

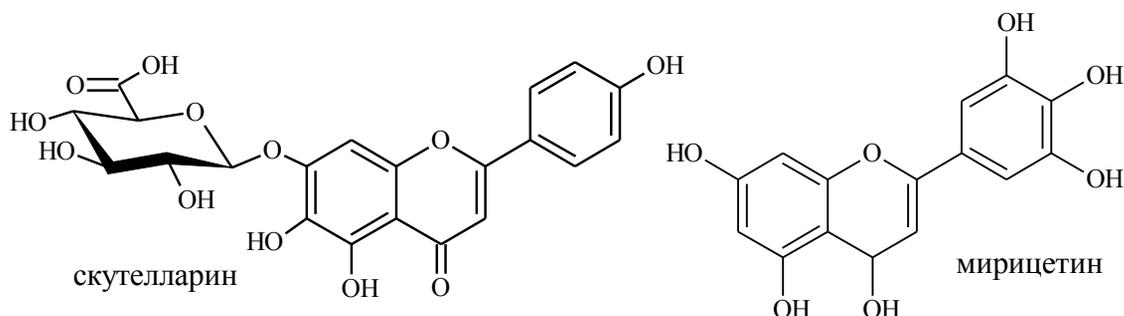
Southeast Asia countries, which were the first to face the new infection. This paper analyzes publications on screening problems and herbal drugs that are effective against coronaviruses. The paper provides information about organic substances derived from plants, which under laboratory conditions showed the ability to inhibit the growth and development of coronaviruses in an infected cell. Examples illustrate the application of raw plant material components in everyday diet as part of functional products. However, the inclusion of extracts or parts of plants with the ability to inhibit enzymes in a daily diet cannot replace the medication therapy. At the same time, regular consumption of such foods can significantly alleviate the progression of these diseases and prevent complications. These plants grow not only in Southeast Asia, but also in Russia. This fact, undoubtedly, will stimulate research for the new inhibitors of helicases and proteases among medicinal plants widespread in Russia and in our republic.

Key words: coronavirus, COVID-19, helicase, plant metabolites, enzyme inhibitors, myricetin, scutellarein, luteolin, fisetin, quercetin, isolicoflavonol, glyasperin F, semilsolicoflavone B, licoisoflavone B

Пандемия коронавируса COVID-19 (аббревиатура от англ. COronaVIrus Disease 2019), тяжелая острая респираторная инфекция, вызываемая коронавирусом SARS-CoV-2 (2019-nCoV), приковала к себе внимание не только врачей-эпидемиологов, но и всего человечества. Поскольку этот коронавирус обладает способностью к быстрому распространению и длительным инкубационным периодом, иногда сопряженным с бессимптомным протеканием болезни, особо остро стал вопрос о быстром создании эффективных препаратов для его профилактики и лечения больных COVID-19. Геном 2019-nCoV (он же SARS-CoV-2, он же COVID-19) на 79,5% совпадает с РНК вируса атипичной пневмонии SARS-CoV и на 50% MERS-CoV. Вирус SARS-CoV-2 относится к семейству β-коронавирусов, состоит из белковой оболочки и одноцепочечной (+)РНК. При инфицировании клеток-мишеней геном SARS-CoV транслируется в два больших реплицирующих полипротеина, которые затем перерабатываются вирусной протеазой в ряд неструктурных белков (nsPs). Эти nsPs включают РНК-зависимую РНК полимеразу и ее хеликазу.

Хеликазы (от *helix* – спираль) относятся к классу ферментов, образно сравниваемых с молекулярными «машинами», поскольку последние используют энергию нуклеотидтрифосфатов (АТФ, ГТФ) для движения вдоль молекул нуклеиновых кислот (ДНК, двухцепочечных РНК, гибридов между ДНК и РНК) и расплетания двойных цепочек нуклеотидов. Этот фермент необходим для нормального протекания практически всех клеточных процессов с участием ДНК и РНК (трансляции, транскрипции, репликации, рекомбинации, репарации, сплайсинга), следовательно, снижение или подавление активности хеликаз способно задерживать развитие коронавируса, и поэтому в настоящее время хеликаза считается потенциальной мишенью для разработки противовирусных препаратов. Поиск же эффективных ингибиторов хеликаз наиболее перспективен среди химических соединений растительного происхождения.

Кроме того, уже давно обнаружены природные соединения растительного происхождения, например, флавоноиды, проявляющие противовирусную активность. Ярким тому примером является силимарин, богатым источником которого является растороп-



ша пятнистая *Silybummarianum*. Силимарин значительно подавлял у трансгенных мышей гепатокарциному, вызванную вирусом гепатита В. Подобными свойствами обладает и другой флавоноид – кверцетин. Эпигаллокатехин-3-галлат, основной активный компонент зеленого чая, подавляет выделенный из спермы человека усилитель вирусной инфекции, который необходим для заражения вирусом ВИЧ. Производные глицирризиновой кислоты, активного ингредиента корней солодки, проявляли анти-ВИЧ активность.

В работе корейских ученых приведены результаты исследований, которые показывают, что мирицетин и скутелларин *in vitro* являются сильными ингибиторами хеликазы SARS-CoV.

Скутелларин выделен из корней шлемника *Scutellaria*, относящегося к семейству яснотковых, или губоцветных. В подземных частях шлемника байкальского (рис. 1) содержится до 10% флавоноидов, в том числе скутелларин. Мирицетин содержится во многих растениях, например, в овощах семейства крестоцветных, таких как брокколи: 62,5+/-0,04 мг/кг продукта, капусте: 147,5+/-0,05 мг/кг, в китайской капусте: 31,0+/-0,10 мг/кг.

Включение в ежедневный рацион питания брокколи полезно не только с точки зрения профилактики вирусных инфекций. Всемирный фонд исследований рака в своих рекомендациях пишет, что диета, богатая крестоцветными, в том числе брокколи, с

высокой степенью вероятности защищает от рака толстой и прямой кишки, щитовидной железы, а при потреблении овощей, богатых другими фитонутрицевтиками – от рака других органов. Убедительные доказательства антиканцерогенного эффекта фитонутрицевтиков крестоцветных были получены в исследованиях *in vivo*, в основном с брокколи [1].

Мирицетин и скутелларин ингибируют *in vitro* активность nsP13, гидролизующих АТФ более чем на 90% при концентрации 1 микромоляр. Тараксерол из корней одуванчика проявлял незначительную степень ингибирования – около 20%.

Мирицетин и скутелларин не влияют на рост эпителиальных клеток молочной железы человека MCF10A в концентрациях, близких к IC_{50} – концентрации полумаксимального ингибирования, что говорит о безопасности применения мирицетина и скутелларина в фармакологически эффективных дозах.

Молекулярный докинг показывает, что мирицетин или скутелларин могут встраиваться и непосредственно взаимодействовать с АТФ/АДФ-связывающей полостью фермента хеликазы SARS-CoV.

Все эти результаты показывают, что мирицетин и скутелларин имеют большие перспективы для использования в лечении и контроле коронавирусных инфекций; однако необходимы дополнительные доклинические и клинические исследования, чтобы выяснить, сохраняется ли этот эффект при применении *in vivo* [2].



Рис. 1. Шлемник байкальский

Структура 3-химотрипсиноподобной протеазы 3CL^{pro} была установлена после распространения в мире тяжелого острого респираторного синдрома SARS. Это основная протеаза, которая расщепляет полипротеины клетки хозяина на белки, связанные с репликацией вируса. Поэтому эта протеаза является другой важной мишенью для разработки потенциальных ингибиторов коронавируса. Одним из эффективных подходов, используемых для скрининга потенциальных активных соединений против специфических целевых белков, таких как 3CL^{pro}, является молекулярной докинг.

После предварительного скрининга и исследования ингибирования 3CL^{pro} *in vitro* были идентифицированы семь биоактивных веществ (лютеолин из плодов форзиции, физетин из гледичии, кверцетин, комплекс веществ из корней солодки: изоликофлавонол, глиасперин F, семиизоликофлавонол B, ликозифлавонол B) как самые перспективные для создания на их основе комплексного препарата для лечения коронавируса [3].

Экстракты луковичного многолетнего растения ликориса лучистого *Lycoris radiata*, однолетней полыни *Artemisia annua*, папоротника пиррозии язычной *Pyrrhosia lingua* и японского вечнозеленого дерева лндера *Lindera aggregate* показали значительное ингибирующее воздействие на индуцированную вирусом штамма SARS-CoV BJ001 инфекцию клеток *Vero* и поддерживали их в жизнеспособном состоянии. Клетки *Vero* – это линия клеток, используемая для культивирования, была получена из эпителия почки, взятой у африканской зеленой мартышки *Chlorocebus aethiops*. Ингибирование для всех четырех соединений вирусной инфекции/репликации было, по-видимому, более мощным, чем у α -интерферона.

Тест на цитотоксичность исследованных экстрактов основывался на изучении жизнеспособности клеток после их обработки различными концентрациями исследуемых экстрактов. Значения CC_{50} определяли как концентрацию соединений, снижающих жизнеспособность клеток до 50% от контроля (клетки без добавления экстрактов). Для четырех активных экстрактов – *L. radiata*, *A. annua*, *P. lingua* и *L. aggregate* значения CC_{50} варьируют от $886,6 \pm 35,0$ до $2378,0 \pm 87,3$ мг/мл в анализах с использованием клеток *Vero*. Селективный индекс (*SI*), который был определен как отношение CC_{50} к EC_{50} для одного из эффективных *L. radiata*, составляет более 300. Три других растения также показали хорошие значения *SI*, за исключением *L. aggregate*. Значения токсичности CC_{50} экстрактов *L. radiata*, *A. annua*, *P. lingua* и *L. aggregate* на клеточных линиях *Vero* E6 и человеческого HerpG2 составили $690,5 \pm 21,0$; $1022,9 \pm 55,1$; $2127,3 \pm 178,9$ и $1159,0 \pm 93,3$ мг/мл соответственно. Результаты показали, что нет никакой существенной разницы в токсичности экстрактов по отношению к этим двум типам клеточных линий.



Рис. 2. *Lycoris radiata*

Идентификация активного противовирусного компонента из фракции в образце алкалоида, выделенного из *L. radiata* (рис. 2) и обладающего противовирусной активностью против SARS-CoV, позволила установить, что этим веществом является ликорин [4].

Приведенные примеры показывают перспективность применения в будущем компонентов растительного сырья в повседневном питании в составе функциональных продуктов. Надо понимать, что включение в повседневный рацион экстрактов или отдельных частей растений, обладающих способностью ингибировать ферменты, не может заменить собой необходимого для больных вирусной инфекцией медикаментозного лечения. Однако регулярное употребление таких продуктов лицами с потенциальными рисками развития у них вирусных инфекций может значительно облегчить протекание этих заболеваний и не допустить осложнений. Список недугов, риск заболевания которыми можно свести к минимуму при соблюдении определенной диеты, включающей в себя специфические растительные компоненты, может быть значительно расширен в ближайшие десятилетия, поскольку во всем мире проводится непрерывный скрининг веществ растительного происхождения на предмет выявления у них различных профилактических свойств при употреблении их в пищу в рекомендуемых дозах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Забодалова Л.А., Зайнуллин Р.А., Мавзютов А.Р., Кунакова Р.В. Инновационные технологии производства продуктов специализированного питания. М.: Русайнс, 2020. 432 с.
2. Mi-Sun Yu, June Lee, Jin Moo Lee, Younggyu Kim, Young-Won Chin, Jun-Goo Jee, Young-Sam Keum, Yong-Joo Jeong. Identification of myricetin and scutellarein as novel chemical inhibitors of the SARS coronavirus helicase, nsP13 // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2012, vol. 22, p. 4049–4054.
3. Zi-jia Zhang, Wen-yong Wu, Jin-jun Hou, Lin-lin Zhang, Fei-fei Li, Lei Gao, Xing-dong Wu, Jing-ying Shi, Rong Zhang, Hua-li Long, Min Lei, Wan-ying Wu, De-an Guo, Kai-xian Chen, Lewis A. Hofmann, Zhong-hua Ci. Active constituents and mechanisms of Respiratory Detox Shot, a traditional Chinese medicine prescription, for COVID-19 control and prevention: Network-molecular docking-LC–MSE analysis. Journal of Integrative Medicine. 2020, vol. 18, pp. 229–241.
4. Shi-you Li, Cong Chen, Hai-qing Zhang, Hai-yan Guo, Hui Wang, Lin Wang, Xiang Zhang, Shi-neng Hua, Jun Yu, Pei-gen Xiao, Rong-song Li, Xuehai Tan. Identification of natural compounds with antiviral activities against SARS-associated coronavirus // Antiviral Research. 2005, Vol. 67, p. 18–23.

REFERENCES

1. Zabodalova L.A., Zaynullin R.A., Mavzyutov A.R., Kunakova R.V. Innovatsionnye tekhnologii proizvodstva produktov specializirovannogo pitaniya [Innovative technologies for the production of specialized food products]. Moscow: Rusayns, 2020. 432 p. (In Russian).
2. Mi-Sun Yu, June Lee, Jin Moo Lee, Younggyu Kim, Young-Won Chin, Jun-Goo Jee, Young-Sam Keum, Yong-Joo Jeong. Identification of myricetin and scutellarein as novel chemical inhibitors of the SARS coronavirus helicase, nsP13. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2012, vol. 22, pp. 4049–4054.
3. Zi-jia Zhang, Wen-yong Wu, Jin-jun Hou, Lin-lin Zhang, Fei-fei Li, Lei Gao, Xing-dong Wu, Jing-ying Shi, Rong Zhang, Hua-li Long, Min Lei, Wan-ying Wu, De-an Guo, Kai-xian Chen, Lewis A. Hofmann, Zhong-hua Ci. Active constituents and mechanisms of Respiratory Detox Shot, a traditional Chinese medicine prescription, for COVID-19 control and prevention: Network-molecular docking-LC–MSE analysis. Journal of Integrative Medicine. 2020, vol. 18, pp. 229–241.
4. Shi-you Li, Cong Chen, Hai-qing Zhang, Hai-yan Guo, Hui Wang, Lin Wang, Xiang Zhang, Shi-neng Hua, Jun Yu, Pei-gen Xiao, Rong-song Li, Xuehai Tan. Identification of natural compounds with antiviral activities against SARS-associated coronavirus // Antiviral Research. 2005, Vol. 67, p. 18–23.

lin Zhang, Fei-fei Li, Lei Gao, Xing-dong Wu, Jing-ying Shi, Rong Zhang, Hua-li Long, Min Lei, Wan-ying Wu, De-an Guo, Kai-xian Chen, Lewis A. Hofmann, Zhong-hua Ci. Active constituents and mechanisms of Respiratory Detox Shot, a traditional Chinese medicine prescription, for COVID-19 control and prevention: Network-molecular docking-LC-MSE analysis // Journal

of Integrative Medicine. 2020, vol. 18, p. 229–241.
4. Shi-you Li, Cong Chen, Hai-qing Zhang, Hai-yan Guo, Hui Wang, Lin Wang, Xiang Zhang, Shi-neng Hua, Jun Yu, Pei-gen Xiao, Rong-song Li, Xuehai Tan. Identification of natural compounds with antiviral activities against SARS-associated coronavirus. Antiviral Research, 2005, vol. 67, pp. 18–23.

УДК 616.9

DOI: 10.24411/1728-5283-2020-10211

ЗАГАДКИ COVID-19 И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ РАЗРЕШЕНИЯ

© **Р.Н. Мустафин,**

кандидат биологических наук,
доцент,
Башкирский государственный
медицинский университет,
ул. Ленина, 3,
450008, г. Уфа, Российская Федерация
эл. почта: rui79@mail.ru

© **Э.К. Хуснутдинова,**

доктор биологических наук,
профессор,
директор,
Институт биохимии и генетики,
Уфимский федеральный
исследовательский центр РАН,
проспект Октября, 71,
450054, г. Уфа, Российская Федерация
эл. почта: elzakh@mail.ru

Несмотря на глобальную распространенность COVID-19 и исследование болезни во всем мире, до сих пор не внедрена в клинику вакцина против SARS-CoV-2 и не разработана эффективная противовирусная терапия. Тяжелое течение COVID-19 с гиперактивностью иммунной системы наиболее часто определяется у пожилых пациентов, хотя старение характеризуется снижением защитных сил организма и пролиферативного потенциала костного мозга. Характерны значительные различия в показателях смертности от COVID-19 и распределении тяжести болезни в разных странах. Результаты эпидемиологических исследований по всему миру показали высокий процент бессимптомного носительства SARS-CoV-2. Для определения причин этих особенностей новой коронавирусной инфекции необходим поиск различных способов взаимодействий SARS-CoV-2 с организмом человека. Возможными механизмами, которые влияют на иммунный ответ при COVID-19, являются взаимосвязи коронавирусов с РНК-интерференцией и эндогенными ретровирусами человека. В частности, было доказано влияние SARS-CoV-2 на РНК-индуцируемый комплекс выключения гена и воздействие белков N и 7a вируса на выработку малых интерферирующих РНК. Кроме того, обнаружен процессинг транскриптов коронавирусов в малые некодирующие РНК, влияющие на иммунные реакции хозяина. Эти внутриклеточные реакции могут иметь значение в характере противовирусного ответа человека. Подтверждением служат данные о патологической активности ретроэлементов и изменении в системе РНК-интерференции при старении, что может объяснить развитие у пожилых людей более тяжелых форм COVID-19, так как коронавирусы могут взаимодействовать с транспозонами. Для выявления этих механизмов у SARS-CoV-2 и их влияния на развитие иммунных реакций необходимо проведение секвенирования геномов пациентов, пораженных COVID-19. Полученные данные могли бы стать основой новых стратегий в борьбе с коронавирусной инфекцией. Сделано предположение, что популяционные особенности распределения ретроэлементов в геномах людей могут играть роль в характере противовирусного ответа и течении COVID-19.

Ключевые слова: вирусы, иммунная система (ИС), инсерция, РНК-интерференция (РНКи), COVID-19, SARS-CoV-2