

Андропова В.Л.<sup>1</sup>, Ясько М.В.<sup>2</sup>, Куханова М.К.<sup>2</sup>, Скоблов Ю.С.<sup>3</sup>, Дерябин П.Г.<sup>1</sup>, Галегов Г.А.<sup>1</sup>

## Исследование подавления репродукции вируса простого герпеса с лекарственной устойчивостью сочетанием фосфита ациклогуанозина с некоторыми противогерпетическими препаратами

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

С использованием микрометода ингибирования развития вирусиндуцированного цитопатического эффекта в культуре клеток Vero E6 изучена активность фосфита ациклогуанозина (Ф-АЦГ) и шести противовирусных соединений отдельно и в составе двойных и тройных комбинаций в отношении двух штаммов вируса простого герпеса 1-го типа (ВПГ-1), чувствительного и резистентного к ацикловиру. Исследовали комбинации Ф-АЦГ, Ара-А, цидофовира (ЦДВ), рибавирина (Rib), фосфономуравьиной кислоты (ФМК), глицирризиновой кислоты (ГЛН) и  $\alpha$ -интерферона ( $\alpha$ -ИФН). Все исследованные двойные и тройные комбинации, включающие Ф-АЦГ, ингибировали репликацию обоих штаммов ВПГ более эффективно, чем любое из соединений по отдельности. На обеих вирусных моделях обнаружены различные типы взаимодействия: синергидный (двойные комбинации Ф-АЦГ с ФМК, ЦДВ, Rib,  $\alpha$ -ИФН и тройные комбинации Ф-АЦГ с  $\alpha$ -ИФН + ФМК,  $\alpha$ -ИФН + АраА,  $\alpha$ -ИФН + ЦДВ, ФМК + ЦДВ, ФМК + Rbv, ЦДВ АраА, ЦДВ + Rib, ЦДВ + ГЛН, ФМК + АраА); аддитивный (Ф-АЦГ с АраА и ФМК + ГЛН). Ни одна из комбинаций не проявила антагонизма или интерференции. Полученные результаты указывают, что рассмотренные комбинации могли бы быть использованы в клинической практике для лечения тяжелых инфекций, вызванных ВПГ-1.

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

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2014; 59(6): 32–35.

### Research of suppression of the herpes simplex virus reproduction with drug resistance by combination phosphite of acycloguanosine with some antiherpetic drugs

Andronova V. L.<sup>1</sup>, Jasko M. V.<sup>2</sup>, Kukhanova M. K.<sup>2</sup>, Skoblov Yu. S.<sup>3</sup>, Deryabin P. G.<sup>1</sup>, Galegov G. A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> D.I. Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health of the Russian Federation, 123098, Moscow, Russia; <sup>2</sup> Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, 119991, Moscow, Russia; <sup>3</sup> Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, 117997, Moscow, Russia

The activity of the phosphite of acycloguanosine (P-ACG) and six antivirals was tested individually and in double and triple combinations on two strains of the herpes simplex virus (HSV) type 1 (sensitive to acyclovir and resistant to acyclovir) using the CPE inhibition method in the Vero E6 cell microcultures. These are: phosphite of acycloguanosine (P-ACG), Ara-A, cidofovir (CDV), ribavirin (Rib), phosphonoformate (PFA), glycyrrhizic acid (GLN) and  $\alpha$ -interferon ( $\alpha$ -IFN). All studied double combinations and triple combinations including P-ACV inhibited replication of both HSV strains more effectively than any drug alone. Various types of interactions depending on the virus type were observed in both viral models: synergistic (double combinations P-ACG with PFA, CDV, Rib,  $\alpha$ -IFN and triple combinations P-ACG with  $\alpha$ -IFN + PFA,  $\alpha$ -IFN + AraA,  $\alpha$ -IFN + CDV, PFA + CDV, PFA + Rib, CDV + AraA, CDV + Rib, CDV + GLN, PFA + AraA) and additive (P-ACG with AraA and PFA + GLN). Neither antagonism nor interference was noted for any combinations. Adduced results suggest that these combinations might be clinically useful for the treatment of certain herpes simplex virus type 1 infections.

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

Citation: *Voprosy virusologii*. 2014; 59(6): 32–35. (In Russ.)

### Введение

Для лечения и предотвращения рецидивов инфекций, вызываемых вирусом простого герпеса 1-го и 2-го типов (ВПГ-1 и ВПГ-2) и вирусом варицелла зостер (ВЗВ), используют высокоэффективные этиотропные лекарственные средства, относящиеся к классу модифицированных нуклеозидов (препараты ацикловира (АЦВ), валацикловир, пенцикловир, фамцикловир) [1]. Развитие лекарственной резистентности вирусов к этой группе ингибиторов главным образом у иммунокомпромированных пациентов может существенно снижать эффективность антивирусной химиотерапии [2–4]. Лечение кате-

гории пациентов с данной патологией осложняется тем, что резистентность ВПГ/ВЗВ к модифицированным нуклеозидам в подавляющем большинстве случаев носит перекрестный характер, т. е. развитие резистентности к одному из препаратов приводит к резистентности к остальным ингибиторам этой группы [5, 6]. Единственным препаратом выбора в этом случае является фоскарнет (препарат фосфономуравьиной кислоты – ФМК) [2, 3], высокотоксичный для макроорганизма. Кроме того, следует учитывать возможность перекрестной резистентности у ВПГ/ВЗВ к модифицированным нуклеозидам и ФМК одновременно. Такие клинические изо-

Для корреспонденции: Андропова Валерия Львовна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр., e-mail: andronova.vl@yandex.ru  
Correspondence to: Valeriya Andronova, PhD, a leading researcher, e-mail: andronova.vl@yandex.ru

ляты были описаны [7, 8]. В связи с вышеизложенным поиск эффективных и безвредных соединений, которые способны эффективно ингибировать репродукцию вариантов ВПГ и ВЗВ, резистентных к АЦВ и родственным ему соединениям, сохраняет актуальность.

Ранее мы показали, что фосфит ациклогуанозина (Ф-АЦГ) одинаково эффективно ингибирует репродукцию как чувствительного, так и резистентных к АЦВ штаммов ВПГ, включая клинические изоляты ВПГ, циркулирующие в человеческой популяции в настоящее время [9, 10].

Использование комбинаций противовирусных агентов с различным механизмом действия позволяет не только ингибировать репродукцию ВПГ с лекарственной резистентностью, но и предотвратить или существенно снизить скорость формирования подобных штаммов [11]. Такая стратегия хорошо зарекомендовала себя при проведении антиретровирусной химиотерапии [12–14].

Цель исследования – поиск комбинаций противогерпетических агентов, включающих Ф-АЦГ, характеризующихся взаимоусиливающим характером воздействия на герпетическую инфекцию и сохраняющих активность в отношении штаммов ВПГ-1, резистентных к АЦВ. Изучали комбинации Ф-АЦГ с традиционными, имеющими практическое значение соединениями, активными в отношении резистентных к АЦВ штаммов ВПГ-1.

### Материалы и методы

**Препараты.** В работе использовали следующие препараты: Ф-АЦГ (Н-фосфонат 9-(2-гидроксиэтоксиметил)гуанина) синтезирован в Институте молекулярной био-

логии.  $\alpha$ -интерферон ( $\alpha$ -ИФН, Реаферон-ЕС для инъекций сухой ЗАО «Вектор-Медика» лиофильный препарат  $\alpha$ -ИФН со специфической активностью 3 000 000 МЕ/амп. (п. Кольцово Новосибирской обл.); ФМК производства Sigma Aldrich (США); АраА (9- $\beta$ -D-аденинарибозид, видаробин) производства Calbiochem (США); цидофовир (ЦДВ, (S)-1-(3-гидрокси-2-фосфонилметоксипропил)цитозин производства Sigma Aldrich (США); глицирризинат аммония однозамещенный (ГЛН, глицирам, Glucosam, производства «Химфарм ОАО», Казахстан); рибавирин (Rib; 1- $\beta$ -D-рибофуранозил-1,2,4-триазол-3-карбоксамид) производства ICN Switzerland AG, Швейцария.

**Вирусы.** ВПГ-1, штамм L<sub>2</sub> (ВПГ-1/L<sub>2</sub>) получен из Государственной коллекции вирусов НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского. ВПГ-1/L<sub>2</sub>/АЦВ<sup>R</sup>, резистентный к АЦВ (ИД<sub>50</sub> > 100 мкг/мл), получен нами путем серийного пассирования ВПГ-1/L<sub>2</sub> в присутствии АЦВ и подробно охарактеризован ранее [9].

**Цитотоксичность** оценивали методом окрашивания клеток трипановым голубым. За величину ЦД<sub>50</sub> принимали концентрацию, в присутствии которой погибает 50% клеток при продолжительности инкубации 72 ч [9, 10].

**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. [15], как описано нами ранее [9, 10]. Монослойную культуру клеток Vero E6, выращенную в пластиковых 96-луночных планшетах (Linbro, Flow lab-

Таблица 1

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

№	Соединение	ЦД <sub>50</sub> , мкг/мл	ИД <sub>50</sub> , мкг/мл	ИД <sub>95</sub> , мкг/мл	FIC	Эффект
1	Ф-АЦГ	> 1000	15,8 <sup>1</sup> /31,2 <sup>2</sup>	31,25 <sup>1</sup> /62,5 <sup>2</sup>	-	-
2	ФМК	> 62,5	31,2 <sup>1,2</sup>	62,5 <sup>1,2</sup>	-	-
3	АраА	> 62,5	15,6 <sup>1</sup> /31,2 <sup>2</sup>	62,5 <sup>1,2</sup>	-	-
4	ЦДВ	> 62,5	3,9 <sup>1,2</sup>	15,6 <sup>1,2</sup>	-	-
5	Rib	> 125	250 <sup>1,2</sup>	500 <sup>1,2</sup>	-	-
6	ГЛН	> 1000	500 <sup>1,2</sup>	> 1000 <sup>1,2</sup>	-	-
7	$\alpha$ -ИФН	> 1000	250 <sup>1,2</sup>	> 1000 <sup>1,2</sup>	-	-
8	Ф-АЦГ + ФМК	> 15,6 + 31,25	7,8 + 7,8 <sup>1</sup> /15,6 + 7,8 <sup>2</sup>	15,6 + 15,6 <sup>1</sup> /31,25 + 15,6 <sup>2</sup>	0,75 <sup>1</sup> /0,75 <sup>2</sup>	Синергидный
9	Ф-АЦГ + АраА	> 15,6 + 15,6	7,8 + 7,8 <sup>1</sup> /15,6 + 15,6 <sup>2</sup>	15,6 + 15,6 <sup>1</sup> /31,25 + 31,25 <sup>2</sup>	1,0 <sup>1</sup> /1,0 <sup>2</sup>	Аддитивный
10	Ф-АЦГ + ЦДВ	> 62,5 + 7,8	7,8 + 0,97 <sup>1</sup> /15,6 + 0,78 <sup>2</sup>	15,6 + 1,95 <sup>1</sup> /31,25 + 1,95 <sup>2</sup>	0,75 <sup>1</sup> /0,70 <sup>2</sup>	Синергидный
11	Ф-АЦГ + Rib	> 31,25 + 125	7,8 + 31,25 <sup>1</sup> /15,6 + 31,25 <sup>2</sup>	15,6 + 62,5 <sup>1</sup> /31,25 + 62,5 <sup>2</sup>	0,75 <sup>1</sup> /0,75 <sup>2</sup>	Синергидный
12	Ф-АЦГ + ГЛН	> 31,2+1000	3,9 + 250 <sup>1</sup> /15,6 + 250 <sup>2</sup>	15,6 + 500 <sup>1</sup> /31,25 + 500 <sup>2</sup>	0,75 <sup>1</sup> /1,0 <sup>2</sup>	Синергидный/аддитивный
13	Ф-АЦГ + $\alpha$ -ИФН	> 40 + 500	10 + 12,5 <sup>1</sup> /15,6 + 50 <sup>2</sup>	40 + 50 <sup>1</sup> /31,25 + 100 <sup>2</sup>	0,70 <sup>1</sup> /0,70 <sup>2</sup>	Синергидный
14	$\alpha$ -ИФН + ФМК	> 1000 + 62,5	62,5 + 15,6 <sup>1,2</sup>	62,5 + 31,25 <sup>1,2</sup>	0,75 <sup>1,2</sup>	Синергидный
15	$\alpha$ -ИФН + АраА	> 1000 + 31,2	100 + 7,8 <sup>1</sup> /100 + 15,6 <sup>2</sup>	100 + 15,6 <sup>1</sup> /100 + 31,25 <sup>2</sup>	0,90 <sup>1</sup> /0,90 <sup>2</sup>	Синергидный
16	$\alpha$ -ИФН + ЦДВ	> 7,8 + 500	31,25 + 0,48 <sup>1,2</sup>	125 + 1,95 <sup>1,2</sup>	0,25 <sup>1,2</sup>	Выраженный синергидный
17	ФМК + ГЛН	> 62,5 + 1000	15,6 + 250 <sup>1,2</sup>	31,25 + 500 <sup>1,2</sup>	1,0 <sup>1,2</sup>	Аддитивный
18	ФМК + ЦДВ	> 62,5 + 7,8	7,8 + 0,97 <sup>1,2</sup>	31,25 + 3,9 <sup>1,2</sup>	0,50 <sup>1,2</sup>	Синергидный
19	ФМК + АраА	> 62,5 + 31,25	15,6 + 7,8 <sup>1</sup> /15,6 + 15,6 <sup>2</sup>	31,25 + 15,6 <sup>1</sup> /31,25 + 31,25 <sup>2</sup>	1,0	Аддитивный
20	ФМК + Rib	> 62,5 + 125	15,6 + 31,25 <sup>1,2</sup>	31,25 + 62,5 <sup>1,2</sup>	0,75 <sup>1,2</sup>	Синергидный
21	ЦДВ + АраА	> 7,8+15,6	1,95 + 7,8 <sup>1,2</sup>	7,8 + 15,6 <sup>1,2</sup>	1,0 <sup>1</sup> /0,75 <sup>2</sup>	Аддитивный/Синергидный
22	ЦДВ + Rib	> 15,6 + 125	1,95 + 15,6 <sup>1,2</sup>	7,8 + 62,5 <sup>1,2</sup>	0,62 <sup>1,2</sup>	Синергидный
23	ЦДВ + ГЛН	> 7,8 + 1000	1,95 + 250 <sup>1,2</sup>	3,9 + 500 <sup>1,2</sup>	1,0 <sup>1,2</sup>	Аддитивный

Примечание. Здесь и в табл. 2: концентрация  $\alpha$ -ИФН в МЕ/мл. Показатели противовирусной эффективности соединений и их комбинаций: <sup>1</sup> – на модели ВПГ-1/L<sub>2</sub>; <sup>2</sup> – на модели ВПГ-1/L<sub>2</sub>/АЦВ<sup>R</sup>.

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

	Соединение	ЦД <sub>50</sub> , мкг/мл	ИД <sub>50</sub> , мкг/мл	ИД <sub>95</sub> , мкг/мл	FIC	Эффект
24	Ф-АЦГ + α-ИФН + ФМК	> 15,6 + 31,25 + 7,8	7,8 + 15,6 + 3,9 <sup>1</sup> /7,8 + 31,25 + 7,8 <sup>2</sup>	15,6 + 31,2 + 7,8 <sup>1</sup> /15,6 + 62,5 + 7,8 <sup>2</sup>	0,68 <sup>1</sup> /0,68 <sup>2</sup>	Синергидный/синергидный
25	Ф-АЦГ + α-ИФН + АраА	> 31,2 + 250 + 15,6	7,8 + 62,5 + 1,95 <sup>1</sup> /5,6 + 62,5 + 3,9 <sup>2</sup>	15,6 + 125 + 3,9 <sup>1</sup> /31,25 + 125 + 3,9 <sup>2</sup>	0,87 <sup>1</sup> /0,87 <sup>2</sup>	Синергидный/синергидный
26	Ф-АЦГ + α-ИФН + ЦДВ	> 125 + 250 + 7,8	7,8 + 15,6 + 0,48 <sup>1</sup> /15,6 + 15,6 + 0,48 <sup>2</sup>	15,6 + 31,2 + 0,95 <sup>1</sup> /31,25 + 31,2 + 0,95 <sup>2</sup>	0,68 <sup>1</sup> /0,68 <sup>2</sup>	Синергидный/синергидный
27	Ф-АЦГ + ФМК + ГЛН	> 125 + 1000 + 125	7,8 + 7,8 + 125 <sup>1</sup> /15,6 + 6,25 + 125	15,6 + 15,6 + 250 <sup>1</sup> /31,25 + 15,6 + 250	1,0 <sup>1</sup> /0,95 <sup>2</sup>	Аддитивный/склонность к аддитивному
28	Ф-АЦГ + ФМК + ЦДВ	> 15,6 + 15,6 + 31,25	3,9 + 3,9 + 1,95 <sup>1</sup> /7,8 + 3,9 + 1,56	7,8 + 7,8 + 3,9 <sup>1</sup> /15,6 + 7,8 + 3,9 <sup>2</sup>	0,87 <sup>1</sup> /0,77 <sup>2</sup>	Синергидный/синергидный
29	Ф-АЦГ + ФМК + Rib	> 31,25 + 62,5 + 250	3,9 + 7,8 + 31,25 <sup>1</sup> /7,8 + 7,8 + 31,25 <sup>2</sup>	7,8 + 15,6 + 62,5 <sup>1</sup> /15,6 + 15,6 + 62,5 <sup>1</sup>	0,75 <sup>1</sup> /0,75 <sup>2</sup>	Синергидный
30	Ф-АЦГ + ЦДВ + АраА	> 15,6 + 1,95 + 3,9	7,8 + 0,97 + 1,95 <sup>1</sup> /15,6 + 0,97 + 3,9 <sup>2</sup>	15,6 + 1,95 + 3,9 <sup>1</sup> /31,25 + 1,95 + 7,8	0,87 <sup>1</sup> /0,87 <sup>2</sup>	Синергидный/синергидный
31	Ф-АЦГ + ЦДВ + Rib	> 62,5 + 31,25 + 500	3,9 + 1,95 + 31,25 <sup>1</sup> /7,8 + 1,95 + 31,25 <sup>2</sup>	7,8 + 3,9 + 62,5 <sup>1</sup> /15,6 + 3,9 + 62,5 <sup>2</sup>	0,87 <sup>1</sup> /0,87 <sup>2</sup>	Синергидный/синергидный
32	Ф-АЦГ + ЦДВ + ГЛН	> 31,25 + 7,8 + 1000	3,9 + 0,97 + 125 <sup>1</sup> /7,8 + 0,97 + 125 <sup>2</sup>	15,6 + 3,9 + 500 <sup>1</sup> /31,25 + 3,9 + 500 <sup>2</sup>	0,75 <sup>1</sup> /0,75 <sup>2</sup>	Синергидный/синергидный
33	Ф-АЦГ + ФМК + АраА	> 7,8 + 15,6 + 3,9	3,9 + 7,8 + 1,95 <sup>1</sup> /7,8 + 7,8 + 1,95 <sup>2</sup>	7,8 + 15,6 + 3,9 <sup>1</sup> /15,6 + 15,6 + 3,9 <sup>2</sup>	0,62 <sup>1</sup> /0,62 <sup>2</sup>	Синергидный/синергидный

oratories, Соединенное Королевство Великобритании и Северной Ирландии), инфицировали с множественностью 0,1 БОЕ/кл; продолжительность инкубации составила 48 ч при 37°C, при этом в контроле ВПГ развивался 95–100% ЦПЭ, т. е. ЦПЭ охватывал весь монослой клеток. Эффективность препарата количественно выражали как ИД<sub>50</sub> и ИД<sub>95</sub> – концентрации соединения, ингибирующие развитие вирусиндуцированного ЦПЭ на 50% и практически полностью.

При изучении комбинированного действия препаратов определяли их концентрации, которые в сочетании обеспечивают эффекты, соответствующие ИД<sub>50</sub> и ИД<sub>95</sub>. Антигерпетическое действие комбинаций препаратов оценивали путем вычисления индекса FIC (fractional inhibitory concentration) [16]:

$$FIC = \frac{ИД_{50} \text{ соединения } A \text{ в комбинации}}{ИД_{50} \text{ соединения } A} + \frac{ИД_{50} \text{ соединения } B \text{ в комбинации}}{ИД_{50} \text{ соединения } B}$$

### Результаты и обсуждение

Механизм противогерпетического действия АЦВ и родственных ему соединений связан с двумя вирусспецифическими ферментами – тимидинкиназой (ТК) и ДНК-полимеразой [17]. Соответственно формирование резистентности к этим ингибиторам в большинстве случаев связано с мутациями в гене ТК и гораздо реже в гене ДНК-полимеразы [18]. Мы исследовали комбинации соединений, обладающих противогерпетической активностью и не нуждающихся в активации вирусной ТК, а следовательно, в большинстве случаев одинаково эффективных в отношении как чувствительных, так и резистентных к АЦВ штаммов ВПГ-1.

Как видно из данных, приведенных в табл. 1, использование Ф-АЦГ в составе двойных комбинаций с АраА или ГЛН обеспечивает суммирование эффектов противовирусных соединений – при сочетанном использовании минимальная активная доза (ИД<sub>50</sub>) каждого из соединений равна 1/2 ИД<sub>50</sub>, установленной при их раздельном ис-

пользовании: FIC, являющийся критерием эффективности сочетанного действия препаратов, равен 1. При использовании Ф-АЦГ в комбинации с α-ИФН, ФМК, или Rib наблюдали взаимоусиливающий эффект. FIC, равный 0,7, 0,75 и 0,75, указывает на то, что при сочетанном использовании этих ингибиторов в меньших концентрациях можно получить более выраженный противовирусный эффект на обеих вирусных моделях (ВПГ-1/L<sub>2</sub> и ВПГ-1/L<sub>2</sub>/АЦВ<sup>R</sup>) независимо от чувствительности ВПГ к АЦВ. Взаимоусиливающий эффект Ф-АЦГ и ЦДВ в комбинации был более выражен на модели ВПГ-1/L<sub>2</sub>/АЦВ<sup>R</sup> (FIC = 0,7 по сравнению с FIC = 0,75).

Из представленных в табл. 2 результатов следует, что введение в двойные комбинации Ф-АЦГ + ФМК и Ф - АЦГ + ЦДВ третьего компонента α-ИФН приводит к снижению FIC с 0,75/0,7 до 0,68. При этом становится возможным существенно снизить концентрации ФМК и ЦДВ, высокотоксичных для макроорганизма, при сохранении противовирусной активности комбинации по сравнению с отдельно взятыми соединениями. Величина ИД<sub>50</sub> достигается при использовании Ф-АЦГ + ФМК + α-ИФН и Ф-АЦГ + ЦДВ + α-ИФН в концентрациях, равных 1/2, 1/8 и 1/16 ИД<sub>50</sub> каждого из соединений на обеих вирусных моделях.

Эффект комбинации Ф-АЦГ + АраА + α-ИФН также носит синергидный характер (0,87), превосходящий взаимоусиливающий эффект двойных комбинаций Ф-АЦГ + АраА (1) и АраА + α-ИФН (0,9). Поэтому, несмотря на то, что величина FIC тройной комбинации была выше, чем FIC Ф-АЦГ + α-ИФН (0,7), тройная комбинация представляет интерес, так как благодаря сочетанному использованию этих соединений удается снизить концентрацию наиболее токсичного компонента комбинации – АраА.

Сочетанное применение препаратов Ф-АЦГ + ФМК + АраА также способствовало усилению противовирусного эффекта относительно индивидуальных соединений и их соответствующих двойных комбинаций.

Выраженность потенцирования противовирусной активности Ф-АЦГ + ЦДВ + ГЛН (FIC = 0,75) была аналогична потенцирующему эффекту двойных ком-

бинаций Ф-АЦГ + ЦДВ (0,75) и Ф-АЦГ + ГЛН (0,75) и превосходила эффект комбинации ЦДВ + ГЛН (1) на модели эталонного штамма ВПГ-1/L<sub>2</sub>. На модели резистентного к АЦГ штамма ВПГ-1/L<sub>2</sub>/АЦВ<sup>R</sup> эффект двойной комбинации Ф-АЦГ + ЦДВ (0,7) незначительно превосходил таковой тройной комбинации (0,75). Комбинации ГЛН с Ф-АЦГ и ЦДВ характеризовались только аддитивным характером взаимодействия (1) на этой вирусной модели.

При сопоставлении данных, представленных в табл. 1–2, видно, что комбинация Ф-АЦГ + ФМК + ГЛН также способна ингибировать развитие ЦПЭ, индуцированного АЦВ-резистентным штаммом ВПГ-1. Однако в этом случае полученный эффект соответствовал аддитивному, тогда как эффект Ф-АЦГ в сочетании с ФМК или ГЛН был оценен как синергидный. Лишь в отношении АЦВ-резистентного штамма ВПГ комбинация Ф-АЦГ + ГЛН оказалась менее активной (FIC = 1).

Для тройных комбинаций Ф-АЦГ + ФМК + ЦДВ и Ф-АЦГ + ЦДВ + Rib также установлено ослабление взаимоусиливающего эффекта относительно соответствующих двойных комбинаций.

Сочетанное применение АраА с Ф-АЦГ или ЦДВ обеспечивает суммирование противовирусного эффекта индивидуальных соединений (FIC = 1) в отношении ВПГ-1/L<sub>2</sub>. Выраженность потенцирующего эффекта тройной комбинации Ф-АЦГ + ЦДВ + АраА (FIC = 0,87) превосходила аддитивный, но была ниже эффекта комбинации Ф-АЦГ + ЦДВ (FIC = 0,75). На модели ВПГ-1/L<sub>2</sub>/АЦВ<sup>R</sup> противовирусный эффект двух двойных комбинаций (АраА + ЦДВ и Ф-АЦГ + ЦДВ) был выражен в большей степени по сравнению с таковым тройной комбинации.

Эффект комбинаций Ф-АЦГ + ФМК, Ф-АЦГ + Rib и ФМК + Rib был оценен как синергидный (FIC = 0,75 во всех трех случаях). При анализе данных табл. 1, 2 видно, что если величина ИД<sub>50</sub> одного из компонентов комбинации снижена в 4 раза, то для сохранения эффекта 50% ингибирования развития вирусиндуцированного ЦПЭ концентрацию второго компонента можно снизить не более, чем в 2 раза. При объединении этих соединений в тройную комбинацию выраженность синергидного эффекта сохраняется (FIC = 0,75). При этом концентрации всех трех соединений можно было снизить в 4 раза.

Представленные в данном исследовании результаты комбинированного использования противогерпетических агентов на модели ВПГ-1 дают возможность разработки оптимальных схем химиотерапии герпеса в случаях неэффективности АЦВ и других модифицированных нуклеозидов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований 11-04-00384.

#### ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

- 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.
- 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., 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.
- 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.
- Andrei G., De Clercq E., Snoeck R. In vitro selection of drug-resistant varicella-zoster (VZV) mutants (OKA strain): differences between acyclovir and penciclovir? *Antiviral Res.* 2004; 61(3): 181–7.
- 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. *Antiviral Ther.* 2011; 16(8): 1297–308.
- Frobert E., Cortay J.C., Ooka T., Najioullah F., Thouvenot D., Lina B. et al. Genotypic detection of acyclovir-resistant HSV-1: characterization of 67 ACV-sensitive and 14 ACV-resistant viruses. *Antiviral Res.* 2008; 79(1): 28–36.
- Saijo M., Yasuda Y., Yabe H., Kato S., Suzutani T., De Clercq E. et al. Bone marrow transplantation in a child with Wiskott-Aldrich syndrome latently infected with acyclovir-resistant (ACV(r)) herpes simplex virus type 1: emergence of foscarnet-resistant virus originating from the ACV(r) virus. *J. Med. Virol.* 2002; 68(1): 99–104.
- Korovina A.N., Gus'kova A.A., Skoblov M.Yu., 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) [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 antiherpetic activity of acyclovir phosphonates. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 2003; 22(3): 319–28.
- 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.
- 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., 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.
- 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. *Antiviral Res.* 1982; 2(4): 203–6.
- Elion G.B. Mechanism of action and selectivity of acyclovir. *Am. J. Med.* 1982; 73(1A): 7–13.
- Morfin F., Thouvenot D. Herpes simplex virus resistance to antiviral drugs. *Clin. Virol.* 2003; 26(1): 29–37.

Поступила 24.01.13

Received 24.01.13