



УДК 615.281.8Протефлазід:616-071

Л.В. Кузнєцова

ПРОТЕФЛАЗІД® — ЕФЕКТИВНИЙ ЛІКАРСЬКИЙ ЗАСІБ У БОРОТЬБІ З ВІРУСНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ

НУОЗ України імені П. Л. Шупика, кафедра клінічної, лабораторної імунології та алергології

Оригінальний протівірусний препарат Протефлазід® застосовують у клінічній практиці з початку 2000-х років для етіотропного лікування гострих респіраторних вірусних захворювань завдяки наявній властивості блокувати РНК- та ДНК-полімерази вірусів. Враховуючи, що на початку світової пандемії COVID-19, зумовленої РНК-вмісним вірусом виду SARS-CoV-2 в 2020 р., показано спроможність діючої речовини препарату інгібувати активність 3CL-протеази коронавірусу SARS-CoV-2 та згодом підтверджено властивість діючої речовини блокувати розмноження вірусу SARS-CoV-2 в культурах клітин *in vitro*, було надзвичайно важливим випробувати ефективність лікарського засобу Протефлазід®, краплі, для профілактики та лікування захворювання COVID-19 при «off label use». У ретроспективних клінічних дослідженнях показано, що Протефлазід® в умовах пандемії COVID-19 сприяє зменшенню частки хворого медичного персоналу у 2,2 рази, зменшенню частки пацієнтів із тяжким перебігом хвороби у 3,3 рази, скороченню середнього терміну лікування в 1,8 рази, а головне: серед хворого медичного персоналу та пацієнтів, які застосовували препарат, повністю відсутня смертність.

Ключові слова: Протефлазід®, 3CL-протеаза, РНК-полімераза, SARS-CoV-2, COVID-19.

L.V. Kuznetsova

PROTEFLAZID® IS AN EFFECTIVE DRUG AGAINST VIRAL DISEASES

SI «The Line»

The original antiviral drug Proteflazid® has been used in clinical practice since the early 2000s for the etiotropic treatment of acute respiratory viral diseases due to its ability to block viral RNA and DNA polymerases. Considering that at the beginning of the global COVID-19 pandemic caused by an RNA-containing virus of the SARS-CoV-2 type in 2020, the ability of the active substance of the drug to inhibit the activity of the 3CL protease of the SARS-CoV-2 coronavirus has been shown. Subsequently, the property of the active substance to block the reproduction of the SARS-CoV-2 virus in cell cultures *in vitro* has been confirmed. It has been extremely important to test the effectiveness of the drug Proteflazid®, drops for the prevention and treatment of COVID-19 disease in «off label use». The retrospective clinical studies have been shown that Proteflazid® in the context of the COVID-19 pandemic helps to reduce the part of sick medical personnel by 2.2 times, reduce the part of patients with severe disease by 3.3 times, reduce the average duration of treatment by 1.8 times, and the most important is that there is no mortality among sick medical personnel and patients who have used the drug.

Key words: Proteflazid®, 3CL protease, RNA polymerase, SARS-CoV-2, COVID-19.



Протефлазид® – оригінальний противірусний лікарський засіб, призначений для лікування та профілактики гострих респіраторних вірусних інфекцій, зокрема, грипу та COVID-19. Висока ефективність досягається завдяки тому, що діючі компоненти Протефлазиду® безпосередньо блокують реплікацію вірусів. У такий спосіб препарат попереджує активне розмноження збудників після потрапляння в організм і сприяє їх загибелі.

Особливості складу

Протефлазид® належить до групи противірусних засобів прямої дії.

Діючими молекулярними речовинами активного фармакологічного інгредієнту (АФІ) лікарського засобу Протефлазид® є флаволи та флавоноїди, які поєднуються в комплекси [трицин, трицин-7-О або 8-С глікозид]: [лютеолін-7-О або 8-С глікозид]: [апігенін, апігенін-7-О або 8-С глікозид] і знаходяться в матриці допоміжних речовин [1-2].

Клінічні дослідження противірусної активності препарату Протефлазид®

Здатність лікарського засобу до блокування розмноження РНК- та ДНК-вірусів була встановлена під час доклінічних досліджень. Доведено, що механізм прямої противірусної активності полягає в інгібуванні вірусоспецифічних ферментів – ДНК- та РНК-полімераз, тимідинкінази, зворотної транскриптази, 3CL-протеази та нейрамінідази, що зупиняє розмноження вірусів [3-4].

Противірусну дію АФІ Протефлазид® встановлено для багатьох вірусів: вірусів гострих респіраторних інфекцій, зокрема вірусів грипу; різних видів вірусів герпесу, гепатитів; папіломавірусів. З початком епідемії COVID-19 розпочалась активна робота щодо вивчення дії Протефлазиду® на SARS-CoV-2 [26,3].

На початку 2020 р. вже було відомо, що флавоноїди суттєво знижують активність вірусної 3CL-протеази та зв'язують ангіотензинперетворювальний фермент 2-го типу (АПФ2), що працює як клітинний рецептор

для SARS-CoV-2 та забезпечує проникнення вірусних часток до клітин людського організму. На підставі цих даних було проведено низку доклінічних досліджень противірусної дії АФІ Протефлазид® щодо збудника COVID-19 коронавірусу SARS-CoV-2 [5, 8].

Експериментальні роботи спеціалістів ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України» продемонстрували, що Протефлазид® відрізняється високою противірусною активністю до коронавірусу трансмісивного гастроентериту свиней, подібного до коронавірусу людини [5].

Результати досліджень українських вчених були підтверджені на моделях SARS-CoV-2 у Дослідницькому центрі здоров'я тварин Автономного університету Барселони (Іспанія).

Встановлено в дослідженнях *in vitro* на культурі клітин Vero E6, що препарат Протефлазид® в концентрації від 1,28 мкг/мл до 6,4 мкг/мл, без ознак цитотоксичної дії на культуру клітин, виявляє антивірусну активність проти коронавірусу людини SARS-CoV-2 [32].

Дослідження вчених Саарландського університету (Німеччина) довели, що активні речовини препарату Протефлазид® пригнічують активність 3CL-протеази SARS-CoV-2 [26].

Ще одне дослідження противірусної дії Протефлазиду® щодо SARS-CoV-2 було проведено в Національній лабораторії у Галвестоні, яка займається дослідженням коронавірусів, Департаменту мікробіології та імунології Центру біозахисту та нових хвороб. Під час експерименту вірусні частки помістили в клітинні культури нирок зеленої мавпи та клітини легеневої аденокарциноми людини з рецептором АПФ2. В результаті Протефлазид® показав здатність попереджувати реплікацію вірусу та забезпечувати 100% захист від ураження клітин збудником COVID-19 [27].

Отже, проведені доклінічні дослідження підтвердили противірусну дію АФІ Протефлазид® щодо коронавірусу SARS-CoV-2.

Суттєвий інтерес являє собою також здатність флавоноїдів активувати транскрипційний фактор Nrf2.

По-перше, це знижує сприйнятливість рецепторів епітеліальних клітин до вірусних часток та попереджує їх проникнення у клітини організму. Таким способом вдається повністю запобігти зараженню вірусними інфекціями або значно знизити вірусне навантаження на організм та полегшити перебіг захворювання.

По-друге, активація транскрипційного фактору Nrf2 слугує зниженню розвитку оксидативного стресу та запалення. Це сприяє значно легшому перебігу захворювання і швидшому одужанню та супроводжується мінімальними ризиками розвитку ускладнень, завдяки попередженню накопичення в клітинах продуктів окиснення й розпаду.

Встановлено, що на тлі утворення реактивних форм кисню (Reactive oxygen species – ROS) та розвитку оксидативного стресу, який виникає при тяжкому перебігу грипу, ковіду тощо, трапляється цитокіновий шторм. Протизапальні цитокіни та реактивні форми кисню активують епітеліальні та ендотеліальні клітини легень, це сприяє підвищенню проникності міжклітинного простору клітин легень, що в результаті призводить до розвитку гострого респіраторного дистрес-синдрому. В результаті збирається ексудат в альвеолах, що провокує суттєве порушення газообміну в легенях, а при відсутності своєчасного і коректного лікування може стати причиною тромбоутворення та інших тяжких ускладнень [28].

Зменшення оксидативного стресу при активації транскрипційного фактору Nrf2 та його проти-запальна дія захищає організм, завдяки зниженню ризику розвитку гострого респіраторного дистрес-синдрому.

Наразі зусилля ТОВ «Науково-виробнича компанія «Екофарм» разом із науковими партнерами націлені на вивчення впливу препарату Протефлазид® на активацію транскрипційного фактору Nrf2. Результати нашої роботи можна буде побачити у відповідних наукових публікаціях [11, 14, 16, 19–21].

На основі отриманих даних доклінічних досліджень ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України», Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України і Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи Міністерства охорони здоров'я (МОЗ) України опублікували Інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я «Антивірусна активність флавоноїдного препарату Протефлазид®». Даний документ адресно розіслали в міські та обласні управління охорони здоров'я України.

Дані стосовно противірусної активності АФІ Протефлазид® при SARS-CoV-2 сформовані у вигляді доповнень до реєстраційних матеріалів на лікарський засіб та передані на спеціалізовану експертизу до МОЗ України. Згідно з наказом МОЗ України від 06.08.2021 р. № 1680, в інструкцію з медичного застосування препарату Протефлазид®, краплі, в розділ «Фармакодинаміка» внесені зміни. Наказом МОЗ України від 10.09.2021 р. № 1922 аналогічні зміни внесені також в інструкцію до медичного застосування лікарського засобу Флавовір®, сироп [3].

Ретроспективні пілотні клінічні спостереження

У лютому 2020 р. ТОВ «Науково-виробнича компанія «Екофарм» за власної ініціативи почала надавати гуманітарну допомогу медичному персоналу клінік з метою його захисту від інфікування при роботі з хворими на ГРВІ, зокрема COVID-19, грип, які становлять епідеміологічну загрозу. Компанія безкоштовно надала понад 30 тис. флаконів препарату Протефлазид® у краплях понад 140 медичним центрам, які займалися лікуванням хворих на COVID-19.

Результати звітів, отриманих від лікарень, дозволили нам на практиці ще раз упевнитися у високій лікувальній та профілактичній здатності препарату Протефлазид®. Національна академія статистики, обліку та аудиту вивчила листи-звіти 79 клінік з різних регіонів України про результати використання лікарського засобу медичним персоналом у період з 27.02.2020 р. до 01.10.2020 р. [30].

У більшості звітів вказано, що медичні працівники контактували з хворими на вірусні інфекції та мали високий ризик зараження. Загалом препарат Протефлазид® з профілактичною метою протягом вище зазначеного періоду приймали 8 572 особи – з них 7 444 медичні працівники та 1 128 пацієнтів. З лікувальною метою лікарський засіб приймали 433 пацієнти. Отже, загальна кількість осіб, які вживали препарат в рамках організованої акції – 9 005.

У результаті встановлено, що в медичних закладах, які надали ці статистичні дані, летальні випадки відсутні повністю. Також ми порівняли їх з офіційними даними щодо COVID-19 і зробили такі висновки відносно використання Протефлазид® при вірусних захворюваннях:

- відсутня смертність;
- у 2,2 раза вдається зменшити інфікування персоналу через контакт із хворими;
- у 3,3 раза зменшується частота тяжкого клінічного перебігу вірусних інфекцій;
- у 1,8 раза скорочується період лікування.

На основі цих даних можна припустити, що при своєчасному та ширшому застосуванні препарату з профілактичною метою цифри могли б бути ще оптимістичнішими [1, 30].

Вивчивши всі дані доклінічних та клінічних досліджень лікарського засобу Протефлазид® (доклінічна та клінічна специфічна противірусна активність, безпека та ринкова ціна), фахові спеціалісти НАМН України дійшли висновку, що лікарський засіб Протефлазид® має найвищий потенціал для використання з метою профілактики та лікування вірусних захворювань – грипу, COVID-19 та інших ГРВІ [31].

Враховуючи отримані під час доклінічних досліджень результати, дані застосування препарату для лікування та профілактики вірусних інфекцій в медичних установах, клініки почали активно вносити в локальні медичні протоколи первинної медичної допомоги «Коронавірусна хвороба (COVID-19). Амбулаторний етап» рекомендації щодо застосування крапель Протефлазид®.

У зазначених протоколах рекомендовано використовувати Протефлазид®, краплі, при легкому та середньому ступенях важкості в умовах амбулаторного лікування. З урахуванням встановленого додаткового механізму дії: активації фактору Nrf2, препарат може ефективно застосовуватись і при тяжких ступенях розвитку захворювання.

Приймати засіб краще якомога раніше, на самому початку розвитку захворювання, щоб попередити підвищення вірусного навантаження на організм до критичних показників, та запуску небезпечних механізмів патогенезу COVID-19.

Варто розуміти, що тяжкий перебіг вірусних інфекцій та виникнення ускладнень зазвичай зумовлені навантаженням на імунітет людини в результаті неконтрольованого розмноження збудника. Попередити це допомагає призначення препарату Протефлазід® не лише з появою перших ознак хвороби, а й профілактично, особливо в період підвищення захворюваності на грип, ГРВІ тощо.

Висновки

Чим раніше почати етіотропне лікування ГРВІ, зокрема грипу та COVID-19, тим більше шансів досягти повного одужання за короткий період та попередити небажані ускладнення. Саме тому важливо акцентувати увагу на призначенні етіотропного лікування з використанням противірусного засобу прямої дії при появі перших симптомів зараження вірусною інфекцією. У такий спосіб вдасться забезпечити хворого від підвищення вірусного навантаження та можливих ускладнень.

Протефлазід® відноситься до групи етіотропних препаратів з прямою противірусною дією для етіотропної терапії вірусних інфекцій. Він безпосередньо інгібує вірусні РНК-полімерази, ДНК-полімерази та 3CL-протеази, що підтверджується дослідженнями та зазначено в інструкції до застосування. Отже, є всі підстави вносити його в протоколи лікування респіраторних вірусних інфекцій, зокрема, грипу, ковіду.

Застосування препарату Протефлазід®, краплі, для профілактики грипу, COVID-19 та інших ГРВІ дозволяє суттєво зменшити ризик захворювання навіть при контакті з хворим. А це зі свого боку може допомогти покращити епідеміологічну ситуацію загалом.

Література

- Grynevych O., Borshov S., Matyash V. et al. (2021) Proteflazid® effectiveness for prevention and treatment of acute viral respiratory infections in the conditions of COVID-19 in the conditions of SARS-CoV-2. *Pol. Med. J.*, XLIX (292): 255–265.
- Matyash V., Grynevych O., Broun T. (2019) PROTEFLAZID®: clinical studies as evidence base of its antiviral activity. *Pol. Med. J.*, XLVI (271): 30–31.
- Інструкція для медичного застосування лікарського засобу Протефлазід® (зі змінами, згідно з наказом МОЗ України від 06.08.2021 р. № 1680).
- Пальчиковская Л.Г., Васильченко О.В., Платонов М.О. та ін. (2013) Антивирусные свойства растительных флавоноидов – ингибиторов синтеза ДНК и РНК. *Biopolymers and Cell*, 29(2): 150–156.
- Рибалко С.Л. (2020) Вивчення антивірусної активності препарату Протефлазід®, його активних структур на моделі коронавірусу трансмісивного гастроентериту свиней. ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України», 42 с.
- Рибалко С.Л. (2010) Отчет о изучении механизмов действия биологически-активных веществ лечебной субстанции Протефлазид®. ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України», Киев, 83 с.
- Abian O., Ortega-Alarcon D., Jimenez-Alesanco A. et al. (2020) Structural stability of SARS-CoV-2 3CLpro and identification of quercetin as an inhibitor by experimental screening. *Int. J. Biol. Macromol.*, 164: 1693–1703.
- Дерябин О.Н., Завелевич М.П., Старосила Д.Б. та ін. (2020) Природные полифенолы как ингибиторы взаимодействия корона-вирусов с клетками: обзор литературы и экспериментальные данные. *Укр. мед. часопис*, 3(137), Т. 1: 1–5.
- Chen S., Short J.A., Young D.F. et al. (2010) Heterocellular induction of interferon by negativesense RNA viruses. *Virology*, 407: 247–255.
- Jo S., Kim S., Shin D.H., Kim M.S. (2020) Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 35(1): 145–151.
- Lee C. (2018) Therapeutic Modulation of Virus-Induced Oxidative Stress via the Nrf2-Dependent Antioxidative Pathway. *Oxidative Med. Cell. Longev.*, 6208067.
- Li F. (2012) Evidence for a common evolutionary origin of coronavirus spike protein receptorbinding subunits. *J. Virol.*, 86: 2856–2858.
- Li W., Moore M.J., Vasilieva N. et al. (2003) Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*, 426: 450–454.
- McCord J.M., Hybertson B.M., Cota-Gomez A., Gao B. (2020) Nrf2 Activator PB125® as a Potential Therapeutic Agent Against COVID-19. *bioRxiv* 2020.
- Nguyen T.T., Woo H.J., Kang H.K. et al. (2012) Flavonoid-mediated inhibition of SARS coronavirus 3C-like protease expressed in *Pichia pastoris*. *Biotechnol. Lett.*, 34: 831–838.
- Mendonca P., Soliman K.F.A. (2020) Flavonoids Activation of the Transcription Factor Nrf2 as a Hypothesis Approach for the Prevention and Modulation of SARS-CoV-2 Infection Severity. *Antioxidants (Basel)*, 9: 659. doi:10.3390/antiox9080659.
- Ryu Y.B., Jeong H.J., Kim J.H. et al. (2010) Biflavonoids from *Torreya nucifera* displaying SARSCoV 3CL(pro) inhibition. *Bioorg. Med. Chem.*, 18: 7940–7947.
- Seelinger G., Merfort I., Schempp C.M. (2008) Anti-oxidant, antiinflammatory and anti-allergic activities of luteolin. *Planta Med.*, 74(14): 1667–1677.
- Silva-Palacios A., Ostolga-Chavarria M., Zazueta C., Konigsberg M. (2018) Nrf2: Molecular and epigenetic regulation during aging. *Ageing Res. Rev.*, 47: 31–40.
- Theoharides T.C. (2020) COVID-19, pulmonary mast cells, cytokine storms and beneficial actions of luteolin. *BioFactors*: 1–3.
- Wang M.M., Lu M., Zhang C.L. et al. (2018) Oxidative stress modulates the expression of tolllike receptor 3 during respiratory syncytial virus infection in human lung epithelial A549 cells. *Mol. Med. Rep.*, 18: 1867–1877.
- Weng Z., Patel A.B., Panagiotidou S., Theoharides T.C. (2015) The novel flavone tetramethoxyluteolin is a potent inhibitor of human mast cells. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 135(4):1044– 1052.e5.
- Wrapp D., Wang N., Corbett K.S. et al. (2020) structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*, 367: 1260–1263.
- Xue G., Gong L., Yuan C. et al. (2017) A structural mechanism of flavonoids in inhibiting serine proteases. *Food Funct.*, 8(7): 2437–2443.
- Zakaryan H., Arabyan E., Oo A., Zandi K. (2017) Flavonoids: Promising natural compounds against viral infections. *Arch. Virol.*, 162: 2539–2551.
- Luzhetskyy A. (2021) Report: Inhibition of 3CL protease (SARS-CoV-2) by proteflazid. Helmholtz Centre for Infection Research. University of Saarland, Germany. Saarbrücken, 2 p.
- Tseng Ch.-T.K., Drelich A.K. (2021) Report «The efficacy assessment of new compound against SARS-CoV-2 infection in vitro models. Galveston National Laboratory, Galveston, USA, 4 p.
- ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України», Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ (2021) Інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я «Антивірусна активність флавоноїдного препарату Протефлазід®», 4 с.
- Інструкція для медичного застосування лікарського засобу Флавовір® (зі змінами, згідно з наказом МОЗ України від 10.09.2021 р. № 1922).
- Момотюк Л.Є., Ященко Л.О., Мотузка О.М. (2020) Заключний звіт «Формування бази даних та статистичний аналіз ефективності використання препарату Протефлазід®, краплі в умовах COVID-19». Національна академія статистики, обліку та аудиту. Київ, 38 с.
- Рекомендаційний лист НАМН України від 16.03.2021 р. № 5–03/487 щодо доцільності використання препарату Протефлазід®, краплі, при COVID-19.
- Karamuska T. (2020) Interim report «Evaluation of the antiviral activity of a test item against SARS-CoV-2 in vitro in Vero E6 cells» IRTA-CreSA Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, 8 p.