

In silico studies on therapeutic agents for COVID-19: Drug repurposing approach

***In silico* исследование терапевтических агентов для COVID-19: подход с перепрофилированием лекарств**

Bhumi Shah^{a,b,*}, Palmi Modi^{3,1}, Sneha R. Sagar^{3,1}

^a L. J. Institute of Pharmacy, S. G. Highway, Sanand Circle, Sarkhej, Ahmedabad, Gujarat 382210, India ^b Registered Research Scholar K B Institute of Pharmaceutical Education and Research, Gandhinagar, Gujarat 382023, India

Резюме

Синдромом тяжелого острого респираторного заболевания Коронавирус 2, более известный как COVID-19, стал настоящей проблемой для здоровья во всем мире. Первоначально он появился в Ухане, Китай, примерно в декабре 2019 года, а из-за своей высокой контагиозности распространился почти на 187 стран. Единственной обязательной тактикой прекращения передачи инфекции от человека к человеку остаются меры предосторожности до тех пор, пока не будет разработан эффективный метод лечения или вакцина. В условиях пандемии исследование и разработка новой молекулы - трудоемкий и утомительный процесс.

Перепрофилирование лекарств - это концепция выявления терапевтически эффективных молекул из библиотеки уже существующих молекул.

Ключевые слова: коронавирус COVID-19, SARS-CoV-2, MERS-CoV, докинг-исследования, противовирусные препараты.

Материалы и методы. В данной работе методом молекулярного докинга исследовали 61 молекулу противовирусных средств уже применяемых в клиниках или проходящих клиническую проверку. Исследование докинга проводилось с использованием компьютерного интерфейса Maestro (Schrödinger Suite, LLC, NY).

Основные выводы: из 61 исследованных молекул 37 молекул взаимодействовали более чем с 2 белковыми структурами COVID-19. Результаты докинга показывают, что среди описанных молекул ингибиторы протеазы ВИЧ и ингибиторы РНК-зависимой РНК-полимеразы проявили многообещающие функции связывания с ферментом COVID-19. Наряду с этим, метисазон, ингибитор синтеза белка, CGP42112A, агонист рецептора ангиотензина AT2, и АВТ450, ингибитор неструктурного белка 3-4A, также могут стать подходящим вариантом лечения COVID-19.

Значимость исследований: подход перепрофилирования лекарств дает представление о терапевтических средствах, которые могут быть полезны при лечении болезни, вызванной коронавирусом.

1. Введение

Новое заболевание, вызванное коронавирусом (COVID-19), стало пандемической угрозой для здоровья человечества. Это респираторное заболевание, вызывающее лихорадку, усталость, сухой кашель, мышечные боли, одышку и некоторые случаи пневмонии [1, 2]. В тяжелых случаях он вызывает ОРДС - синдром острого респираторного дистресса, то есть воспаление легких, настолько серьезное, что жидкость накапливается вокруг и внутри легких, что может вызвать септический шок^(e)

из-за резкого падения артериального давления, а органы тела испытывают недостаток кислорода. Инкубационный период этого коронавируса составляет примерно от 1 до 14 дней. Симптомы и их тяжесть варьируют у разных пациентов. Пожилые люди, дети младше 6 лет и пациенты, в анамнезе которых были астма, диабет, сердечные заболевания, более уязвимы к этому заболеванию из-за более слабой или ослабленной иммунной системы. Эпицентр вспышки находился в г. Ухань, провинции Хубэй в Китае [2,3].

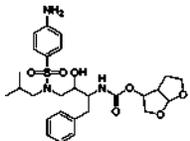
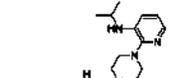
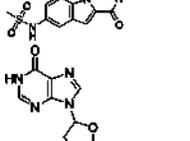
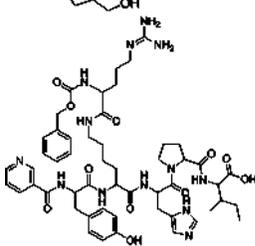
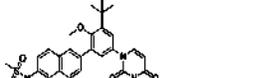
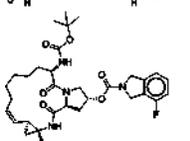
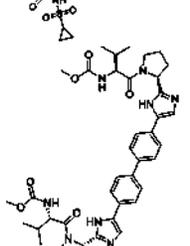
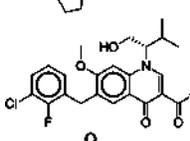
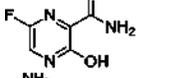
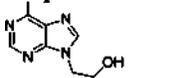
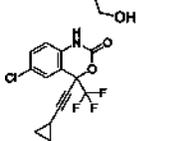
Эта вспышка была объявлена ВОЗ чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение, 30 января 2020 года из-за быстрой передачи с расчетным репродуктивным числом (R_0) 2,2. Заболевание распространилось почти на 187 стран по всему миру, где зарегистрировано более 266 073 подтвержденных случаев заболевания и более 11 184 подтвержденных случаев смерти, а по состоянию на 20 марта 2020 г. зарегистрированный коэффициент летальности (CFT) составил 4,4 [4]. Возбудителем COVID-19 является SARS-CoV-2 (коронавирус 2 тяжелого острого респираторного синдрома). Другими ранее известными подобными агентами являются вирус ближневосточного респираторного синдрома (MERS) (MERS-CoV) и SARS-CoV [5,6]. Они атакуют нижний отдел респираторной системы пациента, вторгаясь в легочные эпителиальные клетки, доставляя свой нуклеокапсид и захватывая клеточные механизмы для собственной репликации в цитоплазме. Семейство вирусов также поражает сердце, почки, печень, желудочно-кишечный тракт и центральную нервную систему. SARS-CoV-2 принадлежит к семейству Coronaviridae оболочечных одноцепочечных нитей рибонуклеиновых кислот (РНК).

Структура SARS-CoV-2 очень похожа на структуру SARS-CoV. Это семейство SARS содержит 14 связывающих остатков, из которых 8 аминокислот специфически консервативны для SARS-CoV-2. Важно отметить, что связывающие остатки этого семейства напрямую взаимодействуют с ACE-2 (ангиотензинпревращающим ферментом-2) [2,7].

Таблица 1

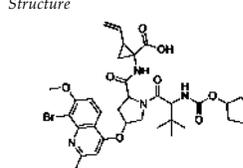
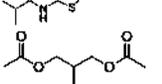
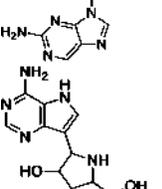
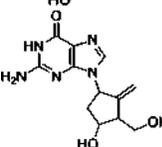
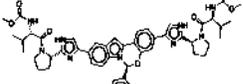
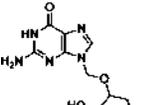
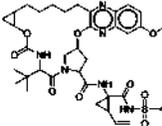
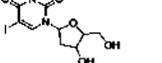
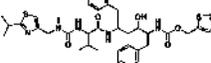
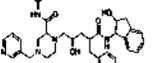
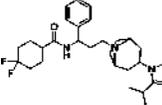
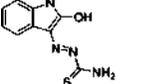
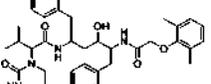
Список противовирусных препаратов, стыкующихся с COVID-19 [27].

(continued on next page)

13 Darunavir		HIV	Подавляет фермент протеазу ВИЧ
14 Delavirdine		HIV	Ненуклеозидный ингибитор обратной транскриптазы
15 Didanosine		HIV	Ингибитор нуклеозидной обратной транскриптазы
16 CGP42112A		Расширение сосудов и снижение артериального давления	Агонист рецептора ангиотензина AT2
17 Dasabuvir		Hepatitis C	Подавляет действие полимеразы NS5B
18 Danoprevir		Hepatitis C	Ингибитор протеазы NS3 / 4A
19 Daclatasvir		Hepatitis C	Ингибитор NS5A
20 Elvitegravir		HIV	Ингибитор интегразы
21 Favipiravir		Influenza	Ингибирует вирусную РНК-зависимую РНК-полимеразу (RdRp)
22 Dihydroxy propyladenine		Herpes Virus	Подавляет репликацию вирусов
23 Efavirenz		HIV	Подавляет ненуклеозидный фермент обратной транскриптазы

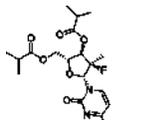
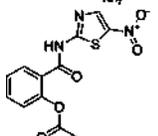
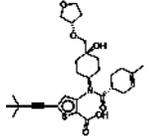
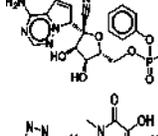
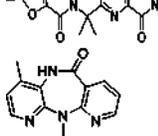
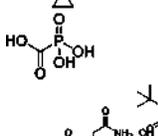
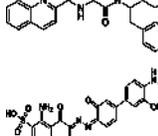
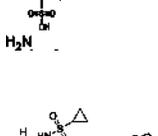
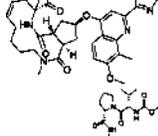
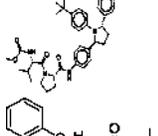
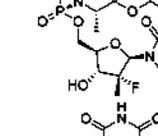
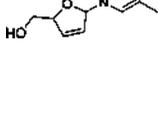
(continued on next page)

Table 1 (continued)

No	Name	Structure	Active against	Mechanism
24	Faldaprevir		Hepatitis C	Ингибитор протеазы
25	Famciclovir		Hepatitis B	Подавляет вирусную ДНК-полимеразу
26	Galidesivir		Ebola	Ингибитор РНК-полимеразы
27	Entecavir		Hepatitis B	Подавляет обратную транскрипцию
28	Elbasvir		Hepatitis C	Ингибитор NS5A
29	Ganciclovir		Cytomegalovirus	Подавляет вирусные ДНК-полимеразы
30	Grazoprevir		Hepatitis C	Блокирует NS3
31	Idoxuridine		Herpes Simplex virus	Нарушает репликацию вирусной ДНК
32	Ritonavir		HIV	Ингибитор протеазы ВИЧ
33	Indinavir		HIV	Ингибитор протеазы
34	Maraviroc		HIV	Отрицательный аллостерический модулятор CCR5 хемокинового рецептора 5 типа
35	Marboran/Methisazone		Small pox virus	Подавляет синтез мРНК и белка
36	Lopinavir		HIV	Ингибитор протеазы

(continued on next page)

Table 1 (continued)

No	Name	Structure	Active against	Mechanism
37	Mericitabine		Hepatitis C	Ингибитор RdRp
38	Nitrazoxanide		широкого спектра действия-	Противовирусный фермент пируват: ферредоксин оксидоредуктаза (PFOR)
39	Radalbuvir		Hepatitis C	Ингибитор NS5B
40	Remdesivir		Вирус Эбола,	респираторно-синцициальный вирус Вирусная РНК-полимераза
41	Raltegravir		HIV	Ингибитор интегразы ВИЧ-1
42	Nevirapine		HIV	Ненуклеозидный ингибитор обратной транскриптазы
43	Foscarnet		Herpes viruses, HIV, and hepatitis B ДНК virus	Подавляет сайт связывания пирофосфата на вирусной вирусные полимеразы
44	Sequinavir		HIV	Ингибитор протеазы
45	NSC306711 (Ferristatin II)		Flavivirus	1 Распад рецептора трансферрина-1
46	Amantadine		Influenza A	Антагонизм протонного канала А-М2 вируса гриппа
47	Simeprevir		Hepatitis C	Ингибитор протеазы вируса гепатита С
48	Ombitasvir		Hepatitis C	Ингибитор NS5A
49	Sofosbuvir		Hepatitis C	Ингибитор синтеза вирусной РНК путем ингибирования белка NS5B
50	Stavudine		HIV	Ингибирует фермент обратной транскриптазы ВИЧ

(continued on next page)

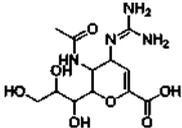
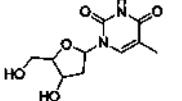
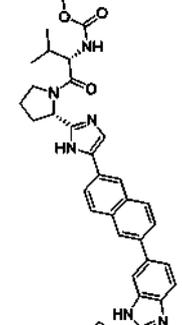
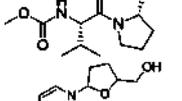
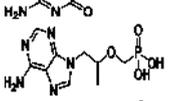
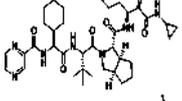
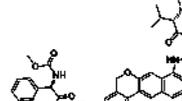
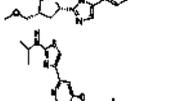
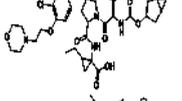
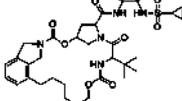
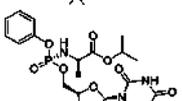
51 Zanamivir		Influenza viruses	Ингибитор нейраминидазы
52 Telbivudine		Hepatitis B	Ингибитор обратной транскриптазы
53 Ravidasvir		Hepatitis C	Ингибитор NS5A
54 Zalcitabine		HIV	Ингибитор нуклеозидной обратной транскриптазы
55 Tenofovir		HIV	
56 Telaprevir		Hepatitis C	Ингибитор протеазы NS3 / 4a
57 Velpasvir		Hepatitis C	
58 Vedroprevir		Hepatitis C	Ингибитор вируса гепатита C (HCV) NS3
59 Vaniprevir		Hepatitis C	Ингибитор протеазы NS3 / 4A
60 Uprifosbuvir		Hepatitis C	Ингибитор полимеразы NS5B
61 Oseltamivir		Influenza viruses A	Подавляет фермент нейраминидазу

Fig. 2. Docking interactions of Remdesivir with 5R82.

Структура SARS-CoV-2 очень похожа на структуру SARS-CoV. Это семейство SARS содержит 14 связывающих остатков, из которых 8 аминокислот специфически консервативны для SARS-CoV-2. Важно отметить, что связывающие остатки этого семейства напрямую взаимодействуют с ACE-2 (ангиотензинпревращающим ферментом-2) [2,7].

Поскольку быстрая передача коронавируса может иметь катастрофические последствия для всего мира, органы здравоохранения предложили определенные профилактические методы. Помещение инфицированных пациентов в карантин, энергичное тестирование и быстрая диагностика предполагаемых жертв, использование соответствующих масок, частое мытье рук помогут противодействовать и контролировать прогрессирование этого тяжелого заболевания [8]. В настоящее время нет лекарств или вакцин для борьбы с этим заболеванием. Более того, SARS-CoV-2 гораздо более заразен по сравнению с другими вирусами гриппа, поскольку один человек с предсимптомным или бессимптомным заболеванием способен заразить более 2 здоровых людей. Сейчас исследователи сосредотачиваются на стратегии репрофилирования существующих лекарств. Ученые, работающие в этой области, предложили использование некоторых известных противовирусных препаратов широкого спектра действия, таких как аналоги нуклеозидов и ингибиторы протеазы ВИЧ, в качестве многообещающей методологии лечения. РНК-зависимая РНК-полимераза (RdRp) и ангиотензин-превращающий фермент 2 (ACE2) также являются жизнедеятельными лекарственными мишенями для лечения COVID-19. Некоторые противовирусные препараты, такие как фавинапир, ритоавир, осельтамивир, лопинавир, ганцикловир и ремдесивир, проходят клинические испытания в отношении инфекции COVID-19. Доказано, что хлорохин, противомаларийный препарат, эффективен при лечении COVID-19 [2,9].

До тех пор, пока не будет доступна точная методика лечения COVID-19, использование производных ранее известных противовирусных препаратов является полезной стратегией. В этом исследовании проводилось изучение стыкования связывающего кармана COVID-19, чтобы найти потенциальную небольшую молекулу для борьбы с опасным для жизни коронавирусом заболеванием.

2. Материал и методы.

2.1. Платформа для молекулярного моделирования

Вычислительные исследования проводились с использованием программы Schrodinger (Maestro 11.4, Schrodinger 2017-4).

2.2. Подготовка лиганда

Всего с начала противовирусной химиотерапии в 1960 году было сообщено о 61 противовирусном препарате, а современные препараты, участвующие в клинических испытаниях, были отобраны для проведения молекулярных докинговых исследований для скрининга и выявления сильнодействующих противовирусных средств специально для COVID-19 [10,11]. Для извлечения трехмерных химических структур отобранных молекул использовалась База данных PubChem. Оптимизация 3D и геометрии с минимизацией энергии лигандов была выполнена с использованием алгоритмов, отслеживаемых в Schrödinger Maestro v 11.4 [12]. Модуль LigPrep (Schrodinger, LLC, NY, USA, 2009) использовался из панели Maestro builder для приготовления лиганда и создания трехмерной структуры лигандов путем добавления атомов водорода и удаления соли и ионизации при pH (7 ± 2) [13]. Минимизация энергии была выполнена с использованием силового поля OPLS_2005 с помощью стандартной энергетической функции молекулярной механики и RMSD, отсекающего 0,01 Å, для генерации изомера лиганда с низкой энергией [14].

2.3. Подготовка белковых структур и создание сетки

Для борьбы с текущей ситуацией COVID-19 в отношении структуры белка основной протеазы, то ранее были закристаллизованы белковые структуры COVID-19 для основной протеазы COVID-19 (идентификаторы банка данных PDB: 5R7Y, 5R7Z, 5R80, 5R81, 5R82, с разрешением $<2 \text{ \AA}$) были выбраны и получены из Банка данных белков (<http://www.rcsb.org>) с хорошим разрешением. Во время подготовки белковых связей были назначены и добавлены атомы водорода. Наконец, для минимизации структуры белка применялось силовое поле OPLS-2005 (Schrodinger, LLC, NY, USA, 2009).

Таблица 2
Результаты сравнительного док-исследования ферментов COVID-19.

5R7Z, 5R80, 5R81, 5R82, с разрешением $<2 \text{ \AA}$, R-Value Free $<0,30$, R-Value Work $<0,25$) были выбраны и получены из банка данных по белкам (<http://www.rcsb.org>) с хорошим разрешением [15-19].

Sr. No	препарат	Док-оценка				
		5R7Y	5R7Z	5R80	5R81	5R82
1.	NSC306711 (Ferristatin II)	-7.331	-	-	-9.147	-
2.	Lopinavir	-6.834	-6.968	-7.331	-8.44	-7.58
3.	Elbasvir	-	-	-	-9.027	-
4.	Asunaprevir	-	-7.725	-	-8.257	-6.597
5.	Simeprevir	-	-7.778	-	-7.784	-
6.	Remdesivir	-	-7.001	-7.674	-	-7.911
7.	CGP42112A	-7.108	-	-	-7.521	-7.243
8.	Indinavir	-	-7.058	-7.157	-6.834	-6.796
9.	Ritonavir	-7.621	-	-6.736	-6.764	-7.316
10.	ABT450	-	-6.330	-	-7.327	-6.617
11.	Marboran/ Methicazone	-	-7.542	-6.829	-6.928	-
12.	Galidesivir	-6.857	-	-	-	-7.239
13.	Saquinavir	-	-	-7.227	-7.632	-
14.	Baricitinib	-	-	-7.075	-7.43	-
15.	Raltegravir	-	-	-7.057	-7.257	-
16.	Delavirdine	-	-7.634	-	-	-
17.	Elvitegravir	-	-7.189	-	-	-
18.	Danoprevir	-	-6.956	-	-6.83	-
19.	Galidesivir	-	-6.737	-6.873	-6.601	-
20.	Entecavir	-6.715	-6.687	-	-	-
21.	Famciclovir	-	-6.521	-6.965	-	-
22.	Uprifosbuvir	-	-	-7.558	-	-6.805
23.	Oseltamivir	-	-	-6.891	-	-
24.	Azidothymidine	-	-	-6.873	-	-
25.	Sofosbuvir	-	-	-6.756	-	-7.037
26.	Tenofovir	-	-	-6.644	-6.739	-
27.	Mericitabine	-	-	-6.572	-	-
28.	Zanamivir	-	-	-6.548	-	-
29.	Didanosine	-	-	-6.526	-	-
30.	faldaprevir	-	-	-	-7.652	-6.703
31.	Grazoprevir	-	-	-	-7.237	-
32.	Vedroprevir	-	-	-	-7.172	-
33.	Ravidasvir	-	-	-	-7.031	-
34.	Amprenavir	-	-	-	-6.583	-6.744
35.	Efavirenz	-	-	-	-6.509	-6.657
36.	Telaprevir	-	-	-	-	-7.083
37.	Daclatasvir	-	-	-	-	-6.881

- Указывает, что значение оценки док-оценки выше – 6,5.
значение док оценки - -6,5 или ниже указано в таблице.

Fig. 2. Docking interactions of Remdesivir with 5R82.

Белковая структура была приготовлена с использованием белкового препарата в панели Maestro. Во время подготовки белковых связей были назначены порядки связи, а также добавлены атомы водорода. Молекулы воды в пределах 3 А удалялись из гетерогрупп [20]. Наконец, для минимизации структуры белка применялось силовое поле OPLS-2005 (Schrodinger, LLC, NY, USA, 2009) [21]. Дополнительные блоки сетки рецепторов были

созданы с использованием модуля Glide's Receptor Grid Generation на активном сайте (с радиусом 20 Å вокруг кристаллической структуры) сокристаллизованного лиганда с вычислительным кубическим ящиком 0 Å x 10 Å x 10 Å [22].

2.4. Молекулярный докинг

Молекулярный докинг - это основанный на структуре подход к разработке лекарств, который позволяет определить взаимодействия незаменимых аминокислот между выбранными белками и сгенерированными лигандами с низкоэнергетической конформацией. Энергетический минимум взаимодействия лигандов характеризуется оценочной score- функцией, которая используется для предсказания сродства связывания с рецептором.

Стандартная точность (SP), протокол стыковки применялся без размытия каких-либо ограничений. Гибкая стыковка с протоколом Glide Standard precision (SP) была выполнена для прогнозирования аффинности связывания и эффективности лиганда как ингибитора мишени COVID-19 [24]. Заключительная оценка энергопотребления была проведена с использованием док-баллов. Визуализация пристыкованных лигандов выполнялась через интерфейс Maestro (Schrödinger Suite, LLC, NY) [25]. Оценка док-счет $a \times vdW + b \times Coul + Hbond + Metal + Lipo + BuryP + RotB + Site$ где a и b - постоянные коэффициенты для vdW и $Coul$ соответственно. vdW = энергия Ван-дер-Ваальса; $Coul$ = кулоновская энергия; $Hbond$ = связывание водорода с рецептором; $Metal$ = Привязка металлом; $Lipo$ = постоянный термин для обозначения липофильности; $BuryP$ = расчет захоронения полярной группы; $RotB$ = расчет вращающейся связи; $Сайт$ = полярное взаимодействие активного центра [26].

3. Результаты и обсуждение

3.1. Докинг-исследования

При поиске потенциального кандидата для лечения COVID-19, были проведены исследования молекулярного докинга с 61 противовирусным агентом. При поиске потенциального кандидата для лечения COVID-19, были проведены исследования молекулярного докинга с 61 противовирусным агентом на связывание с карманом фермента COVID-19 (PDB ID: 5R7Y, 5R7Z, 5R80, 5R81 и 5R82). Некоторые из этих препаратов продаются, а некоторые находятся в стадии клинической разработки [27]. Эти молекулы активны против различных вирусных заболеваний, а именно: гепатит, ВИЧ, грипп, герпес, цитомегаловирус, оспа и вирус Эбола. Механизм действия этих соединений также различается, например, ингибирование ДНК-полимеразы, ингибирование протеазы, ингибирование обратной транскриптазы и т. д. Список лекарств, протестированных для исследования докинга, представлен в таблице 1.

Все эти 61 молекула были состыкованы с целевым ферментом COVID-19 и ранжированы на основе их док-баллов. Соединения, имеющие 6,5 док-балла или меньше, считаются лучшим средством для подавления COVID-19. Сравнительный анализ можно провести, обратившись к таблице 2. В этой таблице представлен список активных молекул, полученный после исследований докинга. Эти активные молекулы имеют значение док-балла -6,5 или ниже. Всего 37 соединений продемонстрировали связывающие взаимодействия с различными структурами COVID-19 PDB ID 5R7Y, 5R7Z, 5R80, 5R81 и 5R82.

Было обнаружено, что из этих 37 молекул лопинавир, асунапревир, ремдесивир, CGP42112A, индинавир, ритонавир, АВТ450, марборан (метизазон) и галидесивир взаимодействуют с более чем 2 белковыми структурами COVID-19. Важно отметить, что

среди всех компонентов препарат против ВИЧ

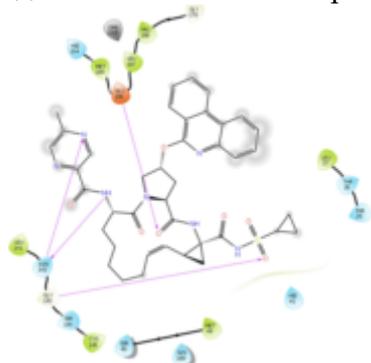


Рис.1 Докинг-взаимодействие Лопидавира с 5R81.

Лопинавир связывается со всеми белковыми структурами COVID-19 с док-оценкой менее -6,5. Более того, Индинавир и Ритонавир также показали многообещающие результаты в 4 из 5 белковых структур COVID-19. Интересно, что все ингибиторы протеазы ВИЧ показали отличные результаты в исследованиях докинга *in silico*. Некоторые ингибиторы протеазы ВИЧ уже протестированы на заражение COVID-19. Лопинавир является более сильным ингибитором протеазы ВИЧ, чем ритонавир, но он показал низкую биодоступность *in vivo* (Рис.1). Поэтому комбинация этих двух препаратов тестируется против MERS-CoV и SARS-CoV. Было обнаружено, что эти препараты эффективны *in silico*, *in vitro* и на животных моделях, но не продемонстрировали эффективности в клинических исследованиях на пациентах с COVID-19 [28-30].

Аналог аденозина, известный как Ремдезивир, является предварительной формой Ремдезивир-трифосфата. Механизм действия этого препарата заключается в подавлении РНК-зависимой РНК-полимеразы (RdRps). Он может прекращать синтез РНК, заменяя АТФ в процессе полимеризации и, таким образом, известен как лекарство -терминатор цепи (Рис.2). Важно отметить, некоторые исследования показали, что АТФ служит основным субстратом для NSP12 SARS-CoV RdRp и SARS-CoV-2 RdRp имеет 97% сходство последовательностей с SARS.

Таким образом, Ремдезивир может ингибировать штаммы коронавируса человека SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2, которые обладают способностью реплицироваться в эпителиальных клетках человека [30–32].

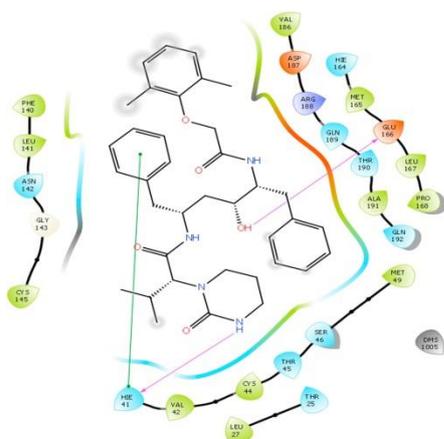


Рис.2. Докинг- взаимодействие Ремдезивира с 5R82.

Помимо этой протеазы и ингибиторов RdRP, исследователи могут сосредоточиться на других препаратах, таких как метизазон, АВТ450 и CGP42112А. Метизазон - это противовирусный препарат, который действует путем ингибирования мРНК и синтеза белка в вирусах ПОХ [33], тогда как CGP42112А является агонистом рецептора ангиотензина АТ2 (рецептор ангиотензина 2), который может облегчить вирусное повреждение легких [2]. АВТ450, также известный как Паритапревир, является ингибитором сериновой протеазы неструктурного (NS) белка 3-4А для лечения гепатита С [34].

Докинговые взаимодействия некоторых активных молекул, основанные на исследованиях докинга, показаны на рис. 1–4. Ингибитор протеазы лопинавир взаимодействует со всеми белковыми структурами COVID-19. Связывание лопинавира с PDB ID 5R81 представлено на рис. 1. Гидроксильная группа лопинавира взаимодействует, образуя Н-связь с аминокислотой Glu166. Кроме того, наблюдается взаимодействие Н-связи между аминокислотой His41 и группой «-NH» тетрагидропиримидинового кольцевого каркаса. Стекирующее взаимодействие pi-pi также видно между аминокислотой His41 и фенильным кольцом. Хотя он может прочно связываться с ферментом, его эффективность не доказана в клинических исследованиях. Тогда как в случае Ремдесивира взаимодействия с COVID-19 такие же, как у лопинавира, но для ремдесивира наблюдается одна дополнительная сильная Н-связь. Гидроксильная группа Ремдесивира может образовывать взаимодействие Н-связи с аминокислотой Glu166. Вместе с тем, другие гидроксильные группы прочно связываются с аминокислотой Asn142. «N» цианогруппы также взаимодействует с Asn142, образуя водородную связь. Фенильная группа Ремдесивира образует пи-пи-стекинг-взаимодействие с аминокислотой His41. Основываясь на наших результатах, Ремдесивир содержит 5-циано-3,4-дигидрокситетрагидрофурановый кольцевой каркас, который отвечает за повышенную аффинность связывания с ферментами COVID-19 и может быть причиной его хорошей клинической активности против SARS CoV2.

Поскольку метизазон также показал более высокий показатель связывания с ферментом COVID-19, изображение связывания метизазона с 5R80 приведено на рисунке 3.

Метизазон проявляет те же связывающие взаимодействия, что и лопинавир. Он взаимодействует со структурой белка COVID-19 5R80. Гидроксильная группа метизазона образует Н-связывающие взаимодействия с аминокислотой Glu166. Функциональная группа «-NH2» метизазона отвечает за образование Н-связи с аминокислотой Thr190. Кроме того, индольная часть метизазона отвечает за взаимодействие пи-пи-стекинга с аминокислотами His41.

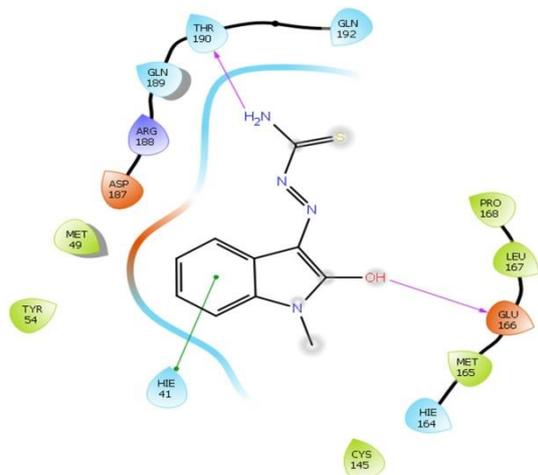


Рис.3. Докинг- взаимодействие Метизазона с 5R80

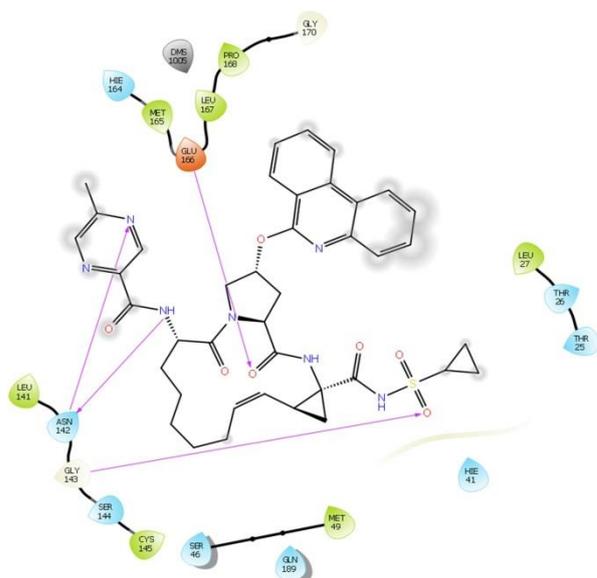


Рис. 4. Докинг- взаимодействие АВТ450 (Паритапревира) с 5R82.

Диаграмма стыковочного взаимодействия одного из неструктурных (NS) протеинов 3-4А, ингибитора сериновой протеазы АВТ450, показана на рис. 4 с PDB ID 5R82. АВТ450 демонстрирует множество Н-связывающих взаимодействий с ферментом, таким же, как и у Ремдесивира. В этом случае «NH» амидной связи и «N» пиразинового кольцевого каркаса демонстрируют Н-связывающие взаимодействия с аминокислотой Asn142. Кроме того, Glu166 образует водородную связь с «O» амидной связи. «O» сульфониальной группы проявляет взаимодействие Н-связи с Gly143. Эти взаимодействия могут повысить клиническую эффективность этого соединения против SARS CoV2.

Основываясь на этих результатах докинга установлено, что соединения, отличающиеся от ингибиторов протеазы, могут быть полезными в качестве терапевтических средств при коронавирусной инфекции.

4. Вывод

Для борьбы с опасной для жизни коронавирусной инфекцией, проводится ряд исследований с использованием противовирусных препаратов. Как одно из потенциальных средств лечения COVID-19 были предложены ингибиторы протеазы ВИЧ. В данной работе проводились исследования докинга на 61 молекуле препаратов известной противовирусной активности. В этом исследовании также многие ингибиторы протеазы ВИЧ показали замечательные связывающие взаимодействия с ферментами COVID-19. Так, оказались полезными 4 ингибитора протеазы - лопинавир, асунапревир, индинавир и ритонавир.. Ремдесивир, действующий на вирусную РНК-полимеразу, проявляет лучшую активность *in silico*. Наряду с этим, ингибиторами COVID-19 проявились некоторые новые молекулы, такие как метизазон, АВТ450 (паритапревир) и CGP42112A. Метизазон подавляет синтез белка в вирусе POX и взаимодействует с ферментами 5R7Z, 5R80 и 5R81 со значениями док-оценки -7,542, -6,829 и -6,928 соответственно. Согласно этому исследованию, рецептор ангиотензина AT2 станет будущей лекарственной мишенью для COVID-19. Один из агонистов рецепторов ангиотензина AT2 CGP42112A демонстрирует потенциальную характеристику связывания с COVID-19. Значения док--оценки CGP42112A с PDB ID 7R7Y, 5R81 и 5R82 составляют -7,108, -7,521 и -7,243 соответственно. Кроме того, известное лекарственное средство для лечения гепатита С, паритапревир (АВТ450), выступает весьма пригодным кандидатом для лечения коронавирусной болезни. Согласно нашему исследованию, наряду с ингибиторами протеазы, исследователи также могут сосредоточиться на неиспользуемых препаратах: метизазоне, паритапревире и CGP42112A. Эти препараты могут обеспечить лучшее лекарственное лечение в будущем.

Сокращения:

SARS-CoV-2 Тяжелый острый респираторный синдром коронавирус 2

Ближневосточный респираторный синдром MERS

ACE-2 Ангиотензинпревращающий фермент-2
 ВИЧ Вирус иммунодефицита человека
 NS3 / 4A неструктурный белок 3-4A
 RdRp РНК-зависимая РНК-полимераза

Список использованной литературы

- [1] R. Hussin, N.B. Siddappa, The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak, *J. Autoimmun.* (2020) 102433, <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2020.102433>.
- [2] L. Cynthia, Z. Qionqiong, L. Yingzhu, et al., Research and Development on therapeutic agents and vaccines for COVID-19 and related human coronavirus diseases, *ACS Cent. Sci.* (2020), <https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c00272>.
- [3] A. Bogoch, A. Watts, C. Thomas-Bachli, et al., Pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: potential for international spread via commercial air travel, *J. Trav. Med.* (2020), <https://doi.org/10.1093/jtm/taaa008>.
- [4] [Organization WH, Coronavirus Disease \(COVID-2019\) Situation Reports-61, 21 March 2020, World Health Organization, 2020.](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports)
- [5] [Abdo A. Elfiky, Anti-HCV, nucleotide inhibitors, repurposing against COVID-19, Life Sci. 248 \(2020\) 117477.](https://doi.org/10.1016/j.life.2020.117477)
- [6] D. Wrapp, W. NianShuang, S.C. Kizzmekia, et al., Cryo-EM structure of the 2019- nCoV spike in the prefusion conformation, *Sci* (2020), <https://doi.org/10.1126/science.abb2507>.
- [7] M.B. Abdul, K. Areeba, A. Usman, S. Hira, Evidence of the COVID-19 virus targeting the CNS: tissue distribution, host-virus interaction, and proposed neurotropic mechanisms, *ACS Chem. Neurosci.* (2020), <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.0c00122>.
- [8] [S. Catrin, A.Z. Sohrabi, O. Niamh, et al., World Health Organization declares global emergency: a review of the 2019 novel coronavirus \(COVID-19\), Int. J. Surg. 76 \(2020\) 71-76.](https://doi.org/10.1016/j.ijisurg.2020.07.001)
- [9] A.D. Christian, R. Jean-Marc, C. Philippe, et al., New insights on the antiviral effects of chloroquine against coronavirus: what to expect for COVID-19? *Int. J. Antimicrob. Agents* (2020), <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105938>.
- [10] [E.D. Clercq, G. Li, Approved antiviral drugs over the past 50 years, Clin. Microbiol. Rev. 29 \(3\) \(2016\) 695-747.](https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.03.001)
- [11] [M.I. David, Clinical trials of antiviral agents, J. Antimicrob. Chemother. 29 \(2\) \(1992\) 97-103.](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.1992.02.001)
- [12] [V. Subramanian, M. Palani, P. Srinivasan, et al., Novel ligand-based docking; molecular dynamic simulations; and absorption, distribution, metabolism, and excretion approach to analyzing potential acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease, J Pharm Anal 8 \(2018\) 413-420.](https://doi.org/10.1016/j.jpharm.2018.03.001)
- [13] [P. Modi, S. Patel, M. Chhabria, Structure-based design, synthesis and biological evaluation of a newer series of pyrazolo \[1, 5-a\] pyrimidine analogues as potential anti-tubercular agents, Bioorg. Chem. 87 \(2019\) 240-251.](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.04.001)
- [14] [H. Pradeep, G.K. Rajanikant, A rational approach to selective pharmacophore designing: an innovative strategy for specific recognition of Gsk3b, Mol. Divers. 16 \(3\) \(2012\) 553-562.](https://doi.org/10.1016/j.moldiv.2012.03.001)
- [15] D. Fearon, A.J. Powell, A. Douangamath, et al., PanDDA Analysis Group Deposition - Crystal Structure of COVID-19 Main Protease in Complex with Z45617795, Protein data Bank, 2020, <https://doi.org/10.2210/pdb5r7y/pdb>.
 - Crystal Structure of COVID-19 Main Protease in Complex with Z1220452176, Protein data Bank, 2020, <https://doi.org/10.2210/pdb5r7z/pdb>.
- [16] D. Fearon, A.J. Powell, A. Douangamath, et al., PanDDA Analysis Group Deposition

- Crystal Structure of COVID-19 Main Protease in Complex with Z18197050, Protein data Bank, 2020, <https://doi.org/10.2210/pdb5r80/pdb>.
- [17] D. Fearon, A.J. Powell, A. Douangamath, et al., PanDDA Analysis Group Deposition - Crystal Structure of COVID-19 Main Protease in Complex with Z1367324110, Protein Data Bank, (2020), <https://doi.org/10.2210/pdb5r81/pdb>.
- [18] D. Fearon, A.J. Powell, A. Douangamath, et al., PanDDA Analysis Group Deposition - Crystal Structure of COVID-19 Main Protease in Complex with Z219104216, Protein data Bank, 2020, <https://doi.org/10.2210/pdb5r82/pdb>.
- [19] S. Sinha, S. Patel, A. Mohd, et al., Structure-based identification of novel sirtuin inhibitors against triple negative breast cancer: an in silico and in vitro study, *Int. J. Biol. Macromol.* 140 (2019) 454-468.
- [20] T.A. Halgren, R.B. Murphy, R.A. Friesner, et al., Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring 2. Enrichment factors in database screening, *J. Med. Chem.* 47 (2004) 1750-1759.
- [21] H. Jasuja, N. Chadha, M. Kaur, O. Silakari, Dual inhibitors of Janus kinase 2 and 3 (JAK2/3): designing by pharmacophore- and docking-based virtual screening approach, *Mol. Divers.* 18 (2) (2014) 253-267.
- [22] A. Carlesso, C. Chintha, A.M. Gorman, et al., Merits and pitfalls of conventional and covalent docking in identifying new hydroxyl aryl aldehyde like compounds as human IRE1 inhibitors, *Sci. Rep.* 9 (2019) 3407.
- [23] H. Hongbin, Z. Guigui, Z. Yuquan, et al., Reverse screening methods to search for the protein targets of chemopreventive compounds, *Front. Chem.* 6 (2018) 138.
- [24] Maestro 11.4, Schrodinger, LLC, New York, NY, 2017 (4).
- [25] S. Bhuvaneshwari, K. Sankaranarayanan, Identification of potential CRAC channel inhibitors: pharmacophore mapping, 3D-QSAR modelling, and molecular docking approach, *SAR QSAR Environ. Res.* 30 (2) (2019) 81-108.
- [26] D. Fearon, A.J. Powell, A. Douangamath, et al., PanDDA Analysis Group Deposition
- [27] B. Marrugo, O. Loyd, et al., History and progress of antiviral drugs: from acyclovir to direct-acting antiviral agents (DAAs) for Hepatitis C, *Medicina universitaria* 17 (68) (2015) 165-174.
- [28] C. Bin, Y. Wang, D. Wen, Wen Liu, et al., A trial of lopinavir-ritonavir in adults hospitalized with severe Covid-19, *N. Engl. J. Med.* (2020), <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001282>.
- [29] K. Choy, A. Wong, P. Kaewpreedee, et al., Remdesivir, lopinavir, emetine, and homoharringtonine inhibit SARS-CoV-2 replication in vitro, *Antivir. Res.* (2020) 104786.
- [30] T. Smith, J. Bushek, T. Prosser, COVID-19 DrugTherapy. Clinical DrugInformation, Clinical Solutions.
- [31] A.A. Elfiky, Ribavirin, Remdesivir, Sofosbuvir, Galidesivir, and Tenofovir against SARS-CoV-2 RNA dependent RNA polymerase (RdRp): a molecular docking study, *Life Sci.* (2020) 117592.
- [32] L. Zhang, R. Zhou, Binding Mechanism of Remdesivir to SARS-CoV-2 RNA Dependent RNA Polymerase. Preprints. [10.20944/preprints202003.0267.v1](https://doi.org/10.20944/preprints202003.0267.v1).
- [33] P. Yuriy V, E. Negrebetskaya, A. Chernomaz, et al., Aromatic thiosemicarbazones, their antiviral action and interferon. 1. The decreasing of adenovirus type 1 resistance against interferon by methisazone in vitro, *Биополимеры и клетка* (1996).
- [34] G. Ivan, F. Borgia, A. Riccardo Buonomo, et al., ABT-450: a novel protease inhibitor for the treatment of hepatitis C virus infection, *Curr. Med. hem.* 21 (28) (2014) 3261-3270.