



ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-336>

© ГАЛЕГОВ Г.А., АНДРОНОВА В.Л., ВОЗДВИЖЕНСКАЯ О.А., ЛЕВИТ Г.Л., ЧАРУШИН В.Н., КРАСНОВ В.П., 2026



Антивирусный потенциал комбинаций этиотропных противогерпетических агентов, включающих новый ингибитор терминазного комплекса LAS-131, для воздействия на репродукцию вируса простого герпеса 1-го типа (*Orthoherpesviridae: Simplexvirus: Simplexvirus humanalpha1*)

Галегов Г.А.¹, Андропова В.Л.^{1✉}, Воздвиженская О.А.², Левит Г.Л.², Чарушин В.Н.², Краснов В.П.²

¹Институт вирусологии имени Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия;

²ФГБУН «Институт органического синтеза имени И.Я. Постовского» Уральского отделения Российской академии наук, 620137, г. Екатеринбург, Россия

Резюме

Введение. Вирус простого герпеса 1-го типа (ВПГ-1) является причиной различных инфекций у людей, которые могут привести к инвалидности и даже к смерти. Современные методы лечения эффективны и относительно безопасны. Однако чрезвычайно высокий уровень распространенности этого вируса, а также необходимость проведения длительной терапии, связанной с развитием лекарственной резистентности у вируса (главным образом у пациентов со сниженным иммунитетом), и тяжелые побочные эффекты препаратов второго ряда осложняют лечение. Очевидно, что существует необходимость не только в разработке терапевтических средств с новым механизмом действия, но и новых путей воздействия на герпетическую инфекцию для повышения эффективности проводимой терапии. Комбинированное использование лекарств с различным механизмом действия является одним из таких подходов.

Цель работы – оценка противовирусной активности LAS-131 ((3S)-4-[6-(пурин-6-ил)аминогексаноил]-3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]-бензоксазин) при сочетанном использовании с базовыми противогерпетическими препаратами, а также с двумя оригинальными соединениями.

Материалы и методы. Комбинированный противовирусный эффект LAS-131 исследовали на модели ВПГ-1 методами построения изоболограммы и вычисления индекса фракционной ингибирующей концентрации.

Результаты. LAS-131 высокоселективно ингибирует репродукцию вируса (ИД₅₀ составляет 1,95 мкг/мл, индекс селективности – 63) и сохраняет активность против варианта ВПГ-1, резистентного к ацикловиру. Белком-мишенью этого соединения является большая субъединица терминального комплекса (*pUL15*). При сочетанном использовании LAS-131 с ингибиторами вирусной ДНК-полимеразы (ацикловиром и родственными соединениями) и с малобороздчатым ингибитором 15Lys-bis-нетропсином наблюдается потенцирующий эффект, что позволяет снизить концентрации комбинируемых соединений в 4 раза и более при сохранении противовирусной активности. Концентрации LAS-131, фоскарнета, рибавирина и α -интерферона при использовании в комбинации можно снизить в 2 раза, что соответствует аддитивному эффекту.

Заключение. Установлены комбинации LAS-131 с известными противовирусными агентами, обеспечивающие синергический и аддитивный эффекты взаимодействия против ВПГ-1.

Ключевые слова: вирус простого герпеса 1-го типа; противовирусная активность; комбинированный эффект; лекарственная резистентность; *in vitro*

Для цитирования: Галегов Г.А., Андропова В.Л., Воздвиженская О.А., Левит Г.Л., Чарушин В.Н., Краснов В.П. Антивирусный потенциал комбинаций этиотропных противогерпетических агентов, включающих новый ингибитор терминального комплекса LAS-131, для воздействия на репродукцию вируса простого герпеса 1-го типа (*Orthoherpesviridae: Simplexvirus: Simplexvirus humanalpha1*). *Вопросы вирусологии*. 2026; 71 (1): 21–31. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-336> EDN: <https://elibrary.ru/bxlglx>

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства высшего образования и науки Российской Федерации (тема № 124020200038-6).

Конфликт интересов. Галегов Г.А., Андронова В.Л., Левит Г.Л., Чарушин В.Н., Краснов В.П., являются авторами патента¹, Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН – патентообладателем.

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-336>

Antiviral potential of combinations of etiotropic antiherpetic agents including LAS-131, a novel terminase complex inhibitor, to affect the reproduction of herpes simplex virus type 1 (*Orthoherpesviridae: Simplexvirus: Simplexvirus humanalpha1*)

Georgy A. Galegov¹, Valeriya L. Andronova^{1✉}, Olga A. Vozdvizhenskaya², Galina L. Levit², Valery N. Charushin², Victor P. Krasnov²

¹The D.I. Ivaovsky Institute of Virology, The N.F. Gamaleya Research Center of Epidemiology and Microbiology, The Russian Ministry of Health, 123098, Moscow, Russia;

²Postovsky Institute of Organic Synthesis, Russian Academy of Sciences (Ural Branch), 620137, Ekaterinburg, Russia

Abstract

Introduction. Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) causes various diseases in humans that can lead to disability and death. Current treatments are effective and relatively safe. However, the high prevalence of HSV, the necessity for long-term therapy associated with the development of drug resistance in the virus (mainly in immunocompromised patients) and severe side effects of second-line drugs complicate treatment. Obviously, there is a necessity to develop therapeutic agents with a new mechanism of action and new ways of influencing herpes infection to improve the effectiveness of therapy. The combined use of drugs with different mechanisms of action is one such approach.

The aim of the study is to evaluate the antiviral activity of combinations of LAS-131 ((3S)-4-[6-(purin-6-yl)amino]hexanoyl]-3,4-dihydro-3-methyl-7,8-difluoro-2H-[1,4]-benzoxazine) with basic antiherpetic drugs and with two new compounds.

Materials and methods. The effect of LAS-131 combinations against HSV-1 was studied by constructing an isobologram and calculating the fractional inhibitory concentration index.

Results. LAS-131 selectively inhibits the reproduction of acyclovir-sensitive and -resistant HSV-1 variants (IC₅₀ is 1.95 µg/mL, selectivity index is 63). Its target protein is the large subunit of the terminase complex (*pUL15*). When LAS-131 is used in combination with viral DNA polymerase inhibitors (acyclovir and related compounds) or with the minor-groove inhibitor 15Lys-bis-netropsin, a potentiating effect is observed, which allows decreasing the concentrations of the combined compounds by 4 times or more while maintaining antiviral activity. LAS-131 interacted additively with foscarnet, ribavirin, and α-interferon.

Conclusion. Combinations of LAS-131 with known antiviral agents have been established, providing synergistic and additive effects of interaction against HSV-1.

Keywords: herpes simplex virus type 1; antiviral activity; combined effect; drug resistance; in vitro

For citation: Galegov G.A., Andronova V.L., Vozdvizhenskaya O.A., Levit G.L., Charushin V.N., Krasnov V.P. Antiviral potential of combinations of etiotropic antiherpetic agents including LAS-131, a novel terminase complex inhibitor, to affect the reproduction of herpes simplex virus type 1 (*Orthoherpesviridae: Simplexvirus: Simplexvirus humanalpha1*). *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2026; 71(1): 21–31
DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-336> EDN: <https://elibrary.ru/bxlgix>

Funding. The study was financially supported by the Ministry of Higher Education and Science of the Russian Federation (theme No. 124020200038-6).

Conflict of interest. Galegov G.A., Andronova V.L., Levit G.L., Charushin V.N., and Krasnov V.P. are the patent holders, and the I.Ya. Postovsky Institute of Organic Synthesis of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences is the patent¹ owner.

¹ Патент РФ № 2644351 C1; 2018.

¹ Patent RU 2644351 C1; 2018.

Введение

Вирус простого герпеса 1-го типа (ВПГ-1), чрезвычайно широко распространенный в человеческой популяции патоген, сохраняется в организме на протяжении всей жизни и периодически реактивируется, что приводит или к бессимптомному его выделению, или к манифестной инфекции. Клинические проявления герпетической инфекции варьируются в зависимости от степени иммунной компетентности хозяина от легкой локализованной формы (лабиальный герпес) до редких, но тяжелых и опасных для жизни инфекций (слепота, герпетический энцефалит, генерализованные инфекции). Однако даже лабиальный или генитальный герпес, который не угрожает жизни, протекает болезненно, может существенно снижать качество жизни пациентов².

В настоящее время лечение инфекций, вызванных вирусом простого герпеса (ВПГ), базируется на использовании синтетических аналогов нуклеозидов. Ацикловир (АЦВ) стал первым препаратом этого класса, характеризующимся, в отличие от иоддезоксисуридина, трифтортимидина и аденинарабинозида, низкой токсичностью для макроорганизма и высокой селективностью противовирусного действия в отношении ВПГ-1, ВПГ 2-го типа и вируса ветряной оспы. АЦВ специфически фосфорилируется вирусной тимидинкиназой (ТК) до монофосфата, поэтому такое превращение возможно только в инфицированной клетке. Затем АЦВ-монофосфат преобразуется клеточными киназами в биологически активную форму АЦВ-трифосфат, который включается в растущую цепь ДНК-вирусной полимеразой (ДНК-pol), ингибируя элонгацию [1, 2].

К сожалению, АЦВ и родственные ему соединения имеют аналогичный способ действия и, следовательно, общие недостатки, включая минимальный эффект при острых эпизодах [2]. Кроме того, широкое их использование может привести к появлению штаммов, устойчивых к этой группе лекарственных средств, главным образом у пациентов с иммунодефицитными состояниями разной этиологии, нуждающихся в проведении длительной лекарственной терапии [3]. Поскольку на сегодняшний день вакцины для эффективной профилактики и лечения инфекций ВПГ находятся на стадии клинической разработки и на рынок не выпущено ни одной из них, создание новых противовирусных препаратов, прежде всего с механизмами действия, не связанными с вирусной ДНК-pol, а также поиск новых способов воздействия на герпетические инфекции, обеспечивающих снижение вероятности развития не только нежелательных эффектов этиотропных лекарственных препаратов, но и лекарственной устойчивости у вируса, привлекает большое внимание в последние десятилетия. Одним из направлений таких исследований является разработка схем комбинированной терапии, включающей как тради-

ционные противогерпетические препараты, так и новые соединения. Многолетний практический опыт использования высокоэффективной комбинированной антиретровирусной терапии ВИЧ-инфекции [4] и комбинированной терапии инфекции, вызванной вирусом гепатита С [5], убедительно подтверждает рациональность такой стратегии.

Нами впервые была открыта активность ряда конъюгатов пурина и бензоксазина против ВПГ-1, включая штаммы, резистентные к действию АЦВ [6]. LAS-131, высокоселективно ингибирующий репродукцию ВПГ-1 (рис. 1, табл. 1), был выбран для изучения с целью установления биомишени и механизма действия этой группы соединений.

В соответствии с предложенной нами моделью молекулярного механизма антивирусного действия LAS-131, наиболее вероятным целевым белком, с которым связывается это соединение, является большая субъединица терминального комплекса ВПГ-1 – pUL15. Связывание LAS-131 с pUL15 препятствует упаковке вирусной ДНК в капсид [7].

Цель настоящего исследования – оценка *in vitro* сочетанного эффекта LAS-131 с известными противогерпетическими агентами, прежде всего практически значимыми, а также изучение возможности воздействия на репродукцию резистентного к действию АЦВ варианта ВПГ-1 комбинациями LAS-131 с соединениями, не нуждающимися в активации вирусной ТК.

Материалы и методы

Препараты. LAS-131 ((3S)-4-[6-(пурин-6-ил)аминогексаноил]-3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]-бензоксазин, C₂₀H₂₂F₂N₆O₂, Mw 416.42)) был синтезирован в Институте органического синтеза УрО РАН им. И.Я. Постовского (Екатеринбург) [6].

В работе также использовали АЦВ, пенцикловир (ПЦВ), ганцикловир (ГЦВ), бромвинилдезоксисуридин (БВДУ, бривудин), 5-йод-2'-дезоксисуридин (ИДУ), аденинарабинозид (Ара-А), цидофовир (ЦДВ), фоскарнет (ФОС) производства Sigma-Aldrich (США), рибавирин (РИБ) производства ICN Switzerland AG (Швейцария) и глицирризинат аммония однозамещенный (ГЛН) производства «Химфарм ОАО» (Казахстан). Структурные формулы

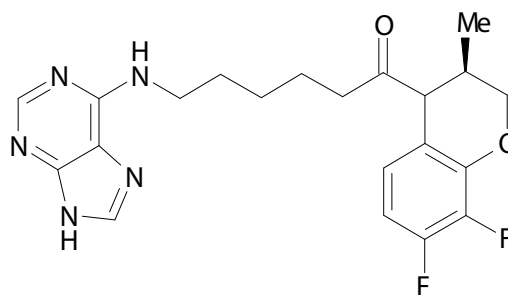


Рис. 1. LAS-131 ((3S)-4-[6-(пурин-6-ил)аминогексаноил]-3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]-бензоксазин).

Fig. 1. LAS-131 ((3S)-4-[6-(purin-6-yl)aminohexanoyl]-3,4-dihydro-3-methyl-7,8-difluoro-2H-[1,4]-benzoxazine).

²ВОЗ. Вирус простого герпеса. Информационный бюллетень; 2025. Доступно по: <https://who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus>

Таблица 1. Противогерпетическая активность ряда соединений на модели ВПГ-1 с различной лекарственной чувствительностью в культуре клеток Vero E6 (множественность инфицирования 0,1 БОЕ/кл)

Table 1. Antitherpetic activity of some compounds in the HSV-1 model with different drug sensitivities in Vero E6 cell culture (multiplicity of infection 0.1 PFU/cell)

Соединение Compound	ЦД ₅₀ , мкг/мл CC ₅₀ , µg/mL	ИД ₅₀ , мкг/мл IC ₅₀ , µg/mL	ИД ₉₅ , мкг/мл IC ₉₅ , µg/mL	ИС SI
LAS-131	122,22 ± 6,48	1,95 ^{1,2}	7,8 ^{1,2}	63 ^{1,2}
АЦВ / ACV	> 250	0,39 ¹ / > 400 ²	1,56 ¹ / > 400 ²	> 1026 ¹ / 0 ²
ГЦВ / GCV	> 100	0,56 ¹ / > 250 ²	11,25 ¹ / > 250 ²	> 179 ¹ / 0 ²
ПЦВ / PCV	> 100	1,95 ¹ / > 100 ²	7,8 ² / > 100 ²	> 51 ¹ / 0 ²
БВДУ / BVDU	> 250	0,096 ¹ / > 24,5 ²	0,19 ¹ / > 24,5 ²	> 4167 ¹ / 0 ²
ИДУ / IDU	> 250	3,9 ¹ / 62,5 ²	31,25 ¹ / 125 ²	> 64 ¹ / > 4 ²
Ф-АЦВ / Нр-ACV	> 1000	15,6 ¹ / 31,2 ²	31,25 ¹ / 62,5 ²	> 64 ¹ / > 32 ²
ФОС / FOS	> 62,5	15,6 ¹ / 31,2 ²	62,5 ^{1,2}	> 4 ¹ / > 2 ²
Ара-А / Ara-A	80,0 ± 4,12	15,6 ¹ / 31,2 ²	62,5 ^{1,2}	5,12 ¹ / 2,56 ²
ЦДВ / CDV	> 62,5	3,9 ^{1,2}	15,6 ^{1,2}	> 52 ^{1,2}
РИБ / RIB	> 500	250 ^{1,2}	500 ^{1,2}	> 2 ^{1,2}
15Lys-bis-NT	173,12 ± 4,37	3,9 ¹ / 3,9 ²	15,6 ^{1,2}	44,39 ^{1,2}
ГЛН / GLN	> 1000	500 ^{1,2}	> 1000 ^{1,2}	> 2 ^{1,2}
α-ИФН / α-IFN	> 1000	250 ^{1,2}	> 1000 ^{1,2}	> 4 ^{1,2}

Примечание. ЦД₅₀ – концентрация соединения, в присутствии которой выживает 50% клеток; «>» – эффект не достигается; ИД₅₀ и ИД₉₅ – концентрации соединений, ингибирующие развитие вирусиндуцированного ЦПЭ при 95–100% ЦПЭ в контроле вируса через 48 ч инкубации. Величину индекса селективности (ИС) вычисляли как отношение ЦД₅₀ к ИД₅₀. ¹ – исследование противовирусной активности соединений проводили на модели эталонного штамма вируса ВПГ-1/L₂; ² – исследование противовирусной активности соединений проводили на модели ТК-негативного варианта вируса ВПГ-1/L₂/АЦВ^R, глубоко резистентного к АЦВ. Приведены результаты двух независимых опытов.

Note. CC₅₀ is the concentration of the compound in the presence of which 50% of the cells survive; «>» – effect is not achieved; IC₅₀ and IC₉₅ are the concentrations of the compounds in the presence of which the development of the virus-induced cytopathic effect (CPE) is inhibited at 95–100% CPE in the virus control after 48 h of incubation. The selectivity index (SI) was calculated as the ratio of CC₅₀ to IC₅₀. ¹ – antiviral activity of the compounds was studied on the model of the reference strain of the HSV-1/L₂ virus; ² – antiviral activity of the compounds was studied on the model of the TK-negative variant of the HSV-1/L₂/ACV^R virus, deeply resistant to ACV. The results of two independent experiments are presented.

и рациональные названия вышеперечисленных соединений приведены в **таблице Приложения³**. α-Интерферон (α-ИФН, Реаферон-ЕС – лиофильный препарат α-ИФН для инъекций (ЗАО «Вектор-Медика», пос. Кольцово Новосибирской области). Фосфит АЦВ (Ф-АЦВ) любезно предоставлен Ю.С. Скобловым (Институт биоорганической химии им. академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН), структура приведена в работе [8] и таблице Приложения³. 15Lys-bis-нетропсин (15Lys-bis-Nt) синтезирован в Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН и любезно предоставлен Г.В. Гурским (структура соединения приведена в работе [9] и таблице Приложения³).

Вирусы и клетки. ВПГ-1, штамм L₂ (ВПГ-1/L₂) был получен из Государственной коллекции вирусов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (подразделение – Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского). Глубоко резистентный к АЦВ вариант ВПГ-1 (ВПГ-1/L₂/АЦВ^R) был получен нами путем проведения серийного пассирования в присутствии возрастающих концентраций АЦВ с последующим клонированием и охарактеризован ранее фено- и генотипически как ТК-негативный [8, 10, 11].

Культура клеток Vero E6 любезно предоставлена профессором А.М. Бутенко (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России). В качестве ростовой среды для культивирования клеток использовали

среду «Игла» с добавлением 5% (v/v) эмбриональной сыворотки телят («ПанЭко», Москва).

Оценку цитотоксических и антивирусных свойств соединений проводили микрометодом в 96-луночных планшетах (Linbro, Flow Laboratories, Великобритания) со сформированным клеточным монослоем. Серийные разведения препаратов или их комбинаций готовили с кратностью 2 и вносили среду поддержки (для определения цитотоксических свойств) или вирусодержащую жидкость в разведении, обеспечивающую множественность инфицирования 0,1 БОЕ/кл (для определения антивирусной активности) и инкубировали при 37 °С в атмосфере 5% CO₂.

Цитотоксичность соединений и их комбинаций оценивали после 72 ч инкубации с помощью метода окрашивания клеток трипановым синим (trypan blue exclusion method [12]), как описано ранее [6]. Подсчитывали количество погибших (окрашенных) клеток и определяли величину ЦД₅₀ (концентрацию соединения, при которой выживаемость клеток составляет 50%).

Оценку противовирусной активности соединений и их комбинаций *in vitro* проводили с помощью метода ингибирования развития индуцированного вирусом цитопатического эффекта (ЦПЭ) [6, 8]. ИД₅₀- и ИД₉₅-концентрации соединений или их комбинаций, обеспечивающие 50% и полное ингибирование развития вирусного ЦПЭ, определяли через 48 ч, когда в контрольных инфицированных культурах развивался 100% ЦПЭ.

Характер взаимодействия бинарных комбинаций соединений оценивали методом S. Loewe путем по-

³<https://doi.org/10.36233/0507-4088-336-1>

строения изоболограмм и вычисления индекса фракционной ингибирующей концентрации FIC (fractional inhibitory concentration) по формуле [8, 13]:

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

Синергическому взаимодействию (потенцирование эффектов) соответствовал показатель $FIC \leq 0,5$, субсинергическому – $0,5 < FIC < 1,0$. При $FIC = 1,0$ наблюдаемый характер взаимодействия соединений определяли как аддитивный (простое суммирование).

Результаты

В рамках настоящего исследования изучали комбинированное действие LAS-131 с этиотропными противогерпетическими препаратами в отношении ВПГ-1/L₂. Кроме того, представляло интерес установить, способен ли LAS-131 усиливать противовирусную активность препаратов, не нуждающихся в активации вирусной ТК, против ТК-негативного штамма ВПГ-1/

L₂/АЦВ^R. При изучении сочетанного эффекта соединения использовали в нецитотоксичных концентрациях. Величины ИД₅₀ тестируемых соединений при индивидуальном использовании и в комбинации, необходимые для вычисления FIC, а также величины FIC комбинаций, характеризующие взаимодействие соединений при сочетанном использовании, приведены в табл. 1, 2.

LAS-131 при индивидуальном использовании проявляет выраженную селективную противовирусную активность с индексом селективности (ИС) 63 на моделях эталонного штамма ВПГ-1/L₂ и АЦВ-резистентного штамма ВПГ-1/L₂/АЦВ^R (табл. 1).

При анализе полученных результатов с использованием метода вычисления FIC на модели эталонного штамма ВПГ-1/L₂ (данные табл. 1 и 2) установлено, что взаимодействие LAS-131 с аналогами нуклеозидов определялось как синергия, так как эффект каждого из соединений в комбинации увеличивался более чем на сумму их ответов при индивидуальном использовании,

Таблица 2. Эффективность LAS-131 в комбинации с известными противогерпетическими агентами на модели ВПГ-1 в культуре клеток Vero E6 (множественность инфицирования 0,1 БОЕ/кл)

Table 2. Efficacy of LAS-131 in combination with known antiherpetic agents in the model of HSV-1 in Vero E6 cell culture (multiplicity of infection 0.1 PFU/cell)

Соединение Compound	ЦД ₅₀ , мкг/мл CC ₅₀ , µg/mL	ИД ₅₀ , мкг/мл IC ₅₀ , µg/mL	ИД ₉₅ , мкг/мл IC ₉₅ , µg/mL	FIC	Эффект Effect
LAS-131 + АЦВ LAS-131 + ACV	> 15,6 + 0,05	0,39 + 0,15 ¹	3,9 + 0,05 ¹	0,59 ¹	Субсинергический Subsynergistic
LAS-131 + ГЦВ LAS-131 + GCV	> 6,25 + 0,35	0,78 + 0,18 ¹	0,78 + 0,35 ¹	0,72 ¹	Субсинергический Subsynergistic
LAS-131 + ПЦВ LAS-131 + PCV	> 3,9 + 3,9	0,49 + 0,49 ¹	0,24 + 0,98 ¹	0,50 ¹	Синергический Synergistic
LAS-131 + БВДУ LAS-131 + BVDU	> 15,6 + 0,018	0,49 + 0,023 ¹	1,95 + 0,094 ¹	0,50 ¹	Синергический Synergistic
LAS-131 + ИДУ LAS-131 + IDU	> 3,9 + 1,95	0,49 + 0,49 ¹ / 0,49 + 12,5 ²	0,98 + 1,95 ¹ / 0,98 + 31,25 ²	0,38 ¹ / 0,45 ²	Синергический Synergistic
LAS-131 + ФОС LAS-131 + FOS	> 62,5 + 7,8	0,98 + 7,8 ¹ / 0,97 + 15,6 ²	1,56 + 12,5 ^{1,2} / 3,12 + 62,5	1,0 ^{1,2}	Аддитивный Additive
LAS-131 + АраА LAS-131 + Ara-A	> 3,9 + 62,5	0,49 + 3,9 ¹ / 0,75 + 3,9 ²	0,49 + 15,6 ¹ / 0,75 + 31,25 ²	0,5 ¹ / 0,51 ²	Синергический / субсинергический Synergistic / subsynergistic
LAS-131 + ЦДВ LAS-131 + CDV	> 15,6 + 31,25	0,25 + 1,95 ¹ / 0,49 + 1,50 ²	0,25 + 7,8 ¹ / 0,75 + 1,95 ²	0,63 ¹ / 0,64 ²	Синергический Synergistic
LAS-131 + Ф-АЦВ LAS-131 + Hp-ACV	> 7,8 + 62,5	0,49 + 3,9 ¹ / 0,49 + 15,6 ²	0,97 + 3,9 ¹ / 1,95 + 31,25 ²	0,50 ¹ / 0,75 ²	Синергический / субсинергический Synergistic / subsynergistic
LAS-131 + 15Lys-bis-Nt LAS-131 + 15Lys-bis-Nt	> 15,6 + 31,25	0,49 + 0,78 ¹ / 0,49 + 0,78	0,39 + 3,12 ¹ / 0,78 + 1,95	0,45 ^{1,2}	Синергический Synergistic
LAS-131 + РИБ LAS-131 + RIB	> 3,9 + 500	0,97 + 125 ^{1,2}	3,9 + 500 ^{1,2}	1,0 ^{1,2}	Аддитивный Additive
LAS-131 + ГЛН LAS-131 + GLN	> 3,9 + 1000	0,49 + 125 ^{1,2}	0,97 + 250 ^{1,2}	0,50 ^{1,2}	Синергический Synergistic
LAS-131 + α-ИФН LAS-131 + α-IFN	> 7,8 + 1000	0,97 + 125 ^{1,2}	1,95 + 250 ^{1,2}	1,0 ^{1,2}	Аддитивный Additive

Примечание. См. примечание к таблице 1. ¹ – исследование противовирусной активности комбинаций соединений проводили на модели эталонного штамма вируса ВПГ-1/L₂; ² – исследование противовирусной активности комбинаций соединений проводили на модели ТК-негативного варианта вируса ВПГ-1/L₂/АЦВ^R, глубоко резистентного к АЦВ. FIC – фракционная ингибирующая концентрация. Приведены результаты двух независимых опытов.

Note. See note to Table 1. ¹ – the study of the antiviral activity of the combinations of compounds was carried out on the model of the reference strain of the HSV-1/L₂ virus; ² – the study of the antiviral activity of the combinations of compounds was carried out on the model of the TK-negative variant of the HSV-1/L₂/ACV^R virus, highly resistant to ACV. FIC – fractional inhibitory concentration. The results of two independent experiments are presented.

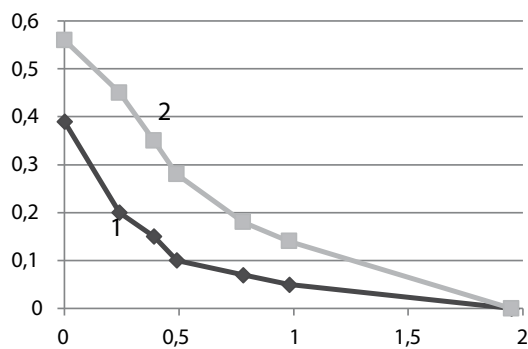


Рис. 2. Изоболограммы для комбинаций LAS-131 с АЦВ (кривая 1) и ГЦВ (кривая 2).

По оси абсцисс отложены величины ИД₅₀ LAS-131 при индивидуальном использовании и в комбинации (мкг/мл), по оси ординат – величины ИД₅₀ АЦВ и ГЦВ при индивидуальном использовании и в комбинации (мкг/мл).

Fig. 2. Isobolograms for combinations of LAS-131 with ACV (curve 1) and GCV (curve 2).

The X-axis shows the IC₅₀ values of LAS-131 for individual use and in combination (μg/mL), the Y-axis shows the IC₅₀ values of ACV and GCV for individual use and in combination (μg/mL).

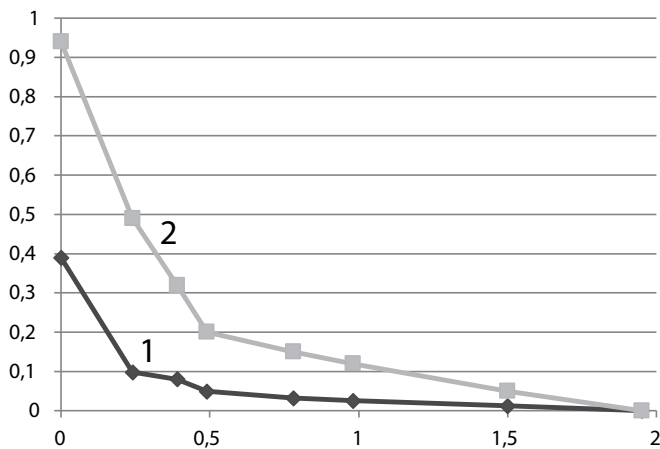


Рис. 3. Изоболограммы для комбинаций LAS-131 с ПЦВ (кривая 1), ЦДВ (кривая 2) и 15Lys-bis-Nt (кривая 3).

По оси абсцисс отложены величины ИД₅₀ LAS-131 при индивидуальном использовании и в комбинации (мкг/мл), по оси ординат – величины ИД₅₀ ПЦВ, ЦДВ и 15Lys-bis-Nt при индивидуальном использовании и в комбинации (мкг/мл).

Fig. 3. Isobolograms for combinations of LAS-131 with PCV (curve 1), CDV (curve 2) and 15Lys-bis-Nt (curve 3).

The X-axis shows the IC₅₀ values of LAS-131 for individual use and in combination (μg/mL), the Y-axis shows the IC₅₀ values of PCV, CDV and 15Lys-bis-Nt for individual use and in combination (μg/mL).

что позволяет снизить дозу отдельных агентов более чем в 2 раза, сохраняя при этом противовирусный эффект, соответствующий ИД₅₀. Так, сочетанное использование LAS-131 с АЦВ и ГЦВ, вызывает субсинергический эффект (0,5 < FIC < 1). Комбинации LAS-131 с ПЦВ, БВДУ, ИДУ, Ара-А, а также с Ф-АЦВ проявили синергический эффект (FIC ≤ 0,5), т.е. концентрации соединений при использовании в паре были снижены как минимум в 4 раза по сравнению с ИД₅₀ каждого препарата при индивидуальном использовании.

В соответствии с методом построения изоболограмм, если эффекты двух соединений суммируются

(аддитивный эффект взаимодействия), изоболограмма лежит на прямой линии, соединяющей показатель ИД₅₀ одного комбинируемого соединения, отложенного по оси ординат, с показателем ИД₅₀ другого соединения в этой паре, отложенного по оси абсцисс. Положение изоболограммы ниже этой теоретической линии (вогнутая форма изоболограммы) указывает на синергию, положение выше (выгнутая форма) – на антагонизм между препаратами [13].

Характер изоболограмм, построенных для комбинаций LAS-131 с аналогами нуклеозидов (АЦВ, ПЦВ, ГЦВ, БВДУ, ИДУ, Ара-А, Ф-АЦВ), указывает на синергический характер взаимодействия этих пар соединений (рис. 2–5).

АЦВ, ПЦВ, ГЦВ и БВДУ не были включены в следующий этап исследований, поскольку они не активны против ТК-негативных штаммов ВПГ-1 вследствие того, что для проявления ими биологической активности требуется фосфорилирование с участием вирусной ТК.

При использовании LAS-131 в комбинации с известными антигерпетическими агентами, механизм действия которых не зависит от активности герпетической ТК, на модели ВПГ-1/L₂/АЦВ^R получены следующие результаты (табл. 1 и 2).

Взаимоусиливающее действие LAS-131 и Ара-А было снижено до субсинергического. Комбинированное использование LAS-131 и ЦДВ, нуклеотида (аналога нуклеозидфосфоната), фосфорилирующегося только клеточными киназами до биологически активного дифосфата, на обеих моделях также обеспечивало субсинергический характер взаимодействия.

В исследование были включены еще два соединения, Ф-АЦВ и 15Lys-bis-Nt, эффективно супрессирующие репродукцию как чувствительных, так и резистентных к АЦВ вариантов ВПГ-1. Их механизмы действия изучены и подробно описаны нами в ряде публикаций [14–16]. При сочетании с LAS-131 отмечено выраженное усиление противовирусной активности 15Lys-bis-Nt или Ф-АЦВ против ВПГ-1/L₂ с FIC, равными 0,45 и 0,50 соответственно. Однако, в отличие от 15Lys-bis-Nt, потенцирующее действие LAS-131 на активность Ф-АЦВ в отношении ТК-негативного штамма было менее выраженным и соответствовало субсинергическому эффекту.

Взаимодействие LAS-131 с ГЛН также приводило к потенцированию эффектов этих соединений как на модели ВПГ-1/L₂, так и на модели ВПГ-1/L₂/АЦВ^R. Аддитивный тип взаимодействия отмечен при сочетанном использовании LAS-131 с ФОС, также не зависящего от активности вирусной ТК (FIC = 1), на модели ВПГ-1, независимо от чувствительности вируса к АЦВ (табл. 1 и 2). Аналогичные результаты были получены для комбинаций LAS-131 с РИБ или с α-ИФН.

Обсуждение

Как известно, терминазный комплекс ВПГ-1 состоит из 6 одинаковых гетеротримерных субъединиц pUL15/pUL28/pUL33 и имеет форму тора с внутрен-

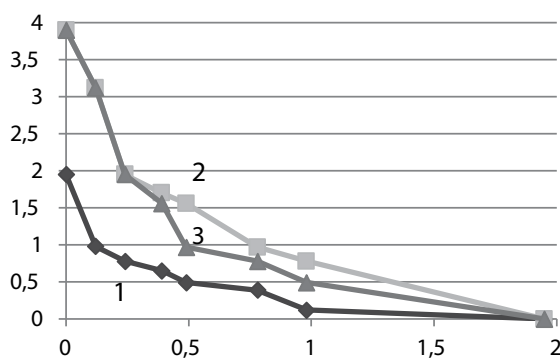


Рис. 4. Изоболограммы для комбинаций LAS-131 с ИДУ (кривая 1) и БВДУ (кривая 2).

По оси абсцисс отложены величины IC_{50} LAS-131 при индивидуальном использовании и в комбинации (мкг/мл), по оси ординат – величины IC_{50} ИДУ (мкг/10⁻¹ мл) и БВДУ (мкг/10 мл) при индивидуальном использовании и в комбинации.

Fig. 4. Isobolograms for combinations of LAS-131 with IDU (curve 1) and BVDU (curve 2).

The X-axis shows the IC_{50} values of LAS-131 for individual use and in combination (µg/mL), the Y-axis shows the IC_{50} values of IDU (µg/10⁻¹ mL) and BVDU (µg/10 mL) for individual use and in combination.

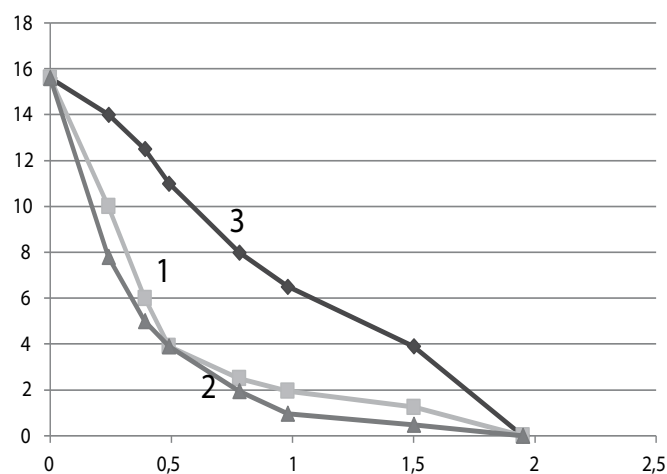


Рис. 5. Изоболограммы для комбинаций LAS-131 с Ара-А (кривая 1), Ф-АЦВ (кривая 2) и ФОС (кривая 3).

По оси абсцисс отложены величины IC_{50} LAS-131 при индивидуальном использовании и в комбинации, по оси ординат – величины IC_{50} Ара-А, Ф-АЦВ и ФОС при индивидуальном использовании и в комбинации (мкг/мл).

Fig. 5. Isobolograms for combinations of LAS-131 with Ara-A (curve 1), F-ACV (curve 2) and FOS (curve 3).

The X-axis shows the IC_{50} values of LAS-131 for individual use and in combination, the Y-axis shows the IC_{50} values of Ara-A, F-ACV and FOS for individual use and in combination (µg/mL).

ним каналом, поверхность которого выполняет функцию биомотора (узнавание, связывание и продвижение вирусной двухцепочечной (дцДНК) в капсид). pUL15 играет ключевую роль в реализации функций комплекса. Именно этот белок в составе каждой субъединицы формирует нуклеазный и АТФ-азный каталитические центры и рабочую поверхность биомотора [17]. pUL15 также вовлечен во взаимодействие комплекса терминала/ДНК с портовым комплексом капсида [18]. Многофункциональность pUL15 потенциально делает

его перспективной мишенью для низкомолекулярных ингибиторов. Однако проведенный нами анализ научной литературы показал, что LAS-131 – это, видимо, первый противогерпетический агент, целевым белком которого является pUL15 ВПГ-1. Данные, полученные нами ранее, указывают на то, что LAS-131 связывается с сайтом, формируемым pUL15, нарушая упаковку вирусной дцДНК в капсид [7].

Отметим, что препарат летермовира Превимис (Previmis, MerckSharp & Dohme B.V., США), введенный в 2017 г. в клиническую практику в США, а с 2022 г. и в России и предназначенный для профилактики заболеваний, вызываемых цитомегаловирусом (ЦМВ), после перенесенной пересадки костного мозга у взрослых, является первым препаратом – ингибитором функции терминазного комплекса ЦМВ. Однако спектр действия летермовира ограничен ЦМВ, препарат не влияет на репродукцию других герпесвирусов и нацелен на белок pUL56, гомологичный малой субъединице терминального комплекса ВПГ pUL28, а не большой pUL15 [19] (pUL15 гомологичен pUL89).

Как показано на модели различных вирусных инфекций, включая герпесвирусную, синергия противовирусных агентов возникает в результате воздействия лекарств на разные биомишени или на различные целевые участки одного и того же белка. Поскольку целевым белком всех противогерпетических препаратов первого и второго рядов является каталитическая субъединица ДНК-pol, использование их в комбинации с соединением, ингибирующим активность терминального комплекса герпесвирусов, позволило нам предположить возможность их потенцирующего взаимодействия, несмотря на то что при сочетании летермовира с ГЦВ, ЦДВ, ФОС и АЦВ (ингибиторами герпетических ДНК-pol) наблюдались только аддитивные эффекты против ЦМВ [20].

Мы исследовали комбинации LAS-131 прежде всего с выведенными на рынок противогерпетическими препаратами (таблица Приложения³) – аналогами нуклеозидов: АЦВ (Зовиракс), ГЦВ (Цитовен), ПЦВ (Денавир, Вектавир), БВДУ (бривудин, Зонавир, Зерпекс), Ара-А (ВИРА-А, ARASENA-A), ИДУ (Офтан, Керцид, Ридонекс, Идоксуридин и др.), аналогом ациклического нуклеотида дцМФ ЦДВ (Cidofovir, Cidnavir) и аналогом пирофосфата ФОС (Фоскавир), а также ГЛН (Эпиген интим), препаратами широкого спектра противовирусного действия РИБ (Рибавирин-Вертекс, Рибавирин Канон, Рибавирин-Липинт, Рибавирин-СЗ, Рибавирин-ФПО, Рибамидил и др.), α-ИФН (Альтевир, Бинноферон альфа, Виферон, Интерфераль, Лайфферон, Реаферон-ЕС, Реаферон-ЕС-Липинт, Интрон А, Реальдирон и др.) и двумя оригинальными соединениями Ф-АЦВ и 15Lys-bis-Nt.

Механизм действия всех вышеперечисленных препаратов не связан с pUL15 ВПГ. Как описано выше, АЦВ, ПЦВ и ГЦВ, а также БВДУ, ИДУ, Ара-А после активации с образованием соответствующих трифосфатов и ЦДВ с образованием дифосфата конкурируют с природными дезоксирибонуклеозидтрифосфатами

и селективно ингибируют вирусную ДНК-pol. Следует отметить, что первый этап фосфорилирования ИДУ катализируется как вирусной, так и клеточной ТК, а для трифосфорилирования Ара-А не требуется участие вирусных ферментов ни на одном из этапов [1, 21], благодаря чему сохраняется их активность против ТК-негативных штаммов вируса, устойчивых к действию ТК-зависимых модифицированных нуклеозидов (АЦВ, ПЦВ, ГЦВ, БВДУ). ЦДВ как аналог нуклеозидфосфоната обходит первую стадию фосфорилирования вирусной ТК и фосфорилируется до дифосфорилированного активного метаболита клеточными ферментами [1, 22].

Таким образом, все обсуждаемые здесь соединения, будучи ингибиторами герпетической ДНК-pol, вызывают остановку синтеза конкатемерной вирусной ДНК, являющейся субстратом для терминального комплекса. Вполне возможно, что в условиях комбинированного использования снижение концентрации модифицированных нуклеозидов и, вследствие этого, снижение эффективности ингибирования синтеза ДНК нивелируется ингибированием LAS-131 упаковки дцДНК в капсид и может привести к усилению ингибирования репродукции вируса.

Ф-АЦВ, производное АЦВ, селективно ингибирует репродукцию ВПГ-1, включая АЦВ-резистентные штаммы, мутантные по гену ТК, что можно объяснить возможностью конверсии Ф-АЦВ непосредственно в АЦВ-монофосфат, минуя стадию превращения в АЦВ, с последующим образованием АЦВ-трифосфата. Таким образом, активация Ф-АЦВ вероятно осуществляется альтернативным путем, не зависящим от активности вирусной ТК [1, 14]. В связи с тем что активированной формой и Ф-АЦВ и АЦВ является АЦВ-трифосфат, логично предположить, что взаимодействия будут аналогичным образом. Действительно, ингибирующий эффект обоих соединений на репродукцию эталонного штамма ВПГ-1/L₂ потенцировался в присутствии LAS-131 и характеризовался близкими показателями FIC.

Как и следовало ожидать, ИДУ, Ара-А, Ф-АЦВ и ЦДВ, не зависящие от активности ТК ВПГ, в сочетании с LAS-131 синергически ингибируют репликацию как ВПГ-1 дикого типа, так и АЦВ-устойчивого ТК-негативного варианта ВПГ-1/L₂/АЦВ^R.

Потенцирующий эффект LAS-131 на противовирусную активность модифицированных нуклеозидов подтвержден обоими методами оценки характера взаимодействия соединений в комбинации – путем вычисления FIC и путем построения изоболограмм. Так, например, как показано на изоболограммах, использование АЦВ и ПЦВ в комбинации с LAS-131 позволяет существенно снизить ИД₅₀ этих соединений до концентраций, которые на порядок и два порядка соответственно ниже максимальных концентраций (C_{max}) в плазме после перорального приема валацикловира и фамцикловира (пролекарств АЦВ и ПЦВ) в рекомендованных дозах – 0,05–0,2 и 0,14–0,35 мкг/мл против C_{max} 6,1 [23] и 33,4 мкг/мл

[24] соответственно. Учитывая нейротропность ВПГ, важно подчеркнуть, что C_{max}, например, АЦВ в спинномозговой жидкости при пероральном приеме 1000 мг валацикловира через 2 и 8 ч составляет всего лишь 0,56 и 0,52 мкг/мл [23], что очень близко показателю ИД₅₀ АЦВ *in vitro*. Очевидно, что сочетанное использование АЦВ в комбинации потенциально может повысить эффективность терапии герпетических инфекций ЦНС.

ФОС, принадлежащий к другому классу препаратов широкого противогерпетического действия, нацеленных на герпетическую ДНК-pol аналогам пирофосфата, существует в активной форме, напрямую связывается с активным центром ДНК-pol и не требует дальнейших модификаций для проявления противовирусной активности. Поскольку ФОС не нуждается в фосфорилировании вирусной ТК, большинство штаммов ВПГ, устойчивых к АЦВ, чувствительны к ФОС [1, 25]. Это единственный препарат второго ряда, официально рекомендованный для лечения кожно-слизистых герпесвирусных инфекций, не отвечающих на терапию АЦВ. Низкий уровень селективности ФОС может привести к развитию тяжелых неврологических или сердечно-сосудистых нарушений, острой нефротоксичности и др.

Несмотря на принципиальные различия в механизмах действия ФОС и LAS-131 и на тот же целевой для ФОС белок pUL30, что и у трифосфатов АЦВ, ПЦВ, ГЦВ, БВДУ, ИДУ, Ара-А или в дифосфата ЦДВ, комбинированное использование ФОС с LAS-131 обеспечивало только аддитивный эффект. Тем не менее, даже при суммировании эффектов соединений в комбинации, возможность снижения их концентраций без потери противовирусного эффекта может иметь решающее значение для снижения вероятности развития побочных эффектов, а также для ингибирования репродукции вариантов вируса с низкоуровневой лекарственной резистентностью к одному из них. Так, пиковые концентрации C_{max} ФОС в плазме при внутривенном введении в дозах, предложенных для клинического применения, в среднем составляют 113 мкг/мл [26], что значительно выше ИД₅₀ против ВПГ-1 (7,8–31,25 мкг/мл). Однако при снижении со временем концентраций соединений в плазме (C_{min} 21,88 мкг/мл) [26] или при развитии низкоуровневой резистентности вируса к ФОС, когда ИД₅₀ соединения при индивидуальном использовании будет близка или даже незначительно превосходить показатель C_{max}, сочетанное использование ФОС позволит снизить показатель ИД₅₀ до уровня, сопоставимого с плазматическими уровнями препарата.

Механизм действия 15Lys-bis-Nt не связан с ингибированием активности ДНК-pol и не зависит от ТК. При связывании 15Lys-bis-Nt с протяженными кластерами АТ-пар в узкой бороздке ДНК в *ori* блокируется функционирование вирусного инициаторного белка pUL9, что приводит в свою очередь к нарушению процессов инициации репликации/транскрипции вирусного генома [15, 16]. Как сообщалось нами ранее, 15Lys-bis-Nt эффективно потенцирует активность

против ВПГ-1 всех имеющих практическое значение модифицированных нуклеозидов (АЦВ, ГЦВ, БВДУ, Ара-А, синергический эффект) и пирофосфатных аналогов (ФОС, фосфоноуксусная кислота, субсинергический эффект) [9]. При комбинировании 15Lys-bis-Nt с LAS-131 также проявляется синергический эффект ингибирования репродукции ВПГ/L₂.

Молекулярный механизм противовирусного действия ГЛН до конца не ясен. Показано, что соединение проявляет активность против ВПГ как вирулицидного типа (инактивирует внеклеточный ВПГ-1), так и вирусостатического (необратимо нарушает синтез вирусных гликопротеинов в диапазоне активных нетоксичных концентраций *in vitro* [27, 28]. Ингибирование репродукции ВПГ-1 с помощью комбинации LAS-131 и ГЛН в анализах *in vitro* продемонстрировало очевидный синергический эффект, что косвенно подтверждает различие механизмов действия комбинируемых соединений на этой вирусной модели.

РИБ внутриклеточно легко фосфорилируется аденозинкиназой до моно-, ди- и трифосфатного метаболитов. В форме трифосфата РИБ ингибирует клеточные ферменты инозинмонофосфатдегидрогеназу и гуанилилтрансферазу, что приводит к дефициту внутриклеточного ГТФ и, как следствие, подавлению синтеза вирусных нуклеиновых кислот и белка⁴.

α -ИФН комплексно воздействует на вирусную инфекцию, включая противовирусное, иммуностимулирующее и антипролиферативное действие. α -ИФН не оказывает прямого противовирусного действия. Супрессия вирусной репродукции обуславливается экспрессией ИФН-стимулируемых генов ISG (*англ.* interferon-stimulated genes) и синтезом клеточных белков, в том числе 2'-5'-олигоденилатсинтетазы/РНКазы L, сАМР-зависимой протеинкиназы, тетерина, ISG15 и других, блокирующих проникновение вирусной ДНК в ядро, обеспечивающих подавление транскрипции, репликации генома, трансляции и транспорта вирусного капсида, сборки и высвобождения вирусных частиц [29]. Так как ВПГ подавляет синтез иммуноцитами α -ИФН [29], целесообразно в состав комбинированной противогерпетической терапии включать препараты α -ИФН или его индукторы. Министерством здравоохранения РФ одобрено включение препаратов, содержащих ИФН- α 2b, в качестве дополнительной терапии к ациклическим нуклеозидам в клинические рекомендации лечения инфекций, вызываемых ВПГ [30].

При сочетании LAS-131 с РИБ или α -ИФН наблюдался лишь суммирующий эффект воздействия на репродукцию ВПГ-1, однако он не зависел от активности ТК вируса. Поэтому комбинации такого рода могут быть полезны в случае развития у вируса лекарственной резистентности к препаратам на основе модифицированных нуклеозидов.

Выводы

Таким образом, установлено, что совокупный эффект LAS-131 с препаратами модифицированных нуклеозидов и ряда соединений с иным механизмом противовирусного действия обеспечивает значительное усиление антагонистической активности в отношении ВПГ-1 в условиях *in vitro*.

Учитывая, что развитие у ВПГ резистентности к традиционным противогерпетическим препаратам делает их клинически бесполезными, поскольку значения ИД₅₀ каждого из них при индивидуальном использовании превышают значения C_{max} лекарственного средства в плазме, важна потенциальная возможность повышения эффективности этих препаратов путем подбора подходящих бинарных комбинаций с LAS-131, обладающих синергическим действием, так как ИД₅₀ отдельных лекарств в таких условиях могут быть снижены до уровня C_{max}.

Представленные в настоящей статье результаты согласуются с нашим заключением о том, что LAS-131 имеет механизм действия и биомишень, отличные от модифицированных нуклеозидов. LAS-131 и модифицированные нуклеозиды, непосредственно взаимодействуя с различными биомишенями (вирусными белками pUL15 и pUL30), в комбинации потенцируют влияние на функции жизненно важных терминального и репликативного комплексов, обеспечивая значительно более эффективное ингибирование репродукции вируса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андропова В.Л. Современная этиотропная химиотерапия герпесвирусных инфекций: достижения, новые тенденции и перспективы. Альфагерпесвирусы (часть I). *Вопросы вирусологии*. 2018; 63(3): 106–14. <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-3-106-114> <https://elibrary.ru/uxpwxg>
2. Leflore S., Anderson P.L., Fletcher C.V. A risk-benefit evaluation of acyclovir for the treatment and prophylaxis of herpes simplex virus infections. *Drug Saf.* 2000; 23(2): 131–42. <https://doi.org/10.2165/00002018-200023020-00004>
3. Sauerbrei A., Bohn-Wippert K., Kaspar M., Krumbholz A., Karrasch M., Zell R. Database on natural polymorphisms and resistance-related non-synonymous mutations in thymidine kinase and DNA polymerase genes of herpes simplex virus types 1 and 2. *J. Antimicrob. Chemother.* 2016; 71(1): 6–16. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv285>
4. Menéndez-Arias L., Delgado R. Update and latest advances in antiretroviral therapy. *Trends Pharmacol. Sci.* 2022; 43(1): 16–29. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2021.10.004>
5. Sarrazin C. The importance of resistance to direct antiviral drugs in HCV infection in clinical practice. *J. Hepatol.* 2016; 64(2): 486–504. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.09.011>
6. Krasnov V.P., Musiyak V.V., Vozdvizhenskaya O.A., Gruzdev D.A., Chulakov E.N., Vigorov A.Y., et al. N-[ω -(PURIN-6-YL)AMINOALKANOYL] derivatives of chiral heterocyclic amines as promising anti-herpesvirus agents. *European Journal of Organic Chemistry.* 2019; 2019(30): 4811–21. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201900727> <https://elibrary.ru/yzrpkz>
7. Krasnov V.P., Andronova V.L., Belyavsky A.V., Borisevich S.S., Galegov G.A., Kandarakov O.F., et al. Large subunit of the human herpes simplex virus terminase as a promising target in design of anti-herpesvirus agents. *Molecules.* 2023; 28(21): 7375. <https://doi.org/10.3390/molecules28217375> <https://elibrary.ru/pslswv>
8. Gus'kova A.A., Skoblov M.Y., Korovina A.N., Yasko M.V., Karpenko I.L., Kukhanova M.K., et al. Antiherpetic properties of acyclovir 5'-hydrogenphosphonate and the mutation analysis of herpes virus resistant strains. *Chem. Biol. Drug Des.* 2009; 74(4): 382–9. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2009.00874.x>
9. Галегов Г.А., Андропова В.Л., Гурский Г.В., Суrowая А.Н., Гроховский С.Л. Димерное производное нетропсина-15-лиз-бис-

⁴Справочник Видаль «Лекарственные препараты в России». Рибавирин-Вертекс (Ribavirin-Vertex). Доступно по: https://vidal.ru/drugs/ribavirin_9015

- нетропсин- и обнаружение на его основе, обладающее антигерпетической активностью. Патент РФ № 2265610C1; 2005.
10. Гуськова А.А., Загурный А.В., Скоблов М.Ю., Баранова А.В., Андронova В.Л., Янковский Н.К. и др. Молекулярно-генетический анализ тимидинкиназы вируса герпеса простого типа 1. *Молекулярная биология*. 2005; 39(1): 155–8. <https://elibrary.ru/hrzffz>
 11. Коровина А.Н., Гуськова А. А., Скоблов М.Ю., Андронova В.Л., Галегов Г.А., Кочетков С.Н. и др. Анализ мутаций в генах ДНК-полимераз и тимидинкиназ клинических изолятов вируса простого герпеса, резистентных к антигерпетическим препаратам. *Молекулярная биология*. 2010; 44(3): 488–96. <https://elibrary.ru/msqkrl>
 12. Strober W. Trypan blue exclusion test of cell viability. *Curr. Protoc. Immunol.* 2015; 111: A3.B.1–3. <https://doi.org/10.1002/0471142735.ima03bs111>
 13. Huang R.Y., Pei L., Liu Q., Chen S., Dou H., Shu G., et al. Isobologram analysis: a comprehensive review of methodology and current research. *Front. Pharmacol.* 2019; 10: 1222. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01222>
 14. 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 antiherpesvirus activity of their combinations with alpha2-interferon. *Chem. Biol. Drug Des.* 2007; 69(6): 429–34. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2007.00517.x>
 15. Суровая А.Н., Гроховский С.Л., Гурский Я.Г., Андронova В.Л., Архипова В.С., Бажулина Н.П. и др. Комплекс инициатора белка UL9 вируса герпеса с ДНК как платформа для создания противовирусных лекарственных агентов нового типа. *Биофизика*. 2010; 55(2): 239–51.
 16. Bazhulina N.P., Surovaya A.N., Gursky Y.G., Andronova V.L., Moiseeva E.D., Nikitin C.A., et al. Complex of the herpes simplex virus type 1 origin binding protein UL9 with DNA as a platform for the design of a new type of antiviral drugs. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2014; 32(9): 1456–73. <https://doi.org/10.1080/07391102.2013.820110>
 17. Yang Y., Yang P., Wang N., Chen Z., Su D., Zhou Z.H., et al. Architecture of the herpes virus genome-packaging complex and implications for DNA translocation. *Protein Cell.* 2020; 11(5): 339–51. <https://doi.org/10.1007/s13238-020-00710>
 18. Yang K., Homa F., Baines J.D. Putative terminase subunits of herpes simplex virus 1 form a complex in the cytoplasm and interact with portal protein in the nucleus. *J. Virol.* 2007; 81(12): 6419–33. <https://doi.org/10.1128/JVI.00047-07>
 19. Ligat G., Cazal R., Hantz S., Alain S. The human cytomegalovirus terminase complex as an antiviral target: a close-up view. *FEMS Microbiol. Rev.* 2018; 42(2): 137–45. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy004>
 20. Wang Y., Mao L., Kankanala J., Wang Z., Geraghty R.J. Inhibition of human cytomegalovirus pUL89 terminase subunit blocks virus replication and genome cleavage. *J. Virol.* 2017; 91(3): e02152–16. <https://doi.org/10.1128/JVI.02152-16>
 21. Plunkett W., Cohen S.S. Two approaches that increase the activity of analogs of adenine nucleosides in animal cells. *Cancer Res.* 1975; 35(6): 1547–54.
 22. Xiong X., Smith J.L., Chen M.S. Effect of incorporation of cidofovir into DNA by human cytomegalovirus DNA polymerase on DNA elongation. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1997; 41(3): 594–9. <https://doi.org/10.1128/AAC.41.3.594>
 23. Lycke J., Malmeström C., Ståhle L. Acyclovir levels in serum and cerebrospinal fluid after oral administration of valacyclovir. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003; 47(8): 2438–41. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.8.2438-2441.2003>
 24. Pue M.A., Benet L.Z. Pharmacokinetics of famciclovir in man. *Antivir. Chem. Chemother.* 1993; 4(1): 47–55. <https://doi.org/10.1177/09563202930040S602>
 25. Andrei G., Snoeck R., De Clercq E., Esnouf R., Fiten P., Opendaker G. Resistance of herpes simplex virus type 1 against different phosphorylmethoxyalkyl derivatives of purines and pyrimidines due to specific mutations in the viral DNA polymerase gene. *J. Gen. Virol.* 2000; 81(3): 639–48. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-81-3-639>
 26. FOSCARNET SODIUM – foscarnet sodium injection, solution. Hospira, Inc. Available at: <https://labeling.pfizer.com/ShowLabeling.aspx?id=4451>
 27. Zuo J., Meng T., Wang Y., Tang W. A review of the antiviral activities of glycyrrhizic acid, glycyrrhetic acid and glycyrrhetic acid monoglucuronide. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2023; 16(5): 641. <https://doi.org/10.3390/ph16050641>
 28. García-Salazar G., Urbán-Morlán Z., Mendoza-Elvira S., Quintanar-Guerrero D., Mendoza S. Broad antiviral spectrum of glycyrrhizic acid for human and veterinary medicine: reality or fiction? *Intervirology*. 2023; 66(1): 41–53. <https://doi.org/10.1159/000528198>
 29. Danastas K., Miranda-Saksena M., Cunningham A.L. Herpes simplex virus type 1 interactions with the interferon system. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(14): 5150. <https://doi.org/10.3390/ijms21145150>
 30. Клинические рекомендации «Простой герпес (ПГ) у взрослых»; 2022. Available at: https://edu.nmrc.ru/wp-content/uploads/2022/04/kr_prostoy_gerppes-1.pdf

REFERENCES

1. Andronova V.L. Modern ethiotropic chemotherapy of herpesvirus infections: advances, new trends and perspectives. Alphaherpesvirinae (Part I). *Voprosy virusologii*. 2018; 63(3): 106–14. <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-3-106-114> <https://elibrary.ru/uxpwxg> (in Russian)
2. Leflore S., Anderson P.L., Fletcher C.V. A risk-benefit evaluation of acyclovir for the treatment and prophylaxis of herpes simplex virus infections. *Drug Saf.* 2000; 23(2): 131–42. <https://doi.org/10.2165/00002018-200023020-00004>
3. Sauerbrei A., Bohn-Wippert K., Kaspar M., Krumbholz A., Karasch M., Zell R. Database on natural polymorphisms and resistance-related non-synonymous mutations in thymidine kinase and DNA polymerase genes of herpes simplex virus types 1 and 2. *J. Antimicrob. Chemother.* 2016; 71(1): 6–16. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv285>
4. Menéndez-Arias L., Delgado R. Update and latest advances in antiretroviral therapy. *Trends Pharmacol. Sci.* 2022; 43(1): 16–29. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2021.10.004>
5. Sarrazin C. The importance of resistance to direct antiviral drugs in HCV infection in clinical practice. *J. Hepatol.* 2016; 64(2): 486–504. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.09.011>
6. Krasnov V.P., Mustyak V.V., Vozdvizhenskaya O.A., Gruzdev D.A., Chulakov E.N., Vigorov A.Y., et al. N-[ω-(PURIN-6-YL)AMINOALKANOYL] derivatives of chiral heterocyclic amines as promising anti-herpesvirus agents. *European Journal of Organic Chemistry*. 2019; 2019(30): 4811–21. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201900727> <https://elibrary.ru/yzrkpz>
7. Krasnov V.P., Andronova V.L., Belyavsky A.V., Borisevich S.S., Galegov G.A., Kandarakov O.F., et al. Large subunit of the human herpes simplex virus terminase as a promising target in design of anti-herpesvirus agents. *Molecules*. 2023; 28(21): 7375. <https://doi.org/10.3390/molecules28217375> <https://elibrary.ru/pslwsv>
8. Gus'kova A.A., Skoblov M.Y., Korovina A.N., Yasko M.V., Karpenko I.L., Kukhanova M.K., et al. Antiherpetic properties of acyclovir 5'-hydrogenphosphonate and the mutation analysis of herpes virus resistant strains. *Chem. Biol. Drug Des.* 2009; 74(4): 382–9. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2009.00874.x>
9. Galegov G.A., Andronova V.L., Gurskii G.V., Surovaya A.N., Grokhovskii S.L. A dimeric derivative of netropsin-15-lys-bis-netropsin and a detection method based on it, possessing antiherpetic activity. Patent RF № 2265610C1; 2005. (in Russian)
10. Guskova A.A., Skoblov M.Yu., Baranova A.V., Yankovsky N.K., Zagurny A.V., Skoblov Yu.S., et al. Molecular genetic analysis of thymidine kinase of the herpes simplex virus type 1. *Molecular Biology*. 2005; 39(1): 137–40. <https://doi.org/10.1007/s11008-005-0019-7> <https://elibrary.ru/ljdvpf>
11. Korovina A.N., Kochetkov S.N., Kukhanova M.K., Gus'kova A.A., Skoblov M.Y., Andronova V.L., et al. Mutations in the DNA polymerase and thymidine kinase genes of herpes simplex virus clinical isolates resistant to antiherpetic drugs. *Molecular Biology*. 2010; 44(3): 431–38. <https://doi.org/10.1134/S0026893310030118> <https://elibrary.ru/mxpusl>
12. Strober W. Trypan blue exclusion test of cell viability. *Curr. Protoc. Immunol.* 2015; 111: A3.B.1–3. <https://doi.org/10.1002/0471142735.ima03bs111>
13. Huang R.Y., Pei L., Liu Q., Chen S., Dou H., Shu G., et al. Isobologram analysis: a comprehensive review of methodology and current research. *Front. Pharmacol.* 2019; 10: 1222. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01222>
14. 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 antiherpesvirus activity of their combinations with alpha2-interferon. *Chem. Biol. Drug Des.* 2007; 69(6): 429–34. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2007.00517.x>
15. Surovaya A.N., Grokhovskii S.L., Gurskii Ya.G., Andronova V.L., Arkhipova V.S., Bazhulina N.P., et al. Complex of herpesvirus initiator protein UL9 with DNA as a platform for the creation of novel antiviral drug agents. *Biofizika*. 2010; 55(2): 239–51. (in Russian)
16. Bazhulina N.P., Surovaya A.N., Gursky Y.G., Andronova V.L., Moiseeva E.D., Nikitin C.A., et al. Complex of the herpes simplex virus

- type 1 origin binding protein UL9 with DNA as a platform for the design of a new type of antiviral drugs. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2014; 32(9): 1456–73. <https://doi.org/10.1080/07391102.2013.820110>
17. Yang Y., Yang P., Wang N., Chen Z., Su D., Zhou Z.H., et al. Architecture of the herpes virus genome-packaging complex and implications for DNA translocation. *Protein Cell.* 2020; 11(5): 339–51. <https://doi.org/10.1007/s13238-020-00710>
 18. Yang K., Homa F., Baines J.D. Putative terminase subunits of herpes simplex virus 1 form a complex in the cytoplasm and interact with portal protein in the nucleus. *J. Virol.* 2007; 81(12): 6419–33. <https://doi.org/10.1128/JVI.00047-07>
 19. Ligat G., Cazal R., Hantz S., Alain S. The human cytomegalovirus terminase complex as an antiviral target: a close-up view. *FEMS Microbiol. Rev.* 2018; 42(2): 137–45. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy004>
 20. Wang Y., Mao L., Kankanala J., Wang Z., Geraghty R.J. Inhibition of human cytomegalovirus pUL89 terminase subunit blocks virus replication and genome cleavage. *J. Virol.* 2017; 91(3): e02152–16. <https://doi.org/10.1128/JVI.02152-16>
 21. Plunkett W., Cohen S.S. Two approaches that increase the activity of analogs of adenine nucleosides in animal cells. *Cancer Res.* 1975; 35(6): 1547–54.
 22. Xiong X., Smith J.L., Chen M.S. Effect of incorporation of cidofovir into DNA by human cytomegalovirus DNA polymerase on DNA elongation. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1997; 41(3): 594–9. <https://doi.org/10.1128/AAC.41.3.594>
 23. Lycke J., Malmeström C., Ståhle L. Acyclovir levels in serum and cerebrospinal fluid after oral administration of valacyclovir. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003; 47(8): 2438–41. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.8.2438-2441.2003>
 24. Pue M.A., Benet L.Z. Pharmacokinetics of famciclovir in man. *Antivir. Chem. Chemother.* 1993; 4(1): 47–55. <https://doi.org/10.1177/09563202930040S602>
 25. Andrei G., Snoeck R., De Clercq E., Esnouf R., Fiten P., Opendakker G. Resistance of herpes simplex virus type 1 against different phosphonylmethoxyalkyl derivatives of purines and pyrimidines due to specific mutations in the viral DNA polymerase gene. *J. Gen. Virol.* 2000; 81(3): 639–48. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-81-3-639>
 26. FOSCARNET SODIUM – foscarnet sodium injection, solution. Hospira, Inc. Available at: <https://labeling.pfizer.com/ShowLabeling.aspx?id=4451>
 27. Zuo J., Meng T., Wang Y., Tang W. A review of the antiviral activities of glycyrrhizic acid, glycyrrhetic acid and glycyrrhetic acid monoglucuronide. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2023; 16(5): 641. <https://doi.org/10.3390/ph16050641>
 28. Garcia-Salazar G., Urbán-Morlán Z., Mendoza-Elvira S., Quintanar-Guerrero D., Mendoza S. Broad antiviral spectrum of glycyrrhizic acid for human and veterinary medicine: reality or fiction? *Intervirology*. 2023; 66(1): 41–53. <https://doi.org/10.1159/000528198>
 29. Danastas K., Miranda-Saksena M., Cunningham A.L. Herpes simplex virus type 1 interactions with the interferon system. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(14): 5150. <https://doi.org/10.3390/ijms21145150>
 30. Clinical guidelines «Herpes simplex (HS) in adults»; 2022. Available at: https://edu.nmrc.ru/wp-content/uploads/2022/04/kr_prostoy_gerppe-1.pdf

Информация об авторах:

Галегов Георгий Артемьевич – д-р биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярного патогенеза хронических вирусных инфекций ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (подразделение Институт вирусологии), Москва, Россия. E-mail: g.galegov@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6162-1650>

Андропова Валерия Львовна – канд. биол. наук, заведующая лабораторией, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-патогенеза хронических вирусных инфекций ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (подразделение Институт вирусологии), Москва, Россия. E-mail: andronova.vl@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2467-0282>

Воздвиженская Ольга Андреевна – канд. хим. наук, научный сотрудник лаборатории асимметрического синтеза Института органического синтеза им. И.Я. Пастовского Уральского отделения РАН, Екатеринбург, Россия. E-mail: oavozdv@ios.uran.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8349-6061>

Левит Галина Львовна – д-р хим. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории асимметрического синтеза Института органического синтеза им. И.Я. Пастовского Уральского отделения РАН, Екатеринбург, Россия. E-mail: ca512@ios.uran.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0964-9311>

Чарушин Валерий Николаевич – академик РАН, профессор, д-р хим. наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией гетероциклических соединений Института органического синтеза им. И.Я. Пастовского Уральского отделения РАН, Екатеринбург, Россия. E-mail: charushin@ios.uran.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9140-358x>

Краснов Виктор Павлович – д-р хим. наук, профессор, заведующий лабораторией асимметрического синтеза Института органического синтеза им. И.Я. Пастовского Уральского отделения РАН, Екатеринбург, Россия. E-mail: ca@ios.uran.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1411-6218>

Участие авторов: Андропова В.Л., Левит Г.Л. – подбор и анализ литературы, анализ данных, подготовка первоначального проекта статьи; Андропова В.Л., Воздвиженская О.А., Левит Г.Л. – лабораторные исследования; [Галегов Г.А., Андропова В.Л., Чарушин В.Н., Краснов В.П. – концепция и дизайн исследования, научное редактирование. Все перечисленные авторы внесли существенный, прямой и интеллектуальный вклад в работу и одобрили ее для публикации.

Поступила 31.08.2025
Принята в печать 27.10.2025
Опубликована 28.02.2026

Information about the authors:

Georgy A. Galegov – Doctor of Biological Science, Professor, Leading Researcher of Laboratory of Molecular Pathogenesis of Chronic Viral Infections National Research Center of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of Russia (Division The Ivanovsky Institute of Virology), Moscow, Russia. E-mail: g.galegov@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6162-1650>

Valeriya L. Andronova – PhD in Biology, Head of Laboratory, Leading Researcher of Laboratory of Molecular Pathogenesis of Chronic Viral Infections National Research Center of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of Russia (Division The Ivanovsky Institute of Virology), Moscow, Russia. E-mail: andronova.vl@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2467-0282>

Olga A. Vozdvizhenskaya – PhD in Chemistry, research fellow at the Laboratory of Asymmetric Synthesis I.Ya. Postovsky Institute of Organic Synthesis of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia. E-mail: oavozdv@ios.uran.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8349-6061>

Galina L. Levit – Doctor of Chemical Sciences, Leading Researcher of Asymmetric Synthesis I.Ya. Postovsky Institute of Organic Synthesis of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia. E-mail: ca512@ios.uran.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0964-9311>

Valery N. Charushin – Academician of the RAS, Doctor of Chemical Sciences, Professor, Chief Researcher, Head of the Laboratory of Heterocyclic Compounds I.Ya. Postovsky Institute of Organic Synthesis of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia. E-mail: charushin@ios.uran.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9140-358x>

Viktor P. Krasnov – Doctor of Chemical Sciences, Professor, Head of Laboratory of Asymmetric Synthesis I.Ya. Postovsky Institute of Organic Synthesis of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia. E-mail: ca@ios.uran.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1411-6218>

Contribution: Andronova V.L., Levit G.L. – selection and analysis of literature, data analysis, preparation of the initial draft of the article; Andronova V.L., Vozdvizhenskaya O.A., Levit G.L. – laboratory research; [Galegov G.A., Andronova V.L., Charushin V.N., Krasnov V.P. – concept and design of the study, scientific editing. All authors listed have made a substantial, direct and intellectual contribution to the work, and approved it for publication.

Received 31 August 2025
Accepted 27 October 2025
Published 28 February 2026