

## СТРАТЕГИИ ДИЗАЙНА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

С. С. Терехов<sup>1</sup>, В. И. Шмыгарев<sup>1</sup>, К. В. Пуртов<sup>2</sup>, И. В. Смирнов<sup>1</sup>, И. В. Ямпольский<sup>1,3</sup>, А. С. Царькова<sup>1,3</sup> ✉<sup>1</sup> Институт биоорганической химии имени М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия<sup>2</sup> Институт биофизики, Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН», Красноярск, Россия<sup>3</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Возрастающие с каждым годом численность и плотность человеческой популяции приводит к увеличивающемуся риску распространения инфекционных заболеваний, что грозит возникновением все новых эпидемий по всему миру. Широкое использование вакцинации снизило заболеваемость и смертность, связанные с вирусными инфекциями, а в некоторых случаях полностью уничтожило вирус среди населения. К сожалению, некоторые виды вирусов сохраняют способность к быстрой мутации и таким образом ускользают от вызванного вакциной иммунного ответа. В связи с этим для лечения и профилактики вирусных заболеваний требуются новые противовирусные препараты. Современные исследования в области структур и свойств вирусных протеаз, имеющих ключевое значение в жизненном цикле вирусов, позволяют, на наш взгляд, превратить эти ферменты в перспективные мишени для разработки эффективных методов борьбы с вирусными заболеваниями.

**Ключевые слова:** противовирусные препараты, вирусные протеазы, ингибиторы протеаз, дизайн пролекарств**Финансирование:** работа выполнена при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 075-15-2021-1049.**Вклад авторов:** С. С. Терехов, В. И. Шмыгарев, К. В. Пуртов — анализ литературы; И. В. Ямпольский, И. В. Смирнов — анализ литературы, общее руководство проектом; А. С. Царькова — анализ литературы, обработка данных, руководство проектом, написание статьи.✉ **Для корреспонденции:** Александра Сергеевна Царькова  
ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, г. Москва, 117997, Россия; [altsarkova@gmail.com](mailto:altsarkova@gmail.com)**Статья получена:** 05.12.2022 **Статья принята к печати:** 19.12.2022 **Опубликована онлайн:** 28.12.2022**DOI:** 10.24075/vrgmu.2022.067

## DRUG DESIGN STRATEGIES FOR THE TREATMENT OF CORONAVIRUS INFECTION

Terekhov SS<sup>1</sup>, Shmygarev VI<sup>1</sup>, Purtov KV<sup>2</sup>, Smirnov IV<sup>1</sup>, Yampolsky IV<sup>1,3</sup>, Tsarkova AS<sup>1,3</sup> ✉<sup>1</sup> Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow, Russia<sup>2</sup> Institute of Biophysics SB RAS, Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center SB RAS”, Krasnoyarsk, Russia<sup>3</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

The increasing size and density of the human population is leading to an increasing risk of infectious diseases that threaten to spread yet another pandemics. The widespread use of vaccination has reduced morbidity and mortality associated with viral infections and in some cases eradicated the virus from the population entirely. Regrettably, some virus species retain the ability to mutate rapidly and thus evade the vaccine-induced immune response. New antiviral drugs are therefore needed for the treatment and prevention of viral diseases. Modern research into the structures and properties of viral proteases, which are of key importance in the life cycle of viruses, makes it possible, in our opinion, to turn these enzymes into promising targets for the development of effective viral disease control methods.

**Keywords:** antiviral drugs, viral proteases, protease inhibitors, prodrug design**Funding:** This work was financially supported by grant № 075-15-2021-1049 from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.**Author contribution:** S.S. Terekhov, V.I. Shmygarev, K.V. Purtov — literature analysis; I.V. Yampolsky, I.V. Smirnov — literature analysis, general project management; A.S. Tsarkova — literature analysis, data processing, project management, article writing.✉ **Correspondence should be addressed:** Aleksandra Sergeyevna Tsarkova  
Miklukho-Maklay, 16/10, Moscow, 117997, Russia; [altsarkova@gmail.com](mailto:altsarkova@gmail.com)**Received:** 05.12.2022 **Accepted:** 19.12.2022 **Published online:** 28.12.2022**DOI:** 10.24075/brsmu.2022.067

Наряду с сердечно-сосудистыми и цереброваскулярными заболеваниями, инфекционные болезни, вызванные бактериями, вирусами, паразитами и грибами, являются основной причиной смертности во всем мире [1]. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, глобальное распространение коронавирусной инфекции, начавшейся в 2019 г. в Китае, привело к заражению более 600 млн и гибели более 6,5 миллионов человек за три года [2]. Причиной пандемии COVID-19 стал новый коронавирус SARS-CoV-2. Ранее представители семейства коронавирусов SARS-CoV и MERS-CoV вызвали вспышки тяжелого острого респираторного синдрома (SARS) в 2002 г. и ближневосточного респираторного синдрома (MERS) в 2012 г. [3].

Несколько десятилетий изучения семейства коронавирусов показали, что геном вирусной РНК транслируется в два больших полипротеина, pp1a и pp1ab, которые благодаря своей внутренней пептидазной

активности расщепляются на несколько неструктурных белков (Nsp), необходимых для обеспечения транскрипции и репликации вирусного генома [4]. Для протеолитической деградации полипротеинов критичны два фермента — цистеиновые папаин-подобная пептидаза (PLP) [5] и химотрипсин-подобная пептидаза (3CL), известная также как основная протеаза коронавируса (M<sup>Pro</sup>) [6]. Пептидаза M<sup>Pro</sup> состоит из трех доменов: домены I и II образуют химотрипсин-подобный фолдинг, содержащий сайт связывания субстрата, расположенный в щели между двумя доменами, а домен III обеспечивает образование гомодимера и играет ключевую роль в каталитической активности протеазы, так как мономер M<sup>Pro</sup> неактивен [7]. M<sup>Pro</sup> различных коронавирусов имеют общие высококонсервативные сайты связывания субстрата, распознающие аминокислотную последовательность полипротеина (Leu-Gln)↓(Ser/Ala/Gly), где гидролизуется пептидная связь после остатка глутамина [7, 8].

Разработка ингибиторов цистеиновых протеаз, участвующих в репликации коронавируса (CoV), представляет собой эффективную стратегию борьбы с COVID-19 и другими заболеваниями, вызванными коронавирусами. Перспективной мишенью для разработки противовирусных препаратов, направленных против SARS-CoV-2 и других CoV, является M<sup>Pro</sup> из-за ее важной роли в посттрансляционном процессинге полипротеинов. Более того, отсутствие протеазы человека, расщепляющей белки после остатка Gln, является одним из преимуществ M<sup>Pro</sup> как мишени для разработки ингибиторов, поскольку повышает их специфичность и ограничивает нежелательные побочные эффекты. После вспышек эпидемий, вызванных CoV в 2002 и 2012 г., было предложено множество ингибиторов M<sup>Pro</sup> [9], однако лишь в 2021 г. появились первые лекарственные кандидаты, успешно прошедшие клинические испытания [10, 11].

Другой интересной стратегией разработки противовирусных лекарственных препаратов можно назвать использование протеолиза для активации пролекарств [12]. Пролекарства представляют собой инактивированные производные молекул лекарственных средств, которые могут подвергаться трансформации

ферментами с высвобождением активного действующего вещества *in vivo* [12]. Ряд пролекарств, активируемых протеазами (ПАП), был разработан и успешно использован в борьбе с раковыми заболеваниями для улучшения доставки лекарств к злокачественным новообразованиям, где экспрессия протеаз выше, чем в здоровых тканях [13]. Однако применение ПАП не ограничено разработкой противоопухолевых препаратов, последние публикации показывают, что данный подход можно применять и для лечения бактериальных и вирусных инфекций [14, 15].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комбинирование двух стратегий может стать перспективным направлением в разработке препаратов для лечения COVID-19. Использование инактивированных цитотоксических и цитостатических препаратов, конъюгированных как с необратимыми, так и с обратимыми селективными ингибиторами протеазы M<sup>Pro</sup>, способно обеспечить специфичность доставки и высвобождения действующего вещества в зараженных клетках и снизить общую токсичность разработанных лекарственных препаратов.

## Литература

1. The top 10 causes of death, Geneva: World Health Organization c2022 [cited 2022 Nov 30]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.
2. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard, Geneva: World Health Organization c2022 [cited 2022 Nov 30]. Available from: <https://covid19.who.int/>.
3. Zhou H, Yang J, Zhou C, Chen B, Fang H, Chen S, et al. A Review of SARS-CoV2: Compared With SARS-CoV and MERS-CoV. *Front Med.* 2021; 8: 628370.
4. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol.* 2015; 1282: 1–23.
5. Báez-Santos YM, St. John SE, Mesecar AD. The SARS-coronavirus papain-like protease: structure, function and inhibition by designed antiviral compounds. *Antiviral Res.* 2015; 115: 21–38.
6. Wang F, Chen C, Tan W, Yang K, Yang H. Structure of Main Protease from Human Coronavirus NL63: Insights for Wide Spectrum Anti-Coronavirus Drug Design. *Sci Rep.* 2016; 6: 22677.
7. Jin Z, Du X, Xu Y, Deng Y, Liu M, Zhao Y, et al. Structure of M<sup>pro</sup> from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. *Nature.* 2020; 582: 289–93.
8. Zhang L, Lin D, Sun X, Curth U, Drosten C, Sauerhering L, et al. Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved  $\alpha$ -ketoamide inhibitors. *Science.* 2020; 368 (6489): 409–12.
9. Liu Y, Liang C, Xin L, Ren X, Tian L, Ju X, et al. The development of Coronavirus 3C-Like protease (3CLpro) inhibitors from 2010 to 2020. *Eur J Med Chem.* 2020; 206: 112711.
10. Owen DR, Allerton CMN, Anderson AS, Aschenbrenner L, Avery M, Berritt S, et al. An oral SARS-CoV-2 Mpro inhibitor clinical candidate for the treatment of COVID-19. *Science.* 2021; 374 (6575): 1586–93.
11. de Vries M, Mohamed AS, Prescott RA, Valero-Jimenez AM, Desvignes L, O'Connor R, et al. A comparative analysis of SARS-CoV-2 antivirals characterizes 3CLpro inhibitor PF-00835231 as a potential new treatment for COVID-19. *J Virol.* 2021; 95 (10): e01819–20.
12. Poreba M. Protease-activated prodrugs: strategies, challenges, and future directions. *FEBS J.* 2020; 287 (10): 1936–69.
13. Choi KY, Swierczewska M, Lee S, Chen X. Protease-activated drug development. *Theranostics.* 2012; 2 (2): 156–78.
14. Richter M, Leuthold MM, Graf D, Bartenschlager R, Klein CD. Prodrug activation by a viral protease: evaluating combretastatin peptide hybrids to selectively target infected cells. *ACS Med Chem Lett.* 2019; 10: 1115–21.
15. Boyce JH, Dang B, Ary B, Edmondson Q, Craik CS, Degrado WF, et al. Platform to Discover Protease-Activated Antibiotics and Application to Siderophore–Antibiotic Conjugates. *J Am Chem Soc.* 2020; 142 (51): 21310.

## References

1. The top 10 causes of death, Geneva: World Health Organization c2022 [cited 2022 Nov 30]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.
2. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard, Geneva: World Health Organization c2022 [cited 2022 Nov 30]. Available from: <https://covid19.who.int/>.
3. Zhou H, Yang J, Zhou C, Chen B, Fang H, Chen S, et al. A Review of SARS-CoV2: Compared With SARS-CoV and MERS-CoV. *Front Med.* 2021; 8: 628370.
4. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol.* 2015; 1282: 1–23.
5. Báez-Santos YM, St. John SE, Mesecar AD. The SARS-coronavirus papain-like protease: structure, function and inhibition by designed antiviral compounds. *Antiviral Res.* 2015; 115: 21–38.
6. Wang F, Chen C, Tan W, Yang K, Yang H. Structure of Main Protease from Human Coronavirus NL63: Insights for Wide Spectrum Anti-Coronavirus Drug Design. *Sci Rep.* 2016; 6: 22677.
7. Jin Z, Du X, Xu Y, Deng Y, Liu M, Zhao Y, et al. Structure of M<sup>pro</sup> from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. *Nature.* 2020; 582: 289–93.
8. Zhang L, Lin D, Sun X, Curth U, Drosten C, Sauerhering L, et al. Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved  $\alpha$ -ketoamide inhibitors. *Science.* 2020; 368 (6489): 409–12.

- for design of improved  $\alpha$ -ketoamide inhibitors. *Science*. 2020; 368 (6489): 409–12.
9. Liu Y, Liang C, Xin L, Ren X, Tian L, Ju X, et al. The development of Coronavirus 3C-Like protease (3CLpro) inhibitors from 2010 to 2020. *Eur J Med Chem*. 2020; 206: 112711.
  10. Owen DR, Allerton CMN, Anderson AS, Aschenbrenner L, Avery M, Berritt S, et al. An oral SARS-CoV-2 Mpro inhibitor clinical candidate for the treatment of COVID-19. *Science*. 2021; 374 (6575): 1586–93.
  11. de Vries M, Mohamed AS, Prescott RA, Valero-Jimenez AM, Desvignes L, O'Connor R, et al. A comparative analysis of SARS-CoV-2 antivirals characterizes 3CLpro inhibitor PF-00835231 as a potential new treatment for COVID-19. *J Virol*. 2021; 95 (10): e01819–20.
  12. Poreba M. Protease-activated prodrugs: strategies, challenges, and future directions. *FEBS J*. 2020; 287 (10): 1936–69.
  13. Choi KY, Swierczewska M, Lee S, Chen X. Protease-activated drug development. *Theranostics*. 2012; 2 (2): 156–78.
  14. Richter M, Leuthold MM, Graf D, Bartenschlager R, Klein CD. Prodrug activation by a viral protease: evaluating combretastatin peptide hybrids to selectively target infected cells. *ACS Med Chem Lett*. 2019; 10: 1115–21.
  15. Boyce JH, Dang B, Ary B, Edmondson Q, Craik CS, Degrado WF, et al. Platform to Discover Protease-Activated Antibiotics and Application to Siderophore–Antibiotic Conjugates. *J Am Chem Soc*. 2020; 142 (51): 21310.