

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МИШЕНИ В ХИМИОТЕРАПИИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Обзор

© 2020 О.П. Жирнов^{1,2}

¹ ООО «Русско-немецкая академия медицинских и биотехнологических наук», Инновационный центр Сколково, 121665 Москва, Сколково, Россия; электронная почта: zhirnov@inbox.ru

² Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, 123098 Москва, Россия

Поступила в редакцию 18.03.2020

После доработки 22.03.2020

Принята к публикации 22.03.2020

В патогенезе инфекционного процесса, вызванного в респираторном тракте коронавирусами SARS, MERS, Covid-2019 и др., можно выделить две стадии: раннюю (этиотропную) и позднюю (патогенетическую). На первой стадии, когда доминируют размножение и накопление вируса, показано применение химиотерапевтических средств, блокирующих размножение вируса. В статье рассмотрены 6 главных химиотерапевтических классов, направленных на различные вирусные мишени: ингибиторы вирусной РНК-полимеразы, ингибиторы вирусной протеазы Mpro, ингибиторы протеолитической активации вирусного белка S, осуществляющего вход вируса в клетку-мишень, ингибиторы вирусной депротеинизации в клеточных эндосомах, препараты экзогенного интерферона, препараты природных и рекомбинантных вируснейтрализующих антител. На второй стадии, когда размножение вируса падает и доминируют угрожающие патологические процессы избыточного воспаления, острого респираторного дистресс синдрома, отека легочной ткани, гипоксии и угрожающего сепсиса, на первый план выходят применение патогенетических средств, таких как экстракорпоральная оксигенация крови, дезинтоксикационные, противовоспалительные и антибактериальные терапевтические средства и мероприятия.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: коронавирусы, Covid-2019, химиотерапия, патогенез, лекарства.

DOI: 10.31857/S0320972520050012

ВВЕДЕНИЕ

Семейство коронавирусов (Coronaviridae) образовано многочисленными вирусами человека и многих животных, включая вирусы сельскохозяйственных и диких животных (кошек, собак, летучих мышей, коров, верблюдов, свиней, птиц и др.). Семейство формируют два подсемейства (Letovirinae и Orthocoronavirinae), которые включают вирусы 5 родов и ~40 видов вирусов [1]. Подсемейство Orthocoronavirinae, в которое входят коронавирусы человека, состоит из четырех родов: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* и *Deltacoronavirus*. Коронавирусы поражают различные органы и ткани инфицированного организма и являются возбудителями широкого круга заболеваний в том числе и тяжелого поражения респираторного тракта человека, так называемой атипичной пневмо-

нии. Как правило, вирусы данного семейства вызывают острую инфекцию с признаками воспаления, имеющего характерные свойства цитокинового шторма [2, 3].

Коронавирусы имеют липидную оболочку (оболочечные вирусы) и содержат геномную РНК позитивной полярности, которая транслируется рибосомами и направляет синтез вирусных белков и субгеномных РНК с последующей репликацией вирусного генома и сборкой вирусных частиц [1, 4]. Геномная РНК коронавирусов состоит у разных вирусов из $(25-30) \times 10^3$ нуклеотидов и кодирует 22–29 вирусных генов и соответствующих белков, из которых 4 главных белка (N, S, M, E) формируют вирусные частицы (таблица). В состав вирионов могут входить и дополнительные минорные вирусные белки, выполняющие роль ионных каналов (виropорин) [5].

В настоящее время возник повышенный интерес к семейству коронавирусов, что обусловлено появлением опасной формы пневмонии у людей, вызванной штаммом бетакоронавируса

Принятые сокращения: MERS – ближневосточный респираторный синдром (Middle East Respiratory Syndrome); SARS – тяжелый острый респираторный синдром (Severe Acute Respiratory Syndrome).

Гены и белки бетакоронавирусов и их ингибиторы

Название гена ¹⁾	Название белка (домена) и его размер (а.о.)	Присутствие в вирионе	Функция белка	Ингибитор вирусного белка ²⁾	Ссылки
<i>Iab</i> ³⁾	(7096)	–	–	–	–
<i>nsp1</i>	(180)	–	деградация клеточных мРНК, ингибирование ИНФ	–	–
<i>nsp2</i>	трансмембранный белок (638)	–	активация NFκB, усиление воспаления	–	–
<i>nsp3</i>	трансмембранный белок PLpro ⁴⁾ (1945)	–	цистеиновая протеаза, выключение p53 и индукции ИНФ	ритонавир/ лопинавир	[6–9]
<i>nsp4</i>	(500)	–	формирование DMV	–	–
<i>nsp5</i>	Mpro (306)	–	цистеиновая протеаза, ингибирование ИНФ	ритонавир/ лопинавир	[6–9]
<i>nsp6</i>	(290)	–	ограничение аутофагии, формирование DMV	–	–
<i>nsp7</i>	(83)	–	кофактор nsp8, nsp12	–	–
<i>nsp8</i>	(198)	–	кофактор nsp7, nsp12	–	–
<i>nsp9</i>	(113)	–	димеризация и связывание РНК	–	–
<i>nsp10</i>	(139)	–	платформа для nsp12, nsp14	–	–
<i>nsp11</i>	(13)	–	(?) ⁵⁾	–	–
<i>nsp12</i>	Pol (932)	–	РНК-зависимая РНК полимераз	рибавирин фавипиравир ремдесивир	[10–12] [13] [6, 14, 15]
<i>nsp13</i>	(601)	–	РНК хеликаза, 5'-фосфатаза	–	–
<i>nsp14</i>	(527)	–	3'→5' экзо-рибонуклеаза	–	–
<i>nsp15</i>	(346)	–	эндо-рибонуклеаза, сенсор дцРНК	–	–
<i>nsp16</i>	(298)	–	2-O-MТаза, MDA5 сенсор, ингибитор пути ИНФ	–	–
<i>S</i>	белок оболочки («spike protein») (1278)	+	вход вируса в клетку-мишень	ингибиторы протеаз пептиды-ингибиторы слияния хлорохин антитела	[16–22] ⁶⁾ [23] ⁷⁾ [24–26] [27–32]
<i>3a</i>	(275)	(?) ⁵⁾	усиление цитокинового ответа и воспаления через NLRP3	–	–
<i>E</i>	белок оболочки (виropорин) (75)	+	ионный канал, регулирует сборку вирионов	хлорохин антитела	[24–26] [27–32]
<i>M</i>	белок вирусного матрикса (222)	+	объединяет оболочку и нуклеокапсид	–	–

Окончание таблицы

Название гена ¹⁾	Название белка (домена) и его размер (а.о.)	Присутствие в вирионе	Функция белка	Ингибитор вирусного белка ²⁾	Ссылки
<i>6</i>	(61)	(?)	–	–	–
<i>7a/b</i>	трансмембранный белок (121/43)	+	повышает продукцию вируса	–	–
<i>8a</i>	трансмембранный белок (121)	(?)	убиквитинирует IRF3, снижает выработку ИНФ	–	–
<i>9b</i>	(38)	(?)	–	–	–
<i>N</i>	белок нуклеокапсида (419)	+	вместе с РНК формирует внутренний нуклеокапсид	–	–

Примечание. ¹⁾ Гены и их название (или их доменов) вируса Covid-2019 указаны по порядку от 5'-конца геномной РНК и их название [5]. При определении размера белков (указано количество аминокислотных остатков) использованы данные GenBank (ac.n. YP-009725301.1).

²⁾ Приведены классы ингибиторов с идентифицированным механизмом действия.

³⁾ Функции белков nsp1-nsp16 (протеолитических продуктов полипротеина гена *lab*) приведены в публикациях [5, 33, 34].

⁴⁾ У вируса Covid-2019 в белке nsp3 отсутствует один из двух папаин-подобных протеазных доменов, но сохраняются убиквитиновые домены [35].

⁵⁾ Знаком (?) отмечены продукты генов с неустановленной функцией (данные отсутствуют).

⁶⁾ Протеазные ингибиторы (камостат, апротинин, лотевирин и др.) опосредованно блокируют активацию функции внедрения в клетку-мишень белка S через ингибирование его протеолитического расщепления на активные субъединицы S→S1/S2.

⁷⁾ Олигопептидные ингибиторы фузионной активности белка S при внедрении вируса в клетку-мишень [23].

Covid-2019 [4]. Этот штамм оказался близкородственным штаммам, изолированным от летучих мышей, а также вирусам тяжелого острого респираторного синдрома (SARS, Severe Acute Respiratory Syndrome) и ближневосточного респираторного синдрома (MERS, Middle East Respiratory Syndrome), которые вызвали вспышку тяжелой пневмонии у людей, так называемой атипичной пневмонии в 2003 и 2012 гг. соответственно. Эти вспышки не получили широкого пандемического распространения, но имели угрожающий характер, т.к. вызвали высокую смертность среди заболевших на уровне 9,6–35,5% [2, 36]. Возникшая угроза развития коронарусной пандемии диктует необходимость разработки высокоэффективных химиопрепаратов против коронавирусов, отработки принципов применения имеющихся противовирусных химиопрепаратов и разработки патогенетических подходов к лечению болезни.

На текущий момент можно выделить 6 основных химиотерапевтических классов веществ, воздействующих на различные вирусные мишени и способных останавливать размножение коронавируса и тормозить развитие заболевания. Эти классы веществ разработаны на основе современных знаний о репликации коронавирусов и патогенетических механизмов коронарусной инфекции. К данным классам

можно отнести: (1) ингибиторы вирусной полимеразы; (2) ингибиторы вирусной протеазы Mpro, участвующей в формировании активной полимеразы вируса; (3) ингибиторы клеточных протеаз, участвующих в активации вирусного белка S, регулирующего вход вируса в клетку-мишень; (4) ингибиторы депротенинизации вируса в клеточных эндосомах; (5) препараты, полученные на основе рекомбинантных интерферонов $\alpha 2$ и $\beta 1$; (6) препараты, созданные на основе противовирусных антител.

ИНГИБИТОРЫ ВИРУСНОЙ ПОЛИМЕРАЗЫ

Классической мишенью химиотерапевтического воздействия на вирусы служит его полимераз. Блокирование этого фермента ингибирует репликацию вирусного генома и останавливает размножение вируса. На сегодня имеются полиспецифические ингибиторы РНК полимераз, активные в отношении многих вирусов, поскольку структурные и функциональные свойства РНК-полимераз у различных вирусов имеют выраженное сходство [37]. Среди таких ингибиторов данного класса можно выделить *рибавирин* (фуранозил карбоксамид), обладающий высокой активностью в отношении многих вирусов [10] (включая коронавирусы) при кон-

центрации 10–25 нМ (IC_{50}) с высоким индексом селективности на уровне >100 [10–12]. Поскольку основной очаг инфекции, вызванный коронавирусами SARS, MERS и Covid-2019, локализован в респираторном тракте, оптимальной лечебной формой рибавирина при данных инфекциях служат аэрозольные ингаляции, которые позволяют создать эффективные противовирусные и нетоксичные концентрации лекарства в эпителии респираторного тракта при ингаляционном введении аэрозоля рибавирина. Этот вывод базируется на данных о низкой легочной биодоступности рибавирина (1%) при пероральном способе введения и, наоборот, высокой легочной биодоступности (>70%) и активации рибавирина посредством фосфорилирования в респираторном эпителии при его ингаляционном введении в форме аэрозоля [12]. Важно отметить, что прямое аэрозольное воздействие на респираторный эпителий будет наиболее активным и эффективным на ранних сроках после инфицирования организма, когда размножение вируса находится в стадии роста, а патологические процессы воспаления и отека не достигли угрожающего уровня.

Вторым кандидатным препаратом против коронавируса может служить препарат нового поколения *фавипиравир* и его рибозилированные дериваты [13]. Это соединение обладает высокой противовирусной активностью в отношении многих РНК-содержащих вирусов и обладает высоким уровнем селективности [13]. Третьим кандидатным препаратом можно рассматривать ингибитор вирусных полимераз широкого противовирусного действия, синтезированный на основе фосфорилированной формы 1-циано замещенного аденозина (*remdisivir*), имеющий высокий противовирусный потенциал (IC_{50}) на уровне 50–70 нМ для разных вирусов, включая коронавирусы [14, 15]. Препарат *ремдисивир* находится на завершающей стадии клинических испытаний [6].

ИНГИБИТОРЫ КОРОНАВИРУСНОЙ ПРОТЕАЗЫ Mpro

Первым этапом репликации коронавируса после внедрения в клетку-мишень является трансляция вирусной РНК с образованием полипротеина 1ab с ММ ~750 кДа, который претерпевает аутопротеолитическое расщепление у разных вирусов на 14–16 фрагментов (nsp1–nsp16), которые выполняют функцию активной вирусной полимеразы и регулируют репликацию вирусного генома и синтез вирусных белков в инфицированных клетках [1]. Оказа-

лось, что разрезание полимеразного полипротеина 1ab (pp1ab) осуществляется доменом 5 (nsp 5) самого полипротеина (так называемым, протеазным доменом Mpro), который по своей специфичности протеолитических сайтов был близок к протеазе пикоронавирусов и вируса ВИЧ [38] и чувствителен к бинарному протеазному ингибитору лопинавир/ритонавир (препарат *калетра*) [6–9]. У ряда вирусов два начальных разрыва в полипротеине 1ab осуществляет белок nsp3 (PLpro), также имеющий папаин-подобный домен цистеиновой протеазы [35]. Препарат лопинавир/ритонавир, имитирующий протеолитические сайты-мишени в вирусных белках, оказывал заметный лечебный эффект при инфекциях, вызванных SARS и MERS, проявляя IC_{50} на уровне 5–20 нМ [6, 9]. Структурное сходство протеазного домена nsp5 у вирусов Covid-2019, SARS и MERS позволяет уверенно рекомендовать этот препарат для лечения пневмонии Covid-2019 [7, 9]. Особенно эффективно данный препарат будет работать в фазе активного размножения вируса на первых этапах инфекции.

ИНГИБИТОРЫ КЛЕТОЧНЫХ ПРОТЕАЗ

Внедрение вируса в клетку-мишень осуществляет вирусный гликопротеид S (ММ 150 кДа) [1]. Для активации этой функции белок S претерпевает специфическое разрезание на две субъединицы S1 и S2 в зоне специфического протеолитического сайта (641–687 а.о.) [38, 39]. Клеточная трансмембранная протеаза TMPRSS2 участвует в указанной протеолитической активации белка S [15, 38], а ингибиторы этой протеазы способны останавливать заражение клеток и распространение вируса в очаге инфекции [16]. Для практической реализации данного химиотерапевтического подхода можно рекомендовать разрешенные для клинического применения препараты протеазных ингибиторов: камостат [16] и апротинин [17–19].

Более того, указанные антипротеазные препараты обладают выраженной противовоспалительной активностью, так как способны ингибировать ряд провоспалительных цитокинов и их биохимических путей [19, 40]. Это свойство ингибиторов протеаз будет обеспечивать патогенетическое действие по снижению воспаления и отека легких, что будет оказывать благотворное действие во второй фазе инфекционного процесса, когда ведущее влияние на тяжесть заболевания оказывают патогенетические механизмы, связанные с чрезмерной активацией протеаз и сопутствующим повышением уровня активных провоспалительных цитокинов [41, 42].

Недавние сообщения из Китая позволяют предположить, что наряду с протеазой TMPRSS2 [16, 38] в протеолитической активации белка S и вируса Covid-2019 может участвовать клеточная протеаза фуринового типа и протеаза эндосом катепсин L [16, 39, 42]. Если предположение о роли фурина в активации вируса Covid-2019 подтвердится, для подавления этого класса протеаз с противовирусной целью можно рекомендовать природные ингибиторы растительного происхождения [20] и синтетические олигопептидные ингибиторы [21, 22].

ИНГИБИТОР ВИРУСНОГО ВХОДА В КЛЕТКУ-МИШЕНЬ

В медицинской практике лечения малярии широко применяется препарат *хлорохин* (Chloroquine). Этот препарат имеет выраженную активность против коронавирусов в культуре клеток и на животных моделях [24]. Механизм действия данного агента против многих вирусов, включая и коронавирусы, обусловлен повышением кислого pH в зоне клеточных эндосом, что препятствует конформационному pH-зависимому переходу вирусных белков слияния (белка S у коронавирусов) в активное состояние, и как результат, тормозит стадию депроteinизации (так называемого «раздевания») вируса в клеточных эндосомах и предотвращает последующее инфицирование вирусом клетки-мишени; также препарат может изменять гликозилирование клеточных рецепторов, в том числе ACE2, который используется вирусами Covid-2019 и SARS для внедрения в клетку-мишень [25]. На этом основании препарат рекомендован для лечения инфекции, вызванной вирусом Covid-2019, и уже показал положительный лечебный эффект у больных коронавирусной инфекцией в Китае [26].

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СПЕЦИФИЧНЫХ ПРОТИВОВИРУСНЫХ АНТИТЕЛ

Данный подход к терапии коронавирусной инфекции основан на использовании антител, которые способны нейтрализовать инфекционные свойства коронавируса. Также введение антител можно использовать и для ранней профилактики, так называемый метод пассивной иммунизации. Существуют две принципиальные возможности реализации метода терапии антителами [28–30]. Первая заключается в создании и получении на основе современной генной инженерии и биотехнологии противовирусных ан-

тител (или их активных противовирусных доменов) направленного вируснейтрализующего действия. Пока такие препараты антител против коронавирусов, включая Covid-2019, не созданы [27]. Вторая возможность, более традиционная и простая, заключается в использовании специфического противовирусного иммунного глобулина, который, как правило, получают от людей-реконвалесцентов после перенесенной коронавирусной инфекции, в частности Covid-2019, либо от животных, вакцинированных вирусом Covid-2019 или его компонентами [31, 32]. Имеются первые наблюдения успешного применения иммунного глобулина от людей-реконвалесцентов при инфекции MERS и Covid-2019 для лечения больных с аналогичной инфекцией в Китае во время последней вспышки в 2020 году [43].

Препараты противовирусных антител следует применять с некоторой осмотрительностью, так как имеются сообщения о возможности усиления инфекционности коронавирусов для клеток иммунной системы некоторыми вариантами антител, искусственно полученными к поверхностному белку S [44]. Однако такие типы антител в сыворотках реконвалесцентов пока обнаружить не удавалось [31]. Для успешного лечения необходимы препараты сыворотки крови реконвалесцентов с высоким содержанием антител, с титрами противовирусных антител в реакции РТГА 1/80 и выше [32].

ПРЕПАРАТЫ ИНТЕРФЕРОНА

Для лечения близкородственных заболеваний, вызванных вирусами SARS, MERS и Covid-2019, применяли препараты интерферона человека субтипов $\alpha 2$ и $\beta 1$ [45, 46]. Незначительное лечебное действие оказывал интерферон $\beta 1$, тогда как препарат интерферона $\alpha 2$ не проявлял заметной лечебной активности, но наиболее выраженный лечебный эффект наблюдали при применении интерферона $\beta 1$ в комбинации с рибавирином [6, 11, 46]. При выборе лечебной тактики следует иметь в виду, что препараты интерферона могут быть наиболее эффективными лишь на самых ранних сроках заболевания, когда реакция организма-хозяина еще не достигла заметного уровня или своего апогея [2, 47, 48]. На более поздних этапах болезни применение экзогенного интерферона вряд ли целесообразно в силу высокого уровня собственного эндогенного интерферона, синтезированного в ответ на острую вирусную инфекцию коронавирусом. Более того, введение экзогенного интерферона на поздних этапах инфекционного процесса,

дополнительно повышая уже сформировавшийся высокий эндогенный уровень интерферонов, может усиливать цитокиновый шторм и воспаление в очаге инфекции и усугублять течение болезни [3, 48].

КОМБИНИРОВАННАЯ ХИМИОТЕРАПИЯ

Совместное применение нескольких лекарств (химиопрепаратов), воздействующих на различные этапы размножения вируса или патогенеза болезни, так называемая комбинированная химиотерапия, использовалась для лечения коронавирусной инфекции. Положительный лечебный эффект наблюдали при применении рибавирина, интерферона $\beta 1$, лопинавира/ритонавира [6, 11, 46]. Комбинированная химиотерапия позволяет (1) повысить эффективность лечения, (2) снизить лечебные дозы препаратов, (3) предотвратить возникновение опасных вирусных мутантов с повышенной вирулентностью. Известно, что при использовании комбинированной химиотерапии риск появления вирусных мутантов в пораженном организме сводится к минимуму [49].

СООТНОШЕНИЕ ЭТИОТРОПНЫХ И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ХИМИОТЕРАПИИ ВИРУСНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ

В динамике развития острого вирусного заболевания можно выделить две главные стадии. Ранняя (этиотропная) стадия, на которой доминирует размножение вируса, так называемая логарифмическая фаза размножения и накопления вируса (7–10 день от начала инфицирования макроорганизма вирусом). На этом этапе в ответ на вирус и инфицированные клетки начинает формироваться защитная реакция организма-хозяина специфического типа (синтез иммунных глобулинов, специфических клонов лейкоцитов, интерферона) и общего воспалительного типа на основе синтеза и активации хемокинов и цитокинов в очаге инфекции. На второй, более поздней стадии заболевания, размножение вируса падает и развивается вторая патогенетическая фаза болезни, когда формируются механизмы, критически влияющие на исход болезни и несущие угрозу осложнений. К таковым следует отнести развитие чрезмерного воспаления, формирование острого респираторного дистресс-синдрома, отека легких и гипоксии, присоединение патогенных микробов и возникновение сепсиса [2, 3, 50].

В соответствии с двухфазным развитием патогенеза целесообразно выстраивать лечебную тактику заболевания. На этиотропной стадии в лечебном арсенале необходимо максимальное применение специфических этиотропных химиопрепаратов. В случае коронавирусной инфекции к таковым следует отнести лопинавир/ритонавир, ингаляции аэрозольного рибавирина, инъекции специфических противовирусных антител, ингибиторы клеточных протеаз, препараты интерферона, в частности $\beta 1$ (см. соответствующие разделы выше). На второй патогенетической стадии заболевания лечебная стратегия направлена на устранение или купирование патологических механизмов, угрожающих жизни пациента. Лечебная тактика строится на основе учета состояния и тяжести патологических процессов и, главным образом, направлена на устранение интоксикации, снижение отека легких, оксигенацию крови для компенсации легочной недостаточности, главным образом, методом экстракорпоральной оксигенации крови (ЭКМО) во избежание разрыва отечного легкого в случае применения принудительной ингаляционной оксигенотерапии. На этой стадии следует применять также противовоспалительные средства (но с осторожностью гормональные средства) для восстановления дыхательной функции легких, и особое значение имеет антибактериальная терапия для предотвращения возникновения и развития пневмонии и сопутствующего сепсиса [51, 52].

Во второй фазе болезни не имеет большого смысла применение противовирусной химиотерапии по двум причинам. Во-первых, к этому периоду болезни в организме образуются специфические противовирусные антитела и лейкоциты, ингибирующие размножение вируса и устраняющие инфицирование новых клеток [3, 28, 48]. Во-вторых, исключение химиопрепаратов будет способствовать снижению их побочного токсического воздействия на формирование полноценной иммунной реакции организма по образованию антител, лейкоцитов и интерферонов. Однако следует иметь в виду возможное для коронавирусов обострение патогенеза заболевания в результате эволюции и смены заражающего вируса в одном организме. Такой феномен описан для бетакоронавирусов, когда у одного больного в ходе болезни может возникнуть более вирулентный вирусный штамм, вызывающий существенное обострение течения болезни и угрозу смерти [53–55]. Поэтому в случае развития неполноценной иммунной реакции у пациента и наличия признаков остаточной вирусной инфекции следует продолжать применение противовирусных химиопрепара-

тов для снижения риска возникновения в организме вирусных мутантов с повышенной вирулентностью. Представляется важным, что для эффективного предотвращения возникновения высоковирулентных вирусных мутантов целесообразно уже на ранних этапах инфекции назначение комбинации химиопрепаратов, направленных на различные мишени в репродукции вируса.

Бетакоронавирусы, включая вирус Covid-2019, вызывают поражение респираторного тракта, которое нередко заканчивается угрожающим отеком легкого, тяжелой гипоксией и развитием сепсиса. В патогенезе заболевания можно выделить две стадии: этиотропную и патогенетическую. На первой стадии доминирует размножение и накопление вируса и появление начальных патологических нарушений в респираторном тракте. На второй стадии размножение вируса падает, но, как следствие действия вируса, развиваются патологические процессы, обусловленные, главным образом, чрезмерным воспалением и отеком легких. В первой фазе бо-

лезни представляется целесообразным применение химиотерапевтических средств и их комбинаций (аэрозольный рибавирин, лопинавир/ритонавир, ингибиторы протеаз, препараты интерферона, противовирусные антитела), направленных на подавление различных мишеней в размножении вируса. На второй стадии болезни представляется целесообразным и важным применение патогенетических средств для купирования угрожающих жизни процессов избыточного воспаления, интоксикации, гипоксии и сепсиса.

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность В.О. Жирновой за помощь в подготовке статьи, а также Ф.И. Чернышовой за критическое прочтение статьи.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания выполненных автором исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Fehr, R. A., and Perlman, S. (2015) Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis, *Methods Mol. Biol.*, **1282**, 1-23, doi: 10.1007/978-1-4939-2438-7_1.
- Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu, X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., Xiao, Y., Gao, H., Guo, L., Xie, J., Wang, G., Jiang, R., Gao, Z., Jin, Q., Wang, J., and Cao, B. (2020) Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China, *Lancet*, **395**, 497-506, doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
- Zheng, J., and Perlman, S. (2018) Immune responses in influenza A virus and human coronavirus infections: an ongoing battle between the virus and host, *Curr. Opin. Virol.*, **28**, 43-52, doi: 10.1016/j.coviro.2017.11.002.
- Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B., Wu, H., Wang, W., Song, H., Huang, B., Zhu, N., Bi, Y., Ma, X., Zhan, F., Wang, L., Hu, T., Zhou, H., Hu, Z., Zhou, W., Zhao, L., Chen, J., Meng, Y., Wang, J., Lin, Y., Yuan, J., Xie, Z., Ma, J., Liu, W. J., Wang, D., Xu, W., Holmes, E. C., Gao, G. F., Wu, G., Chen, W., Shi, W., and Tan, W. (2020) Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding, *Lancet*, **395**, 565-574, doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
- Chen, Y., Liu, Q., and Guo, D. (2020) Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis, *J. Med. Virol.*, **92**, 418-423, doi: 10.1002/jmv.25681.
- Sheahan, T. P., Sims, A. C., Leist, S. R., Schäfer, A., Won, J., Brown, A. J., Montgomery, S. A., Hogg, A., Babusis, D., Clarke, M. O., Spahn, J. E., Bauer, L., Sellers, S., Porter, D., Feng, J. Y., Cihlar, T., Jordan, R., Denison, M. R., and Baric, R. S. (2020) Comparative therapeutic efficacy of remdesivir and combination lopinavir, ritonavir, and interferon beta against MERS-CoV, *Nat Commun.*, **11**, 222, doi: 10.1038/s41467-019-13940-6.
- Xue, X., Yu, H., Yang, H., Xue, F., Wu, Z., Shen, W., Li, J., Zhou, Z., Ding, Y., Zhao, Q., Zhang, X. C., Liao, M., Bartlam, M., and Rao, Z. (2008) Structures of two coronavirus main proteases: implications for substrate binding and antiviral drug design, *J. Virol.*, **82**, 2515-2527.
- Al-Tawfiq, J. A., and Memish, Z. A. (2017) Update on therapeutic options for Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV), *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.*, **15**, 269-275, doi: 10.1080/14787210.2017.1271712.
- Liu, X., and Wang, X. J. (2020) Potential inhibitors for 2019-nCoV coronavirus M protease from clinically approved medicines, *BioRxiv*, doi: 10.1101/2020.01.29.924100.
- Sidwell, R. W., Robins, R. K., and Hillyard, I. W. (1979) Ribavirin: an antiviral agent, *Pharmacol. Ther.*, **6**, 123-146.
- Morgenstern, B., Michaelis, M., Baer, P. C., Doerr, H. W., and Cinatl, J. Jr. (2005) Ribavirin and interferon-beta synergistically inhibit SARS-associated coronavirus replication in animal and human cell lines, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **326**, 905-908.
- Gilbert, B. E., and Knight, V. (1986) Biochemistry and clinical applications of ribavirin, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **30**, 201-205.
- Delang, L., Abdelnabi, R., and Neyts, J. (2018) Favipiravir as a potential countermeasure against neglected and emerging RNA viruses, *Antiviral. Res.*, **153**, 85-94, doi: 10.1016/j.antiviral.2018.03.003.
- Sheahan, T. P., Sims, A. C., Graham, R. L., Menachery, V. D., Gralinski, L. E., Case, J. B., Leist, S. R., Pyrc, K., Feng, J. Y., Trantcheva, I., Bannister, R., Park, Y., Babusis, D., Clarke, M. O., Mackman, R. L., Spahn, J. E., Palmiotti, C. A., Siegel, D., Ray, A. S., Cihlar, T., Jordan, R., Denison, M. R., and Baric, R. S. (2017) Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses, *Sci. Transl. Med.*, **9**, 396, doi: 10.1126/scitranslmed.aal3653.
- Lo, M. K., Jordan, R., Arvey, A., Sudhamsu, J., Shrivastava-Ranjan, P., Hotard, A. L., Flint, M.,

- McMullan, L. K., Siegel, D., Clarke, M. O., Mackman, R. L., Hui, H. C., Perron, M., Ray, A. S., Cihlar, T., Nichol, S. T., and Spiropoulou, C. F. (2017) GS-5734 and its parent nucleoside analog inhibit Filo-, Pneumo-, and Paramyxoviruses, *Sci. Rep.*, **7**, 43395, doi: 10.1038/srep43395.
16. Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T. S., Herrler, G., Wu, N. H., Nitsche, A., Müller, M. A., Drosten, C., and Pöhlmann, S. (2020) SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor, *Cell*, doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
17. Жирнов О. П. (2015) Комбинированный аэрозольный состав на основе ингибиторов протеаз и его получение, Патент РФ № 2711080.
18. Жирнов О. П. (2012) Фармацевтический аэрозольный состав ингибитора протеаз, Патент ЕАПО № 201201362.
19. Zhirnov, O. P., Klenk, H. D., and Wright, P. F. (2011) Aprotinin and similar protease inhibitors as drugs against influenza, *Antiviral. Res.*, **92**, 27-36, doi: 10.1016/j.antiviral.2011.07.014.
20. Peng, M., Watanabe, S., Chan, K. W. K., He, Q., Zhao, Y., Zhang, Z., Lai, X., Luo, D., Vasudevan, S. G., and Li, G. (2017) Luteolin restricts dengue virus replication through inhibition of the proprotein convertase furin, *Antiviral. Res.*, **143**, 176-185, doi: 10.1016/j.antiviral.2017.03.026.
21. Shiryayev, S. A., Remacle, A. G., Ratnikov, B. I., Nelson, N. A., Savinov, A. Y., Wei, G., Bottini, M., Rega, M. F., Parent, A., Desjardins, R., Fugere, M., Day, R., Sabet, M., Pellecchia, M., Liddington, R. C., Smith, J. W., Mustelin, T., Guiney, D. G., Lebl, M., and Strongin, A. Y. (2007) Targeting host cell furin proprotein convertases as a therapeutic strategy against bacterial toxins and viral pathogens, *J. Biol. Chem.*, **282**, 20847-20853.
22. Braun, E., and Sauter, D. (2019) Furin-mediated protein processing in infectious diseases and cancer, *Clin. Transl. Immunol.*, **8**, e1073, doi: 10.1002/cti2.1073.
23. Xia, S., Yan, L., Xu, W., Agrawal, A. S., Algaissi, A., Tseng, C. K., Wang, Q., Du, L., Tan, W., Wilson, I. A., Jiang, S., Yang, B., and Lu, L. (2019) A pan-coronavirus fusion inhibitor targeting the HR1 domain of human coronavirus spike, *Sci. Adv.*, **5**, eaav4580, doi: 10.1126/sciadv.aav4580.
24. Rolain, J. M., Colson, P., and Raoult, D. (2007) Recycling of chloroquine and its hydroxyl analogue to face bacterial, fungal and viral infections in the 21st century, *Int. J. Antimicrob. Agents*, **30**, 297-308.
25. Colson, P., Rolain, J. M., and Raoult, D. (2020) Chloroquine for the 2019 novel coronavirus SARS-CoV-2, *Int. J. Antimicrob. Agents*, **105923**, doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105923.
26. Gao, J., Tian, Z., and Yang, X. (2020) Breakthrough: chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies, *Biosci. Trends*, **14**, 72-73, doi: 10.5582/bst.2020.01047.
27. Shanmugaraj, B., Siriwattananon, K., Wangkanont, K., and Phoolcharoen, W. (2020) Perspectives on monoclonal antibody therapy as potential therapeutic intervention for Coronavirus disease-19 (COVID-19), *Asian Pac. J. Allergy Immunol.*, **38**, 10-18, doi: 10.12932/AP-200220-0773.
28. Mair-Jenkins, J., Saavedra-Campos, M., Baillie, J. K., Cleary, P., Khaw, F. M., Lim, W. S., Makki, S., Rooney, K. D., Nguyen-Van-Tam, J. S., Beck, C. R., and Convalescent Plasma Study Group (2015) The effectiveness of convalescent plasma and hyperimmune immunoglobulin for the treatment of severe acute respiratory infections of viral etiology: a systematic review and exploratory meta-analysis, *J. Infect. Dis.*, **211**, 80-90, doi: 10.1093/infdis/jiu396.
29. Goo, J., Jeong, Y., Park, Y. S., Yang, E., Jung, D. I., Rho, S., Park, U., Sung, H., Park, P. G., Choi, J. A., Seo, S. H., Cho, N. H., Lee, H., Lee, J. M., Kim, J. O., and Song, M. (2020) Characterization of novel monoclonal antibodies against MERS-coronavirus spike protein, *Virus Res.*, **278**, 197863, doi: 10.1016/j.virusres.2020.197863.
30. Beigel, J. H., Voell, J., Kumar, P., Raviprakash, K., Wu, H., Jiao, J. A., Sullivan, E., Luke, T., and Davey, R. T. Jr. (2018) Safety and tolerability of a novel, polyclonal human anti-MERS coronavirus antibody produced from trans-chromosomal cattle: a phase 1 randomised, double-blind, single-dose-escalation study, *Lancet Infect. Dis.*, **18**, 410-418, doi: 10.1016/S1473-3099(18)30002-1.
31. Ko, J. H., Seok, H., Cho, S. Y., Ha, Y. E., Baek, J. Y., Kim, S. H., Kim, Y. J., Park, J. K., Chung, C. R., Kang, E. S., Cho, D., Müller, M. A., Drosten, C., Kang, C. I., Chung, D. R., Song, J. H., and Peck, K. R. (2018) Challenges of convalescent plasma infusion therapy in Middle East respiratory coronavirus infection: a single centre experience, *Antivir. Ther.*, **23**, 617-622, doi: 10.3851/IMP3243.
32. Arabi, Y. M., Hajeer, A. H., Luke, T., Raviprakash, K., Balkhy, H., Johani, S., Al-Dawood, A., Al-Qahtani, S., Al-Omari, A., Al-Hameed, F., Hayden, F. G., Fowler, R., Bouchama, A., Shindo, N., Al-Khairy, K., Carson, G., Taha, Y., Sadat, M., and Alahmadi, M. (2016) Feasibility of using convalescent plasma immunotherapy for MERS-CoV infection, Saudi Arabia, *Emerg Infect Dis.*, **22**, 1554-1561, doi: 10.3201/eid2209.151164.
33. Wang, L., Qiao, X., Zhang, S., Qin, Y., Guo, T., Hao, Z., Sun, L., Wang, X., Wang, Y., Jiang, Y., Tang, L., Xu, Y., and Li, Y. (2018) Porcine transmissible gastroenteritis virus nonstructural protein 2 contributes to inflammation via NF- κ B activation, *Virulence*, **9**, 1685-1698, doi: 10.1080/21505594.2018.1536632.
34. Castaño-Rodríguez, C., Honrubia, J. M., Gutiérrez-Alvarez, J., DeDiego, M. L., Nieto-Torres, J. L., Jiménez-Guardaño, J. M., Regla-Nava, J. A., Fernández-Delgado, R., Verdía-Báguena, C., Queralt-Martín, M., Kochan, G., Perlman, S., Aguilera, V. M., Sola, I., and Enjuanes, L. (2018) Role of severe acute respiratory syndrome Coronavirus Viroproins E, 3a, and 8a in replication and pathogenesis, *mBio*, **9**, e02325-17, doi: 10.1128/mBio.02325-17.
35. Lei, J., Kusov, Y., and Hilgenfeld, R. (2018) Nsp3 of coronaviruses: structures and functions of a large multi-domain protein, *Antiviral. Res.*, **149**, 58-74, doi: 10.1016/j.antiviral.2017.11.001.
36. Fung, T. S., and Liu, D. X. (2019) Human coronavirus: host-pathogen interaction, *Annu. Rev. Microbiol.*, **73**, 529-557, doi: 10.1146/annurev-micro-020518-115759.
37. Peersen, O. B. (2019) A comprehensive superposition of viral polymerase structures, *Viruses*, **11**, E745, doi: 10.3390/v11080745.
38. Kleine-Weber, H., Elzayat, M. T., Hoffmann, M., and Pöhlmann, S. (2018) Functional analysis of potential cleavage sites in the MERS-coronavirus spike protein, *Sci. Rep.*, **8**, 16597, doi: 10.1038/s41598-018-34859-w.
39. Coutard, B., Valle, C., de Lamballerie, X., Canard, B., Seidah, N. G., and Decroly, E. (2020) The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade, *Antiviral. Res.*, **176**, 104742, doi: 10.1016/j.antiviral.2020.104742.
40. Жирнов О. П., Поярков С. В., Малышев Н. А. (2009) Мишени противовирусного и противовоспалительного действия апротинина: перспективы нового использования, *Пульмонология*, **33**, 27-33.
41. Wrapp, D., Nianshuang, W., Kizzmekia, S., Corbett, J. A., Goldsmith, C. L. H., Olubukola, A., Barney, S., Graham, J., and McLellan, S. (2020) Cryo-EM Structure of the 2019-

- nCoV spike in the prefusion conformation, *BioRxiv*, doi: 10.1101/2020.02.11.944462.
42. Ashour, H. M., Elkhatib, W. F., Rahman, M. M., and Elshabrawy, H. A. (2020) Insights into the recent 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) in light of past human corona-virus outbreaks, *Pathogens*, **9**, pii: E186, doi: 10.3390/pathogens9030186.
 43. Kruse, R. L. (2020) Therapeutic strategies in an outbreak scenario to treat the novel coronavirus originating in Wuhan, China, *F1000 Res.*, **9**, 72, doi: 10.12688/f1000research.22211.2.
 44. Wan, Y., Shang, J., Sun, S., Tai, W., Chen, J., Geng, Q., He, L., Chen, Y., Wu, J., Shi, Z., Zhou, Y., Du, L., and Li, F. (2020) Molecular mechanism for antibody-dependent enhancement of coronavirus entry, *J. Virol.*, **94**, e02015-19, doi: 10.1128/JVI.02015-19.
 45. Cinatl, J., Morgenstern, B., Bauer, G., Chandra, P., Rabenau, H., and Doerr, H. W. (2003) Treatment of SARS with human interferons, *Lancet*, **362**, 293-294.
 46. Yin, Y., and Wunderink, R. G. (2018) MERS, SARS and other coronaviruses as causes of pneumonia, *Respirology*, **23**, 130-137, doi: 10.1111/resp.13196.
 47. Mubarak, A., Alturaiki, W., and Hemida, M. G. (2019) Middle east respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV): infection, immunological response, and vaccine development, *J. Immunol. Res.*, **2019**, 6491738, doi: 10.1155/2019/6491738.
 48. Channappanavar, R., Fehr, A. R., Zheng, J., Wöhlford-Lenane, C., Abrahante, J. E., Mack, M., Sompallae, R., McCray, P. B. Jr., Meyerholz, D. K., and Perlman, S. (2019) IFN-I response timing relative to virus replication determines MERS coronavirus infection outcomes, *J. Clin. Invest.*, **130**, 3625-3639, doi: 10.1172/JCI126363.
 49. Lu, Y., Hards, K., Dahms, S. O., Böttcher-Friebertshäuser, E., Steinmetzer, T., Than, M. E., Klenk, H. D., and Garten, W. (2015) Peptidomimetic furin inhibitor MI-701 in combination with oseltamivir and ribavirin efficiently blocks propagation of highly pathogenic avian influenza viruses and delays high level oseltamivir resistance in MDCK cells, *Antiviral Res.*, **120**, 89-100, doi: 10.1016/j.antiviral.2015.05.006.
 50. Channappanavar, R., and Perlman, S. (2017) Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology, *Semin. Immunopathol.*, **39**, 529-539, doi: 10.1007/s00281-017-0629-x.
 51. WHO interim guidance 28 January 2020, *Clinical management of severe acute respiratory infection when novel coronavirus (2019-nCoV) infection is suspected*, URL: .
 52. Weiss, S. L., Peters, M. J., Alhazzani, W., Agus, M. S. D., Flori, H. R. et al. (2020) Surviving sepsis campaign international guidelines for the management of septic shock and sepsis-associated organ dysfunction in children, *Pediatr. Crit. Care Med.*, **21**, e52-e106, doi: 10.1097/PCC.0000000000002198.
 53. Licitra, B. N., Millet, J. K., Regan, A. D., Hamilton, B. S., Rinaldi, V. D., Duhamel, G. E., and Whittaker, G. R. (2013) Mutation in spike protein cleavage site and pathogenesis of feline coronavirus, *Emerg. Infect. Dis.*, **19**, 1066-1073, doi: 10.3201/eid1907.121094.
 54. Cheng, J., Zhao, Y., Xu, G., Zhang, K., Jia, W., Sun, Y., Zhao, J., Xue, J., Hu, Y., and Zhang, G. (2019) The S2 subunit of QX-type infectious bronchitis coronavirus spike protein is an essential determinant of neurotropism, *Viruses*, **11**, E972, doi: 10.3390/v11100972.
 55. Le Coupand, A., Desforges, M., Meessen-Pinard, M., Dubé, M., Day, R., Seidah, N. G., and Talbot, P. J. (2015) Cleavage of a neuroinvasive human respiratory virus spike glycoprotein by proprotein convertases modulates neurovirulence and virus spread within the central nervous system, *PLoS Pathog.*, **11**, e1005261, doi: 10.1371/journal.ppat.1005261.

MOLECULAR TARGETS IN THE CHEMOTHERAPY OF CORONAVIRUS INFECTION

Review

O. P. Zhirnov^{1,2}

¹ *The Russian-German Academy of Medical and Biotechnological Sciences, Skolkovo Innovation Center, 121205 Moscow, Skolkovo, Russia*

² *Ivanovsky Institute of Virology, Gamaleya Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 123098 Moscow, Russia*

Received March 18, 2020

Revised March 22, 2020

Accepted March 22, 2020

In the pathogenesis of the infectious process in the respiratory tract by SARS, MERS, and COVID-19 coronaviruses, two stages can be distinguished: early (etiologic) and late (pathogenetic) ones. In the first stage, when the virus multiplication and accumulation are prevalent under insufficient host immune response, the use of chemotherapeutic agents blocking the reproduction of the virus is reasonable to suppress the development of the disease. This article considers six major chemotherapeutic classes aimed at certain viral targets: inhibitors of viral RNA polymerase, inhibitors of viral protease Mpro, inhibitors of proteolytic activation of viral protein S allowing virus entry into the target cell, inhibitors of virus uncoating in cellular endosomes, compounds of exogenous interferons, and compounds of natural and recombinant virus-neutralizing antibodies. In the second stage, when the multiplication of the virus decreases and threatening pathological processes of excessive inflammation, acute respiratory distress syndrome, pulmonary edema, hypoxia, and secondary bacterial pneumonia and sepsis events develop, a pathogenetic therapeutic approach including extracorporeal blood oxygenation, detoxification, and anti-inflammatory and anti-bacterial therapy seems to be the most effective way for the patient's recovery.

Keywords: coronaviruses, COVID-19, chemotherapy, pathogenesis, drugs