

НАУЧНАЯ СЕССИЯ ОБЩЕГО СОБРАНИЯ ЧЛЕНОВ РАН  
“РОЛЬ НАУКИ В ПРЕОДОЛЕНИИ ПАНДЕМИЙ  
И ПОСТКРИЗИСНОМ РАЗВИТИИ ОБЩЕСТВА”

PDSTP – ПЕРВОЕ В СВОЁМ КЛАССЕ СРЕДСТВО  
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

© 2022 г. В. А. Макаров<sup>а,\*</sup>, В. О. Попов<sup>а,\*\*</sup>

<sup>а</sup>ФИЦ “Фундаментальные основы биотехнологии” РАН, Москва, Россия

\*E-mail: makarov@inbi.ras.ru

\*\*E-mail: vpopov@inbi.ras.ru

Поступила в редакцию 15.02.2022 г.

После доработки 25.02.2022 г.

Принята к публикации 12.03.2022 г.

В статье приведены результаты комплексного исследования, посвящённого разработке и созданию оригинальной малой молекулы PDSTP, обладающей способностью препятствовать связыванию коронавируса SARS-CoV-2 с клеткой хозяина. Молекула PDSTP была сконструирована таким образом, чтобы электростатически взаимодействовать с гепарансульфат протеогликанами на поверхности клеток, а коронавирусы, в частности SARS-CoV-2, используют именно этот механизм как первый этап взаимодействия с клеткой. Путём блокировки данного процесса удаётся добиться остановки жизненного цикла вируса и, как следствие, его гибели. Кандидат в лекарственное средство PDSTP, обладая уникальным механизмом действия, имеет очень низкую токсичность, высокий профиль безопасности и показывает хорошую эффективность в экспериментах на животных.

*Ключевые слова:* коронавирус, SARS-CoV-2, гепарансульфат протеогликан, разработка лекарственных средств, PDSTP.

DOI: 10.31857/S0869587322080114

Несмотря на многочисленные исследования в области вирусологии, проблемы вирусных респираторных инфекций, особенно ассоциированных с различными коронавирусами, приобрели в последнее время большую значимость в связи с эпидемиями SARS и MERS и пандемией, вызванной

вирусом SARS-CoV-2. Коронавирусные инфекции представляют особую опасность в связи с тем, что они вызывают тяжёлые вирусные пневмонии, сопряжённые со значительным поражением лёгких, зачастую не совместимым с жизнью.

Коронавирус человека впервые был выделен в 1965 г. Позднее коронавирусы привлекли внимание исследователей, когда в Китае в 2002–2003 гг. была зафиксирована вспышка атипичной пневмонии, или тяжёлого острого респираторного синдрома (ТОРС, SARS). Заболевание вызвал вирус SARS-CoV. Болезнь распространилась на другие страны: всего заболели 8273 человека, 775 умерли (летальность составила 9.6%). Вирус MERS-CoV стал возбудителем ближневосточного респираторного синдрома (MERS), первые случаи которого были зарегистрированы в 2012 г. В 2015 г. в Южной Корее произошла вспышка ближневосточного респираторного синдрома, в ходе которой заболели 183 человека, а умерли 33. В декабре 2019 г. в Китае началась вспышка пневмонии, вызванная вирусом SARS-CoV-2, которая в 2020 г. переросла в пандемию, охватившую весь мир. Значительное число людей погибло от вызванной



МАКАРОВ Вадим Альбертович – доктор фармацевтических наук, заведующий лабораторией биомедицинской химии ФИЦ Биотехнологии РАН. ПОПОВ Владимир Олегович – академик РАН, научный руководитель ФИЦ Биотехнологии РАН.

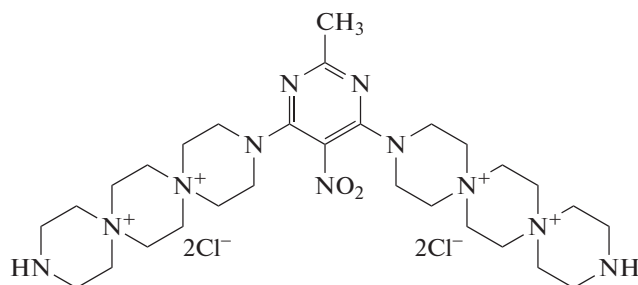


Рис. 1. Строение молекулы PDSTP

этим коронавирусом пневмонии. Очевидно, что пандемии респираторных вирусных инфекций, связанных с коронавирусами, преследовали человечество в прошлом, и нет никаких оснований полагать, что этого не произойдёт в будущем.

Биология коронавирусов неизбежно гарантирует появление новых пандемических штаммов, время возникновения, изменчивость генома и антигенные свойства которых предсказать невозможно. То есть эпидемии и пандемии новых респираторных коронавирусных инфекций всегда будут начинаться в отсутствие средств их специфической иммунной профилактики и терапии. Последнее предопределяет необходимость заблаговременного поиска и разработки патогенетических средств и способов профилактики/терапии респираторных вирусных инфекций, исходя из особенностей биологии коронавирусов. Кроме того, известно, что иммунитет после перенесённой болезни, вызванной коронавирусами, непродолжительный, и, как правило, не защищает от повторного инфицирования, что обуславливает необходимость создания лекарственных средств широкого противовирусного спектра действия, непосредственно защищающих организм от вирусного поражения.

Крайне важны вопросы участия гликанов в вирусной адгезии к клеткам хозяина и их репликации. Эти знания могут быть использованы для дизайна и разработки противовирусного препарата широкого спектра действия в отношении как известных, так и ещё не выявленных вирусов. Подобные лекарственные препараты способны стать резервными средствами для патогенетической терапии будущих коронавирусных инфекций. Следует отметить, что целый ряд патогенных для человека вирусов [1], в том числе вирусы герпеса 1 и 2 типа [2], вирус папилломы человека [3], цитомегаловирус [4], некоторые разновидности ВИЧ, респираторный синцитиальный вирус, а также коронавирусы [5–7], используют общий гепарансульфат-зависимый механизм присоединения к клеточной стенке хозяина. В силу этого блокаторы коммуникации вирусов с клетками организма играют важную роль в терапии вызванных ими заболеваний.

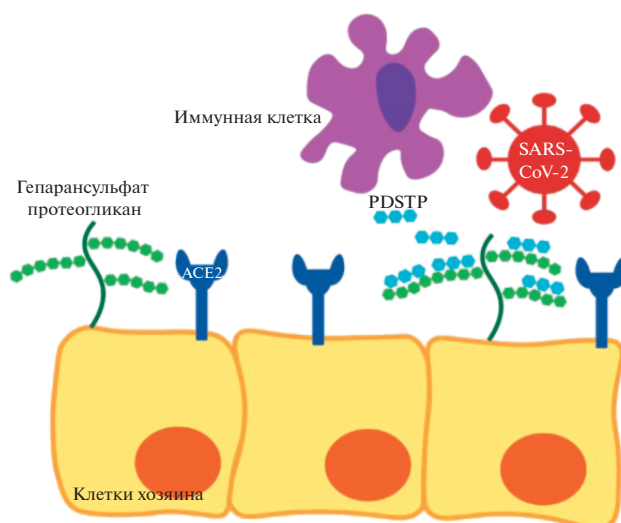


Рис. 2. Механизм действия PDSTP

Механизм воздействия на процесс инвазии вируса в клетку хозяина, основанный на блокировании адсорбции вируса к клетке-мишени за счёт специфического блокирования гепарансульфатных протеогликанов, — одно из наиболее перспективных направлений в поиске новых противовирусных соединений. Задача нашего исследования состояла в поиске нового средства для лечения коронавирусной инфекции, в том числе вызванной вирусом SARS-CoV-2. В результате была зафиксирована высокая противовирусная активность ди(диспиротрипиреразино)-пиримидинов. Производное ди(диспиротрипиреразино)-пиримидина PDSTP, созданное в результате работ по мишень-направленному поиску новых лекарственных препаратов, обладает способностью специфически блокировать гепарансульфатные протеогликаны, находящиеся на клеточной стенке, и таким образом предотвращать специфическую адсорбцию вирусов к клеткам хозяина (рис. 1). Этот процесс можно описать как блокирование адгезии вируса к клетке хозяина. При этом кандидат в лекарственный препарат PDSTP взаимодействует именно с протеогликанами клетки хозяина, что обеспечивает широту и универсальность его противовирусного действия [8].

Механизм действия PDSTP [9], по-видимому, объясняется специфическим свойством этого соединения связываться с гепарансульфатными протеогликанами, что приводит к драматическому уменьшению числа репликаций вируса. Присоединение исследуемого вещества антагонизирует гепарином, что обеспечивает нормальное взаимодействие клетки с гепарином и, как следствие, отсутствие значимой токсичности PDSTP (рис. 2). Мишень PDSTP представлена двумя сульфатными группами, расположенными в со-

седних сахаридных остатках. Например, для GlcA2S-GlcNS6S, GlcA2S-GlcNS3S, IdoA2S-GlcNAc6S, IdoA2S-GlcNH23SS6S, IdoA2S-GlcNS6S и IdoA2SGlcNS3S показано хорошее электростатическое взаимодействие между отрицательным зарядом на сульфатной группе и положительно заряженными атомами азота(диспиротрипирезино)-пиримидинов. Аналогичное взаимодействие может происходить и с карбонильной группой октасахарида  $\Delta$ UA-GlcNSIdoUA2S-GlcNAcUA2S-GlcNS-IdoUA2S-GlcNH23S, представляющего собой необходимый участок гепарансульфатов для проникновения коронавируса в клетку хозяина. Таким образом, PDSTP блокирует ключевые функциональные группы гепарансульфатных протеогликанов, предотвращая репликацию вируса и обеспечивая высокую противовирусную активность. Лекарственных препаратов с подобным механизмом действия в настоящее время не существует.

Для оценки эффективности PDSTP мы воспроизвели модель инфекционного процесса SARS-CoV-2 на сирийских хомяках. Вирус титровали в культуре клеток Vero (B) по количеству бляшкообразующих единиц и вводили животным интраназально в количестве 26 мкл на хомяка в дозе  $4 \times 10^4$  ТЦИД<sub>50</sub>. Формировали несколько групп животных одного помёта: I группа – интактные животные (положительный контроль); II группа – заражённые SARS-CoV-2 (негативный контроль); III группа – животные, получавшие PDSTP в дозе 15 мг/кг ежедневно внутривентриально в течение 5 дней после заражения с 3 по 7 сутки инфекционного процесса на фоне его манифестных признаков (группа лечения).

Во время наблюдения за заражёнными животными мы оценивали проявления симптоматики заболевания (чихание, выделения из носа), частота которых достоверно не различалась. Животные теряли в массе. Их выводили из опыта на 7 сутки эксперимента. При вскрытии извлекали лёгкие и селезёнку, проводили их взвешивание и рассчитывали удельную массу в процентах от массы тела. Правое лёгкое помещали в чашки Петри с физиологическим раствором и подвергали диафаноскопии для подсчёта количества уплотнений ткани и очагов гиперемии с кровоизлияниями в паренхиме.

Установлено, что применение препарата PDSTP препятствует потере массы тела животных, показатели которых достоверно отличались от группы инфицированного контроля. В лёгких заражённых особей развивалась вирусная пневмония с множественными очагами неравномерного уплотнения с нечёткими границами различной величины, но обычно не очень крупными и имевшими тенденцию к слиянию, особенно в нижних отделах лёгких. Пятна на поверхности лёгких раз-

личного цвета: от светло-серых и серо-розовых до светло-красных и бурых. Участки лёгких с изменённым цветом на разрезе имели зернистую поверхность и слегка выбухали над окружающей тканью. В группе негативного контроля практически не обнаружены участки нормальной ткани лёгкого светло-розового цвета. Лёгкие выглядели уплотнёнными, туго-эластичными, отёчными. Поверхность разреза пёстрая, неравномерного кровенаполнения. Из уплотнённых участков при разрезе жидкость практически не выдавливалась. Согласно гравиметрическим показателям органов PDSTP существенно влиял на формирование вирусной пневмонии, демонстрируя значительные отличия животных, получавших лечение, от негативного контроля.

У заражённых животных снижалась удельная масса селезёнки, по-видимому, отражая формирующееся иммунодефицитное состояние. Лечебное применение кандидата в лекарственное средство PDSTP позволяло сохранить показатели органа на уровне интактных значений. Также отмечено, что PDSTP снижал количество уплотнений в тканях лёгких и количество очагов гиперемии и кровоизлияний. В группе животных, получивших лечение PDSTP, этот эффект заметен при визуальном наблюдении и подтверждается результатами подсчёта. В этой группе в ткани лёгкого представлены единичные очаги уплотнения с достаточно чёткими границами различной величины, но обычно не очень крупные и без слияния. Участки лёгких с изменённым цветом на разрезе имели зернистую поверхность и не выбухали над окружающей тканью. Большая часть поверхности имела нормальный вид светло-розового и светло-красного цвета. Лёгкие выглядели несколько уплотнёнными, рыхло-эластичными, незначительно отёчными. Поверхность разреза неравномерного цвета и кровенаполнения. При разрезе жидкость практически не выдавливалась.

Исследования безопасности кандидата в лекарственное средство PDSTP показали, что оно малотоксично и безопасно для животных как при однократном, так и при многократном применении. Нами проведён дизайн, синтез и исследование противовирусная активность PDSTP, обладающего уникальным и универсальным механизмом противовирусного действия по отношению к SARS-CoV-2. Механизм его действия обеспечивает низкую вероятность развития резистентности вирусов, высокую активность PDSTP к мутировавшим штаммам и высокий уровень безопасности.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Schmidtke M., Karger A., Meerbach A. et al.* Binding of a N,N'-bisheteryl derivative of dispirotriperazine to heparan sulfate residues on the cell surface specifically

- prevents infection of viruses from different families // *Virology*. 2003. V. 311. P. 134–143.
2. *Schmidtke M., Riabova O., Dahse H.-M. et al.* Synthesis, Cytotoxicity and Antiviral Activity of N,N'-bis-5-nitropyrimidyl Derivatives of Dispirotriperazine // *Antiviral Research*. 2002. V. 55. P. 117–127.
  3. *Selinka H., Florin L., Patel H.D. et al.* Inhibition of transfer to secondary receptors by heparan sulfate-binding drug or antibody induces noninfectious uptake of human papillomavirus // *Journal of Virology*. 2007. V. 81. P. 10970–10980.
  4. *Paeschke R., Woskobojsnik I., Makarov V. et al.* DSTP-27 prevents entry of human cytomegalovirus // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2014. V. 58. P. 1963–1971.
  5. *Milewska A., Zarebski M., Nowak P. et al.* Human coronavirus NL63 utilizes heparan sulfate proteoglycans for attachment to target cells // *Journal of Virology*. 2014. V. 88. P. 13221–13230.
  6. *Milewska A., Nowak P., Owczarek K. et al.* Entry of Human Coronavirus NL63 into the Cell // *Journal of Virology*. 2018. V. 92. P. e01933-17.
  7. *Szczepanski A., Owczarek K., Bzowska M. et al.* Canine Respiratory Coronavirus, Bovine Coronavirus, and Human Coronavirus OC43: Receptors and Attachment Factors // *Viruses*. 2019. V. 11. P. 328.
  8. *Cagno V., Tseligka E.D., Jones S.T., Tapparel C.* Heparan Sulfate Proteoglycans and Viral Attachment: True Receptors or Adaptation Bias // *Viruses*. 2019. V. 11. P. 596.
  9. *Schmidtke M., Wutzler P., Makarov V.* Novel opportunities to study and block interactions between viruses and cell surface heparan sulfates // *Letters Drug Design and Discovery*. 2004. V. 1. P. 35–44.