

Keserű György Miklós

■ Természettudományi Kutatóközpont, Gyógyszerkémiai Kutatócsoport

■ Magyar Koronavírus Kutatási Akciócsoport

# Vírusellenes kezelési lehetőségek Covid-19 fertőzésben

A kínai Wuhanból induló, Covid-19 járványt okozó SARS-CoV-2 koronavírus terjedése és a járvány széles körű kibontakozása még a legfejlettebb országokat is váratlanul érte. A járvány kitörésekor a vírussal kapcsolatos ismeretek korlátossága, valamint a védekezéshez szükséges tárgyi és szervezési feltételek hiányosságai jelentős terhelést okoztak az egészségügyi ellátórendszerben. Az egészségügyi, társadalmi és gazdasági következmények mérséklésében meghatározó szerepet játszanak az utazási korlátozások, a védőeszközök széles körű használata, a fertőtlenítés előírása, a szociális távolságtartás stratégiája, az ellátórendszer technikai felkészítése, valamint a lehetséges terápiás protokollok kidolgozása és a 2020 végétől megindult vakcináció.

Cikkünkben a Covid-19 fertőzöttek kezelésére szolgáló lehetőségek közül a kifejezetten vírusellenes terápiás lehetőségeket tekintjük át. A SARS-CoV-2 koronavírus felépítését, tulajdonságait és szaporodásának jellegzetességeit a nemzetközi tudományos közösség példátlan összefogásának eredményeként néhány hónap alatt sikerült megfejteni. Ezek az alapvető eredmények nélkülözhetetlenek bizonyultak a lehetséges terápiás megoldások kidolgozásában. A gyors terjedés, a fertőzöttek nagy száma és az ellátórendszer terhelése miatt a legrövidebb időn belül bevezethető megoldások élveznek prioritást. Ezért elsősorban olyan megoldások jöttek szóba, amelyek már meglévő, eredetileg más betegségekre kifejlesztett és alkalmazott gyógyszereket használnak Covid-19 fertőzöttek kezelésére. A már törzskönyvezett gyógyszerek Magyarországon kétféleképpen alkalmazhatók új indikációban. Lehetőség kínálkozik meglévő gyógyszereknek a szokásos indikáción kívüli, úgynevezett „off-label” alkalmazására, valamint meglévő gyógyszerek indikációjának kiterjesztésé-

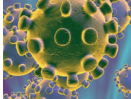
re is. Az így azonosított kezelési lehetőségek távolról sem tekinthetők tökéletesnek, azonban a gyors beavatkozási lehetőségnek köszönhetően sok fertőzött kezelésében jelentettek és jelentenek hatékony terápiát. A járvány kezelésében nyilvánvalóan a vakcinációnak van döntő szerepe. Azonban a vakcinákkal kapcsolatos gyártási és logisztikai problémák megoldásáig, a megfelelő átoltozottság eléréséig a vírusellenes terápiás lehetőségekre továbbra is szükség van. Sajnos, még kiterjedt vakcináció mellett is kicsi az esélye annak, hogy a SARS-CoV-2 koronavírus eltűnik a Földről. Különböző mutációi várhatóan hosszú időn keresztül velünk maradnak, ezért az ismert gyógyszerek Covid-19 célú újrapozicionálása mellett szükség van új, specifikus terápiás lehetőségek kifejlesztésére is. A hazánkban működő kutatócsoportok célzott projektjeit összegyűjtve cikkünk második felében ezekre a fejlesztésekre is kitérünk.

Az indikáción kívüli használat alapesetben Magyarországon engedélyköteles, azonban az európai és az amerikai gyakorlati összhangban az Országos Gyógyszerészeti és Élelmszer-egészségügyi Intézet (OGYÉI) 2020. március 27-én ezen jelentősen könnyített. Az engedély előzetes kérelmezésének felfüggesztése lehetővé tette, hogy a koronavírus-terápiában felmerült gyógyszerkészítmények használatához az ellátóhelyeknek *nem kellett előzetes engedélyt kérni az OGYÉI-től*. A már bevezetett gyógyszerek úgy is használhatók a Covid-19 fertőzés kezelésére, ha kiterjesztik az indikációt. Ennek azonban feltétele, hogy az új indikációban a hatékonyságot és a biztonságosságot tudományosan megalapozott klinikai vizsgálatokban igazoljuk. A koronavírus-járvány hatására az OGYÉI ebben is lépett, és engedélyezte minden olyan fejlesztés alatt lévő gyógyszer indikációjának Covid-19 irányú kiterjesztését, amelyre

legalább „fázis 1” klinikai vizsgálatot már lefolytattak, vagy ilyen vizsgálat már folyamatban van.

Az újrapozicionálási lehetőségek felméréséhez a vírus sajátosságai mellett a betegség szakaszaira is tekintettel kell lennünk. A betegség a megfertőződéssel kezdődik, majd egy rövid, néhány napos inkubációs szakaszt követően jelentkeznek az első tünetek: többek között láz, köhögés, fáradtság, fejfájás. Ezek jelzik, hogy megkezdődött a betegség úgynevezett virális szakasza, mely körülbelül hét-nyolc napig tart. Ezután a fertőzöttek egy részénél nehézlégzés alakul ki, melynek hátterében legtöbbször kezdődő tüdőgyulladás áll. A tüdőgyulladás már a gyulladáshoz vezető szakasz kezdetét jelzi, majd a tünetek súlyosbodásával a gyulladás kiterjed a teljes tüdőre. Emiatt légzési elégtelenség léphet fel: ezek a betegek már nyilvánvalóan kórházi ellátásra szorulnak. A gyulladáshoz vezető folyamatok kiterjedésével szükség lehet légzéztámogatásra, intenzív terápiás ellátásra. A gyulladás előrehaladtával a gyulladáshoz vezető faktorok gyors és lökészerű fellépése vezethet a citokinvihar kialakulásához, amely életveszélyes állapotot is okozhat.

A vírusellenes kezelési lehetőségek ennek megfelelően elsősorban a fertőzés kezdeti, virális szakaszában lehetnek hatásosak, amikor az emberi szervezetet jelentős vírusterhelés éri. A Covid-19 betegséget okozó SARS-CoV-2 vírus a koronavírusok családjába tartozik, mely onnan kapta az elnevezését, hogy a felszínén tüskeszerű kinövéseket okozó fehérjék azonosíthatók. A vírusfertőzés során a vírus tüskéfehérjéje egy, az emberi sejt felszínén lévő másik fehérjéhez, az ACE2-receptorhoz kapcsolódik, így a vírus és az emberi sejt kapcsolatba kerül. Ezt követően a sejt membránjában kifejeződő másik fehérje, a TMPRSS2 proteáz elvágja ezt a tüskéfehérjét, és ezzel elindul az a folyamat, melynek

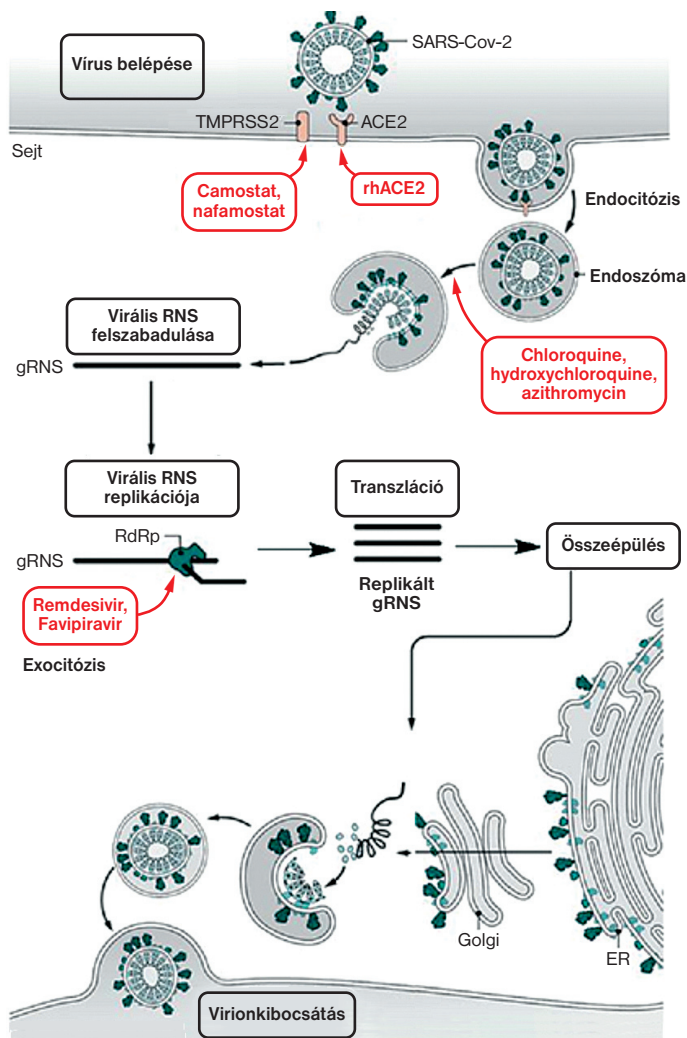


során a vírus bekerül a sejt belsejébe. A sejt belsejébe került vírusból kiszabadul a virális RNS, majd az RNS-függő RNS-polimeráz fehérje segítségével megkezdődik a virális RNS szaporítása, a replikáció. A felszaporított virális RNS ezt követően – transzláció hatására – virális fehérjévé alakul, amelyből a vírus fő proteáz enzime segítségével létrejönnek a vírus fehérjéi. Végül ezek a fehérjék összeépülnek, és a kész vírus elhagyja a sejtet (1. ábra).

A vírus endocitózissal jut be a gazdasejtbe, amit az angiotenzin-konvertáló enzim II (ACE2) fehérje, illetve a sejtmembránban található transzmembrán szerin proteáz 2 TMPRSS2) fehérje gátlásával lehet megakadályozni. Amikor a vírus már bejutott a gazdasejtbe, a következő lépés a virális RNS replikációja és átírása. Ebben a folyamatban helikázok és RNS-függő RNS-polimerázok vesznek részt, amelyek szintén szóba jöhetnek lehetséges célpontként. Az életciklus következő lépése a transzláció és a megfelelő virális fehérjék létrehozása, amelyet leginkább proteázgátló vegyületekkel gátolhatunk. Véget ért elvi lehetőség kínálkozik a virion alkotóelemei összerendezésének, illetve az új vírusok kibocsátásának a gátlására is.

A SARS-CoV-2 koronavírus gazdasejtekbe történő bejutásában lényeges szerephez jut a sejt felszíni ACE2 fehérje. Tekintettel arra, hogy az ACE-inhibitorokat széles körben alkalmazzák a magasvérnyomás-betegség kezelésében, e gyógyszerek lehetséges szerepe már a járvány korai szakaszában felmerült. Egyrészt feltételezték, hogy a kezelés mellékhatásaként fokozódhat az ACE2 fehérje kifejeződése, ami fokozhatja a Covid-19 fertőzés esélyét. Ugyanakkor az is felmerült, hogy az ACE-gátlás akár kedvező hatással is lehet a betegség lefolyására. Az időközben kiértékelt két nagy megfigyelésalapú klinikai vizsgálat szerint azonban a vizsgált gyógyszerek hatása és a Covid-19 fertőzöttség között nem mutatható ki összefüggés.

A vírusfertőzés kialakulását az ACE2 fehérje és a vírus tüskefehérje közötti felismerés gátlásával is meg lehet akadályozni. Erre a megközelítésre példa a ma már hazánkban is elérhető bamlavinimab, az első ideiglenes engedéllyel rendelkező monoklonális antitest-terápia, amelyet az első amerikai gyógyult betegek egyikéből vett vérmintából fejlesztettek ki. A bamlavinimab a SARS-CoV-2 koronavírus semlegesítésére alkalmas, rekombináns technológiával előállított IgG1κ típusú monoklonális antitest, amely a vírus tüskefehérjének receptorkötő alegységéhez kapcsoló-



**1. ábra. Újrapozicionálási lehetőségek a SARS-CoV-2 koronavírus életciklusában**

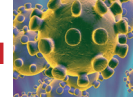
rhACE2: rekombináns humán ACE2, gRNS: genomális RNS, RdRp: RNS-függő RNS-polimeráz, ER: endoplazmatikus retikulum (DOI: 10.1126/science.abb9332 alapján)

dik, és ezáltal megakadályozza, hogy a tüskefehérje az emberi sejtek felszínén jelen lévő ACE2 receptorokhoz kapcsolódjon.

A SARS-CoV-2 tüskefehérjét hatékonyan és specifikusan kötő, a monoklonális ellenanyagok hatásához részben hasonló hatóanyag fejlesztésébe magyar kutatók is bekapcsolódtak. Az Eötvös Loránd Tudományegyetem vezetésével, valamint a Pécsi Tudományegyetem, a Richter Gedeon Nyrt. és az ImmunoGenes Kft. részvételével létrejött magyar konzorcium egy két részből álló fúziós fehérjét fejleszt, amelynek egyik eleme a vírust a sejtekbe vezető ACE2 receptor szintetikus előállított része: ez felismeri a tüskefehérjét, így a vírus az emberi sejtek receptorai helyett a fúziós fehérjéhez kötődik. A másik komponense az IgG (immunglobulin G) stabilizálásért felelős ún. Fc-régió. A pécsi Szentágothai János Kutatóközpont kutatóinak sikerült igazolniuk, hogy a fúziós fehérje sejt kultúrában gátolja a SARS-CoV-2 fertőzőképességét, és azt is kimutatták, hogy

hőcsögökben megakadályozta a súlyos betegség kialakulását. Az ELTE és az ImmunoGenes kutatói pedig már állatkísérletekben is bizonyították a biológikum hosszú felezési idejét, stabilitását. A Richter Gedeon szakértőinek segítségével előállított hatóanyag engedélyezéséhez szükséges dokumentációt a konzorcium hamarosan benyújtja az Európai Gyógyszerügynökség (EMA) részére, és ezzel a várakozások szerint elkezdődhetnek a klinikai vizsgálatok. A megközelítés jelentőségét növeli, hogy nemcsak a fertőzötteket képes megvédeni a súlyos betegségtől, de alkalmas a fertőzés megelőzésére is.

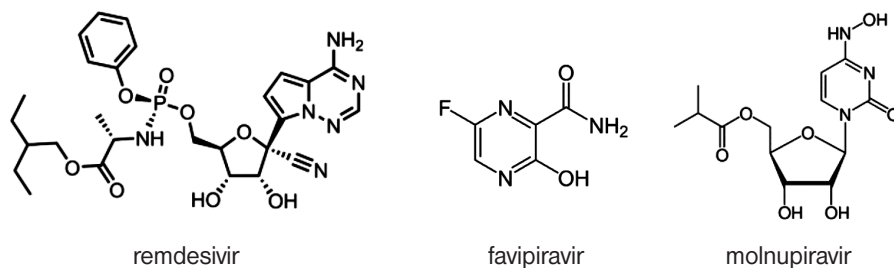
A vírus gazdaszervezetbe történő bejutását a TMPRSS2 fehérjét gátló szerin-proteáz inhibitorok segítségével is megkísérelték gátolni, ezek közül a camostatot, illetve a nafamostatot érdemes megemlíteni. A camostatot 1985-ben Japánban törzskönyvezték, eredetileg hasnyálmirigy-gyulladás indikációban. Szerin-proteáz-gátló hatásának köszönhetően került fel az al-



kalmazása Covid-19-cel fertőzöttek kezelésére. Hasonló hatásmechanizmussal rendelkezik a nafamostat, amelyet 1999-ben szintén Japánban törzskönyveztek. Jóllehet mindkét gyógyszer sikeresen gátolta a vírus szaporodását humán *in vitro* kísérletekben, csak alacsony betegszám mellett és jellemzően nem klinikai vizsgálatban alkalmazták őket, és ez alapján jelenleg nem lehet egyértelmű következtetést levonni a hatékonyságra. A kezelések hatékonyságának és biztonságosságának igazolására további vizsgálatok szükségesek.

Az emberi szervezetben található különféle szerin-proteázok szerteágazó biológiai funkciója miatt ugyanakkor lényeges, hogy a TMPRSS2 fehérje gátlása kellően szelektív legyen. Ehhez olyan gátlószerekre van szükség, amelyek nemcsak hatékonyak, de specifikusan ismerik fel a fehérje kötőhelyét. Ilyen inhibitorok kifejlesztésére vállalkozott az ELTE és a Természettudományi Kutatóközpont kutatói által alapított spin-off cég, az Evolveritas Kft. Az inhibitorfejlesztés a cégben már korábban is sikerrel alkalmazott *in vitro* fehérjeevolúciós technikán, a fágbemutatáson alapul. A módszerrel az emberi szervezetben jelen lévő egyik inhibitorvázból kiindulva milliárdnyi egyedi variánst készítenek, és kiszekelálják azokat, amelyek specifikusan gátolják a TMPRSS2 proteáz enzimaktivitását. Ehhez először nagy mennyiségben, aktív formában kell előállítaniuk a rekombináns TMPRSS2 proteázt. Ez nem triviális feladat, mivel a TMPRSS2 membránfehérje, amely rendkívül hajlamos önmagával és más fehérjékkel diszulfidhidas komplexeket képezni. Jelenleg a rekombináns fehérje termelésének és izolálásának optimalizálásán dolgoznak annak érdekében, hogy megfelelő mennyiségű és minőségű célfehérje álljon rendelkezésre az inhibitorok irányított evolúciójához.

A virális RNS endoszómából való kijutásában tulajdonítottak szerepet a klorokinnak, illetve a hidroxiklorokinnak. A klorokint 1934-ben fedezték fel Németországban: maláriaellenes gyógyszer, amelyet profilaxisban is használnak. A hidroxiklorokint 1955-ben az Egyesült Államokban regisztrálták autoimmun gyulladások, illetve reumatoid artritisz kezelésére. E vegyületek esetében többféle hatásmechanizmus is felmerült: elképzelhetőnek tartották például, hogy a virális RNS kijutása kerül gátlás alá az endo/lizoszóma pH-változtatásával, vagy a közvetlen RNS-kötődés miatt létrejön a transláció gátlása, vagy általánosabban a vírusfertőzés következményeképpen kialakuló gyulladásra fejtenek ki



2. ábra. A SARS-CoV-2 koronavírus RNS-függő RNS-polimerázát gátló antivirális gyógyszerek

hatást. Bár a korai *in vitro* és *in vivo* vizsgálatok reményt keltőek voltak, a klinikai vizsgálatok e gyógyszerek hatékonyságát Covid-19 fertőzésben nem igazolták. A klorokin és a hidroxiklorokin esete ezért jó példa arra, hogy az újrapozicionálás sikerességét egyedül tudományos igényű klinikai vizsgálatokban lehet bizonyítani.

Az antivirális szerek egyik legfontosabb támadáspontja az RNS-függő RNS-polimeráz, amelyre korábban több specifikus gátlószert is kifejlesztettek. Tekintettel arra, hogy a Covid-19 fertőzést okozó SARS-CoV-2 vírus az RNS-vírusok családjába tartozik, a Covid-19 járványban leginkább ezeket a gyógyszereket, elsősorban a remdesivirt és a favipiravirt próbálták ki (2. ábra).

A remdesivir „nukleozid prodrug”, amely a sejtbe jutva aktiválódik, majd a virális RNS-be beépülve megakadályozza annak reprodukcióját. A remdesivirt 2009-ben az Egyesült Államokban fejlesztették ki, alapvetően hepatitis C vírus, a Marburg-vírus, illetve az ebolavírus okozta fertőzések ellen. Az intravénás adagolású gyógyszerrel számos vészhelyzeti indíttatású és több tudományos igényű klinikai vizsgálatot végeztek Covid-19 fertőzésben, illetve jelenleg is több ilyen vizsgálat van folyamatban, amelyek eredménye döntő lehet a remdesivir alkalmazhatóságának és terápiás értékének megítélésében. Annak érdekében, hogy a remdesivir a szükséges mennyiségben a magyar betegek számára is elérhető legyen, a Richter Gedeon Nyrt. az Innovációs és Technológiai Minisztérium (ITM) megbízásából kidolgozta és megvalósította a remdesivir hatóanyag és gyógyszerkészítmény fejlesztését. Az összehangolt és nagyléptékű erőfeszítéseknek köszönhetően a hazai előállítású remdesivir a HECRIN klinikai kutatási konzorcium által szervezett vizsgálatban több ezer magyar beteg gyógyulásához járulhatott hozzá.

A SARS-CoV-2 vírus RNS-függő RNS-polimerázának gátlására alkalmas másik antivirális gyógyszer a favipiravir, amelyet 2014-ben az influenza A és B típusának ke-

zelésére vezettek be Japánban. A favipiravir szájon át adható, széles spektrumú antivirális gyógyszer, amely számos RNS-vírus ellen alkalmazható sikerrel. Idetartoznak a sárgalázvírus, a Dengue-vírus, a nyugat-nílusi vírus, a korábbi SARS- és MERS-vírusok, az influenzavírusok, a Lassa-láz, a különböző hantavírusok, az ebola-, illetve a Szudán-vírusok is. Favipiravirral eddig több vészhelyzeti forgatókönyv szerint befejezett kínai és egy tudományos igényű japán klinikai vizsgálat történt. Az eddig nyilvánosságra hozott adatok ugyan biztatóak, de a favipiravir hatékonyságát és biztonságosságát Covid-19 fertőzésben kauzusi populáció tudományos igényű klinikai vizsgálatokkal eddig még nem erősítették meg. A Covid-19 járvány hazai terjedésével kutatócsoportunk a favipiravir antivirális készítmény fejlesztésével és vizsgálatával kezdett foglalkozni. Ennek érdekében indult meg az ITM támogatásával a magyar favipiravir-fejlesztés, amelynek alapvetően három célja volt. Az első cél a független hazai gyártás biztosítása a magyar Covid-19 betegek számára, második célként a már említett tudományos igényű klinikai vizsgálatot jelöltük meg, amellyel a hatékonyságot és a biztonságosságot tudjuk igazolni Covid-19 fertőzésben. Ez egyben megalapozhatja a favipiravir újrapozicionálását influenza-indikációból Covid-19 fertőzés kezelésére. A projekt egy harmadik lehetséges célja, hogy amennyiben a favipiravir hatékonysága és biztonságossága a Covid-19 fertőzésben igazolódik, akkor a kidolgozott technológia alapján a gyártás felfuttatásával a magyar igények biztosítását követően exportcikk lehessen Magyarország számára. A hatóanyag és a gyógyszerkészítmény fejlesztését a Természettudományi Kutatóközpont által vezetett konzorcium (TTK – Első Vegyi Industriá Zrt. – Richter Gedeon Nyrt. – Meditop Kft.) valósította meg. A favipiravir ipari léptékű gyártásának elindítására a tárgyalások folyamatban vannak. A klinikai vizsgálatok szervezését és lebonyolítását a Pécsi Tudományegyetem HECRIN kon-

