

# Современное состояние разработки терапевтических препаратов для нейтрализации коронавируса SARS-CoV-2

В.В.Фирстова<sup>1,2</sup>, Л.В.Коломбет<sup>1</sup>, И.Г.Шемякин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Пушкинский государственный естественно-научный институт», Пушкино, Московская область, Российская Федерация

Продолжающаяся глобальная пандемия коронавирусной инфекции 2019 г. (COVID-19) требует срочной разработки эффективных и безопасных профилактических и терапевтических мер. Антивирусные пептиды являются перспективными потенциальными препаратами для лечения коронавирусной инфекции. Их идентификация и конструирование – одна из стратегий разработки терапевтических агентов против SARS-CoV-2. В статье представлен обзор разрабатываемых препаратов на основе белковых молекул, в том числе нейтрализующих антител.

**Ключевые слова:** COVID-19, гликопротеин S, антивирусные пептиды, нейтрализующие SARS-CoV-2 антитела

**Для цитирования:** Фирстова В.В., Коломбет Л.В., Шемякин И.Г. Современное состояние разработки терапевтических препаратов для нейтрализации коронавируса SARS-CoV-2. Бактериология. 2021; 6(4): 48–55. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-4-48-55

## Current state of development of therapeutic preparations for neutralizing the SARS-CoV-2 coronavirus

V.V.Firstova<sup>1,2</sup>, L.V.Colombet<sup>1</sup>, I.G.Shemyakin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation;

<sup>2</sup>Pushchino State Institute of Natural Science, Pushchino, Moscow Region, Russian Federation

The ongoing global coronavirus infection 2019 (COVID-19) pandemic requires the urgent development of effective and safe preventive and therapeutic measures. Antiviral peptides are promising potential drugs for the treatment of coronavirus infection. The identification and design of therapeutic peptides is one of the strategies for the development of therapeutic agents against SARS-CoV-2. An overview of the drugs under development based on protein molecules, including neutralizing antibodies, is presented in the article.

**Key words:** COVID-19, glycoprotein S, antiviral peptides, antibodies neutralizing SARS-CoV-2

**For citation:** Firstova V.V., Colombet L.V., Shemyakin I.G. Current state of development of therapeutic preparations for neutralizing the SARS-CoV-2 coronavirus. Bacteriology. 2021; 6(4): 48–55. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-4-48-55

С момента появления в декабре 2019 г. коронавирусного заболевания COVID-19 (COrona Virus Disease 2019) до сентября 2021 г. количество случаев заражения достигло 220 млн, из которых более 4 550 000 закончилось летальным исходом. Возбудителем COVID-19 является  $\beta$ -коронавирус ( $\beta$ -CoV), ныне известный как коронавирус-2 тяжелого острого респираторного синдрома (Severe acute respiratory

syndrome-related coronavirus 2/SARS-CoV-2). Предполагается, что подобно другим коронавирусам человека, таким как коронавирус ближневосточного респираторного синдрома (Middle East respiratory syndrome/MERS-CoV) и SARS-CoV, SARS-CoV-2 имеет зоонозное происхождение. SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2 могут вызывать серьезные симптомы и даже смерть с коэффициентами летальности 10, 37

### Для корреспонденции:

Фирстова Виктория Валерьевна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора; профессор факультета биологической безопасности ФГБОУ ВО «Пушкинский государственный естественно-научный институт»

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А»  
Телефон: (4967) 31-1915  
E-mail: firstova@obolensk.org

Статья поступила 02.12.2021 г., принята к печати 27.12.2021 г.

### For correspondence:

Victoria V. Firstova, PhD, DSc (Biological Science), Chief Researcher, Laboratory of Molecular Biology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор; Professor of the Faculty of Biological Safety, Pushchino State Institute of Natural Science

Address: SRCAMB Bld. 24, "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation  
Phone: (4967) 31-1915  
E-mail: firstova@obolensk.org

The article was received 02.12.2021, accepted for publication 27.12.2021

и 5% соответственно. Из вышеперечисленных трех коронавирусов только SARS-CoV-2 вызвал глобальную пандемию, что связано с его высокой контагиозностью и возможностью легкой передачи от человека к человеку еще до появления выраженных симптомов заболевания. SARS-CoV-2 способен инфицировать людей разных возрастных групп и вызывать разнообразный спектр проявлений болезни. Большинство пациентов с COVID-19 либо бессимптомны, либо имеют легкие симптомы, включая лихорадку, миалгию и кашель. Однако некоторые пациенты могут страдать от умеренного до тяжелого, опасного для жизни острого респираторного дистресс-синдрома (acute respiratory distress syndrome/ARDS) с возможными летальными исходами, что свидетельствует о важности разработки вакцинных и терапевтических препаратов.

Коронавирус SARS-CoV-2 относится к оболочечным вирусам с положительно-смысловым одноцепочечным геномом РНК размером ~30 т.п.н. (тысяч пар нуклеотидов), который кодирует четыре структурных белка, включая поверхностный шиповидный гликопротеин (S – spike), мембранный (M – membrane), нуклеокапсид (N – nucleocapsid) и оболочечный (E – envelope). Геном РНК также кодирует 16 неструктурных белков (nsp1–16) и дополнительные белки, участвующие в вирусной репликации и патогенезе (рис. 1).

Поверхностный шиповидный гликопротеин S представляет собой трансмембранный гликопротеин I типа, который играет важную роль в инфицировании вирусом клетки-хозяина и является общим для всех коронавирусов. S-белки состоят из двух субъединиц – S1 и S2 (рис. 1b). Субъединица S1 связывается с рецептором клетки через свой рецептор-связывающий домен (RBD), после чего следуют конформационные изменения в субъединице S2, что позволяет слитому пептиду встраиваться в мембрану клетки-мишени. В составе субъединицы S2 имеются две области гептадного повтора (HR1 и HR2) (рис. 1c). HR1 изменяет форму таким образом, что обнажаются три высококонсервативных гидрофобных бороздки на поверхности, которые связывают геп-

тадный повтор 2 (HR2). Эта структура с ядра пучков из шести спиралей (6-HB) формируется в процессе слияния и помогает сблизить вирусную и клеточную мембраны для проникновения вируса [3].

Традиционный механизм нейтрализации вирусов заключается в блокировании сайта связывания рецептора, расположенного между RBD и ACE2 (в случае рассматриваемых коронавирусов). Высокое сходство аминокислот в RBD коронавирусов позволяет предположить возможность использования ранее полученных нейтрализующих антител, нацеленных на RBD MERS-CoV или SARS-CoV, для ингибирования SARS-CoV-2.

Последовательность SARS-CoV-2 гомологична RBD SARS-CoV примерно на 73–76%. Сравнительный анализ рецептор-связывающих мотивов (receptor-binding motif/RBM) SARS-CoV и SARS-CoV-2, представляющих собой часть RBD, непосредственно контактирующую с ACE2, показал, что большинство аминокислот, необходимых для связывания ACE2, консервативны. Девять аминокислот ACE2, контактирующих с аминокислотами RBD коронавируса, полностью консервативны, а четыре – частично. Логично предположить, что препараты, направленные на ингибирование вирусов SARS-CoV, могут быть эффективными для терапии SARS-CoV-2.

На рис. 2 показано сравнение структуры генома и генетической изменчивости, наблюдаемой у вирусов SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2. Область, отмеченная красным пунктирным кружком, показывает область генома, которая подвержена мутации, делеции и вставке, что делает возможным появление новых штаммов вирусов, в том числе с повышенной вирулентностью.

S-белок имеет молекулярную массу 180–200 кДа и характеризуется метастабильной конформацией. Однако при взаимодействии вируса с клеткой-хозяином запускается обширная структурная перестройка S-белка, благодаря которой становится возможным слияние вируса с мембраной клетки-хозяина. Благодаря тому, что S-белок покрыт моле-

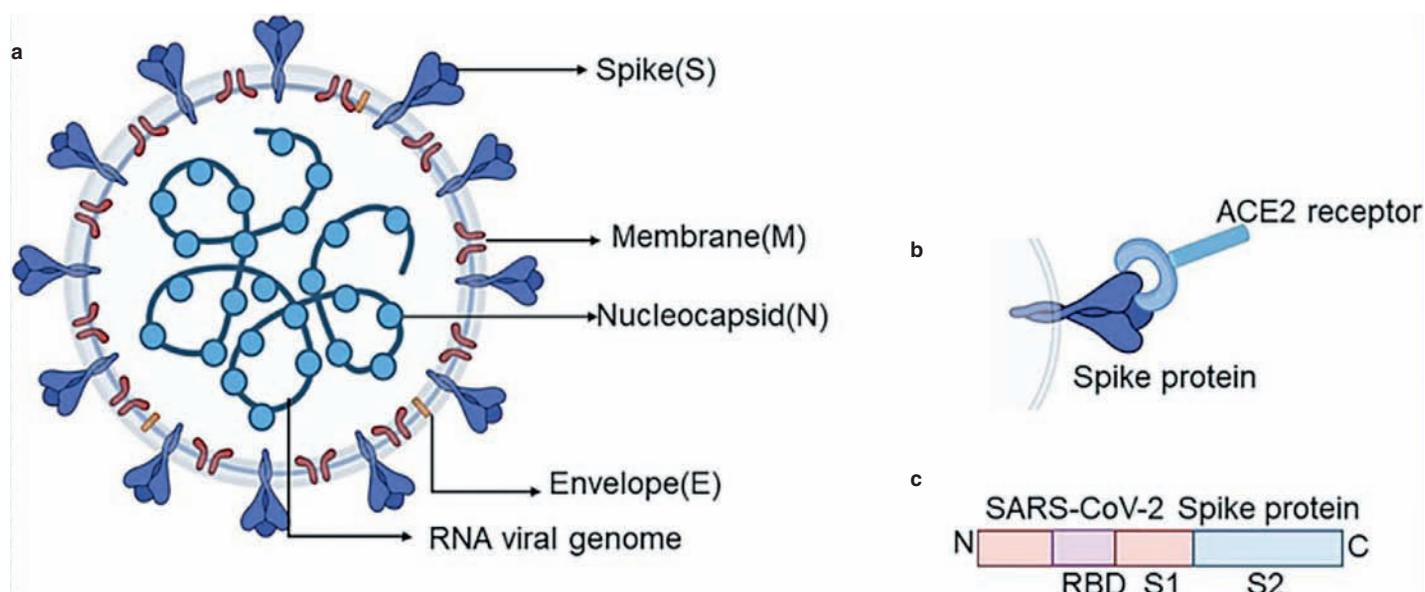


Рис. 1. Структурно-функциональная организация коронавируса SARS-CoV-2: а) схема строения коронавируса SARS-CoV-2; б) схематическое изображение контакта коронавируса SARS-CoV-2 с ангиотензинпревращающим рецептором 2 (ACE2), находящимся на поверхности клетки-хозяина; в) структура S-белка, содержащая S1- и S2-домены (S1 содержит субъединицу RBD) [1, 2].

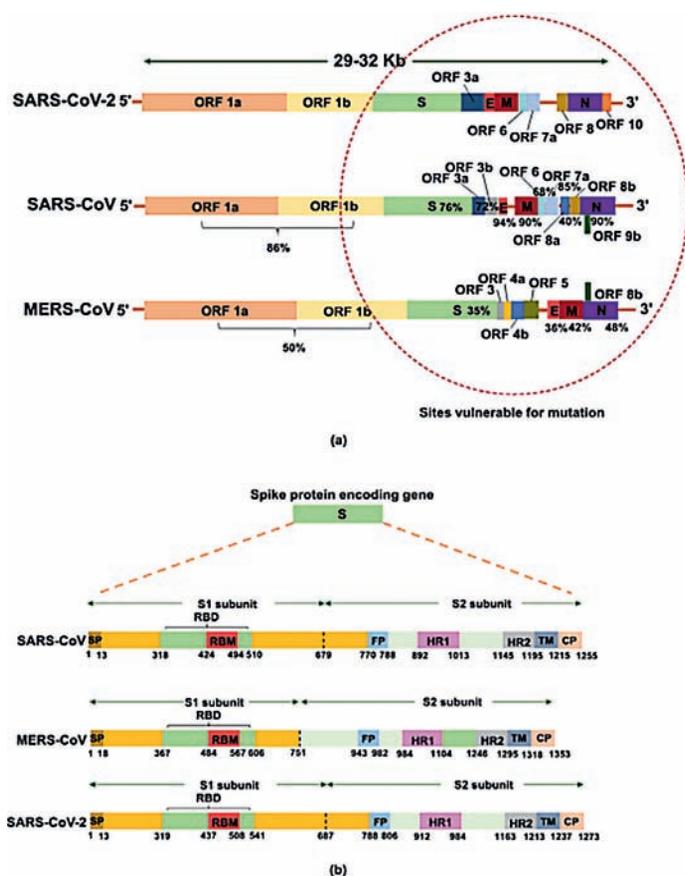


Рис. 2. Схематическое изображение геномов РНК коронавирусов SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2 [4]: а) сравнение геномов РНК коронавирусов SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2; уровень гомологии последовательностей отражен в процентах; б) сравнение аминокислотных последовательностей S-белка вирусов SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2 (ORF – открытая рамка считывания, NTD – N-концевой домен, CTD – C-концевой домен, FP – пептид слияния, HR1–2 – гептадные повторы 1–2).

кулами полисахарида, обеспечивается его маскировка от системы иммунного ответа хозяина [5, 6].

Общая длина S-белка SARS-CoV-2 составляет 1273 аминокислотных остатка (а.о.). S-белок состоит из сигнального пептида (а.о. 1–13), расположенного на N-конце, субъединиц S1 (а.о. 14–685) и S2 (а.о. 686–1273). Субъединица S1 участвует в связывании с рецептором ACE2 на клетках-хозяевах. Субъединица S2 участвует в слиянии мембран вирус-хозяин [7]. В субъединице S1 выделяют N-концевой домен (14–305 а.о.) и RBD (319–541 а.о.). Субъединицу S2 составляют: пептид слияния (fusion peptide/FP, 788–806 а.о.), последовательность одного гептадного повтора (heptapeptide repeat sequence/HR1, 912–984 а.о.), последовательность второго гептадного повтора (HR2, 1163–1213 а.о.), трансмембранный домен (transmembrane domain/TM, 1213–1237 а.о.) и домен цитоплазмы (1237–1273 а.о.) (рис. 3а). Форма S-белка визуально представляет характерный луковичный венец, окружающий вирусную частицу (рис. 1а, 3б). Мономеры субъединицы S1 и S2 образуют луковичную головку и область стебля. Структура S-белка SARS-CoV-2 была определена с помощью криоэлектронной микроскопии на атомном уровне, выявив различные конформации RBD S-белка в открытом и закрытом состояниях и его соответствующие функции (рис. 3б, 3с) [8].

В нативном состоянии S-белок существует как неактивный предшественник. Во время вирусной инфекции протеазы клеток-мишеней активируют S-белок, расщепляя его на субъединицы S1 и S2, что необходимо для активации домена слияния мембран и проникновения вируса в клетки-мишени [9].

Субъединица S2 отвечает за слияние и проникновение вируса. FP (протеин слияния) состоит в основном из гидрофобных остатков, таких как глицин (G) или аланин (A), которые прикрепляются к мембране-мишени, когда S-белок принимает форму прешпильки. Оказалось, что FP играет важную роль в обеспечении слияния мембран, разрушая и соединяя липидные бислои мембраны клетки-хозяина [10]. HR1 и HR2 образуют шестиспиральный пучок (6-HB) (рис. 3е), который важен для вирусного слияния и внедрения субъединицы S2 в клетку хозяина. При связывании RBD с ACE2 происходит изменение конформации S2: FP встраивается в клеточную мембрану-мишень, обнажая спираль домена HR1 и запуская взаимодействие между HR2 и HR1 с образованием шестиспирального пучка (6-HB), в результате чего вирусная оболочка и клеточная мембрана выстраиваются в непосредственной близости для слияния и проникновения вируса.

### Разработка терапевтических препаратов на основе антивирусных пептидов

В связи с малыми размерами, высокой специфичностью, биодоступностью и стабильностью пептиды являются перспективными потенциальными препаратами для лечения коронавирусной инфекции. Синтез пептидов можно быстро осуществить. Однако пептиды легко подвергаются протеолитической деградации и характеризуются коротким периодом циркуляции в организме. Для решения этой проблемы пептиды модифицируют, укорачивая их последовательности, изменяя аминокислоты или добавляя фрагменты, спо-

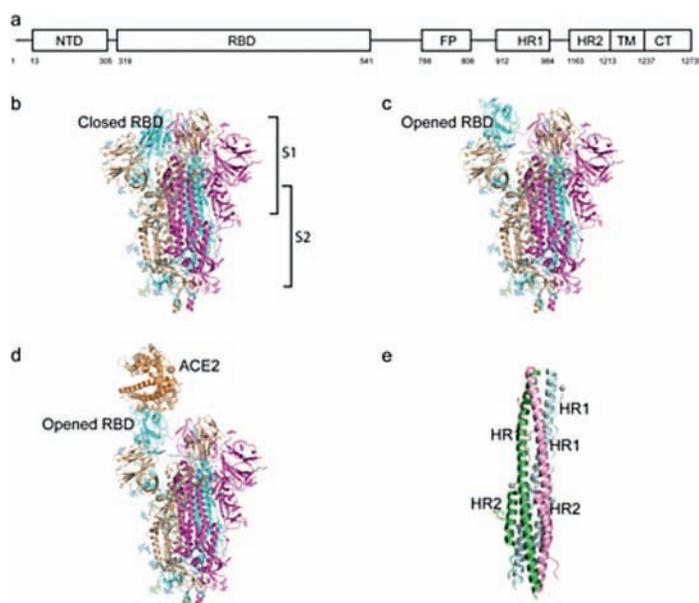


Рис. 3. Схематическое изображение шипа SARS-CoV-2: а) структурные единицы S-белка; б) состояние RBD «закрыто»; в) состояние RBD «открыто»; д) S-белок связывается с ACE2 с открытым RBD в субъединице S1; е) шестиспиральная структура, образованная HR1- и HR2-субъединицами S2 [6].

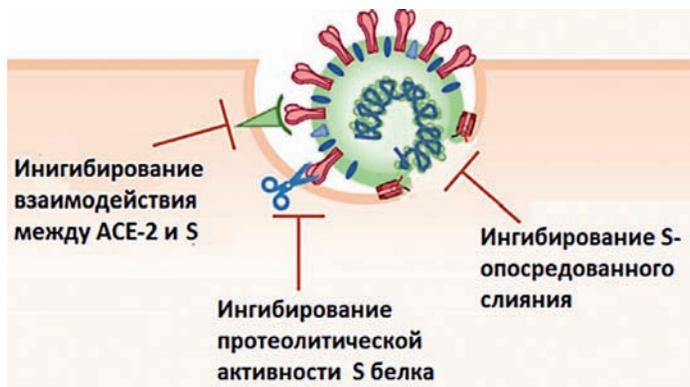


Рис. 4. Основные пути ингибирования SARS-CoV-2 [12].

способствующие увеличению их аффинности. При этом модификации могут быть внесены в относительно короткие сроки. Типичными модификациями являются пэгилирование (ковалентная модификация объектов фрагментами полиэтиленгликоля (ПЭГ)), которое увеличивает гидродинамический радиус пептидов, а также введение D- или не природных аминокислот, что способствует снижению протеолитической активности в отношении пептида [11].

Противовирусные пептиды обычно нацелены на структуры, необходимые для репликации вируса. Например, противовирусные пептиды могут быть направлены на вирусные белки, включая межбелковые взаимодействия, тем самым ингибируя их ферментативную активность, модулируя конформационные изменения, или влияя на белки-хозяева, которые необходимы для развития вирусной инфекции (например, рецепторы, участвующие в слиянии с вирусом, или протеазы, активирующие вирусные белки).

Терапевтическое действие разрабатываемых антивирусных пептидов, направленных против SARS-CoV-2, реализуется тремя ключевыми механизмами:

- предотвращение связывания фермента ACE2 эукариотической клетки и S-белка SARS-CoV-2;
- ингибирование активации протеолитической активности S-белка;

- ингибирование слияния между мембраной вирусной оболочки и мембраной эукариотической клетки.

Перечисленные механизмы представлены на рис. 4.

Рассмотрим более подробно разрабатываемые пептиды для борьбы с коронавирусной инфекцией.

*Пептиды, предотвращающие связывание фермента ACE2 эукариотической клетки и S-белка SARS-CoV-2*

Первый этап проникновения SARS-CoV-2 представлен формированием взаимодействия между вирусным S-белком и клеточным рецептором ACE2 (рис. 1b). Стратегия предотвращения проникновения вируса в клетку основана на ингибировании связывания RBD с рецептором ACE2. Пептиды могут быть получены из существующих белков-рецепторов, синтезироваться *de novo* на основании имеющихся последовательностей нативных белков или быть искусственно созданными. Примеры некоторых пептидов, способных ингибировать проникновение SARS-CoV-2, представлены в табл. 1.

Механизмы, позволяющие разработанным пептидам ингибировать проникновение вируса SARS-CoV-2, представлены на рис. 5.

Пептиды, нацеленные на домены в S-белке, отличные от RBD, также могут препятствовать проникновению вируса. Например, пептиды, связывающиеся с  $\alpha 1$ -спиралью ACE2 белка, которая важна для взаимодействия SARS-CoV-2S1 / RBD (обозначено зеленым на рис. 5), способны ингибировать проникновение вируса [13]. Кроме пептидов, разработаны минипротеины, которые получены с использованием последовательностей ACE2 или синтезированы *de novo* [16].

ACE2 представляет собой мембранно-ассоциированную аминопептидазу. Этот фермент экспрессируется во многих органах и тканях (сердце, кровеносные сосуды, легкие, почки, кишечник, семенники, головной мозг). ACE2 является частью ренин-ангиотензиновой системы, которая отвечает за регуляцию артериального давления в организме. Коронавирусы SARS-CoV-1, HCoV-NL63 и SARS-CoV-2 используют ACE2 в качестве рецептора для проникновения в клетку. Одним из кандидатов в блокаторы фермента ACE2 является челове-

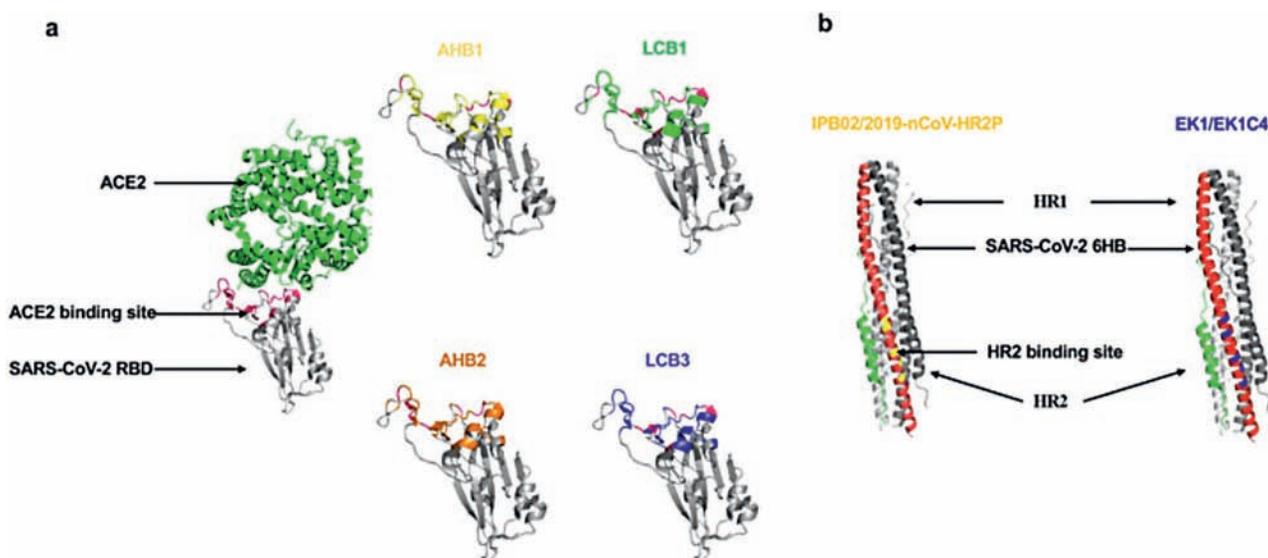


Рис. 5. Пептиды, нацеленные на S-белок SARS-CoV-2: а) пептиды, нацеленные на RBD: мишени для AHB1, AHB2, LCB1 и LCB3 показаны желтым, оранжевым, зеленым и синим цветом соответственно, в SARS-CoV-2 RBD; б) пептиды, нацеленные на 6-НВ: мишени для IPB02 и 2019-nCoV-HR2P перекрываются с сайтом связывания HR2, который окрашен в желтый цвет. Мишени ингибиторов слияния пан-CoV, пептидов EK1 и EK1C4 показаны синим цветом [20].

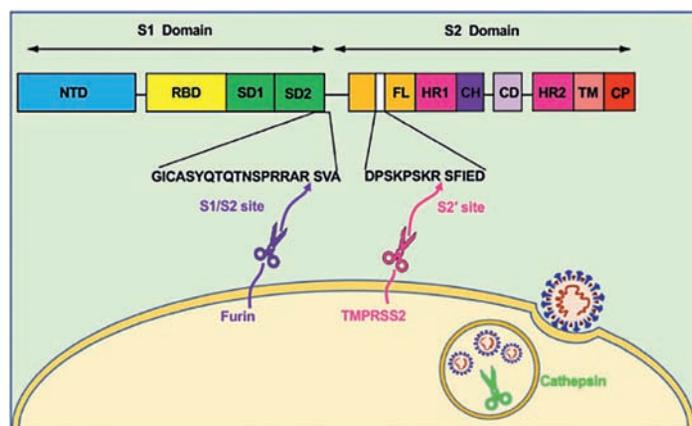


Рис. 6. Три категории протеаз, необходимых для слияния и проникновения SARS-CoV-2 [13]. Различные домены S-белка SARS-CoV-2 (слева направо): NTD, RBD, субдомен 1 (SD1), субдомен 2 (SD2), петля слияния (FL), HR1, центральная спираль (CH), коннекторный домен (CD), HR2, TM, цитоплазматический хвостовой домен (CP).

ский дефензин 5 (HD5), который является наиболее распространенным  $\alpha$ -дефензином в кишечнике человека. Благодаря своей лектиноподобной активности HD5 связывает липиды и гликозилированные белки [21], что делает ACE2 и белок SARS-CoV-2S его потенциальными мишенями.

*Пептиды, нацеленные на ингибирование активации протеолитического S-белка*

Активация S-белка SARS-CoV-2 требует протеолитического расщепления на двух участках. На границе S1/S (682–685 а.о.) имеется сайт расщепления этих двух субъединиц фурином (фермент, сериновая протеаза клеток животных, по структуре напоминает бактериальный протеолитический фермент субтилизин), что имеет важное значение для жизненного цикла вируса и его патогенности. Следовательно, ингибиторы фурина могут использоваться в качестве лекарственной терапии SARS-CoV-2 [22].

В результате расщепления S-белка в сайте S1/S2 под влиянием фурина образуются две отдельные субъединицы,

остающиеся нековалентно связанными (рис. 6). Второй сайт находится в области S2/S2', в нем расщепление происходит с участием трансмембранной сериновой протеазы TMPRSS2, которая высвобождает белок слияния (FP) субъединицы S2. Внутриклеточные протеазы (лизосомальный катепсин L) могут активировать S-белок независимо от ферментативной активности фурина после эндосомного поглощения.

Следовательно, идентификация и конструирование пептидов, которые нарушают этот процесс, – одна из стратегий разработки терапевтических агентов против SARS-CoV-2. Для ингибирования этих протеаз получены пептиды, например камостата мезилат [23], блокирующий протеазу TMPRSS2, и e64d, который ингибирует катепсин L [24], что приводит к блокированию инфекции SARS-CoV-2. Разработаны пептидомиметики MI-432 и MI-1900, ингибирующие протеазу TMPRSS2 [28]. Ингибиторы MI-1852 и des-RVKR-смк нацелены на фурин и родственные белковые конвертазы, также получен ингибитор протеаз широкого спектра действия – апротинин [25, 26]. Тейкопланин – еще один из пептидов, нацеленных на цистеиновую протеиназу катепсина L [27].

*Пептиды, нацеленные на ингибирование слияния мембран между вирусной оболочкой и клеточной мембраной*

Для запуска инфекционного процесса вирусы SARS-CoV-2 должны проникнуть в клетки, что подразумевает этап слияния, опосредованный вирусным гликопротеином (S). Структура S-белка SARS-CoV-2 представлена пучком, состоящим из шести спиралей, образованных двумя доменами гептадных повторов (HR1 и HR2), соприкасающихся с вирусной и клеточной мембранами для слияния в S2-субъединице. Предыдущие исследования продемонстрировали, что пептиды, полученные из последовательности HR2, могут конкурентно связываться с вирусным доменом HR1, проявляя, таким образом, противовирусную активность. Например, пептид HR2, конъюгированный с холестерином на С-конце, названный IPB02, эффективно ингибирует слияние вируса с

Таблица 1. Пептиды, способные ингибировать проникновение SARS-CoV-2		
Наименование	Описание	Последовательность
SBP1 [13]	23-мерный пептидный фрагмент $\alpha$ 1-домена пептидазы ACE2 (PD)	IEEQAKTFLDKFNHEAEDLFYQS
AHB1 [14]	Пептид, полученный из ACE2	DEDLEELERLYRKAEEVAKAEKADASRRGDDEAKE QMERAMRLFDQVFEAQELQEKQTDGNRQKATHL DKAVKEAADELYQVRELEEQVMHVLDQVSELAH ELLHKLTGEELERAAYFNWWATEMMLLEIKSDDER EIREIEEEARRILEHLEELARK
AHB2 [14]	Усеченный AHB1	ELEEQVMHVLDQVSELAHELLHKLTGEELERAAYF NWWATEMMLLEIKSDDEREIREIEEEARRILEHLEE LARK
LCB1 [15]	Разработанный и синтезированный <i>de novo</i> минипротеин	DKEWILQKIYEIMRLLDELGHAEASMRVSDLIYEFM KKGDERLLEEAERLLEEVER
LCB3 [16]	Разработанный и синтезированный <i>de novo</i> минипротеин	NDELHMLMTDLVYEALHFADDEEIKRQVQLFE LADKAYKNNDRQKLEKVVVEELKELLERLLS
IPB02 [17]	Пептид HR2 с добавленной к С-концу белковой молекулы холестериновой группой	ISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLSLIDLQELK (Chol)
EK1 [18]	Получено из HR2 (OC43)	SLDQINVTFDLLEYEMKKLEEAIKKLEESYIDLKEL
EK1C4 [18]	Добавлена группа холестерина на С-конце EK1	SLDQINVTFDLLEYEMKKLEEAIKKLEESYIDLKELGSGSG-PEG4 (Chol)
2019-nCoV-HR2P [19]	Пептид HR2 (1150–1185)	DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLSLIDLQEL (aa1168–1203)

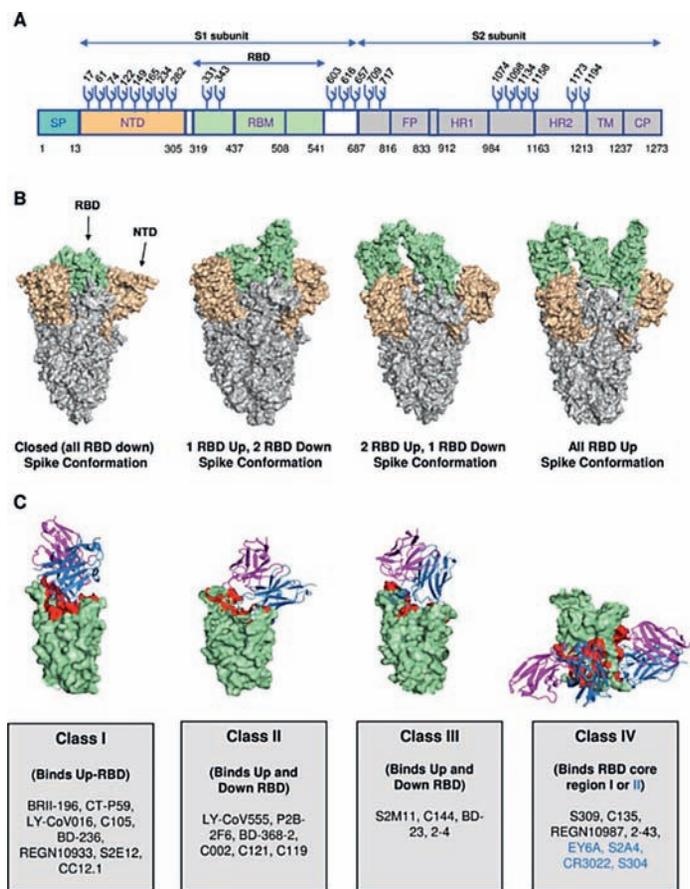


Рис. 7. Структура S-белка SARS-CoV-2, конформация и мишени для RBD-зависимых моноклональных антител (МКА, mAb) [30]: а) области S-белка SARS-CoV-2 с нумерацией аминокислотных положений, которые включают области домена S1: SP, NTD, RBD, а также области домена RBM и S2: FP, HR1 и HR2, TM и CP. Сайты гликозилирования пронумерованы и отмечены Y-образными структурами синего цвета; б) различные конформации S-белка (PDB: 7DF3, 6XKL, 7EB5 и 7KML, слева направо); в) 4 класса SARS-CoV-2 RBD-зависимых МКА. Обозначены переменная область тяжелой цепи антитела (голубой) и переменная область легкой цепи (пурпурный). Константные области антитела были удалены из связанного Fab-фрагмента для ясности. RBD показан бледно-зеленым цветом, а контакты антител на RBD отмечены красным (PDB ID: слева направо, 7CM4 (CT-P59), 7CHF (BD-368-2), 7K90 (C144) и 6R6X). (S304 (слева) и S309 (справа)). МКА, нацеленные на коровую область II RBD класса IV, показаны синим цветом. PDB – банк данных белков; SP – сигнальный пептид.

клеткой [17]. Различные модификации этого пептида путем введения гибкого линкера PEG8 в IPB02 между пептидной последовательностью и молекулой холестерина позволили получить ряд препаратов, характеризующихся повышенной растворимостью и увеличенным сродством связывания с пептидом HR1.

Показано, что мезилат нелфинавира (торговая марка Вирасепт), антиретровирусный препарат, используемый для лечения вируса иммунодефицита человека, подавляет как S-опосредованное межклеточное слияние SARS-CoV, так и SARS-CoV-2 [28]. Нелфинавир является первым зарегистрированным ингибитором слияния малых молекул в дополнение к ингибиторам слияния пептидов. Нелфинавир может подавлять функцию протеиназы TMPRSS2, участвующей в активации S-белка, что делает возможным клиническое при-

менение терапевтических средств против SARS-CoV-2, особенно на ранней стадии вирусной инфекции. При этом почти всегда нелфинавир используется в сочетании с другими антиретровирусными препаратами.

### Разработка терапевтических препаратов на основе моноклональных антител

Основной мишенью нейтрализующих антител является S-белок SARS-CoV-2, в основном связывающийся либо с RBD, либо с NTD S-белка. S-белок может принимать различную конформацию внутри клетки-хозяина, и его статус основан на положении белка RBD: «верхнее» или «нижнее» (рис. 7b). В зависимости от эпитопа связывания RBD-нейтрализующие антитела подразделяют на 4 основных класса (I, II, III и IV). RBD-нейтрализующие антитела класса I и II взаимодействуют с областью связывания ACE2 или областью RBM RBD [29]. Эта область отвечает за первичный контакт с ACE2, инициирующий проникновение вируса [2].

Нейтрализующие антитела класса I связывают RBD только в «верхнем» положении и блокируют связывание ACE2, тогда как нейтрализующие антитела класса II блокируют связывание ACE2 и распознают как «верхнее», так и «нижнее» положение RBD (рис. 7b, 7c). Нейтрализующие антитела класса III блокируют сайт связывания ACE2, распознают спайковый белок как с «верхней», так и с «нижней» конформациями RBD и дополнительно могут взаимодействовать с соседними пептидами RBD. Нейтрализующие антитела класса IV связываются с консервативной областью в RBD (область ядра I) или RBD только в конформации «вверх» (область ядра II) (рис. 1с, 7b). Полное описание этих 4 классов RBD-зависимых МКА показано на рис. 7с. Антитела класса IV к коровой области I обладают широкой нейтрализующей активностью против SARS-CoV-2, его вариантов и других родственных коронавирусов [29, 31]. Совсем недавно были идентифицированы нейтрализующие антитела, нацеленные на новые эпитопы в домене S2 (область стержневой спирали) шипа, которые нейтрализуют не только вирусы, вызывающие SARS, но и другие коронавирусы человека (например, hCoV) [32–34].

МКА рассматриваются в качестве потенциальных лекарств для лечения и/или профилактики SARS-CoV-2. Наиболее перспективные препараты, разработанные на основе МКА, проходят клинические испытания (табл. 2).

Недавно было разработано несколько биспецифических нейтрализующих антител путем объединения цепей двух независимых неперекрывающихся антител [35, 36]. Биспецифические антитела нейтрализуют SARS-CoV-2 разных штаммов. Это свидетельствует о том, что эти антитела являются многообещающими экономически эффективными терапевтическими средствами следующего поколения против SARS-CoV-2.

Помимо противовирусных функций нейтрализующих антител против SARS-CoV-2 необходимо учитывать важность роли Fc-части антител. В 2021 г. опубликовано исследование, в котором показано, что терапевтические антитела (REGN, Abbvie, AstraZeneca и Vir Biotechnology) с интактной областью Fc более эффективно снижают вирусную нагрузку и уменьшают уровень поражения легких экспериментальных животных по сравнению с нейтрализующими антителами без эффекторных функций Fc (мутация LALA-PG) [37]. Это

Таблица 2. Фазы клинических испытаний препаратов моноклональных антител против SARS-CoV-2

Наименование	Характеристика	Фаза клинических испытаний
JS016	Человеческое МКА	3
REGN-Cov2	Человеческое МКА	3
Ly38192535 (LYCoV55)	Человеческое МКА	2
BD-368-2 (BGB DXP593)	Человеческое МКА	1
AZD7442 (AZD8895+AZD1061)	Человеческое МКА	3
VIR7831, VIR7832	Человеческое МКА	3
HLX70	Человеческое МКА	1
HLX71	Рекомбинантный человеческий ACE-2-Fc слитый белок	1
APN01	Рекомбинантный человеческий ACE-2	2
TY027	Человеческое МКА	1
BR196	Человеческое МКА	1
BR198	Человеческое МКА	1
CT-P59	Человеческое МКА	1

связано с тем, что для оптимальной защиты Fc-рецептор должен проявить эффекторные функции в виде усиления антителозависимой клеточной цитотоксичности и антителозависимого клеточного фагоцитоза. Кроме того, Fc-опосредованная активация комплемента может проявлять широкий спектр иммуномодулирующих функций, при этом активация C1q-компонента комплемента приводит к опосредованной антителами активации комплемента и комплемент-зависимой цитотоксичности.

В настоящее время только три препарата МКА против SARS-CoV-2 имеют разрешения FDA (Управление по контролю за продуктами и лекарствами) на экстренное использование для лечения COVID-19 легкой и средней степени тяжести с лабораторно подтвержденным SARS-CoV-2 у негоспитализированных пациентов (но с высоким риском развития тяжелого заболевания и/или госпитализации):

- бамланивимаб и этесевимаб – нейтрализующие МКА, которые связываются с разными, но перекрывающимися эпитопами в белке RBD SARS-CoV-2;
- казиривимаб и имдевимаб – рекомбинантные человеческие МКА, которые связываются с перекрывающимися эпитопами S-белка RBD SARS-CoV-2;
- сотровимаб – МКА, первоначально полученное в 2003 г. от человека, перенесшего SARS-CoV. Сотровимаб нацелен на эпитоп в RBD белка-шипа, который является консервативным и гомологичным для SARS-CoV и SARS-CoV-2.

### Заключение

Профилактика и лечение пандемии SARS-CoV-2 требует быстрой разработки эффективных вакцин и противовирусных препаратов для ограничения распространения вируса и связанных с ним летальных исходов. Разработка нейтрализующих антител и пептидов против S-белка SARS-CoV-2 – один из многообещающих подходов в борьбе с пандемией COVID-19. В ряду основных проблем при разработке вирус-нейтрализующих препаратов находится проблема спонтан-

ных мутаций вируса, которые могут приводить к снижению терапевтической эффективности. Для решения этой проблемы возможным подходом является создание антител и/или протеинов, нацеленных на консервативные эпитопы RBD, с широкими нейтрализующими свойствами. Комбинированная терапия, включающая несколько нейтрализующих антител и/или протеинов, – еще один способ сохранения вирус-нейтрализующей активности препарата.

В связи с этим разработка нейтрализующих вирус препаратов, направленных на несколько разных эпитопов S белка SARS-CoV-2, поиск консервативных участков или использование комбинированной терапии с множеством антител/протеинов является актуальным направлением и требует дополнительных исследований.

### Информация о финансировании

*Работа выполнена в рамках государственного задания по НИОКР 3.1.3.*

### Financial support

*The publication was carried out within the framework of the state assignment for R&D 3.1.3.*

### Конфликт интересов

*Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.*

### Conflict of interest

*Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.*

### Литература / References

- Hoffmann M, Kleine-Weber H, Pöhlmann S. A Multibasic Cleavage Site in the Spike Protein of SARS-CoV-2 Is Essential for Infection of Human Lung Cells. *Mol Cell*. 2020 May 21;78(4):779-784.e5. DOI: 10.1016/j.molcel.2020.04.022
- Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veales D. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*. 2020 Apr 16;181(2):281-292.e6. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.058. Epub 2020 Mar 9. Erratum in: *Cell*. 2020 Dec 10;183(6):1735.
- Xia S, Yan L, Xu W, Agrawal AS, Algaissi A, Tseng CK, et al. A pan-coronavirus fusion inhibitor targeting the HR1 domain of human coronavirus spike. *Sci Adv*. 2019 Apr 10;5(4):eaav4580. DOI: 10.1126/sciadv.aav4580
- Krishnamoorthy S, Swain B, Verma RS, Gunthe SS. SARS-CoV, MERS-CoV, and 2019-nCoV viruses: an overview of origin, evolution, and genetic variations. *Virusdisease*. 2020 Oct 16;31(4):1-13. DOI: 10.1007/s13337-020-00632-9
- Bosch BJ, van der Zee R, de Haan CA, Rottier PJ. The coronavirus spike protein is a class I virus fusion protein: structural and functional characterization of the fusion core complex. *J Virol*. 2003 Aug;77(16):8801-11. DOI: 10.1128/jvi.77.16.8801-8811.2003
- Watanabe Y, Allen JD, Wrapp D, McLellan JS, Crispin M. Site-specific glycan analysis of the SARS-CoV-2 spike. *Science*. 2020 Jul 17;369(6501):330-333. DOI: 10.1126/science.abb9983
- Alamri SS, et al. Enhanced immunogenicity of a synthetic DNA vaccine expressing consensus SARS-CoV-2 Spike protein using needle-free immunization. DOI: 10.1101/2021.02.01.429219
- Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020 Feb 20;382(8):727-733. DOI: 10.1056/NEJMoa2001017
- Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a

- Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020 Apr 16;181(2):271-280.e8. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.052
10. Millet JK, Whittaker GR. Physiological and molecular triggers for SARS-CoV membrane fusion and entry into host cells. *Virology*. 2018 Apr;517:3-8. DOI: 10.1016/j.virol.2017.12.015
  11. Vagner J, Qu H, Hruba VJ. Peptidomimetics, a synthetic tool of drug discovery. *Curr Opin Chem Biol*. 2008 Jun;12(3):292-6. DOI: 10.1016/j.cbpa.2008.03.009
  12. Schütz D, Ruiz-Blanco YB, Münch J, Kirchhoff F, Sanchez-Garcia E, Müller JA. Peptide and peptide-based inhibitors of SARS-CoV-2 entry. *Adv Drug Deliv Rev*. 2020 Dec;167:47-65. DOI: 10.1016/j.addr.2020.11.007
  13. Zhang G, et al. The first-in-class peptide binder to the SARS-CoV-2 spike protein. *BioRxiv*. 2020.
  14. Baker D, et al. De novo design of picomolar SARS-CoV-2 miniprotein inhibitors. *BioRxiv*. 2020.
  15. Case JB, Chen RE, Cao L, Ying B, Winkler ES, Goreshnik I, et al. Ultrapotent miniproteins targeting the receptor-binding domain protect against SARS-CoV-2 infection and disease in mice. *bioRxiv [Preprint]*. 2021 Mar 1:2021.03.01.433110. DOI: 10.1101/2021.03.01.433110
  16. Cao L, Goreshnik I, Coventry B, Case JB, Miller L, Kozodoy L, et al. *De novo* design of picomolar SARS-CoV-2 miniprotein inhibitors. *Science*. 2020 Oct 23;370(6515):426-431. DOI: 10.1126/science.abd9909
  17. Zhu Y, Yu D, Hu Y, Wu T, Chong H, He Y. SARS-CoV-2-derived fusion inhibitor lipopeptides exhibit highly potent and broad-spectrum activity against divergent human coronaviruses. *Signal Transduct Target Ther*. 2021 Aug 3;6(1):294. DOI: 10.1038/s41392-021-00698-x
  18. Xia S, Liu M, Wang C, Xu W, Lan Q, Feng S, et al. Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion. *Cell Res*. 2020 Apr;30(4):343-355. DOI: 10.1038/s41422-020-0305-x
  19. Xia S, Zhu Y, Liu M, Lan Q, Xu W, Wu Y, et al. Fusion mechanism of 2019-nCoV and fusion inhibitors targeting HR1 domain in spike protein. *Cell Mol Immunol*. 2020 Jul;17(7):765-767. DOI: 10.1038/s41423-020-0374-2
  21. Zhang Q, Xiang R, Huo S, Zhou Y, Jiang S, Wang Q, Yu F. Molecular mechanism of interaction between SARS-CoV-2 and host cells and interventional therapy. *Signal Transduct Target Ther*. 2021 Jun 11;6(1):233. DOI: 10.1038/s41392-021-00653-w
  22. Wang C, Shen M, Gohain N, Tolbert WD, Chen F, Zhang N, et al. Design of a potent antibiotic peptide based on the active region of human defensin 5. *J Med Chem*. 2015 Apr 9;58(7):3083-93. DOI: 10.1021/jm501824a
  23. Peacock TP, Goldhill DH, Zhou J, Baillon L, Frise R, Swann OC, et al. The furin cleavage site in the SARS-CoV-2 spike protein is required for transmission in ferrets. *Nat Microbiol*. 2021 Jul;6(7):899-909. DOI: 10.1038/s41564-021-00908-w
  24. Engin S, et al. 2021. Covid-19 Tedavisinde İlaçta Yeniden Konumlandırma: Çeşitli İlaçların Proteaz İnhibitörü Aktivitelerinin in vitro Araştırılması. *Uluslararası Sağlık Araştırmaları Kongresi (ICOHER'21)*, (Balıkesir, Turkey), P. 222-232.
  25. Ou X, Liu Y, Lei X, Li P, Mi D, Ren L, et al. Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nat Commun*. 2020 Mar 27;11(1):1620. DOI: 10.1038/s41467-020-15562-9. Erratum in: *Nat Commun*. 2021 Apr 1;12(1):2144.
  26. Bestle D, Heindl MR, Limburg H, Van Lam van T, Pilgram O, Moulton H, et al. TMPRSS2 and furin are both essential for proteolytic activation of SARS-CoV-2 in human airway cells. *Life Sci Alliance*. 2020 Jul 23;3(9):e202000786. DOI: 10.26508/lsa.202000786
  27. Cheng YW, Chao TL, Li CL, Chiu MF, Kao HC, Wang SH, et al. Furin inhibitors block SARS-CoV-2 spike protein cleavage to suppress virus production and cytopathic effects. *Cell Rep*. 2020 Oct 13;33(2):108254. DOI: 10.1016/j.celrep.2020.108254
  28. Yu F, et al. Glycopeptide antibiotic teicoplanin inhibits cell entry of SARS-CoV-2 by suppressing the proteolytic activity of cathepsin L. DOI: 10.1101/2020.02.05.935387
  29. Musarrat F, Chouljenko V, Dahal A, Nabi R, Chouljenko T, Jois SD, et al. The anti-HIV drug nelfinavir mesylate (Viracept) is a potent inhibitor of cell fusion caused by the SARS-CoV-2 spike (S) glycoprotein warranting further evaluation as an antiviral against COVID-19 infections. *J Med Virol*. 2020 Oct;92(10):2087-2095. DOI: 10.1002/jmv.25985
  30. Barnes CO, Jette CA, Abernathy ME, Dam KA, Esswein SR, Gristick HB, et al. SARS-CoV-2 neutralizing antibody structures inform therapeutic strategies. *Nature*. 2020 Dec;588(7839):682-687. DOI: 10.1038/s41586-020-2852-1
  31. Kumar S, Chandele A, Sharma A. Current status of therapeutic monoclonal antibodies against SARS-CoV-2. *PLoS Pathog*. 2021 Sep 3;17(9):e1009885. DOI: 10.1371/journal.ppat.1009885
  32. Pinto D, Park YJ, Beltramello M, Walls AC, Tortorici MA, Bianchi S, et al. Cross-neutralization of SARS-CoV-2 by a human monoclonal SARS-CoV antibody. *Nature*. 2020 Jul;583(7815):290-295. DOI: 10.1038/s41586-020-2349-y
  33. Song G, He WT, Callaghan S, Anzanello F, Huang D, Ricketts J, et al. Cross-reactive serum and memory B-cell responses to spike protein in SARS-CoV-2 and endemic coronavirus infection. *bioRxiv [Preprint]*. 2020 Sep 23:2020.09.22.308965. DOI: 10.1101/2020.09.22.308965
  34. Wang C, van Haperen R, Gutiérrez-Álvarez J, Li W, Okba NMA, Albulescu I, et al. A conserved immunogenic and vulnerable site on the coronavirus spike protein delineated by cross-reactive monoclonal antibodies. *Nat Commun*. 2021 Mar 17;12(1):1715. DOI: 10.1038/s41467-021-21968-w
  35. Sauer MM, Tortorici MA, Park YJ, Walls AC, Homad L, Acton OJ, et al. Structural basis for broad coronavirus neutralization. *Nat Struct Mol Biol*. 2021 Jun;28(6):478-486. DOI: 10.1038/s41594-021-00596-4
  36. De Gasparo R, Pedotti M, Simonelli L, Nickl P, Muecksch F, Cassaniti I, et al. Bispecific IgG neutralizes SARS-CoV-2 variants and prevents escape in mice. *Nature*. 2021 May;593(7859):424-428. DOI: 10.1038/s41586-021-03461-y. Epub 2021 Mar 25. Erratum in: *Nature*. 2021 Sep;597(7874):E2.
  37. Cho H, Gonzales-Wartz KK, Huang D, Yuan M, Peterson M, Liang J, et al. Ultrapotent bispecific antibodies neutralize emerging SARS-CoV-2 variants. *bioRxiv [Preprint]*. 2021 Apr 1:2021.04.01.437942. DOI: 10.1101/2021.04.01.437942. Update in: *Sci Transl Med*. 2021 Oct 20;13(616):eabj5413.
  38. Winkler ES, Gilchuk P, Yu J, Bailey AL, Chen RE, Zost SJ, et al. Human neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 require intact Fc effector functions and monocytes for optimal therapeutic protection. *bioRxiv [Preprint]*. 2020 Dec 28:2020.12.28.424554. DOI: 10.1101/2020.12.28.424554. Update in: *Cell*. 2021 Feb 12.

**Информация об авторах:**

Коломбет Любовь Васильевна, доктор биологических наук, заведующая научной частью (ученый секретарь) ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора  
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24  
Телефон: (4967) 36-0069  
E-mail: kolombet@obolensk.org

Шемьякин Игорь Георгиевич, доктор биологических наук, профессор, заместитель директора по научной работе ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора  
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24  
Телефон: (4967) 36-0060  
E-mail: shemyakin@obolensk.org

**Information about authors:**

Lubov V. Kolombet, PhD, DSc (Biological Science), Scientific Secretary, Head of Science Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор  
Address: SRCAMB Bld. 24, "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation  
Phone: (4967) 36-0069  
E-mail: kolombet@obolensk.org

Igor G. Shemyakin, PhD, DSc (Biological Science), Professor, Deputy Director for Research, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор  
Address: SRCAMB Bld. 24, "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation  
Phone: (4967) 36-0060  
E-mail: shemyakin@obolensk.org