, Moscow, Russia

Antiherpetic activity of the double and triple combinations, including original connections 15Lys-bis-Nt and phosphate of acycloguanosine (P-ACG), was studied *in vitro*. For the first time, it was demonstrated that in case of their combined use with known antiherpetic agents, whose activity does not depend on TK of HSV (PFA, AraA, CDV, Rib, GLN, α -IFN), synergistic or additive effects of interaction was observed. The antiviral effect of the tested combinations was studied on the model of ACG-resistant viral strain. The tested combinations could be of interest for practical medicine.

Key words: *herpes simplex virus; antiviral activity in vitro; combined effect; drug resistance.*

Этиотропная лекарственная терапия инфекционных заболеваний, вызываемых вирусом простого герпеса 1-го и 2-го типа (ВПГ-1 и ВПГ-2), базируется на препаратах, относящихся к классу модифицированных нуклеозидов. Прежде всего это препараты ацикловира (ациклогуанозин, АЦГ) и его предлекарства - валинового эфира АЦГ (валацикловир, валтрекс), а также предлекарство пенцикловира (ПЦВ) – фамцикловир (фамвир) [1]. Механизм действия соединений этой группы заключается в следующем. Превращаясь в клетке в нуклеозидтрифосфаты, они, конкурируя с природными нуклеотидами, селективно включаются в синтезирующуюся цепочку вирусной ДНК, что приводит к прекращению ее синтеза по терминаторному механизму [2].

Формирование лекарственной резистентности ВПГ к этому классу соединений является фактором, лимитирующим их применение. У иммунокомпетентных пациентов частота изоляции резистентных к АЦГ и ПЦВ штаммов ВПГ-1 и ВПГ-2 невысока – не более 0,5%. Однако следует учитывать чрезвычайно широкое распространение ВПГ: около 90% населения Земного шара

имеют антитела к ВПГ [3, 4]. Поэтому число иммунокомпетентных пациентов, от которых удастся изолировать АЦГ-резистентные штаммы ВПГ, достаточно велико – более 30 млн.

У иммунокомпромированных пациентов частота выделения АЦГ-резистентных штаммов ВПГ существенно выше – от 2 до 30%. Изоляция таких штаммов часто коррелирует с неэффективностью лечения [5–8].

Сходство механизмов действия АЦГ и ПЦВ обуславливает перекрестный характер лекарственной резистентности ВПГ-1 и ВПГ-2 к этим противовирусным агентам: при значительном снижении чувствительности вируса к АЦГ параллельно снижается чувствительность к ПЦВ [8, 9]. Поэтому поиск соединений, способных эффективно ингибировать репродукцию АЦГ/ПЦВ-резистентных штаммов ВПГ, несомненно, представляет собой актуальную задачу.

Использование комбинаций препаратов с различным механизмом действия является эффективной стратегией воздействия на вирусную инфекцию. Рациональность такого подхода убедительно доказана результатами

многочисленных клинических исследований эффективности комбинированной лекарственной терапии ВИЧ-инфекции и СПИДа [10–12] и инфекций, вызываемых вирусами гепатита В и С [13, 14]. Такая стратегия позволяет не только свести к минимуму токсический эффект лекарственных препаратов благодаря возможности снижения их доз при комбинированном использовании, но и предотвратить или существенно снизить скорость формирования штаммов вирусов, резистентных к соединениям, включенным в комбинацию [15].

Наши многолетние исследования связаны с поиском антивирусных агентов, одинаково эффективно ингибирующих репродукцию штаммов ВПГ-1, как чувствительных, так и резистентных к АЦГ и другим модифицированным нуклеозидам. В настоящей работе представлены два таких соединения, относящихся к различным химическим классам – фосфит АЦГ (Ф-АЦГ, Н-фосфонат АЦГ) [16–18] и производное бис-нетропсина 15Lys-bis-Nt [19–22].

Целью настоящего исследования стало изучение возможности воздействия на репродукцию штаммов ВПГ-1, резистентных к АЦГ, с помощью Ф-АЦГ и 15Lys-bis-Nt при их использовании в комбинации с известными антигерпетическими агентами, механизм действия которых не зависит от вирусной тимидинкиназы (ТК). Это первый опыт изучения эффективности тройных комбинаций противогерпетических соединений с различным механизмом действия.

Материалы и методы

Препараты. В работе использовали следующие препараты: 15Lys-bis-Nt, синтезированный в Институте молекулярной биологии; α -интерферон (α -ИФН, реаферон-ЕС для инъекций сухой, ЗАО «Вектор-Медика», лиофильный препарат α -ИФН со специфической активностью 3 млн МЕ/амп. (пос. Кольцово Новосибирской области); фосфономуравьиная кислота (Sigma Aldrich, США); АраА (9- β -D-аденинарабинозид, видаробин) (Calbiochem, США); цидофовир (S)-1-(3-гидрокси-2-фосфонилметоксипропил) цитозин (Sigma Aldrich, США); глицерризинат аммония однозамещенный (глицирам, Glucosam, производства «Химфарм ОАО», Казахстан); рибавирин (1- β -D-рибофуранозил-1,2,4-триазол-3-карбоксамид) (ICN Switzerland AG, Швейцария).

Вирусы. ВПГ-1 штамм L₂ (ВПГ-1/L₂), получен из Государственной коллекции вирусов НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского. ВПГ-1/L₂/АЦГ^R, резистентный к ациклоганозину (ИД₅₀ > 100 мкг/мл), получен нами путем проведения серийного пассирования ВПГ-1/L₂ в градиенте концентраций АЦГ и подробно охарактеризован ранее [16, 23].

Цитотоксичность оценивали методом окрашивания клеток трипановым голубым. За величину ЦД₅₀ принимали концентрацию, в присутствии которой погибает 50% клеток при продолжительности инкубации 72 ч [16, 17, 19, 20].

Противовирусную активность соединений и их комбинаций оценивали микрометодом по их способности защищать инфицированные клетки от гибели путем предотвращения развития вирусиндуцированного цитопатического эффекта (ЦПЭ) в соответствии с методом E. De Clercq и соавт. [24], как описано нами ранее [16, 17, 19, 20]. Монослойную культуру клеток Vero E6, выращенную в пластиковых 96-луночных планшетах (Linbro, Flow laboratories, Великобритания), инфицировали с множественностью 0,1 БОЕ/кл; продолжительность инкубации составила 48 ч при 37°C, при этом в контроле вируса развивался 95–100% ЦПЭ, т. е. ЦПЭ охватывал весь монослой клеток. Эффективность препарата коли-

чественно выражали как ИД₅₀ и ИД₉₅ – концентрации соединения, ингибирующие развитие вирусиндуцированного ЦПЭ на 50% и практически полностью.

При изучении комбинированного действия препаратов определяли их концентрации, в сочетании обеспечивающие эффекты, соответствующие ИД₅₀ и ИД₉₅. Антигерпетическое действие комбинаций препаратов оценивали путем вычисления индекса FIC (fractional inhibitory concentration) [25]:

$$FIC = \frac{\text{ИД}_{50} \text{ соединения А в комбинации}}{\text{ИД}_{50} \text{ соединения А}} + \frac{\text{ИД}_{50} \text{ соединения В в комбинации}}{\text{ИД}_{50} \text{ соединения В}}$$

Результаты и обсуждение

При изучении противовирусной активности 15Lys-bis-Nt, Ф-АЦГ и их комбинаций мы использовали два вирусных штамма – эталонный штамм ВПГ-1/L₂ и штамм ВПГ-1/L₂/АЦГ^R, глубоко резистентный к АЦГ (ИД₅₀ > 100 мкг/мл), охарактеризованный нами ранее как ТК-штамм [16, 23]. Соответствующие результаты приведены в табл. 1, из которой следует, что 15Lys-bis-Nt ингибирует развитие вирусиндуцированного ЦПЭ обоих штаммов ВПГ-1, причем противовирусная активность этого соединения в отношении эталонного штамма ВПГ-1/L₂ не отличается от таковой на модели ВПГ-1/L₂/АЦГ^R. Противовирусная активность Ф-АЦГ в отношении обоих штаммов также хорошо сопоставима: концентрации Ф-АЦГ, в присутствии которых удается ингибировать развитие вирусного ЦПЭ на 50% по сравнению с контрольной вирусной культурой, отличались не более чем в 2 раза.

Основной наиболее распространенный механизм формирования резистентности ВПГ к АЦГ связан с мутациями в гене ТК, приводящими к потере ее активности [8, 26]. ТК – фермент, осуществляющий первый этап фосфорилирования АЦГ до монофосфата, что необходимо для проявления противовирусной активности этого соединения [2]. Ф-АЦГ, являющийся производным АЦГ, эффективно ингибирует репродукцию АЦГ-резистентных штаммов ВПГ-1, мутантных по гену ТК, что связано, вероятно, с альтернативным путем превращения Ф-АЦГ в АЦГ-монофосфат [18], что делает Ф-АЦГ независимым от функциональной активности ТК. Нетропсин (Nt) и его производные имеют механизм действия, принципиально отличающийся от такового АЦГ. Связываясь в узкой бороздке ДНК с кластерами АТ-пар, эти соединения ингибируют функцию вирусспецифического белка UL9, что приводит в свою очередь к ингибированию процессов репликации/транскрипции вирусного генома [21, 22]. Поэтому активность соединений этого класса не зависит от ТК ВПГ.

Ранее мы было продемонстрировали, что при использовании Nt и его бис-производных (в том числе 15Lys-bis-Nt) в комбинации с модифицированными нуклеозидами (АЦГ, ганцикловир, бромвинилдезоксисуридин, иоддезоксисуридин) наблюдается эффект взаимодействия синергидного характера [20]. Однако эффект 15Lys-bis-Nt в комбинации с Ф-АЦГ (№9), также относящегося к классу модифицированных нуклеозидов, можно оценить лишь как аддитивный. Такое различие в степени потенцирования противовирусной активности АЦГ и Ф-АЦГ в присутствии 15Lys-bis-Nt косвенно подтверждает вывод о том, что механизмы действия этих соединений имеют определенные отличия.

При проведении сравнительного анализа результатов, представленных в табл. 1 и 2, мы установили, что введение в двойную комбинацию 15Lys-bis-Nt + Ф-АЦГ третьего компонента приводит к повышению выраженности противовирусной активности. Следует отметить,

Противогерпетическая активность ряда соединений, а также их комбинаций на модели ВПГ-1 с различной лекарственной чувствительностью в культуре клеток Vero E6

№ п/п	Соединение	ЦД ₅₀ , мкг/мл	ИД ₅₀ , мкг/мл	ИД ₉₅ , мкг/мл	FIC	Эффект
1	15Lys-bis-Nt	176	3,9 ^{1,2}	15,6 ^{1,2}	-	-
2	Ф-АЦГ	>1000	15,8 ¹ / 31,2 ²	31,25 ¹ / 62,5 ²	-	-
3	ФМК	>62,5	31,2 ^{1,2}	62,5 ^{1,2}	-	-
4	АраА	>62,5	15,6 ¹ / 31,2 ²	62,5 ^{1,2}	-	-
5	ЦДВ	>62,5	3,9 ^{1,2}	15,6 ^{1,2}	-	-
6	Rib	>500	250 ^{1,2}	500 ^{1,2}	-	-
7	ГЛН	>1000	500 ^{1,2}	>1000 ^{1,2}	-	-
8	α-ИФН	>1000	250 ^{1,2}	>1000 ^{1,2}	-	-
9	15Lys-bis-Nt+Ф-АЦГ	>15,6+62,5	1,95+7,8 ¹ /1,95+15,6 ²		1,0	Аддитивный
10	15Lys-bis-Nt+ФМК	100+160	1,56+5,0 ^{1,2}	3,12+10 ^{1,2}	0,63	Синергидный
11	15Lys-bis-Nt+АраА	100+50	1,12+3,12 ¹ /1,12+6,2 ²	2,24+6,2 ¹ /2,24+12,5	0,48 ^{1,2}	Выраженный синергидный
12	15Lys-bis-Nt+ЦДВ	>15,8+31,2	0,97+1,95 ^{1,2}	1,95+3,9 ^{1,2}	0,75 ^{1,2}	Синергидный
13	15Lys-bis-Nt+ Rib	>62,5+100	0,97+62,5 ^{1,2}	7,8+125 ^{1,2}	0,75 ^{1,2}	Синергидный
14	15Lys-bis-Nt+ГЛН	>7,8+1000	1,95+250 ^{1,2}	3,9+500	1,0 ^{1,2}	Аддитивный
15	15Lys-bis-Nt+ α-ИФН	>15,6+1000	0,97+62,5 ^{1,2}	1,95+125 ^{1,2}	0,50 ^{1,2}	Синергидный
16	Ф-АЦГ + ФМК	>15,6+31,25	7,8+7,8 ¹ / 15,6+7,8 ²	15,6+15,6 ¹ /31,25+15,6 ²	0,75 ¹ /0,75 ²	Синергидный
17	Ф-АЦГ + АраА	>15,6+15,6	7,8+7,8 ¹ /15,6+15,6 ²	15,6+15,6 ¹ /31,25+31,25 ²	1,0 ¹ /1,0 ²	Аддитивный
18	Ф-АЦГ + ЦДВ	>62,5+7,8	7,8+0,97 ¹ /15,6+0,78 ²	15,6+1,95 ¹ /31,25+1,95 ²	0,75 ¹ /0,70 ²	Синергидный
19	Ф-АЦГ + Rib	>31,25+125	7,8+31,25 ¹ /15,6+31,25 ²	15,6+62,5 ¹ /31,25+62,5 ²	0,75 ¹ /0,75 ²	Синергидный
20	Ф-АЦГ + ГЛН	>31,2+1000	3,9+250 ¹ /15,6+250 ²	15,6+500 ¹ /31,25+500 ²	0,75 ¹ /1,0 ²	Синергидный/ Аддитивный
21	Ф-АЦГ + α-ИФН	>40+500	10+12,5 ¹ /15,6+50 ²	40+50 ¹ /31,25+100 ²	0,70 ¹ /0,70 ²	Синергидный

Примечание. Здесь и в табл. 2: концентрация α-ИФН в МЕ/мл; показатели противовирусной эффективности соединений и их комбинаций: ¹ – на модели ВПГ-1/L₂; ² – на модели ВПГ-1/L₂/АЦГ^Р.

что цитотоксический эффект тестируемых комбинаций соединений в исследуемом диапазоне концентраций был ниже эффекта, соответствующего ЦД₅₀, поэтому потенцирующий противовирусный эффект этих сочетаний нельзя объяснить потенцированием цитотоксичности соединений при комбинированном использовании. Полученный противовирусный эффект не во всех случаях можно оценить однозначно положительно. Так, при введении в эту комбинацию ФМК (№ 22) так же, как и для исходной комбинации № 9 15Lys-bis-Nt + Ф-АЦГ, на-

блюдали аддитивный характер взаимодействия трех соответствующих компонентов. Но эффект двойных комбинаций 15Lys-bis-Nt + ФМК (№10) и Ф-АЦГ + ФМК (№ 16) оценивали как синергидный с показателями FIC 0,63 и 0,75 соответственно. Аналогичные результаты получили и для тройной комбинации № 25 15Lys-bis-Nt + Ф-АЦГ + Rib: величина FIC для тройной комбинации (0,87) была больше, чем для комбинаций № 13 15Lys-bis-Nt + Rib и № 19 Ф-АЦГ + Rib (0,75 в обоих случаях). Тем не менее, даже несмотря на то, что FIC двойной

Таблица 2

Противогерпетическая активность тройных комбинаций ряда соединений на модели ВПГ-1 с различной лекарственной чувствительностью в культуре клеток Vero E6

№ п/п	Соединение	ЦД ₅₀ , мкг/мл	ИД ₅₀ , мкг/мл	ИД ₉₅ , мкг/мл	FIC	Эффект
22	15Lys-bis-Nt + Ф-АЦГ + ФМК	>3,9+15,6+62,5	0,97+3,9+15,6 ¹ /0,97+7,8+15,6 ²	3,9+7,8+31,2 ¹ /3,9+15,6+62,5 ²	1,0 ^{1,2}	Аддитивный
23	15Lys-bis-Nt + Ф-АЦГ + АраА	>31,2+250+31,2	0,97+3,9+0,97 ¹ /0,97+7,8+1,95 ²	1,95+7,8+1,95 ¹ /1,95+15,6+3,9 ²	0,56 ^{1,2}	Синергидный
24	15Lys-bis-Nt + Ф-АЦГ + ЦДВ	>3,9+15,6+3,9	0,97+3,9+0,97 ¹ /0,97+7,8+0,48 ²	1,95+7,8+1,95 ¹ /1,95+15,6+1,95 ²	0,75 ¹ /0,62 ²	Синергидный
25	15Lys-bis-Nt + Ф-АЦГ + Rib	>7,8+15,6+125	1,95+3,9+31,2 ¹ /1,95+7,8+50 ²	3,9+7,8+62,5 ¹ /	0,87 ¹ /0,95 ²	Синергидный
26	15Lys-bis-Nt + Ф-АЦГ + ГЛН	>15,6+62,5+500	0,97+3,9+31,2 ¹ /0,97+7,8+31,2 ²	1,95+7,8+62,5 ¹ /1,95+15,6+125	0,56 ^{1,2}	Синергидный
27	15Lys-bis-Nt+ Ф-АЦГ + α-ИФН	>3,9+15,6+15,6	0,48+1,95+15,6 ¹ /0,48+3,9+15,6 ²	1,95+7,8+15,6 ¹ /1,95+15,6+15,6	0,30 ^{1,2}	Выраженный синергидный

комбинации №9 15Lys-bis-Nt + Ф-АЦГ (1) равен или незначительно выше, чем FIC тройных комбинаций №22 15Lys-bis-Nt + Ф-АЦГ + ФМК (1,0) и №25 15Lys-bis-Nt + Ф-АЦГ + Rib (0,87), использование тройных комбинаций может быть предпочтительнее, так как в этом случае снижается вероятность формирования штаммов вируса, резистентных к соединениям, входящим в состав комбинации. Кроме того, концентрации каждого из компонентов, требуемые для достижения сопоставимого противовирусного эффекта, в составе тройной комбинации ниже, чем в составе двойной комбинации, что позволяет снизить суммарную токсичность комбинации соединений.

Величины FIC четырех оставшихся тройных комбинаций (№ 23, 24, 26 и 27) ниже или равны величинам FIC соответствующих двойных комбинаций, что указывает на возможность существенного снижения концентраций сочетаемых соединений в составе тройных комбинаций по сравнению с двойными при сохранении уровня противовирусной активности. Иными словами, эффекты, соответствующие ИД₅₀ и ИД₉₅, достигаются при использовании существенно меньших концентраций соединений в составе тройных комбинаций по сравнению с двойными комбинациями.

Наиболее выраженный взаимоусиливающий противовирусный эффект получили при использовании тройной комбинации №27 15Lys-bis-Nt + Ф-АЦГ + α-ИФН (FIC = 0,3). FIC двойных комбинаций №9 15Lys-bis-Nt + Ф-АЦГ, № 15 15Lys-bis-Nt + α-ИФН и № 21 Ф-АЦГ + α-ИФН были существенно выше и составили 1, 0,5 и 0,7 соответственно. При этом для достижения эффекта 50% ингибирования развития вирусиндуцированного ЦПЭ 15Lys-bis-Nt следовало использовать в концентрации в 4 раза (комбинация № 9) и 2 раза (комбинация № 15) больше, Ф-АЦГ - в 4 раза (комбинация № 9) и 5 раз (комбинация № 21) больше, α-ИФН – в 4 раза больше (комбинация № 15) и практически в равной концентрации (комбинация № 21), чем в тройной комбинации № 27.

Противовирусные взаимоусиливающие эффекты комбинаций № 23, 24 и 26 были выражены в меньшей степени, но также носили синергидный (№ 24) или даже близкий к выраженному синергидному (№ 23 и 26) характер. При этом, как следует из результатов сравнительного анализа табл. 1 и 2, величины FIC соответствующих двойных комбинаций были равны или превышали FIC тройных комбинаций.

Существенно, что результаты изучения противовирусной активности рассматриваемых комбинаций, полученные на обеих вирусных моделях, не отличаются существенно, т. е. их эффективность не зависит от активности вирусной ТК и, соответственно, от чувствительности ВПГ к АЦГ.

Важно подчеркнуть, что при использовании тройных комбинаций соединений увеличивается возможность коррелировать соотношения сочетаемых компонентов, снижая концентрации более токсичных соединений благодаря повышению концентрации менее токсичных. Поэтому комбинированное использование лекарственных противовирусных препаратов может стать перспективной стратегией для разработки оптимальных схем лечения инфекций, вызываемых ВПГ, включая штаммы вируса, устойчивые к АЦГ.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН по молекулярной и клеточной биологии и Российского фонда фундаментальных исследований (гранты 11-04-02001 и 11-04-00384-а).

ЛИТЕРАТУРА

- Kimberlin D.W., Whitley R.J. Antiviral therapy of HSV-1 and -2. In: Arvin A., Campadelli-Fiume G., Mocarski E., Moore P.S., Roizman B., Whitley R., Yamanishi K., eds. Human herpesviruses: biology, therapy, and immuno-prophylaxis. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2007: 1141–60.
- Elion G.B. Mechanism of action and selectivity of acyclovir. *Am. J. Med.* 1982; 73 (1A): 7–13.
- Nahmias A.J., Lee F.K., Beckman-Nahmias S. Sero-epidemiological and -sociological patterns of herpes simplex virus infection in the world. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 1990; 69: 19–36.
- Ross J.D., Smith I.W., Elton R.A. The epidemiology of herpes simplex types 1 and 2 infection of the genital tract in Edinburgh 1978-1991. *Genitourin. Med.* 1993; 69 (5): 381–3.
- Dekker A.W., Rozenberg-Arska M. Successful foscarnet therapy for acyclovir-resistant mucocutaneous infection with herpes simplex virus in a recipient of allogeneic BMT. *Bone Marrow Transplant.* 1993; 11 (2): 177–9.
- Erlich K.S., Jacobson M.A., Koehler J.E., Follansbee S.E., Drennan D.P., Goode L. et al. Foscarnet therapy for severe acyclovir-resistant herpes simplex virus type-2 infections in patients with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). An uncontrolled trial. *Ann. Intern. Med.* 1989; 110 (9): 710–3.
- Safrin S., Ashley R., Houlihan J., Cusick P.S., Mills J. Clinical and serologic features of herpes simplex virus infection in patients with AIDS. *AIDS.* 1991; 5 (1): 107–10.
- Sauerbrei A., Bohn K., Heim A., Hofmann J., Weissbrich B., Schnitzler P. et al. Novel resistance-associated mutations of thymidine kinase and DNA polymerase genes of herpes simplex virus type 1 and type 2. *Antivir. Ther.* 2011; 16 (8): 1297–308.
- Andrei G., De Clercq E., Snoeck R. In vitro selection of drug-resistant varicella-zoster (VZV) mutants (OKA strain): differences between acyclovir and penciclovir? *Antivir. Res.* 2004; 61 (3): 181–7.
- Arts E.J., Hazuda D.J. HIV-1 antiretroviral drug therapy. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2012; 4: 1–23.
- Chowers M., Gottesman B.S., Leibovici L., Schapiro J.M., Paul M. Nucleoside reverse transcriptase inhibitors in combination therapy for HIV patients: systematic review and meta-analysis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2010; 29 (7): 779–86.
- Ibbotson T., Perry C.M. Lamivudine/zidovudine/abacavir: triple combination tablet. *Drugs.* 2003; 63 (11): 1089–98.
- De Clercq E. Human viral diseases: what is next for antiviral drug discovery? *Curr. Opin. Virol.* 2012; 2 (5): 572–9.
- Foster G.R., Serfaty L.D. Triple combination treatment for chronic hepatitis C with protease inhibitors, pegylated interferon and ribavirin: 'lead-in or no lead-in'? *Liver Int.* 2012; 32 (Suppl. 1): 61–3.
- Schinazi R.F., Nahmias A.J. Different in vitro effects of dual combinations of anti-herpes simplex virus compounds. *Am. J. Med.* 1982; 73 (1A): 40–8.
- Коровина А.Н., Гуськова А.А., Скоблов М.Ю., Андропова В.Л., Галегов Г.А., Кочетков С.Н. и др. Анализ мутаций в генах ДНК-полимеразы и тимидинкиназы клинических изолятов вируса герпеса простого, резистентных к противовирусным лекарственным препаратам. *Молекулярная биология.* 2010; 44 (3): 488–96.
- Karpenko I.L., Jasko M.V., Andronova V.L., Ivanov A.V., Kukhanova M.K., Galegov G.A. et al. Synthesis and antihelipic activity of acyclovir phosphonates. *Nucleosides Nucl. Acids.* 2003; 22 (3): 319–28.
- Skoblov Y.S., Karpenko I.L., Jasko M.V., Kukhanova M.K., Andronova V.L., Galegov G.A. et al. Cell metabolism of acyclovir phosphonate derivatives and antihelipic activity of their combinations with alpha₂-interferon. *Chem. Biol. Drug Des.* 2007; 69 (6): 429–34.
- Андропова В.Л., Гроховский С.Л., Суrowая А.Н., Гурский Г.В., Галегов Г.А. ДНК-связывающая и антивирусная активности биснетропсинов, содержащих кластеры остатков лизина на N-конце молекулы. Доклады Академии Наук. 2004; 399 (6): 386–91.
- Андропова В.Л., Суrowая А.Н., Гурский Г.В., Гроховский С.Л., Галегов Г.А. Антивирусная активность комбинаций производных нетропсина с модифицированными нуклеозидами и фосфоноксусной кислотой на модели вируса герпеса простого типа 1 в культуре клеток Vero. Доклады Академии Наук. 2005; 400 (1): 84–7.
- Суrowая А.Н., Гроховский С.Л., Гурский Я.Г., Андропова В.Л., Архипова В.С., Бажулина Н.П. и др. Комплекс инициаторного белка UL9 вируса герпеса с ДНК как платформа для создания противовирусных лекарственных агентов нового типа. *Биофизика* 2010; 55 (2): 239–51.
- Бажулина Н.П., Суrowая А.Н., Гурский Я.Г., Андропова В.Л., Архипова В.С., Головкин М.В. и др. Ингибирование геликазы UL9 вируса простого герпеса аналогами нетропсина и противо-

вирусная активность бис-нетропсинов. *Биофизика*. 2012; 57 (2): 232–42.

23. Гуськова А.А., Загурный А.В., Скоблов М.Ю., Баранова А.В., Андронова В.Л., Янковский Н.К. и др. Молекулярно-генетический анализ тимидин-киназы вируса герпеса простого типа 1. *Молекулярная биология*. 2005; 39 (1): 155–8.
24. De Clercq E., Descamps J., Verheist G., Walker R.T., Jones A.S., Torrence P.F. et al. Comparative efficacy of antiherpes drugs against different strains of herpes simplex virus. *J. Infect. Dis.* 1980; 141 (5): 563–73.
25. Allen L.B., Vanderslice L.K., Fingal C.M., McCright F.H., Harris E.F., Cook P.D. Evaluation of the anti-herpesvirus drug combinations: virazole plus arabinofuranosylhypoxanthine and virazole plus arabinofuranosyladenine. *Antivir. Res.* 1982; 2 (4): 203–6.
26. Morfin F., Thouvenot D. Herpes simplex virus resistance to antiviral drugs. *Clin. Virol.* 2003; 26 (1): 29–37.

REFERENCES

1. Kimberlin D.W., Whitley R.J. Antiviral therapy of HSV-1 and -2. In: *Arvin A., Campadelli-Fiume G., Mocarski E., Moore P.S., Roizman B., Whitley R., Yamanishi K., eds. Human herpesviruses: biology, therapy, and immuno-prophylaxis*. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2007: 1141–60.
2. Elion G.B. Mechanism of action and selectivity of acyclovir. *Am. J. Med.* 1982; 73 (1A): 7–13.
3. Nahmias A.J., Lee F.K., Beckman-Nahmias S. Sero-epidemiological and -sociological patterns of herpes simplex virus infection in the world. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 1990; 69: 19–36.
4. Ross J.D., Smith I.W., Elton R.A. The epidemiology of herpes simplex types 1 and 2 infection of the genital tract in Edinburgh 1978–1991. *Genitourin. Med.* 1993; 69 (5): 381–3.
5. Dekker A.W., Rozenberg-Arska M. Successful foscarnet therapy for acyclovir-resistant mucocutaneous infection with herpes simplex virus in a recipient of allogeneic BMT. *Bone Marrow Transplant.* 1993; 11 (2): 177–9.
6. Erlich K.S., Jacobson M.A., Koehler J.E., Follansbee S.E., Drennan D.P., Gooze L. et al. Foscarnet therapy for severe acyclovir-resistant herpes simplex virus type-2 infections in patients with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). An uncontrolled trial. *Ann. Intern. Med.* 1989; 110 (9): 710–3.
7. Safran S., Ashley R., Houlihan ., Cusick P.S., Mills J. Clinical and serologic features of herpes simplex virus infection in patients with AIDS. *AIDS*. 1991; 5 (1): 107–10.
8. Sauerbrei A., Bohn K., Heim A., Hofmann J., Weissbrich B., Schnitzler P. et al. Novel resistance-associated mutations of thymidine kinase and DNA polymerase genes of herpes simplex virus type 1 and type 2. *Antivir. Ther.* 2011; 16 (8): 1297–308.
9. Andrei G., De Clercq E., Snoeck R. In vitro selection of drug-resistant varicella-zoster (VZV) mutants (OKA strain): differences between acyclovir and penciclovir? *Antivir. Res.* 2004; 61 (3): 181–7.
10. Arts E.J., Hazuda D.J. HIV-1 antiretroviral drug therapy. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2012; 4: 1–23.
11. Chowes M., Gottesman B.S., Leibovici L., Schapiro J.M., Paul M. Nucleoside reverse transcriptase inhibitors in combination therapy for HIV patients: systematic review and meta-analysis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2010; 29 (7): 779–86.

12. Ibbotson T., Perry C.M. Lamivudine/zidovudine/abacavir: triple combination tablet. *Drugs*. 2003; 63 (11): 1089–98.
13. De Clercq E. Human viral diseases: what is next for antiviral drug discovery? *Curr. Opin. Virol.* 2012; 2 (5): 572–9.
14. Foster G.R., Serfaty L.D. Triple combination treatment for chronic hepatitis C with protease inhibitors, pegylated interferon and ribavirin: ‘lead-in or no lead-in’? *Liver Int.* 2012; 32 (Suppl. 1): 61–3.
15. Schinazi R.F., Nahmias A.J. Different in vitro effects of dual combinations of anti-herpes simplex virus compounds. *Am. J. Med.* 1982; 73 (1A): 40–8.
16. Korovina A.N., Gus’kova A.A., Skoblov M.Iu., Andronova V.L., Galegov G.A., Kochetkov S.N. et al. Analysis of mutations in DNA polymerase and thymidine kinase genes of herpes simplex virus clinical isolates resistant to antiherpetic drugs. *Molekulyarnaya biologiya*. 2010; 44 (3): 488–96 (in Russian).
17. Karpenko I.L., Jasko M.V., Andronova V.L., Ivanov A.V., Kukhanova M.K., Galegov G.A. et al. Synthesis and antiherpetic activity of acyclovir phosphonates. *Nucleosides Nucl. Acids*. 2003; 22 (3): 319–28.
18. Skoblov Y.S., Karpenko I.L., Yasko M.V., Kukhanova M.K., Andronova V.L., Galegov G.A. et al. Cell metabolism of acyclovir phosphonate derivatives and antiherpesvirus activity of their combinations with alpha₂-interferon. *Chem. Biol. Drug Des.* 2007; 69 (6): 429–34.
19. Andronova V.L., Grokhovskii S.L., Surovaya A.N., Gurskii G.V., Galegov G.A. DNA-binding and antiviral activity of bis-netropsins containing clusters of lysine residues in the N-terminal region. *Doklady Akademii Nauk*. 2004; 399 (6): 386–91 (in Russian).
20. Andronova V.L., Grokhovskiy S.L., Surovaya A.N., Gursky G.V., Galegov G.A. The antiviral activity of the combinations of netropsin derivatives with modified nucleosides and phosphonoacetic acid as estimated in the model of herpesvirus type 1 in a vero cell culture. *Doklady Akademii Nauk*. 2005; 400 (1): 84–7 (in Russian).
21. Surovaya A.N., Grokhovskiy S.L., Gursky Ya.G., Andronova V.L., Arkhipova V.S., Bazhulina N.P. et al. Complex of the herpes simplex virus initiator protein UL9 with DNA as a platform for the design of a new type of antiviral drugs. *Biofizika*. 2010; 55 (2): 239–51 (in Russian).
22. Bazhulina N.P., Surovaia A.N., Gurskiy Ia.G., Andronova V.L., Arkhipova V.S., Golovkin M.V. et al. Inhibition of herpes simplex virus helicase UL9 by netropsin derivatives and antiviral activities of bis-netropsins. *Biofizika*. 2012; 57 (2): 232–42 (in Russian).
23. Gus’kova A.A., Zagurnyi A.V., Skoblov M.Iu., Baranova A.V., Andronova V.L., Iankovskii N.K. et al. Molecular genetic analysis of thymidine kinase from herpes simplex virus type 1. *Molekulyarnaya biologiya*. 2005; 39 (1): 155–8 (in Russian).
24. De Clercq E., Descamps J., Verheist G., Walker R.T., Jones A.S., Torrence P.F. et al. Comparative efficacy of antiherpes drugs against different strains of herpes simplex virus. *J. Infect. Dis.* 1980; 141 (5): 563–73.
25. Allen L.B., Vanderslice L.K., Fingal C.M., McCright F.H., Harris E.F., Cook P.D. Evaluation of the anti-herpesvirus drug combinations: virazole plus arabinofuranosylhypoxanthine and virazole plus arabinofuranosyladenine. *Antivir. Res.* 1982; 2 (4): 203–6.
26. Morfin F., Thouvenot D. Herpes simplex virus resistance to antiviral drugs. *Clin. Virol.* 2003; 26 (1): 2937.

Поступила 21.03.13
Received 21.03.13