

# СТРАТЕГИИ ПОИСКА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ПРОТИВ SARS-CoV-2 НА ОСНОВЕ ИЗУЧЕНИЯ СТРУКТУРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ КОРОНАВИРУСОВ SARS-CoV, MERS-CoV И SARS-CoV-2

УДК 616-018

DOI: <https://doi.org/10.7816/RCF184269-296>

© **В.И. Ващенко, В.Н. Вильянинов, П.Д. Шабанов**

Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург

Для цитирования: Ващенко В.И., Вильянинов В.Н., Шабанов П.Д. Стратегии поиска фармакологических средств против SARS-CoV-2 на основе изучения структурно-генетических особенностей коронавирусов SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2. – 2020. – Т. 18. – № 4. – С. 269–296. <https://doi.org/10.7816/RCF184269-296>

Поступила: 05.10.2020

Одобрена: 11.11.2020

Принята: 03.12.2020

Внезапная вспышка COVID-19, вызванная новым коронавирусом SARS-CoV-2, в Ухане (Китай) в декабре 2019 г. быстро переросла в глобальную пандемию, поставив под угрозу не только глобальную систему здравоохранения, но и мировую экономику. Поскольку болезнь продолжает быстро распространяться, срочно требуется разработка профилактических мероприятий и терапевтических стратегий поиска средств лечения. Хотя был достигнут определенный прогресс в понимании структуры вируса и механизма инвазии коронавирусов SARS, которые могут вызывать тяжелые случаи пневмонии, однако, из-за ограниченного понимания иммунных эффектов, вызванных SARS-CoV-2, пока трудно предотвратить развитие у пациентов острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) и легочного фиброза (ЛФ), основных осложнений коронавирусной инфекции. Поэтому любые потенциальные методы лечения должны быть сосредоточены не только на прямом уничтожении коронавирусов и стратегиях профилактики путем разработки вакцин, но и на контроле за острыми иммунными/воспалительными реакциями, приводящими к ОРДС и ЛФ. Кроме того, перспективные методы лечения, которые в настоящее время проходят клинические испытания с упором на уничтожение коронавирусов и на разработку вакцин, предотвращающих коронавирусную инфекцию,

в значительной степени игнорируют иммунный ответ хозяина. Основной трудностью считается оказание помощи больным ОРДС и ЛФ, инфицированным SARS-CoV-2. Дальнейшее понимание иммунного ответа человека на SARS-CoV-2 чрезвычайно важно для клинического разрешения и экономии затрат на лекарства. В дополнение к обзору структуры коронавируса, механизма инфекции и возможных терапевтических подходов мы суммировали генопатологические эффекты и иммунные реакции на SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2. Также обсуждаются основные молекулярные механизмы атипичной пневмонии и молекулярные мишени SARS-CoV-2, что позволяет выделить 8 основных направлений поиска фармакологических средств для борьбы с SARS-CoV-2. Подробно обсуждаются математические методы поиска перспективных препаратов для борьбы с COVID-19, а также патофизиологические механизмы инфекции, индуцирующие цитокиновый шторм, что позволяет выделить особое направление поиска фармакологических препаратов для борьбы с новым коронавирусом SARS-CoV-2.

◆ **Ключевые слова:** SARS-CoV; MERS-CoV; SARS-CoV-2; фармакологические препараты; иммунные реакции; молекулярные мишени.

## STRATEGIES FOR SEARCH OF PHARMACOLOGICAL DRUGS AGAINST SARS-CoV-2 ON THE BASE OF STUDYING THE STRUCTURAL-GENETIC FEATURES OF CORONAVIRUSES SARS-CoV, MERS-CoV AND SARS-CoV-2

© *V.I. Vaschenko, V.N. Vilyaninov, P.D. Shabanov*

S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

For citation: Vaschenko VI, Vilyaninov VN, Shabanov PD. Strategies for search of pharmacological drugs against SARS-CoV-2 on the base of studying the structural-genetic features of coronaviruses SARS-CoV, MERS-CoV and SARS-CoV-2. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2020;18(4):269-296. <https://doi.org/10.7816/RCF184269-296>

Received: 05.10.2020

Revised: 11.11.2020

Accepted: 03.12.2020

A sudden outbreak of COVID-19 caused by a novel coronavirus, SARS-CoV-2, in Wuhan, China in December 2019 quickly grew into a global pandemic, putting at risk not only

the global healthcare system, but also the world economy. As the disease continues to spread rapidly, the development of prophylactic and therapeutic approaches is urgently required.

Although some progress has been made in understanding the viral structure and invasion mechanism of coronaviruses that may cause severe cases of the syndrome, due to the limited understanding of the immune effects caused by SARS-CoV-2, it is difficult for us to prevent patients from developing acute respiratory distress syndrome (ARDS) and pulmonary fibrosis (PF), the major complications of coronavirus infection. Therefore, any potential treatments should focus not only on direct killing of coronaviruses and prevention strategies by vaccine development, but also on keeping in check the acute immune/inflammatory responses, resulting in ARDS and PF. In addition, potential treatments currently under clinical trials focusing on killing coronaviruses or on developing vaccines preventing coronavirus infection largely ignore the host immune response. However, taking care of SARS-CoV-2 infected patients with ARDS and PF is considered to be the major difficulty. Therefore, further understanding of the host immune response to SARS-CoV-2 is

extremely important for clinical resolution and saving medication cost. In addition to a brief overview of the structure, infection mechanism, and possible therapeutic approaches, we summarized and compared the hematopathologic effect and immune responses to SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2. Also the basic molecular mechanisms of an atypical pneumonia and molecular targets SARS-CoV-2 that allows to allocate 8 basic directions of search of pharmacological agents for struggle with SARS-CoV-2 are discussed. Mathematical methods of search of perspective preparations for struggle with COVID-19 are in detail discussed. The pathophysiological mechanisms of an infection inducing a lymphopenia or cytokine storm that allows to allocate a special direction of search of pharmacological preparations for struggle against new coronavirus SARS-CoV-2 are discussed.

◆ **Keywords:** SARS-CoV; MERS-CoV; SARS-CoV-2; pharmacological drugs; immune responses; molecular targets.

## ВВЕДЕНИЕ

Исследователи, изучающие семейство оболочечных коронавирусов (+)ssPHK-вирусов, инфицирующих позвоночных животных [133], постоянно встречаются с необходимостью определить, принадлежит ли вновь возникший вирус, вызывающий тяжелое заболевание у людей, к существующему виду у животных или к еще не установленному виду. Это произошло, например, с классификацией коронавирусов (SARS) [30], с ближневосточным респираторным синдромом (MERS) [214] и с COVID-19, обнаруженным в Китае в 2019 г. и признанным в настоящее время пандемией [19, 193]. Каждый раз вирус помещался в таксономию с использованием информации, полученной на основе секвенированной классификации семейств [170, 208, 209].

В биологической номенклатуре семейство *Coronaviridae* состоит из многочисленных вирусов, заражающих человека, а также различные виды животных, включая сельскохозяйственные (кошек, собак, коров, верблюдов, свиней) и дикие (летучих мышей, панголинов, цивету и птиц). Современная систематика коронавирусов включает 39 видов в 27 подродах, пяти родах и двух подсемействах, которые относятся к семейству *Coronaviridae*, подсемейству *Orthocoronavirinae*, роду *Betacoronavirus*, подроду *Sarbecovirus*, подотряду *Cornidovirineae*, отряду *Nidovirales* и царству *Riboviria* [36, 66, 163, 203] (рис. 1).

*Orthocoronavirinae*, содержащее коронавирусы человека, состоит из четырех родов: альфа-коронавирусы, бета-коронавирусы, гамма-коронавирусы и дельта-коронавирусы. Коронавирусы (CoV) поражают различные органы и ткани и действуют как патогены, вызывая широкий спектр заболеваний, включая тяжелую респираторную инфекцию человека, называемую атипичной пневмонией. Обычно вирусы этого семейства индуцируют острую инфек-

цию, проявляющуюся признаками воспаления, характеризующимися свойствами синдрома «цитокинового шторма» [88, 210].

Структурно коронавирусы как оболочечные вирусы заключены в липидную оболочку и несут геномную (+)ssPHK, которая переносится вирусными частицами, внедряется в клетку и направляет синтез вирусных белков, а также субгеномных РНК и последующую репликацию вирусного генома и сборку вирусных частиц [133, 213]. В зависимости от вида, коронавирусная геномная РНК состоит из 25–30 тыс. нуклеотидов и несет 22–29 вирусных генов, кодирующих соответствующие белки, четыре из которых (N, S, М, Е) играют основную структурную роль в вирусных частицах. Кроме того, в вирионах можно обнаружить ряд вспомогательных неструктурных вирусных белков, функционирующих, например, как ионные каналы (виropорины) [42].

В патогенезе инфекционного процесса в дыхательных путях человека при поражении коронавирусами SARS-CoV, MERS-CoV и COVID-19 можно выделить две стадии: раннюю (этиотропную) и позднюю (патогенетическую) [121, 128]. На первом этапе, когда размножение и накопление вируса преобладают при недостаточном иммунном ответе хозяина, применение химиотерапевтических средств, блокирующих размножение вируса, целесообразно для подавления развития заболевания. В данном обзоре рассмотрены 8 основных химиотерапевтических классов, направленных на строго определенные вирусные мишени: ингибиторы вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразы, ингибиторы основной вирусной протеазы M<sup>pro</sup>, ингибиторы вирусного белка S, позволяющего вирусу проникать в клетку-мишень, ингибиторы градиента pH вируса в клеточных эндосомах, ингибиторы вирусных хеликаз и топоизомераз, а также препараты экзогенных рекомбинантных интерферонов и соединения природных и рекомбинантных вируснейтрализующих антител.

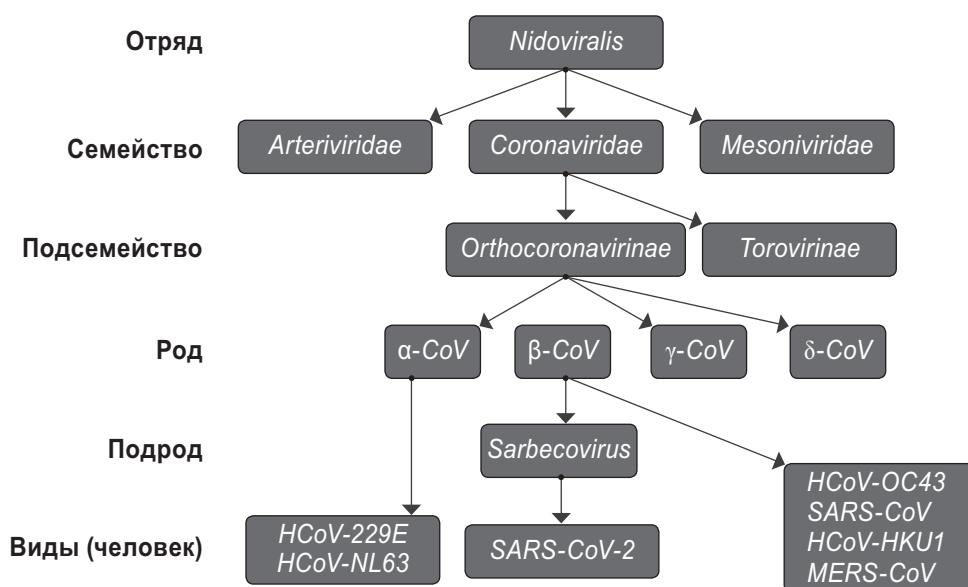


Рис. 1. Общебиологическая классификация вирусов

На втором этапе, размножение вируса уменьшается, но зато развиваются угрожающие патологические процессы избыточного воспаления, острого респираторного дистресс-синдрома, отека легких, гипоксии, вторичной бактериальной пневмонии и сепсиса. Следовательно, последующий патогенетический терапевтический подход, включающий экстракорпоральную оксигенацию крови, детоксикацию, а также препараты уменьшающие или блокирующие негативные реакции адаптивного иммунитета («цитокиновый шторм»), представляется наиболее эффективным способом лечения пациента.

## КЛАССИФИКАЦИЯ ВИРУСОВ, ОСНОВАННАЯ НА БОЛЕЗНЯХ

Номенклатура вирусов — это в известной степени формальная система названий, используемая для обозначения вирусов и таксонов. Названия почти всех вирусов внутри вида происходят из-за исторического восприятия вирусов как возбудителей специфических заболеваний у конкретных хозяев, а также то, как мы обычно каталогизируем и классифицируем вновь открытые вирусы, однако все больше появляется вирусов, которые не были связаны с какой-либо известной болезнью в их соответствующих хозяевах (рис. 2).

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ), являющаяся учреждением Организации Объединенных Наций (ООН), направленная на борьбу с инфекционными заболеваниями, часто прибегает к традиционному подходу увязки названий конкретных вирусных заболеваний и оценки новизны вируса путем явной неспособности обнаружить возбудителя с помощью установленных диагностических методов.

По международной классификации (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV) вирусы

группируются в таксоны по иерархической схеме рангов, в которой вид представляет самый низкий и наиболее густонаселенный ранг, содержащий наименее расходящиеся группы (таксоны) вирусов. ICTV формирует исследовательскую группу для каждого семейства вирусов [56]. Исследовательские группы отвечают за отнесение вирусов к вирусным видам и таксонам более высокого ранга, таким как роды, подроды, семейства и подсемейства. В этом смысле они играют важную роль в продвижении концепции видов вирусов и подчеркивают свою значимость [76].

Систематика семейств *Coronaviridae* разрабатывается исследовательской группой по коронавиридам, являющейся рабочей группой ICTV [101]. Рабочая группа отвечает за оценку места новых вирусов через их связь с известными вирусами в установленных таксонах, включая места размещения, относящиеся к виду «Тяжелого острого респираторного синдрома, связанный с коронавирусом». В классификации нидовирусов виды считаются биологическими единицами, разграниченными генетическим методом [115], в то время как в целом виды вирусов воспринимаются как искусственные конструкции [181]. Поэтому название вида выделено курсивом, начинается с заглавной буквы и не должно быть прописано в сокращенной форме [101]; отсюда и название вида — «Тяжелый острый респираторный синдром, связанный с коронавирусом». Согласно действующей международной классификации болезней [100], MERS и SARS классифицируются как 1D64 и 1D65 соответственно.

Хотя эти вирусы были изолированы в разное время и в разных местах от разных носителей, то есть от человека и животных (с клиническими заболеваниями и без них), все они принадлежат к этому виду [36]. Филогенетическая связь между SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2 и их взаимосвязь представлена на рис. 3.

Генная корреляция с SARS-CoV-2

ВИРУСЫ

ВИДЫ

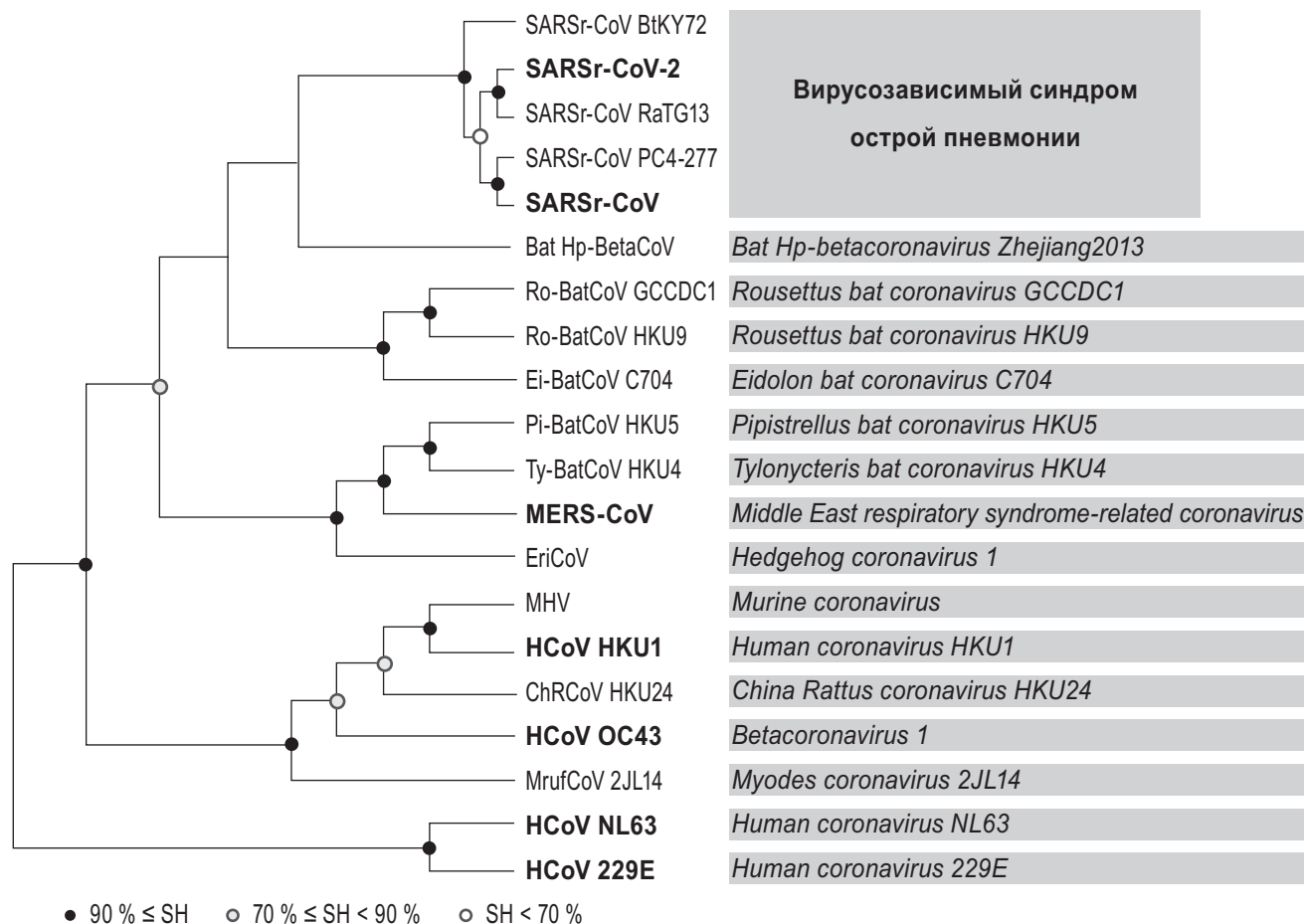


Рис. 2. Филогенетическое древо коронавирусов, циркулирующих среди летучих мышей и людей, включая 5 видов рода *Betacoronavirus*, связанных с тяжелым острым респираторным синдромом (цит. по: [75] с изменениями)

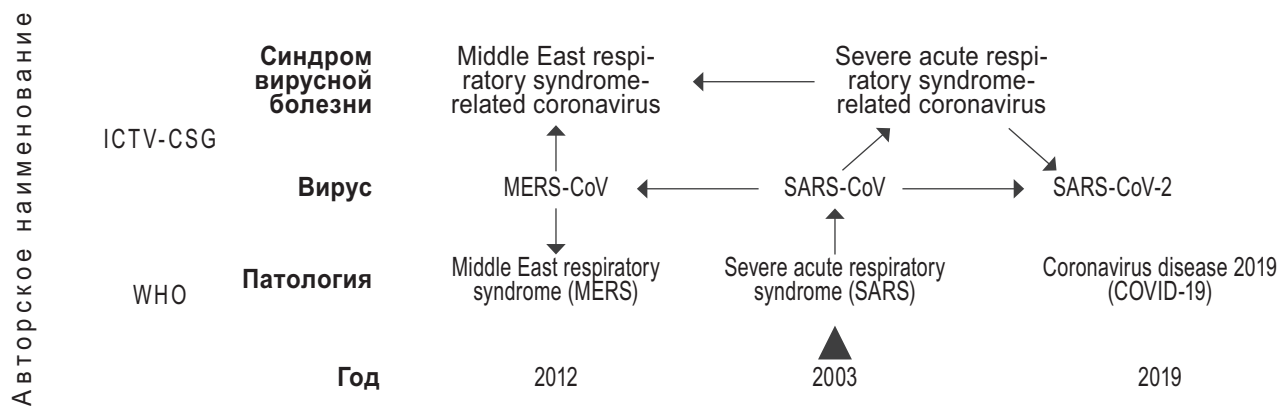


Рис. 3. Наименования коронавирусов в связи с таксономией вирусов и болезнями, вызванными этими вирусами во время трех зоонозных вспышек (▲ — первичное имя; → — оригинальное имя)

**ОБЩАЯ СТРУКТУРА БОЛЕЗНЕТВОРНЫХ КОРОНАВИРУСОВ**

Как следует из криоэлектронной томографии и криоэлектронной микроскопии, вирионы коронавируса имеют сферическую форму с диаметрами примерно 65–125 нм (рис. 4) [162]. Клубковидные

шипы на поверхности вириона являются наиболее заметной особенностью коронавирусов. Эти шипы придают им солнечный короноподобный вид, от которого происходит название «коронавирус». Нуклеокапсиды спирально симметричны и упакованы оболочкой вириона [67]. Структура и патогенез коронавирусов, включая SARS-CoV-2, описаны в ряде основополагающих работ [17, 20, 125, 140].

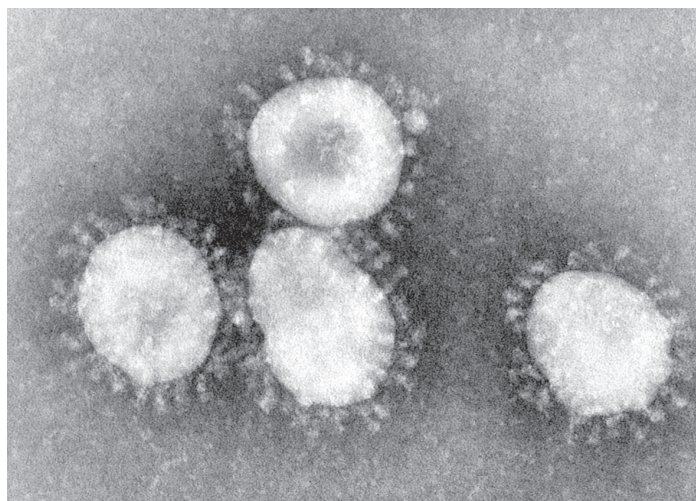


Рис. 4. Электронная микрофотография зрелых вирионов SARS-CoV-2 (цит. по: [127])

## ОСНОВНЫЕ СТРУКТУРНЫЕ БЕЛКИ КОРОНАВИРУСОВ

Белок S (англ. spike protein) — это крупный многофункциональный вирусный трансмембранный белок класса I, размер которого варьирует от 1160 аминокислот в вирусе инфекционного бронхита у домашней птицы до 1400 аминокислот в коронавирусе кошек [29]. У коронавирусов человека белок S — это тример, расположенный на поверхности вириона, что придает вириону корончатый вид. Что касается его функции, то он опосредует проникновение инфекционных частиц вириона в клетки путем образования прикреплений между частицами вириона и мембранами клетки-хозяина посредством взаимодействия с различными клеточными рецепторами [30]. Он играет важную роль в тканевом тропизме и определении хозяина, кроме того белок S способен индуцировать иммунный ответ реципиента [118]. В белках S во всех коронавирусах можно выделить два рабочих домена, S1 и S2 [111]. S1 функционирует как рецептор-связывающий домен (англ. receptor binding domain) [98], а S2 действует как субъединица мембранного синтеза. В домене S1 можно выделить два субдомена, названных N-терминальным доменом и С-терминальным доменом. Показано также, что С-терминальный домен S1 содержит рецептор-связывающий мотив [118]. Оба субдомена S1 и S2 действуют как рецептор-связывающие домены, эффективно взаимодействующие с различными рецепторами клеточной мембраны [175].

**Белок М** является наиболее распространенным структурным белком коронавирусного вириона. Это небольшой (~25–30 кДа) белок с тремя трансмембранными доменами, который отвечает за поддержание формы вириона [199]. Аминокислотные последовательности белка М различны у разных коронавирусов, однако в целом структурное сходство сохраняется [168]. Белок имеет короткий N-концевой гликозилированный домен вне вириона

и гораздо больший С-концевой домен внутри вириона, который внедряется на 6–8 нм в вирусную частицу [179]. Большинство М-белков котрансляционно вводятся в мембрану вирусов без последовательности сигналов. Вирусная основа поддерживается взаимодействиями между белками М. Недавние исследования показали, что белок М существует в вирионе в качестве димера и может принимать две различные конформации, позволяющие белку содействовать кривизне мембраны, а также связываться с нуклеокапсидом [199].

**Белок Е** является самым маленьким структурным белком (~8–12 кДа) коронавируса. Тем не менее он принимает участие во многих процессах в патогенезе, сборке и высвобождении вируса. Вирулентность вируса также связана с белком Е [165]. Белки Е из разных коронавирусов очень разнообразны по своим аминокислотным последовательностям, но характеризуются общей 3D-структурой [208]. Белок Е состоит из трех доменов: короткого гидрофильного аминотерминального домена, большого гидрофобного трансмембранного домена и терминального домена С [210]. Удаление гена, кодирующего белок Е, приводит к замедлению амплификации вируса, однако этот белок, по-видимому, не является определяющим для репликации SARS-CoV [55]. Помимо своей основной роли в сборке и высвобождении вируса, белок Е имеет и другие функции, например контролирует активность ионных каналов. При сравнении аминокислотной последовательности белка Е SARS-CoV с белком Е SARS-CoV-2 (2019-nCoV) обнаружили ее идентичность без каких-либо изменений [187].

**Белок N** является единственным структурным белком, присутствующим в нуклеокапсиде. Он состоит из трех сильно консервативных и нескольких отдельных доменов: N-терминального домена (НТД), РНК-связывающего домена или области линкера (LKR) и С-терминального домена (СТД) [176]. НТД связывается с 3'-концом вирусной РНК и весьма

вариабелен по аминокислотной последовательности от вируса к вирусу [66]. Область LKR, именуемая также CP (серин и аргинин) заряжена положительно из-за ее аминокислот, богатых серином и аргинином [115]. Установлено *in vitro*, что CP взаимодействует непосредственно с РНК и играет свою определенную роль в клеточной сигнализации [172, 206]. Белок N специфичен к двум субстратам РНК, это транскрипционная регуляторная последовательность (TRS) [158, 120] и геномный сигнал упаковки капсида [210]. Кроме того, белок N может также выступать в качестве вирусного супрессора РНК-блокатора в клетках млекопитающих [52]. Поскольку белок N сильно фосфорилирован [173], то он может изменять свою конформацию для повышения сродства к вирусной и невирусной РНК. В дополнение к сказанному отметим, что в процессе репликации белок N связывается с nsr3 [91] и белком М [7, 15]. В результате при взаимодействии эти белки помогают осуществлять упаковку вирусного капсида.

**Гемагглютинин-эстераза (ГАЭ)** является структурным белком, присутствующим в подсемействе *бетакоронавирусов*. Он действует как гемагглютинин, который связывает сиаловые кислоты с поверхностными гликопротеинами. ГАЭ также проявляет активность ацетилэстеразы [49, 52, 182]. Эти действия, как полагают, опосредуются белком S и усиливают вход вируса в клетки альвеолярного эпителия [50].

## СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2

**Структура SARS-CoV.** Частицы вируса SARS-CoV имеют сферическую форму со средним диаметром 78 нм. Вирус содержит спиральный нуклеокапсид, окруженный оболочкой [73], покрытый палочкообразными длинными огибающими частицами длиной около 20 нм, с типичными корональными признаками. Генная структура SARS-CoV аналогична генной структуре других коронавирусов. Основная последовательность генов — это 5'-конец, репликаза, белок S, оболочечный белок E, мембранный белок M, нуклеокапсид [N], 3'-конец. Имеются также короткие нетранслируемые области на обоих концах. Последовательности остальных пяти неструктурных белков распределены между ORF S и N [60].

Установлено, что геном SARS-CoV содержит в общей сложности 11 орфов (ORF) и кодирует 23 зрелых белка [154]. Среди них два основных орфа (ORF1a и ORF1b) составляют около двух третей размера генома и кодируют два важных полипептида, pp1a (~450 кДа) и pp1ab (~750 кДа). Показано, что белки вируса транслируются одним длинным полипептидом, из которого затем высвобождаются две протеазы: M<sup>pro</sup> (англ. major protease — «главная протеаза») [116] и PL<sup>pro</sup> (англ. papain-like protease — папаин-подобная протеаза). PL<sup>pro</sup> протеаза выполня-

ет важнейшую функцию в метаболизме вируса, так как «нарезает» сплошной прополипептид вируса на отдельные функциональные белки [33, 142, 187]. В процессе протеолиза полипептиды pp1a и pp1ab кроме структурных белков расщепляются на ряд неструктурных белков, наиболее важными из которых являются РНК-зависимая РНК-полимераза, АТФазы и хеликаза (рис. 5).

**Структура MERS-CoV.** Геном MERS-CoV состоит из генов, кодирующих репликазу и структурные белки, подобные другим коронавирусам. Вирус имеет 10 орфов и кодирует 16 неструктурных белков, участвующих в процессе транскрипции и репликации вируса [37, 169]. В 2020 г. были опубликованы данные об особенностях кристаллической структуры хеликазы генома MERS-CoV, связанного с АПФ2 [161].

**Структура SARS-CoV-2.** В целом, структура SARS-CoV-2 разделяет все типичные характеристики с другими коронавирусами [140]. S. Wrapp и соавт. подробно рассмотрели структуру белка S SARS-CoV-2 и представили данные о его структуре с разрешением 3,5 Å [186]. Исследователи Y.W. Chen и соавт. сообщили об особенностях неструктурных белков 3CL [44]. Китайские ученые R. Yan и соавт. [196] обнаружили сложное взаимодействие транспортера аминокислот В<sup>0</sup>АТ1 с рецептором АПФ2 клеток человека, что позволило получить важные сведения о молекулярной основе коронавирусной инфекции. Позже были опубликованы данные о кристаллической структуре области рецепторсвязывающего домена S1 белка S SARS-CoV-2, связанного с АПФ2 [113]. Архитектура SARS-CoV-2 с постфузионным белком S наблюдалась с помощью Cryo-EM, что позволило получить подробное изображение диссоциированных доменов белка S [127, 171].

## ИНФИЦИРОВАНИЕ (ПОПАДАНИЕ КОРОНАВИРУСА В КЛЕТКУ ЧЕЛОВЕКА)

**Внедрение SARS-CoV.** Подобно другим коронавирусам, SARS-CoV проникает в клетки путем эндоцитоза и слияния мембран, образуя комплекс рецептор–клетка–АПФ2 [60, 111]. SARS-CoV входит в клетки-мишени и может ингибироваться полианионными соединениями, что позволяет предположить, что белок оболочки SARS-CoV может быть положительно заряжен. В то же время проникший в клетку вирус должен находиться в эндосоме с низким pH для получения эффективной распаковки вириона, что указывает на ее pH-зависимый эффект [168]. Вирусная РНК реплицируется в уникальных бутылкообразных бислойных мембранных компартаментах [79]. В ряде исследований было установлено, что внедрение SARS-CoV может вызывать ультраструктурные изменения как *in vivo*, так и в культивируемых клетках, включая образование микровезикул, эндосом и нуклеокапсидных включений в цитоплазме [73].

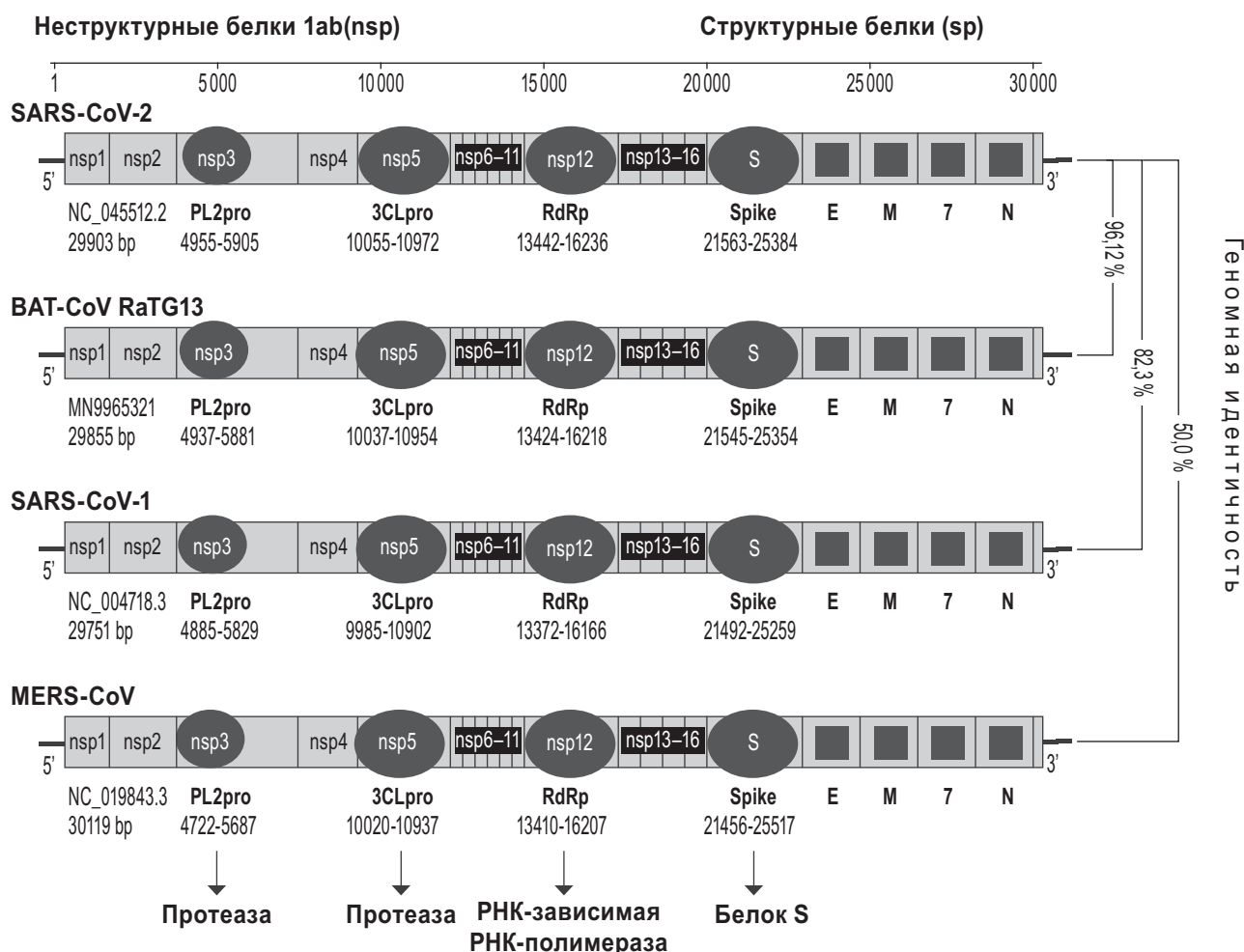


Рис. 5. Взаимосвязь структурных и неструктурных полипептидных мишеней патогенных коронавирусов

**Внедрение MERS-CoV.** Установлено, что MERS-CoV способен заражать и убивать не только клетки альвеолярного эпителия, но и Т-клетки [47]. MERS-CoV проникает в клетки человека, связываясь с рецептором DPP4, экспрессируемым в клетках почки и в других органах [16], также он использует протеазы хозяина для проникновения в клетки легких. Фурин в межклеточном пространстве активирует белок S на вирусной оболочке, опосредуя слияние мембран и проникновение вируса в клетки человека [143, 213]. Таким образом, подобно SARS-CoV, MERS-CoV может преодолевать естественный иммунный ответ человека, затем производить высокие титры вирионов и индуцировать дисбаланс цитокинов [81, 169].

**Особенности внедрения SARS-CoV-2.** В 2003 г. методом масс-спектрометрии было показано, что рецептор АПФ2 связывается с белком S коронавируса SARS-CoV [122], позже было подтверждено, что АПФ2 является также рецептором и для SARS-CoV-2, необходимым для проникновения коронавируса в клетки человека [202]. Китайские ученые в 2020 г. провели обширные сравнительные исследования и составили самый большой в мире атлас клеток почек человека с 42 589 клетками и определили 19 ведущих кластеров с помощью иерархического кластерного анализа [191].

Исследователи установили, что гены АПФ2 и клеточной трансмембранной сериновой протеазы TMPRSS2 были значительно коэкспрессированы в подоцитах и клетках проксимальных извитых канальцев почек человека. Сравнительный анализ с другими клетками человека показал, что экспрессия АПФ2 в клетках почек была не меньше, чем в эпителиоцитах легких, пищевода, тонкого кишечника и толстой кишки. Эти данные позволяют предположить, что клетки почки человека, несущие АПФ2, также могут быть очередным органом-мишенью для SARS-CoV-2.

Что касается предрасположенности различных групп населения к SARS-CoV-2, то китайские ученые [43] показали, что экспрессия АПФ2 у азиатов была аналогична экспрессии АПФ2 у людей других рас и не имела гендерных различий. Было также установлено, что АПФ2 значительно повышается после коронавирусной инфекции, включая SARS-CoV и SARS-CoV-2 [184]. Анализ открытых данных показывает, что уровень экспрессии АПФ2 в клетках жировой ткани был выше, чем в клетках легких, что указывает на то, что жировая ткань также является потенциальной мишенью для SARS-CoV-2 [94].

В настоящее время известно, что SARS-CoV-2 преимущественно заражает клетки респираторного

эпителия, но в работах второй половины 2020 г. продемонстрировано, что SARS-CoV-2 также может заражать Т-лимфоциты [185], клетки селезенки и клетки лимфатических узлов [201]. Таким образом, данные всех выполненных исследований подтверждают, что АПФ2 является не только участником ренин-ангиотензиновой системы человека [58], но его клеточный рецептор служит для связи с белком S SARS-CoV-2. Анализ рецептор-связывающего мотива (RBM) SARS-CoV, являющегося частью рецептор-связывающего домена S1, показал, что именно он вступает в контакт с рецептором АПФ2 человека [124]. Установлено также, что большинство аминокислотных остатков, необходимых для связывания рецептора АПФ2 с RBM SARS-CoV, сохранены и в SARS-CoV-2 [184]. М. Hoffmann и соавт. в эксперименте при блокировании рецептора АПФ2 в клетках Vero обнаружили, что вирулентность SARS-CoV-2 резко понижалась, и что клеточная сериновая протеаза TMPRSS2 при этом также играла важную роль [88].

Таким образом, сравнительными исследованиями коронавирусов, выполненными в настоящее время, установлено, что вирион SARS-CoV-2 проникает в клетку путем эндоцитоза: S-белок, прикидываясь «своим», связывается с клеточным рецептором АПФ2, вследствие чего мембраны вируса и клеточной эндосомы сливаются и после ее закисления и разрушения РНК вируса выходит во внутриклеточное пространство. При активации геном вируса транслируется в полипептиды (pp1a и pp1ab), с помощью которых формируется копия РНК вируса и восемь мРНК-шаблонов для генерации вирусных белков в просвете (ERGIC) между эндоплазматическим ретикуломом (ЭПР) и аппаратом Гольджи. Впоследствии компоненты вируса в клеточной цитоплазме собираются в вирионы и путем экзоцитоза выходят из клетки для последующего заражения соседних клеток.

## СТРАТЕГИЯ ПОИСКА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

### Против SARS-CoV-2

Неослабевающий интерес исследователей к коронавирусам в настоящее время вызван необходимостью срочно создать лекарства против опасного типа пневмонии человека, вызванной новым штаммом бета-коронавируса — SARS-CoV-2 [132, 133]. Этот штамм оказался близок к бета-коронавирусу, SARS-подобному коронавирусу, а также к тем, которые индуцируют SARS (тяжелый острый респираторный синдром) и MERS (ближневосточный респираторный синдром), которые вызвали в 2003 и 2012 гг. вспышки тяжелой пневмонии у людей, впоследствии названной атипичной пневмонией. Эти инфекции не вызвали широкого пандемического распространения, но продемонстрировали для человечества угро-

жающую картину из-за высокого уровня смертности, достигающего 9,6–35,5 % [69, 90].

Тем не менее, несмотря на 15-летнюю историю контакта с опасными коронавирусами и ожидание новых вспышек, человечество не успело разработать специфичного противокоронавирусного средства [160]. Во время прежних вспышек применяли препараты широкого спектра действия **рибавирин** и **интерферон-альфа** [10]. Применительно к вирусам это означает, что эффект не гарантирован, а возникающие побочные осложнения не вполне предсказуемы. Недавно была продемонстрирована эффективность рибавирина против SARS-CoV-2 [104], но нужны более расширенные и тщательные клинические исследования.

Таким образом, анализ современных исследований [8, 31] по поиску препаратов против коронавирусов позволяет выделить 8 основных классов фармакологических лекарственных средств, действующих на различные вирусные мишени, которые позволяют блокировать внедрение и воспроизводство коронавируса и подавлять развитие заболевания у человека. Эти лекарственные средства разрабатываются на основе современных знаний о жизненном цикле коронавируса и патогенетических механизмах, лежащих в основе коронавирусной инфекции, они включают:

- 1) ингибиторы вирусной полимеразы;
- 2) ингибиторы коронавирусной протеазы M<sup>pro</sup>;
- 3) ингибиторы клеточных протеаз человека;
- 4) ингибиторы входа вирионов в клетку, то есть ингибиторы белка S;
- 5) ингибиторы вирусной хеликазы и топоизомеразы;
- 6) искусственные дефензины, разрушители вирионов;
- 7) препараты рекомбинантных интерферонов  $\alpha 2$  и  $\beta 1$ ;
- 8) препараты, содержащие специфичные противовирусные антитела.

Рассмотрим подробнее выделенные направления.

### 1. Ингибиторы вирусной полимеразы.

Вирусная полимераз (РНК-зависимая РНК-полимераза) является стандартной терапевтической мишенью, так как ее блокада подавляет репликацию вирусного генома и образование вирионов. К настоящему времени существуют разнообразные мультиспецифические ингибиторы РНК-полимеразы различных вирусов, что обусловлено выраженными структурными и функциональными сходствами этого фермента, существующими среди многих вирусов [146, 148].

Рибавирин (фуранозилкарбоксамид, лат. *ribavirinum*) — ингибитор полимеразы относится к числу ингибиторов РНК-зависимой РНК-полимеразы коронавирусов, причем ранее было показано, что он проявляет высокую блокирующую активность в отношении различных вирусов [164], в концентрации 10–25 нМ с индексом селективности (IC<sub>50</sub>) более 100 [138].



Установлено, что рибавирин как аналог гуанозина (рис. 6) препятствует репликации РНК- и ДНК-содержащих вирусов. Однако противовирусная активность рибавирина не ограничивается интерференцией только с полимеразами, но особая структура рибавирина также препятствует трансляции РНК, поскольку для этого вирусная РНК использует природный гуанозин. Кроме того, чтобы еще больше способствовать дестабилизации вирусной РНК, рибавирин ингибирует естественное производство гуанозина в клетке путем прямого ингибирования инозинмонофосфатдегидрогеназы [80].

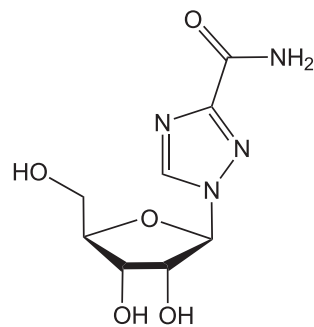


Рис. 6. Структурная формула рибавирина

Отметим, что поскольку атипичная пневмония, SARS, MERS и COVID-19 развиваются в основном в клетках эпителия дыхательных путей, то наиболее подходящей лекарственной формой могут служить аэрозольные ингаляции рибавирина, проявляющие эффективную противовирусную активность при нетоксичных концентрациях в эпителиальном клеточном слое дыхательных путей и, таким образом, могут служить наиболее подходящим лекарственным препаратом против коронавирусов [64, 104]. Это основано на низкой биодоступности клеток легких при пероральном введении по сравнению с аэрозольным рибавирином (1% и более 70% соответственно) и его последующей активации, происходящей в альвеолярных эпителиальных клетках [72]. Считается, что прямое аэрозольное воздействие на альвеолярный эпителий может быть наиболее активным и эффективным на ранней стадии начала инфекции, так

как сопровождается блокированием репликации вируса в молчащей фазе, когда патологические явления воспаления и отека еще не достигли опасного уровня.

В настоящее время китайские врачи, применявшие рибавирин как монопрепарат для лечения COVID-19, отмечают его небольшую эффективность и рекомендуют использовать это лечебное средство в сочетании с другими препаратами [92], такого же мнения придерживаются и исследователи из США [104].

Другим кандидатом препаратов для борьбы с коронавирусами могут быть **фавипиравир** (лат. *favipiravirum*) и его рибозилированные производные [61]; они проявляют высокий противовирусный потенциал и селективность в отношении различных РНК-содержащих вирусов (рис. 7) [57]. На рисунке показано, что лечебное действие фавипиравира приобретает при поступлении в клетки человека и превращении его в активную форму.

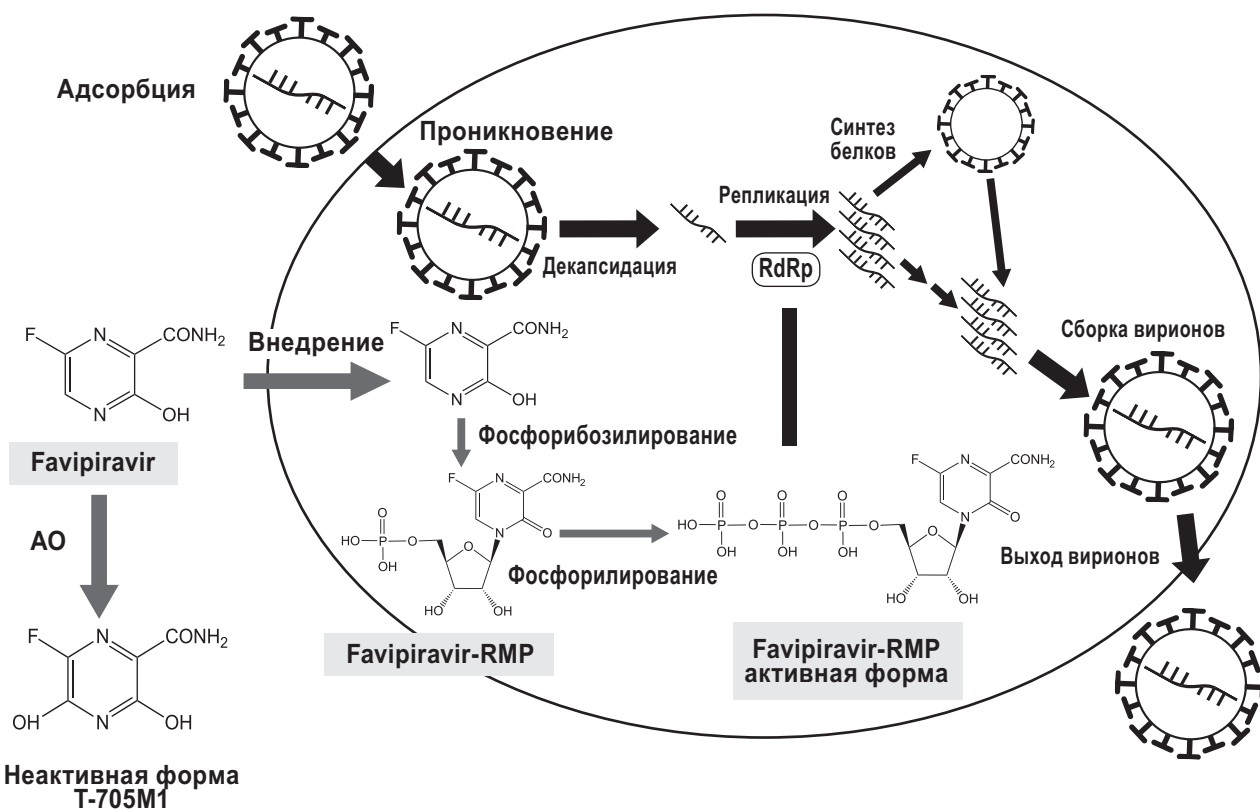
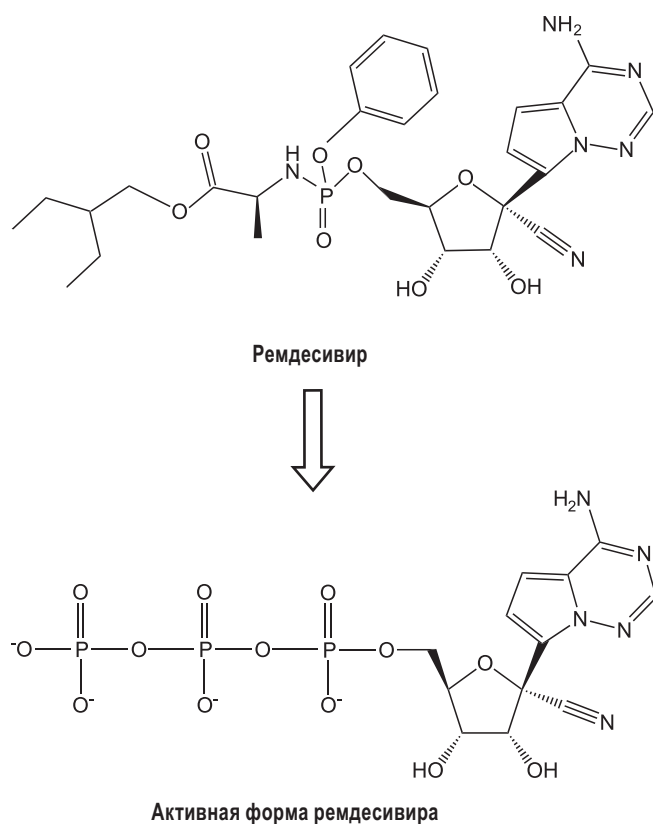


Рис. 7. Схема действия фавипиравира на процесс репликации вируса, проникшего в клетку человека (цит. по: [62] с изменениями)



**Рис. 8.** Схема превращения ремдесивира в фармакологически активную фосфорилированную форму в клетках человека

В настоящее время фавипиравир в качестве лекарственного средства **Авифавир**, **Арепливир** и **Коронавир** разрешен Минздравом РФ для лечения COVID-19 [1, 3, 9]. Арепливир, в качестве лекарства от коронавируса, ингибирует цитохром CYP2C8 и **альдегидоксидазу**, но не влияет на систему цитохрома P450. Максимальная действующая концентрация достигается в течение 1,5 ч. Степень связывания с белками плазмы составляет до 54 %, частично метаболизируется **ксантиоксидазой** до гидроксированной формы.

Следует также отметить отечественный противовирусный препарат **Арбидол** (лат. *umifenovirum*, производное фавипиравира) [2], который показал свою эффективность при лечении пациентов COVID-19 [58, 132, 197].

Еще одним перспективным препаратом, блокирующим репликацию, является **ремдесивир** (лат. *remdesivirum*), полученный из фосфорилированного 1'-цианзамещенного аденозина (рис. 8). Он является препаратом широкого спектра действия, обладающим высоким противовирусным потенциалом в отношении различных вирусов, включая коронавирусы [63, 126, 130, 160]. Отметим основополагающие работы, выполненные С. J. Gordon и соавт. [77], в которых детально исследован механизм ингибирования ремдесивиром РНК-зависимой РНК-полимеразы. В настоящее время

ремдесивир включен FDA (США) для лечебной терапии COVID-19 при тяжелых формах пневмонии [144, 160].

## 2. Ингибиторы внедрения вирионов в клетки человека.

Ранее уже упоминалось, что началом инфицирования является вирусный белок S (~150 кДа), который инициирует проникновение коронавирусов в клетки-мишени [15, 67]. Внутри клетки этот белок подвергается целенаправленному расщеплению на две отдельные субъединицы, S1 и S2, строго на определенном участке протеолитического расщепления (позиция 641–687) [51, 106].

Следовательно, процесс эффективного ингибирования этого белка может происходить либо непосредственно, либо на этапе протеолитического расщепления. В качестве потенциального ингибитора предлагается использовать **хлорохин** (лат. *chloroquinum*) или гидроксихлорохин. В качестве действующего лекарства хлорохин широко используется в медицинской практике для лечения малярии. Ранее в экспериментах было показано, что этот препарат проявляет выраженную активность в отношении коронавирусов в клеточных культурах и на моделях животных [152]. Механизм его действия против отдельных вирусов обусловлен изменением внутриклеточного pH, что сопровождается изменением pH в эндосомах внутри клетки [153], мешающее pH-зависимым конформационным переходам белков слияния вируса до активного состояния, в результате чего эти процессы приводят к замедлению депротеинизации вируса («разделение» вируса) в эндосомах внутри клетки и, соответственно, блокируют дальнейшее заражение клеток-мишеней. Кроме того, хлорохин может изменить гликозилирование клеточных рецепторов, включая рецептор АПФ2 и, таким образом, изменяет вирулентность как SARS-CoV, так и SARS-CoV-2 [50, 179].

Основываясь на этих данных, хлорохин был рекомендован для лечения COVID-19 и, по мнению китайских ученых, продемонстрировал положительные эффекты у ряда пациентов [70]. Недавно появилась обзорная работа американских ученых, продемонстрировавших при анализе данных значительного количества пациентов, лечебный эффект перепрофилированных препаратов (рис. 9) [55]. Исследователи использовали при анализе различные дополнительные факторы: возраст, пол, расовую и этническую принадлежность, индекс массы тела, наличие сердечно-сосудистого заболевания или факторов риска: диабета, заболевания легких, курения, слабого иммунитета, а также исходно тяжелое течение COVID-19. В выборку попали сведения о 96 тысячах пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19 из 671 госпиталя на шести континентах.

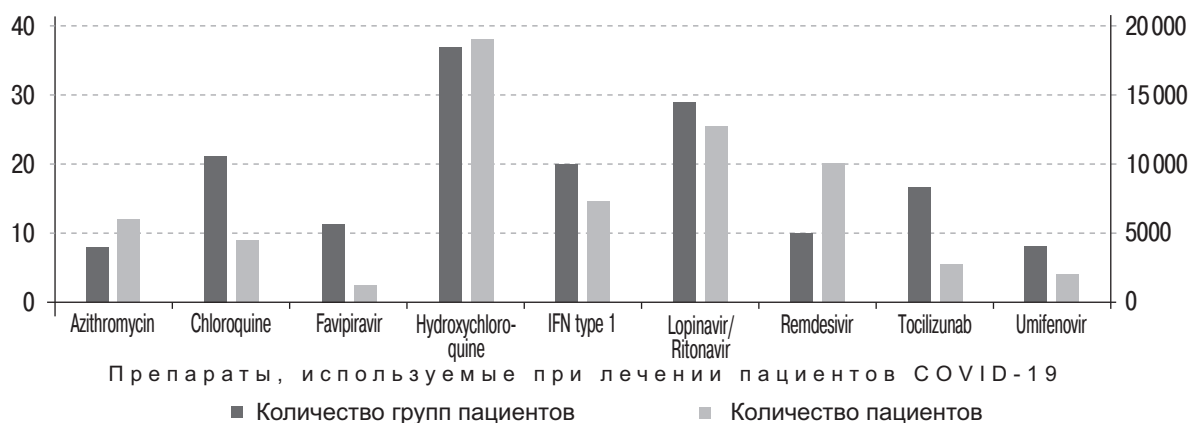


Рис. 9. Обобщенные данные по применению перепрофилированных препаратов для лечения пациентов с COVID-19 (цит. по: [55] с изменениями)

### 3. Ингибиторы главной коронавирусной протеазы M<sup>pro</sup>.

Геномы коронавирусов — самые большие среди РНК-содержащих вирусов, при этом размер генома SARS-CoV-2 составляет около 30 тыс. нуклеотидов [97]. SARS-CoV-2 имеет довольно сложноустроенный жизненный цикл (рис. 10).

Поэтому такой сложноустроенный механизм (SARS-CoV-2) легко «сломать», так как потенциальных мишеней для лекарственного воздействия на SARS-CoV-2 достаточно (рис. 10). Но хорошее лекарство должно защищать не только от текущей пандемии COVID-19, но и от других сходных инфекций, которые могут появиться в любой момент при

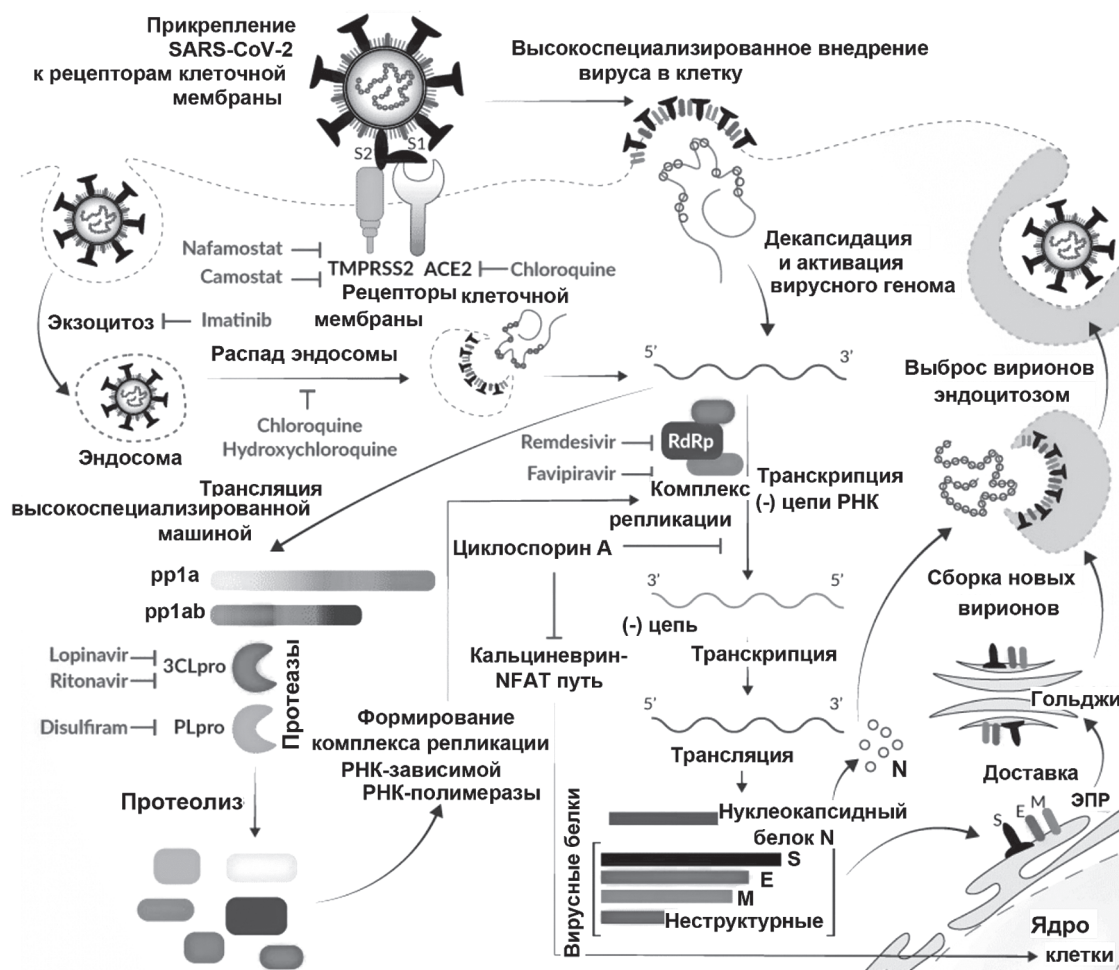


Рис. 10. Схема жизненного цикла коронавируса SARS-CoV-2 и его мишеней для воздействия лекарственных препаратов. АПФ-2 — клеточный рецептор для прикрепления SARS-CoV-2, TMPRSS2 — клеточная трансмембранная сериновая протеаза для прикрепления SARS-CoV-2, RdRp — РНК-зависимая РНК-полимераза, ЭПР — эндоплазматический ретикулум, NFAT — ядерный фактор активированных Т-клеток

возникновении новых разновидностей коронавирусов. При поиске лекарств необходимо исходить из эволюционно стабильных компонентов вируса, то есть «прицеливаться» в белки, которые в ходе эволюции у коронавирусов менялись мало (это так называемые консервативные белки). Одним из этих белков является главная протеаза вируса ( $M^{pro}$ ) — ее и используют как главную мишень для разработки противокоронавирусных лекарств [8, 54, 145, 158, 206], в том числе методами перепрофилирования [114]. Учитывают при этом, что протеазы разных вирусов могут различаться и по структуре, и по механизму катализа. Например, протеаза ВИЧ — аспаратная, а протеаза вируса гепатита С — сериновая [51], то есть они относятся к разным классам и имеют разный механизм действия. Так, каталитический домен протеазы, являющийся сериновой протеазой коронавируса по 3D-укладке похож на химотрипсин [6].

Сейчас известно, что при трансляции вирусной РНК CoV образуется длинный прополипептид (~750 кДа), который в последующем подвергается расщеплению аутопротеолизом на 14–16 фрагментов (nsp1–nsp16), в зависимости от типа вируса [18]. Затем nsp12 может функционировать в качестве активной вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразы и регулирует репликацию вирусного генома и последующий синтез вирусных белков на первом этапе репликации коронавируса после попадания в клетки-мишени [68]. Оказалось, что расщепление полипептида 1ab (pp1ab) опосредовано его собственным доменом 5 (nsp5 — протеазный домен  $M^{pro}$ ), проявляющим специфичность целевых протеолитических сайтов, близких к протеазам пикорнавируса и ВИЧ [104], поэтому протеаза  $M^{pro}$ , как показано в настоящее время [54, 128, 160], становится чувствительной к ингибиторам лопинавир/ритонавир. У некоторых вирусов два начальных разрыва внутри полипептида 1ab выполняются белком Nsp3, несущим папаиноподобный домен цистеиновой протеазы PL2 $^{pro}$  [117]. Таким образом, лопинавир/ритонавир, моделирующие протеолитические целевые участки в вирусных белках, проявляли выраженный терапевтический эффект против SARS и MERS [128, 160, 198]. Структурное сходство в протеазном домене nsp5 вирусов SARS, MERS и COVID-19 позволяет однозначно рекомендовать его в качестве мишени для поиска препаратов для лечения атипичной пневмонии при COVID-19 [128, 193]. Использование таких препаратов может быть особенно эффективным во время ранней стадии инфекции, когда происходит начальная стадия репликации SARS-CoV-2 [32, 119].

#### 4. Ингибиторы вирусной хеликазы и топоизомеразы.

В настоящее время всеми признано, что сверхспиральная надмолекулярная структура ДНК эукариот и прокариот регулируется сложной ферментной

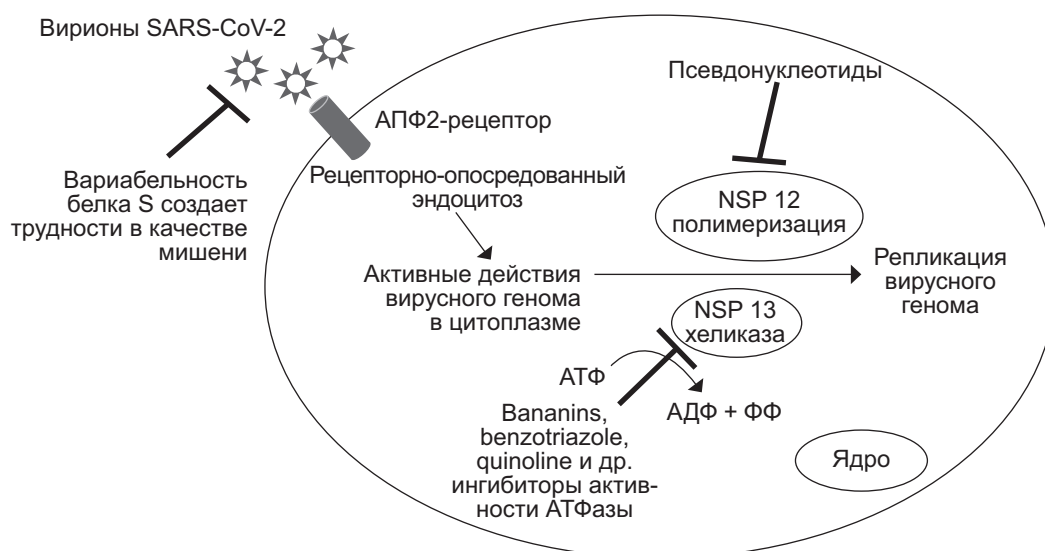
системой, состоящей из хеликаз и топоизомераз [4, 59, 147].

При этом установлено, что хеликазы суперсемейств I и II (SF1H и SF2H) многих (+)ssPHK-содержащих вирусов входят в состав репликативного комплекса и участвуют, наряду с РНК-полимеразой, в репликации вирусных геномов. (+)ssPHK-содержащие вирусы контролируются путем разрушения вирусных РНК, направляемых специфическими малыми РНК. Геномы вирусов кодируют супрессоры РНК-сайленсинга, подавляющие защитный ответ хозяина, основанный на РНК-интерференции, что делает возможной эффективную репликацию вируса. Была предложена гипотеза, согласно которой эта новая функция, приобретенная ретротранспозонами в результате горизонтального переноса генов, может способствовать частичному выходу из-под контроля, осуществляемого клеточной системой РНК-сайленсинга [12].

Уже установлено, что (+)ssPHK вируса SARS-CoV-2 при проникновении в клетку инициирует и контролирует производство вирусного прополипептида, содержащего 7098 аминокислотных остатков, который затем в процессе аутолиза распадается на шестнадцать небольших полипептидов, контролирующих жизненный цикл вируса [67]. Выявлены также особенности структуры хеликазы коронавируса [53, 85].

Поскольку в настоящее время COVID-19 инфицированы свыше 15 млн человек в мире, то открытие молекулярных мишеней этого вируса является большим достижением современной науки. Отметим, что до 2020 г. ключевые биологические функции неструктурного белка Nsp2 SARS-CoV были неизвестны. В настоящее время использование базы данных Genbank и поиск на основе гомологии последовательностей среди известных белковых аминокислотных последовательностей позволили понять функции этого белка [22, 38]. Удалось показать, что РНК-топоизомеразная активность функционально близка ДНК топоизомеразам типа I, аналогичная активность была обнаружена в белке Nsp2 SARS-CoV-2 [22] путем поиска гомологии с *Vibrio haemolyticus* Type I и ДНК-топоизомеразой типа IV, а также с гиразой *E. coli* и ДНК-праймазой. Исследователи предположили, что РНК-топоизомеразная активность SARS-CoV-2 необходима для высвобождения узлов РНК–РНК и супервитков во время синтеза гомологичных РНК-цепей с последующим синтезом субгеномной РНК [21, 84].

Наконец, после компьютерных сопоставлений по гомологии исследователи пришли к выводу, что белок Nsp2 функционально можно отнести к DNA топоизомеразе типа IV и типа I *Vibrio haemolytica*, где  $NH_2$ -концевые домены topoVI имеют сходство с  $COOH$ -концевыми доменами белка Nsp2, а  $COOH$ -домены topo I имеют сходство с  $NH_2$ -концевыми доменами Nsp2. Таким образом, белок Nsp2 является РНК-топоизомеразой коронавируса и силь-



**Рис. 11.** Вероятные клеточные мишени для разработки лекарств против SARS-CoV-2 (цит. по: [84] с изменениями). АПФ-2 — клеточный рецептор для прикрепления SARS-CoV-2, NSP — неструктурный белок (англ. Nonstructural protein), АТФ — аденозинтрифосфат, ФФ — фосфаты

ным кандидатом в качестве мишени на разработку лекарственных препаратов и вакцин против SARS-CoV-2. Кроме того, небольшой пептид (HN<sub>2</sub>-LVN-KFL-ALC-ADS-III-GGA-KLK-ALN-LGE-TFV-CO<sub>2</sub>H) Nsp2 длиной 30 аминокислот может быть хорошей пептидной основой для создания вакцины против коронавируса. Исследователи также синтезировали праймер nsp2F1 (5'-CCTGATAGTCTTGCCGA-3') и праймер nsp2R1 (5'-GAGCAGTTTCAAGAGTGCGG-3'), пригодные для диагностики инфекции COVID-19 методом ПЦР в реальном времени.

В других исследованиях с использованием молекулярного докинга показано, что производные триазолов также могут служить потенциальными ингибиторами коронавируса хеликаз [203].

Резюмируя, отметим, что разработка лекарственных средств, блокаторов хеликазы и топоизомеразы SARS-CoV-2, является перспективным направлением для практических фармакологов (рис. 11) [46, 84].

Подтверждением вышесказанному являются результаты молекулярного докинга перспективных препаратов. Среди них следует отметить 4 противоопухолевых лекарственных препарата, классических ингибитора топоизомераз — amrubicin, daunorubicin, idarubicin, teniposid [96].

### 5. Ингибиторы клеточных протеаз человека.

Установлено, что клеточная трансмембранно-связанная сериновая протеаза TMPRSS2 участвует в активации белка S [106, 130], вследствие чего ингибиторы, нацеленные на эту протеазу, могут подавлять инфицирование клетки и распространение вируса в месте инфекции [88]. Этот терапевтический подход может быть применен в клинической практике при использовании уже проверенных на других вирусах ингибиторов протеаз, например, аprotинина [6], камостата и нафамостата [88].

Необходимо также отметить, что эти антипротеазные агенты оказывают сильное противовоспалительное действие посредством ингибирования некоторых провоспалительных цитокинов и соответствующих им сигнальных путей [7, 211], в свою очередь эти действия могут заблокировать определенные патогенетические эффекты, то есть уменьшить воспаление легких и отек, что может действовать благотворно на течение второго этапа инфекционного процесса. В настоящее время понятно, что патогенетические механизмы, связанные с излишней активацией протеаз и последующим приростом активных провоспалительных цитокинов, могут оказывать доминирующее влияние на тяжесть заболевания [24, 186].

Последние данные из Китая позволяют предположить, что наряду с сериновой протеазой TMPRSS2 [86, 105] и другие клеточные протеазы, а также фурин и эндосомальный катепсин L клеток хозяина также могут быть вовлечены в протеолитическую активацию белка S [24, 51, 88]. Следовательно, если бы была подтверждена роль фурина, активирующего белка ряда вирусов, как считают некоторые ученые [103, 150], то в качестве противовирусных препаратов можно было бы рекомендовать использовать известные природные растительные ингибиторы [146], а также проверенные синтетические олигопептидные ингибиторы [163, 190].

### 6. Искусственные дефензины как разрушители вирионов.

Основными мишенями для дефензинов в первую очередь являются бактерии, и лишь во вторую — оболочечные и безоболочечные вирусы. Антивирусная активность дефензинов была изучена на многих вирусах, включая вирус ВИЧ, вирус папилломы человека, вирус герпеса простого, дыхательный

■ Таблица 1. Стадии исследования дефензинов и дефензиноподобных препаратов

| Название препарата            | Фирма-изготовитель              | Фаза исследования  | Исходные условия применения  |
|-------------------------------|---------------------------------|--------------------|--|
| Brilacidin (аналог дефензина) | Innovation Pharmaceuticals Inc. | Вторая клиническая | Бактериальные поражения кожи; поверхность бактерий; оральные микозы; поверхность вирусов |
| $\alpha$ -Дефензин-5 человека | Therapeutics ApS                | Доклиническая      | Астма; воспаление кишечника; метаболический синдром                                      |

синцитиальный вирус и несколько других [5, 8, 191]. В 2020 г. появилась экспериментальная работа, в которой виртуальным докинггом изучили взаимодействие дефензинов человека с поверхностным белком S SARS-CoV-2 [108]. Однако лечебная терапия коронавирусных инфекций, даже в эксперименте, основанная на препаратах дефензинов, находится пока в доклинических и преклинических исследованиях (табл. 1).

Тем не менее, основываясь на функциональных свойствах дефензинов, фирмой Innovation Pharmaceuticals Inc. был синтезирован препарат **брилацидин** (лат. *Brilacidinum*), структурно напоминающий дефензин, в качестве препарата для обработки поверхности кожи, пораженной *Staphylococcus aureus*, включая устойчивый к метицилину *S. aureus* и чувствительный к метицилину *S. aureus* при острых бактериальных инфекциях. Предполагается, что этот препарат будет пригоден для лечения воспаления слизистой оболочки бронхов легких. Брилацидин как аналог дефензина является разрушителем бактериальной мембраны, а также выборочно поражает поверхность вирусов. В 2020 г. фармацевтическая компания планирует продвинуть брилацидин как потенциально новый способ лечения коронавируса COVID-19. В качестве аналога дефензина, брилацидин мог бы усилить естественный иммунный ответ организма человека в борьбе против COVID-19 [34].

### 7. Препараты рекомбинатных интерферонов $\alpha 2$ и $\beta 1$ .

Препараты, содержащие человеческий рекомбинантный интерферон классов  $\alpha 2$  и  $\beta 1$ , были использованы в терапии пациентов различной этиологии, связанных с инфекциями, инициируемых SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-nCoV [48, 198]. Было установлено, что интерферон- $\beta 1$  оказывает незначительное лечебное действие, тогда как интерферон- $\alpha 2$  вообще не проявлял активности, однако наиболее выраженная активность наблюдалась после применения интерферона- $\beta 1$  в комбинации с рибавирином [138, 160, 199]. При выборе стратегии лечения следует учитывать, что препараты интерферона проявляют пиковую эффективность только на ранних стадиях заболевания, когда реакция человека еще не слишком сильная или не достигла своего пика [39, 90, 139]. Поэтому, использование препаратов на основе экзогенного интерферона вряд ли будет рациональным на более поздних стадиях заболевания из-за большого количества эндогенных интерферо-

нов, вырабатываемых в ответ на острую вирусную инфекцию. Наконец, введение препаратов на основе экзогенного интерферона на поздних стадиях заболевания за счет дальнейшего повышения предварительно заданного высокого уровня эндогенных интерферонов может способствовать развитию «цитокинового шторма» и воспаления в очаге инфекции, тем самым ухудшая течение заболевания [39, 210].

### 8. Препараты, содержащие специфичные противовирусные антитела.

Такой подход к терапии коронавирусной инфекции подразумевает введение антител, способных нейтрализовать инфекционные свойства этого вируса. Кроме того, введение антител может также использоваться для ранней профилактики заболеваний, называемой пассивной иммунизацией. Существуют две основные возможности для использования противовирусных антител [28, 74, 135]: во-первых, это разработка и создание специализированных вируснейтрализующих антител (или их активных противовирусных доменов) с использованием генной инженерии и биотехнологии [195]. Такие препараты, специфичные для коронавирусов, включая SARS-CoV-2, еще не созданы [159]; во-вторых, это специфичный противовирусный иммуноглобулиновый препарат, полученный более традиционным и простым методом от выздоравливающих пациентов, или от реконвалесцентов после COVID-19, или от животных, вакцинированных вирионами SARS-CoV-2 или его компонентами [23, 109, 212]. Опубликованы первые сообщения об успешном введении противовирусных иммуноглобулинов, полученных из плазмы реконвалесцентов с MERS и COVID-19, которые были использованы для лечения атипичной пневмонии в Китае во время вспышки атипичной пневмонии SARS-CoV-2 в 2020 г. [110]. Однако, для успешного применения таких препаратов необходимо, чтобы реконвалесцентные сывороточные иммуноглобулины содержали высокий титр (не менее 1 : 640) анти-CoV антител [14, 22, 26, 60].

Известно, что реконвалесцентная плазма выздоравливающих пациентов была впервые использована в Китае в феврале 2020 г. для успешного лечения тяжелобольных пациентов с COVID-19 [60]. Было показано, что в донорской плазме с высоким титром антител к SARS-CoV-2 не обнаруживались вирионы SARS-CoV-2 [41]. Врачи отмечали, что уже через 12–24 ч после трансфузии основные симптомы

воспаления значительно уменьшились параллельно с увеличением количества лимфоцитов и насыщения крови кислородом. Наблюдалось также улучшение общих показателей жизнедеятельности. Хотя точные механизмы, лежащие в основе лечебного механизма, неизвестны, есть основания предполагать, что антитела могут связывать вирус и предотвращать взаимодействие вируса с клеткой-хозяином, а следовательно, предотвращать инфекцию. Кроме того, NK-клетки и другие иммунные клетки могут также участвовать в уничтожении вируса с помощью антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности.

Кроме того, ранее было отмечено, что инфекционность коронавируса к иммунным клеткам усиливается некоторыми типами искусственных антител, нацеленных на белок S SARS-CoV [182]. К счастью, пока такие антитела еще не были идентифицированы в сыворотке крови выздоравливающих пациентов с COVID-19 [183].

Тем не менее ряд инфекционистов считают, что следует учитывать потенциальные риски, связанные с использованием реконвалесцентной плазмы, включая передачу неизвестных пока патогенов и аллергическую реакцию, следовательно, эта стратегия может применяться только в случае чрезвычайной клинической ситуации после проведения стандартных лечебных процедур. Поэтому, как уже отмечалось, специфический иммуноглобулин может быть гораздо лучшим вариантом лечения тяжелобольных пациентов с COVID-19.

## ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕПОЗИЦИОНИРОВАНИЯ (ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕКАРСТВ ПО НОВЫМ ПОКАЗАНИЯМ) ПРОТИВ COVID-19

В ряде статей [31, 45, 71, 86, 156] обсуждается применение лекарств по новым показаниям целого ряда препаратов, пригодных в качестве лекарств для лечения COVID-19. Основное преимущество такого подхода заключается в том, что перепрофилированный препарат ранее уже был оценен на предмет его безопасности доклиническими и клиническими испытаниями, что позволяет сэкономить значительное количество времени, материальных ресурсов и денег [131, 149, 166]. Действительно, большинство препаратов, которые в настоящее время исследуются на эффективность против SARS-CoV-2, являются перепрофилированными известными лекарственными средствами [50, 89, 167].

Можно выделить два основных направления, которые используют современные исследователи для перепозиционирования, или перепрофилирования (англ. repurposing), существующих лекарственных препаратов. Во-первых, это различные математические методы на основе компьютерных технологий и, во-вторых, — экспериментальное тестирование перепрофилированных препаратов на клеточных

линиях и на мышинных моделях. Остановимся подробнее на анализе этих направлений.

### А. Использование компьютерных технологий.

В настоящее время одним из самых распространенных подходов является поиск новых лекарственных средств при помощи математических методов с использованием компьютеров. При моделировании взаимодействий в этих исследованиях используются хорошо изученные лекарственные мишени, которые включают протеазу клеток человека TMPRSS2 [65], вирусную протеазу M<sup>pro</sup> [40, 113, 203], вирусный белок S [78], оболочечный белок E ионного канала [83], 2'-O-рибозометилтрансферазу [105], нуклеокапсидный белок N [155] и РНК-зависимую РНК-полимеразу [64].

**1. Молекулярный докинг.** Самым известным из них является методика молекулярной стыковки (англ. molecular docking). В докинге виртуально оценивается, возможно ли проникновение молекулы в связывающий домен биологической мишени и эффективное взаимодействие с ней [11]. Это один из самых известных и эффективных методов компьютерного моделирования связывания лекарства с рецептором. Чаще всего при поиске новых лекарств используют библиотеки известных соединений в существующих международных базах данных и трехмерную структуру молекулярной мишени. При этом самой используемой в настоящее время является трехмерная структура основных белков SARS-CoV-2 (она доступна в банке данных PDB под шифром 6LU7), как потенциальных мишеней для ингибиторов [178, 202]. В дальнейшую разработку поступают вещества, показавшие по результатам моделирования максимальную энергию связывания. Такой подход называется **виртуальным скринингом**.

В 2020 г. с помощью специальных программ по международным базам данных находят белки, сходные по последовательности с исследуемым, имеющие общее с ним эволюционное происхождение (это называется **гомологией**), и, что важно, для них уже расшифрована трехмерная структура. Ее используют в качестве шаблона, на который с помощью других программ буквально «нанизывают» исследуемый белок — предполагая, что так он будет сворачиваться (3D-структура) в естественных условиях [64, 102].

Основываясь на результатах виртуального скрининга SARS-CoV-2 3CLpro [18], препараты рилапидиб, саквинавир, оксолиновая кислота, элвитегравир, батифентерол, ситафлоксацин, CP-609754, GSK-256066, алатрофлоксацин и кварфлоксин были выбраны как лучшие соединения из коммерческих лечебных препаратов на основе хинолина. Из этих соединений только саквинавир (8,5 ккал/моль) взаимодействует с активным каталитическим доменом (Cys145 и His41) SARS-CoV-2 2CLpro. Показано, что саквинавир образует 7 гидрофобных взаимодействий (Cys145, Met165, Met49, Leu27, Leu167, Leu141

и Phe140), 12 полярных взаимодействий (His41, Asn142, His163, Ser144, Ser46, Thr25, Thr26, Thr24, Gln192, Gln189, Thr190 и His164), одно отрицательно заряженное взаимодействие (Glu166) и одно взаимодействие глицина (Gly143) с SARS-CoV-2 3CL<sup>pro</sup>. Таким образом, для развития сильных взаимодействий в каталитической диаде CysHis авторами было сделано заключение, что саквинавир будет препятствовать активности 3CL<sup>pro</sup>.

Подобный подход применили и китайские ученые, которые использовали в качестве шаблона для моделирования 3D-структуру M<sup>pro</sup> SARS-CoV, установленную еще в 2002 г. [189]. Эта структура доступна теперь всем исследователям в банке данных PDB (www.rcsb.org) [126]. В этих исследованиях библиотека для докинга включала 1900 наименований лекарств. Но только более трети из них имели высокие значения расчетной энергии связывания. Сократить круг поиска помог отбор молекул, связывающихся с вирусной протеазой аналогично уже известным веществам. Этот поиск также проводился с помощью компьютерной техники. Таким образом список препаратов сократили до 159. Затем исследователи визуально отобрали модели 15 структур полученных комплексов. Их и использовали для более точного метода — моделирования движений молекул во времени (молекулярной динамики). В результате всех этих действий был отобран **нелфинавир** — известное противовирусное средство, которое в настоящее время используется для лечения ВИЧ. Исследователи посчитали потенциально интересными также **питавастатин** препарат для снижения холестерина, антипсихотропный препарат **перампанел** и **празиквантел**, применяющийся для лечения гельминтозов.

В дальнейшем ученые использовали антиВИЧ-препараты как инструмент для последовательного сравнения связывающих участков протеазы M<sup>pro</sup> SARS-CoV и SARS-CoV-2 [129]. Таким образом, компьютерное моделирование (докинг) показало, что исследуемые домены в протеазах связывают лекарство сходным образом. Затем руководствуясь этими данными и используя в качестве библиотеки базу данных DrugBank исследователи провели виртуальный скрининг и выявили 10 предполагаемых ингибиторов, однако химическая структура полученных соединений оказалась довольно пестрая: от антипсихотропных до противогрибковых препаратов.

Другой группой китайских ученых были получены более надежные результаты [122], так как их исследовательская библиотека включала уже 8000 подходящих препаратов. В результате скрининга отобрали 690 кандидатов. При этом авторы исключили, по их мнению, «неинтересные» вещества: красители, токсичные вещества, препараты, применяемые в неврологии и противоопухолевые лекарства со значимыми побочными эффектами. Из оставшихся 50 было выделено четыре соединения: **прулифлоксацин** (фторхинолоновый антибиотик), **биктегравир** (ингибитор протеазы ВИЧ), **нелфинавир** (еще один

ингибитор протеазы ВИЧ) и **тегобувир** (препарат, используемый для лечения гепатита С).

В США исследователи, работающие в университете Ванкувера [175], применили разработанный ими метод «глубокого докинга» для поиска активных молекул состыковывая их с 3D-структурой M<sup>pro</sup> SARS-CoV-2 [177]. Такой подход позволил им проверить гораздо больше соединений, чем при обычном докинге: ведь компьютер по соответствующей программе умеет «предугадывать», какая энергия получится при докинге, и отбрасывать неподходящие молекулы. Применяя этот подход, авторы смогли провести виртуальный скрининг более 1,3 млрд молекул, взятых из базы данных ZINC. В числе выявленных ими подходящих веществ оказался препарат для лечения ВИЧ — **лопинавир** (в настоящее время, уже используемый для лечения COVID-19). Было также отмечено, что соединение № 80 (имени у этого вещества пока нет) — это ингибитор протеазы SARS-CoV (это было установлено в 2002 г.). Однако 99 % выявленных соединений пока не синтезировано — это еще предстоит сделать.

Таким образом, и молекулярный докинг и виртуальный скрининг продемонстрировали свою привлекательность в деле поиска перспективных препаратов для ускорения борьбы с коронавирусом SARS-CoV-2. Исследования с использованием такого компьютерного инструмента продолжаются очень активно, однако необходимо иметь в виду, что у этих работ пока нет достаточного экспериментального подтверждения эффективности этих препаратов против COVID-19.

**2. Перепозиционирование (перепрофилирование)** на основе структурного соответствия. Дальнейшим развитием цифровых методов в поиске перспективных лекарств является использование подходов на основе обучающих программ и искусственного интеллекта. Основной мотивацией ученых послужило то, что применение искусственного интеллекта уже привело к неплохим результатам: сейчас искусственный интеллект предсказывает пути синтеза неорганических материалов [107], а также определяет, как образуется 3D-структура белка [165]; также с его помощью удалось разработать новые ингибиторы DDR-киназ [202]. В XXI в. эти методы стремительно входят в практику фармацевтических компаний, однако необходимость в лечебных препаратах против коронавируса SARS-CoV-2 требует, чтобы их применение наступило уже сейчас.

В настоящее время компания InSilico Medicine Hong Kong Ltd одна из первых предложила использовать свои протоколы для разработки новых противокоронавирусных препаратов. Суть их состоит в том, чтобы «заставить» компьютер сгенерировать структуру препарата [204], причем генерировать предполагалось на основе 3D-структуры вирусной протеазы M<sup>pro</sup>. Сотрудники фирмы использовали информацию о почти 6 тыс. известных антипротеазных соединений. Компания применила весь имеющийся



у нее арсенал архитектуры нейронных сетей: сети-автокодировщики, составительные сети (в таком методе две нейронные сети соревнуются между собой), языковые модели (работающие по принципу предсказания следующего слова в предложении). Затем созданные компьютером молекулы подвергались фильтрации и отсеивались по определенным критериям: по физико-химическим параметрам, по отсутствию «нехороших» групп, по предсказанной активности, по качеству докинга на модели протеазы, по показателям новизны и разнообразия.

Моделируя структурное соответствие исследователями S. Chatterjee и соавт. [40] был выполнен виртуальный скрининг, основанный на базе данных DrugBank, что привело к 20 попаданиям против вирусной протеазы 3CL<sup>pro</sup>. Был проведен расчет энергии связи для основных комплексов протеазы. Среди первых пяти попаданий **нафарелин** и **икатибант** имели энергию связи 712,94 и 851,74 кДж/моль соответственно. Основываясь на энергии связывания и стабильности белково-лигандного комплекса, ученые предлагают эти два препарата в качестве эффективных ингибиторов против основной вирусной протеазы SARS-CoV-2.

Японские ученые С. Wu и соавт. [188] провели масштабные исследования по всем возможным мишеням в составе коронавируса, проведя скрининг методом молекулярного докинга существующих лекарств и натуральных соединений. По каждой мишени был получен список из 40 «наилучших» препаратов. В частности, для **ритонавира** было найдено две возможные мишени, для **лопинавира** — даже четыре, но ингибиторов главной протеазы среди них не оказалось. Зато **рибавирин** — аналог нуклеозида, для которого было ожидаемо действие на репликацию и синтез белка, оказался лидером по связыванию с папаин-подобной протеазой PL<sup>pro</sup>. Сходными свойствами обладал **валганцикловир** — противогерпетическое средство, тоже нуклеозидной природы. Результаты скрининга против M<sup>pro</sup> напоминают данные американских исследователей, которые отобрали препарат, используемый против вируса ВИЧ — **ампренавир** и блокатор нейтральной эндопептидазы — **кандоксатрил** [179]. Этим данным достаточно, чтобы показать, что компьютерные технологии способны предложить весомое количество предварительных данных по отбору препаратов, в том числе методом перепрофилирования для борьбы с коронавирусом. Однако будут ли они пригодны в качестве лечебных средств — покажет время, так как необходима серьезная экспериментальная проверка их эффективности и безопасности.

P. Richardson и соавт. [152] использовали искусственный интеллект для перепрофилирования выпускаемых в настоящее время лекарственных препаратов. Предварительно они ввели машине важные данные из научной литературы, в частности, тот факт, что белок АПФ2, с которым связывается коронавирус, участвует в эндоцитозе. Из экспериментов

известно, что АПФ2-ассоциированная протеинкиназа-1 является важным регулятором эндоцитоза. Следовательно, блокирование протеинкиназы-1 может предотвратить эндоцитоз вируса. На основании этого искусственный интеллект протестировал 300 наиболее известных ингибиторов протеинкиназы-1, а исследователи выбрали из них 40 для будущей проверки в клинической практике. Из оставшихся сорока убрали препараты, обладающие выраженными побочными эффектами и требующие высоких дозировок лекарств. Среди выделенных шести высокоактивных ингибиторов особенно интересным оказался **бариситиниб** (известное лекарство для лечения ревматоидного артрита), являющийся ингибитором янус-киназы. Кроме того, выявили, что он ингибирует не только протеинкиназу-1, но и циклин G-ассоциированную киназу, которая также принимает участие в эндоцитозе. На основании этого сотрудники фирмы предположили, что бариситиниб можно использовать для профилактики и лечения пациентов с COVID-19. В публикации [11] утверждается, что по работе P. Richardson и соавторов американцем Лемоником опубликованы критические замечания. Ученый считает, что использование искусственного интеллекта — это просто продвинутый научный поиск, доступный и научному работнику. Спрашивается, зачем нужен искусственный интеллект? Однако следует согласиться с большинством исследователей, которые считают, что такой подход может оказаться полезным в будущем. В дополнение к сказанному отметим, что сотрудники фирмы позже все же провели компьютерный скрининг, в ходе которого был отобран препарат **цинансерин** — антагонист серотонина, разрабатывавшийся ранее как фармакологическое средство для воздействия на нервную систему. Кроме того, уже продемонстрирована антивирусная эффективность препарата на клеточной культуре [98]. В другой работе D.D. Nguen и соавт. [141] использовали сверточные нейронные сети, работающие по принципу нейронных сетей в зрительных центрах коры головного мозга. Используя эту технологию и выбранную компьютерную модель, они протестировали около 1400 известных лекарственных препаратов для их перепрофилирования в качестве средства для лечения пациентов с COVID-19. По наибольшей активности выбрали несколько препаратов: противоопухолевое таргетное средство, ингибитор протеасом **бортезомиб**, антипсихотропный и успокоительный препарат **флуразепам** и таргетный препарат для лечения лейкемии **понатиниб**, а также ингибитор протеазы вируса гепатита С **боцепревир**, причем авторы отметили его как имеющий высокую предсказанную аффинность к протеазе M<sup>pro</sup> коронавируса. Предсказанная аффинность препарата составила 9,36 ккал/моль, что является высоким показателем. Самым неподходящим оказался фосфорорганический яд изофлуорофат — активность которого составила всего 4,94 ккал/моль, что весьма мало по меркам молекулярного докинга.

Исследователи из Кореи [27] в качестве ключевого элемента ввели в нейронную сеть константу связывания препаратов с вирусными белками и провели поиск активных молекул среди коммерчески доступных лечебных препаратов. В результате этой работы отобрали четыре эффективных препарата: ритонавир, используемый против ВИЧ, отметим, что он уже использовался для терапии коронавирусной инфекции (в сочетании с лопинавиром), а также атазанавир, эфавиренц и ганцикловир (противовирусный препарат).

## Б. Использование экспериментальных методов для тестирования перепрофилированных препаратов.

**1. Исследование перепрофилированных препаратов на культуре клеток.** В настоящее время экспериментаторы из разных стран для тестирования вирулентности COVID-19 используют культуру клеток Vero-E6 (ATCC в CRL-1586) [144], а также Calu-3 (ATCC в HTB-55), Caco-2 (ATCC в HTB-37), Huh7, A549 (ATCC в CCL-185), 293T [99]. Показано, например, что препарат фавипиравир *in vitro* эффективно ингибирует вирус SARS-CoV-2, причем  $EC_{50}$  в клетках Vero-E 6 составляет 61,88 мкмоль, или 9,72 мкг/мл. Выявленная ранее неэффективность препарата лопинавир [25] была вновь перепроверена по его активности ингибировать репликацию SARS-CoV и SARS-CoV-2 *in vitro* [35]. Современные экспериментаторы [35] учли три фактора:

- во-первых,  $EC_{50}$  не является идеальным фармакодинамическим параметром, поскольку при концентрации 50 % вирус все еще размножается, поэтому предпочтительно рассматривать  $EC_{90}$ . Соответственно, эффективность лопинавира оценивали по  $EC_{50}$  с перерасчетом на  $EC_{90}$  с учетом коэффициента наклона;
- во-вторых, лопинавир циркулирует в организме в значительной степени связанным с белками плазмы (>95 %), и его ингибирующая активность на репликацию вируса по сути представляет 5 % и менее свободной лекарственной фракции. Поэтому значения  $EC$  должны быть скорректированы с учетом содержания сывороточного белка в крови;

## ■ Таблица 2. Фармакокинетика лопинавира при исследовании *in vitro* и *in vivo* против ВИЧ, SARS-CoV, SARS-CoV-2

| Фармакокинетика   | ВИЧ   | SARS-CoV      | SARS-CoV-2 |
|---|-------|---------------|------------|
| <i>In vitro</i> , лопинавир, $EC_{50}$ , $\mu\text{M}$                | 0,006 | 50            | 26         |
| <i>In vitro</i> , лопинавир, $EC_{50}$ , $\mu\text{M}$                | 0,05  | 450           | 234        |
| <i>In vitro</i> , лопинавир, СК- $EC_{50}$ (в плазме), $\mu\text{M}$  | 1,00  | 9000          | 4680       |
| <i>In vitro</i> , лопинавир, СК- $EC_{50}$ (в клетках), $\mu\text{M}$ | 0,14  | 756           | 393        |
| <i>In vitro</i> , лопинавир, СК- $EC_{50}$ (CM), $\mu\text{M}$        | 12,5  | 112,500       | 58,500     |
| <i>In vivo</i> , непосредственно лопинавир, $\mu\text{M}$             | 1–20  | Не определяли | 10–50      |

Примечание. СК — скорректировано по белку; CM — в спинномозговой жидкости.

- в-третьих, следует должным образом учитывать концентрацию препарата в очаге инфекции. Чтобы решить эти две последние проблемы, авторы оценили скорректированный белком  $EC_{90}$  лопинавира в легких и центральной нервной системе, учитывая соотношение содержания лопинавира в эпителиальных клетках сосудов к плазме или в спинномозговой жидкости к плазме [35]. Авторы предположили, что свободные фракции лопинавира в плазме и спинномозговой жидкости составляют 35 и 100 % соответственно, они исходили из того, что концентрации альбумина в эпителиальных клетках и спинномозговой жидкости примерно в 7 и 200 раз ниже, чем в плазме. Результаты экспериментов показали, что скорректированные на белок  $EC_{90}$  значения *in vitro* для ВИЧ, SARS-CoV и SARS-CoV-2 соответственно составили 1,00, 9000 и 4680 мкм в плазме, а концентрация лопинавира в плазме крови, измеренная *in vivo* у ВИЧ-инфицированных, колебалась от 1 до 20 мкм, а у пациентов с COVID-19 10–40 мкм (табл. 2).

Рассматриваемые вместе эти данные ясно указывают, что текущая доза лопинавира обеспечивает эффективные концентрации, превышающие скорректированный  $EC_{90}$  для ВИЧ. Таким образом, белок-скорректированные  $EC_{90}$  значения лопинавира, необходимые для ингибирования репликации SARS-CoV-2 в плазме крови, эпителиальных клетках и спинномозговой жидкости, соответственно в 200, 20 и 2000 раз превышают концентрации, измеренные *in vivo* у пациентов с COVID-19.

Поэтому неудивительно, что лопинавир оказался малоэффективным для лечения атипичной пневмонии CoV-2, как это было задокументировано в исследованиях В. Сао и соавт. [32]. Следовательно, выбор доз, необходимых для обеспечения оптимального ингибирования, неосуществим из-за неприемлемого риска токсичности. Эти результаты подтверждают практику применения для лечения COVID-19 комбинации препаратов лопинавир/ритонавир в качестве одного из ключевых методов лечения [35].

**2. Исследование вирулентности COVID-19 на модели пневмонии у мышей.** В работах современных исследователей для оценки препаратов против COVID-19 и эффективности противовирусных вакцин используются трансгенные мыши [95, 174].

Н. Gu и соавт. [82] разработали модель инфекции трансгенной мыши SARS-CoV-2 АПФ2 (HFH4-hACE2 у мышей С3В6). При этом у зараженных мышей диагностировали типичную интерстициальную пневмонию, которая имела патологические признаки, сходные с таковыми у пациентов COVID-19. Количественная оценка вирусной зараженности показала, что легкие являются основным очагом инфекции, хотя вирусная РНК также может быть обнаружена у некоторых мышей в глазу, сердце и мозге. Вирус, идентичный SARS-CoV-2 в полногеномных последовательностях, был выделен из инфицированных тканей легких и головного мозга. Данные этой работы показывают, что мышь с человеческим геном hACE2 может быть ценным инструментом для тестирования терапевтических средств и потенциальных вакцин. Н. Gu и соавт. [82] сообщают о генерации мышиного адаптированного штамма SARS-CoV-2, который может продуктивно размножаться в дыхательных путях и вызывать интерстициальную пневмонию у иммунокомпетентных мышей дикого типа. Кроме того, на этой модели была проанализирована защитная эффективность недавно разработанной рекомбинантной вакцины на основе субъединицы RBD S-белка SARS-CoV-2 [82].

**3. Поиск лекарств для комбинированной терапии (лечение пациентов COVID-19).** В настоящее время по-прежнему отсутствует глубокое исследование полного патофизиологического процесса Covid-19 во взаимосвязи с сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями. Тем не менее, основываясь на данных клинических исследований и теоретических предположениях, можно заключить, что SARS CoV-2 оказывает влияние на сердечно-сосудистую систему через различные механизмы [207]. Показано, что сигнальная цепь S-белок/фурин/АПФ2, как вариант, еще одно потенциальное объяснение восприимчивости сердца к COVID-19 [143, 182]. Кроме того, чувствительность реципиента к инфекции SARS-CoV-2 может быть обусловлена одновременным повышением уровня АПФ2 и фурина в пораженном миокарде, а также ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) в этой популяции [137]. Отсутствие специфического противовирусного препарата означает, что инфицированные люди не могут лечиться, и это создает трудности в контроле распространения вируса. В настоящее время лечащие врачи в основном полагаются на меры изоляции, чтобы предотвратить распространение COVID-19 [176]. Клиническое применение в Китае для лечения COVID-19 хлорохина и гидроксихлорохина как перепрофилированных препаратов приносило пользу, но увеличивало риск аритмии и вызывало другие побочные эффекты [23, 27, 50]. Поэтому необходимо продолжать тестировать и применять имеющиеся в настоящее время и будущие методы лечения COVID-19. Эксперименты с применением иммунологических и фармакологических методов показали, что у пациентов

с инфекцией SARS-CoV-2 транзиторная регуляция вирусных сайтов связывания на АПФ2 или фурине может представлять собой новую терапевтическую стратегию для лечения COVID-19 [156].

Таким образом, в поиске универсальных препаратов для лечения пациентов с COVID-19 перспективным подходом является понижение воздействия SARS-CoV-2 на большой организм человека как на первом этапе, так и на втором, чтобы уменьшить эффекты «цитокинового шторма», вызываемые адаптивным иммунным ответом 2-го этапа течения болезни пациента после внедрения вируса [136].

Отметим, что полученные в 2020 г. данные из разных стран по диагностике и лечению пневмонии у больных COVID-19 позволяют значительно расширить поиск противовирусных препаратов [96]. При этом использование компьютерных технологий показало, что в компьютерных скринингах при поиске блокаторов одной из основных вирусных мишеней протеазы M<sup>Pro</sup> «выигрывают» препараты для лечения ВИЧ-инфекции и гепатита С. Причем именно те препараты, которые блокируют протеазы этих вирусов. Такой факт кажется очевидным — ведь протеазы могут быть похожи у разных вирусов.

Установлено, что положительный лечебный эффект наблюдается при введении рибавирина, интерферона-β1 и лопинавира/ритонавира [138, 159, 198]. Комбинированное применение препаратов позволяет: во-первых, повысить терапевтическую эффективность; во-вторых, снизить дозировку препарата; в-третьих, предотвратить появление опасных вирусных мутантов с повышенной вирулентностью. Ранее на практике было установлено, что риск развития вирусных мутантов у инфицированного человека минимизируется при применении комбинированной терапии [134].

Однако не все так очевидно. Протеазы могут различаться по структуре и механизму катализа. В частности, протеаза вируса ВИЧ аспаратная, а протеаза вируса гепатита С — сериновая [151], то есть они относятся к разным классам и имеют разный механизм действия. В настоящее время установлено, что каталитический домен протеазы оболочечного коронавируса по 3D-укладке похож на химотрипсин, который, как известно, является сериновой протеазой [192]. При такой разнообразии структуры можно предположить, что если ингибитор от одной протеазы подойдет к другой, то, возможно, будет эффективно ее блокировать. Таким образом, искусственный интеллект как предварительный этап может позволить прикинуть шансы на успех *in vivo*.

Кроме того, при недостатке экспериментальной информации самый очевидный путь может оказаться неверным. Сейчас уже известно, что лопинавир с ритонавиром эффективны против коронавирусов, но связан ли лечебный эффект именно с ингибированием протеазы [25]? Результаты рассмотренных выше предварительных математических исследований положительно отвечают на этот вопрос,

потому что в этих исследованиях протеаза была единственной мишенью для молекулярного докинга [188].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Всесторонние уроки, извлеченные из вспышек инфекций SARS-CoV и MERS-CoV, несмотря на приущую им трагичность, дают поучительный опыт и понимание того, как и какими методами бороться с вирусной пандемией SARS-CoV-2. Препараты, которые ингибируют вирусную диссеминацию и нарушают вирусную репликацию, могут снижать вызванные коронавирусом прямые цитопатические эффекты, а лечение, которое сдерживает воспалительные реакции человека (например, антителами или соединениями, нейтрализующими цитокины или их родственные рецепторы, такие как анти-ИЛ-6, анти-ИЛ-6R или анти-ИЛ-1 $\beta$ ), в идеале только в дыхательных путях может уменьшить вызванные вирусом вторичные иммунопатологии [14]. Мы предполагаем, что комбинация таких методов лечения была бы наиболее подходящей терапевтической стратегией для более тяжелых коронавирусных инфекций человека. В обзорной работе S. Drożdżal и соавт. [55] подытожены современные данные про применению антиковидных препаратов в клиниках различных стран. Необходимо отметить, что в настоящее время в России также имеется два официально утвержденных документа, в которых есть перечень препаратов для противовирусной терапии пациентов с тяжелой формой COVID-19 [13, 14].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Авифавир. Лекарственный препарат. ГРЛС: № ЛП-006225-290520. 2020. [Avifavir. Lekarstvennyy preparat. GRLS: No. LP-006225-290520, 2020. (In Russ.)]
2. Арбидол. Лекарственный препарат. ГРЛС: № Р N003610/01. 10.05.2007. [Arbidol. Lekarstvennyy preparat. GRLS: No. P N003610/01. 10.05.2007. (In Russ.)]
3. Арепливир. Лекарственный препарат. ГРЛС: № ЛП-006288-2306. 2020. [Areplivir. Lekarstvennyy preparat. GRLS: No. LP-006288-2306. 2020. (In Russ.)]
4. Бугреев Д.В., Невинский Г.А. Структура и механизм действия ДНК-топоизомераз IA-типа // Успехи биологической химии. – 2009. – Т. 49. – С. 129–158. [Bugreev DV, Nevinskiy GA. Struktura i mekhanizm deystviya DNK-topoizomeraz IA-tipa. *Uspekhi biologicheskoy khimii*. 2009;49:129-158. (In Russ.)]
5. Ващенко В.И., Вильянинов В.Н., Шабанов П.Д. Противомикробное и противовирусное действие дефензинов человека: патогенетическое значение и перспективы применения в лекарственной терапии // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2016. – Т. 14. – № 2. – С. 3–37. [Vaschenko VI, Vil'yaninov VN, Shabanov PD. Antimicrobial and antiviral effects of human defensins: pathogenetic value and prospective application to medicinal therapy. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2016;14(2):3-37. (In Russ.). <https://doi.org/10.17816/RCF1423-37>.
6. Жирнов О.П., Бокова Н.О., Исаева Е.И., и др. Патогенетическое лечение гриппа с помощью аэрозольной формы апротинина, ингибитора протеаз // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2015. – № 4. – С. 59–64. [Zhirnov OP, Bokova NO, Isaeva EI, et al. Pathogenetic treatment of influenza patients with aerosolized form of aprotinin, a protease inhibitor. *Biopreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie*. 2015;(4):59-64. (In Russ.)]
7. Жирнов О.П. Молекулярные мишени в химиотерапии коронавирусной инфекции // Биохимия. – 2020. – Т. 85. – № 5. – С. 611–619. [Zhirnov OP. Molecular targets in the chemotherapy of coronavirus infection. *Biokhimiia*. 2020;85(5):611-619. (In Russ.)]
8. Кокряков В.Н. Очерки о врожденном иммунитете. – СПб.: Наука, 2006. – 261 с. [Kokryakov VN. Ocherki o vrozhdennom immunitete. Saint Petersburg: Nauka; 2006. 261 p. (In Russ.)]
9. Коронавир. Лекарственный препарат. ГРЛС: № ЛП-006323–06.06.2020. [Koronavir. Lekarstvennyy preparat. GRLS: № LP-006323-06.06.2020. (In Russ.)]
10. Кулагина М.Г., Венгерова Ю.Я. Коронавирусная инфекция. В кн.: Инфекционные болезни: национальное руководство / Под ред. Н.Д. Ющука, Ю.Я. Венгерова. – М., 2018. – 756–768. [Kulagina MG, Vengerov YuYa. Koronavirusnaya infektsiya. In: *Infektsionnye bolezni: natsional'noe rukovodstvo*. Ed. by N.D. Yushchuk, Yu.Ya. Vengerov. Moscow; 2018. p. 759-768. (In Russ.)]
11. Маджидов Т.И., Куракин Г.Ф. Компьютерные технологии против коронавируса: первые результаты // Природа. – 2020. – № 3. – С. 3–15. [Madzhidov TI, Kurakin GF. Computer technologies against coronavirus: first results. *Priroda*. 2020;(3):3-15. (In Russ.). <https://doi.org/10.7868/S0032874X20030011>.
12. Марахонов А.В., Баранова А.В., Скоблов М.Ю. РНК-интерференция: Фундаментальные и прикладные аспекты // Медицинская генетика. – 2008. – Т. 7. – № 10. – С. 44–56. [Marakhonov AV, Baranova AV, Skoblov MYu. RNA interference: fundamentals and application. *Medical genetics*. 2008;7(10):44-56. (In Russ.)]
13. Министерство здравоохранения РФ. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Временные методические рекомендации МЗ РФ. Версия 9 (26.10.2020). – М.: Минздрав РФ, 2020. – 236 с. [Ministry of health of the Russian Federation. Profilaktika, diagnostika i lecheniye novoy koronavirusnoy infektsii (COVID-19). Vremennyye metodicheskiye rekomendatsii Minzdrava Rossii. Versiya 9 (26.10.2020). Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation, 2020. 236 p. (In Russ.)]
14. Руководство по профилактике и лечению новой коронавирусной инфекции COVID-19. Первая академическая клиника Университетской школы медицины провинции Чжецзян. Составлено на основе клинической практики. – М.: МИА «Россия сегодня», 2020. – 89 с.

- [Rukovodstvo po profilaktike i lecheniyu novoy koronavirusnoy infektsii COVID-19. Pervaya akademicheskaya klinika Universitetskoj shkoly meditsiny provintsii Chzhetszyan. Sostavleno na osnove klinicheskoy praktiki. Moscow: MIA "Rossiya segodnya"; 2020. 89 p. (In Russ.)]
15. Харченко Е.П. Коронавирус SARS-Cov-2: особенности структурных белков, контагиозность и возможные иммунные коллизии // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2020. – Т. 19. – № 2. – С. 13–30. [Kharchenko EP. The Coronavirus SARS-Cov-2: the Characteristics of Structural Proteins, Contagiousness, and Possible Immune Collisions. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020;19(2):13-30. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-20-2-13-30>.
  16. Abdel-Moneim AS. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV): evidence and speculations. *Arch Virol*. 2014;159(7):1575-1584. <https://doi.org/10.1007/s00705-014-1995-5>.
  17. Adhikari SP, Meng S, Wu YJ, et al. Epidemiology, causes, clinical manifestation and diagnosis, prevention and control of coronavirus disease (COVID-19) during the early outbreak period: a scoping review. *Infect Dis Poverty*. 2020;9(1):29. <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00646-x>.
  18. Ahmadpour D, Ahmadpour P. How COVID-19 overcomes the battle? An approach to virus structure. *Iran J Kidney Dis*. 2020;14(3):167-172.
  19. Alexpandi R, De Mesquita JF, Pandian SK, Ravi AV. Quinolines-Based SARS-CoV-2 3CLpro and RdRp Inhibitors and Spike-RBD-ACE2 Inhibitor for Drug-Repurposing Against COVID-19: An in silico Analysis. *Front Microbiol*. 2020;11:1796. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01796>.
  20. Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, et al. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat Med*. 2020;26(4):450-452. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0820-9>.
  21. Angeletti S, Benvenuto D, Bianchi M, et al. COVID-2019: The role of the nsp2 and nsp3 in its pathogenesis. *J Med Virol*. 2020;92(6):584-588. <https://doi.org/10.1002/jmv.25719>.
  22. Arabi YM, Hajeer AH, Luke T, et al. Feasibility of Using Convalescent Plasma Immunotherapy for MERS-CoV Infection, Saudi Arabia. *Emerg Infect Dis*. 2016;22(9):1554-1561. <https://doi.org/10.3201/eid2209.151164>.
  23. Ashour HM, Elkhatab WF, Rahman MM, Elshabrawy HA. Insights into the Recent 2019 Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) in Light of Past Human Coronavirus Outbreaks. *Pathogens*. 2020;9(3). <https://doi.org/10.3390/pathogens9030186>.
  24. Arun KG, Sharanya CS, Abhithaj J, et al. Drug repurposing against SARS-CoV-2 using E-pharmacophore based virtual screening, molecular docking and molecular dynamics with main protease as the target. *J Biomol Struct Dyn*. 2020;1-12. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1779819>.
  25. Baldelli S, Corbellino M, Clementi E, et al. Lopinavir/ritonavir in COVID-19 patients: maybe yes, but at what dose? *J Antimicrob Chemother*. 2020;75(9):2704-2706. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa190>.
  26. Barlow A, Landolf KM, Barlow B, et al. Review of Emerging Pharmacotherapy for the Treatment of Coronavirus Disease 2019. *Pharmacotherapy*. 2020;40(5):416-437. <https://doi.org/10.1002/phar.2398>.
  27. Beck BR, Shin B, Choi Y, et al. Predicting commercially available antiviral drugs that may act on the novel coronavirus (SARS-CoV-2) through a drug-target interaction deep learning model. *Comput Struct Biotechnol J*. 2020;18:784-790. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.03.025>.
  28. Beigel JH, Voell J, Kumar P, et al. Safety and tolerability of a novel, polyclonal human anti-MERS coronavirus antibody produced from transchromosomal cattle: a phase 1 randomised, double-blind, single-dose-escalation study. *Lancet Infect Dis*. 2018;18(4):410-418. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(18\)30002-1](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(18)30002-1).
  29. Belouzard S, Millet JK, Licitra BN, Whittaker GR. Mechanisms of coronavirus cell entry mediated by the viral spike protein. *Viruses*. 2012;4(6):1011-1033. <https://doi.org/10.3390/v4061011>.
  30. Beniach DR, Andonov A, Grudeski E, Booth TF. Architecture of the SARS coronavirus prefusion spike. *Nat Struct Mol Biol*. 2006;13(8):751-752. <https://doi.org/10.1038/nsmb1123>.
  31. Bimonte S, Crispo A, Amore A, et al. Potential Antiviral Drugs for SARS-Cov-2 Treatment: Preclinical Findings and Ongoing Clinical Research. *In Vivo*. 2020;34(3 Suppl):1597-1602. <https://doi.org/10.21873/invivo.11949>.
  32. Cao B, Wang Y, Wen D, et al. A Trial of Lopinavir-Ritonavir in Adults Hospitalized with Severe Covid-19. *N Engl J Med*. 2020;382(19):1787-1799. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001282>.
  33. Carter JB, Saunders VA. *Virology: Principles and Applications*. John Wiley and Sons Ltd; 2007. 383 p.
  34. Cavasotto CN, Di Filippo JI. In silico Drug Repurposing for COVID-19: Targeting SARS-CoV-2 Proteins through Docking and Consensus Ranking. *Mol Inform*. 2020. <https://doi.org/10.1002/minf.202000115>.
  35. Cattaneo D, Cattaneo D, Gervasoni C, et al. Does lopinavir really inhibit SARS-CoV-2? *Pharmacol Res*. 2020;158:104898. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104898>.
  36. Ceraolo C, Giorgi FM. Genomic variance of the 2019-nCoV coronavirus. *J Med Virol*. 2020;92(5):522-528. <https://doi.org/10.1002/jmv.25700>.
  37. Chan JF, Yao Y, Yeung ML, et al. Treatment with Lopinavir/Ritonavir or Interferon-beta1b Improves Outcome of MERS-CoV Infection in a Nonhuman Primate Model of Common Marmoset. *J Infect Dis*. 2015;212(12):1904-1913. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv392>.
  38. Chakraborty AK. Coronavirus Nsp2 protein homologues to the bacterial DNA Topoisomerase I and IV suggest Nsp2 protein is a unique RNA Topoisomerase with novel target for drug and vaccine development. *Virology*. 2020;9(1):185. <https://doi.org/10.35248/2161-0517.20.09.185>.
  39. Channappanavar R, Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin Immunopathol*. 2017;39(5):529-539. <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0629-x>.

40. Chatterjee S, Maity A, Chowdhury S, et al. In silico analysis and identification of promising hits against 2019 novel coronavirus 3C-like main protease enzyme. *J Biomol Struct Dyn*. 2020;1-14. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1787228>.
41. Chen L, Xiong J, Bao L, Shi Y. Convalescent plasma as a potential therapy for COVID-19. *Lancet Infect Dis*. 2020;20(4):398-400. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(20\)30141-9](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(20)30141-9).
42. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol*. 2020;92(4):418-423. <https://doi.org/10.1002/jmv.25681>.
43. Chen Y, Shan K, Qian W, et al. Asians and Other Races Express Similar Levels of and Share the Same Genetic Polymorphisms of the SARS-CoV-2 Cell-Entry Receptor. *Preprints.org*. 2020. <https://doi.org/10.20944/preprints202002.0258.v1>.
44. Chen YW, Yiu C-PB, Wong K-Y. Prediction of the SARS-CoV-2 (2019-nCoV) 3C-like protease (3CLpro) structure: virtual screening reveals velpatasvir, ledipasvir, and other drug repurposing candidates. *F1000Research*. 2020;9:129. <https://doi.org/10.12688/f1000research.22457.2>.
45. Cherian SS, Agrawal M, Basu A, et al. Perspectives for repurposing drugs for the coronavirus disease 2019. *Indian J Med Res*. 2020;151(2 & 3):160-171. [https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR\\_585\\_20](https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_585_20).
46. Cho JB, Lee JM, Ahn HC, Jeong YJ. Identification of a Novel Small Molecule Inhibitor Against SARS Coronavirus Helicase. *J Microbiol Biotechnol*. 2015;25(12):2007-2010. <https://doi.org/10.4014/jmb.1507.07078>.
47. Chu H, Zhou J, Wong BH, et al. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Efficiently Infects Human Primary T Lymphocytes and Activates the Extrinsic and Intrinsic Apoptosis Pathways. *J Infect Dis*. 2016;213(6):904-914. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv380>.
48. Cinatl J, Morgenstern B, Bauer G, et al. Treatment of SARS with human interferons. *Lancet*. 2003;362(9380):293-294. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(03\)13973-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(03)13973-6).
49. Cornelissen LA, Wierda CM, van der Meer FJ, et al. Hemagglutinin-esterase, a novel structural protein of torovirus. *J Virol*. 1997;71(7):5277-5286. <https://doi.org/10.1128/jvi.71.7.5277-5286.1997>.
50. Costanzo M, De Giglio MAR, Roviello GN. SARS-CoV-2: Recent Reports on Antiviral Therapies Based on Lopinavir/Ritonavir, Darunavir/Umifenovir, Hydroxychloroquine, Remdesivir, Favipiravir and other Drugs for the Treatment of the New Coronavirus. *Curr Med Chem*. 2020;27(27):4536-4541. <https://doi.org/10.2174/0929867327666200416131117>.
51. Coutard B, Valle C, de Lamballerie X, et al. The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. *Antiviral Res*. 2020;176:104742. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104742>.
52. Cui L, Wang H, Ji Y, et al. The Nucleocapsid Protein of Coronaviruses Acts as a Viral Suppressor of RNA Silencing in Mammalian Cells. *J Virol*. 2015;89(17):9029-9043. <https://doi.org/10.1128/JVI.01331-15>.
53. Cui S, Hao W. Deducing the Crystal Structure of MERS-CoV Helicase. *Methods Mol Biol*. 2020;2099:69-85. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0211-9\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0211-9_6).
54. Dai W, Zhang B, Jiang XM, et al. Structure-based design of antiviral drug candidates targeting the SARS-CoV-2 main protease. *Science*. 2020;368(6497):1331-1335. <https://doi.org/10.1126/science.abb4489>.
55. Drozdal S, Rosik J, Lechowicz K, et al. FDA approved drugs with pharmacotherapeutic potential for SARS-CoV-2 (COVID-19) therapy. *Drug Resist Updat*. 2020;53:100719. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2020.100719>.
56. de Groot RJ, Baker SC, Baric R, et al. Family Coronaviridae. In: *Virus Taxonomy. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Ed. by A.M.Q. King, Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J. Elsevier; 2012. p. 806-828.
57. Delang L, Abdelnabi R, Neyts J. Favipiravir as a potential countermeasure against neglected and emerging RNA viruses. *Antiviral Res*. 2018;153:85-94. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2018.03.003>.
58. Dong L, Hu S, Gao J. Discovering drugs to treat coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Drug Discov Ther*. 2020;14(1):58-60. <https://doi.org/10.5582/ddt.2020.01012>.
59. Donmez I, Patel SS. Mechanisms of a ring shaped helicase. *Nucleic Acids Res*. 2006;34(15):4216-4224. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl508>.
60. Duan K, Liu B, Li C, et al. Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020;117(17):9490-9496. <https://doi.org/10.1073/pnas.2004168117>.
61. Du YX, Chen XP. Favipiravir: Pharmacokinetics and Concerns About Clinical Trials for 2019-nCoV Infection. *Clin Pharmacol Ther*. 2020;108(2):242-247. <https://doi.org/10.1002/cpt.1844>.
62. Eastman RT, Roth JS, Brimacombe KR, et al. Remdesivir: A Review of Its Discovery and Development Leading to Emergency Use Authorization for Treatment of COVID-19. *ACS Cent Sci*. 2020;6(5):672-683. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c00489>.
63. Eggleston M. Clinical review of ribavirin. *Infect Control*. 1987;8(5):215-218. <https://doi.org/10.1017/s0195941700065978>.
64. Elfiky AA. Ribavirin, Remdesivir, Sofosbuvir, Galidesivir, and Tenofovir against SARS-CoV-2 RNA dependent RNA polymerase (RdRp): A molecular docking study. *Life Sci*. 2020;253:117592. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117592>.
65. Elmezayen AD, Al-Obaidi A, Sahin AT, Yelekci K. Drug repurposing for coronavirus (COVID-19): *in silico* screening of known drugs against coronavirus 3CL hydrolase and protease enzymes. *J Biomol Struct Dyn*. 2020;1-13. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1758791>.
66. Fan H, Ooi A, Tan YW, et al. The nucleocapsid protein of coronavirus infectious bronchitis virus: crystal structure of its N-terminal domain and multimerization properties. *Structure*. 2005;13(12):1859-1868. <https://doi.org/10.1016/j.str.2005.08.021>.
67. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol*.

- 2015;1282:1-23. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_1).
68. Chen Y, Feng Z, Diao B, et al. The Novel Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Directly Decimates Human Spleens and Lymph Nodes. *medRxiv*. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.03.27.20045427>.
  69. Fung TS, Liu DX. Human Coronavirus: Host-Pathogen Interaction. *Ann Rev Microbiol*. 2019;73(1):529-557. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-020518-115759>.
  70. Gao J, Tian Z, Yang X. Breakthrough: Chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies. *Biosci Trends*. 2020;14(1):72-73. <https://doi.org/10.5582/bst.2020.01047>.
  71. Gao K, Nguyen DD, Chen J, et al. Repositioning of 8565 Existing Drugs for COVID-19. *J Phys Chem Lett*. 2020;11(13):5373-5382. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcclett.0c01579>.
  72. Gilbert BE, Knight V. Biochemistry and clinical applications of ribavirin. *Antimicrob Agents Chemother*. 1986;30(2):201-205. <https://doi.org/10.1128/aac.30.2.201>.
  73. Goldsmith CS, Tatti KM, Ksiazek TG, et al. Ultrastructural characterization of SARS coronavirus. *Emerg Infect Dis*. 2004;10(2):320-326. <https://doi.org/10.3201/eid1002.030913>.
  74. Goo J, Jeong Y, Park YS, et al. Characterization of novel monoclonal antibodies against MERS-coronavirus spike protein. *Virus Res*. 2020;278:197863. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.197863>.
  75. Gorbalenya AE, Lauber C, Siddell S. Taxonomy of Viruses. Elsevier; 2019. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-801238-3.99237-7>.
  76. International Committee on Taxonomy of Viruses Executive C. The new scope of virus taxonomy: partitioning the virosphere into 15 hierarchical ranks. *Nat Microbiol*. 2020;5(5):668-674. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0709-x>.
  77. Gordon CJ, Tchesnokov EP, Woolner E, et al. Remdesivir is a direct-acting antiviral that inhibits RNA-dependent RNA polymerase from severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 with high potency. *J Biol Chem*. 2020;295(20):6785-6797. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA120.013679>.
  78. Gorla US, Rao GK, Kulandaivelu US, et al. Lead Finding from Selected Flavonoids with Antiviral (SARS-CoV-2) Potentials against COVID-19: An In-silico Evaluation. *Comb Chem High Throughput Screen*. 2020. <https://doi.org/10.2174/1386207323999200818162706>.
  79. Gosert R, Kanjanahaluethai A, Egger D, et al. RNA replication of mouse hepatitis virus takes place at double-membrane vesicles. *J Virol*. 2002;76(8):3697-3708. <https://doi.org/10.1128/jvi.76.8.3697-3708.2002>.
  80. Graci JD, Cameron CE. Mechanisms of action of ribavirin against distinct viruses. *Rev Med Virol*. 2006;16(1):37-48. <https://doi.org/10.1002/rmv.483>.
  81. Gralinski LE, Baric RS. Molecular pathology of emerging coronavirus infections. *J Pathol*. 2015;235(2):185-195. <https://doi.org/10.1002/path.4454>.
  82. Gu H, Chen Q, Yang G, et al. Adaptation of SARS-CoV-2 in BALB/c mice for testing vaccine efficacy. *Science*. 2020;369(6511):1603-1607. <https://doi.org/10.1126/science.abc4730>.
  83. Gupta MK, Vemula S, Donde R, et al. In-silico approaches to detect inhibitors of the human severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein ion channel. *J Biomol Struct Dyn*. 2020:1-11. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1751300>.
  84. Habtemariam S, Nabavi SF, Banach M, et al. Should We Try SARS-CoV-2 Helicase Inhibitors for COVID-19 Therapy? *Arch Med Res*. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.05.024>.
  85. Hao W, Wojdyla JA, Zhao R, et al. Crystal structure of Middle East respiratory syndrome coronavirus helicase. *PLoS Pathog*. 2017;13(6): e1006474. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006474>.
  86. Harrison C. Coronavirus puts drug repurposing on the fast track. *Nat Biotechnol*. 2020;38(4):379-381. <https://doi.org/10.1038/d41587-020-00003-1>.
  87. Hasan A, Paray BA, Hussain A, et al. A review on the cleavage priming of the spike protein on coronavirus by angiotensin-converting enzyme-2 and furin. *J Biomol Struct Dyn*. 2020:1-9. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1754293>.
  88. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271-280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>.
  89. Hossen MS, Berek MA, Jahan N, Safiqul Islam M. A Review on Current Repurposing Drugs for the Treatment of COVID-19: Reality and Challenges. *SN Compr Clin Med*. 2020:1-13. <https://doi.org/10.1007/s42399-020-00485-9>.
  90. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395(10223):497-506. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30183-5).
  91. Hurst KR, Koetzner CA, Masters PS. Characterization of a critical interaction between the coronavirus nucleocapsid protein and nonstructural protein 3 of the viral replicase-transcriptase complex. *J Virol*. 2013;87(16):9159-9172. <https://doi.org/10.1128/JVI.01275-13>.
  92. Hung IF-N, Lung K-C, Tso EY-K, et al. Triple combination of interferon beta-1b, lopinavir-ritonavir, and ribavirin in the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19: an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet*. 2020;395(10238):1695-1704. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)31042-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)31042-4).
  93. Jean SS, Lee PI, Hsueh PR. Treatment options for COVID-19: The reality and challenges. *J Microbiol Immunol Infect*. 2020;53(3):436-443. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.03.034>.
  94. Jia X, Yin C, Lu S, et al. Two Things about COVID-19 Might Need Attention. *Preprints.org*. 2020. <https://doi.org/10.20944/preprints202002.0315.v1>.
  95. Jiang RD, Liu MQ, Chen Y, et al. Pathogenesis of SARS-CoV-2 in Transgenic Mice Expressing Human Angiotensin-Converting Enzyme 2. *Cell*. 2020;182(1):50-58 e58. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.027>.

96. Jimenez-Alberto A, Ribas-Aparicio RM, Aparicio-Ozores G, Castelan-Vega JA. Virtual screening of approved drugs as potential SARS-CoV-2 main protease inhibitors. *Comput Biol Chem*. 2020;88:107325. <https://doi.org/10.1016/j.combiolchem.2020.107325>.
97. Jin YH, Cai L, Cheng ZS, et al. A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version). *Mil Med Res*. 2020;7(1):4. <https://doi.org/10.1186/s40779-020-0233-6>.
98. Jin Z, Du X, Xu Y, et al. Structure of M(pro) from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. *Nature*. 2020;582(7811):289-293. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2223-y>.
99. Jureka AS, Silvas JA, Basler CF. Propagation, Inactivation, and Safety Testing of SARS-CoV-2. *Viruses*. 2020;12(6). <https://doi.org/10.3390/v12060622>.
100. World Health Organization. ICD-11. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems. WHO; 2018.
101. talk.ictvonline.org [Internet]. ICTV Code. The International Code of Virus Classification and Nomenclature. October 2018 [cited 2020 Nov 3]. Available from: <https://talk.ictvonline.org/information/w/ictv-information/383/ictv-code>.
102. Kapusta K, Kar S, Collins JT, et al. Protein reliability analysis and virtual screening of natural inhibitors for SARS-CoV-2 main protease (Mpro) through docking, molecular mechanic & dynamic, and ADMET profiling. *J Biomol Struct Dyn*. 2020:1-18. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1806930>.
103. Izaguirre G. The Proteolytic Regulation of Virus Cell Entry by Furin and Other Proprotein Convertases. *Viruses*. 2019;11(9):837. <https://doi.org/10.3390/v11090837>.
104. Khalili JS, Zhu H, Mak NSA, et al. Novel coronavirus treatment with ribavirin: Groundwork for an evaluation concerning COVID-19. *J Med Virol*. 2020;92(7):740-746. <https://doi.org/10.1002/jmv.25798>.
105. Khan RJ, Jha RK, Amara GM, et al. Targeting SARS-CoV-2: a systematic drug repurposing approach to identify promising inhibitors against 3C-like proteinase and 2'-O-ribose methyltransferase. *J Biomol Struct Dyn*. 2020:1-14. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1753577>.
106. Kleine-Weber H, Elzayat MT, Hoffmann M, Pohlmann S. Functional analysis of potential cleavage sites in the MERS-coronavirus spike protein. *Sci Rep*. 2018;8(1):16597. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34859-w>.
107. Kim E, Jensen Z, van Grootel A, et al. Inorganic Materials Synthesis Planning with Literature-Trained Neural Networks. *J Chem Inf Model*. 2020;60(3):1194-1201. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00995>.
108. Kit O, Kit Y. Features of the interaction of human defensins with the SARS-CoV-2 spike protein: An in silico comparative analysis. 2020. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.22222.41281>.
109. Ko JH, Seok H, Cho SY, et al. Challenges of convalescent plasma infusion therapy in Middle East respiratory coronavirus infection: a single centre experience. *Antivir Ther*. 2018;23(7):617-622. <https://doi.org/10.3851/IMP3243>.
110. Kruse RL. Therapeutic strategies in an outbreak scenario to treat the novel coronavirus originating in Wuhan, China. *F1000Res*. 2020;9:72. <https://doi.org/10.12688/f1000research.22211.2>.
111. Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, et al. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med*. 2003;348(20):1953-1966. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa030781>.
112. Kuba K, Imai Y, Ohto-Nakanishi T, Penninger JM. Trilogy of ACE2: a peptidase in the renin-angiotensin system, a SARS receptor, and a partner for amino acid transporters. *Pharmacol Ther*. 2010;128(1):119-128. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2010.06.003>.
113. Kumar A, Choudhir G, Shukla SK, et al. Identification of phytochemical inhibitors against main protease of COVID-19 using molecular modeling approaches. *J Biomol Struct Dyn*. 2020:1-11. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1772112>.
114. Lan J, Ge J, Yu J, et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*. 2020;581(7807):215-220. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2180-5>.
115. Lauber C, Gorbalenya AE. Toward genetics-based virus taxonomy: comparative analysis of a genetics-based classification and the taxonomy of picornaviruses. *J Virol*. 2012;86(7):3905-3915. <https://doi.org/10.1128/JVI.07174-11>.
116. Lee T-W, Cherney MM, Liu J, et al. Crystal Structures Reveal an Induced-fit Binding of a Substrate-like Aza-peptide Epoxide to SARS Coronavirus Main Peptidase. *J Mol Biol*. 2007;366(3):916-932. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.11.078>.
117. Lei J, Kusov Y, Hilgenfeld R. Nsp3 of coronaviruses: Structures and functions of a large multi-domain protein. *Antiviral Res*. 2018;149:58-74. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2017.11.001>.
118. Li F. Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annu Rev Virol*. 2016;3(1):237-261. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-110615-042301>.
119. Li G, Fan Y, Lai Y, et al. Coronavirus infections and immune responses. *J Med Virol*. 2020;92(4):424-432. <https://doi.org/10.1002/jmv.25685>.
120. Li Q, Cao Z, Rahman P. Genetic variability of human angiotensin-converting enzyme 2 (hACE2) among various ethnic populations. *Mol Genet Genomic Med*. 2020;8(8):e1344. <https://doi.org/10.1002/mgg3.1344>.
121. Li Q, Guan X, Wu P, et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *N Engl J Med*. 2020;382(13):1199-1207. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001316>.
122. Li Y, Zhang J, Wang N, et al. Therapeutic Drugs Targeting 2019-nCoV Main Protease by High-Throughput Screening. *bioRxiv*. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.01.28.922922>.
123. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*. 2003;426(6965):450-454. <https://doi.org/10.1038/nature02145>.
124. Li W, Sui J, Huang IC, et al. The S proteins of human coronavirus NL63 and severe acute respiratory syndrome



- coronavirus bind overlapping regions of ACE2. *Virology*. 2007;367(2):367-374. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.04.035>.
125. Li X, Geng M, Peng Y, et al. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *J Pharm Anal*. 2020;10(2):102-108. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.001>.
  126. Li Z, Wang X, Cao D, et al. Rapid review for the anti-coronavirus effect of remdesivir. *Drug Discov Ther*. 2020;14(2):73-76. <https://doi.org/10.5582/ddt.2020.01015>.
  127. Liu C, Yang Y, Gao Y, et al. Viral Architecture of SARS-CoV-2 with Post-Fusion Spike Revealed by Cryo-EM. *bioRxiv*. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.03.02.972927>.
  128. Liu K, Fang YY, Deng Y, et al. Clinical characteristics of novel coronavirus cases in tertiary hospitals in Hubei Province. *Chin Med J (Engl)*. 2020;133(9):1025-1031. <https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000000744>.
  129. Liu X, Wang XJ. Potential inhibitors against 2019-nCoV coronavirus M protease from clinically approved medicines. *J Genet Genomics*. 2020;47(2):119-121. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2020.02.001>.
  130. Lo MK, Jordan R, Arvey A, et al. GS-5734 and its parent nucleoside analog inhibit Filo-, Pneumo-, and Paramyxoviruses. *Sci Rep*. 2017;7:43395. <https://doi.org/10.1038/srep43395>.
  131. Lovato ECW, Barboza LN, Wietzikoski S, et al. Repurposing Drugs for the Management of Patients with Confirmed Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Curr Pharm Des*. 2020. <https://doi.org/10.2174/1381612826666200707121636>.
  132. Lu H. Drug treatment options for the 2019-new coronavirus (2019-nCoV). *Biosci Trends*. 2020;14(1):69-71. <https://doi.org/10.5582/bst.2020.01020>.
  133. Lu R, Zhao X, Li J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020;395(10224):565-574. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30251-8).
  134. Lu Y, Hardes K, Dahms SO, et al. 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*. 2015;120:89-100. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2015.05.006>.
  135. Mair-Jenkins J, Saavedra-Campos M, Baillie JK, et al. 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*. 2015;211(1):80-90. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu396>.
  136. Mehta P, McAuley DF, Brown M, et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet*. 2020;395(10229):1033-1034. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30628-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30628-0).
  137. Ming Y, Qiang L. Involvement of Spike Protein, Furin, and ACE2 in SARS-CoV-2-Related Cardiovascular Complications. *SN Compr Clin Med*. 2020:1-6. <https://doi.org/10.1007/s42399-020-00400-2>.
  138. Morgenstern B, Michaelis M, Baer PC, et al. Ribavirin and interferon-beta synergistically inhibit SARS-associated coronavirus replication in animal and human cell lines. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;326(4):905-908. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.11.128>.
  139. Mubarak A, Alturaiki W, Hemida MG. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV): Infection, Immunological Response, and Vaccine Development. *J Immunol Res*. 2019;2019:6491738. <https://doi.org/10.1155/2019/6491738>.
  140. Naqvi AAT, Fatima K, Mohammad T, et al. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2020;1866(10):165878. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165878>.
  141. Nguyen DD, Gao K, Chen J, et al. Potentially highly potent drugs for 2019-nCoV. *bioRxiv*. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.02.05.936013>.
  142. Order – Nidovirales. In: *Virus Taxonomy. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Ed. by A.M.Q. King, M.J. Adams, E.B. Carstens, E.J. Lefkowitz Elsevier; 2012. P. 784-794. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384684-6.00066-5>.
  143. Papa G, Mallery DL, Albecka A, et al. Furin cleavage of SARS-CoV-2 Spike promotes but is not essential for infection and cell-cell fusion. *bioRxiv*. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.08.13.243303>.
  144. Park SJ, Yu KM, Kim YI, et al. Antiviral Efficacies of FDA-Approved Drugs against SARS-CoV-2 Infection in Ferrets. *mBio*. 2020;11(3). <https://doi.org/10.1128/mBio.01114-20>.
  145. Pastorino B, Touret F, Gilles M, et al. Evaluation of Chemical Protocols for Inactivating SARS-CoV-2 Infectious Samples. *Viruses*. 2020;12(6). <https://doi.org/10.3390/v12060624>.
  146. Peersen OB. A Comprehensive Superposition of Viral Polymerase Structures. *Viruses*. 2019;11(8). <https://doi.org/10.3390/v11080745>.
  147. Plank J, Hsieh TS. Helicase-appended topoisomerases: new insight into the mechanism of directional strand transfer. *J Biol Chem*. 2009;284(45):30737-30741. <https://doi.org/10.1074/jbc.R109.051268>.
  148. Pokhrel R, Chapagain P, Siltberg-Liberles J. Potential RNA-dependent RNA polymerase inhibitors as prospective therapeutics against SARS-CoV-2. *J Med Microbiol*. 2020;69(6):864-873. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001203>.
  149. Pushpakom S, Iorio F, Eyers PA, et al. Drug repurposing: progress, challenges and recommendations. *Nat Rev Drug Discov*. 2019;18(1):41-58. <https://doi.org/10.1038/nrd.2018.168>.
  150. Ramos-Molina B, Lick AN, Nasrolahi Shirazi A, et al. Cationic Cell-Penetrating Peptides Are Potent Furin Inhibitors. *PLoS One*. 2015;10(6): e0130417. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130417>.
  151. Raney KD, Sharma SD, Moustafa IM, Cameron CE. Hepatitis C virus non-structural protein 3 (HCV NS3): a multifunctional antiviral target. *J Biol Chem*. 2010;285(30):22725-22731. <https://doi.org/10.1074/jbc.R110.125294>.
  152. Richardson P, Griffin I, Tucker C, et al. Baricitinib as potential treatment for 2019-nCoV acute respiratory

- disease. *Lancet*. 2020;395(10223): e30-e31. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30304-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30304-4).
153. Rolain JM, Colson P, Raoult D. Recycling of chloroquine and its hydroxyl analogue to face bacterial, fungal and viral infections in the 21<sup>st</sup> century. *Int J Antimicrob Agents*. 2007;30(4):297-308. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2007.05.015>.
  154. Ruan Y, Wei CL, Ling AE, et al. Comparative full-length genome sequence analysis of 14 SARS coronavirus isolates and common mutations associated with putative origins of infection. *Lancet*. 2003;361(9371):1779-1785. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(03\)13414-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(03)13414-9).
  155. Sarma P, Shekhar N, Prajapat M, et al. In-silico homology assisted identification of inhibitor of RNA binding against 2019-nCoV N-protein (N terminal domain). *J Biomol Struct Dyn*. 2020;1-9. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1753580>.
  156. Serafin MB, Bottega A, Foletto VS, et al. Drug repositioning is an alternative for the treatment of coronavirus COVID-19. *Int J Antimicrob Agents*. 2020;55(6):105969. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105969>.
  157. Shang J, Wan Y, Luo C, et al. Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020;117(21):11727-11734. <https://doi.org/10.1073/pnas.2003138117>.
  158. Shamsi A, Mohammad T, Anwar S, et al. Glecaprevir and Maraviroc are high-affinity inhibitors of SARS-CoV-2 main protease: possible implication in COVID-19 therapy. *Biosci Rep*. 2020;40(6). <https://doi.org/10.1042/BSR20201256>.
  159. Shanmugaraj B, Siri wattananon K, Wangkanont K, Phoolcharoen W. Perspectives on monoclonal antibody therapy as potential therapeutic intervention for Coronavirus disease-19 (COVID-19). *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2020;38(1):10-18. <https://doi.org/10.12932/AP-200220-0773>.
  160. Sheahan TP, Sims AC, Leist SR, et al. Comparative therapeutic efficacy of remdesivir and combination lopinavir, ritonavir, and interferon beta against MERS-CoV. *Nat Commun*. 2020;11(1):222. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13940-6>.
  161. Cui S, Hao W. Deducing the Crystal Structure of MERS-CoV Helicase. *Methods Mol Biol*. 2020;2099:69-85. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0211-9\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0211-9_6).
  162. Shereen MA, Khan S, Kazmi A, et al. COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *J Adv Res*. 2020;24:91-98. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.03.005>.
  163. Shiryayev SA, Remacle AG, Ratnikov BI, et al. Targeting host cell furin proprotein convertases as a therapeutic strategy against bacterial toxins and viral pathogens. *J Biol Chem*. 2007;282(29):20847-20853. <https://doi.org/10.1074/jbc.M703847200>.
  164. Sidwell RW, Robins RK, Hillyard IW. Ribavirin: An antiviral agent. *Pharmacol Ther*. 1979;6(1):123-146. [https://doi.org/10.1016/0163-7258\(79\)90058-5](https://doi.org/10.1016/0163-7258(79)90058-5).
  165. Siddell SG, Walker PJ, Lefkowitz EJ, et al. Additional changes to taxonomy ratified in a special vote by the International Committee on Taxonomy of Viruses (October 2018). *Arch Virol*. 2019;164(3):943-946. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-04136-2>.
  166. Singh TU, Parida S, Lingaraju MC, et al. Drug repurposing approach to fight COVID-19. *Pharmacol Rep*. 2020. <https://doi.org/10.1007/s43440-020-00155-6>.
  167. Sivabakya TK, Srinivas G. Will the antimalarial drug take over to combat COVID-19? *J Public Health (Berl.)* 2020; 1-4. <https://doi.org/10.1007/s10389-020-01293-0>.
  168. Simmons G, Reeves JD, Rennekamp AJ, et al. Characterization of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus (SARS-CoV) spike glycoprotein-mediated viral entry. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101(12):4240-4245. <https://doi.org/10.1073/pnas.0306446101>.
  169. Skariyachan S, Challapilli SB, Packirisamy S, et al. Recent Aspects on the Pathogenesis Mechanism, Animal Models and Novel Therapeutic Interventions for Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Infections. *Front Microbiol*. 2019;10:569. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00569>.
  170. Snijder EJ, Bredenbeek PJ, Dobbe JC, et al. Unique and Conserved Features of Genome and Proteome of SARS-coronavirus, an Early Split-off From the Coronavirus Group 2 Lineage. *J Mol Biol*. 2003;331(5):991-1004. [https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(03\)00865-9](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(03)00865-9).
  171. Song W, Gui M, Wang X, Xiang Y. Cryo-EM structure of the SARS coronavirus spike glycoprotein in complex with its host cell receptor ACE2. *PLoS Pathog*. 2018;14(8):e1007236. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007236>.
  172. Stohlman SA, Baric RS, Nelson GN, et al. Specific interaction between coronavirus leader RNA and nucleocapsid protein. *J Virol*. 1988;62(11):4288-4295. <https://doi.org/10.1128/JVI.62.11.4288-4295.1988>.
  173. Sturman LS, Holmes KV, Behnke J. Isolation of coronavirus envelope glycoproteins and interaction with the viral nucleocapsid. *J Virol*. 1980;33(1):449-462. <https://doi.org/10.1128/JVI.33.1.449-462.1980>.
  174. Sun S-H, Chen Q, Gu H-J, et al. A Mouse Model of SARS-CoV-2 Infection and Pathogenesis. *Cell Host Microbe*. 2020;28(1):124-133.e124. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.05.020>.
  175. Tai W, He L, Zhang X, et al. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. *Cell Mol Immunol*. 2020;17(6):613-620. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0400-4>.
  176. Tobaiqy M, Qashqary M, Al-Dahery S, et al. Therapeutic management of patients with COVID-19: a systematic review. *Infection Prevention in Practice*. 2020;2(3):100061. <https://doi.org/10.1016/j.infpip.2020.100061>.
  177. Ton AT, Gentile F, Hsing M, et al. Rapid Identification of Potential Inhibitors of SARS-CoV-2 Main Protease by Deep Docking of 1.3 Billion Compounds. *Mol Inform*. 2020;39(8):e2000028. <https://doi.org/10.1002/minf.202000028>.
  178. Tsuji M. Potential anti-SARS-CoV-2 drug candidates identified through virtual screening of the ChEMBL database for compounds that target the main coronavirus protease. *FEBS Open Bio*. 2020;10(6):995-1004. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12875>.

179. Uzunova K, Filipova E, Pavlova V, Vekov T. Insights into antiviral mechanisms of remdesivir, lopinavir/ritonavir and chloroquine/hydroxychloroquine affecting the new SARS-CoV-2. *Biomed Pharmacother.* 2020;131:110668. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110668>.
180. van Boheemen S, de Graaf M, Lauber C, et al. Genomic characterization of a newly discovered coronavirus associated with acute respiratory distress syndrome in humans. *mBio.* 2012;3(6). <https://doi.org/10.1128/mBio.00473-12>.
181. van Regenmortel MHV. Solving the species problem in viral taxonomy: recommendations on non-Latinized binomial species names and on abandoning attempts to assign metagenomic viral sequences to species taxa. *Arch Virol.* 2019;164(9):2223-2229. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04320-y>.
182. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, et al. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell.* 2020;181(2):281-292. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>.
183. Wan Y, Shang J, Sun S, al. Molecular mechanism for antibody-dependent enhancement of coronavirus entry. *J Virol.* 2020;94(5):e02015-19. <https://doi.org/10.1128/JVI.02015-19>.
184. Wang P-H, Cheng Y. Increasing host cellular receptor — Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE2) expression by Coronavirus may facilitate 2019-nCoV infection. *bioRxiv.* 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.02.24.963348>.
185. Wang X, Xu W, Hu G, et al. RETRACTED ARTICLE: SARS-CoV-2 infects T lymphocytes through its spike protein-mediated membrane fusion. *Cell Mol Immunol.* 2020. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0424-9>.
186. Wrapp D, Wang N, Corbett KS, et al. Cryo-EM Structure of the 2019-nCoV Spike in the Prefusion Conformation. *bioRxiv.* 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.02.11.944462>. (E-publication before print).
187. Wrapp D, Wang N, Corbett KS, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science.* 2020;367(6483):1260-1263. <https://doi.org/10.1126/science.abb2507>.
188. Wu A, Peng Y, Huang B, et al. Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China. *Cell Host Microbe.* 2020;27(3):325-328. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.02.001>.
189. Wu C, Liu Y, Yang Y, et al. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. *Acta Pharm Sin B.* 2020;10(5):766-788. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2020.02.008>.
190. Xia S, Liu M, Wang C, et al. Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion. *Cell Res.* 2020;30(4):343-355. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0305-x>.
191. Xu D, Lu W. Defensins: A Double-Edged Sword in Host Immunity. *Front Immunol.* 2020;11:764. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00764>.
192. Pan XW, Xu D, Zhang H, et al. Identification of a potential mechanism of acute kidney injury during the COVID-19 outbreak: a study based on single-cell transcriptome analysis. *Intensive Care Med.* 2020;46(6):1114-1116. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-06026-1>.
193. Xu Z, Peng C, Shi Y, et al. Nelfinavir was predicted to be a potential inhibitor of 2019-nCoV main protease by an integrative approach combining homology modelling, molecular docking and binding free energy calculation. *bioRxiv.* 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.01.27.921627>.
194. Xue X, Yu H, Yang H, et al. Structures of two coronavirus main proteases: implications for substrate binding and antiviral drug design. *J Virol.* 2008;82(5):2515-2527. <https://doi.org/10.1128/JVI.02114-07>.
195. Yager EJ. Antibody-dependent enhancement and COVID-19: Moving toward acquittal. *Clin Immunol.* 2020;217:108496. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108496>.
196. Yan R, Zhang Y, Li Y, et al. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science.* 2020;367(6485):1444-1448. <https://doi.org/10.1126/science.abb2762>.
197. Yang X, Yu Y, Xu J, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med.* 2020;8(5):475-481. [https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(20\)30079-5](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(20)30079-5).
198. Yao TT, Qian JD, Zhu WY, et al. A systematic review of lopinavir therapy for SARS coronavirus and MERS coronavirus – A possible reference for coronavirus disease-19 treatment option. *J Med Virol.* 2020;92(6):556-563. <https://doi.org/10.1002/jmv.25729>.
199. Yin Y, Wunderink RG. MERS, SARS and other coronaviruses as causes of pneumonia. *Respirology.* 2018;23(2):130-137. <https://doi.org/10.1111/resp.13196>.
200. Yoshimoto FK. The Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS CoV-2 or n-COV19), the Cause of COVID-19. *Protein J.* 2020;39(3):198-216. <https://doi.org/10.1007/s10930-020-09901-4>.
201. Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, et al. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med.* 2012;367(19):1814-1820. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1211721>.
202. Zaher NH, Mostafa MI, Altaher AY. Design, synthesis and molecular docking of novel triazole derivatives as potential CoV helicase inhibitors. *Acta Pharm.* 2020;70(2):145-159. <https://doi.org/10.2478/acph-2020-0024>.
203. Zhang H, Penninger JM, Li Y, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Med.* 2020;46(4):586-590. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-05985-9>.
204. Zhavoronkov A, Aladinskiy V, Zhebrak A, et al. Potential COVID-20193C-like protease inhibitors designed using generative deep learning approaches. *ChemRxiv.* 2020. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.11829102.v2>.
205. Zhavoronkov A, Ivanenkov YA, Aliper A, et al. Deep learning enables rapid identification of potent DDR1 kinase inhibitors. *Nat Biotechnol.* 2019;37(9):1038-1040. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0224-x>.
206. Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat

- origin. *Nature*. 2020;579(7798):270-273. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>.
207. Zhou Y, Hou Y, Shen J, et al. Network-based drug repurposing for novel coronavirus 2019-nCoV/SARS-CoV-2. *Cell Discov*. 2020;6:14. <https://doi.org/10.1038/s41421-020-0153-3>.
208. Ziebuhr J, Baric RS, Baker S, et al. Proposal 2017.013S.A.v1. Reorganization of the family Coronaviridae into two families, Coronaviridae (including the current subfamily Coronavirinae and the new subfamily Letovirinae) and the new family Tobaniviridae (accommodating the current subfamily Torovirinae and three other subfamilies), revision of the genus rank structure and introduction of a new subgenus rank. 2017.
209. Ziebuhr J, Baker S, Baric RS, et al. Proposal 2019.021S.Ac.v1. Create ten new species and a new genus in the subfamily Orthocoronavirinae of the family Coronaviridae and five new species and a new genus in the subfamily Serpentovirinae of the family Tobaniviridae. 2019.
210. Zheng J, Perlman S. Immune responses in influenza A virus and human coronavirus infections: an ongoing battle between the virus and host. *Curr Opin Virol*. 2018;28:43-52. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2017.11.002>.
211. Zhirnov OP, Klenk HD, Wright PF. Aprotinin and similar protease inhibitors as drugs against influenza. *Antiviral Res*. 2011;92(1):27-36. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2011.07.014>.
212. Zhou G, Zhao Q. Perspectives on therapeutic neutralizing antibodies against the Novel Coronavirus SARS-CoV-2. *Int J Biol Sci*. 2020;16(10):1718-1723. <https://doi.org/10.7150/ijbs.45123>.
213. Zhu N, Wang W, Liu Z, et al. Morphogenesis and cytopathic effect of SARS-CoV-2 infection in human airway epithelial cells. *Nat Commun*. 2020;11(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17796-z>.
214. Zumla A, Hui DS, Perlman S. Middle East respiratory syndrome. *Lancet*. 2015;386(9997):995-1007. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(15\)60454-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(15)60454-8).

## ♦ Информация об авторах

*Владимир Иванович Ващенко* — д-р биол. наук, заведующий лабораторным отделом Центра крови и тканей. ФГБВОУ ВО ВМА им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург. E-mail: vladimirvaschenko@yandex.ru.

*Владимир Николаевич Вильянинов* — канд. мед. наук, доцент, начальник Центра крови и тканей. ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург. E-mail: vilyaninov@mail.ru.

*Петр Дмитриевич Шабанов* — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии. ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург. E-mail: pdshabanov@mail.ru.

## ♦ Information about the authors

*Vladimir I. Vashchenko* — Dr. Biol. Sci., Head, Department of Biochemistry, Centre of Blood and Tissues. S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia. E-mail: vladimirvaschenko@yandex.ru.

*Vladimir N. Vilyaninov* — PhD, Chief, Centre of Blood and Tissues. S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia. E-mail: vilyaninov@mail.ru.

*Petr D. Shabanov* — Dr. Med. Sci., Professor and Head, Department of Pharmacology. S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia. E-mail: pdshabanov@mail.ru.