

ОБЗОР

©Коллектив авторов

ОБМЕН ЖЕЛЕЗА В КЛЕТКЕ КАК МИШЕНЬ ПРИ СОЗДАНИИ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ АНТИМИКРОБНЫХ И ПРОТИВОВИРУСНЫХ СРЕДСТВ

С.В. Благодаров^{1,2*}, Г.А. Желтухина^{1,2}, В.Е. Небольсин²

¹МИРЭА — Российский технологический университет (МИТХТ),
119571, Москва, пр-т Вернадского, 86; *эл. почта: laboratory211@yandex.ru

²«Фарминтерпрайсез», 121205, Москва, тер. Инновационного центра Сколково, Большой бульвар, 42

Поиск и создание инновационных антимикробных препаратов, действующих в отношении резистентных и полирезистентных штаммов бактерий и грибов, является одной из важнейших задач современной биоорганической химии и фармацевтики. Поскольку железо необходимо для жизнедеятельности практически всех организмов, включая млекопитающих и бактерий, белки, участвующие в его обмене, могут служить в качестве потенциальных мишеней при создании новых перспективных антимикробных агентов. К таким мишеням относятся эндогенные биомолекулы млекопитающих — гемоксигеназы, сидерофоры, белок 24p3, — а также гемоксигеназы и сидерофоры бактерий. Определённый интерес представляют и другие белки, которые ответственны за доставку железа в клетки и его баланс между бактериями и организмом хозяина. В обзоре обобщены данные по созданию ингибиторов и индукторов (активаторов) гемоксигеназ, селективных для млекопитающих и бактерий, обсуждаются особенности их механизмов действия и строения. На основании рассмотренных литературных данных сделан вывод о перспективности использования гемина — самого мощного индуктора гемоксигеназы — и его производных в качестве потенциальных антимикробных и противовирусных агентов, в частности против COVID-19 и других опасных инфекций. При этом важная роль отводится продуктам деградации гемина под действием гемоксигеназ, в том числе *in vivo*. Определённое внимание уделено данным по антимикробному действию не содержащих железа протопорфиринов, а именно комплексов с Co, Ga, Zn, Mn, их преимуществам и недостаткам по сравнению с геминем. Модификация известного антибиотика цефтазида молекулой сидерофора повысила эффективность его действия против резистентных бактерий.

Ключевые слова: железо; гемоксигеназа; сидерофоры; антибактериальная и противовирусная активность; гемин; белок 24p3

DOI: 10.18097/PBMC20236904199

ВВЕДЕНИЕ

В связи с широким распространением резистентных и полирезистентных штаммов бактерий и грибов существует проблема поиска и создания инновационных антимикробных препаратов с оригинальными механизмами действия.

Известна важная роль, которую играет железо в жизнедеятельности практически всех живых организмов, в том числе млекопитающих и бактерий [1–3]. Это позволяет рассматривать обмен железа в клетках последних в качестве привлекательной мишени при создании новых антимикробных агентов с новыми механизмами действия.

В обмене железа у млекопитающих участвуют такие агенты как, гемоксигеназы, сидерофоры, белок 24p3, а у бактерий — свои специфические гемоксигеназы и сидерофоры. Создание ингибиторов и индукторов гемоксигеназ, селективных для млекопитающих и бактерий, может стать одним из перспективных направлений для конструирования новых антимикробных средств.

В связи с этим особое внимание привлекает гемин. Он является наиболее мощным индуктором гемоксигеназ; производные гемина и продукты его деградации могут быть использованы для достижения поставленной цели [4]. В связи с этим

определённый интерес представляют металлокомплексы протопорфиринов, не содержащие железа. Ещё одно перспективное направление, развиваемое многочисленными исследователями в данной области — модификация сидерофорами молекул известных антибиотиков (стратегия “троянского коня”). Так, подобная ковалентная модификация антибиотика цефтазида позволила повысить его эффективность против резистентных бактерий [5].

В данном обзоре обобщены данные литературы по созданию ингибиторов и индукторов (активаторов), селективных в отношении гемоксигеназ млекопитающих и бактерий.

1. БЕЛОК 24p3

Белок 24p3 является членом семейства липокалиновых белков, которые связывают различные гидрофобные молекулы (стероиды и др.). Белок 24p3 представляет собой небольшой (≈60 кДа) гликопротеин, устойчивый к протеиназам [6]. Он присутствует в межклеточном пространстве нейтрофилов, гепатоцитов, клеток лёгких, костного мозга, жировой ткани, макрофагов, тимуса, протоков здоровых молочных желез, предстательной железы и почек [7]. Белок 24p3 не обладает способностью взаимодействовать непосредственно с ионами железа,

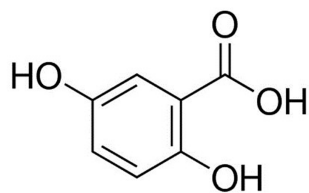


Рисунок 1. Структурная формула 2,5-дигидроксibenзойной кислоты.

а связывает его в составе низкомолекулярного соединения — хелата железа — с так называемым сидерофором — 2,5-дигидроксibenзойной кислотой (рис. 1) [8].

1.1. Сидерофоры млекопитающих

Сидерофоры представляют собой низкомолекулярные высокоаффинные хелатирующие железо соединения, выделяемые клетками живых организмов для доставки им ионов железа Fe^{3+} .

Синтез 2,5-дигидроксibenзойной кислоты в клетках млекопитающих катализирует фермент 3-гидроксibuтиратдегидрогеназа (BDH2). Ферменты с аналогичной BDH2 функцией были найдены у дрожжей, рыб Данио, а также у бактерий [9].

В культивируемых клетках млекопитающих, а также в клетках дрожжей и эмбрионах рыб Данио дефицит 2,5-дигидроксibenзойной кислоты приводит к аномальному накоплению цитоплазматического железа и дефициту митохондриального железа, что связано со снижением транспорта железа из растворимой части клетки в митохондрии [9]. В экспериментах *in vitro* в клетках с дефицитом сидерофоров наблюдался повышенный уровень активных форм кислорода (АФК). Такие клетки более чувствительны к окислительному стрессу по сравнению с обычными. В экспериментах *in vivo* у мышей, неспособных синтезировать сидерофоры, происходило аномальное накопление железа в селезёнке и, в меньшей степени, в печени [10]. Кормление таких мышей пищей, содержащей большое количество железа, приводило к их гибели. С другой стороны, кормление таких мышей пищей с дефицитом железа приводило к выраженной анемии [10].

Регуляция содержания железа в исследованных клетках млекопитающих (клетки почек крысы, мыши, собаки, а также опухолевые клетки почки человека) происходит следующим образом [11]. Белок 24p3, содержащий комплекс ионов железа с сидерофором, связывается на поверхности клеток млекопитающих с рецептором 24p3R, проникает внутрь клетки и высвобождает ионы железа, связанные с белком 24p3. Это приводит к повышению необходимой клеткам млекопитающих концентрации цитоплазматического железа. Белок 24p3, не содержащий железа, взаимодействуя с поверхностным рецептором 24p3R на мембране, проникает внутрь клетки и после связывания с внутриклеточным сидерофором образует комплекс с железом и переносит его во внеклеточную среду, тем самым снижая концентрацию внутриклеточного железа в клетках млекопитающих [11] (рис. 2).

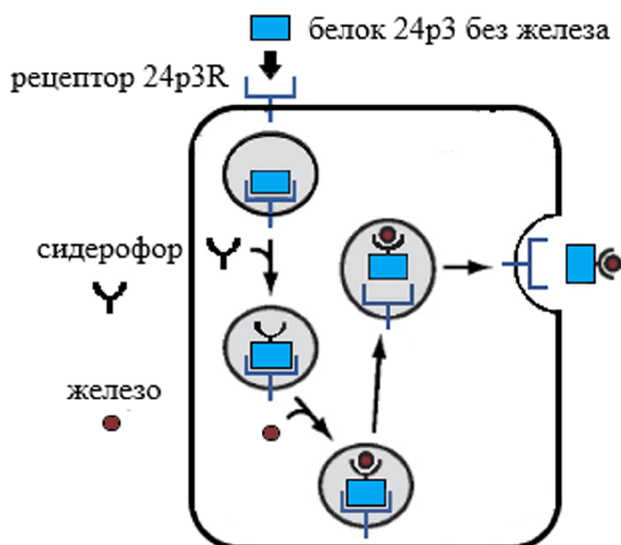


Рисунок 2. Схематическое изображение выхода железа из клеток млекопитающих с помощью белка 24p3. Пояснения приведены в тексте (адаптировано из [11]).

Кроме того, у млекопитающих в ходе борьбы с бактериальными инфекциями происходит понижение количества циркулирующей 2,5-дигидроксibenзойной кислоты, а также её комплексов с железом, что снижает поступление ионов железа, в том числе в бактериальные клетки [12].

2. БАКТЕРИАЛЬНЫЕ СИДЕРОФОРЫ

Основная функция сидерофоров бактерий, дрожжей и грибов (всего более 500 видов) заключается в захвате железа, связанного с белками хозяина, и доставке железа в бактериальную клетку. Благодаря высокой способности бактериальных сидерофоров связываться с железом (константа связывания 10^{22} – 10^{50} моль/л), они удаляют железо из таких белков, как трансферрин, лактоферрин, но при этом не удаляют железо из гемсодержащих белков [2]. Кроме того, бактериальные сидерофоры способны образовывать комплексы с водонерастворимыми солями трёхвалентного железа [2]. Большинство микроорганизмов синтезируют хотя бы один сидерофор [13]. В зависимости от химической структуры бактериальные сидерофоры можно разделить на пять классов — катехолаты и феноляты (“арильные кэпы”), гидроксаматы (α -оксикарбоновые кислоты), карбоксилаты (дикарбоновые и трикарбоновые кислоты) и сидерофоры смешанного типа. Например, штаммы бубонной чумы *Yersinia* выделяют сидерофор — иерсиниабактин (рис. 3). Бактерия *Pseudomonas aeruginosa* в условиях дефицита железа выделяет сидерофоры пиовердин, орибактин, цепабактин (рис. 3) и пиохелин [2]. При этом основным сидерофором является пиовердин. В условиях дефицита железа бактерия *P. aeruginosa* способна выделять также салициловую кислоту. Однако авторы [14] не считают её сидерофором, так как салициловая кислота имеет низкую константу связывания с Fe^{3+} при физиологических pH.

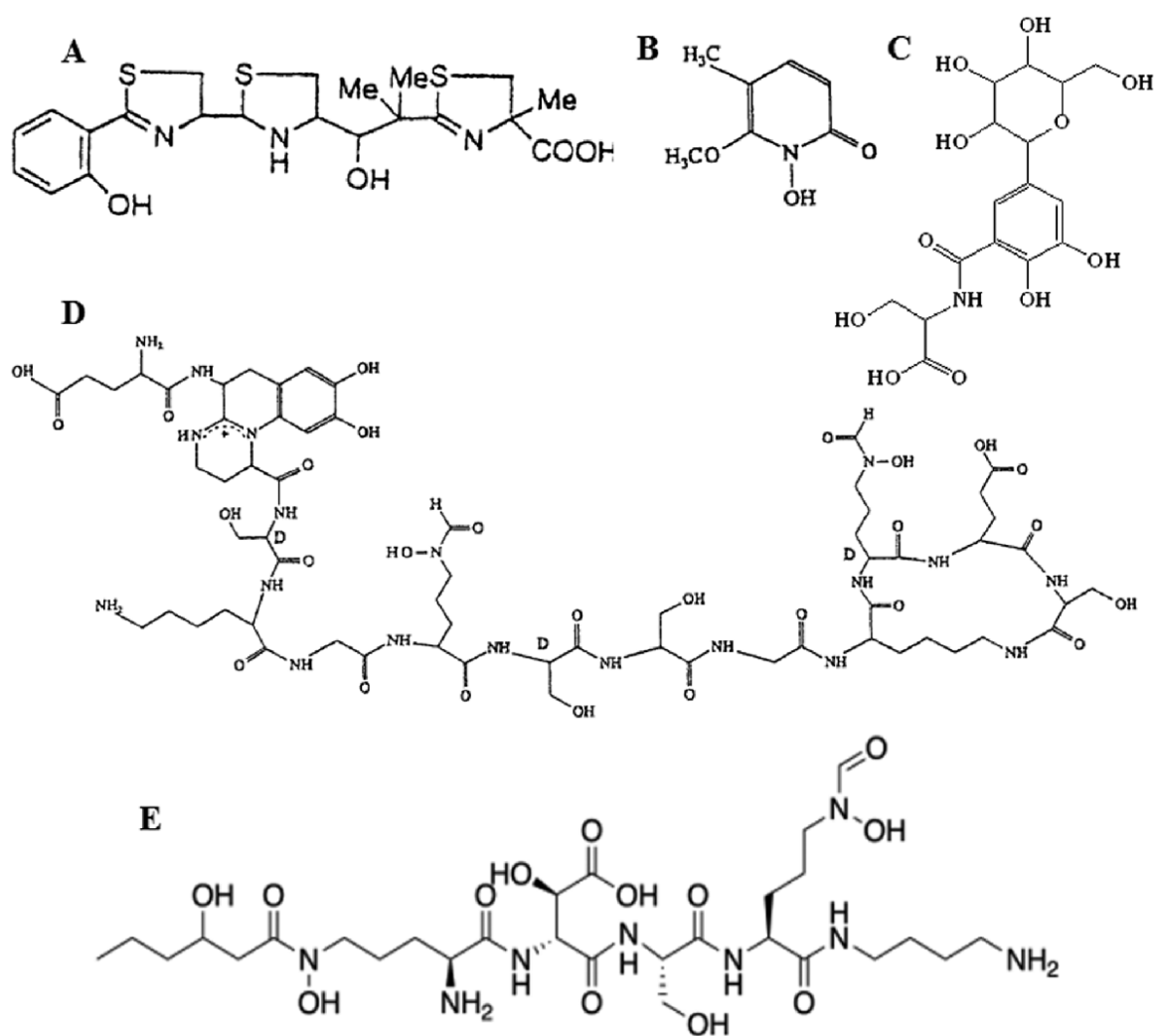


Рисунок 3. Структурные формулы сидерофора иерсиниабактина (А), цепабактина (В), сальмохелина (С), пиовердина (D), орнибактина (Е).

Механизмы поглощения комплексов бактериальных сидерофоров с железом грамположительными и грамотрицательными бактериями различаются. Главное отличие заключается в отсутствии у грамположительных бактерий внешней мембраны, через которую должны перемещаться комплексы сидерофоров с железом. Грамотрицательные бактерии на своей внешней мембране имеют рецепторы, способные распознать комплекс сидерофора с железом. После связывания комплекса с рецептором происходит конформационное изменение последнего, и комплекс сидерофора с железом проникает в периплазматическое пространство, а затем в цитозоль. В цитозоле железо восстанавливается и затем связывается с АТР-связывающими транспортными белками семейства ABC на цитоплазматической мембране (рис. 4).

В связи с тем, что у грамположительных бактерий нет внешней мембраны, сидерофоры импортируются непосредственно внутрь клетки с помощью расположенного в мембране связывающего белка и АТР-связывающих транспортных белков семейства ABC. Дальнейшая участь сидерофоров после высвобождения железа изучена недостаточно.

В некоторых случаях сидерофоры могут повторно использоваться или подвергнуться гидролизу с высвобождением железа [16, 17]. Например, в бактерии *P. aeruginosa* выделение железа из комплекса с пиовердином осуществляется без химической деградации сидерофора. Последний после выделения железа перемещается во внеклеточную среду и способен захватывать новые ионы железа. Напротив, разделение комплекса энтеробаكتина с железом в бактериях *Salmonella* и *Escherichia coli* осуществляется путём гидролиза [17].

3. АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ БЕЛКА 24p3

В железосвязывающей части бактериального сидерофора энтеробаكتина содержится 2,3-дигидроксibenзойная кислота (рис. 5), которая имеет родственную структуру с сидерофором млекопитающих — 2,5-дигидроксibenзойной кислотой [9]. По-видимому, благодаря этому белок 24p3 способен захватывать не только сидерофор млекопитающих, но и сидерофоры бактериальных клеток.

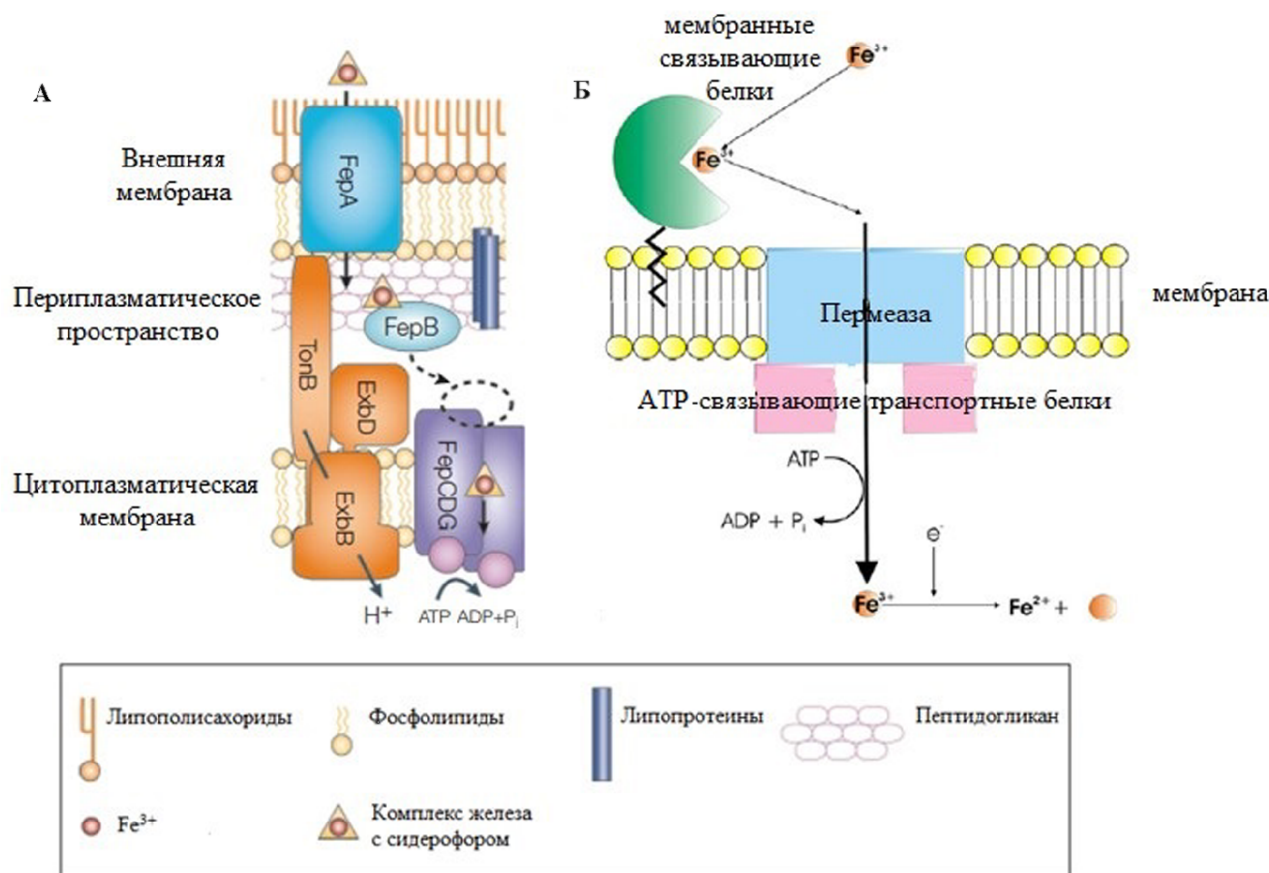


Рисунок 4. Система поглощения комплекса железа с сидерофором в грамотрицательных (А) и грамположительных (Б) бактериях. Поверхностные рецепторные белки (FerA) выделены синим, периплазматические белки (FerB) – голубым, переносчики, управляемые АТФ (FerCDG) – фиолетовым, TonB, ExbD – закреплённые на мембране периплазматические белки, ExbB – интегральный мембранный белок (адаптировано из [15, 16]). Цветная версия рисунка доступна в электронной версии журнала.

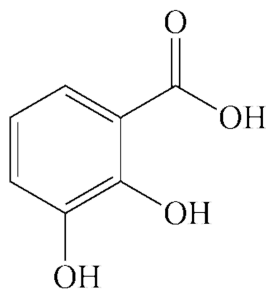


Рисунок 5. Структурная формула 2,3-дигидроксibenзойной кислоты.

Связываясь с бактериальными сидерофорами в межклеточном пространстве, белок млекопитающих 24p3 препятствует поступлению железа в бактериальные клетки, тем самым проявляя бактериостатическую активность. При этом в литературных источниках отсутствует информация о возможности проникновения белка 24p3 внутрь бактериальных клеток [18].

Белок 24p3 связывается с бактериальным сидерофором энтеробактином, находящимся как в железосвязанной, так и в свободной форме. Затем образующийся комплекс железосвязанного энтеробактина с белком 24p3 транспортируется в клетки млекопитающего, в которых железо

запасается. В отличие от первого сценария, комплекс энтеробактина без железа с белком 24p3 вызывает интенсивное выделение провоспалительного цитокина интерлейкина-8 (IL-8) эпителиальными клетками [19], который привлекает к себе нейтрофилы. Последние играют важную роль в защите мышей *in vivo* от развития бактериемии и сепсиса, вызванного *Klebsiella pneumoniae* [20].

Интересно, что в процессе мутагенеза штаммы грамотрицательных бактерий, в том числе штаммы *E. coli*, *K. pneumoniae* и др., а также грамположительный *Staphylococcus aureus* выделяли модифицированные сидерофоры (например, иерсиниабактин и сальмохелин (рис. 3)), которые не захватывались белком 24p3 [19].

Добавление 5 мкМ белка 24p3 к культуре клеток *E. coli* с дефицитом железа приводило к 20-кратному ингибированию роста клеток. Добавление в среду дополнительного количества ионов железа Fe³⁺ приводило к потере способности захватывать дополнительные количества ионов железа белком 24p3, что способствовало возобновлению роста клеток [8]. По мнению авторов [8], белок 24p3 не обладает собственной антибактериальной активностью, а снижение роста клеток бактерий в его присутствии связано со снижением количества доступного для бактерий железа в культуре.

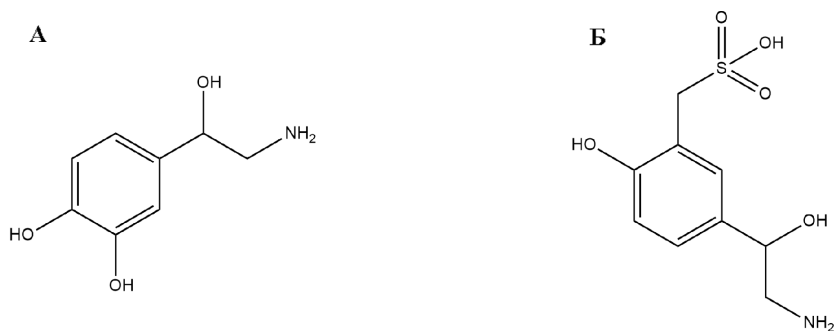


Рисунок 6. Структуры норадреналина (А) и норэпинефрин-3-О-сульфата (Б). Хотя норадреналин и норэпинефрин-3-О-сульфат до сих пор не считаются бактериальными сидерофорами, захват ими железа выявлен как ещё одно свойство данных молекул.

Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) белка 24р3 при воздействии на клетки *E. coli*, *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis* варьировала в диапазоне 6,5–12,5 нг/мл [21]. Антибактериальная активность белка была подтверждена при инкубации с тромбоцитами, что может быть использовано для предотвращения инфицирования при хранении тромбоцитарного концентрата [21].

Примечательно, что ϵ -полилизин ингибирует рост *S. aureus*, *Bacillus cereus* и *Klebsiella oxytoca* в концентратах тромбоцитов в значительно более высоких концентрациях по сравнению с белком 24р3 — от 50 мкг/мл до 200 мкг/мл [22].

В модели инфицирования монослойной культуры эпителиальных клеток ИРЕС-1 клетками *E. coli* K88 эндогенного белка 24р3, выделяемого эпителиальными клетками ИРЕС-1, было недостаточно для подавления роста бактериальных клеток [23]. При добавлении к клеткам дополнительных количеств белка 24р3 до концентраций 0,1 мкг/мл, 0,5 мкг/мл и 1 мкг/мл наблюдалось дозозависимое ингибирование роста клеток *E. coli* K88.

Важно отметить, что дополнительное ежедневное введение 24р3 мышам в дозе 150 нг/г в/бр в течение 16 недель не приводило к появлению побочных эффектов [24].

4. АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ИСТОЧНИКИ ЗАХВАТА ЖЕЛЕЗА БАКТЕРИЯМИ

Бактериальные клетки могут захватывать не только собственные железосодержащие сидерофоры, но и сидерофоры млекопитающих — 2,5-дигидроксibenзойную кислоту [12, 25], а также нейроэндокринные катехоламины, такие как норадреналин, адреналин, дофамин (рис. 6). Структуры данных соединений имеют сходство со структурами бактериальных сидерофоров [26].

По данным экспериментов *in vitro* [27], добавление в питательную среду с бактериями 50 мкМ норадреналина и 30% бычьей сыворотки (БС) способствовало росту бактерий. Добавление в питательную среду только БС способствовало снижению роста бактерий до 10^5 кл/мл, а добавление

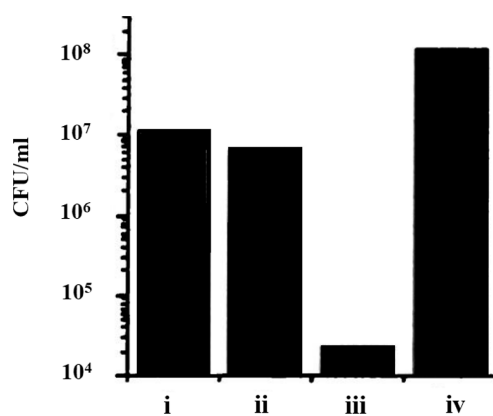


Рисунок 7. Влияние бычьей сыворотки на рост бактерий *E. coli* E2348/69 через 18 ч. **i** – контрольная группа без добавок; **ii** – добавление в питательную среду 50 мкМ норэпинефрина; **iii** – добавление в питательную среду 30% бычьей сыворотки; **iv** – добавление в питательную среду 50 мкМ норэпинефрина и 30% бычьей сыворотки (адаптировано из [27]).

только норадреналина не оказывало заметного влияния на рост бактерий (рис. 7). При анализе БС было обнаружено, что она содержала, кроме альбумина, также и трансферрин, который, по-видимому, связывал ионы железа, предотвращая попадание железа в бактериальные клетки и оказывая бактериостатический эффект. Норадреналин, в свою очередь, способен связывать железо из комплекса с трансферрином и переносить его в бактериальные клетки.

Способность бактериальных клеток захватывать комплексы норадреналина с железом, предположительно, может быть обусловлена схожестью его структуры со структурами бактериальных сидерофоров. Следует отметить, что, в отличие от норадреналина, фармакологически неактивный метаболит норэпинефрин-3-О-сульфат (рис. 6) не способен связывать железо из комплекса с трансферрином и тем самым поддерживать рост бактериальных клеток [27].

Так как норадреналин и другие нейроэндокринные катехоламины имеются в крови всех млекопитающих, повышение содержания этих соединений при стрессовых и болезненных состояниях может увеличивать бактериальный рост. Например, тяжёлое

повреждение тканей у пациентов с травмами или ожогами вызывает массивное системное высвобождение норэпинефрина [28]. При введении 4 мг или 40 мг норадrenalина мышам за сутки до инфицирования бактерией *Salmonella enterica Typhimurium ATCC14028* количество КОЕ бактерий в печени возрастало в 2,6 раз и 3,5 раз и в слепой кишке более чем в 10 раз и 20 раз соответственно [29].

Существуют и другие системы захвата железа бактериями. Например, некоторые сальмонеллы могут использовать в качестве источника цитрат трёхвалентного железа [2]. Доставлять ионы железа в клетки бактерий также могут эндогенные α -кето/ α -гидроксикислоты [30]. Добавление в среду с дефицитом железа пиовердиновой, α -кетоглутаровой, α -кетоизокапроновой, α -гидроксиизовалериановой и других кислот приводило к небольшому усилению роста штаммов сальмонеллы, не способных вследствие мутаций выделять собственные сидерофоры. Умеренный рост бактерий может свидетельствовать о более низкой эффективности захвата железа в присутствии указанных кислот по сравнению с бактериями, способными выделять сидерофоры. Учитывая повсеместное распространение α -кето/ α -гидроксикислот в клетках всех типов, они могут играть определённую роль в качестве агентов, стимулирующих рост бактерий в условиях, когда обычные эндогенные сидерофоры неэффективны [30]. В дальнейшем необходимы дополнительные исследования для более полного понимания роли описанных выше эндогенных биомолекул млекопитающих в физиологии хозяина и их влияние на процесс “перетягивания каната” между бактериями и хозяином за железо [31].

5. ГЕМОКСИГЕНАЗЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ И БАКТЕРИЙ

Известно, что гем играет важную регулируемую роль в биологии клетки. Гем синтезируется в клетках как млекопитающих, так и бактерий [1]. В связи с тем, что избыток внутриклеточного гема оказывает токсическое действие, в клетках существует система его регуляции. Избыток гема в плазме крови и в клетках может окислять липиды, денатурировать белки и нарушать целостность цитоскелета клеток. Гем может также снижать активность цитозольных ферментов, включая некоторые гликолитические ферменты, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу и глутатионредуктазу [32]. Кроме того, избыток гема может активировать повреждающие клетку ферменты, такие как каспазы и катепсины [32]. *In vitro* гем может денатурировать ДНК по окислительному механизму. Особенно чувствительны к токсичности гема митохондрии клеток. Избыток гема приводит к кратковременному увеличению дыхания митохондрий с последующим снижением и затем полным прекращением поглощения кислорода [32]. При этом небольшие количества пероксидов, которые обычно образуются в процессе митохондриального дыхания, усугубляют прооксидантные и другие повреждающие эффекты гема [32]. Кроме прямого цитотоксического

действия, гем может вызывать повреждение почек из-за его провоспалительного действия. Например, гем в эпителиальных клетках почечных канальцев и в почках *in vivo* индуцирует выделение хемокинов. Введение гема усиливает экспрессию молекул адгезии *in vivo* в кишечнике, печени, поджелудочной железе, что сопровождается привлечением лейкоцитов и повышенной проницаемостью сосудов [32].

Основным ферментом, участвующим в деградации излишнего количества гема в организме, является гемоксигеназа. Гемоксигеназа в клетках млекопитающих представляет собой белок с молекулярной массой 32 кДа, который разрушает гемин до биливердина, монооксида углерода (СО) и свободного железа. Обычно экспрессия гемоксигеназы (НО-1) в клетках млекопитающих низка или её невозможно определить, за исключением тканей, участвующих в метаболизме эритроцитов (печень, селезёнка) [32]. Некоторые вещества, например, гемин, некоторые металлы, ксенобиотики, синтетические металлопорфирины увеличивают экспрессию и активность НО-1 во многих клетках, например, кроветворных, печёночных, эпителиальных и эндотелиальных [32]. Продукты катализируемой НО-1 реакции обладают различными положительными для организма свойствами. СО оказывает сосудорасширяющее, антиапоптотическое и противовоспалительное действия [32]. Свободное железо индуцирует образование железосвязывающих и железотранспортирующих белков [32]. Снижение уровня железа в крови препятствует росту патогенов. Биливердин (желчный пигмент) является мощным антиоксидантом, поглощая окислители и снижая активность NADPH-оксидазы [32].

Основная функция гемоксигеназ бактериальных клеток заключается в получении железа от эукариотического хозяина [33]. Для жизнедеятельности большинства бактерий *in vitro* необходимо наличие в окружающей среде 0,4–4 мкМ железа. Так как концентрация свободного железа в организме человека ниже 0,4 мкМ, то основным источником железа для бактерий в организме млекопитающих является гем, железо из которого высвобождается с помощью гемоксигеназ. Гемоксигеназы были выделены как из грамположительных, так и грамотрицательных бактерий [34]. В последнее десятилетие несколько бактериальных гемоксигеназ, необходимых для высвобождения железа, были идентифицированы в патогенных бактериях, а именно в *Corynebacterium diphtheriae*, *Neisseria meningitidis* и *P. aeruginosa*, а также в *Listeria monocytogenes*, *Bacillus anthracis*, *S. epidermidis* [35]. Некоторые бактериальные гемоксигеназы и гемоксигеназа млекопитающих имеют общую структуру и характеризуются сходным механизмом деградации гема. Такие бактериальные гемоксигеназы получили название канонических.

В отличие от вышеописанных бактерий, у *S. aureus* и *Mycobacterium tuberculosis* структура гемоксигеназы и механизм деградации гема отличаются от гемоксигеназы млекопитающих и других бактерий и относятся к неканоническим [36]. Так, у *S. aureus*

за деградацию гема отвечают два фермента — бактериальные гемоксигеназы IsdG и IsdI. Эти ферменты входят в систему из 9 белков, которые связывают гемоглобин хозяина, извлекают гем, переносят его из внешней среды в бактериальный цитозоль и разлагают гем. В отличие от человеческой гемоксигеназы, которая разлагает гем до CO, железа и биливердина, белки IsdG и IsdI *S. aureus* и *M. tuberculosis* разрушают гем с образованием стафилобилина и формальдегида, а также небольших количеств CO и муравьиной кислоты (рис. 8) [37, 38]. Кроме того, весьма важной для гема, связанного с белком IsdG, является непланарность (складчатость его структуры — ruffled) [38]. Это состояние гема значительно изменяет химию активации O₂ на молекуле гема, в результате чего продуцируется новый тетрапирол — стафилобилин с дополнительно окисленным мезоуглеродным атомом. Дополнительно при деструкции гема образуется необычный продукт — формальдегид. Какова биологическая роль этих необычных продуктов, неизвестно, однако установлено, что в организме млекопитающих и в клетках бактерий существуют механизмы дезактивации формальдегида [39].

В гемоксигеназе млекопитающих железо гема связано с остатком His25 с наномолярными значениями K_d. Остаток Asp140 организует сеть с молекулами воды, которая направляет переходный

гидроксильный радикал к мезоуглероду гема. IsdG и IsdI *S. aureus* связывают гем через His76/77 с микромолярными значениями K_d. Окружающие остатки Asp6/7 и Trp66/67 существенны для ферментативных превращений [38].

Гемоксигеназа *M. tuberculosis* также катализирует деградацию гема без генерации CO. При этом образуется новый хромофор — микобиллин, содержащий альдегидную группу в сайте расщепления кольца гема [38].

Несмотря на различия в структурах и механизмах деградации гема канонических и неканонических бактериальных гемоксигеназ, они имеют общие консервативные участки. Так, например, канонические гемоксигеназы *L. monocytogenes* (Lmo2213) и *Bacillus subtilis* (HmoB) имеют сходство в структуре на 25,3%. С неканонической гемоксигеназой *S. aureus* (IsdG) сходство составляет 25,7%. При этом сходство структур гемоксигеназы *B. subtilis* и *S. aureus* составляет около 15% [40]. Канонические гемоксигеназы *P. aeruginosa* и *N. meningitidis* похожи на 33% по структуре, в то время как сходство с гемоксигеназой млекопитающих и человека составляет менее 15% [41]. Это внушает определённый оптимизм в плане создания селективных ингибиторов бактериальных гемоксигеназ, воздействующие на многие бактериальные патогены, но не на гемоксигеназу млекопитающих [41].

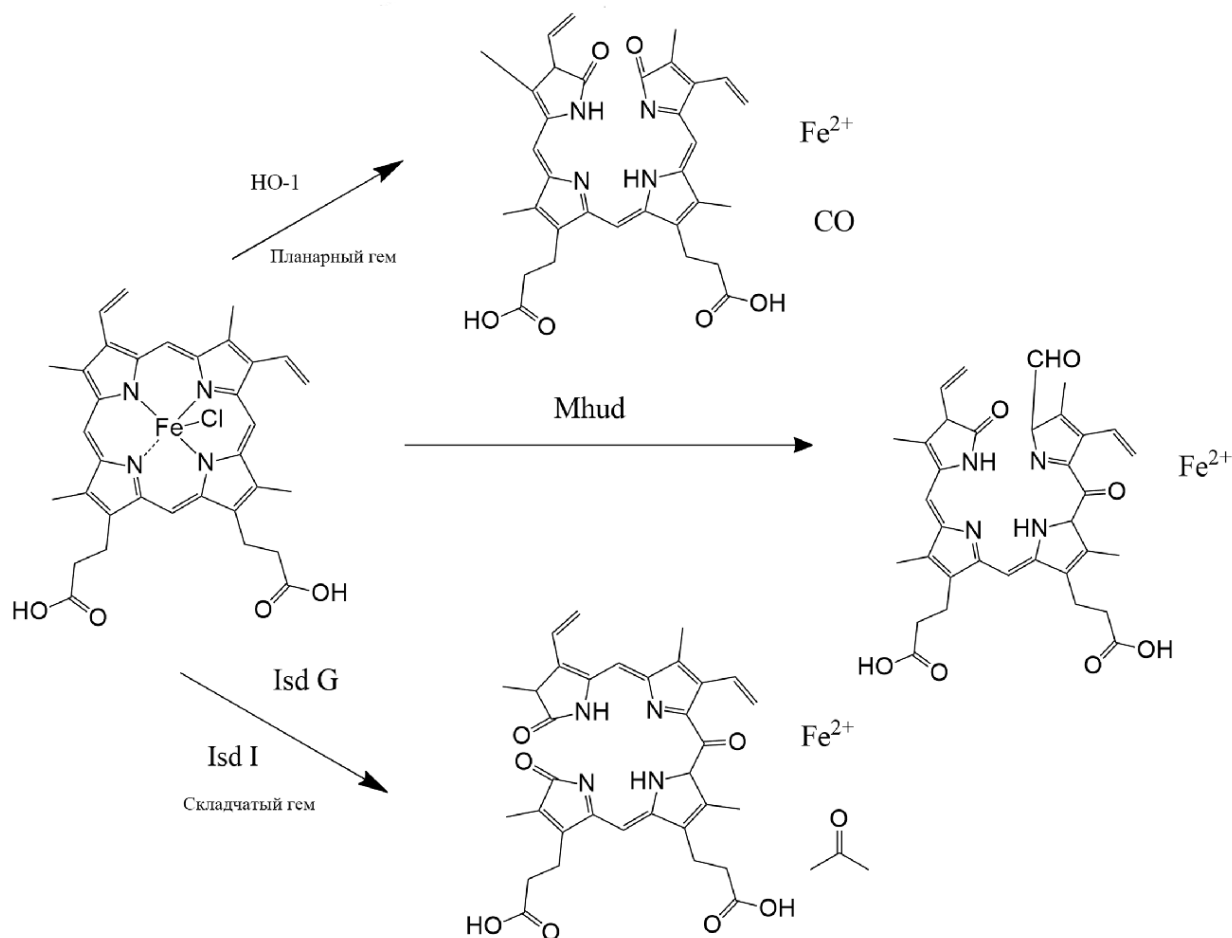


Рисунок 8. Отличия между канонической гемоксигеназой млекопитающих и неканоническими гемоксигеназами IsdG и IsdI из *S. aureus* и неканонической гемоксигеназой MhuD туберкулёза.

6. ЗНАЧЕНИЕ ИНДУКЦИИ И ИНГИБИРОВАНИЯ ГЕМОКСИГЕНАЗЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ДЛЯ БОРЬБЫ С ВИРУСНЫМИ И БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

Несмотря на наличие различных поколений противомикробных препаратов, инфекционные заболевания входят в число 10 основных причин смерти во всем мире. Ведущими инфекционными заболеваниями являются ВИЧ/СПИД, туберкулёз и малярия. По данным ВОЗ, в 2016 году было зарегистрировано 36,7 миллиона случаев ВИЧ, 10,4 миллиона случаев туберкулёза и 480000 случаев туберкулёза с множественной лекарственной устойчивостью. В 2016 году было зарегистрировано 216 миллионов случаев малярии; из них 445000 случаев привели к летальному исходу [42].

В литературе имеются данные о том, что некоторые известные препараты способны привести к экспрессии НО-1. К ним относятся, например, гемин, анестетики (севофлуран или изофлуран), статины, мелатонин, а также такие вещества как куркумин, ресвератрол, фенетиловый эфир кофейной кислоты, этилферулят, пицеатаннол, сульфорафан, карносол, розоловая кислота, α -липолевая кислота [43]. Способность данных веществ вызывать экспрессию гемоксигеназы была подтверждена *in vitro*, а для некоторых веществ и *in vivo*.

Гемин является самым мощным индуктором гемоксигеназы и одобрен FDA для лечения острой порфирии в дозе 1–4 мг/кг. Для исследования способности активировать экспрессию НО-1 здоровым людям со скоростью 60 мл/ч вводили гемин в составе препарата Пангематина, разбавленного 25% альбумином, в концентрации 2,4 мг/кг. Данная концентрация соответствует дозе, применяемой для лечения острой порфирии. Разбавление 25% альбумином необходимо для повышения устойчивости гемина, снижения частоты флебита у пациентов, предотвращения антикоагулянтного эффекта и повышения эффективности. В результате исследования было показано, что через 24 ч после введения гемина происходило 4–5-кратное увеличение концентрации гемоксигеназы в плазме крови, а активность этого фермента увеличивалась в 5–9 раз. Повышение концентрации гемоксигеназы сохранялось и через 48 ч [44]. Помимо способности индуцировать гемоксигеназу млекопитающих, натриевая соль гемина обладает собственной антибактериальной активностью [45, 46]. Кроме того, гемин, ковалентно модифицированный аминокислотами и пептидами, обладает собственной как антибактериальной, так и вирулицидной активностью [47–49].

В печени крыс с экспериментальным токсическим гепатитом, вызванным CCl_4 , введение гентра, мексидола и метилурацила приводило к увеличению экспрессии гена *hmx1*, кодирующего гемоксигеназу по сравнению с группой животных, которым вводили только CCl_4 [50]. Таким образом, можно предположить, что при токсическом поражении печени, индуцированном CCl_4 , введение упомянутых препаратов приводило к усилению защитно-адаптационных механизмов, повышая

активность гена *hmx1* [50]. Некоторые статины в микромолярных концентрациях вызывают экспрессию гемоксигеназы в эндотелиальных клетках ECV304 и эпителиальных клетках человека *in vitro* [51]. *In vivo* было показано, что симвастатин вызывает индукцию НО-1 в клетках гладких мышц сосудов и сердца. По мнению авторов, индукция НО-1 может объяснить некоторые противовоспалительные и цитопротективные плеiotропные (имеющие несколько генетических эффектов) действия статинов [52].

Два ингаляционных анестетика — изофлуран и севофлуран — повышали уровень гемоксигеназы и способствовали цитопротекции во время операций на сердце и печени [53]. Длительный приём изофлурана мужчиной в течение 12 дней способствовал выздоровлению и уменьшению бронхоспазма при пневмонии, вызванной простым герпесом [54]. Севофлуран улучшал лёгочную механику и газообмен в ряде случаев у младенцев с тяжёлым бронхиолитом и острым респираторным дистресс-синдромом [55]. Недавно предложено применять гипербарическую оксигенотерапию для улучшения оксигенации у пациентов с COVID-19. Её полезность связывают с повышением уровня НО-1 и цитопротективным эффектом [56].

Гемоксигеназа может играть двойственную роль — как положительную, так и отрицательную, в зависимости от количества продуктов метаболизма гема и клеточной среды. Сверхэкспрессия гемоксигеназы может привести к повреждению клеток, вероятно, из-за временного накопления каталитически активных ионов Fe^{2+} или токсических концентраций СО или билирубина, которые могут ограничивать или подавлять защитные возможности организма [53]. Экспрессия гемоксигеназы может приводить к нормализации артериального давления [57], оказывать положительное действие при остром панкреатите [58], остром инфаркте миокарда [59], оказывать противовоспалительное и заживляющее действие [60]. Экспрессия гемоксигеназы под действием индукторов может приводить к проявлению антибактериального и противовирусного эффектов. В настоящее время безопасность и эффективность различных стратегий индукции НО-1, таких как доставка гена НО-1 или применение химических веществ, способных вызывать индукцию гемоксигеназы, остаются серьёзной проблемой; в основном такие исследования ограничиваются доклинической стадией [53].

6.1. Влияние гемоксигеназы на течение заболеваний, вызванных микробными инфекциями

Сепсис — одна из основных причин смертности во всём мире — характеризуется системной воспалительной реакцией и может вызывать гипервоспалительный ответ, приводящий к полиорганной недостаточности. При сепсисе происходит лизис эритроцитов и выделение гемоглобина, при разложении которого свободный гем выделяется в систему кровообращения. Гем индуцирует провоспалительные медиаторы, которые могут привести к повреждению тканей и гибели клеток [61].

НО-1 активируется гемом и может бороться с микробными инфекциями, выделяя СО и биливердин. Биливердин индуцирует экспрессию противовоспалительного интерлейкина IL-10, ингибирует действие провоспалительных цитокинов (IL-6, MCP-1). СО также играет важную роль в борьбе с бактериальными инфекциями. Индукция гемоксигеназы способствует защите мышей от инфекции, вызванной *Salmonella typhimurium* [62, 63].

Кроме гема собственной антибактериальной активностью обладают некоторые металлопорфирины, являющиеся индукторами или ингибиторами гемоксигеназы млекопитающих. Натриевые соли различных металлопорфиринов проявляли антибактериальную активность в отношении грамположительных бактерий *S. aureus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Yersinia enterocolitica*. Например, МИК натриевой соли кобальтового комплекса протопорфирина IX составляла 20 мкг/мл, 40 мкг/мл и 20 мкг/мл для бактерий *Y. enterocolitica*, *S. aureus*, *M. smegmatis* соответственно, а для натриевой соли оловянного комплекса протопорфирина IX — 20 мкг/мл, >40 мкг/мл и 20 мкг/мл соответственно [64].

Авторы работы [65] оценивали эффективность натриевой соли кобальтового комплекса протопорфирина IX — индуктора НО-1 — и натриевой соли оловянного комплекса протопорфирина IX — ингибитора активности гемоксигеназы при острой и персистирующей инфекции *S. typhimurium in vivo* на мышах. Мышам вводили данные соединения протопорфирина IX в дозе 5 мг/кг внутрибрюшинно (в/бр). Через 24 ч животных заражали *S. typhimurium* с КОЕ 10^6 кл/мл. Введение протопорфирината кобальта обеспечило выживаемость 20% мышей, в то время как все мыши, не получавшие инъекции, погибали. Этот эффект связывают с индукцией НО-1 [65]. Протопорфиринат кобальта заметно снизил бактериальную нагрузку в селезёнке, печени, брыжеечных лимфатических узлах, желчном пузыре, фекалиях; при этом в крови наблюдалось увеличение количества бактерий по сравнению с контрольной группой. Это может быть связано со способностью гемоглобина связывать СО, выделяющийся при разложении гема гемоксигеназой, что позволяет бактериям, циркулирующим в крови, избежать бактерицидного действия СО. Следует отметить, что ни протопорфиринат кобальта, ни протопорфиринат олова не обладают собственной (прямой) активностью в отношении *S. typhimurium* [65].

Индукция гемоксигеназы может оказывать отрицательный эффект, усиливая хроническое воспаление и иммуносупрессивное состояние больного при сепсисе [66]. Использование ингибитора гемоксигеназы при сепсисе, вызванном *K. pneumoniae*, увеличивало миграцию нейтрофилов в места воспаления, ослабляло повреждение лёгких и снижало уровень смертности пациентов [67]. В работе [68] была проведена оценка активности натриевой соли цинкового комплекса протопорфирина IX — ингибитора гемоксигеназы млекопитающих,

а также натриевой соли гема — индуктора гемоксигеназы на поздней стадии сепсиса у мышей, который вызывали перевязкой и пункцией слепой кишки. В ходе эксперимента гемин и цинковый комплекс протопорфирина растворяли в 0,2 М NaOH и после нейтрализации (рН 7,4) и вводили в/бр в дозе 20 мг/кг и 25 мг/кг соответственно через 24 ч и 36 ч после заражения. В результате, в контрольной группе, которая не получала лечения, выживаемость через 10 дней наблюдения составила 46,7%. Введение мышам натриевой соли цинкового комплекса протопорфирина IX повысило их выживаемость до 80%, а введение гема, напротив, снизило до 10%. Кроме того, цинковый комплекс протопорфирина IX снижал КОЕ бактерий в селезенке и брюшной полости мышей, а гемин, напротив, увеличивал КОЕ бактерий.

По мнению авторов, антибактериальный эффект натриевой соли цинкового протопорфирина IX связан с замедлением снижения количества Т-клеток, В-клеток и дендритных клеток [68]. Количество иммунных клеток является важной характеристикой иммуносупрессии, вызванной сепсисом. В ходе экспериментов было продемонстрировано, что при сепсисе у мышей снижается уровень Т-клеток ($CD4^+$ и $CD8^+$), в то время как цинковый комплекс протопорфирина IX замедлял это снижение [68]. Авторы не проиллюстрировали влияния гема на уровень Т-клеток, однако проверили влияние СО. Для этого мышам в/бр вводили вещество, высвобождающее СО (CORM-2), в дозе 8 мг/кг через 24 ч после перевязки и пункции слепой кишки, приведших к сепсису. Было отмечено уменьшение численности Т-клеток по сравнению с мышами с сепсисом, не получавшими CORM-2. Авторы не оценивали собственную антибактериальную активность натриевой соли цинкового комплекса протопорфирина IX и натриевой соли гема [68]. Однако в литературе есть данные [64], что натриевая соль цинкового комплекса протопорфирина IX обладает антибактериальным действием в отношении *S. aureus* и *M. smegmatis* (МИК 3,2 мкг/мл и 20 мкг/мл соответственно), а натриевая соль гема в концентрации 10^{-5} М вызывала гибель 99% клеток *S. aureus* [46].

Таким образом, сверхэкспрессия гемоксигеназы, вызванная введением гема, снижает бактериальный клиренс (коэффициент очищения организма от бактерий) и увеличивает смертность мышей при сепсисе, а также снижает количество иммунных Т-клеток. Это приводит к истощению иммунных клеток и иммуносупрессии. Поэтому контроль экспрессии НО-1 является важной задачей в клинических условиях, особенно при лечении заболеваний, вызывающих иммунодефицит [68].

6.2. Влияние гемоксигеназы на течение туберкулёза

В настоящее время курс лечения туберкулёза состоит из назначения 4 разных антибиотиков: рифампицина, изониазида, пиразинамида, этамбутола, которые применяют в течение 6–9 месяцев [69]. Такой длительный курс приёма препаратов

вызывает негативные побочные эффекты. Если длительный приём лекарственных средств сопровождается нарушением режима лечения, то может произойти повторное возникновение инфекции, а также развитие резистентности к антибиотикам. В связи с этим существует острая необходимость в создании эффективных препаратов, которые могут более быстро и эффективно бороться с *M. tuberculosis* у инфицированных пациентов. Оловянный комплекс протопорфирина IX был исследован в качестве агента против *M. tuberculosis in vivo* на мышах [69]. Мышам ежедневно в/бр в дозе 5 мг/кг вводили протопорфинат олова, растворённый в 0,1 М водном NaOH и разбавленный в 10 раз фосфатно-солевым буфером. Исследование активности оловянного комплекса протопорфирина IX проводили в сравнении с обычно применяемыми антибиотиками для лечения туберкулёза, такими как рифампицин (в дозе 10 мг/кг), изониазид (25 мг/кг), пипразинамид (150 мг/кг). Для этого мышам вводили коктейль из трёх антибиотиков, а через 60 дней — коктейль из двух антибиотиков — рифампицина, изониазида. В ходе эксперимента мышам заражали *M. tuberculosis* с КОЕ 10^2 кл/мл, а лечение начинали через 4 недели после заражения. Через 3 недели после начала лечения ежедневными дозами натриевой соли оловянного комплекса протопорфирина IX привело к снижению КОЕ на 1 lg. Аналогичный результат был получен для комбинации препаратов, состоящих из рифампицина, изониазида, пипразинамида. Использование одновременно натриевой соли оловянного комплекса протопорфирина IX, рифампицина, изониазида, пипразинамида через 3 недели снизило КОЕ на 2 lg по сравнению с контрольной группой. Увеличение времени введения оловянного комплекса протопорфирина IX до 9 недель не привело к дальнейшему снижению КОЕ *M. tuberculosis*. Инъекции комбинации препаратов сравнения (рифампицина, изониазида, пипразинамида) через 17 недель после начала введения снизили КОЕ *M. tuberculosis* до 10^2 кл/мл. Добавление к этой комбинации препаратов оловянного комплекса протопорфирина IX через 17 недель снизило КОЕ до не обнаруживаемого уровня (рис. 9).

Антибактериальный эффект оловянного комплекса протопорфирина IX не был обусловлен прямым антибактериальным действием, поскольку *in vitro* оловянный комплекс протопорфирина IX не продемонстрировал подавляющей антимикробной активности в отношении *M. tuberculosis* в концентрации 125 мкМ. По мнению авторов, антибактериальное действие оловянного комплекса протопорфирина IX против *M. tuberculosis* связано с ингибированием гемоксигеназы млекопитающих [69].

6.3. Влияние индуктора гемоксигеназы на протекание лёгочной чумы, вызванной *Yersinia pestis*

Чума является полиорганным заболеванием, сопровождающимся сепсисом и некрозом иммунных тканей и печени, а также бронхопневмонией и безудержным бактериальным ростом [70]. Индуктор гемоксигеназы — кобальтовый комплекс протопорфирина IX — был использован для лечения лёгочной чумы, вызванной *Y. pestis* [70]. Кобальтовый комплекс протопорфирина IX, растворённый в 0,1 М NaOH и нейтрализованный HCl до pH 7, вводили в/бр мышам два раза до заражения чумной палочкой и каждые 48 ч в течение 10 дней после заражения в дозе 5 мг/кг. В результате наблюдалось снижение смертности животных, а к 9 дню эксперимента у выживших мышам не было признаков заболевания. Снижение смертности сопровождалось усилением бактериального клиренса за счёт активизации врождённого иммунного ответа, повышением уровня гемоксигеназы млекопитающих и снижением количества цитокинов в лёгких и в сыворотке крови [70].

При совместном применении кобальтового комплекса протопорфирина IX в дозе 5 мг/кг и доксициклина в дозе 20 мг/кг уровень выживаемости заражённых животных в лучшей из терапевтических схем достигал 95%.

Таким образом, протопорфинат кобальта обеспечивает высокую выживаемость мышам, заражённых *Y. pestis*, а при совместном применении протопорфината кобальта и доксициклина у животных наблюдается синергетический эффект [70].

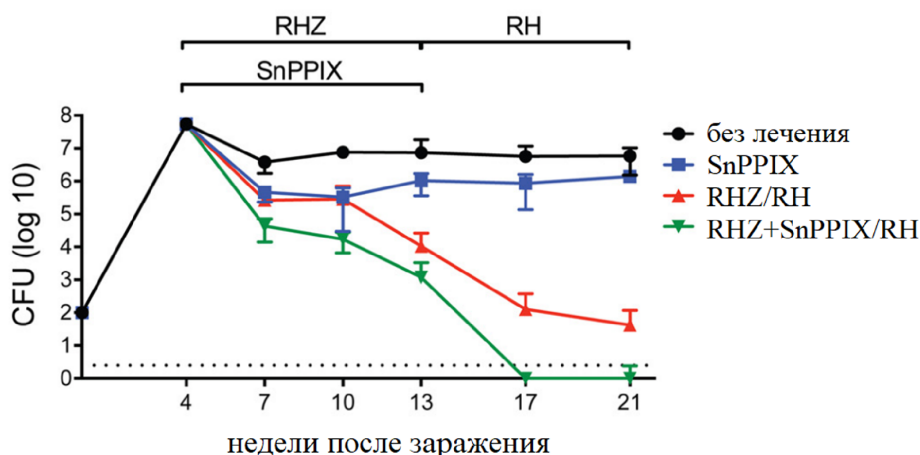


Рисунок 9. Снижение КОЕ *M. tuberculosis* в экспериментах *in vivo* на мышах после воздействия натриевой соли оловянного комплекса протопорфирина IX (SnPPIX) и комбинацией из препаратов рифампицина (R), изониазида (H) и пипразинамида (Z) (адаптировано из [69]).

6.4. Участие гемоксигеназы в ингибировании вируса иммунодефицита (ВИЧ)

Синдром приобретённого иммунодефицита (СПИД) забрал в мире более 35 миллионов жизней, и в настоящее время 36,7 миллионов человек живут с ВИЧ [42]. Только в 2016 году от осложнений, связанных со СПИД, умерли около 1 миллиона человек [42]. Ещё в 1980-х годах Tsutsui и Mueller [71] показали на модели *in vitro*, что 100 мкМ водный раствор натриевой соли гема полностью ингибирует активность обратной транскриптазы вируса лейкоза мышей Раушера.

Натриевая соль гема при концентрации 10^{-4} М ингибировала репликацию ВИЧ *in vitro* [71]. Гемин растворяли в 0,2 М NaOH и затем добавляли HCl до pH 7,4. Полученным раствором обрабатывали клетки моноцитов за 24 ч до инфицирования вирусом иммунодефицита, далее либо одновременно, либо через 4 ч, а также через 24 ч после инфицирования. Существенное подавление репликации вируса ВИЧ в моноцитах было отмечено как при введении гема до заражения, так и после; при этом цитотоксической активности натриевой соли гема не наблюдали. В ходе дальнейшего эксперимента была оценена эффективность натриевой соли гема *in vivo* на мышах с сахарным диабетом. Для этого через пять дней после инфицирования животным ежедневно в/б/р вводили натриевую соль гема в дозе 4 мг/кг в течение 2 недель. В результате через 14 дней вирусная нагрузка ВИЧ в сыворотке крови снижалась в шесть раз по сравнению с контрольной группой [72]. Данный противовирусный эффект связывают со способностью гема индуцировать гемоксигеназу, поскольку добавление натриевой соли оловянного комплекса протопорфирина IX (ингибитор активности гемоксигеназы млекопитающих) снижало способность гема ингибировать репликацию вируса иммунодефицита человека [72].

6.5. Влияние индуктора гемоксигеназы на вирус гепатита В

Согласно данным на 2022 г., около 296 миллионов человек в мире инфицированы вирусом гепатита В (HBV). Примерно у 5–10% инфицированных развивается хроническая инфекция. У некоторых из этих пациентов развивается активный гепатит, который может прогрессировать до цирроза и рака печени [73].

В работе [74] описано исследование активности индуктора гемоксигеназы — натриевой соли протопорфирината кобальта — в отношении HBV, который реплицировался в клетках гепатомы. Кобальтовый комплекс протопорфирина IX, растворённый в 0,2 М растворе NaOH и доведённый до нейтрального значения pH вводили мышам в/б/р в дозе 10 мг/кг за 24 ч до инфицирования. Индукция гемоксигеназы натриевой солью кобальтового комплекса протопорфирина IX подавляла репликацию HBV непосредственно в гепатоцитах на посттранскрипционном этапе за счёт снижения стабильности нуклеокапсидного белка HBV. Кроме

того, наблюдалось значительное ингибирование высвобождения транминаз и уменьшение некровоспалительного повреждения печени мышей.

6.6. Влияние индуктора гемоксигеназы на вирус гепатита С

По данным ВОЗ в настоящее время 58 миллионов человек живут с хронической инфекцией, вызванной гепатитом С. В 2019 году гепатит С привёл к смерти примерно 290000 [75]. Из литературных данных известно, что сверхэкспрессия HO-1 может ингибировать репликацию генома вируса гепатита С в клетках гепатомы человека [76]. Биливердин — продукт катализируемой HO-1 реакции распада гема — может ингибировать репликацию вируса гепатита С [76]. Механизм противовирусного действия биливердина связан с способностью ингибировать протеиназу NS3/4A вируса гепатита С [76].

Другое независимое исследование показало, что ионы железа Fe^{2+} и Fe^{3+} — другой продукт реакции распада гема — ингибируют репликацию вируса гепатита С. Они образуют связь с белковым “карманом”, предназначенным для включения ионов Mg^{2+} в РНК-полимеразу вируса гепатита С (NS5B), тем самым ингибируя его [77]. Таким образом, биливердин или его производные, а также ионы железа могут быть в будущем полезны при создании средства лечения вируса гепатита С [76, 77].

6.7. Влияние индуктора гемоксигеназы на протекание лихорадки Денге

Вирус Денге (DENV) — это инфекция, передаваемая членистоногими. Ежегодно происходит около 390 миллионов случаев заражения этим вирусом, при этом у 96 миллионов человек проявляются клинически значимые симптомы [78]. Обработка клеток печени человека (Huh-7), заражённых вирусом Денге, индукторами гемоксигеназы млекопитающих — растворами гема (2,5–10 мкМ) и кобальтовым комплексом протопорфирина IX (7,5–30 мкМ) — привела к дозависимому снижению уровня РНК вируса Денге [79]. Так, гемин при концентрации 10 мкМ снизил уровень РНК вируса Денге примерно на 80%, а протопорфиринат кобальта при концентрации 30 мкМ — на 90%. При добавлении оловянного комплекса протопорфирина IX — специфического ингибитора индукции гемоксигеназы — наблюдалось снижение противовирусной активности как гема, так и протопорфирината кобальта [79]. Это может свидетельствовать о том, что противовирусный эффект металлопорфиринов обусловлен главным образом функционированием гемоксигеназы млекопитающих, а не прямым противовирусным действием веществ.

In vitro продукты разложения гема гемоксигеназой — CO и ионы железа (Fe^{3+}) — противовирусной активностью не обладали. Биливердин в концентрации 100 мкМ снижал уровень РНК вируса Денге на 90%. При этом билирубин — продукт восстановления биливердина —

также не обладал противовирусной активностью. Индукция НО-1 приводила к ингибированию всех 4 серотипов вируса Денге (DENV 1–4) [79].

В опытах на мышах, заражённых вирусом Денге, введение протопорфирина кобальта (50 мг/кг) обеспечило выживаемость 80% животных [79].

6.8. Влияние индуктора гемоксигеназы на вирус Зика

Вирус Зика передается в основном через укусы комаров, но также возможна передача половым путём и при переливании крови от заражённого человека. В настоящее время не существует специфического препарата для лечения данной вирусной инфекции, однако разрабатывается соответствующая вакцина [80].

Поскольку иммунные реакции имеют ключевое значение для защиты от вирусных инфекций, авторы [81] предположили, что активация безопасного и эффективного врождённого иммунного ответа хозяина является логичным направлением работы для создания противовирусного препарата. Для этой цели использовали препарат Пангематин, который в качестве действующего начала включает натриевую соль гема. Исследование было проведено с использованием макрофагов моноцитарного происхождения. В результате были подтверждены данные, указывающие на повышенную экспрессию гемоксигеназы НО-1 гемом в составе препарата Пангематин *in vitro*. Гемин в концентрации 100 мкМ через 48 ч полностью ингибировал репликацию вируса Зика *in vitro* в макрофагах моноцитарного происхождения. Авторы исследовали эффективность добавления гема за 1 ч до заражения, во время или через 1 ч после заражения. Инкубацию проводили в течение 48 ч. Добавление гема одинаково эффективно подавляло репликацию вируса независимо от его введения до или после заражения [81].

6.9. Активность против вируса COVID-19

Начиная с 2020 года и по 2022 год было зафиксировано более 573 миллионов случаев заражения COVID-19 с уровнем смертности, составляющим 1,11% [82]. В настоящее время для лечения COVID-19 пытаются использовать различные противовирусные препараты против ВИЧ, вирусов гриппа, Эбола, гепатита, цитомегаловируса и герпеса [83]. Однако ни один из них не одобрен для лечения COVID-19. В связи с быстрым распространением COVID-19 по миру становится актуальным поиск веществ, способных к подавлению репликации данного вируса, одним из которых является гемин [83]. В настоящее время специфического лечения COVID-19 не существует, и большинство стратегий являются в основном симптоматическими [84]. У пациентов с метаболическим синдромом, пожилых и мужчин наблюдается повышенная заболеваемость, смертность и низкий уровень стрессовых белков, особенно внеклеточной НО-1 [85]. Кроме того, понижение количества гема при COVID-19 может дополнительно уменьшать содержание НО-1 в организме. Эти факторы риска запускают цитокиновый шторм, что приводит к полиорганной недостаточности

и далее к смерти [85]. Цитопротективные и противовоспалительные свойства НО-1 могут снизить опасность подобных осложнений.

Применение индукторов НО-1 может предотвращать или лечить заболевания COVID-19. На животных моделях показано, что лишение животных генов НО-1 повышает риск поражения лёгких при сепсисе [86]. К тому же вирус COVID-19 блокирует продукцию гема — основного индуктора гемоксигеназы. В связи с этим следует отметить, что население Тайваня народности Хань защищено от COVID-19 за счёт высокого уровня экспрессии гемоксигеназы [87].

Исследование влияния гема на репликацию вируса SARS-CoV-2 в клетках Vero 76 почки африканской зелёной марышки *in vitro* показало, что обработка клеток за 1 ч до заражения SARS-CoV-2 6,25 мкМ гемом вызывает повышение уровня гемоксигеназы, а при концентрации гема 12,5 мкМ было отмечено подавление репликации вируса. Способность гема подавлять репликацию SARS-CoV-2 как до заражения, так и после предполагает, что гемин может ингибировать вирус на стадии внутриклеточной репликации [83].

При исследовании токсичности гема в отношении клеток Vero 76, оказалось, что при его концентрации 169,9 мкМ наблюдалась гибель 50% клеток, в то же время при воздействии гемом в концентрации 0,68 мкМ на клетки Vero, заражённые SARS-CoV-2, титр вируса снижался на 50%. Таким образом, по заключению авторов статьи, активность гема в отношении COVID-19 примерно в 250 раз выше, чем его токсичность в отношении клеток Vero [83].

Для выявления противовирусной активности самой гемоксигеназы авторы заражали SARS-CoV-2 клетки Vero 76, которые сверхэкспрессировали НО-1 обезьяны. В результате сверхэкспрессии гемоксигеназы происходило подавление репликации SARS-CoV-2 в клетках. Исследование противовирусной активности в отношении вируса SARS-CoV-2 продуктов разложения гема показало, что 10 мкМ и 30 мкМ FeCl₃ подавляют экспрессию РНК SARS-CoV-2 на 50% и 60% соответственно, а 10 мкМ и 50 мкМ биливердин — на 67% и 75% соответственно. Модельные вещества, способные высвобождать СО, активности в отношении COVID-19 не продемонстрировали [83].

Для выяснения обусловленности противовирусного эффекта гема индукцией гемоксигеназы клеток было проведено дополнительное исследование противовирусной активности смеси, состоящей из гема (25 мкМ) и цинкового комплекса протопорфирина IX (10 мкМ и 30 мкМ), в отношении клеток Vero 76, заражённых SARS-CoV-2 (рис. 10). Было установлено, что цинковый комплекс протопорфирина IX (ингибитор ферментативной активности НО-1) обладает небольшой активностью в отношении вируса SARS-CoV-2. Смесь, состоящая из гема и цинкового комплекса протопорфирина IX, сильнее снижала уровень РНК вируса SARS-CoV-2 по сравнению с гемом (рис. 10), то есть

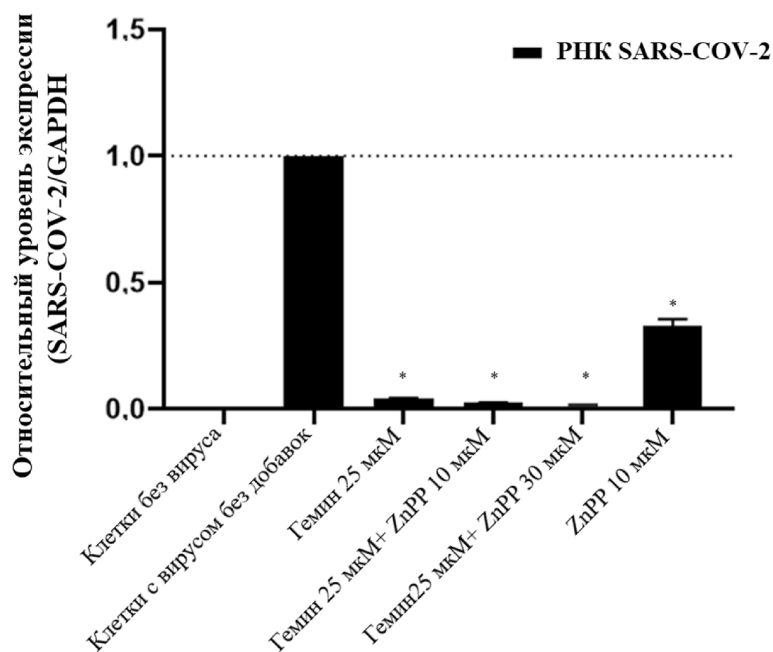


Рисунок 10. Противовирусная активность гемина, смеси гемина с цинковым комплексом протопорфирина против вируса COVID-19. Звёздочкой отмечены статистически значимые различия, $*p < 0,001$ (адаптировано из [83]).

наблюдался синергетический эффект веществ смеси. Следует отметить, что цинковый комплекс протопорфирина ингибирует только ферментативную активность гемоксигеназы, но при этом вызывает её экспрессию. В то же время смесь, состоящая из малой интерферирующей РНК, которая блокирует экспрессию гемоксигеназы, и гемина, при воздействии в отношении клеток Vero 76, заражённых SARS-CoV-2, не подавляла репликацию вируса.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что ингибирование ферментативной активности гемоксигеназы не влияет на её противовирусную активность, а экспрессия НО-1 может сопровождаться выработкой интерферонов с противовирусным действием [83].

Рассмотренные выше данные отличаются от данных об эффективности аргината гемина (в составе препарата Нормосанг) против COVID-19, полученных на клетках почечного эпителия Vero-E6 и рака лёгких Calu-3. Клетки почки зелёной африканской обезьяны Vero-E6 и эпителиальные клетки из ткани лёгкого Calu-3 были подвергнуты воздействию гемина в концентрации 64,4 мкМ за 24 ч до заражения вирусом SARS-CoV-2 или одновременно с заражением клеток. Через 48 ч и 72 ч после заражения клеток Vero-E6 и Calu-3 соответственно значимого снижения титра вируса после воздействия аргината гемина отмечено не было [88].

Различия в результатах, полученных разными авторами, могут быть связаны неодинаковыми условиями эксперимента, например, с использованием отличающихся видов клеток и форм гемина, а также различиями в исходных титрах вируса. Ещё одно исследование противовирусной активности аргината гемина описано в [89]. Аргинат гемина в составе препарата Нормосанг в концентрациях 1,25 мкМ и 2,5 мкМ добавляли к клеткам Vero

(KOE $1,5 \times 10^5$ кл/мл) непосредственно после заражения вирусом SARS-CoV-2 (исходный титр вируса 10^6). Через 3 дня после воздействия гемина в концентрации 2,5 мкМ титр вируса оставался неизменным, что говорит об ингибировании скорости репликации вируса.

Аргинат гемина предотвращал гибель от вируса SARS-CoV-2 80% клеток Vero у мышей *in vivo*. Аргинат гемина вводился в/бр в дозе 3 мг/кг на 4 день, 5 день и 6 день после заражения. На 8 день мышей умерщвляли и определяли титр вируса в лёгких. В группах с воздействием аргината гемина титр вируса в лёгких мышей снижался до 10% от исходного значения [89].

Положительные результаты введения аргината гемина (Нормосанга) были получены на 6 добровольцах (3 женщинах и 3 мужчинах), больных COVID-19. Пациенты страдали сопутствующими заболеваниями (бронхиальная астма, артериальная гипертензия, дислипидемия, сахарный диабет 2 типа, избыточная масса тела). Пациентам вводили инфузионный раствор, содержащий 3 мг/кг аргината гемина (число введений не указано). В результате, во время введения аргината гемина или вскоре после него, было отмечено снижение необходимости в получении дополнительного кислорода, улучшение состояния здоровья и сокращение сроков их госпитализации [89].

Механизм действия аргината гемина на вирус SARS-CoV-2 связывают с индукцией им гемоксигеназы клеток млекопитающих. Одно из главных преимуществ гемина — наличие его разрешённых лекарственных форм (Нормосанг, Пангематин), пригодных для внутривенного введения. Показана способность гемина подавлять действие провоспалительных цитокинов и другие его полезные свойства [62]. Однако ни в работах [87, 88], ни в заявке [89] не сформулированы чётко и не оценены

количественно полезные эффекты гема. Кроме того, нет исследований *in vivo*, подтверждающих снижение летальности при заражении вирусом SARS-CoV-2 в результате применения гема на животных. По состоянию на сегодняшний день, гемин можно отнести к лекарственным препаратам-помощникам.

7. ВОЗМОЖНОСТИ ИНГИБИРОВАНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ГЕМОКСИГЕНАЗЫ ДЛЯ БОРЬБЫ С БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

Первое упоминание о полезности ингибирования бактериальной гемоксигеназы обнаружено нами в работе [64]. Её авторы предположили, что антибактериальный эффект галлиевого комплекса протопорфирина IX (Ga-PPIX) может быть обусловлен его способностью проникать в клетку через систему захвата гема. При этом Ga-PPIX не может быть утилизирован гемоксигеназой бактерий, что приводит к их гибели. Позднее было установлено, что кобальтовые, галлиевые, марганцевые и цинковые комплексы протопорфирина IX (Co-PPIX, Ga-PPIX, Mn-PPIX и Zn-PPIX) связываются с белками IsdG и IsdI, но не расщепляются [90]. Это может привести к накоплению данных соединений в бактериальной клетке. Далее накопленные металлопорфирины могут блокировать в клетке процессы, требующие участия железа, что может привести к её гибели [90]. В работе [91] было показано, что Ga-PPIX проявляет ингибирующую активность в отношении грамотрицательного клинического штамма *P. aeruginosa*. Данный эффект возникает в условиях недостатка железа в питательной среде и отменяется добавлением дополнительных количеств железа (гемина). Установлено, что антибактериальный эффект возникает в результате проникновения Ga-PPIX через систему захвата гема внутрь клетки. Далее Ga-PPIX встраивается в дыхательные цитохромы Cco-1, Cco-2 и Cio, находящиеся в митохондриях, вместо гема, нарушая тем самым клеточное дыхание. Данные цитохромы встречаются только у бактерий. Следует отметить, что в литературе не найдено упоминаний о фактах ингибирования гемоксигеназы млекопитающих при действии Ga-PPIX.

Помимо описанных выше соединений, в публикации [41] с помощью компьютерного моделирования в сочетании с экспериментальными исследованиями были выявлены низкомолекулярные соединения, способные связываться и ингибировать активность гемоксигеназы *N. meningitidis* (nm-HO) и *P. aeruginosa* (pa-HO). Были выделены гемоксигеназы *N. meningitidis* (nm-HO) и *P. aeruginosa* (pa-HO), и с помощью флуоресцентного титрования определены K_d комплексов данных гемоксигеназ с упомянутыми соединениями. Наиболее эффективным среди исследованных соединений оказалось вещество, структура которого представлена на рисунке 11. В ходе дальнейшей работы была оценена их способность ингибировать активность бактериальной гемоксигеназы внутри клетки. Для этого *E. coli*, экспрессирующую гемоксигеназу

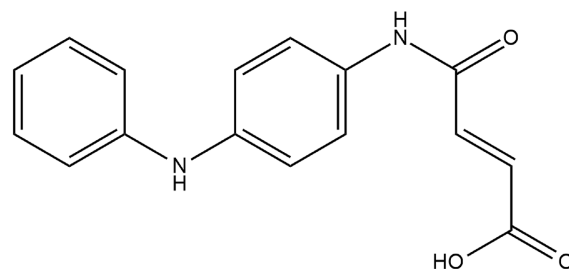


Рисунок 11. Структура (Е)-3-(4-(фениламино)фенилкарбамоил)акриловой кислоты – наиболее эффективного ингибитора бактериальной гемоксигеназы *N. meningitidis* (nm-HO) и *P. aeruginosa* (pa-HO).

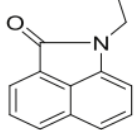
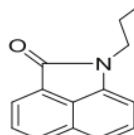
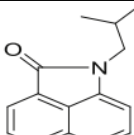
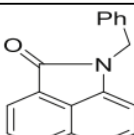
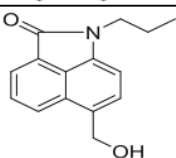
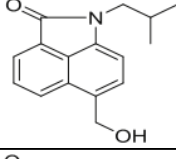
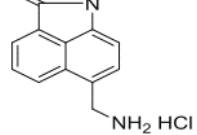
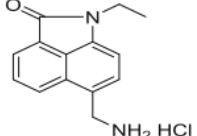
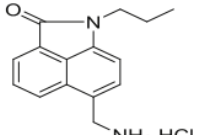
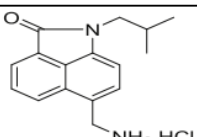
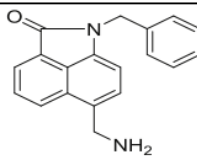
N. meningitidis, обрабатывали потенциальными ингибирующими агентами. В результате было установлено, что соединение, представленное на рисунке 11, в концентрации 1500 мкМ практически полностью ингибировало *in vitro* активность гемоксигеназы *N. meningitidis*, экспрессированной в *E. coli*. Далее авторы оценивали антибактериальную активность данного соединения в отношении грамотрицательной бактерии *P. aeruginosa* MPA01. При концентрации вещества 250 мкМ было отмечено лишь частичное снижение роста клеток бактерий *P. aeruginosa* MPA01. Достигнутый антибактериальный эффект можно было отменить только при добавлении в среду железосодержащего пиовердина, который является альтернативным источником железа для бактерий, и его усвоение не связано с гемоксигеназой. Добавление в среду гемоглобина не отменяло антибактериального действия соединения. При этом уровень экспрессии гемоксигеназы внутри бактериальной клетки при воздействии данного соединения оставался неизменным.

Таким образом, антибактериальный эффект соединения, приведённого на рисунке 11, по-видимому, связан со способностью этого вещества проникать в бактериальную клетку, связываться с бактериальной гемоксигеназой и ингибировать её активность, не влияя на её уровень [41].

Активный центр гемоксигеназы (HemO) *P. aeruginosa* имеет уникальное строение. Так, он по размеру (7,3 Å³) меньше активного центра гемоксигеназы млекопитающих (43–59 Å³), а также отличается способом связывания гема (гем связывается с активным центром HemO под углом 100°) [92]. По мнению авторов, эти данные позволяют создать селективный ингибитор бактериальной гемоксигеназы HemO *P. aeruginosa*.

С учётом результатов рентгеновского исследования кристаллической структуры бактериальной гемоксигеназы HemO был синтезирован ряд её потенциальных ингибиторов (таблица). Большинство синтезированных соединений характеризовались значениями K_d от 1,5 мкМ до 180 мкМ. По мнению авторов, данные вещества связываются с активным центром бактериальной гемоксигеназы с умеренным сродством и могут быть подходящими ингибиторами бактериальной гемоксигеназы [92].

Таблица. Структуры и активность потенциальных ингибиторов бактериальной гемоксигеназы HemO

Соединение	Формула	K_d (мкМ)	МИК ₅₀ (DTSB*) (мкг/мл)	МИК ₅₀ (LB*) (мкг/мл)
2b		36	174	100
2c		46	240	80
2d		14	230	150
2e		8	42	26
4c		67	250	230
4d		65	260	120
7a		90	58	52
7b		1,9	180	89
7c		1,5	160	160
7d		180	230	120
7e		78	220	180

Примечание. * DTSB – среда, обеднённая железом, LB – среда, богатая питательными веществами – содержащая пептиды, пептоны, витамины, включая железо и микроэлементы, K_d – константа диссоциации, SD – стандартное отклонение (адаптировано из [92]).

Исследование антибактериальной активности синтезированных соединений проводили в средах как с недостатком (диализованный триптический соевый бульон; DTSB), так и с более высоким содержанием железа (бульон Лурия, LB). Оказалось, что большинство полученных соединений обладали удовлетворительным антимикробным действием. Так, МИК₅₀ синтезированных соединений варьировала от 26 мкг/мл до 260 мкг/мл (таблица) [92]. Некоторые соединения, несмотря на малую K_d , обладали низкой антимикробной активностью, например, соединения 7b и 7c. По мнению авторов, это связано с наличием определённых заместителей, которые препятствуют ингибирующему действию соединений *in vitro*. В то же время соединение 7d обладало антибактериальной активностью, несмотря на повышенное значение K_d . Возможно, это связано с тем, что вещество обладает другим, отличающимся механизмом антибактериального действия.

В работе [93] изложены три возможные стратегии ингибирования неканонической бактериальной гемоксигеназы *S. aureus*. Первая заключается в создании конкурентного ингибитора активного центра бактериальной гемоксигеназы. Однако создание такого ингибитора затруднено из-за прочной связи гема с бактериальными гемоксигеназами IsdG и IsdI. Так, K_d такого комплекса составляет 1,4 нМ и 12,9 нМ соответственно [93]. Вторая стратегия заключается в создании неконкурентного ингибитора. Такими ингибиторами, например, являются цианиды и азида. Они связываются с железом IsdG-гема, блокируют доступ молекулярного кислорода и препятствуют проявлению ферментативной активности. Третий путь предусматривает создание аллостерического ингибитора бактериальной гемоксигеназы. В настоящее время на основе стратегии третьего вида создаются ингибиторы канонической гемоксигеназы другой бактерии — *P. aeruginosa*. Однако существенных достижений в этой области пока нет.

Следует отметить, что к настоящему времени отсутствуют коммерчески доступные лекарственные препараты, механизм действия которых определяется достоверно установленным влиянием на бактериальную гемоксигеназу.

В связи с развитием резистентности к антибактериальным агентам, в том числе современным, создание новых эффективных препаратов с уникальными механизмами антибактериального действия является актуальной задачей. Её решением, в частности может стать создание препаратов, действующих на бактериальную гемоксигеназу. Некоторое сходство активных центров гемоксигеназ различных бактерий может позволить создать универсальные агенты, которые действуют на гемоксигеназы множества бактерий. Однако к настоящему времени существует лишь небольшое число работ, посвящённых данной теме. При этом известные ингибиторы бактериальной гемоксигеназы обладают недостаточно высокой антибактериальной активностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании рассмотренных выше литературных данных, можно сделать некоторые заключения по поводу перспективности дальнейшего развития ряда направлений при создании новых противомикробных средств. Так, перспективным представляется использование сидерофоров для создания антибиотиков, способных преодолевать резистентность бактерий. Это было продемонстрировано на примере осуществления стратегии “троянского коня” для модифицированного антибиотика — Фетроя (цефидерокол), одобренного к применению FDA США [5]. Суть данного подхода заключается в ковалентном присоединении остатка сидерофора к молекуле антибиотика. В настоящее время в мире проводятся исследования по синтезу новых антибиотиков в соответствии с этой стратегией. Другой путь создания антибактериальных агентов может заключаться в практическом использовании белка липокалина млекопитающих, который пока предложено применять лишь для консервации тромбоцитов.

Определённый интерес представляет новое развивающееся направление по созданию инновационных антимикробных материалов [94]. Примером может служить волокнистый полимерный материал, включающий гемин, и обладающий некоторой антибактериальной активностью [95].

Аминокислотные и пептидные производные гемина уже продемонстрировали выраженную антимикробную и противовирусную активность и являются кандидатами для дальнейшего их развития в качестве антимикробных агентов. Представляется полезным уточнение механизмов их антибактериального действия. Интересным направлением в этой области может быть дальнейшее исследование противовирусного действия гемина и его производных, которое связывается с его влиянием на гемоксигеназу.

Наличие противоречивых данных относительно эффективности гемина против вируса SARS-CoV-2 (COVID-19) указывает на необходимость дальнейших исследований в этом направлении как гемина, так и его производных.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена за счёт средств ООО “Фарминтерпрайсез”.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или с использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Anderson G.J., Frazer D.M. (2017) Current understanding of iron homeostasis. *Am. J. Clin. Nutr.*, **106**, 1559-1566. DOI: 10.3945/ajcn.117.155804
2. Ratledge C., Dover L.G. (2000) Iron metabolism in pathogenic bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.*, **54**, 881-941. DOI: 10.1146/annurev.micro.54.1.881
3. Миронов А.Ю., Леонов В.В. (2016) Железо, вирулентность и межмикробные взаимодействия условно-патогенных микроорганизмов. *Успехи современной биологии*, **136**, 301-310. [Mironov A.Yu., Leonov V.V. (2016) Iron, virulence, and intermicrobial interactions of opportunistic pathogens, *Uspekhi Sovremennoy Biologii*, **136**, 301-310.]
4. Ahanger A.A., Prawez S., Leo M.D., Kathirvel K., Kumar D., Tandan S.K., Malik J.K. (2010) Pro-healing potential of hemin: An inducer of heme oxygenase-1. *Eur. J. Pharmacol.*, **645**, 165-170. DOI: 10.1016/j.ejphar.2010.06.048
5. Sato T., Yamawaki K. (2019) Cefiderocol: Discovery, chemistry, and *in vivo* profiles of a novel siderophore cephalosporin. *Clin. Infect. Dis.*, **69**, S538-S543. DOI: 10.1093/cid/ciz826
6. Kjeldsen L., Johnsen A.H., Sengeløv H., Borregaard N. (1993) Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *J. Biol. Chem.*, **268**, 10425-10432.
7. Jaberi S.A., Cohen A., d'Souza C., Abdulrazzaq Y.M., Ojha S., Bastaki S., Adeghate E.A. (2021) Lipocalin-2: Structure, function, distribution and role in metabolic disorders. *Biomedicine Pharmacotherapy*, **142**, 112002. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.112002
8. Goetz D.H., Holmes M.A., Borregaard N., Bluhm M.E., Raymond K.N., Strong R.K. (2002) The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore-mediated iron acquisition. *Mol. Cell*, **10**, 1033-1043. DOI: 10.1016/s1097-2765(02)00708-6
9. Devireddy L.R., Hart D.O., Goetz D.H., Green M.R. (2010) A mammalian siderophore synthesized by an enzyme with a bacterial homolog involved in enterobactin production. *Cell*, **141**, 1006-1017. DOI: 10.1016/j.cell.2010.04.040
10. Liu Z., Ciocea A., Devireddy L. (2014) Endogenous siderophore 2,5-dihydroxybenzoic acid deficiency promotes anemia and splenic iron overload in mice. *Mol. Cell. Biol.*, **34**, 2533-2546. DOI: 10.1128/MCB.00231-14
11. Devireddy L.R., Gazin C., Zhu X., Green M.R. (2005) A cell-surface receptor for lipocalin 24p3 selectively mediates apoptosis and iron uptake. *Cell*, **123**, 1293-130. DOI: 10.1016/j.cell.2005.10.027
12. Liu Z., Reba S., Chen W.D., Porwal S.K., Boom W.H., Petersen R.B., Rojas R., Viswanathan R., Devireddy L. (2014) Regulation of mammalian siderophore 2,5-DHBA in the innate immune response to infection. *J. Exp. Med.*, **211**(6), 1197-1213. DOI: 10.1084/jem.20132629
13. Леонов В.В., Миронов А.Ю., Ананьина И.В., Рубальская Е.Е., Сентюрова Л.Г. (2016) Микробные сидерофоры: строение, свойства и функции. *Астраханский медицинский журнал*, **10**(4), 24-37. [Leonov V.V., Mironov A.Yu., Anan'ina I.V., Rubalskaya E.E., Sentyurova L.G. (2016) Siderophores of microbes: Structure, properties, and functions. *Astrakhan Medical Journal*, **10**(4), 24-37.]
14. Chipperfield J.R., Ratledge C. (2000) Salicylic acid is not a bacterial siderophore: A theoretical study. *Biometals*, **13**, 165-168. DOI: 10.1023/a:1009227206890
15. Faraldo-Gómez J.D., Sansom M.S. (2003) Acquisition of siderophores in gram-negative bacteria. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **4**, 105-116. DOI: 10.1038/nrm1015
16. Krewulak K.D., Vogel H.J. (2008) Structural biology of bacterial iron uptake. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1778**, 1781-1804. DOI: 10.1016/j.bbmem.2007.07.026
17. Kramer J., Özkaya Ö., Kümmerli R. (2020) Bacterial siderophores in community and host interactions. *Nat. Rev. Microbiol.*, **18**, 152-163. DOI: 10.1038/s41579-019-0284-4
18. Wilson B.R., Bogdan A.R., Miyazawa M., Hashimoto K., Tsuji Y. (2016) Siderophores in iron metabolism: From mechanism to therapy potential. *Trends Mol. Med.*, **22**(12), 1077-1090. DOI: 10.1016/j.molmed.2016.10.005
19. Holden V.I., Lenio S., Kuick R., Ramakrishnan S.K., Shah Y.M., Bachman M.A. (2014) Bacterial siderophores that evade or overwhelm lipocalin 2 induce hypoxia inducible factor 1 α and proinflammatory cytokine secretion in cultured respiratory epithelial cells. *Infect. Immun.*, **82**, 3826-3836. DOI: 10.1128/IAI.01849-14
20. Bachman M.A., Miller V.L., Weiser J.N. (2009) Mucosal lipocalin 2 has pro-inflammatory and iron-sequestering effects in response to bacterial enterobactin. *PLoS Pathogens*, **5**, 1000622. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000622
21. Bakhshandeh Z., Halabian R., Imani Fooladi A.A., Jahanian-Najafabadi A., Jalili M.A., Roudkenar M.H. (2014) Recombinant human lipocalin 2 acts as an antibacterial agent to prevent platelet contamination. *Hematology*, **19**, 487-492. DOI: 10.1179/1607845414Y.0000000155
22. Tanaka S., Hayashi T., Tateyama H., Matsumura K., Hyon S.H., Hirayama F. (2010) Application of the bactericidal activity of ϵ -poly-L-lysine to the storage of human platelet concentrates. *Transfusion*, **50**, 932-940. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2009.02503.x
23. Guo B.X., Wang Q.Q., Li J.H., Gan Z.S., Zhang X.F., Wang Y.Z., Du H.H. (2017) Lipocalin 2 regulates intestine bacterial survival by interplaying with siderophore in a weaned piglet model of *Escherichia coli* infection. *Oncotarget*, **8**, 65386-65396. DOI: 10.18632/oncotarget.18528
24. Mosialou I., Shikhel S., Liu J.M., Maurizi A., Luo N., He Z., Huang Y., Zong H., Friedman R.A., Barasch J., Lanzano P., Deng L., Leibel R.L., Rubin M., Nickolas T., Chung W., Zeltser L.M., Williams K.W., Pessin J.E., Kousteni S. (2017) Mc4r-dependent suppression of appetite by bone-derived lipocalin 2. *Nature*, **543**, 385-390. DOI: 10.1038/nature21697
25. Sheldon J.R., Laakso H.A., Heinrichs D.E. (2016) Iron acquisition strategies of bacterial pathogens. *Microbiol. Spectr.*, **4**(2), DOI: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0010-2015
26. Miethke M., Skerra A. (2010) Neutrophil gelatinase-associated lipocalin expresses antimicrobial activity by interfering with L-norepinephrine-mediated bacterial iron acquisition. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **54**, 1580-1589. DOI: 10.1128/AAC.01158-09
27. Freestone P.P., Lyte M., Neal C.P., Maggs A.F., Haigh R.D., Williams P.H. (2000) The mammalian neuroendocrine hormone norepinephrine supplies iron for bacterial growth in the presence of transferrin or lactoferrin. *J. Bacteriol.*, **182**, 6091-6098. DOI: 10.1128/JB.182.21.6091-6098.2000
28. Freestone P.P., Williams P.H., Haigh R.D., Maggs A.F., Neal C.P., Lyte M. (2002) Growth stimulation of intestinal commensal *Escherichia coli* by catecholamines: A possible contributory factor in trauma-induced sepsis. *Shock*, **18**, 465-470. DOI: 10.1097/00024382-200211000-00014
29. Williams P.H., Rabsch W., Methner U., Voigt W., Tschäpe H., Reissbrodt R. (2006) Catecholate receptor proteins in *Salmonella enterica*: Role in virulence and implications for vaccine development. *Vaccine*, **24**, 3840-3844. DOI: 10.1016/j.vaccine.2005.07.020

30. Kingsley R., Rabsch W., Roberts M., Reissbrodt R., Williams P.H. (1996) TonB-dependent iron supply in *Salmonella* by alpha-ketoacids and alpha-hydroxyacids. FEMS Microbiol. Lett., **140**, 65-70. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1996.tb08316.x
31. Golonka R., Yeoh B.S., Vijay-Kumar M. (2019) The iron tug-of-war between bacterial siderophores and innate immunity. J. Innate. Immun., **11**(3), 249-262. DOI: 10.1159/000494627
32. Tracz M.J., Alam J., Nath K.A. (2007) Physiology and pathophysiology of heme: Implications for kidney disease. J. Am. Soc. Nephrol., **18**, 414-420. DOI: 10.1681/ASN.2006080894
33. Frankenberg-Dinkel N. (2004) Bacterial heme oxygenases. Antioxid. Redox Signal., **6**, 825-834. DOI: 10.1089/ars.2004.6.825
34. Li C., Stocker R. (2009) Heme oxygenase and iron: From bacteria to humans. Redox Rep., **14**, 95-101. DOI: 10.1179/135100009X392584
35. Skaar E.P., Gaspar A.H., Schneewind O. (2004) IsdG and IsdI, heme-degrading enzymes in the cytoplasm of *Staphylococcus aureus*. J. Biol. Chem., **279**, 436-443.
36. Wilks A., Ikeda-Saito M. (2014) Heme utilization by pathogenic bacteria: Not all pathways lead to biliverdin. Acc. Chem. Res., **47**, 2291-2298. DOI: 10.1021/ar500028n.
37. Lyles K.V., Eichenbaum Z. (2018) From host heme to iron: The expanding spectrum of heme degrading enzymes used by pathogenic bacteria. Front. Cell. Infect. Microbiol., **8**, 198. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00198
38. Matsui T., Nambu S., Ono Y., Goulding C.W., Tsumoto K., Ikeda-Saito M. (2013) Heme degradation by *Staphylococcus aureus* IsdG and IsdI liberates formaldehyde rather than carbon monoxide. Biochemistry, **2**, 3025-3027. DOI: 10.1021/bi400382p.
39. Chen N.H., Djoko K.Y., Veyrier F.J., McEwan A.G. (2016) Formaldehyde stress responses in bacterial pathogens. Front. Microbiol., **7**, 257. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00257
40. Duong T., Park K., Kim T., Kang S.W., Hahn M.J., Hwang H.Y., Jang I., Oh H.B., Kim K.K. (2014) Structural and functional characterization of an Isd-type haem-degradation enzyme from *Listeria monocytogenes*. Acta. Crystallogr. D Biol. Crystallogr., **70**, 615-626. DOI: 10.1107/S1399004713030794
41. Furci L.M., Lopes P., Eakanunkul S., Zhong S., MacKerell A.D. Jr., Wilks A. (2007) Inhibition of the bacterial heme oxygenases from *Pseudomonas aeruginosa* and *Neisseria meningitidis*: Novel antimicrobial targets. J. Med. Chem., **50**, 3804-3813. DOI: 10.1021/jm0700969
42. Singh N., Ahmad Z., Baid N., Kumar A. (2018) Host heme oxygenase-1: Friend or foe in tackling pathogens? IUBMB Life, **70**, 869-880. DOI: 10.1002/iub.1868
43. Li C., Hossieny P., Wu B.J., Qawasmeh A., Beck K., Stocker R. (2007) Pharmacologic induction of heme oxygenase-1. Antioxid. Redox Signal., **9**, 2227-2239. DOI: 10.1089/ars.2007.1783
44. Bharucha A.E., Kulkarni A., Choi K.M., Camilleri M., Lempke M., Brunn G.J., Gibbons S.J., Zinsmeister A.R., Farrugia G. (2010) First-in-human study demonstrating pharmacological activation of heme oxygenase-1 in humans. Clin. Pharmacol. Ther., **87**, 187-190. DOI: 10.1038/clpt.2009.221
45. Nitzan Y., Ladan H., Gozansky S., Malik Z. (1987) Characterization of hemin antibacterial action on *Staphylococcus aureus*. FEMS Microbiol. Lett., **48**, 401-406. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1987.tb02632.x
46. Ladan H., Nitzan Y., Malik Z. (1993) The antibacterial activity of haemin compared with cobalt, zinc and magnesium protoporphyrin and its effect on potassium loss and ultrastructure of *Staphylococcus aureus*. FEMS Microbiol. Lett., **112**, 173-177. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1993.tb06444.x
47. Blagodarov S.V., Zheltukhina G.A., Yerebin S.V., Babicheva E.S., Mirchink E.P., Nebolsin V.E. (2018) The effect of elongation of a peptide substituent with ArgSer motif on the antimicrobial properties of hemin derivatives. J. Porphyrins Phthalocyanines, **22**, 1060-1071. DOI: 10.1142/S1088424618501031
48. Blagodarov S.V., Zheltukhina G.A., Romanova Yu.M., Alekseeva N.V., Iskhakova L.D., Semashko M.I., Tolordava E.R., Nebolsin V.E. (2022) Improving the synthesis of hemin derivatives and their effect on bacterial biofilms. J. Porphyrins Phthalocyanines, **26**, 242-252. DOI: 10.1142/S1088424622500079
49. Okorochenkova S.A., Zheltukhina G.A., Mirchink E.P., Isakova E.B., Feofanov A.V., Nebolsin V.E. (2013) Synthesis, anti-MRSA, and anti-VRE activity of hemin conjugates with amino acids and branched peptides. Chem. Biol. Drug Des., **82**, 410-417. DOI: 10.1111/cbdd.12163
50. Мухаммадиева Г.Ф., Каримов Д.О., Бакиров А.Б., Кутлина Т.Г., Валова Я.В., Кудояров Э.Р., Хуснутдинова Н.Ю. (2019) Экспрессия гена *hmx1* в печени крыс с экспериментальным тетрахлорметановым гепатитом и её изменение под влиянием гепатопротекторов. Токсикологический вестник, **6**, 45-49. [Mukhammadieva G.F., Karimov D.O., Bakirov A.B., Kutlina T.G., Valova Ya.V., Kudoyarov E.R., Khusnutdinova N.Yu. (2019) *Hmx1* gene expression in the liver of rats with experimental tetrachloromethane hepatitis and its change under the influence of hepatoprotectors. Toxicological Review, **6**, 45-49.]
51. Grosser N., Hemmerle A., Berndt G., Erdmann K., Hinkelmann U., Schürger S., Wijayanti N., Immenschuh S., Schröder H. (2004) The antioxidant defense protein heme oxygenase 1 is a novel target for statins in endothelial cells. Free Radic. Biol. Med., **37**, 2064-2071. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.09.009
52. Hsu M., Muchova L., Morioka I., Wong R.J., Schröder H., Stevenson D.K. (2006) Tissue-specific effects of statins on the expression of heme oxygenase-1 *in vivo*. Biochem. Biophys. Res. Commun., **343**, 738-744. DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.03.036
53. Bauer I., Raupach A. (2019) The role of heme oxygenase-1 in remote ischemic and anesthetic organ conditioning. Antioxidants (Basel), **8**, 403. DOI: 10.3390/antiox8090403
54. Hornuss C., Firsching M.D., Dolch M.E., Martignoni A., Peraud A., Briegel J. (2010) Long-term isoflurane therapy for refractory bronchospasm associated with herpes simplex pneumonia in a heart transplant patient. Case Reports Medicine, **2010**, 746263. DOI: 10.1155/2010/746263
55. Nacoti M., Colombo J., Fochi O., Bonacina D., Fazzi F., Bellani G., Bonanomi E. (2018) Sevoflurane improves respiratory mechanics and gas exchange in a case series of infants with severe bronchiolitis-induced acute respiratory distress syndrome. Clinical Case Reports, **6**, 920-925. DOI: 10.1002/ccr3.1490
56. Godman C.A., Chheda K.P., Hightower L.E., Perdrizet G., Shin D.G., Giardina C. (2010) Hyperbaric oxygen induces a cytoprotective and angiogenic response in human microvascular endothelial cells. Cell Stress Chaperones, **15**, 431-442. DOI: 10.1007/s12192-009-0159-0

57. Wang R., Shamloul R., Wang X., Meng Q., Wu L. (2006) Sustained normalization of high blood pressure in spontaneously hypertensive rats by implanted hemin pump. *Hypertension*, **48**, 685-692. DOI: 10.1161/01.HYP.0000239673.80332.2f
58. Aziz N.M., Kamel M.Y., Rifaai R.A. (2017) Effects of hemin, a heme oxygenase-1 inducer in L-arginine-induced acute pancreatitis and associated lung injury in adult male albino rats. *Endocrine Regulations*, **51**, 20-30. DOI: 10.1515/enr-2017-0003
59. Collino M., Pini A., Mugelli N., Mastroianni R., Bani D., Fantozzi R., Papucci L., Fazi M., Masini E. (2013) Beneficial effect of prolonged heme oxygenase 1 activation in a rat model of chronic heart failure. *Dis. Model. Mech.*, **6**, 1012-1020. DOI: 10.1242/dmm.011528
60. Kumar D., Jena G.R., Ram M., Lingaraju M.C., Singh V., Prasad R., Kumawat S., Kant V., Gupta P., Tandan S.K., Kumar D. (2019) Hemin attenuated oxidative stress and inflammation to improve wound healing in diabetic rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **392**, 1435-1445. DOI: 10.1007/s00210-019-01682-7
61. Gbotosho O.T., Kapetanaki M.G., Ghosh S., Villanueva F.S., Ofori-Acquah S.F., Kato G.J. (2020) Heme induces IL-6 and cardiac hypertrophy genes transcripts in sickle cell mice. *Front. Immunol.*, **11**, 1910. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01910
62. Onyiah J.C., Sheikh S.Z., Maharshak N., Steinbach E.C., Russo S.M., Kobayashi T., Mackey L.C., Hansen J.J., Moeser A.J., Rawls J.F., Borst L.B., Otterbein L.E., Plevy S.E. (2013) Carbon monoxide and heme oxygenase-1 prevent intestinal inflammation in mice by promoting bacterial clearance. *Gastroenterology*, **144**, 789-798. DOI: 10.1053/j.gastro.2012.12.025
63. Zaki M.H., Fujii S., Okamoto T., Islam S., Khan S., Ahmed K.A., Sawa T., Akaike T. (2009) Cytoprotective function of heme oxygenase 1 induced by a nitrated cyclic nucleotide formed during murine salmonellosis. *J. Immunol.*, **182**, 3746-3756. DOI: 10.4049/jimmunol.0803363
64. Stojiljkovic I., Kumar V., Srinivasan N. (1999) Non-iron metalloporphyrins: Potent antibacterial compounds that exploit haem/Hb uptake systems of pathogenic bacteria. *Mol. Microbiol.*, **31**, 429-442. DOI: 10.1046/j.1365-2958.1999.01175.x
65. Sebastián V.P., Moreno-Tapia D., Melo-González F., Hernández-Cáceres M.P., Salazar G.A., Pardo-Roa C., Farias M.A., Vallejos O.P., Schultz B.M., Morselli E., Álvarez-Lobos M.M., González P.A., Kalergis A.M., Bueno S.M. (2022) Limited heme oxygenase contribution to modulating the severity of *Salmonella enterica* serovar typhimurium infection. *Antioxidants*, **11**, 1040. DOI: 10.3390/antiox11061040
66. Mohri T., Ogura H., Koh T., Fujita K., Sumi Y., Yoshiya K., Matsushima A., Hosotsubo H., Kuwagata Y., Tanaka H., Shimazu T., Sugimoto H. (2006) Enhanced expression of intracellular heme oxygenase-1 in deactivated monocytes from patients with severe systemic inflammatory response syndrome. *J. Trauma*, **61**, 616-623. DOI: 10.1097/01.ta.0000238228.67894.d7
67. Czaikoski P.G., Nascimento D.C., Sponzo F., de Freitas A., Turato W.M., de Carvalho M.A., Santos R.S., de Oliveira G.P., dos Santos Samary C., Tefe-Silva C., Alves-Filho J.C., Ferreira S.H., Rossi M.A., Rocco P.R., Spiller F., Cunha F.Q. (2013) Heme oxygenase inhibition enhances neutrophil migration into the bronchoalveolar spaces and improves the outcome of murine pneumonia-induced sepsis. *Shock*, **39**, 389-396. DOI: 10.1097/SHK.0b013e31828bbcf996
68. Yoon S.J., Kim S.J., Lee S.M. (2017) Overexpression of HO-1 contributes to sepsis-induced immunosuppression by modulating the Th1/Th2 balance and regulatory T-cell function. *J. Infect. Dis.*, **215**, 1608-1618. DOI: 10.1093/infdis/jix142
69. Costa D.L., Namasivayam S., Amaral E.P., Arora K., Chao A., Mittereder L.R., Maiga M., Boshoff H.I., Barry C.E. 3rd, Goulding C.W., Andrade B.B., Sher A. (2016) Pharmacological inhibition of host heme oxygenase-1 suppresses *Mycobacterium tuberculosis* infection *in vivo* by a mechanism dependent on T lymphocytes. *mBio*, **7**, e01675-16. DOI: 10.1128/mBio.01675-16
70. Willix J.L., Stockton J.L., Olson R.M., Anderson P.E., Anderson D.M. (2020) Activation of heme oxygenase expression by cobalt protoporphyrin treatment prevents pneumonic plague caused by inhalation of *Yersinia pestis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **64**, e01819-19. DOI: 10.1128/AAC.01819-19
71. Tsutsui K., Mueller G.C. (1987) Hemin inhibits virion-associated reverse transcriptase of murine leukemia virus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **149**, 628-634. DOI: 10.1016/0006-291x(87)90414-1
72. Devadas K., Dhawan S. (2006) Hemin activation ameliorates HIV-1 infection via heme oxygenase-1 induction. *J. Immunol.*, **176**, 4252-4257. DOI: 10.4049/jimmunol.176.7.4252
73. Centers for disease control and prevention. Retrieved 27 July 2022 from <https://www.cdc.gov/globalhealth/immunization/diseases/hepatitis-b/data/fast-facts.html#:~:text=Hepatitis%20B%20affects%20approximately%20296,infections%20progress%20to%20liver%20cancer>
74. Protzer U., Seyfried S., Quasdorff M., Sass G., Svorcova M., Webb D., Bohne F., Hösel M., Schirmacher P., Tiegs G. (2007) Antiviral activity and hepatoprotection by heme oxygenase-1 in hepatitis B virus infection. *Gastroenterology*, **133**, 1156-1115. DOI: 10.1053/j.gastro.2007.07.021
75. World health organization. Retrieved 24 June 2022 from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c#:~:text=Globally%2C%20an%20estimated%2058%20million,with%20chronic%20hepatitis%20C%20infection>
76. Zhu Z., Wilson A.T., Luxon B.A., Brown K.E., Mathahs M.M., Bandyopadhyay S., McCaffrey A.P., Schmidt W.N. (2010) Biliverdin inhibits hepatitis C virus nonstructural 3/4A protease activity: Mechanism for the antiviral effects of heme oxygenase? *Hepatology*, **52**, 1897-1905. DOI: 10.1002/hep.23921
77. Fillebeen C., Rivas-Estilla A.M., Bisailon M., Ponka P., Muckenthaler M., Hentze M.W., Koromilas A.E., Pantopoulos K. (2005) Iron inactivates the RNA polymerase NS5B and suppresses subgenomic replication of hepatitis C virus. *J. Biol. Chem.*, **280**, 9049-9057. DOI: 10.1074/jbc.M412687200
78. Simmons C.P., Farrar J.J., Nguyen V.C., Wills B. (2012) Dengue. *N. Engl. J. Med.*, **366**, 1423-1432. DOI: 10.1056/NEJMra1110265
79. Tseng C.-K., Lin C.-K., Wu Y.-H., Chen Y.-H., Chen W.-C., Young K.-C., Lee J.-C. (2016) Human heme oxygenase 1 is a potential host cell factor against dengue virus replication. *Sci. Rep.*, **6**, 32176. DOI: 10.1038/srep32176
80. Abbasi J. (2016) Zika vaccine enters clinical trials. *JAMA*, **316**, 1249. DOI: 10.1001/jama.2016.12760
81. Huang H., Falgout B., Takeda K., Yamada K.M., Dhawan S. (2017) Nrf2-dependent induction of innate host defense via heme oxygenase-1 inhibits Zika virus replication. *Virology*, **503**, 1-5. DOI: 10.1016/j.virol.2016.12.019
82. COVID-19 map — Johns Hopkins coronavirus resource center. Retrieved 24 June 2022 from <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>

83. Kim D.-H., Ahn H.-S., Go H.-J., Kim D.-Y., Kim J.-H., Lee J.-B., Park S.-Y., Song C.-S., Lee S.-W., Ha S.-D., Choi C., Choi I.-S. (2021) Hemin as a novel candidate for treating COVID-19 via heme oxygenase-1 induction. *Sci. Rep.*, **11**, 21462. DOI: 10.1038/s41598-021-01054-3
84. Gharebaghi R., Heidary F., Moradi M., Parvizi M. (2020) Metronidazole: A potential novel addition to the COVID-19 treatment regimen. *Arch. Acad. Emerg. Med.*, **8**, 40.
85. Hooper P.L. (2020) COVID-19 and heme oxygenase: Novel insight into the disease and potential therapies. *Cell Stress Chaperones*, **25**, 707-710. DOI: 10.1007/s12192-020-01126-9
86. Chen X., Wang Y., Xie X., Chen H., Zhu Q., Ge Z., Wei H., Deng J., Xia Z., Lian Q. (2018) Heme oxygenase-1 reduces sepsis-induced endoplasmic reticulum stress and acute lung injury. *Mediators Inflammation*, **2018**, 9413876. DOI: 10.1155/2018/9413876
87. Hsieh Y.H., Chen C.W., Schmitz S.F., King C.C., Chen W.J., Wu Y.C., Ho M.S. (2010) Candidate genes associated with susceptibility for SARS-coronavirus. *Bull. Math. Biol.*, **72**, 122-132. DOI: 10.1007/s11538-009-9440-8
88. Maestro S., Córdoba K.M., Olague C., Argemi J., Ávila M.A., González-Aseguinolaza G., Smerdou C., Fontanellas A. (2021) Heme oxygenase-1 inducer hemin does not inhibit SARS-CoV-2 virus infection. *Biomed. Pharmacother.*, **137**, 111384. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111384
89. Melkova Z., Martasek P., Koziar Vasakova M., Hoznauerova L. (2022) Use of heme arginate for the manufacture of a medicament for the treatment of beta coronavirus infection. WO/2022/024058
90. Lee W.C., Reniere M.L., Skaar E.P., Murphy M.E. (2008) Ruffling of metalloporphyrins bound to IsdG and IsdI, two heme-degrading enzymes in *Staphylococcus aureus*. *J. Biol. Chem.*, **283**, 30957-30963. DOI: 10.1074/jbc.M709486200
91. Hijazi S., Visca P., Frangipani E. (2017) Gallium-protoporphyrin IX inhibits *Pseudomonas aeruginosa* growth by targeting cytochromes. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, **7**, 12. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00012
92. Zhao J., Liang D., Robinson E., Xue F. (2019) The effects of novel heme oxygenase inhibitors on the growth of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microb. Pathog.*, **129**, 64-67. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.01.047
93. Conger M.A., Pokhrel D., Liptak M.D. (2017) Tight binding of heme to *Staphylococcus aureus* IsdG and IsdI precludes design of a competitive inhibitor. *Metallomics*, **9**, 556-563. DOI: 10.1039/c7mt00035a
94. Li M., Wilkins M.R. (2020) Recent advances in polyhydroxyalkanoate production: Feedstocks, strains and process developments. *Int. J. Biol. Macromol.*, **156**, 691-703. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.04.082
95. Tyubaeva P.M., Varyan I.A., Nikolskaya E.D., Mollaeva M.R., Yabbarov N.G., Sokol M.B., Chirkina M.V., Popov A.A. (2023) Biocompatibility and antimicrobial activity of electrospun fibrous materials based on PHB and modified with hemin. *Nanomaterials*, **13**, 236. DOI: 10.3390/nano13020236

Поступила в редакцию: 07. 04. 2023.
После доработки: 26. 07. 2023.
Принята к печати: 27. 07. 2023.

IRON METABOLISM IN THE CELL AS A TARGET IN THE DEVELOPMENT OF POTENTIAL ANTIMICROBIAL AND ANTIVIRAL AGENTS

S.V. Blagodarov^{1,2*}, G.A. Zheltukhina^{1,2}, V.E. Nebolsin²

¹MIREA — Russian Technological University (MITHT),

86 Vernadsky av., Moscow, 119571 Russia; *e-mail: laboratory211@yandex.ru

²“Pharmenterprises”, 42 Bolshoi blv., Territory of the Innovation Center Skolkovo, Moscow, 143026 Russia

The search and creation of innovative antimicrobial drugs, acting against resistant and multiresistant strains of bacteria and fungi, are one of the most important tasks of modern bioorganic chemistry and pharmaceuticals. Since iron is essential for the vital activity of almost all organisms, including mammals and bacteria, the proteins involved in its metabolism can serve as potential targets in the development of new promising antimicrobial agents. Such targets include endogenous mammalian biomolecules, heme oxygenases, siderophores, protein 24p3, as well as bacterial heme oxygenases and siderophores. Other proteins that are responsible for the delivery of iron to cells and its balance between bacteria and the host organism also attract certain particular interest. The review summarizes data on the development of inhibitors and inducers (activators) of heme oxygenases, selective for mammals and bacteria, and considers the characteristic features of their mechanisms of action and structure. Based on the reviewed literature data, it was concluded that the use of hemin, the most powerful hemoxygenase inducer, and its derivatives as potential antimicrobial and antiviral agents, in particular against COVID-19 and other dangerous infections, would be a promising approach. In this case, an important role is attributed to the products of hemin degradation formed by heme oxygenases *in vitro* and *in vivo*. Certain attention has been paid to the data on the antimicrobial action of iron-free protoporphyrinates, namely complexes with Co, Ga, Zn, Mn, their advantages and disadvantages compared to hemin. Modification of the well-known antibiotic ceftazidime with a siderophore molecule increased its effectiveness against resistant bacteria.

The whole English version is available at <http://pbmc.ibmc.msk.ru>.

Key words: iron; heme oxygenase; siderophores; antibacterial and antiviral activity; hemin; protein 24p3

Funding. The work was carried out at the expense of LLC “Pharmenterprises”.

Received: 07.04.2023; revised: 26.07.2023; accepted: 27.07.2023.