

McHedlishvili, WE. McIntire, NA. Guagliardo, A. Erisir, CA. Coburn, VP. Santarelli, DA. Bayliss, PQ. Barrett. // Hypertension. – 2017. – Vol.70, №2. – P.679–683.

УДК 615.281.8

**Мушкаров Д.Р., Ленков Д.Е., Бахтин В.М., Изможерова Н.В.  
МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ УМИФЕНОВИРА**

Кафедра фармакологии и клинической фармакологии  
Уральский государственный медицинский университет  
Екатеринбург, Российская Федерация

**Mushkarov D.R., Lenkov D.E., Bakhtin V.M., Izmozherova N.V.  
UMIFENOVIR MOLECULAR MECHANISM OF ACTION**

Chair of Pharmacology and Clinical Pharmacology  
Ural State Medical University  
Yekaterinburg, the Russian Federation

E-mail: lenckov.danila@yandex.ru

**Аннотация.** В статье подробно рассмотрены молекулярные механизмы действия отечественного противовирусного препарата Умифеновир через действие на гемагглютинин вирусов, клатрин-опосредованный эндоцитоз и стадии репродукции вирусов в клетке.

**Annotation.** The article describes in detail the molecular mechanisms of action for locally produced antiviral drug Umifenovir through its effect on viruses hemagglutinin, clathrin-dependent endocytosis and the stages of virus reproduction in the cell.

**Ключевые слова:** гемагглютинин, хост-таргетинг агент, клатрин-опосредованный эндоцитоз, клатрин-покрытый пузырек, динамин-2, репликация.

**Key words:** hemagglutinin, host-targeting agent, clathrin-dependent endocytosis, clathrin-coated vesicle, dynamin-2, replication

**Введение**

Умифеновир – противовирусный синтетический препарат широкого спектра действия, проявляющий активность против ряда оболочечных и безоболочечных вирусов, первоначально разработанный для борьбы с вирусами гриппа [9].

В настоящее время всемирно признанными препаратами для лечения гриппа являются ингибиторы вирусной нейраминидазы, а также блокаторы протонных М<sub>2</sub> каналов. Ряд штаммов вируса гриппа приобрели устойчивость к этим лекарственным препаратам из-за высокой его изменчивости. Разработка и внедрение новых препаратов является актуальной, поэтому сейчас важно

обратить внимание на отечественный противовирусный препарат Умифеновир [5, 8].

**Цель исследования** – изучить молекулярные механизмы действия умифеновира.

#### **Молекулярные механизмы противовирусного действия умифеновира**

Широкий спектр противовирусной активности умифеновира предполагает, что молекула влияет на общие критические стадии взаимодействия вируса с клеткой. Умифеновир может оказывать двойную противовирусную активность: как противовирусное средство прямого действия (DAA – direct-acting agent) и в качестве хост-таргетинг агента (НТА – host-targeting agent), нацеленного на хозяина и вмешивающегося в клеточные факторы, участвующие в жизненном цикле вируса. Кроме этого, умифеновир влияет на одну или несколько стадий жизненного цикла вируса, таких как прикрепление, интернализация и репликация. В следующих разделах будут рассмотрены механизмы, с помощью которых умифеновир может оказывать такую двойную противовирусную активность [4].

#### **Ингибирование умифеновиром гемагглютинина**

Гемагглютинин (ГА) – это основной гликопротеин на поверхности вируса гриппа, который участвует в прикреплении вируса к клеткам-хозяевам и последующем проникновении через слияние вирусной мембраны с мембраной клетки-хозяина [5].

Молекула ГА синтезируется как единая полипептидная цепь, которая в дальнейшем подвергается протеолитическому расщеплению на 2 субъединицы, HA1 и HA2. В вирусной частице ГА представляет собой тример, состоящий из трёх мономеров, соединенных нековалентными связями. Молекулу ГА можно разделить на «стебель», основание которого находится на липидном слое мембраны, и на глобулу, обращенную наружу. Глобула образована только полипептидной цепью HA1, а «стебель» – цепями HA1 и HA2. Таким образом, структурно ГА состоит из головных (HA1) и стволовых (HA2/HA1) доменов, причем цепи HA1 и HA2 связаны одной дисульфидной связью [4,5]

ГА вирусов, циркулирующих в настоящее время в человеческой популяции, относятся к подтипам H1 и H3. Согласно исследованию, проведенному сотрудниками «ИИ Скриппса» в 2016 году, умифеновир проявляет большее сродство к гемагглютинином H3, H4, H7, H10, H14 и H15 и, соответственно, меньшее сродство к гемагглютинином H1, H2, H5, H6, H8, H9, H11-13 и H16-18 [5].

Слияние вируса гриппа происходит после связывания с сиаловыми рецепторами на поверхности клетки-хозяина. Вирус путем эндоцитоза проникает в эндосому и, будучи заключенным в эндосоме, проходит в цитоплазму клетки-хозяина. Затем в эндосоме происходит резкое падение pH, что приводит к кислотно-индуцированным конформационным изменениям и необратимой реструктуризации ГА. В результате этих изменений из ГА образуется «пептид слияния». Взаимодействие «пептида слияния» с

эндосомальной мембраной инициирует каскад событий, который позволяет вирусным частицам рибонуклеопротеина высвободиться в цитоплазму для репликации вируса [4, 5].

Одной из точек приложения действия умифеновира является нацеливание на ствол ГА – домены НА2/НА1, участвующие в слиянии вирусной мембраны с эндосомой. Стволовая часть ГА является высококонсервативным белком, мало меняющимся или вообще не меняющимся от вида к виду.

Сайт связывания умифеновира расположен на границе раздела между соседними протомерами тримера ГА и состоит из  $\alpha$ -спиралей А, С, а также С' из соседнего протомера НА2 и коротких С-концевых и N-концевых петель [5].

Данные сайты связывания умифеновира представляют собой гидрофобную полость в стволе мономеров ГА. Умифеновир связывается с этой гидрофобной полостью на границе раздела двух протомеров внутри тримера ГА. Поскольку умифеновир располагается между двумя соседними протомерами в тримере, то он образует новые межпротомерные связи. В результате этого умифеновир соединяет два соседних протомера вместе, стабилизируя тример и делая его более устойчивым [4].

Таким образом, низкий рН, создаваемый в эндосоме, не приводит к рН-опосредованным конформационным изменениям ГА вируса гриппа, вследствие чего не образуется «пептид слияния» и переход ГА, индуцированный низким рН, в его фузиогенное состояние (стадию слияния).

#### **Связывание умифеновира с белками и липидами**

Умифеновир – это гидрофобная молекула на основе индола, чувствительная к образованию супрамолекулярных структур посредством ароматических стэкинговых взаимодействий с определёнными аминокислотными остатками белков (фенилаланин, тирозин, триптофан) [4].

Умифеновир проявляет межфазные свойства и интеркалируется в неглубоком слое над глицериновым остовом фосфолипидов мембраны. Это взаимодействие с фосфолипидами нарушает текучесть мембраны, тем самым делая липидный бислой менее склонным к слиянию. Таким образом, взаимодействие с вирусной липидной оболочкой может лежать в основе прямого вирулицидного (DAA) эффекта умифеновира [2,6].

Кроме этого, умифеновир локально нарушает прикрепление вируса к клеточной плазматической мембране, стабилизируя мембрану клетки-хозяина и/или маскируя ключевые остатки в вирусном белке, участвующем в распознавании рецепторов. За счёт этого умифеновир проявляет свойства противовирусного агента с прямым и опосредованным действием одновременно. Сродство умифеновира к мембране лучше всего выражены в кислом рН, что является оптимальной средой для синтеза ряда оболочечных вирусов, вирусов гриппа и гепатита, в частности гепатита В [2,4,7].

#### **Влияние на клатрин-опосредованный эндоцитоз**

Клатрин-опосредованный эндоцитоз – это внедрение фрагментов цитоплазматической мембраны вместе со всем содержимым в клетку в виде

пузырьков, покрытых снаружи решеткой из полимеризованного клатрина. В частности, по клатрин-зависимому механизму осуществляется инфицирование клеток вирусами [3].

Клатрин-покрытый пузырек – трехслойная структура, внешний слой которой образован клатриновой решеткой, внутренний – это липидная мембрана с белковыми включениями, а между ними находятся адаптерные белки. Эндоцитоз начинается с образования на внутренней поверхности цитоплазматической мембраны «ямки», содержащих клатрин. Образованные из «ямки» клатрин-покрытые пузырьки, содержащие внутри себя вирусы, внедряются внутрь клетки, но остаются связанными с её внутренней мембраной тонким перешейком. Для того, чтобы пузырек отделился от мембраны, в клетке действует ГТФ-аза динамин-2, которая разрывает перемычку, способствует расслоению мембраны и окончательному проникновению пузырька в цитоплазму клетки. Действие на динамин-2 – это точка приложения умифеновира [3].

Умифеновир либо блокирует привлечение динамина-2 к месту эндоцитоза, либо предотвращает вызванный динамином-2 разрыв мембраны. В результате этого клатриновые пузырьки с вирусами остаются прикрепленными к внутренней мембране клетки, следовательно, происходит внутриклеточное накопление покрытых клатрином структур, в которых задерживаются вирусные частицы [3,4].

Таким образом, умифеновир препятствует эндосомному переносу вирусов: вирионы попадают в ловушку клатрин-положительных структур и не могут должным образом доставляться в эндосомальные компартменты, тем самым предотвращается инфицирование.

### **Подавление умифеновиром вирусной репликации**

Многие вирусы, например, вирус гепатита С, модулируя метаболизм липидов в клетке хозяина, создают вокруг вирионов богатую липидами мембранную сеть, благоприятную для репликации вирусов [10].

Мембранная сеть – это эндоплазматический ретикулум, синтезированный в клетке хозяина при помощи вирусных белков. Сеть создается и поддерживается посредством взаимодействия между вирусными и клеточными белками и липидами. Умифеновир может нарушать репликацию вируса через его способность связывать белки и липиды: умифеновир встраивается в липидную мембрану и препятствует образованию и поддержанию мембранной сети. В результате этого происходит постепенное снижение экспрессии как вирусного белка, так и РНК [1,4].

Репликация многих вирусов проходит в цитоплазме клетки хозяина и связана с изменением функций цитоплазматической мембраны клетки и ее органелл. Репликационные комплексы прикрепляются к мембране модифицированных эндосом и лизосом с образованием органелл, необходимых для репликации вирусов – цитопатических вакуолей [1,10].

Данные цитопатические вакуоли состоят из везикул диаметром 0,6 – 2,0 мкм и продуцируют вирусную РНК вплоть до гибели клеток. Таким образом, умифеновир препятствует образованию и стабильности цитопатических вакуолей, нарушая репликацию вирусов [10].

Источников информации, указывающих на способность умифеновира подавлять сборку дочерних вирионов, не было найдено.

**Выводы:**

1. Умифеновир оказывает двойное противовирусное действие: как средство прямого действия и как средство опосредованного действия на вирусы.

2. Прямое противовирусное действие умифеновира заключается в воздействии на вирусную липидную оболочку: умифеновир взаимодействует с фосфолипидами мембраны вирусов, снижает текучесть мембраны и стабилизирует ее. В результате этого нарушается прикрепление вирусов к клеткам хозяина.

3. Опосредованное противовирусное действие умифеновира заключается в воздействии на цитоплазматическую мембрану клеток организма-хозяина: умифеновир взаимодействует с фосфолипидами цитоплазматической мембраны, стабилизирует мембрану, вследствие чего локально нарушает прикрепление вируса к клеточной плазматической мембране.

4. Влияние на вирусный цикл осуществляется через ингибирование ГА вирусов, воздействия на клатрин-опосредованный эндоцитоз и подавление вирусной репликации.

**Список литературы:**

1. Киселев О.И., Малеев В.В., Деева Э.Г., Ленева И.А., Селькова Е.П., Осипова Е.А., Обухов А.А., Надоров С.А., Куликова Е.В. Клиническая эффективность препарата Арбидол (умифеновир) в терапии гриппа у взрослых: промежуточные результаты многоцентрового двойного слепого рандомизированного плацебоконтролируемого исследования АРБИТР. Терапевтический Архив. - 2015. - № 1. - С. 88-96.

2. Nasser ZH. Inhibition of influenzahemagglutinin with the antiviral inhibitor Arbidol using a proteomics based approach and mass spectrometry: an update : [англ.] / Swaminathan K, Müller P, Downard KM // Antiviral Research. –2014. - № 100. – P. 399–406.

3. Brancato V. Design of inhibitors of influenza virus membrane fusion: Synthesis, structure-activity relationship and in vitro antiviral activity of a novel indoleseries: an update : [англ.] //Antiviral Research. – 2013.- № 99. –P. 125–135.

4. Blaising J. Arbidol inhibits viral entry by interfering with clathrin-dependent trafficking: an update : [англ.] / Levy PL, Polyak SJ, Stanifer M, Boulant S, Pecheur EI // Antiviral Research. – 2013. - № 100. – P. 215-9.

5. Blaising J. Arbidol as a broad-spectrum antiviral: an update : [англ.] / Polyak SJ, Pecheur EI // Antiviral Research. – 2014. - № 107. – P. 84–92.

6. Kadama R.U. Structural basis of influenza virus fusion inhibition by the antiviral drug Arbidol: an update: [англ.] / Wilson IA // Proc Natl Acad Sci USA. – 2017. - № 114. – P. 206–214.

7. Teissier E. Mechanism of inhibition of enveloped virus membrane fusion by the antiviral drug Arbidol: an update: [англ.] / Zandomenighi G, Loquet A, Lavillette D, Lavergne JP, Montserret R, Cosset FL, Bockmann A, Meier BH, Penin F, Pecheur EI // PLoS One. – 2011. - № 241. – P. 112–138.

8. Pêcheur EI. The synthetic antiviral drug arbidol inhibits globally prevalent pathogenic viruses: an update: [англ.] / Borisevich V, Halfmann P, Morrey JD, Smee DF, Prichard M, Mire CE, Kawaoka Y, Geisbert TW, Polyak SJ // J Virol. – 2016. - № 90. – P. 3086–3092.

9. Popov AF. Combined therapy of influenza with antiviral drugs with a different mechanism of action in comparison with monotherapy: an update: [англ.] / M. Y. Shchelkanov, K.A. Dmitrenko, A.I. Simakova // Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. – 2018. - № 10. – P. 357-360.

10. Boriskin YS. Arbidol: a broad-spectrum antiviral compound that blocks viral fusion: an update: [англ.] / Leneva IA, Pêcheur EI, Polyak SJ // Curr Med Chem. – 2008. - № 15. – P. 997–1005.

УДК: 330.3; 338.2 + 615.1; 615.27

**Напорова В.Е., Плотников Р.С., Каримова А.А.  
ПРОБЛЕМЫ В РАЗРАБОТКЕ И ВНЕДРЕНИИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ  
ИННОВАЦИЙ И ПУТИ ИХ РЕШЕНИЯ**

Кафедра управления и экономики фармации, фармакогнозии  
Уральский государственный медицинский университет  
Екатеринбург, Российская Федерация

**Naporova V.E., Plotnikov R.S., Karimova A.A.  
PROBLEMS IN THE DEVELOPMENT AND IMPLEMENTATION OF  
PHARMACEUTICAL INNOVATIONS AND THEIR SOLUTIONS**

Department of management and economics of pharmacy, pharmacognosy  
Ural state medical university  
Yekaterinburg, Russian Federation

E-mail: [otd.mspo@gmail.com](mailto:otd.mspo@gmail.com)

**Аннотация.** В статье проведен сравнительный анализ мнений специалистов фармацевтических предприятий и научно-исследовательских организаций по проблематике внедрения инноваций на российском фармацевтическом рынке, и возможных методах преодоления существующих сложностей. Представлены усредненные оценки значимости факторов, затрудняющих процесс внедрения фармацевтических инноваций, среди которых