

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

DOI 10.26163/RAEN.2020.94.96.017
УДК 615.317COVID-19

M.B. Ivanov, E.B. Shustov, V.L. Reinyuk, A.V. Fomichev, B.S. Litvintsev

PROSPECTS OF PHARMACOLOGICAL INTERVENTION IN NEW SARS-COV-2 CORONAVIRUS AND COVID-19 CAUSED BY IT

Message 1. Directions of etiotropic therapy of coronavirus infection

Maxim Ivanov – Director of the Institute of Toxicology of Federal Medical Biological Agency of Russia, corresponding member of the Russian Academy of Natural Sciences, Doctor of Medicine, St. Petersburg; **e-mail: m.b.ivanov@toxicology.ru.**

Evgeniy Shustov – Chief Researcher, the Institute of Toxicology of Federal Medical Biological Agency of Russia, professor, the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, St. Petersburg Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, member of the Russian Academy of Natural Sciences, Winner of the State Prize of the Russian Federation in Science and Technology, Doctor of Medicine, professor, St. Petersburg; **e-mail: shustov-msk@mail.ru.**

Vladimir Reinyuk – deputy director for scientific research, the Institute of Toxicology of Federal Medical Biological Agency of Russia, Doctor of Medicine, St. Petersburg; **e-mail: vladton@mail.ru.**

Alexey Fomichev – deputy director for clinical work, the Institute of Toxicology of Federal Medical Biological Agency of Russia, PhD in Medicine, St. Petersburg; **e-mail: fomichoff74@mail.ru.**

Bogdan Litvintsev – leading researcher, Institute of Toxicology of Federal Medical Biological Agency of Russia, Doctor of Medicine, St. Petersburg; **e-mail: litvin.bs@mail.ru.**

We analyze characteristics of etiology and possible pharmacological intervention in the penetration into target cells and replication of the new SARS-CoV-2 coronavirus. Despite both clinical and biomedical studies of medication that can be potentially effective for treating infections caused by the new coronavirus carried out internationally, an effective protocol has not been developed yet neither at the national nor international level. The research aims at presenting promising directions of etiotropic therapy of covid-19 coronavirus infection, taking into account the data available in May 2020.

Keywords: covid-19; SARS-CoV-2; coronavirus; etiotropic effect.

М.Б. Иванов, Е.Б. Шустов, В.Л. Рейнюк, А.В. Фомичев, Б.С. Литвинцев

ПЕРСПЕКТИВЫ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА НОВЫЙ КОРОНАВИРУС SARS-CoV-2 И ВЫЗЫВАЕМОЕ ИМ ЗАБОЛЕВАНИЕ COVID-19

Сообщение 1. Направления этиотропной терапии коронавирусной инфекции

Максим Борисович Иванов – директор Института токсикологии ФМБА России, член-корреспондент РАЕН, доктор медицинских наук, г. Санкт-Петербург; **e-mail: m.b.ivanov@toxicology.ru.**

Евгений Борисович Шустов – главный научный сотрудник Института токсикологии ФМБА России, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета МЗ РФ, академик РАЕН, лауреат Государственной премии РФ в области науки и техники, доктор медицинских наук, профессор, г. Санкт-Петербург; **e-mail: shustov-msk@mail.ru.**

Владимир Леонидович Рейнюк – заместитель директора Института токсикологии ФМБА России по научной работе, доктор медицинских наук, г. Санкт-Петербург; **e-mail: vladton@mail.ru.**

Алексей Вячеславович Фомичев – заместитель директора Института токсикологии ФМБА России по клинической работе, кандидат медицинских наук, г. Санкт-Петербург; **e-mail: fomichoff74@mail.ru.**

Богдан Сергеевич Литвинцев – ведущий научный сотрудник Института токсикологии ФМБА России, доктор медицинских наук, г. Санкт-Петербург; e-mail: litvin.bs@mail.ru.

В статье анализируются особенности этиологии и направлений возможного фармакологического воздействия на проникновение в клетки-мишени и репликацию нового коронавируса SARS-CoV-2. Несмотря на то, что во многих странах активно ведутся как клинические, так и биомедицинские исследования препаратов, которые могут быть потенциально эффективными при инфекции, вызванной новым коронавирусом, эффективный протокол ведения таких больных ни на национальном, ни на международном уровне пока не разработан. Цель статьи – представить потенциально перспективные направления этиотропной терапии коронавирусной инфекции covid-19 с учетом имеющихся на май 2020 года данных.

Ключевые слова: covid-19; SARS-CoV-2; коронавирус; этиотропное воздействие.

Введение

Начавшаяся в конце 2019 г. в китайской провинции Ухань эпидемия атипичной пневмонии, отличавшейся по своему клиническому течению от хорошо известных вирусных пневмоний, очень скоро переросла границы локального эпидемического процесса и была объявлена ВОЗ пандемией, вызываемой новым коронавирусом SARS-CoV-2. По данным мониторингового центра ВОЗ, по состоянию на 18 мая 2020 г. в мире зафиксировано 4,724 млн инфицированных коронавирусом лиц, умерло 315389 человек с коронавирусом, 1,739 млн человек выписаны из стационаров как выздоровевшие. Таким образом, в целом по планете из всех определившихся исходов болезни у госпитализированных лиц (а именно по ним и ведется статистический учет выздоровевших) в настоящее время 15,3% составляют смертельные исходы (показатель летальности), а 84,7% – выздоровели. По данным эпидемиологического расследования цепочки инфицированных, каждый человек с коронавирусом (больной или вирусоноситель) в среднем заражает 2,8 человека, что свидетельствует о высокой контагиозности вируса. В России на 18 мая 2020 г. зафиксировано 290678 инфицированных лиц (при широте охвата тестированием 7,147 млн тестов), умерло 2733 человек, 70209 больных были выписаны из стационаров как выздоровевшие. Показатель летальности по определенным исходам составил 3,7%, а 96,3% – выздоровели.

Необходимо учитывать, что в огромном количестве бедных и труднодоступных регионов Африки, Юго-Восточной Азии и Южной Америки тестирование на

коронавирус практически не проводится, учет смертей с наличием коронавируса не связан, что позволяет считать, что фактический уровень инфицирования и летальности SARS-CoV-2 существенно выше официальной мировой статистики. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что новая коронавирусная инфекция представляет серьезный вызов человечеству. Отягощает ситуацию тот факт, что к настоящему времени не разработаны специфические методы иммунопрофилактики коронавирусной инфекции, а также не выявлены и, соответственно, не выпускаются высокоэффективные лекарственные средства этиотропной направленности в отношении нового коронавируса. Именно поэтому **целью** данной статьи является обзор современных научных данных о путях возможного фармакологического воздействия на коронавирус и патогенез вызываемых их расстройств.

Коронавирус и его особенности

Коронавирусы – это семейство одноцепочечных РНК-содержащих вирусов, способных инфицировать человека и некоторых животных. Коронавирусы повсеместно распространены на земном шаре и являются этиологическим фактором острых респираторных заболеваний человека, инфекционного бронхита птиц, гепатитов мышей, пневмоний у крыс, гастроэнтеритов и энцефаломиелитов у свиней, часто заканчивающихся у животных смертельным исходом. Многие животные, как млекопитающие (летучие мыши, верблюды, гималайские циветты, кошачьи, собаки, броненосцы и др.), так и пресмыкающиеся (змеи, крокодилы и др.), являются природными носителями коро-

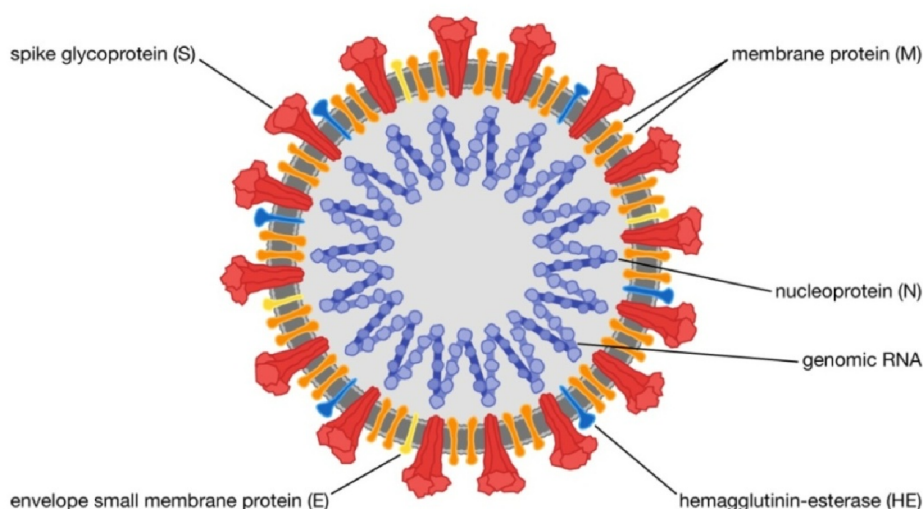
навирусов, формируя для инфекции природные очаги. Важной особенностью коронавируса является то, что для них типичен выраженный видоспецифический барьер – т.е., например, коронавирус мышей не может размножаться в организме (и даже клеточных культурах) других видов животных, а также инфицировать человека. И наоборот, коронарвирус человека не может инфицировать животных, хотя они могут быть кратковременными носителями человеческого вируса без его размножения в организме животного [3]. Наличие такого видового барьера затрудняет проведение вирусологических исследований covid-19, так как человеческие коронавирусы размножаются только в культурах клеток человека (эмбриональных – из легких (линия L-132), первичной культуры клеток почки, эпителия трахеи, или опухолевых – клетки HELA). В некоторых исследованиях была показана принципиальная возможность размножения вируса в культуре эмбриональных клеток почек церкопитековых мартышек, некоторых линий мышей при очень высоком уровне вирусной нагрузки, но при этом клиническая картина заболевания животных существенно отличается от картины течения covid-19 у людей (преобладает не легочная, а мозговая форма заболевания). В связи с этим во многих исследовательских центрах активно ве-

дутся работы по созданию специализированных гуманизированных (т.е. имеющих человеческие гены, прежде всего – «ворот» инфекции) линий мышей для доклинического тестирования медицинских технологий, вакцин и лекарственных средств, предназначенных для профилактики и лечения новой коронавирусной инфекции.

В настоящее время известно о циркуляции среди населения планеты четырех разновидностей коронавирусов (HCoV-229E, -OC43, -NL63 и HKU1), которые круглогодично присутствуют в структуре ОРВИ и вызывают поражение верхних дыхательных путей легкой и средней тяжести. А также трех видов коронавируса (SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2), способных вызывать тяжелые поражения – тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС), ближневосточный респираторный синдром (MERS), и новая коронавирусная болезнь (covid-19). Интересным может быть факт того, что для возбудителя ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV) природным носителем являются верблюды, и более 90% случаев этой инфекции географически связано с Саудовской Аравией. Для всех видов коронавируса характерно единое типичное строение (рис. 1).

Как следует из схемы (рис. 1), нуклеокапсид вируса (спираль РНК с нуклео-

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)



© Encyclopædia Britannica, Inc.

Рис. 1. Схема типового строения коронавируса SARS-CoV-2

Источник: [17].

фосфопротеином N) окружен дополнительной липидной оболочкой, пронизанной мембранными гликопротеинами (протеин M) и малыми оболочечными белками (протеин E), белковыми комплексами шиповатых выростов – спайков (гликопротеин S) и мембранным гликопротеином гемагглютинин-эстеразой (протеин HE). Функциональная роль белковых компонентов вируса представляет особый интерес, так как именно они обеспечивают весь цикл жизни вируса.

РНК вируса представлена одним не-сегментированным спиральным тяжем, что свидетельствует о крайне редкой возможности спонтанного рекомбинантного обмена между генетическим материалом двух коронавирусов, оказавшихся в одной клетке-мишени. Именно такой обмен и сопряженная с ним мутация и привели к формированию вирулентной для человека формы нового коронавируса. Анализ нуклеотидной последовательности вирусной РНК показал, что SARS-CoV-2 является вирусом, родственным коронавирусу подковокрылых летучих мышей (гомология 96%), и является рекомбинантным с коронавирусом неизвестного происхождения млекопитающего. Вероятно, возникшая при этом мутация в рецептор-связывающем домене (RBD) спайк-белка частично адаптировала вирус к мультивидовому взаимодействию (первоначально – низкоэффективному) с рецептором для проникновения вируса в клетку нового хозяина. Компьютерное моделирование показало, что динамические цепочки мутаций сопровождаются формированием более аффинной конформации S-гликопротеинов спайк-структур вируса к его основным воротам инфекции – трансмембранному ферменту ACE2, а следовательно, новый коронавирус со временем все более приспособляется к существованию и размножению в клетках нового хозяина. Известно также, что новый коронавирус по своей молекулярной структуре во многом близок к ранее циркулировавшему вирусу тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV), эпидемия которого была в 2002–2004 г. Степень гомологии РНК составляет не менее 70%,

причем обе разновидности вируса используют одни и те же трансмембранные «ворота» для входа в клетки-мишени – трансмембранный гликопротеид ACE2.

Мутации вируса SARS-CoV-2 продолжаются, что сопряжено с появлением новых штаммов этого вируса. Представленные в работе [27] на середину февраля 2020 г. данные выявили в структуре РНК вируса 198 повторяющихся мутаций, некоторые из них могут отличаться повышенной агрессивностью. С учетом построения мутационных цепочек и усредненной скорости мутаций автор определил, что первые поражения человека преодолевшим видовой барьер вирусом происходили в период с 6 октября по 11 декабря 2019 г., причем к «нулевому уровню» заболевших могут быть отнесены не один, а несколько человек, получившие незначительно отличающиеся вирусы практически в одно и то же время. Появление мутаций, позволяющих вирусу ускользнуть от антител потенциальных вакцин, выявлено в работе [22], что необходимо учитывать при разработке вакцин от этого вируса.

В настоящее время известны минимум две разновидности SARS-CoV-2, различающиеся по клиническому течению заболевания: более «старый» S-тип, формирование которого проходило без популяционного давления и заражение которым обычно приводило к более легким формам covid-19, и более «молодой» и тяжело переносимый L-тип, формирование которого происходило с учетом механизмов естественного отбора и популяционного давления уже сформировавшейся пандемии. Кроме того, по особенностям генома вируса, основанным на мутационных цепочках, начали формироваться «географические» варианты вируса (A, B, C), которые могут различаться по своей антигенной структуре и чувствительности к антителам (а следовательно, и по эффективности профилактического использования различных вакцин). В России вирус представлен практически полностью европейским вариантом, что свидетельствует о его завозном происхождении.

Гемагглютинин-эстераза (HE-белок)

обеспечивает первичное связывание вируса при попадании на слизистую оболочку и его взаимодействие с клетками первичного ответа – клетками слизистых дыхательных путей. Молекулярной мишенью такого взаимодействия являются сиаловые кислоты, продуцируемые бокаловидными клетками слизистых. Гемагглютинин-эстераза коронавируса схожа с аналогичным ферментом вируса гриппа С (мало изучен, протекает в легкой форме или бессимптомно, преимущественно в детском возрасте, видоизменяется слабо, не имеет фермента нейраминидазы, функцию которой выполняет гемагглютинин-эстераза фузии), вируса Торо.

S-белки шипиков оболочки вируса обеспечивают узнавание, взаимодействие и проникновение коронавируса в клетку-мишень, в которой коронавирус может размножаться с высокой скоростью. Именно со спайк-белками, выступающими за пределы защитной липидной оболочки, связана относительная неустойчивость коронавируса во внешней среде – белки быстро подвергаются денатурации при свободном доступе кислорода или других окислителей (включая ультрафиолет). Однако именно S-белки позволяют вирусам проникать внутрь живых клеток и оставаться незамеченными иммунной системой организма «хозяина». В структуре шипиков выделяется несколько доменов, в том числе уникальные рецептор-связывающий домен (RBD), адаптированный к человеческим «воротам» для вируса, и сайт расщепления, обеспечивающий повышенную вирулентность и наличие нескольких хозяев. В свою очередь, в области рецептор-связывающего домена выделяется субдомен фузионных протеинов и фузионных гептапептидов, тримеры которых формируют за счет большого количества аминокислот глицина и аргинина гидрофобные участки, необходимые для слияния (фузии) оболочки вируса и клеточной мембраны клетки-мишени. Причем для активации фузионных пептидов необходимо участие сериновых протеаз мембран клетки-мишени [25]. Необходимость участия этих протеаз в проникновении вируса типично для предыдущего

эпидемического штамма коронавируса (SARS-CoV), но оно также подтверждено и для нового вируса SARS-CoV-2. Так, показано, что проникновение вируса в клетку блокируется ингибиторомисериновых протеаз неселективного (апротинин), так и селективными по отношению к матричной металлопротеазеTMPRSS2 и протеазе фурии ингибиторами [12]. Также из O-связанных гликанов мембранных спайков формируется «муциноподобный» домен, препятствующий распознаванию вируса иммунной системой «хозяина».

Малые оболочечные белки (Е-протеины) способствуют более прочной фиксации вируса на клеточной мембране клеток-мишеней, процесс фузии (слияния) оболочки вируса с клеточной мембраной, а также высвобождения вновь синтезируемых вирионов из инфицированной клетки путем экзоцитоза со встраиванием их оболочек в цитоплазматическую мембрану. Неструктурные мембранные белки (М-протеины) могут активировать макрофаги и моноциты, инициировать высвобождение хемокинов.

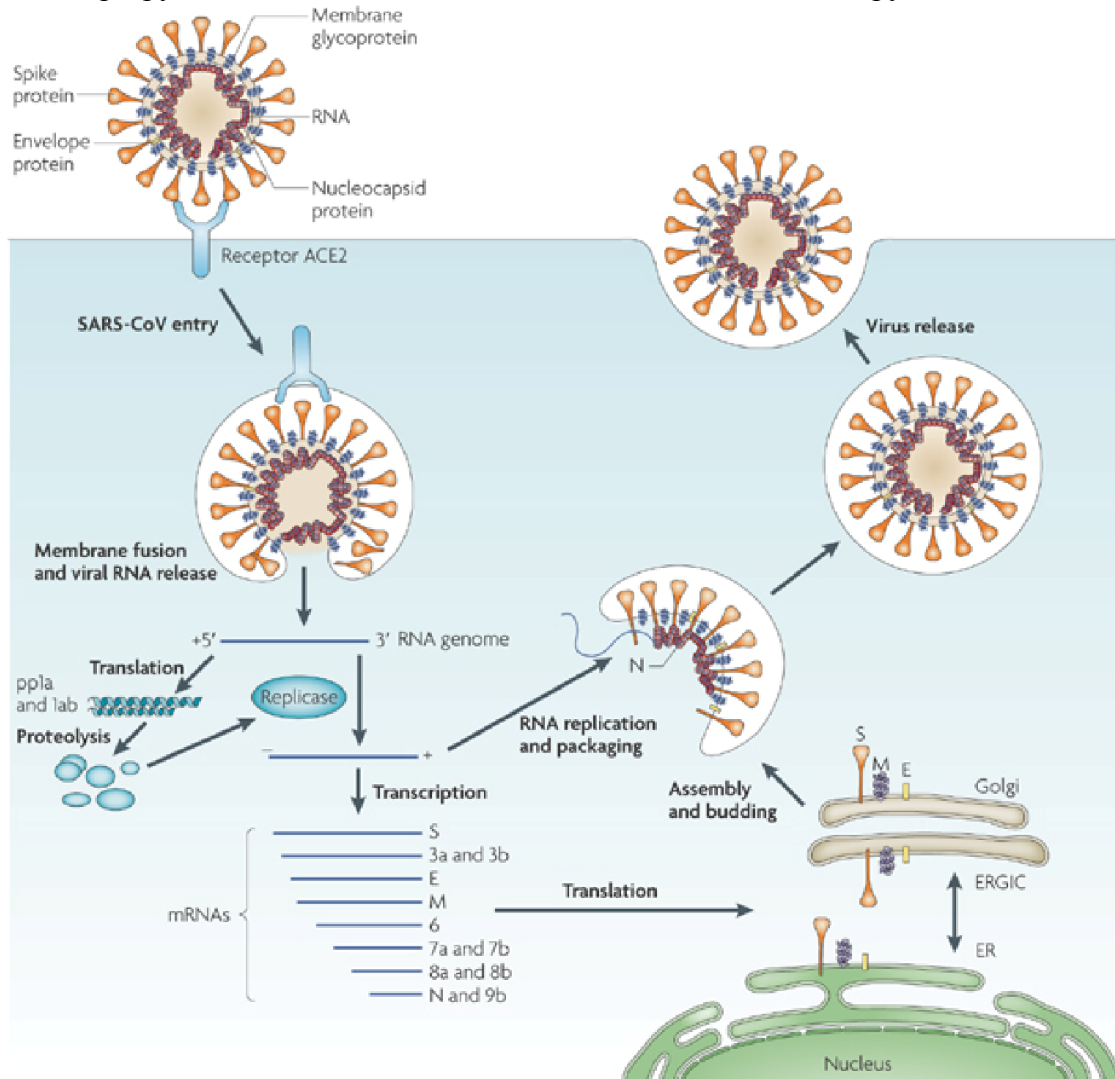
И наконец, еще один компонент вириона – липидная оболочка. Она обеспечивает дополнительную защиту нуклеокапсида вируса от химических и физических воздействий, обеспечивает повышенную устойчивость всех видов коронавируса к воздействию низких температур (при -4°C – несколько месяцев, они устойчивы к повторному замораживанию и оттаиванию, при -60°C сохраняют свои инфицирующие свойства на протяжении нескольких лет) и возможность поддерживать свою жизнеспособность во внешней среде на разных поверхностях до 72 часов. В то же время, именно липидная оболочка вируса является мишенью противовирусного действия многих жирорастворителей, антисептиков и дезинфицирующих средств, в особенности – спиртов и катионно-активных детергентов. Так, в работе [4] показано, что в ряду катионно-активных антисептиков и дезинфицирующих средств максимальную антикоронавирусную активность как в культуре клеток, так и во взвеси вирусных частиц проявляет мирамистин, активность других

антисептиков требует более высоких (в 5–100 раз) концентраций. Наиболее близким к мирамистину по противовирусной активностью был хлоргексидинабиглюконат.

Типовая схема проникновения вируса в клетку-мишень без учета специфики «входных ворот» для вируса на поверхности клетки-мишени представлена на рис. 2.

Коронавирус своими гликопротеинами шипиков оболочки вируса (S-белки) при участии гемагглютина-эстеразы вступает во взаимодействие с гликопротеинами клеточной мембраны, содержащими сиаловые кислоты. Эстеразный домен, выполняющий функцию нейраминидазы, частично разрушает в зоне контакта гли-

копротеины клеточной мембраны, малые оболочечные E-белки вируса усиливают контакт вирусных гемагглютининов с гликопротеинами мембраны клетки-мишени вплоть до полного встраивания вирусных гликопротеинов в клеточную мембрану и формирования эндосомы. Трансмембранный димер клеточного рецептора обеспечивает перемещение вакуоля эндосомы в подмембранное цитоплазматическое пространство, где происходит расщепление вириона на компоненты. Входящая в состав нуклеофоспротеина вирусная РНК-зависимая РНК-полимераза копирует вирусную РНК и в виде отдельных матричных РНК отправляет ее в шероховатый эндоплазматический ретикулум на рибосомы для синтеза вирусных белков. Часть



Nature Reviews | Microbiology

Рис. 2. Схема проникновения и репликации коронавируса в клетке-мишени (на примере входных ворот – трансмембранного гликопротеинового фермента ACE2
Источник: [2].

молекул-копий с помощью синтезированных по вирусной программе протеинов полимеразного комплекса транслоцируется в ядро клетки, где вновь копируется с высокой скоростью уже полимеразы клетки-мишени. Новые вирусные РНК специальным белком нуклеопртином переносятся из ядра клетки через ядерные поры в цитозоль, где в аппарате Гольджи происходит связывание РНК-копии с нуклеофосфопротеином, в структурах эндоплазматического ретикулума и на внутренней поверхности клеточной мембраны происходит окончательная сборка вириона с участием синтезированных копий вирусных протеаз. После сборки вириона эстеразный домен гемагглютиназы-эстеразы обеспечивает встраивание вирусной оболочки в клеточную мембрану в области трансмембранных сиалосодержащих белков, формируется экзосома, и путем экзоцитоза новые вирусные частицы попадают в межклеточное пространство. В клетках слизистых цикл репликации вируса идет медленно (10–12 часов), что объясняется особенностями жизненного цикла этих клеток – рыхлая многослойная слизистая, короткий срок жизни высокоспециализированных бокаловидных клеток (несколько дней) с последующим слущиванием клеток, возмещение клеток за счет мигрирующих из глубоких слоев, недоступных для вируса, частично дифференцированных активно пролиферирующих клеток, смывание большинства вновь синтезированных вирусных частиц мукопротеинами слизи с поверхности. В среднем через 36–48 часов вирус-инфицированная клетка истощает ресурсы клетки-хозяина и гибнет, высвобождая в межклеточное пространство большое количество вирусных белков, в том числе – гемагглютининов и хемотаксических М-белков вируса. Гемагглютинин является сильным индуктором иммунного ответа, и привлекаемые хемотаксическими факторами макрофаги начинают продуцировать провоспалительные цитокины, в частности, ИЛ1, ИЛ-6, ФНО- α , под влиянием которых начинается формироваться клиническая картина ОРВИ-подобного синдрома.

Если же вирус-инфицированными клетками слизистой продуцируется большое количество новых вирусных частиц и иммунных факторов воспаления, то возможным становится прорыв вируса в кровотока и распределение с ним в ткани с главными клеточными мишенями, что ведет к формированию развернутой картины заболевания.

Этиотропная терапия новой корона-вирусной инфекции

Этиотропная терапия covid-19 направлена на связывание, разрушение вириона в крови и тканях, препятствование его проникновению в клетки-мишени и размножению (репликацию) вируса. Прямой мишенью действия средств этиотропной терапии является сам вирус, его структурные элементы и механизмы жизнедеятельности.

Этиотропная терапия максимально эффективна, если она высокоспецифична. Однако, с учетом того, что вирусы не уникальны и в рамках своего семейства обладают некоторым сходством молекулярных структур и проявляют ряд сходных свойств, этиотропное воздействие могут проявлять и лекарственные препараты, эффективность которых была ранее показана в отношении других вирусов. Компьютерный анализ последовательности нуклеотидов в геноме вируса SARS-CoV-2 показал, что существует определенное сходство неструктурных белков, продуцируемых этим вирусом, с протеомным спектром других одноцепочечных РНК-вирусов, таких как вирус SARS-CoV, MERS-CoV, вирусы Эбола, гепатита С, что позволяет тестировать возможную эффективность в отношении вируса SARS-CoV-2 препаратов, продемонстрировавших свою эффективность в отношении этих вирусов. Так, молекулярный докинг показал, что ряд препаратов от вирусного гепатита С (симепревивир, паритапревивир, гразопревивир и велпатасвир) должны обладать способностью связывать нуклеокапсид вируса SARS-CoV-2 и нейтрализовать его репликацию [8]. Указанные препараты являются ингибиторами вирусных протеаз NS3 и NS4a, необходимых для завершения процессинга вирус-

ных нуклеофосфопротеинов перед сборкой вириона. Естественно, что результаты молекулярного докинга подлежат экспериментальной проверке как в модельных, так и клинических условиях.

Первое направление этиотропной терапии – **специфические противовирусные антитела к SARS-CoV-2**. Такие антитела в организме больного могут появиться как активным, так и пассивным образом. Активное образование специфических антител является наиболее эффективной мерой общественной профилактики заболевания, и связано с применением вакцин от данного вируса, которые в настоящее время только активно разрабатываются. Пассивное поступление в организм больного специфических антител является одной из самых эффективных применяемых в настоящее время способов терапии тяжелых форм коронавирусной инфекции. Такие антитела получают из гипериммунной донорской плазмы, полученной от лиц, переболевших и выздоровевших от covid-19. Специфические антиковидные антитела связывают циркулирующие в крови и находящиеся в межклеточной среде вирусные частицы, повреждая их и выводя из циркуляции по организму. Показано, что использование смеси антител от четырех мышей, которые были иммунизированы против SARS-CoV, уменьшило заражение на 90% чувствительных клеток в культуре модельным вирусом, который содержал спайковые белки SARS-CoV-2. Этот эффект был подтвержден электронной микроскопией обработанных клеток [7]. Теоретически подобные антитела могут быть получены методами генной инженерии как антикоронавирусные рекомбинантные иммуноглобулины G. Примером такого подхода является JS016 – рекомбинантное полностью человеческое моноклональное нейтрализующее антитело, которое специфично для домена, связывающего рецептор поверхностного спайк-белка SARS-CoV-2, и может эффективно блокировать связывание вирусов с рецептором ACE2 поверхности клетки-хозяина. Проект по его созданию является совместной разработкой Junshi Biosciences и Институ-

та микробиологии Китайской академии наук [10].

Второе направление этиотропной терапии – **прямое вирусоцидное действие**. Оно ориентировано на повреждение вирусных оболочек и нуклеокапсида вируса во время его нахождения во внеклеточной среде – крови, внеклеточной жидкости, жидких секретах организма (включая слюну, мочу, околокаловую жидкость). Несмотря на очевидную перспективность этого направления, оно практически выпало из поля зрения большинства исследователей. Во многом это объясняется тем, что применение вирусоцидных средств в основном свелось к дезинфекции и антисептической обработке. Высокую вирулицидную активность проявляют этиловый спирт (80% концентрация), формальдегид, производные хлорных кислот (натриевые и калиевые соли дихлоризоциануровой кислоты, дихлордиметилгидантоин, диоксид хлора, гипохлорид натрия), из специализированных вирусоцидных антисептиков выпускается препарат «Виркон» (стабилизированная смесь поверхностно-активных веществ, пероксидных соединений, органических кислот и неорганического буфера). Однако в середине прошлого века при тяжелых вирусных инфекциях (пневмонии, арахноидиты) и бактериальных гнойно-септических состояниях использовалось системное применение средств с вирусоцидным действием. К таким средствам относился гипохлорид натрия 0,06% раствор для медленного капельного внутривенного введения в ампулах. Он также применяется при эндотоксикозах, инфекционных поражениях почек и печени. Другим представителем вирусоцидных средств системного действия является метенамин (гексаметилентетрамин), который в кислой среде очага воспаления расщепляется с образованием формальдегида, прямо повреждающего оболочки вирусов и бактерий. Поиск потенциальных вирусоцидных средств в отношении коронавирусной инфекции является перспективным.

Третье направление этиотропной терапии – **препятствие взаимодействию вируса с клетками-мишенями**. Так, ис-

следователям удалось успешно защитить культуру клеток от атак вируса 2019-nCoV, используя растворимые генно-инженерные поверхностные фрагменты фермента ACE2 – основного гликопротеида, используемого вирусом для проникновения внутрь клеток-мишеней [23]. Эти фрагменты являются ловушками для вируса, связываясь с ним до того, как вирус вступит во взаимодействие с трансмембранными гликопротеинами клеток-мишеней, тем самым снижая нагрузку на организм «свободным» вирусом. Перспективным также является подход, основанный на конструировании нового рекомбинантного белка путем соединения внеклеточного домена ACE2 человека к Fc-области человеческого иммуноглобулина IgG1. Конструкция, полученная при слиянии этих белковых фрагментов, продемонстрировала способность нейтрализовать взаимодействие SARS-CoV и SARS-CoV-2 в клеточной культуре [29].

Теоретически к этому направлению может быть отнесено и исследование возможности экранирования активного центра трансмембранных ферментов – «ворот» инфекции клетки-мишени. Основным воспринимающим рецептором для коронавирусов SARS-CoV и SARS-CoV-2 является трансмембранный гликопротеин ACE2 – ангиотензин, превращающий фермент тип II. Поэтому логичным является предположение, что блокирование активного центра этого фермента, находящегося в надмембранной зоне рецептора, может затруднить взаимодействие вируса с ферментом. В клинической практике известно большое количество антигипертензивных препаратов – ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (каптоприл, эналаприл, лизиноприл, фозиноприл и др.). Однако основной мишенью их действия является не мембранный фермент ACE2, а плазматический, циркулирующий фермент ACE, и не факт, что эти препараты будут эффективно блокировать нужную для борьбы с коронавирусом форму фермента, затрудняя проникновение вируса в клетки-мишени. Однако провести такие клинические исследования, даже не проводя специальные испытания,

а в рамках анализа историй болезней пациентов с коронавирусом, принимающими эти препараты для лечения сопутствующей гипертонической болезни или ишемической болезни сердца, было бы полезно. Аналогичный подход был предложен и для другой группы препаратов – блокаторов рецепторов ангиотензина II (лозартан, валсартан, ирбисартан и др.) [20]. Он основан на предположении, что должно существовать сходство между строением пептидов фермента ACE2, ангиотензина II и рецептора к нему, в силу которого блокаторы рецепторов ангиотензина должны проявлять определенное сродство и к ферменту ACE2. Это предположение пока нечем не подтверждено, но как научная гипотеза существует.

На неспособность вируса проникать в клетки-мишени путем слияния мембран (фузии) потенциально может влиять и один из антиВИЧ-препаратов – энфувертид, являющийся на данный момент единственным известным препаратом с таким механизмом действия. Он связывается с мембранным гликопротеином gp41 оболочки вируса ВИЧ в области семикратно повторяющихся особых пептидов HR1, играющих роль пептидов слияния (пептидов фузии). Предполагается, что пептиды фузии в составе спайк-белков коронавируса, играющие ту же роль, что и гликопротеин gp41 у вируса ВИЧ, могут быть чувствительны к энфувертиду. Также, по аналогии с ВИЧ, можно ожидать синергетического действия энфувертида с другими антиковидными этиотропными препаратами.

Одним из мембранных белков вируса SARS-CoV-2, участвующих во взаимодействии вируса с клетками слизистой оболочки верхних дыхательных путей, является гликопротеин HE (гемагглютинин-эстераза). Известно, что в отношении родственного гликопротеина – гемагглютина вируса гриппа, аденовируса, респираторно-синцитиальных вирусов может быть эффективен препарат умифеновир (арбидол). Этот препарат рассматривался как потенциально перспективный для лечения коронавирусной инфекции, в связи с чем специалисты из Центра инфекцион-

ных болезней в Гуанчжоу изучили эффективность этого препарата в борьбе против новой коронавирусной инфекции. По их мнению, эти препараты бесполезны. Не обнаружено никакой разницы в самочувствии и показателях пациентов в группах, принимавших и не принимавших умифенавир, на 7 и 14 день болезни. Препарат не повлиял на снижение температуры, не облегчил кашель, а также не улучшил результаты компьютерной томографии легких [11].

Четвертое направление этиотропного противовирусного действия связано с **блокированием проникновения вируса в ядро клетки**, что делает невозможным его репликацию и ведет к разрушению вирусной РНК. Такое действие характерно для препарата ивермектин – известного антипаразитарного средства, применяемого для борьбы со вшами, чесоткой, онхоцеркозом, тропическими нематодозами. Механизм его противовирусного действия связывают со способностью блокировать работу гетеродимерного транспортера вируса через ядерную мембрану (Importin α/β 1-30), что приводит к доступности вирусной РНК для действия цитоплазматических эндонуклеаз; методом электронной микроскопии было показано, что в культуре клеток за двое суток он практически полностью (на 99%) разрушает вирус внутри клеток, блокируя его проникновение в ядро [15]. Изучение препарата первично проводили в Австралии. Клиническое исследование ивермектина проводилось в 169 клинических центрах в США, Южной Америке, Африке, Азии, Испании в качестве международного мультицентрового контролируемого открытого исследования, в котором приняло участие 1408 больных с covid-19 [26]. В этом исследовании, проходившем с 1 января до 31 марта 2020 г., было показано, что ивермектин в суточной дозе 150 мкг/кг достоверно снижал смертность пациентов (с 8,5% до 1,4% в общей группе, и с 21,3% до 7,3% в группе пациентов, находившихся на ИВЛ). Также достоверно снижалась длительность периода госпитализации выживших больных.

Пятое направление этиотропной тера-

пии связано с **блокадой РНК-зависимой РНК-полимеразы**. В составе нуклеофосфопротеина вируса SARS-CoV-2 присутствуют фермент РНК-зависимая РНК-полимераза и другие ферменты, обеспечивающие репликацию вирусной РНК и переключение работы клеточных механизмов размножения на работу по вирусной программе, включая ферменты сборки новых вирионов. Активность этого фермента может быть подавлена синтетическими аналогами нуклеотидов, встраивающимися в синтезируемую молекулу РНК и блокирующими активный центр этого ключевого фермента синтеза вирусных нуклеиновых кислот. Этот механизм хорошо известен для многих противовирусных средств, в том числе для применяемых для лечения ТОРС и лихорадки Эбола препаратов рамдесивир и фавипиравир. В связи с этим в ряде исследований [19; 20] изучалась эффективность ингибитора вирусного белка NSP12 – изоформы РНК-зависимой РНК-полимеразы препарата ремдесивир. Ремдесивир проявляет антивирусную активность против ряда одноцепочечных РНК-содержащих вирусов, таких как вирус Эбола, вирус Марбург, респираторно-синцитиальный вирус человека, вирус лихорадки Ласса и коронавирусов (включая вирусы MERS и SARS). Препарат фавипиравир – производное пирозилкарбоксамиды, после попадания в вирус-инфицированную клетку под влиянием вирусных нуклеотидкиназ метаболизируется до рибозилтрифосфата и приобретает способность связываться как ложный субстрат, с областью активного центра РНК-зависимой РНК-полимеразы, блокируя активность этого фермента. Применяется как средство терапии тяжелых форм гриппа, желтой лихорадки, лихорадки Западного Нила, лихорадки долины Рифт, энтеровирусной инфекции. В качестве средства экспериментальной терапии применялся для лечения коронавирусной атипичной пневмонии (ТОРС) и лихорадки Эбола, считается одним из самых перспективных лекарств против коронавируса SARS-Cov-2. В Китае он получил разрешение на выпуск в качестве средства лечения COVID-

19 и активно применяется. Клинические апробации фавипиравира проводятся во многих странах, в том числе и в России. Промежуточные результаты клинических испытаний препарата показали, что уже через 5 дней его приема 60% пациентов имеют отрицательный результат PCR-проб на коронавирус, в то время как при стандартной схеме лечения без фавипиравира таких больных было не более 30% [14]. Саранский «Биохимик» заявил о подготовке к выпуску этого препарата против коронавирусной инфекции [13].

Похожим действием обладает и противовирусный препарат широкого спектра действия **рибавирин**, который используется обычно для усиления действия других противовирусных средств при их плохой переносимости. Активный метаболит рибавирина образуется в вирус-инфицированной клетке под влиянием вирусной аденилаткиназы, одного из ключевых ферментов синтеза фосфорилированных нуклеотидов. Рибавиринатрифосфат – сильный конкурентный ингибитор инозин-монофосфат-дегидрогеназы, РНК-полимеразы и гуанилил-трансферазы информационной РНК, последнее проявляется торможением процесса покрытия информационной РНК белковой оболочкой. Эти разнообразные эффекты приводят к значительному снижению количества внутриклеточного гуанозинтрифосфата, а также подавлению синтеза вирусной РНК и белка. Рибавирин ингибирует репликацию новых вирионов, что обеспечивает снижение вирусной нагрузки, селективно ингибирует синтез вирусной РНК, не подавляя синтез РНК в нормально функционирующих клетках. Рибавирин наиболее активен в отношении ДНК-вирусов – респираторно-синцитиального вируса, вируса Herpes simplex типов 1 и 2, аденовирусов, цитомегаловируса, вирусов группы оспы, болезни Марека, и при инфекциях, вызванных этими вирусами, он может применяться в виде средства монотерапии. Его активность в качестве средства монотерапии инфекций, вызываемых РНК-вирусами: вирусами гриппа А и В, парамиксовирусами (парагриппа, эпидемического паротита, ньюкаслской болез-

ни), реовирусами, аренавирусами (вирус лихорадки Ласса, боливийской геморрагической лихорадки), буньявирусами (вирус лихорадки Долины Рифт, вирус Конго-Крымской геморрагической лихорадки), хантавирусами (вирус геморрагической лихорадки с почечным или легочным синдромом) онкогенными РНК-вирусами, слабее, но тем не менее может быть клинически значимой, особенно в сочетании с другими противовирусными средствами. Из 30 ограниченных клинических исследований в 26 было показано позитивное влияние рибавирина в высоких дозах в режиме монотерапии или в комбинированной терапии на течение инфекции, вызванной SARS-CoV-2, в 4 исследованиях были отмечены побочные эффекты высоких доз препарата на показатели крови и печени [28].

К группе ингибиторов РНК-зависимых РНК-полимераз относится также анти-ВИЧ препарат **абакавир**. Ранее препарат применялся в экспериментальных схемах терапии ближневосточного респираторного синдрома (MERS). В настоящее время для препарата проводится тестирование его потенциальной эффективности при инфекции SARS-CoV-2.

Пятое направление этиотропной терапии covid-19 связано с блоком процессинга (созревания) вирусных белков и нарушением сборки нуклеофосфопротеина вируса и вириона в целом. Это направление связано с **подавлением активности контролирующих этот процесс вирусных протеаз**. Основываясь на результатах первичных скрининговых анализов, компания «Pfizer» подтвердила, что одно из целевых веществ в создании новых препаратов для лечения новой коронавирусной инфекции и его аналоги являются мощными ингибиторами 3С-подобной протеазы SARS-CoV-2 [9]. Из ныне выпускающихся препаратов этой группы основным представителем является комбинированный препарат **допинавир+ритонавир** (Калетра), который является ингибитором протеазы ВИЧ. В ряде исследований было показано, что он также способен подавлять активность протеазы коронавируса MERS-CoV, что по-

служило основанием для изучения его возможной эффективности при инфекции covid-19. Ингибирование ВИЧ протеаз лопинавиром препятствует синтезу белков вируса и предотвращает расщепление концевой полипептида gag-pol, что приводит к образованию незрелого и неспособного к инфицированию вируса. Ритонавир ингибирует опосредованный изоферментом CYP3A метаболизм лопинавира в печени, что приводит к повышению концентрации лопинавира в плазме крови [16]. Ритонавир также является более слабым ингибитором протеазы ВИЧ. Предполагаемый на основе компьютерных моделирований противовирусный механизм действия в отношении нового коронавируса связан с воздействием на основную протеазу SARS-CoV-2 (эндопептидаза С30, неструктурный протеин NSP5). Проведенное рандомизированное контролируемое исследование продемонстрировало, что монотерапия лопинавиром+ритонавиром заболевания, вызванного SARS-CoV-2, не сокращала сроки госпитализации и не демонстрировала большую эффективность, чем стандартная симптоматическая терапия [11]. В связи с этим применение препарата в монотерапии может быть рекомендовано только при наличии противопоказаний к назначению других этиотропных средств или в комбинации с хлорохином, гидроксихлорохином, мефлохином [6].

Шестым направлением этиотропной терапии коронавирусной инфекции является применение **интерферонов системного действия**, к которым относятся интерфероны-альфа-1а и 1б, бета-1б, гамма-1, обладающие в разной степени выраженности антипролиферативной, противовирусной и иммуномодулирующей активностью. Противовирусное действие интерферонов альфа основано главным образом на повышении резистентности клеток организма, еще не инфицированных вирусом, к возможному воздействию. Связываясь со специфическими рецепторами на поверхности клетки, интерферон альфа изменяет свойства мембраны клетки, стимулирует эндогенные нуклеазы, расщепляющие РНК вируса, в том числе –

вновь синтезированные, и предотвращает его репликацию. Интерферон-гамма блокирует репликацию вирусных ДНК и РНК, синтез вирусных белков и сборку зрелых вирусных частиц, оказывает цитотоксическое воздействие на инфицированные вирусом клетки, блокирует синтез β -TGF, ответственного за развитие фиброза легких и печени. Интерферон-бета преимущественно проявляет иммуномодулирующее действие (основное показание к применению – рассеянный склероз), снижает секрецию провоспалительных цитокинов, усиливает супрессивную активность мононуклеаров, что в итоге снижает провоспалительные проявления цитокинового шторма. В проходящих клинических исследованиях инфекции SARS-CoV-2 интерферон бета-1-б используется в комбинации с лопинавир+ритонавир. За счет способности стимулировать синтез противовоспалительных цитокинов препараты ИФН- β 1б могут оказывать положительный патогенетический эффект. МЗ РФ рекомендует применение интерферона β -1б при коронавирусной инфекции подкожно по 8 000000 МЕ через день на протяжении 2 недель при пневмонии без дыхательной недостаточности или при обострении хронических бактериальных инфекций на фоне коронавирусной пневмонии, при развитии сепсиса (с противовирусными средствами и антибиотиками), а также при развитии ОРДС [6].

И, наконец, седьмое направление в группе средств этиотропной терапии – применение **препаратов хлорохинового ряда** (хлорохин, гидроксихлорохин, мефлохин) [18]. Расшифровка их молекулярного механизма действия еще не завершена, и большинство исследователей склоняется к точке зрения, что их действие носит преимущественно патогенетический характер (основная точка действия – взаимодействие с дополнительными воротами инфекции – CD147, что приводит к подавлению проникновения вируса в клетки-мишени, связывание и подавление активности сериновой протеазы TMPRSS2 (базигина), необходимой для активации спайк-белков и запуска процесса фузии – проникновения вируса в клетку-мишень

[5], связывание гемоглобин-атакующих неструктурных белков вируса, снижение высвобождения провоспалительных цитокинов, в особенности ИЛ-6 и ФНО- α , подавление пролиферации фибробластов) [1; 24] С точки зрения этиотропного действия установлена способность производных хлорохина тормозить гликозилирование протеинов оболочки вируса, в том числе ключевых для проникновения вируса в клетку-мишень спайк-белков, угнетать рН-зависимые фазы репликации вируса и его финальную сборку во вновь синтезированный вирион [1]. Предварительные результаты клинических исследований мефлохина у коронавирусных больных позволили МЗ РФ включить применение мефлохина и гидроксихлорохина в схемы ведения больных [6].

В качестве потенциально интересных направлений противовирусной терапии коронавирусной инфекции отдельными исследовательскими группами рассматриваются изучение прямой противовирусной активности азитромицина [9] и применение лектиновых соединений, для которых в структуре гликопротеинов вирусной оболочки выявлены потенциальные места связывания [2].

Заключение

Представленные обзорные материалы свидетельствуют, что в арсенале врачей имеется ряд препаратов, которые потенциально могут угнетать размножение вируса SARS-CoV-2 в организме человека, блокируя тем самым развитие коронавирусной инфекции. В подавляющем большинстве случаев предположение о возможной их эффективности основано на опыте применения лекарственных средств при отмечавшихся ранее вспышках коронавирусной инфекции – тяжелого острого респираторного дистресс-синдрома и ближневосточного респираторного синдрома, а также других инфекций, вызванных РНК-вирусами. Естественно, такие предположения требуют тщательной проверки как в биомедицинских, так и клинических исследованиях на целевом контингенте коронавирусных больных.

Судя по динамике эпидемического процесса, SARS-CoV-2 останется с чело-

веществом надолго, поэтому отработка эффективной этиотропной терапии новой коронавирусной инфекции актуальна не только в связи с текущей пандемией, но и для профилактики подобных эпидемий в будущем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Генетические факторы восприимчивости или устойчивости к коронавирусным инфекциям // Генокарта: [сайт]. URL: https://www.genokarta.ru/disease/Geneticheskie_factory_vospriimchivosti_ili_ustojchivosti_k_koronavirusnym_infekciyam
2. Коронавирус 2019-nCoV: могут ли фитопрепараты бороться с инфекцией // КОД жизни: [сайт]. URL: <https://kodelife.ru/koronavirus-2019-ncov-mogut-li-fitopreparaty-borotsya-s-infekciej/>
3. *Коротяев А.И., Бабищев С.А.* Медицинская микробиология, иммунология и вирусология. СПб.: СпецЛит, 2008. 320 с.
4. *Кривошеин Ю.С., Рудько А.П.* Средство инактивации коронавирусов. Патент РФ 2234313 от 04.06.2003 г.
5. Невидимый фронт: в поисках лекарства от коронавируса // Журнал «Популярная Механика»: [сайт]. URL: <https://www.popmech.ru/science/567234-nevidimyy-front-v-poiskah-lekarstva-ot-koronavirusa/>
6. Профилактика, диагностики и лечение новой коронавирусной инфекции. Временные методические рекомендации, версия 6 (24.04.2020). М.: МЗ РФ, 2020.
7. Почему SARS-CoV-2 распространяется так быстро? // Medical Insider: [сайт]. URL: <https://medicalinsider.ru/news/pochemu-sars-cov-2-rasprostranyaetsya-tak-bystro/>
8. Суперкомпьютер нашел лекарство против коронавируса // Lenta.ru: [сайт]. URL: <https://lenta.ru/news/2020/05/06/super/>
9. Фарма РФ: [сайт]. URL: <https://pharmarf.ru/company-announce-single/10993.html>
10. Фарма РФ: [сайт]. URL: <https://pharmarf.ru/company-announce-single/11268.html>
11. Фарма РФ: [сайт]. URL: <https://pharmarf.ru/concilium/11110.html>
12. Фарма РФ: [сайт]. URL:

<https://pharmarf.ru/concilium/11161.html>

13. Фарма РФ: [сайт]. URL: <https://pharmarf.ru/concilium/11265.html>

14. Фарма РФ: [сайт]. URL: <https://pharmarf.ru/concilium/11406.html>

15. *Caly L., Druce J.D., Catton M.G., Jans D.A., Wagstaff K.M.* The FDA approved Drug Ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vitro // doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104787

16. *Cao B., Wang Y., Wen D.* A Trial of Lopinavir-Ritonavir in Adults Hospitalized with Severe Covid-19 // *N. Engl. J. Med.* 2020 Mar 18.

17. Coronaviruses. *Encyclopedia Britannica*, April 20, 2020.

18. *Ferner R.E., Aronson J.K.* Chloroquine and hydroxychloroquine in covid-19 // *BMJ.* 2020. Apr 8. V. 369: m1432.

19. *Grein J., Ohmagari N., Shin D., Diaz G., Asperges E., Castagna A., Nicastri E.* Compassionate Use of Remdesivir for Patients with Severe Covid-19 // *N. Engl. J. Med.* 2020.

20. *Gordon C.J.* Remdesivir is a direct-acting antiviral that inhibits RNA-dependent RNA polymerase from severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 with high potency. // *JBC.* 2020.

21. *Gurwitz D.* Angiotensin receptor blockers as tentative SARS-CoV-2 therapeutics // *Drug Dev. Res.*, 2020. Mar 4. PMID: 32129518.

22. *Korber B., Fischer W.M., Gnanakaran S., Yoon H., Theiler J., Abfalterer W., Foley B., Giorgi E.E., Bhattacharya T, Parker M.D., Partridge D.G., Evans C.M., de Silva T.* Spike mutation pipeline reveals the

emergence of a more transmissible form of SARS-CoV-2. URL: <https://doi.org/10.1101/2020.04.29.069054>

23. *Lei C., Fu W., Qian K., Li T., Zhang S., Ding M., Hu S.* Potent neutralization of 2019 novel coronavirus by recombinant ACE2-Ig. URL: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.02.01.929976>

24. *Liu W., Lan H.* COVID-19: Attacks the 1-Beta Chain of Hemoglobin and Captures the Porphyrin to Inhibit Human Heme Metabolism: preprint. URL: https://chemrxiv.org/articles/COVID-19_Disease_ORF8_and_Surface_Glycoprotein_inhibit_Heme_Metabolism_by_Binding_to_Porphyrin/11938173

25. *Miller J.K., Whittaker G.R.* Physiological and molecular triggers for SARS-CoV membrane fusion and entry into host cells // *Virology.* 2018. V. 517. P. 3–8.

26. *Patel A., Desai S.S., Graiger D.W., Mehra M.R.* Usefulness of Ivermectin in covid-19 illness. URL: https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3580524

27. *Phan T.* Genetic diversity and evolution of SARS-CoV-2 // *Infection, Genetics and Evolution.* 2020. V. 81. P104260.

28. *Sanders J.M., Monogue M.L., Jodlowski T.Z., Cutrell J.B.* Pharmacologic Treatments for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review // *JAMA.* Published online. 2020. April 13.

29. *Walls A.C., Park Y.-J., Tortorici M.A., Wall A., McGuire A.T., Veesele D.* Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein // *Cell.* 2020. V. 181. Iss. 2 (16.04.2020). P. 281–292.