

无环鸟苷和环胞苷联合应用的抗单纯疱疹病毒作用

陈祖基、刘卫国、宋洁贞、张勇 (河南省眼科研究所, 郑州 450003)

提要 在组织培养中, 无环鸟苷(ACV)和环胞苷(Cyc)抑制 HSV 的半数空斑形成剂量(ID_{50})分别是 2.7 和 1.9 $\mu\text{g/ml}$ 。当 ACV 和 Cyc 联合应用时, 在抗 HSV 实验中具有明显的协同作用。ACV 和 Cyc 的最适配比约为 2:1, 0.1% ACV 和 0.05% Cyc 溶液联合应用时治疗实验性 HSV 角膜炎获显著疗效, 明显优于各药单用的效果。

关键词 联合药物治疗法; 无环鸟苷; 环胞苷; 培养的细胞; 兔树枝状角膜炎; 人疱疹病毒

无环鸟苷(acyclovir, ACV)是近年出现的一种选择性抗单纯疱疹病毒(HSV)药物, 具有作用强、选择性高、毒性小的优点。但溶解度低、易产生耐药性⁽¹⁾。环胞苷(cycloctidine, Cyc)系我所首先报告的一个抗 HSV 药物, 有作用强、水溶性好的优点。但选择性差、毒性较大⁽²⁾。如何合理应用这些有效的抗 HSV 药物, 使之更好地发挥作用, 方法之一是不同药物的联合应用, 以提高疗效、降低毒性和减少耐药株的发生。为此本文设计研究了 ACV 和 Cyc 联合用药在组织培养和实验动物模型上的抗 HSV 作用。

材料与 方法

Vero 细胞(非洲绿猴肾传代细胞)和 1 型单纯疱疹病毒(HSV-1) KOS 株, 均由中国预防医学中心病毒研究所供给。HSV 在 Vero 细胞中传代, 病毒滴度维持在 10^7 PFU/ml 左右。

ACV(湖北医药工业研究所供给)和 Cyc(上海第十二制药厂供给)均配成 1 mg/ml 贮备液-10℃保存, 实验时用 Hank's 液稀释至所需浓度。

空斑减数试验 Vero 细胞在培养孔中长成单层后, 加入 100-300 PFU/ml 的 HSV-1

(KOS 株)液 0.1 ml, 37℃吸附 1 h, 吸除病毒液, 用 Hank's 液漂洗细胞, 然后加入 1 ml 含不同浓度药物的维持液(加 1% 甲基纤维素), 5% CO_2 37℃、培养 72 h, 然后固定染色(福尔马林-结晶紫溶液), 计空斑数。在相同条件下作细胞和病毒对照。用 Finney's 概率单位分析法计算药物的 ID_{50} 。用图解法和分部抑制浓度(FIC)指数法评价联合用药后的抗病毒活性⁽³⁾。

兔实验性 HSV 角膜炎的治疗 选取健康、角膜无损伤的种兔(体重 2 kg 左右), 用 7 号针头在局麻下轻轻对角膜上皮作“十”字划痕, 然后在角膜表面滴加 HSV 液(10^6 PFU/ml) 50 μl , 闭合眼睑轻轻按摩 30 s。感染 48 h 后, 分组进行药物治疗, 每组 4 兔 8 眼。以 2% 荧光素钠染色角膜, 用手持裂隙灯逐日观察, 比较治疗组和对照组的角膜上皮病变程度, 作统计学处理, 判断药物疗效。

角膜上皮膜变程度分 0-4 级: 0 级: 无角膜病变; 1 级: 角膜上皮病变范围占全角膜的 25% 以下; 2 级占 25-50%; 3 级占 51-75%; 4 级占 75% 以上⁽⁴⁾。

结 果

ACV 和 Cyc 单独用药的空斑减数试验

ACV 和 Cyc 分别连续倍比稀释成 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 和 0.03125 $\mu\text{g/ml}$ 等 5 个浓度, 观察它们在组织培养中抑制 HSV 空斑形成的作用。结果 ID_{50} 分别为 ACV 0.27 $\mu\text{g/ml}$, Cyc 0.19 $\mu\text{g/ml}$ 。

ACV 和 Cyc 联合用药的研究

1. ACV 和 Cyc 不同配比浓度的作用
ACV 和 Cyc 以不同浓度相互配比进行实验求出 ACV 和 Cyc 在不同浓度相互作用时的 ID_{50} 和 FIC 指数(图 1)。

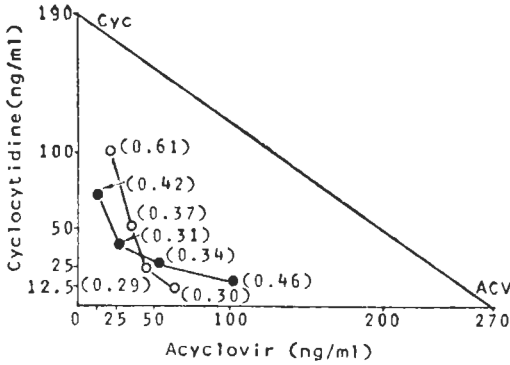


Fig 1. Graphic evaluations and fractional inhibitory concentration (FIC) indices of acyclovir and cycloctidine in various ratios of the combinations. (○) ID₅₀ of Cyc with various concentrations of ACV; (●) ID₅₀ of ACV with various concentrations of Cyc. FIC indices in parentheses.

实验显示上述 ACV 和 Cyc 的所有浓度(除 Cyc 0.1 μg/ml 外)联合使用均获显著协同作用, FIC 指数低于 0.5。尤其当 ACV 和 Cyc 的浓度比为 0.043:0.025(1.72:1)时 FIC 指数最小(0.29), 取得的协同作用最显著。

2. ACV 和 Cyc 固定配比浓度的作用 将 ACV/Cyc 以 2/1 的浓度比例配制成 0.25/0.125 和 0.125/0.0625 μg/ml 两种合并用药浓度, 分别与两药单用浓度比较, 测定它们对空斑形成的抑制作用。结果显示 ACV/Cyc 在上述两种浓度配伍时, 它们的抗 HSV 活性有明显的增强作用(表 1)。

Tab 1. Inhibition of combinations of acyclovir (ACV) with cycloctidine (Cyc) on plaque formation by herpes simplex virus types 1 (HSV-1). n=8, $\bar{x} \pm SD$. *p>0.05, ***p<0.01 vs control, †††p<0.01 vs ACV or Cyc alone.

ACV (ng/ml)	Cyc (ng/ml)	Plaque ($\bar{x} \pm SD$)	Inhibition (%)
-	-	39 ± 8	
250	-	22 ± 6***	45
-	125	24 ± 6***	39
250	125	0***†††	100
125	-	34 ± 9*	12
-	62.5	32 ± 7*	18
125	62.5	7 ± 1***†††	83

兔实验性 HSV 角膜炎的治疗 用 HSV 接种兔眼角膜 48 h 后, 分成下列各组进行治疗, 0.1% ACV, 0.05% Cyc, ACV/Cyc (0.1/0.05%) 联合用药组和生理盐水组进行滴眼治疗, 6 次/d × 5, 逐日用 2% 荧光素钠溶液染色角膜, 用手持裂隙灯观察角膜病变程度。实验证明 ACV, Cyc 治疗组分别在治疗的 d 3, 4 产生明显疗效, 与对照组比差异非常显著(p<0.01)。ACV/Cyc 联合用药组在治疗 d 2 即呈现显著疗效, 并于治疗的 d 4, 5 疗效超过 ACV, Cyc 治疗组(图 2)。

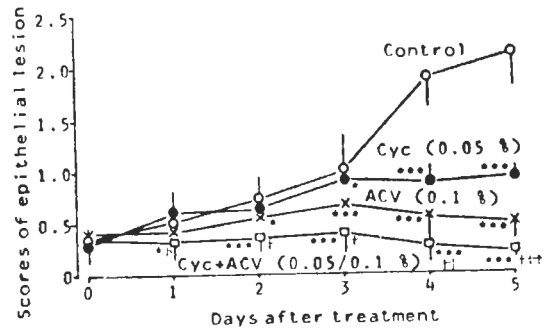


Fig 2. Effects of ACV 0.1% and Cyc 0.05% alone or in combination on herpetic epithelial keratitis in rabbits. n=8 eyes of 4 rabbits, $\bar{x} \pm SD$. *p>0.05, **p<0.05, ***p<0.01 vs control; †p>0.05, ††p<0.05, †††p<0.01 vs ACV or Cyc alone.

讨 论

本文在组织培养和兔实验性 HSV 角膜炎治疗中观察了 ACV 和 Cyc 的联合治疗作用。在组织培养中, 证明 ACV 和 Cyc 合用具有显著协同作用。最适配比浓度约为 ACV/Cyc = 2:1。在兔实验性 HSV 角膜炎的治疗中, ACV/Cyc (0.1/0.05%) 联合用药的疗效明显高于各药单独应用。

一些学者认为不同作用机理的药物合并应用可能产生协同作用。ACV 和 Cyc 的抗 HVS 作用机理明显不同, 它们分别作用于不同的酶系统, 但最终均导致对 DNA 合成的抑制^(1,7)。ACV 作用于病毒特异性酶, 所以选择性高、毒性小, 但水溶性差, 给用药带来诸多不便,

且 HSV 对 ACV 易产生耐药性。Cyc 亦具有较强的抗 HSV 活性, 水溶性好, 但特异性差, 毒性较大。本文证明二者联合应用具有协同作用, 可以扬长避短, 是很有前途的用药方案。

参 考 文 献

- 1 陈祖基. 治疗单疱角膜炎的新药——无环鸟苷. 角膜病杂志 1980; 1: 48.
- 2 河南省眼科研究所药物室. 环胞苷抗单纯疱疹病毒的实验. 微生物学报 1977; 17: 348.
- 3 Allen LB, Vanderslic LK, Fingal CM, McCright FH, Harris FF, Cook PD. Evaluation of the anti-herpesvirus drug combinations: Virazole plus arabinofuranosyladenine. *Antiviral Res* 1982; 2: 203
- 4 O' Brien WJ, Taylor JL, DeCarlo JD, Clough

- DW, Schultz RO. The chemotherapy of herpetic keratitis in rabbits. In: Sundmacher HR, ed. *Herpetic eye diseases*. München: JF Bergmann Verlag, 1981: 255-62
- 5 Schinazi RF, Peters J, Williams CC, Chance D, Nahmias AJ. Effect of combination of acyclovir with vidarabine or its 5'-monophosphate on herpes simplex viruses in cell culture and in mice. *Antimicrob Agents Chemother* 1982; 22: 499
- 6 Varnell ED, Kaufman HE, Sanitato JJ, Centifanto YM. Antiviral drug combinations for the treatment of experimental herpetic keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1983; 24 (ARVO, suppl 3): 215
- 7 Wang MC, Sharma RA, Bloch A. Studies on the mode of action of 2, 2'-anhydro-1-β-D-arabinofuranosylcytosine. *Cancer Res* 1973; 33: 1265

Acta Pharmacologica Sinica 1988 Jul, 9 (4): 364-366

Combined therapy of acyclovir and cycloctidine against herpes simplex virus

CHEN Zu-Ji, LIU Wei-Guo, SONG Jie-Zhen, ZHANG Yong

(Henan Institute of Ophthalmology, Zhengzhou 450003)

ABSTRACT Combined effect of acyclovir (ACV) and cycloctidine (Cyc) against herpes simplex virus type 1 (HSV-1) was investigated in cell culture and in experimental dendritic keratitis in rabbits. The 50% inhibition doses of HSV-1 plaque formation (ID_{50}) by ACV and Cyc were 2.7 and 1.9 μg/ml, respectively. The combination of ACV with Cyc produced significantly synergistic activity against HSV-1 in cell

culture. The optimal ratio was about 2:1 for ACV:Cyc. The combined therapy of 0.1% ACV with 0.05% Cyc produced an enhanced effect in the experimental dendritic keratitis in rabbits.

KEY WORDS combination drug therapy; acyclovir; cycloctidine; cultured cells; rabbit dendritic keratitis; herpesvirus hominis