Шановний колего!

Інформаційний лист є анотованим описом наукової (науково-технічної) продукції, що входить до Переліку наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я (Наказ МОЗ України та НАМН від 13.11.2013 №969/97 «Про удосконалення впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я», зареєстрований в Міністерстві юстиції України 05.12.2013 за № 2068/24600).

нформаційний лист спрямований для використання керівниками структ них підрозділів (відповідного профілю) закладів охорони здоров України для моніторингу передових технологій діагностики та лікува я з подальшим їх упровадженням у практик (Наказ МОЗ У раїни від 14.03.2011 №142 «Про вдосконалення ержавної акреди ції закладів охорони здоров'я»).

МОЗ УКРАЇНИ

УКРАЇНСЬКИЙ ЦЕНТР НАУКОВОЇ МЕДИЧНОЇ ІНФОРМАЦІЇ ТА ПАТЕНТНО ЛІЦЕНЗІЙНОЇ РОБОТИ

(УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ)

ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ

про наукову (науково-технічну) продукцію, отриману за результатами наукової, науково-технічної та науково-організаційної діяльності підприємств, установ, організацій Міністерства охорони здоров'я України, Міністерства освіти і науки України, Національної академії медичних наук України призначену для практичного застосування у сфері охорони здоров'я

м. Київ

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи (Укрмедпатентінформ)

ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ

ПРО НОВОВВЕДЕННЯ В СФЕРІ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

№ 80 - 2021

Випуск з проблеми
«Віруси та вірусні інфекції»
Підстава: рецензія

НАПРЯМ ВПРОВАДЖЕННЯ:
ВІРУСИ ТА ВІРУСНІ ІНФЕКЦІЇ

АНТИВІРУСНА АКТИВНІСТЬ ФЛАВОНОЇДНОГО ПРЕПАРАТУ ПРОТЕФЛАЗІД®

УСТАНОВИ-РОЗРОБНИКИ:

ДУ «ІНСТИТУТ ЕПІДЕМІОЛГІЇ ТА ІНФЕКЦІЙНИХ ХВОРОБ ІМ. Л.В. ГРОМАШЕВСЬКОГО» НАМН УКРАЇНИ

ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ ТА ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ

УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ МОЗ УКРАЇНИ

А В Т О Р И:

д.мед.н., проф., чл.-кор. НАМНУ ЗАДОРОЖНА В.І.
д.мед.н., проф. РИБАЛКО С.Л.
к.мед.н., с.н.с. СТАРОСИЛА Д.Б.
н.с. ДЕРЯБІН О.М.
аспірант АРХИПОВА М.А.
к.х.н., с.н.с. ПАЛЬЧИКОВСЬКА Л.І.
к.б.н., н.с. ПЛАТОНОВ М.О.

м. Київ

Суть впровадження: представлені результати специфічної противірусної активності препарату Протефлазід® на моделі коронавірусу людей (сезонний HCoV229E, пандемічний SARS-CoV-2) і тварин (ТГС).

Інформація призначена для науково-дослідних установ медичного та біологічного профілю, що займаються розробкою та впровадженням засобів профілактики та лікування COVID-19.

На сьогодні все ще не знайдено специфічного лікування при інфекції COVID-19 всупереч застосуванню багатьох терапевтичних підходів, включаючи антивірусні сполуки, кортикостероїди, ліки, які використовуються для лікування малярії та аутоімунних захворювань, антитіл від реконвалесцентів COVID-19, і механічні пристрої для полегшення дихання.

Важливою передумовою застосування потенційно активних препаратів є їх максимальна безпека для організму людини, тому серед всіх досліджуваних препаратів ми, перш за все, зупинилися на флавоноїдах – природних фенольних сполуках, які мають широкий спектр біологічної активності і вплив на молекулярні мішені вірусної репродукції, ферменти вірусної репродукції гідролази, оксиредуктази, ДНК-синтетази, РНК-полімерази, фосфатазипротеїн-фосфокінази, оксигенази. Згідно з останніми даними літератури та авторів, флавоноїди апігенін, лютеолін, кверцетин, аментофлавон, даідзеін, пуерарін, епігалокатехін галлат проявляють антивірусну активність, пригнічуючи протеолітичну активність 3-CL-подібної протеази SARS-CoV-2 та РНК-полімерази. Крім того, доведено, що флавоноїди активують ядерний фактор транскрипції Nrf-2, який може бути новою мішенню для попередження тяжких наслідків, викликаних інфекцією, за рахунок зниження активності оксидативного стресу і запалення, яке приводить до гострого респіраторного дистрес-синдрому та зниження рівня експресії рецепторів ангіотензинперетворюючого ферменту 2 (ACE-2) разом з посиленням вродженого імунітету.

В лабораторії експериментальної хіміотерапії вірусних інфекцій ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України» та відділі молекулярної та квантової біофізики Інституту молекулярної біології та генетики НАН України були проведені дослідження антикоронавірусної активності флавоноїдвмісного препарату Протефлазід® та біологічно активної речовини Протефлазід (БАРП), до складу якої входять флавоноїди: апігенін, лютеолін, тріцин. Дослідження проводились на моделі коронавірусу трансмісивного гастроентериту свиней (ТГС). Було встановлено, що препарат Протефлазід® в концентраціях 0,02 мкг/мл та його біологічно активна речовина (БАРП) в концентрації 0,15 мкг/мл ефективно інгібують репродукцію коронавірусу ТГС на 2,0-6,0 $lgID_{50}$ з індексом селективності 60 та 200 відповідно.

Методом молекулярного докінгу в кристалічну структуру протеази SARS-CoV-2 було показано, що ліганд добре розташовується в каталітичній кишені протеази, утворюючи водневі зв'язки із залишками Ser 144, Gly 143 і розташовується між каталітичними залишками His 163, Asn 142 та Cys 145, утворює двома гідроксилами катехолу водневі зв'язки із залишком Glu 166, що свідчить про інгібування головної протеази коронавірусу SARS-CoV-2 активною структурою БАРП.

Дослідження, проведені в Україні, були підтверджені на моделях респіраторного коронавірусу людини HCoV 229E у Відділі експериментальної вірусології Ганноверської медичної школи (Німеччина)та SARS-CoV-2 в Лабораторії BSL3 CReSA Дослідницького центру здоров'я тварин Автономного університету Барселони (Іспанія) з ізолятом коронавірусу тяжкого гострого респіраторного синдрому SARS-CoV-2 (ідентифікаційний код EPI_ISL_418268).

Визначення противірусної дії та можливої цитотоксичності препарату Протефлазід® були виконані на перещеплюваній моношаровій культурі клітин Vero E6 (ATCC CRL-1586) кількісним люмінесцентним біоаналітичним методом на основі подвійної системи люцифераз (Firefly-Renilla) за методикою, якою раніше досліджувались антивірусні властивості препаратів «Ремдесивір» та «Гідроксихлорохін» (Liu et al., 2020).

Для виключення неспецифічної цитотоксичної дії спирту на культуру клітин Vero E6, який є розчинником препарату, при дослідженнях з респіраторним коронавірусом людини HCoV 229E (Німеччина), спирт був видалений випаровуванням, а сухий залишок стабілізували 1% DMSO. Контроль за кількісним та якісним станом препарату, після видалення спирту, виконали методом високороздільної рідинної хроматографії (LC-MS).

При досліджені серії розведень безспиртової субстанції препарату Протефлазід® (від 5,3 мкг/мл до 0,1 мкг/мл) було встановлено, що при концентрації 1,0 мкг/мл відбувається інгібування реплікації коронавірусу HCoV 229E на 92 % за відсутності цитотоксичності препарату для культури клітин Vero E6. Збільшення концентрації препарату до 5,3 мкг/мл викликало 100 % інгібіцію реплікації вірусу HCoV 229E.

При досліджені антивірусної дії препарату Протефлазід® на коронавірус SARS-CoV-2 (Іспанія) у концентраціях від 160 мкг/мл до 0,0000819 мкг/мл, як позитивний інгібуючий контроль, для порівняння, використали препарат «Ремдесивір» у концентраціях від 2000 мкг/мл до 0,001024 мкг/мл. Сполуки наносили одноразово разом з вірусом на моношар культури клітин Vero E6, а у випадку визначеня цитотоксичності - без вірусу. Встановлено, що в

дослідженнях *in vitro* на культурі клітин Vero E6 препарат Протефлазід® в концентрації від 1,28 мкг/мл до 6,4 мкг/мл, без ознак цитотоксичної дії на культуру клітин, виявляє антивірусну активність проти коронавірусу людини SARS-CoV-2, аналогічну препарату «Ремдесивір».

Дослідження антивірусної дії препарату Протефлазід® на моделі коронавірусу SARS-CoV-2 були проведені і в Галвестонській національній лабораторії (GNL, штат Техас, США) в умовах біологічної безпеки 3 (BSL-3). Для оцінки ефективності досліджуваного препарату проти SARS-CoV-2 використовували модифіковану реакцію мікронейтралізації (МН) на двох моделях культур клітин: нирки африканської зеленої мавпи (Vero E6) та аденокарценоми альвеолярних базальних епітеліальних клітин людини, що стабільно експресують людський рецептор ACE-2 (A549/ACE2). При досліджені антивірусної дії препарату Протефлазід® на моделі SARS-CoV-2 в концентраціях від 10 до 1,25 мкг/мл, сполуку наносили одноразово разом з вірусом за 30 хв та 2 години до інфікування. Встановлено, що препарат Протефлазід® на 100% захищав клітини від вірусспецифічної цитопатичної дії в концентраціях 2,5-1,25 мкг/мл при обох указаних експозиціях, на моделі культур Vero E6 та в концентраціях 5-2,5 мкг/мл на моделі культури клітин (A549/ACE2) (внесений разом з вірусом, за 30 хв та 2 годин).

У Саарландському Університеті, кафедра фармацевтичної біотехнології (Німеччина) були проведені дослідження по визначенню інгібування активності протеази 3CL коронавірусу (SARS-CoV-2) препаратом Протефлазід®. Було показано, що препарат Протефлазід® пригнічує активність протеази 3CL коронавірусу SARS-CoV-2 на 45%.

Таким чином, проведені дослідження свідчать про високу специфічну противірусну активність препарату Протефлазід® на коронавіруси людей (сезонний HCoV 229E та пандемічний SARS-CoV- 2) і тварин (ТГС). Показано, що, мішенями дії SARS-CoV-2 є його РНК-полімераза та головна 3CL протеаза, що є обґрунтуванням для подальшого дослідження розробки схем специфічної профілактики та лікування COVID-19.

За додатковою інформацією звертатися до ст.н.с. лабораторії хіміотерапії вірусних інфекцій ДУ «Інститут епідеміолгії та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України» к.б.н. Старосили Д.Б.

Відповідальний за випуск: О. Мислицький
Підписано до друку 02..04..2021 Друк. арк. 0,13. Обл.-вид. арк. 0,08. Тир. 112 прим.
Замовлення № 80.Фотоофсетна лаб. Укрмедпатентінформ МОЗ України,
04071, м. Київ, вул. Межигірська, 43, каб. 46.