

- cal activity. *Curr. Med. Chem. Anticancer. Agents.* 2005; 5(4): 389-408.
5. Mahy B.W.J., ed. *Virology: A Practical Approach.* Oxford: IRL Press; 1985.
  6. Latt S.A. Optical studies of metaphase chromosome organization. *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.* 1976; (5): 1-37.
  7. Teng M.K., Usman N., Frederick C.A., Wang A.H. The molecular structure of the complex of Hoechst 33258 and the DNA dodecamer d(CGCGAATTCGCG). *Nucleic. Acids. Res.* 1988; (16): 2671.
  8. Vega M.C., Saez I.G., Aymami J., Eritja R., van der Marel G.A., van Boom J.H., et al. Three-dimensional crystal structure of the A-tract DNA dodecamer d(CGCAAATTTGCG) complexed with the minor-groove-binding drug Hoechst 33258. *Eur. J. Biochem.* 1994; 222: 721.
  9. Chiang S.Y., Welch J.J., Rauscher F.J., Beerman T.A. Effects of minor groove binding drugs on the interaction of TATA box binding protein and TFIIA with DNA. *Biochemistry.* 1994; (33): 7033-40.
  10. Chiang S.Y., Welch J.J., Rauscher F.J., Beerman T.A. Effect of DNA-binding drugs on early growth response factor-1 and TATA box-binding protein complex formation with the herpes simplex virus latency promoter. *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 23999-4004.
  11. Chen A.Y., Yu C., Gatto B., Liu L.F. DNA minor groove-binding ligands: a different class of mammalian DNA topoisomerase I inhibitors. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1993; 90: 8131-5.
  12. Zhang X., Zhang S.C., Sun D., Hu J., Wali A., Pass H., et al. New insight into the molecular mechanisms of the biological effects of DNA minor groove binders. *PLoS One.* 2011; 6(10): e25822.
  13. Woynarowski J.M., McHugh M., Sigmund R.D., Beerman T.A. Modulation of topoisomerase II catalytic activity by DNA minor groove binding agents distamycin, Hoechst 33258, and 4',6-diamidine-2-phenylindole. *Mol. Pharmacol.* 1989; 35: 177-82.
  14. Soderlind K.J., Gorodetsky B., Singh A.K., Bachur N.R., Miller G.G., Lown J.W. Bis-benzimidazole anticancer agents: targeting human tumour helicases. *Anticancer. Drug Design.* 1999; 14: 19-36.
  15. Martin R.F., Broadhurst S., D'Abrew S., Budd R., Sephton R., Reum M., et al. Radioprotection by DNA ligands. *Br. J. Cancer Suppl.* 1996; 74(27): 99-101.
  16. Lyubimova N.V., Coultas P.G., Yuen K., Martin R.F. In vivo radioprotection of mouse brain endothelial cells by Hoechst 33342. *Br. J. Radiol.* 2001; 74: 77-82.
  17. Susova O.Yu., Ivanov A.A., Morales Ruiss S.S., Lessovaya E.A., Gromyko A.V., Strel'tsov S.A., et al. Minor groove dimeric bisbenzimidazoles inhibit in vitro DNA binding to eukaryotic DNA topoisomerase I. *Biokhimiya.* 2010; 75(6): 781-8. (in Russian)
  18. Cherepanova N.A., Ivanov A.A., Maltseva D.V., Minero A.S., Gromyko A.V., Strel'tsov S.A., et al. Dimeric bisbenzimidazoles inhibit the DNA methylation catalyzed by the murine Dnmt3a catalytic domain. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2011; 26(2): 295-300.
  19. Tunitskaya V.L., Mukovnya A.V., Ivanov A.A., Gromyko A.V., Ivanov A.V., Strel'tsov S.A., et al. Inhibition of the helicase activity of the HCV NS3 protein by symmetrical dimeric bis-benzimidazoles. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2011; 21(18): 5331-5.
  20. Popov K.V., Egorova E.I., Ivanov A.A., Gromyko A.V., Zhuze A.L., Bol'sheva N.L., et al. Dimeric bisbenzimidazole Hoechst 33258-related dyes as novel AT-specific DNA-binding fluorochromes for human and plant cytogenetics. *Biologicheskie membrany. Zhurnal membrany i kletchnoy biologii.* 2008; 25(3): 173-80. (in Russian)
  21. Looker K.J., Magaret A.S., Turner K.M., Vickerman P., Gottlieb S.L., Newman L.M. Global estimates of prevalent and incident herpes simplex virus type 2 infections in 2012. *PLoS One.* 2015; 10(1): e114989.
  22. Klimova R.R., Malinovskaya V.V., Guseva T.S., Parshina O.V., Getiya E.G., Degtyareva M.V., et al. Influence of herpesvirus infection on the levels of proinflammatory cytokines in preterm newborns. *Voprosy virusologii.* 2011; (4): 23-6. (in Russian)
  23. Moore M.D., Bunka D.H., Forzan M., Spear P.G., Stockley P.G., McGowan I., et al. Generation of neutralizing aptamers against herpes simplex virus type 2: potential components of multivalent microbicides. *J. Gen. Virol.* 2011; 92(7): 1493-9.
  24. Slyker J.A. Cytomegalovirus and paediatric HIV infection. *J. Virus Erad.* 2016; 2(4): 208-14.
  25. Lichtner M., Cicconi P., Vita S., Cozzi-Lepri A., Galli M., Lo Caputo S., et al. Cytomegalovirus coinfection is associated with an increased risk of severe non-AIDS-defining events in a large cohort of HIV-infected patients. *J. Infect. Dis.* 2015; 211(Pt. 2): 178-86.

Поступила 15.02.17  
Принята в печать 28.02.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 615.281.8.03:616.98:578.832.1].015.44

Санин А.В., Дерябин П.Г., Наровлянский А.Н., Пронин А.В., Кожевникова Т.Н.

## ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ ФОСПРЕНИЛ И ГАМАПРЕН В ОТНОШЕНИИ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ГРИППА А(H5N1) В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК

ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва

Изучали противовирусную активность фоспренила и гамапрена *in vitro* в отношении высокопатогенного штамма вируса гриппа А(H5N1). Внесение вируса в культуру клеток почки эмбриона свиньи сопровождалось развитием интенсивного цитопатогенного эффекта. Предварительное внесение фоспренила и гамапрена за 1 ч до заражения клеток в дозе 10 ТЦД<sub>50</sub> полностью подавляло цитопатогенную активность вируса. При повышении дозы вируса до 100 ТЦД<sub>50</sub> также наблюдали выраженное угнетение инфекционной активности вируса: 70% инфицированных клеток выживало под действием фоспренила и 90% — под действием гамапрена. При введении препаратов одновременно с заражением клеток вирусом в дозе 10 ТЦД<sub>50</sub> выживало фактически 100% зараженных клеток, в то время как в контрольных культурах наблюдалась гибель 100% клеток. После инфицирования вирусом в дозе 100 ТЦД<sub>50</sub> фоспренил и гамапрен вызывали 50% защиту клеток. Противовирусный эффект препаратов фоспренил и гамапрен может быть связан не только с их вирулицидными, но и с противовирусными свойствами.

Ключевые слова: птичий грипп; вирус; культуры клеток; фоспренил; гамапрен; противовирусная активность.

Для цитирования: Санин А.В., Дерябин П.Г. Наровлянский А.Н., Пронин А.В., Кожевникова Т.Н. Противовирусная активность препаратов фоспренил и гамапрен в отношении инфекции, вызванной вирусом гриппа А(H5N1) в культуре клеток. *Вопросы вирусологии.* 2017; 62(4): 168-173.

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-4-168-173>

Контактная информация: Кожевникова Татьяна Николаевна, канд. мед. наук, н.с. ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва. E-mail: [tatiana@micro-plus.ru](mailto:tatiana@micro-plus.ru)

Sanin A.V., Deryabin P.G., Narovlyansky A.N., Pronin A.V., Kozhevnikova T.N.  
**ANTIVIRAL ACTIVITY OF PHOSPRENYL AND GAMAPREN AGAINST INFECTION CAUSED BY  
 INFLUENZA A (H5N1) VIRUS IN CELL CULTURE**

Federal Research Center of Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, 123098, Russian Federation

The antiviral activity of Phosprenyl and Gamapren in vitro against highly pathogenic strain of avian influenza H5N1 virus was studied. Inoculation of the virus to the susceptible cell culture led to development of the cytopathogenic effect. Preliminary introduction of Phosprenyl and Gamapren an hour prior to infecting the cells with virus 100.0 TCID<sub>50</sub> dose completely inhibited the cytopathogenic activity of the virus. At higher doses of virus (100.0 TCID<sub>50</sub>) significant inhibition of the infectious activity of the virus was observed: 70% of infected cells survived under the action of Phosprenyl, and 90% under the action of Gamapren. With the introduction of the preparations simultaneously with the infection of cells with virus at a dose of 10.0 TCID<sub>50</sub> virtually 100% of infected cells survived, while in control cultures death of 100% of the cells occurred. After infection with the virus at a dose of 100.0 TCID<sub>50</sub> Phosprenyl and Gamapren caused 50% protection of the cells. The antiviral effect of the drugs Phosprenyl and Gamapren may be associated not only with their virulicidal, but with anti-viral activity as well.

**Key words:** avian influenza; virus; cell cultures; Phosprenyl; Gamapren; antiviral activity.

**For citation:** Sanin A.V., Deryabin P.G., Narovlyansky A.N., Pronin A.V., Kozhevnikova T.N. Antiviral activity of Phosprenyl and Gamapren against infection caused by influenza A (H5N1) virus in cell culture. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2017; 62(4): 168-173. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-4-168-173>

**For correspondence:** Tat'yana N. Kozhevnikova, Cand. Med. Sci., researcher, Federal Research Center of Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, 123098, Russian Federation.

E-mail: [tatiana@micro-plus.ru](mailto:tatiana@micro-plus.ru)

**Information about authors:**

Sanin A.V., <http://orcid.org/0000-0003-3091-5802>

Deryabin P.G., <http://orcid.org/0000-0002-8522-9554>

Narovlyansky A.N., <http://orcid.org/0000-0003-0601-7148>

Pronin A.V., <http://orcid.org/0000-0001-5266-9783>

Kozhevnikova T.N., <http://orcid.org/0000-0003-3345-3623>

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 15 February 2017

Accepted 28 February 2017

Птичий грипп — острое вирусное заболевание домашних и диких птиц, которое характеризуется септицемией, отеками, поражением легких и органов пищеварения. Этиологическим агентом является вирус гриппа типа А, из множества подтипов которого наибольшую угрозу, по мнению специалистов, представляет высокопатогенный штамм H5N1. По данным ВОЗ, на январь 2017 г. в мире насчитывалось 856 инфицированных высоковирулентным вирусом гриппа А(H5N1) людей, из которых 452 человека погибли (около 53%). Сохраняется и опасность появления в природе смертельных для человека мутантов вируса гриппа А(H5N1), способных передаваться от человека к человеку.

В конце 2016 г. едва ли не наиболее актуальной проблемой мирового масштаба стала эпизоотия высокопатогенного птичьего гриппа, накрывшая в первую очередь Европу, а также многие другие страны, включая Россию. В декабре 2016 — январе 2017 г. сообщается о десятках случаев заражения птичьим гриппом людей, особенно в ряде стран Юго-Восточной Азии [1].

Если учесть крайний недостаток эффективных средств для лечения и профилактики птичьего гриппа, поиск и испытание подобных препаратов остается актуальной задачей практической ветеринарии.

Цель настоящей работы — изучение эффективности препаратов фоспренил и гамапрен, широко применяемых в ветеринарной практике [2], на модели культуры клеток, зараженной высокопатогенным штаммом вируса гриппа А(H5N1).

### Материал и методы

*Штамм вируса гриппа А(H5N1).* В работе использовали штамм вируса гриппа А(H5N1), выделенный от

погибшей домашней курицы в Новосибирской области во время эпизоотии в июле 2005 г. [3]. Штамм вируса гриппа оказался высокопатогенным для культур клеток почки эмбриона свиньи (линия клеток СПЭВ), инфекция в которых сопровождалась развитием интенсивного цитопатогенного эффекта и накоплением инфекционного вируса до 7,5 lg ТЦИД<sub>50</sub> [4]. В работе использовали инфекционные дозы вирусосодержащего материала, равные 10, 100 и 1000 ТЦИД<sub>50</sub>/0,2 мл.

*Препараты фоспренил и гамапрен* (производство соответственно ЗАО «Микро-плюс» и ООО «ГамаВет-Фарм») содержат в качестве действующего вещества 0,4% фосфорилированных полипренолов.

Цитотоксические свойства препаратов для культур клеток СПЭВ исследовали, используя их концентрации от 100 до 400 мкг/мл. Минимальную концентрацию препаратов, вызывающую токсическую гибель 50% монослоя клеток СПЭВ (ЦД<sub>50</sub>), определяли после экспозиции их с клетками в течение 72 ч при 37 °С.

*Противовирусную активность препаратов фоспренил и гамапрен* в отношении инфекции, вызванной вирусом гриппа А(H5N1), исследовали в культурах клеток СПЭВ, выращенных в виде однодневного монослоя в 48-луночных панелях на питательной среде 199 с добавлением 10% сыворотки эмбриона телят и антибиотиков. При этом учитывали, что цикл репликации патогенного варианта вируса гриппа А короткий (уже через 6 ч после заражения культур клеток СПЭВ можно было наблюдать явления цитодеструкции при внесении высоких концентраций вируса). Поэтому растворы препаратов в объеме 0,4 мл, содержащие 200 мкг/мл, вводили за 1 ч до и через 1 ч после заражения клеток, а также одновременно с внесением вируса.

Таблица 1

**Цитотоксические свойства препаратов фоспренил и гамапрен для клеток СПЭВ**

Препарат	Цитотоксические свойства препаратов в используемых концентрациях, мкг/мл			
	100,0	200,0	400,0	ЦД <sub>50</sub>
Фоспренил	0	0	н. д.	≥400,0
Гамапрен	0	0	0	>400,0

Примечание. н. д. — не делали

Использование вышеупомянутых доз вируса гриппа позволяло учитывать окончательный результат через 48 ч после инфицирования.

Результаты исследований учитывали по влиянию препаратов на жизнеспособность инфицированных гриппом клеток СПЭВ в сравнении с контрольными опытами, в которых использовали только зараженные вирусом птичьего гриппа А культуры клеток, культуры клеток интактные и культуры клеток, обработанные препаратами. Определяли минимальную концентрацию препаратов, способных защитить 50% монослоя клеток от цитопатогенного действия вируса гриппа А (ИД<sub>50</sub> — 50% ингибирующая доза).

**Результаты**

Изучение цитотоксического действия фоспренила и гамапрена показало, что препараты в концентрациях 100—400 мкг/мл на протяжении 3 сут (период наблюдения) не вызывали цитотоксического действия при добавлении в культуры клеток, ЦД<sub>50</sub> препаратов превышала 400 мкг/мл (табл. 1).

Результаты исследования противовирусной активности препаратов фоспренил и гамапрен представлены в табл. 2—4.

В частности, показано (см. табл. 2), что препараты фоспренил и гамапрен, введенные за 1 ч до заражения культур клеток СПЭВ вирусом гриппа А(Н5N1) в дозе 10 ТЦД<sub>50</sub>, полностью подавляли цитопатогенную активность вируса (срок наблюдения — 48 ч после инфекции). В то же время в контрольных зараженных вирусом гриппа культурах клеток СПЭВ к этому времени регистрировали гибель 100% клеток монослоя. ИД<sub>50</sub> препаратов составляла меньше 200 мкг/мл. Действие препаратов в культурах клеток СПЭВ, зараженных вирусом гриппа А(Н5N1) в до-

Таблица 2

**Противовирусная активность препаратов фоспренил и гамапрен в инфицированных вирусом гриппа А(Н5N1) культурах клеток СПЭВ (обработка клеток за 1 ч до заражения)**

Препарат	Доза вируса, ТЦД <sub>50</sub> (lg ТЦД <sub>50</sub> )	Концентрации препаратов, мкг/мл		
		200,0	контроль вируса	ИД <sub>50</sub>
Фоспренил	10	0*	100*	<200,0
	100	30	100	<200,0
	1000	100	100	>200,0
Гамапрен	10	0	100	<200,0
	100	10	100	<200,0
	1000	60	100	≥200,0

Примечание. Здесь и в табл. 3 и 4: \* — % погибших зараженных вирусом гриппа клеток в монослое.

Таблица 3

**Противовирусная активность препаратов фоспренил и гамапрен в инфицированных вирусом гриппа А(Н5N1) культурах клеток СПЭВ (обработка клеток в момент заражения вирусом гриппа птиц)**

Препарат	Доза вируса, ТЦД <sub>50</sub>	Концентрации препаратов, мкг/мл		
		200	контроль вируса	ИД <sub>50</sub>
Фоспренил	10	0*	100*	>200,0
	100	50	100	200,0
	1000	100	100	<200,0
Гамапрен	10	0	100	>200,0
	100	50	100	200,0
	1000	85	100	<200,0

зе 100 ТЦД<sub>50</sub>, также приводило к отчетливому угнетению инфекционной активности вируса в культурах клеток: 70% инфицированных клеток выживало в этих условиях после обработки препаратом фоспренил, а обработка клеток препаратом гамапрен приводила к выживаемости 90% зараженных клеток. Доза вируса Н5N1, равная 1000 ТЦД<sub>50</sub>, вызывала гибель всех клеток СПЭВ к 48 ч после инфицирования, причем ингибирующего действия препарата фоспренил в этих условиях не проявлялось, а обработка гамапреном приводила к 40% выживаемости инфицированных клеток.

Определенные различия в действии фоспренила и гамапрена на инфекцию, вызванную вирусом гриппа А(Н5N1), были выявлены также в условиях, когда препараты вводили одновременно с заражением клеток (см. табл. 3). Регистрация результатов через 48 ч после заражения культур клеток СПЭВ свидетельствовала о высокой активности препаратов фоспренил и гамапрен при обработке клеток, зараженных вирусом в дозе 10 ТЦД<sub>50</sub>. Фактически 100% зараженных клеток выживало, в то время как в контрольных культурах наблюдалась гибель 100% клеток. Инфицированные вирусом в дозе 100 ТЦД<sub>50</sub> культуры клеток СПЭВ частично выживали к этому сроку, причем фоспренил и гамапрен вызывали 50% защиту клеток от инфекции вирусом птичьего гриппа, ИД<sub>50</sub> препаратов в этом случае составила ровно 200 мкг/мл. Фоспренил не был эффективен в случае, когда культуры заражали вирусом в дозе 1000 ТЦД<sub>50</sub>, в то же время гамапрен в этих условиях вызывал защиту 15% клеток.

Несколько иные результаты были получены в случае, когда препараты вносили в зараженные культуры клеток СПЭВ через 1 ч после инфицирования (см. табл. 4). В этих условиях было отмечено незначительное снижение активного противовирусного действия препаратов, особенно гамапрена. Показано, что фоспренил приводил к сохранению жизнеспособными 75% инфицированных клеток через 48 ч после заражения культур клеток вирусом в дозе 10 ТЦД<sub>50</sub>, и лишь 10% клеток выживало при обработке их гамапреном. Противовирусное действие фоспренила и гамапрена не было выявлено при обработке культур клеток СПЭВ, зараженных вирусом в дозе 100 и 1000 ТЦД<sub>50</sub>.

**Обсуждение**

В конце 2016 — начале 2017 г. едва ли не наиболее актуальной проблемой мирового масштаба стала эпидемиология высокопатогенного птичьего гриппа. Случаи заболевания и массовой гибели птиц были выявлены в

Таблица 4

**Противовирусная активность препаратов фоспренил и гамапрен в инфицированных вирусом гриппа А(Н5N1) культурах клеток СПЭВ (обработка клеток через 1 ч после заражения)**

Препарат	Доза вируса, ТЦД <sub>50</sub>	Концентрации препаратов, мкг/мл	
		200	контроль вируса
Фоспренил	10	25*	100*
	100	100	100
	1000	100	100
Гамапрен	10	90	100
	100	100	100
	1000	100	100

Австрии, Болгарии, Великобритании, Венгрии, Германии, Греции, Дании, Нидерландах, Польше, Румынии, Сербии, Словакии, Украине, Финляндии, Франции, Хорватии, Черногории, Швейцарии, Швеции, а также в России [5]. Помимо Европы птичий грипп регистрировался в Израиле, Индии, Иране, Китае, Нигерии, Тайване, Тунисе, ЮАР, Южной Корее, Японии.

В России в ноябре—декабре 2016 г. болезнь регистрировали в Калмыкии, Краснодарском крае, Ростовской и Астраханской областях. В начале января 2017 г. грипп стал причиной гибели птиц в воронежском зоопарке. Также в январе выявлен еще один очаг болезни в Темрюкском районе Краснодарского края. Больше всего случаев связано с заражением вирусами H5N8 и H5N5.

В декабре 2016 г. ветеринарно-диагностическая лаборатория университета штата Висконсин (США) сообщила о том, что вирус гриппа птиц подтипа H7N2 впервые обнаружен у домашних кошек. Более того, от больных кошек, инфицированных штаммом H7N2 вируса птичьего гриппа, заразился один из ветеринарных врачей, обслуживавших данный приют, о чем сообщил департамент здравоохранения Нью-Йорка. Это первый случай заражения человека вирусом птичьего гриппа от кошки [6]. В декабре 2016 — январе 2017 г. сообщалось о десятках случаев заражения птичьим гриппом людей, особенно в Китае, Камбодже и других странах Юго-Восточной Азии [1]. Больше всего заболевших было выявлено в китайских провинциях Гуандун, Гуйчжоу, Хубэй, Хунань, Хэнань, Цзянси, Шаньдун, Ляонин, а также в Шанхае, Гонконге и Макао. Не менее 10 пациентов скончались. В основном эти случаи связаны с вирусом гриппа А(Н7N9).

Все это указывает на особую актуальность поиска эффективных и безопасных средств для борьбы с возбудителем птичьего гриппа. В настоящей работе изучали противовирусную активность двух широко используемых в российской ветеринарной практике препаратов на основе фосфорилированных полипренолов, выделенных соответственно из зелени пихты и шелковицы, — фоспренила и гамапрена. Ранее было показано, что данные препараты в различных тест-системах проявляют высокую противовирусную активность в отношении вирусов чумы плотоядных [7], инфекционного ринотрахеита [7, 8], болезни Ауески [9] и других герпесвирусов [10—13], гепатита С [14], диареи крупного рогатого скота [15], энцефаломиелита Тейлера [16], папилломы [17], желтой лихорадки, клещевого энцефалита [18, 19] и других флавивирусов [20], парвовирусов [21], корона-

вирусов [22, 23], цитомегаловирусов [24], аденовирусов [25], парамиксовирусов [25] и ряда других [21, 26].

Продемонстрирована также эффективность фоспренила при инфекциях, вызванных вирусом гриппа [27].

В настоящем исследовании клетки СПЭВ заражали высокопатогенным штаммом вируса гриппа А(Н5N1), выделенным от домашней курицы, павшей во время эпизоотии 2005 г. Внесение вируса в данную культуру сопровождалось развитием интенсивного цитопатогенного эффекта. Предварительное введение фоспренила и гамапрена за 1 ч до заражения клеток вирусом гриппа А(Н5N1) в достаточно высокой дозе 10 ТЦД<sub>50</sub> полностью подавляло цитопатогенную активность вируса. При повышении дозы вируса до 100 ТЦД<sub>50</sub> также наблюдали выраженное угнетение инфекционной активности вируса: 70% инфицированных клеток выживало под действием фоспренила и 90% — под действием гамапрена. При введении препаратов одновременно с заражением клеток вирусом в дозе 10 ТЦД<sub>50</sub> выживало фактически 100% зараженных клеток, в то время как в контрольных культурах наблюдалась гибель 100% клеток (см. табл. 3). После инфицирования вирусом в дозе 100 ТЦД<sub>50</sub> фоспренил и гамапрен вызвали 50% защиту клеток. Фоспренил не был эффективен в случае, когда культуры заражали вирусом в дозе 1000 ТЦД<sub>50</sub>, в то же время гамапрен в этих условиях вызывал защиту 15% клеток. Внесение препаратов в зараженные культуры через 1 ч после инфицирования (см. табл. 4) сопровождалось незначительным снижением противовирусной активности препаратов, более выраженным для гамапрена. Если под действием фоспренила 75% инфицированных клеток сохраняли жизнеспособность через 48 ч после заражения культур клеток вирусом в дозе 10 ТЦД<sub>50</sub>, то лишь 10% клеток выживало после обработки гамапремом.

Мы предполагаем, что эффективность препаратов в данном случае может быть связана со следующим механизмом. Как известно, сиаловые кислоты представляют собой N- или O-ацилпроизводные нейрамининовой кислоты, присоединение которой к белкам происходит только в присутствии фосфатов полипренолов, которые являются промежуточными акцепторами сахаров в процессе образования гликопротеинов. По-видимому, фосфаты полипренолов, являющиеся действующим веществом фоспренила и гамапрена, препятствуют десалированию гликопротеинов вируса и клетки-хозяина вирусной нейраминидазой и способствуют образованию конгломератов вирусных частиц [28], в составе которых жизненный цикл вирионов обрывается.

## Выводы

1. Препараты фоспренил и гамапрен обладают способностью подавлять инфекционную активность вируса гриппа А(Н5N1) в культурах клеток СПЭВ, инфицированных вирусом в дозах 10 и 100 ТЦД<sub>50</sub>/мл, в течение 48 ч после заражения клеток (срок наблюдения).

2. Максимальная противовирусная активность фоспренила и гамапрена проявлялась при обработке культур клеток СПЭВ за 1 ч до заражения и в момент заражения клеток вирусом гриппа А(Н5N1) в дозе 10 ТЦД<sub>50</sub>.

3. Противовирусная активность фоспренила отсутствовала в культурах клеток СПЭВ, зараженных высокой дозой вируса гриппа А(Н5N1) 1000 ТЦД<sub>50</sub>, а антивирусное действие гамапрена в этих условиях было несущественным.

4. Обнаруженный противовирусный эффект препара-

тов фоспренил и гамапрен, вероятно, может быть связан не только с их вирулицидными, но и противовирусными свойствами.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА (п. 7 см. REFERENCES)

1. Regnum. Информационное агентство. Власти КНР сообщили еще о двух случаях заражения вирусом H7N9. Available at: <https://regnum.ru/news/accidents/2232866.html>
2. Санин А.В. Применение иммуномодуляторов при вирусных заболеваниях мелких домашних животных. *Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные.* 2005; (1): 38-42.
3. Львов Д.К., Онищенко Г.Г., Щелканов М.Ю., Алипер Т.И., Непоклонов Е.А., Дерябин П.Г. и др. Изоляция штаммов вируса гриппа А/H5N1 от домашних и диких птиц в период эпизоотии в Западной Сибири (июль 2005 г.) и их депонирование в государственную коллекцию вирусов (08 августа 2005 г.). *Вопросы вирусологии.* 2006; (1): 11-4.
4. Львов Д.К., Подчерняева Р.Я., Щелканов М.Ю., Дерябин П.Г., Исаева Е.И., Данлыбаева Г.А. Спектр клеточных линий позвоночных, чувствительных к высокопатогенным вирусам гриппа А/крячка/Южная Африка/61 (H5N3) и А/крячка/Новосибирск/56/05 (H5N1). *Вопросы вирусологии.* 2007; 52(1): 45-7.
5. ЗООИНФОРМ-СИТИ. Панзоотия птичьего гриппа в Европе продолжается. Available at: [http://zooinform.ru/vete/news/panzootiya\\_ptichego\\_grippa\\_v\\_evrope\\_prodlajetsya](http://zooinform.ru/vete/news/panzootiya_ptichego_grippa_v_evrope_prodlajetsya)
6. Новости медицины от MEDIKFORUM.RU. Available at: [http://www.medikforum.ru/news/medicine\\_news/55270](http://www.medikforum.ru/news/medicine_news/55270)
7. Наровлянский А.Н., Березина Л.К., Веткова Л.Г., Степанова Т.Н., Савойская С.Л., Зубашев И.К. и др. Лечение герпесвирусных инфекций с помощью препаратов полипренолов. *Ветеринарная клиника.* 2005; (2).
8. Санин А.В., Пронин А.В., Наровлянский А.Н., Степанова Т.Н., Савойская С.Л., Зубашев И.К. и др. Влияние полипренилфосфата натрия на вирусный ринотрахеит кошек. *Ветеринария.* 2015; (11): 17-21.
9. Измestьева А.В., Саличев А.В., Мезенцева М.В., Березина Л.К., Ольшанская А.А., Амченкова А.М. и др. Иммуномодулирующая и противовирусная активность морапренилфосфатов (МПФ). *Медицинская иммунология.* 2011; 13(4-5): 522-30.
10. Наровлянский А.Н., Ожерелков С.В., Санин А.В., Козлов В.В., Саличев А.В., Есьман А.С. и др. Противовирусная активность и возможные механизмы действия морапренилфосфатов при экспериментальной инфекции, вызванной вирусом простого герпеса 1 типа. *Журнал микробиологии.* 2014; (5): 54-60.
11. Наровлянский А.Н., Иванова А.М., Шевлягина Н.В., Диденко Л.В., Боровая Т.Г., Измestьева А.В. и др. Эффективность применения полипренилфосфатов в экспериментальной модели генитального герпеса. *Вопросы вирусологии.* 2015; 60(4): 9-13.
12. Ожерелков С.В., Зварцев Р.В., Саличев А.В., Суслев А.П., Кожевникова Т.Н., Наровлянский А.Н. Исследование динамики стимуляции мРНК миграции ингибирующего фактора при экспериментальной герпетической инфекции и на фоне введения полипренолсодержащего иммуномодулятора у мышей. *Цитокины и воспаление.* 2010; 9 (3): 49.
13. Наровлянский А.Н., Дерябин П.Г., Седов А.М., Санин А.В., Пронин А.В. Противовирусная активность полипренилфосфатов при экспериментальной инфекции, вызванной вирусом гепатита С in vitro. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.* 2012; (5): 80-4.
14. Ожерелков С.В., Белоусова Р.В., Данилов Л.Л., Деева А.В., Мальцев С.Д., Наровлянский А.Н. и др. Препарат фоспренил подавляет размножение вирусов диареи и инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота в чувствительных культурах клеток. *Вопросы вирусологии.* 2001; (5): 43-5.
15. Кожевникова Т.Н., Викторова Е.Г., Козлов В.Г., Наровлянский А.Н., Санин А.В., Пронин А.В. и др. Морапренилфосфаты подавляют размножение вируса энцефаломиелита Тейлера и накопление вирусного белка VP3 в чувствительных культурах клеток ВНК-21 и P388D1. *Журнал микробиологии.* 2007; (3): 26-30.

17. Руднева С.Ю., Наровлянский А.Н., Пронин А.В., Степанова Т.Н., Санин А.В. Лечение папилломатоза ротовой полости у собаки с использованием фоспренила. *Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные.* 2016; (3): 9-11.
18. Кожевникова Т.Н., Ожерелков С.В., Измestьева А.В., Санина В.Ю., Наровлянский А.Н., Пронин А.В. и др. Влияние препаратов Гамапрен и Фоспренил, созданных на основе полипренолов растительного происхождения, на продукцию некоторых регуляторных цитокинов в норме и при экспериментальном клещевом энцефалите у мышей. *Российский иммунологический журнал.* 2008; 2(11): 250.
19. Ожерелков С.В., Тимофеев А.В., Новикова Г.П., Деева А.В., Наровлянский А.Н., Санин А.В. и др. Защитное действие нового противовирусного препарата фоспренил при экспериментальном клещевом энцефалите. *Вопросы вирусологии.* 2000; 45(1): 33-7.
20. Санин А.В., Суслев А.П., Третьяков О.Ю., Зварцев Р.В., Саличев А.В., Кожевникова Т.Н. и др. Разнонаправленное влияние МПФ и полипренилфосфата на течение экспериментальной флавивирусной инфекции у мышей. *Журнал микробиологии.* 2011; (5): 56-61.
21. Васильев А.Н., Ожерелков С.В., Козлов В.В., Пронин А.В., Санин А.В., Парфенова Т.М. и др. Противовирусная и иммуномодулирующая активность полипренилфосфатов при вирусных инфекциях. *Антибиотики и химиотерапия.* 2008; 53(3-4): 3-8.
22. Переслегина И.О., Виденина А.А., Наровлянский А.Н., Пронин А.В., Санин А.В. Новое в лечении кошачьего инфекционного перитонита. *Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные.* 2013; (1): 6-10.
23. Фурман И.М., Васильев И.К., Наровлянский А.Н., Пронин А.В., Санин А.В. Применение препаратов на основе растительных полипренолов при различных формах кошачьего инфекционного перитонита. *Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные.* 2010; (3): 42-3.
24. Карал-оглы Д.Д., Мезенцева М.В., Агрба В.З., Пронин А.В., Санин А.В., Наровлянский А.Н. Эффективность применения новых отечественных препаратов Фоспренил и Гамавит у обезьян, инфицированных цитомегаловирусом. В кн: *Интерферону – 50 лет; Сборник трудов.* Москва; 2007: 204-13.
25. Савойская С.Л., Клицунова Н.В., Наровлянский А.Н., Пронин А.В., Санин А.В. Эффективность препарата Гамапрен при лечении аденовируса и парагриппа собак. *Ветеринарный доктор.* 2008; (11): 15-6.
26. Ожерелков С.В., Аржаев А.М., Кожевникова Т.Н., Наровлянский А.Н., Пронин А.В., Санин А.В. Адьювантное действие фоспренила на иммуногенность антирабической вакцины. *Ветеринарная клиника.* (8); 2004; 9-10.
27. Пронин А.В., Наровлянский А.Н., Дерябин П.Г., Деева А.В., Орлова Н.Г., Григорьева Е.А. и др. Противовирусное действие фоспренила при гриппозной инфекции. *Ветеринария и кормление.* 2005; (6): 25.
28. Пронин А.В., Наровлянский А.Н., Дерябин П.Г., Деева А.В., Орлова Н.Г., Григорьева Е.А. и др. Птицы, свиньи, грипп и фоспренил. *Зооиндустрия.* 2006; (3): 18-9.

#### REFERENCES

1. Regnum. News Agency. Chinese authorities reported two cases of infection with H7N9 virus. Available at: <https://regnum.ru/news/accidents/2232866.html>
2. Sanin A.V. The use of immunomodulators in viral diseases of small domestic animals. *Rossiyskiy veterinarnyy zhurnal. Melkie domashnie i dikiye zhivotnye.* 2005; (1): 38-42. (in Russian)
3. L'vov D.K., Onishchenko G.G., Shchelkanov M.Yu., Aliper T.I., Nepoklonov E.A., Deryabin P.G., et al. Isolation of influenza virus A/H5N1 strains from poultry and wild birds during the epizootic in Western Siberia (July 2005) and their deposit in the State collection of viruses (August 8, 2005, 2011). *Voprosy virusologii.* 2006; (1): 11-4. (in Russian)
4. L'vov D.K., Podchernyaeva R.Ya., Shchelkanov M.Yu., Deryabin P.G., Isaeva E.I., Danlybaeva G.A. Spectrum of vertebrate cell lines sensitive to highly pathogenic influenza A virus /duck/South Africa/61 (H5N3) and A/duck/Novosibirsk/56/05 (H5N1). *Voprosy virusologii.* 2007; 52(1): 45-7. (in Russian)
5. ZOOINFORM CITY. Pansooti bird flu in Europe continues. Available

- at: [http://zooinform.ru/vete/news/panzootiya\\_ptichego\\_grippa\\_v\\_evrope\\_prodljaetsya](http://zooinform.ru/vete/news/panzootiya_ptichego_grippa_v_evrope_prodljaetsya)
6. Medicine news from MEDIKFORUM.RU. Available at: [http://www.medikforum.ru/news/medicine\\_news/55270](http://www.medikforum.ru/news/medicine_news/55270)
  7. Danilov L.L., Maltsev S.D., Deyeva A.V., Narovlyansky A.N., Sanin A.V., Ozherelkov S.V., et al. Phosprenyl: A novel drug with antiviral and immunomodulatory activity; Mini-review. *Archivum Immunologiae et Therapia Experimentalis*. 1997; 45(5-6): 395-400.
  8. Narovlyanskiy A.N., Berezina L.K., Vetkova L.G., Stepanova T.N., Savoyskaya S.L., Zubashev I.K., et al. Treatment of infection caused by herpesvirus by using drugs of polyprenols. *Veterinarnaya klinika*. 2005; (2): 17-21. (in Russian)
  9. Sanin A.V., Pronin A.V., Narovlyanskiy A.N., Stepanova T.N., Savoyskaya S.L., Zubashev I.K., et al. Effect of sodium polyprenylphosphate on viral rhinotracheitis in cats. *Veterinariya*. 2015; (11): 17-21. (in Russian)
  10. Izmet'eva A.V., Salichev A.V., Mezentseva M.V., Berezina L.K., Ol'shanskaya A.A., Amchenkova A.M., et al. Immunomodulating and antiviral activity of moraprenylphosphate (MPF). *Meditsinskaya immunologiya*. 2011; 13(4-5): 522-30. (in Russian)
  11. Narovlyanskiy A.N., Ozherelkov S.V., Sanin A.V., Kozlov V.V., Salichev A.V., Es'man A.S., et al. Antiviral activity and possible mechanisms of action of moraprenylphosphates in experimental infection caused by herpes simplex virus type 1. *Zhurnal mikrobiologii*. 2014; (5): 54-60. (in Russian)
  12. Narovlyanskiy A.N., Ivanova A.M., Shevlyagina N.V., Didenko L.V., Borovaya T.G., Izmet'eva A.V., et al. Efficacy of polyprenylphosphates on experimental model of genital herpes. *Voprosy virusologii*. 2015; 60(4): 9-13. (in Russian)
  13. Ozherelkov S.V., Zvartsev R.V., Salichev A.V., Suslov A.P., Kozhevnikova T.N., Narovlyanskiy A.N. Study of the dynamics of migration inhibitory factor mRNA stimulation in experimental herpes infection and on the background of introduction of polyprenol - containing immune modulator in mice. *Tsitokiny i vospalenie*. 2010; 9 (3): 49. (in Russian)
  14. Narovlyanskiy A.N., Deryabin P.G., Sedov A.M., Sanin A.V., Pronin A.V. Polyprenylphosphates antiviral activity in experimental infections caused by hepatitis c virus in vitro. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii*. 2012; (5): 80-4. (in Russian)
  15. Ozherelkov S.V., Belousova R.V., Danilov L.L., Deeva A.V., Mal'tsev S.D., Narovlyanskiy A.N., et al. In sensitive cell cultures Phosprenyl suppresses reproduction of viruses causing diarrhoea and infectious rhinotracheitis in cattle. *Voprosy virusologii*. 2001; (5): 43-5. (in Russian)
  16. Kozhevnikova T.N., Viktorova E.G., Kozlov V.G., Narovlyanskiy A.N., Sanin A.V., Pronin A.V., et al. Moraprenylphosphates suppress reproduction of Tayler encephalomyelitis virus and accumulation of protein VP3 in sensitive cell cultures BHK-21 and P388D1. *Zhurnal mikrobiologii*. 2007; (3): 26-30. (in Russian)
  17. Rudneva S.Yu., Narovlyanskiy A.N., Pronin A.V., Stepanova T.N., Sanin A.V. Treatment of oral papillomatosis in dogs using phosprenyl. *Rossiyskiy veterinarnyy zhurnal. Melkie domashnie i dikiye zhivotnye*. 2016; (3): 9-11. (in Russian)
  18. Kozhevnikova T.N., Ozherelkov S.V., Izmet'eva A.V., Sanina V.Yu., Narovlyanskiy A.N., Pronin A.V., et al. Influence of drugs Gamapren and Phosprenyl developed on the basis of plant polyprenols upon production of some regulatory cytokines in mice with experimental tick-borne encephalitis. *Rossiyskiy immunologicheskyy zhurnal*. 2008; 2(11): 250. (in Russian)
  19. Ozherelkov S.V., Timofeev A.V., Novikova G.P., Deeva A.V., Narovlyanskiy A.N., Sanin A.V., et al. Protective effect of a new antiviral drug phosprenyl in experimental tick-borne encephalitis. *Voprosy virusologii*. 2000; 45(1): 33-7. (in Russian)
  20. Sanin A.V., Suslov A.P., Tret'yakov O.Yu., Zvartsev R.V., Salichev A.V., Kozhevnikova T.N., et al. Multidirectional influence of polyprenylphosphate on MIF and experimental flavivirus infection in mice. *Zhurnal mikrobiologii*. 2011; (5): 56-61. (in Russian)
  21. Vasil'ev A.N., Ozherelkov S.V., Kozlov V.V., Pronin A.V., Sanin A.V., Parfenova T.M., et al. Antiviral and immune modulating activities of polyprenylphosphate in viral infections. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2008; 53(3-4): 3-8. (in Russian)
  22. Pereslegina I.O., Videnina A.A., Narovlyanskiy A.N., Pronin A.V., Sanin A.V. New approach to the treatment of feline infectious peritonitis. *Rossiyskiy veterinarnyy zhurnal. Melkie domashnie i dikiye zhivotnye*. 2013; (1): 6-10. (in Russian)
  23. Furman I.M., Vasil'ev I.K., Narovlyanskiy A.N., Pronin A.V., Sanin A.V. The use of drugs on the basis of plant polyprenols in various forms of feline infectious peritonitis. *Rossiyskiy veterinarnyy zhurnal. Melkie domashnie i dikiye zhivotnye*. 2010; (3): 42-3. (in Russian)
  24. Karal-ogly D.D., Mezentseva M.V., Agrba V.Z., Pronin A.V., Sanin A.V., Narovlyanskiy A.N. Efficacy of new domestic drugs phosprenyl and gamavit in monkeys infected with Cytomegalovirus. In: *Interferonu – 50 let; Sbornik trudov [Interferonu – 50 let; Sbornik trudov]*. Moscow; 2007: 204-13. (in Russian)
  25. Savoyskaya S.L., Klitsunova N.V., Narovlyanskiy A.N., Pronin A.V., Sanin A.V. Efficacy of Gamapren in the treatment of adenovirus and canine parainfluenza. *Veterinarnyy doktor*. 2008; (11): 15-6. (in Russian)
  26. Ozherelkov S.V., Arzhaev A.M., Kozhevnikova T.N., Narovlyanskiy A.N., Pronin A.V., Sanin A.V. Adjuvant effect of phosprenyl on the immunogenicity of rabies vaccine. *Veterinarnaya klinika*. (8); 2004; 9-10. (in Russian)
  27. Pronin A.V., Narovlyanskiy A.N., Deryabin P.G., Deeva A.V., Orlova N.G., Grigor'eva E.A., et al. Phosprenyl antiviral effect at influenza infection. *Veterinariya i kormlenie*. 2005; (6): 25. (in Russian)
  28. Pronin A.V., Narovlyanskiy A.N., Deryabin P.G., Deeva A.V., Orlova N.G., Grigor'eva E.A., et al. Poultry, swine, flu and phosprenyl. *Zoindustriya*. 2006; (3): 18-9. (in Russian)

Поступила 15.02.17

Принята в печать 28.02.17