

## Ингибирующее действие 6-азацитидина на цитомегаловирусную инфекцию человека в клеточной системе

М. В. Абдуллаева, А. Ф. Фролов, И. В. Алексеева<sup>1</sup>,  
Л. И. Пальчиковская<sup>1</sup>, Н. Е. Федорова<sup>2</sup>

Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л. В. Громашевского АМН Украины  
Ул. Амосова, 4, Киев, 03038, Украина

<sup>1</sup> Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины  
Ул. Академика Заболотного, 150, Киев, 03143, Украина

<sup>2</sup> Институт вирусологии им. Д. И. Иванковского АМН РФ  
Ул. Гамалеи, 16, Москва, 123098, Российская Федерация

*Изучено влияние модифицированного нуклеозида 6-азацитидина (6-АЗЦ) (2-β-D-рибофуранозил-5-амино-1,2,4-триазин-3(2H)-он) на цитомегаловирусную инфекцию человека в клеточной культуре. Показано, что 6-АЗЦ в низких концентрациях эффективно подавляет цитопатогенное действие цитомегаловируса (ЦМВ) человека. Эффективная доза соединения, ингибирующая развитие ЦМВ инфекции на 50 %, составляет 0,005 мг/мл. Изучение жизнеспособности клеток, их ростовых характеристик и синтеза клеточной ДНК показало, что 6-АЗЦ обладает низким цитотоксическим действием. Индекс цитотоксичности этого соединения, по данным разных тестов, варьирует от 2,4 до 24 мг/мл. Результаты подсчетов свидетельствуют о том, что индекс селективности для 6-АЗЦ находится в пределах 48—480 для лечебной схемы и 240—2400 — для профилактической, что сравнимо с таковым для ганцикловира (100—1000). Иммуноцитохимический анализ вирусных белков в зараженных клетках продемонстрировал, что 6-АЗЦ подавляет синтез позднего гликопротеина ЦМВ gB, продуцируемого после репликации вирусной ДНК.*

**Введение.** Структурные аналоги природных пуриновых и пиримидиновых нуклеозидов относятся к числу мощных ингибиторов репродукции РНК и ДНК геномных вирусов, непосредственно влияя на общий метаболизм клетки и вируса [1—4]. Многолетнее изучение модифицированного нуклеозида (6-АЗЦ) (2-β-D-рибофуранозил-5-амино-1,2,4-триазин-3(2H)-он) как антиаденовирусного препарата показало, что механизм его действия состоит в подавлении репликационного цикла и функциональной активности ДНК. Суммарным эффектом влияния 6-АЗЦ является угнетение синтеза структурных вирусных белков и вирусспецифических полипептидов [5, 6].

6-АЗЦ в низких концентрациях ингибирует

репродукцию аденовирусов типов 1, 2 и 5, α-герпесвирусов, вирусов осповакцины и гриппа [4—6], являясь малотоксичным соединением [10] с высоким химиотерапевтическим индексом.

Известно, что цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) имеет широкое распространение и играет важную роль в инфекционной патологии человека. Цитомегаловирус человека (ЦМВ) может вызывать тяжелые заболевания взрослых, особенно при иммунодефицитных состояниях, а также поражать детей раннего возраста и приводить к смерти плода и новорожденных. ЦМВИ является также одной из самых распространенных оппортунистических инфекций при СПИДе [11, 18—20]. Наиболее широко используемыми в клинической практике препаратами для лечения ЦМВИ являются ганцикловир и фоскарнет. Оба соединения обладают высокой токсичностью и, кроме того, в процессе примене-

ния этих лекарственных средств отмечено быстрое формирование вариантов ЦМВ с лекарственной устойчивостью [11—14]. Поэтому расширение спектра веществ, обладающих анти-ЦМВ активностью, является актуальной проблемой медицины и биологии.

Цель настоящего исследования состояла в изучении влияния 6-АЗЦ на развитие ЦМВ инфекции в клеточной системе.

**Материалы и методы.** *Нуклеозидный аналог.* Используемый в работе в качестве ингибитора ЦМВ 6-азациитидин синтезирован в Институте молекулярной биологии и генетики НАН Украины [15, 16].

*Клетки.* Первичная культура диплоидных фибробластов легкого эмбриона человека (ФЛЭЧ) получена из банка клеточных культур Института вирусологии им. Д. И. Ивановского АМН РФ. Клетки культивировали в среде ДМЕМ (ПанЭко, РФ) с добавлением 5 % сыворотки эмбриона коровы («Ну Слос», США) и 5 % пуповинной сыворотки человека (Пан Эко).

*Вирус.* В работе использовали референс-штамм ЦМВ АД-169, любезно предоставленный проф. Л. Перейрой (Медицинский Центр, Университет Сан-Франциско, США).

*Определение цитотоксичности 6-АЗЦ.* Цитотоксичность определяли по жизнеспособности клеток ФЛЭЧ, обработанных различными концентрациями 6-АЗЦ. В течение 12 дней наблюдения клетки ежедневно снимали смесью трипсина и версена и окрашивали 0,4 %-м раствором трипанового синего. Затем в камере Горяева подсчитывали число нежизнеспособных (окрашенных) и жизнеспособных (неокрашенных) клеток. Жизнеспособность клеток выражали в процентах от общего числа клеток в популяции.

*Определение антипролиферативного действия.* Влияние 6-АЗЦ на синтез ДНК в фибробластах человека анализировали по включению радиоактивно меченного тимидина ( $^3\text{H}$ -ТД) методом радиоавтографии. Для этого клетки ФЛЭЧ в низкой концентрации ( $6 \cdot 10^4$  клеток/мл) высаживали на покровные стекла, помещенные в лунки 24-луночных панелей. На следующий день вносили 6-АЗЦ в различных концентрациях. Через 1, 2 и 3 сут инкубации в культуральную среду добавляли  $^3\text{H}$ -ТД на 1 ч в концентрации 5 мкКи/мл. После отмывки клетки фиксировали смесью спирта и концентрированной уксусной кислоты в соотношении 3:1. Затем препараты обрабатывали 5 %-м раствором трихлоруксусной кислоты 3 раза по 5 мин, промывали дистиллированной водой и покрывали радиоавтографической эмульсией типа М

(НИИ ХимФотоПроект, РФ). Через 3 дня препараты проявляли, окрашивали гематоксилином («Shandon», США) и подсчитывали число клеток, содержащих меченые и немеченые ядра.

О действии 6-АЗЦ на рост клеток судили по изменению их количества на цитологическом препарате через 3 сут культивирования в присутствии различных концентраций 6-АЗЦ. Для этого подсчитывали количество клеток на  $1 \text{ мм}^2$  покровного стекла в контроле и опыте [11].

*Определение антивирусной активности 6-АЗЦ.* Для определения анти-ЦМВ активности использовали три схемы: лечебную, профилактическую и вирулицидную.

*Лечебная схема.* Монослой клеток заражали вирусом с различной множественностью инфицирования (МИ) — от 1,0 до 0,0001 БОЕ/кл. После адсорбции вируса (1 ч, 37 °С) клетки дважды промывали, вносили среду поддержки, содержащую 2 % сыворотки и 6-АЗЦ в различных концентрациях.

*Профилактическая схема.* На клеточный монослой наносили среду поддержки с различными концентрациями 6-АЗЦ и инкубировали в термостате в течение 24 ч. После этого монослой клеток дважды промывали и заражали вирусом с различной МИ — от 1,0 до 0,0001 БОЕ/кл (1 ч, 37 °С), затем клетки снова дважды промывали и вносили среду поддержки.

*Вирулицидная схема.* Вирус с различной МИ — от 1,0 до 0,0001 БОЕ/кл — инкубировали совместно с различными концентрациями 6-АЗЦ в течение 1 ч при температуре 37 °С. Далее наносили на монослой клеток и выдерживали в течение 1 ч. Монослой клеток дважды промывали и вносили среду поддержки.

Антивирусную активность оценивали по цитопатогенному действию вируса (ЦПД) и способности ЦМВ к бляшкообразованию. Химиотерапевтический индекс (ХТИ), или индекс селективности (ИС), рассчитывали как отношение концентрации препарата, вызывающей клеточную деструкцию ( $\text{ЦД}_{50}$ ) или снижающей синтез клеточной ДНК на 50 % ( $\text{ИПД}_{50}$ ), к концентрации 6-АЗЦ, приводящей к 50 %-му ингибирующему действию ( $\text{ИД}_{50}$ ).

*Определение продукции инфекционно активного вируса.* Для анализа действия 6-АЗЦ на продукцию инфекционно активного вируса отбирали культуральную среду на 5-е сут после инкубации клеток, зараженных в присутствии препарата. Отобранной вирусосодержащей жидкостью заражали неинфицированные клетки ФЛЭЧ. Урожай активного вируса оценивали по бляшкообразующей способности.

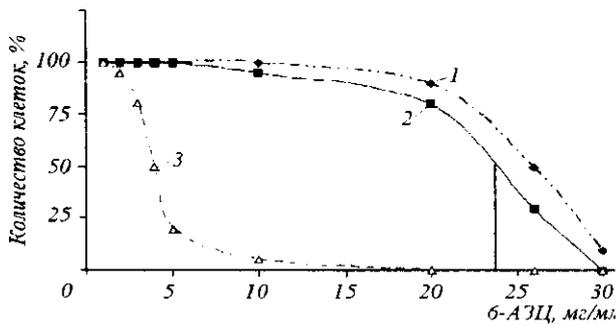


Рис. 1. Цитотоксическое действие соединения 6-АЗЦ на жизнеспособность диплоидных клеток человека: 1 — 1-е сут; 2 — 3-и сут; 3 — 7-е сут

**Выявление вирусспецифических белков.** Сверх-ранний рр72, ранний р65 и поздний структурный гВ белки ЦМВ определяли в инфицированных клетках ФЛЭЧ методом иммуноцитохимического окрашивания. Для этого монослой клеток промывали 0,1 М фосфатно-солевым буфером (ФСБ, рН 7,4) и фиксировали абсолютным метанолом в течение 10 мин при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ . На промытые препараты наносили очищенные моноклональные антитела (МКА), полученные в лаборатории клеточной инженерии Института вирусологии им. Д. И. Ивановского АМН РФ [18], инкубировали в течение 1 ч при  $37^{\circ}\text{C}$ , идентифицировали, используя поликлональные кроличьи анти-мышинные иммуноглобулины, конъюгированные с пероксидазой хрена («Dako Cytomation», Дания). Реакцию проявляли диаминобензидином (ДАБ) («Biosciences», США). Препараты просматривали с помощью микроскопа Leitz, (объективы:  $\times 20$ ,  $\times 40$ ,  $\times 100$ ).

**Результаты и обсуждение.** В первой серии опытов изучали цитотоксичность 6-АЗЦ в культуре ФЛЭЧ с помощью теста исключения витального красителя. Для этого клетки культивировали в среде, содержащей 6-АЗЦ в концентрациях 0,1—30 мг/мл. Полученные результаты представлены на рис. 1. Присутствие ингибитора в концентрации 30 мг/мл вызывало 100 %-ю гибель клеток на третьи сутки культивирования, в концентрации 26 мг/мл — 70 %-ю, а концентрации 20 мг/мл — 20 %-ю гибель клеток. 6-АЗЦ в концентрации 10 мг/мл оказывал незначительное цитотоксическое действие — количество клеток с поврежденной мембраной не превышало 5 %. 6-АЗЦ в концентрациях от 5 до 0,1 мг/мл не влиял на жизнеспособность клеток в течение 3 сут культивирования. 100 %-я жизнеспособность клеток сохранялась в течение 7 сут в присутствии 6-АЗЦ в концентрации 2 мг/мл, и в течение 12 сут — при концентрациях вещества 0,5—0,1 мг/мл. Расчеты, сделанные

по графику (рис. 1), показали, что 50 %-я гибель клеток ( $\text{CD}_{50}$ ) на 3-и сут наблюдалась при концентрации 6-АЗЦ 24 мг/мл. Таким образом, 6-АЗЦ оказывал незначительное цитотоксическое действие на фибробласты человека,  $\text{CD}_{50}$  составляла 24 мг/мл.

Результаты действия 6-АЗЦ на пролиферативную активность клеток ФЛЭЧ представлены на рис. 2. Подсчет количества клеток, содержащих  $^3\text{H}$ -ТД-метку, показал, что в культуре, не обработанной веществом, через 1 сут после посева около 30 % клеток находилось в стадии синтеза ДНК. В процессе культивирования количество меченых клеток в контрольной культуре постепенно снижалось и через 3 сут составляло 12 %. Эти данные хорошо согласуются с результатами, полученными другими авторами [17]. В культуре, обработанной 6-АЗЦ в концентрациях от 12 до 0,24 мг/мл, количество клеток, содержащих  $^3\text{H}$ -ТД-метку, через 24 ч незначительно отличалось от контроля. Спустя 72 ч количество клеток, синтезирующих ДНК, снизилось относительно контрольной популяции на 50 % при концентрации 6-АЗЦ 2,4 мг/мл и практически на 100 % — при его концентрации 24 мг/мл.

Ростовую активность клеток в контрольных и опытных культурах определяли по приросту количества клеток на единицу площади. Через 3 сут культивирования происходило уменьшение количества клеток на 50 % относительно контрольной популяции при концентрации 6-АЗЦ 2,4 мг/мл.

Таким образом, концентрация препарата, вызывающая 50 %-е подавление синтеза ДНК и 50 %-е ингибирование прироста клеток, составляла 2,4 мг/мл, что на порядок ниже концентрации, влияющей на их жизнеспособность (24 мг/мл). Эти данные свидетельствуют о том, что клетки, прекратившие синтез ДНК, остаются жизнеспособными и при более высокой концентрации препарата.

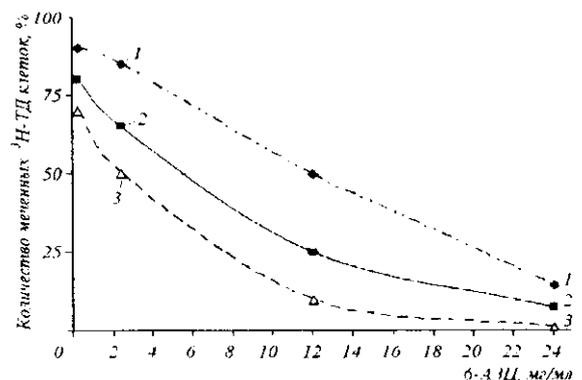


Рис. 2. Изменение пролиферативной активности клеток фибробластов легкого эмбриона человека под действием 6-АЗЦ: 1 — 24 ч; 2 — 48 ч; 3 — 72 ч

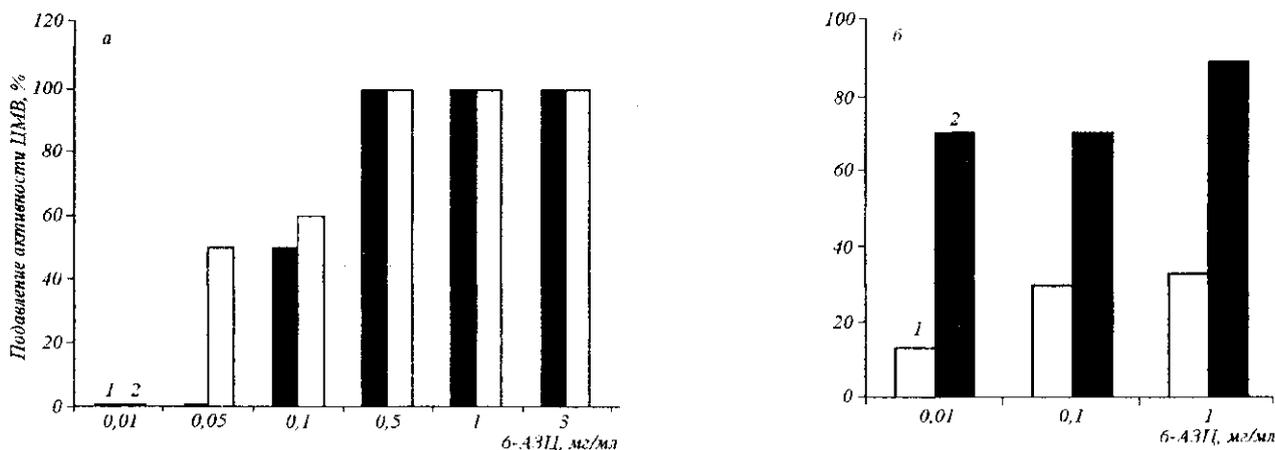


Рис. 3. Анти-ЦМВ активность 6-АЗЦ в лечебной (а) и профилактической (б) схемах: 1 — множественность инфицирования 0,001 БОЕ/кл; 2 — 0,0001 БОЕ/кл

Следующая серия экспериментов была направлена на исследование противовирусной активности 6-АЗЦ. Результаты опытов показали, что в лечебной схеме использование препарата в концентрациях от 0,5 до 3 мг/мл приводило к 100 %-му подавлению развития ЦПД вируса при МИ 0,001 и 0,0001 БОЕ/кл. Как следует из рис. 3, а, 50 %-я ингибирующая доза при МИ 0,001 БОЕ/кл составляла 0,1 мг/мл, а при МИ 0,0001 БОЕ/кл — 0,05 мг/мл.

Влияние 6-АЗЦ на развитие вирусного ЦПД в профилактической схеме исследовали при МИ ЦМВ 0,001 и 0,0001 БОЕ/кл. При МИ 0,0001 БОЕ/кл присутствие 6-АЗЦ в концентрациях 0,01 и 0,1 мг/мл приводило к подавлению вирусспецифического ЦПД на 70 %. При использовании 6-АЗЦ в концентрации 1 мг/мл — на 90 %. При более высокой МИ (0,001 БОЕ/кл) наблюдалось менее выраженное анти-ЦМВ действие соединения. Так, 6-АЗЦ в концентрации 0,01 мг/мл ингибировал способность вируса к бляшкообразованию на 13 %, в концентрациях 0,1 и 1 мг/мл — на 30 и 33 % соответственно (рис. 3, б).

Таким образом, в профилактической схеме ингибирующая доза 6-АЗЦ, при которой наблюдалось 70 %-е подавление ЦПД ЦМВ, составляла 0,01 мг/мл.

При изучении вирулицидного действия 6-АЗЦ использовали вирус с МИ 0,001 БОЕ/кл и препарат в концентрациях 0,1 и 1 мг/мл. В концентрации 1 мг/мл соединение подавляло ЦПД вируса на 70 %, а в концентрации 0,1 мг/мл — на 10 %. Таким образом, ИД<sub>70</sub> в данной схеме соответствовал 1 мг/мл.

В дальнейшем было изучено действие 6-АЗЦ на продукцию инфекционно активного вируса.

Исследование вирусосодержащей культуральной среды после культивирования клеток, зараженных ЦМВ с МИ 0,001 БОЕ/кл, позволило установить, что 6-АЗЦ при концентрации 3 мг/мл вызывал 55 %-е подавление репродукции вируса относительно контроля и на 40 % снижал продукцию инфекционно активного вируса при концентрации 1 мг/мл.

Анализ результатов позволяет сделать вывод о том, что 6-АЗЦ достоверно подавляет репродукцию ЦМВ.

Как отмечалось ранее, ингибирующее действие 6-АЗЦ связано со снижением уровня синтеза вирусных белков [5, 6]. Опосредованное влияние 6-АЗЦ на синтез вирусных белков в наших исследованиях анализировали в трех схемах: лечебной, профилактической и вирулицидной. В каждой схеме определяли число клеток в контрольных и опытных культурах, содержащих сверхранний (pp72), ранний (p65) и поздний (gB) белки. В качестве препарата сравнения использовали ганцикловир, механизм анти-ЦМВ действия которого описан ранее [12—14]. Накопление вирусных белков в инфицированных клетках изучали методом иммуноцитохимического окрашивания после внесения вируса с МИ 0,001 БОЕ/кл. 6-АЗЦ использовали в концентрациях 0,1 и 1 мг/мл. Анализ сверхранних и ранних вирусных белков в контрольных и опытных клетках проводили в течение 3 сут развития инфекции. Через 1 сут в контрольной культуре количество клеток, содержащих pp72, составляло 7 %, а клеток, синтезирующих белок p65, — 5 %. На 2-е сут количество клеток, содержащих эти белки, возрастало и составляло 16 и 8 % и на 3-и сут — 50 и около 17 % популяции соответственно. В присутствии препарата 6-АЗЦ

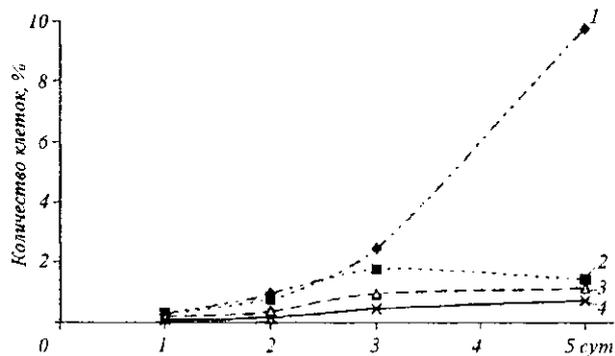


Рис. 4. Влияние 6-АЗЦ на экспрессию позднего белка gB в клетках фибробластов легкого эмбриона человека, зараженных цитомегаловирусом (ЦМВ): 1 — ЦМВ инфицированные клетки; 2 — то же в присутствии 0,006 мг/мл ганцикловира; 3, 4 — в присутствии 1 и 3 мг/мл 6-АЗЦ соответственно

количество ЦМВ инфицированных клеток, содержащих белки pp72 и p65, практически не отличалось как от контрольной популяции клеток (без внесения веществ), так и от культуры, обработанной ганцикловиrom. Схожие результаты получены при анализе синтеза вирусных белков для всех трех схем исследования антивирусной активности 6-АЗЦ.

Поздний гликопротеин gB был зарегистрирован в 2,5 % клеток в контрольной культуре через 3 сут после заражения. В то время как в клетках, обработанных 6-АЗЦ в концентрациях 1 и 3 мг/мл, вирусный белок gB присутствовал только в 1 и 0,5 % клеток соответственно (рис. 4). На 5-е сут после заражения количество клеток, синтезирующих гликопротеин gB, было значительно меньшим в опытных, чем в контрольной популяциях. Установлено, что 6-АЗЦ и ганцикловир снижают накопление позднего вирусного гликопротеина gB приблизительно в одинаковой мере — более чем в 10 раз.

Суммируя полученные данные, можно сделать вывод о том, что 6-АЗЦ обладает избирательной способностью подавлять ЦПД ЦМВ в культуре клеток. 50 %-е подавление ЦПД ЦМВ наблюдается при концентрации 6-АЗЦ 0,05 мг/мл ( $ID_{50}$ ). В то время как цитотоксическое действие препарата ( $CD_{50}$ ), оцениваемое по различным тестам (влияние на количество жизнеспособных клеток, на синтез ДНК, на прирост клеток), изменяется от 2,4 до 24 мг/мл. Индекс селективности, определяемый как отношение  $CD_{50}$  к  $ID_{50}$ , находится в пределах 48—480 для лечебной схемы и 240—2400 — для профилактической, что сравнимо с индексом селективности ганцикловира [12]. Но следует отметить, что концентрация 6-АЗЦ, приводящая к 50 %-му цитотоксическому эффекту, примерно в 24 раза

больше таковой для ганцикловира, что может свидетельствовать о низком цитотоксическом действии 6-АЗЦ.

Таким образом, показан значительный эффект подавления 6-АЗЦ ЦМВИ человека в культуре клеток, не уступающий по эффективности известному и широко используемому в клинической практике препарату — ганцикловиру. 6-АЗЦ является перспективным соединением для дальнейшего изучения в качестве противовирусного препарата при ЦМВИ.

*M. V. Abdullaeva, A. F. Frolov, I. V. Alexeeva,  
L. I. Palchykovskaja, N. E. Fedorova*

Inhibitory effect of 6-azacytidine on human cytomegalovirus infection in cellular system

#### Summary

*Effects of a modified nucleoside analog 6-Azacytidine (2-β-D-ribofuranosyl-5-amino-1,2,4-triazin-3(2H)-one) on cytomegalovirus (CMV) infection in vitro, have been studied. 6-AZC inhibits the CMV cytopathic action, the effective dose of 6-AZC being 0.005 mg/ml. The analysis of cell viability, growth characteristics, and DNA synthesis has revealed that the cytotoxic effect of 6-AZC in human diploid fibroblasts is negligible. The cytotoxicity index range is 2.4 to 24 mg/ml when tested by different methods. The selectivity index of 6-AZC is 48—480, which differs negligibly from that of gancyclovir (100—1000), while the cytotoxicity of 6-AZC is essentially lower. The immunocytochemical analysis of virus proteins in the infected cells has shown that 6-AZC inhibits the production of late structural CMV protein gB, but does not influence the expression of early nonstructural protein pp72 and early protein p65.*

*M. V. Абдуллаева, А. Ф. Фролов, I. В. Алексеева,  
Л. Г. Пальчиківська, Н. Є. Федорова*

Пригнічуюча дія 6-азацитидину на цитомегаловірусну інфекцію людини в клітинній системі

#### Резюме

*Вивчено вплив модифікованого нуклеозиду 6-азацитидину (6-АЗЦ) (2-β-D-рибофуранозил-5-аміно-1,2,4-триазин-3(2H)-он) на цитомегаловірусну інфекцію в культурі клітин. Показано, що 6-АЗЦ у низьких концентраціях ефективно пригнічує цитопатогенну дію цитомегаловірусу людини (ЦМВ). Ефективна доза сполуки, що пригнічувала розвиток ЦМВ на 50 %, складала 0,005 мг/мл. Отримані дані узгоджуються з припущеним механізмом дії 6-АЗЦ, що базується на пригніченні синтезу ДНК вірусу. Вивчення життєздатності клітин, їхніх ростових характеристик і синтезу ДНК показало, що 6-АЗЦ має низьку цитотоксичну дію. Індекс цитотоксичності препарату, за даними різних тестів, становив 2,4—24 мг/мл. За результатами розрахунку, індекс селективності для 6-АЗЦ знаходиться в межах 48—480 у лікувальній схемі та 240—2400 — у профілактичній, що порівнянно з таким для ганцикловіру (100—1000). Імуноцитохімічний аналіз синтезу вірусних білків в інфікованих клітинах продемонстрував, що 6-АЗЦ пригнічує синтез пізнього структурного білка ЦМВ gB, який синтезується після реплікації вірусної ДНК.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *De Clercq E.* Targets for the antiviral activity of pyrimidine and purine nucleoside analogues // *Nucleosides and Nucleotides*.—1987.—6, N 1—2.—P. 197—207.
2. *Краевский А. А.* Молекулярные основы поиска препаратов для лечения СПИДа. Достижения и вероятные перспективы // *Молекуляр. биология*.—1999.—33, № 3.—С. 343—352.
3. *Cheng Y.-C.* L-Nucleoside analogues against cancer-causing viruses have potential in the prevention delayed onset and treatment of viral associated cancers // *Antiviral Chem. and Chemother.*—2001.—12 (Suppl. 1).—P. 5—11.
4. *Бектемиров Т. А., Липицкая Г. А., Чернецкий В. П., Галегов Г. А.* Ингибирующее действие 6-азациитидина на репродукцию вируса осповакцины в культуре ткани // *Вопр. мед. химии*.—1974.—20, № 3.—С. 50—52.
5. *Носач Л. М., Бутенко С. И., Тимофеева М. Я., Дяченко Н. С., Тихомирова Т. П., Алексеева И. В., Чернецкий В. П.* Анализ ДНК, синтезируемой в инфицированных аденовирусом клетках, при воздействии аналогов нуклеозидов // *Микробиол. журн.*—1989.—51, № 6.—С. 73—75.
6. *Носач Л. М., Дяченко Н. С., Шаламай А. С., Алексеева И. Н., Кушко Л. Я., Озвинчук И. И., Жовноватая В. Л., Бутенко С. И., Петровская И. А., Дранник Г. Н.* Антиаденовирусное и иммуностимулирующее действие 6-азациитидина // *Биополимеры и клетка*.—1996.—12, № 1.—С. 75—85.
7. *Фролов А. Ф., Радолицкая Л. С., Чернецкий В. П.* Действие аномальных нуклеозидов на экспериментальную гриппозную инфекцию белых мышей // *Вирусы и вирус. заболевания: Респ. сб.*—Киев, 1986.—Вып. 14.—С. 3—6.
8. *Dyachenko N., Rybalko S., Nosach L., Alexeeva I., Shalamay A.* Antiadenovirus and anti-herpes activity of 6-azacytidine // *12<sup>th</sup> Int. Conf. on Antiviral Res. Int. Soc. for Antiviral Res.* (March 21—25, 1999).—Jerusalem, 1999.—P. 87.
9. *Старчеус А. П., Чернецкий В. П.* Вплив 6-азауридину, 6-азацитидину та 8-азагуаніну на репродукцію аденовірусу 4-го типу в культурі тканини // *Мікробіол. журн.*—1967.—29, № 2.—С. 157—160.
10. *Петруша Н. А.* Некоторые токсико-фармакологические свойства 6-азациитидина // *Фармакология и токсикология*.—1987.—№ 2.—С. 75—76.
11. *Федорова Н. Е., Адуева С. М., Меджидова А. А., Романова В. С., Парнес З. С., Галегов Г. А., Куц А. А.* Подавление цитомегаловирусной инфекции в клеточной системе аминокислотными производными фуллерена // *Вопр. вирусологии*.—2002.—№ 1.—С. 30—34.
12. *Clyde S., Crumacker M. D.* Ganciclovir // *New England J. Med.*—1996.—335, N 10.—P. 721—729.
13. *Erice A.* Resistance of human cytomegalovirus to antiviral drugs // *Clin. Microbiol. Rev.*—1999.—12.—P. 286.
14. *Mar E. C., Chennng Y. C., Huang E. S.* Effect of 9(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanine on human cytomegalovirus replication *in vitro* // *Antimicrob. Agents Chemother.*—1983.—24.—P. 518—521.
15. *Alexeeva I., Dyachenko N., Nosach L., Zhovnovataya V., Rybalko S., Lozitskaya R., Fedchuk A., Lozitsky V., Gridina T., Shalamay A., Palchikovskaja L., Povnitsa O.* 6-Azacytidine-compound with wide spectrum of antiviral activity // *Nucleosides, Nucleotides and Nucl. Acids*.—2001.—20, N 4—7.—P. 1147—1152.
16. *Самійленко С. П., Алексеева І. В., Пальчиківська Л. Г., Кондратюк І. В., Степанюгін А. В., Шаламай А. С., Говорун Д. М.* Структурні особливості 6-азациитидину та його похідних: дані ПМР та ІЧ спектроскопії // *Биополимеры и клетка*.—1997.—13, № 6.—С. 445—452.
17. *Епифанова О. И.* Лекції о кліточном циклі.—М., 1997.—144 с.
18. *Макарова Н. Е., Куц А. А., Иванова Л. А.* Получение моноклональных антител к сверханним белкам цитомегаловируса человека и их применение для выявления инфицированных клеток // *Вопр. вирусологии*.—1996.—№ 1.—С. 28—32.
19. *Snoeck R., Neyts J., De Clercq E.* Strategies for the treatment of cytomegalovirus infection // *Multidisciplinary approach to understanding cytomegalovirus disease / Eds S. Michelson, S. A. Plotkin*.—Amsterdam, 1993.—P. 269—278.
20. *Webster A.* Cytomegalovirus as possible cofactor in HIV disease progression // *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirology*.—1991.—4.—P. 47—52.

УДК 578.835.12:615.281  
Надійшла до редакції 26.03.03