

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ. ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ.

УДК 615.017

ВОЗМОЖНАЯ ПРОТИВОГРИППОЗНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ АКТИВНЫХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ИНГРЕДИЕНТОВ

Бессарабов В.И., Здерко Н.П.

Киевский национальный университет технологий и дизайна, кафедра промышленной фармации, г. Киев, Украина, e-mail: drvib500@gmail.com

В работе представлены результаты первого этапа целенаправленного поиска *in silico* возможной противогриппозной эффективности некоторых низкотоксичных активных фармацевтических ингредиентов. Для проведения виртуального скрининга был использован сервис прогнозирования спектра активности веществ (Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS)). Показано, что по результатам виртуального скрининга 60 активных фармацевтических ингредиентов потенциально высокую противовирусную активность могут проявить: γ -аминомасляная кислота (ГАМК), валериановая кислота, борнил валерат, борнил ацетат, силандрин, дигидрокверцетин (таксифолин), гесперидин, тилирозид, астрагалин, гиперозид, байкалин, скутелларин, глюкуроновая кислота. Большинство из этих веществ содержится в экстрактах лекарственных растений и представляет собой флавоноиды.

Ключевые слова: *in silico*, виртуальный скрининг, вирусные инфекции, люди пожилого возраста, растительные экстракты, флавоноиды, активные фармацевтические ингредиенты, противовирусная активность.

POSSIBLE ANTI FLU EFFECTIVENESS OF SOME ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENTS

Bessarabov V. I., Zderko N. P.

Kyiv National University of Technologies and Design, Industrial Pharmacy Department,
Kyiv, Ukraine

In the work the results of the first stage of the purposeful search *in silico* of possible anti flu effectiveness of some low toxic active pharmaceutical ingredients are represented. For virtual screening the service of Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS) was used. It shows that according to the results of virtual screening of 60 active pharmaceutical ingredients potentially high antiviral activity can reveal: γ -aminobutanoic acid (GABA), valeric acid, bornyl valerate, bornyl acetate, silandrin, dihydroquercetin (taxifolin), hesperidine, tiliroside, astragaloside, baicalin, scutellarin, glucuronic acid. Most of these substances are in the extracts of medicinal herbs and they belong to flavonoids.

Key words: *in silico*, virtual screening, viral infections, elderly people, vegetable extracts, flavonoids, active pharmaceutical ingredients, antiviral activity.

Введение. Увеличение средней продолжительности жизни в развитых странах во второй половине XX века заставило обратить внимание на проблему инфекционных заболеваний у людей пожилого возраста. Как правило, в этой возрастной группе инфекции встречаются чаще и протекают в более тяжелой форме. Причины повышенной чувствительности пожилых людей к инфекционным агентам лежат в области эпидемиологических, иммунологических факторов, распространенности синдрома мальнутриции [1], а также возрастассоциированных биохимических, физиологических и анатомических изменений организма [10].

Грипп с последующими осложнениями остается одной из основных причин заболеваемости и смертности пожилых людей. Известно, что выработка антител в ответ на вакцинацию в пожилом возрасте уменьшается [8], что связано со снижением Т-клеточного иммунитета [11].

Именно поэтому столь важен поиск новых низкотоксичных активных фармацевтических ингредиентов (АФИ) для борьбы с вирусными инфекциями у людей пожилого возраста. При этом перспективным представляется активное использование компьютерного прогнозирования биологической активности химических соединений [5] и сознательное ограничение области поиска зарегистрированными в фармакопеех АФИ.

Цель исследования: целенаправленный поиск *in silico* плеiotропных противовирусных эффектов в относительно низкотоксичных АФИ лекарственных препаратов для людей пожилого возраста.

Материал и методы. Исследование проводилось методом *in silico* с помощью виртуального скрининга в сервисе прогнозирования спектра активности веществ (Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS)), который базируется на алгоритме общей неограниченной взаимосвязи между структурой и активностью (General Unrestricted Structure-Activity Relationships (GUSAR)) [5, 17, 18]. «PASS является «инструментом» для виртуальной хемогеномики, позволяющим идентифицировать *in silico* наиболее вероятные лиганды для известных мишеней и наиболее вероятные мишени для известных лигандов, а также предсказывать эффекты, обусловленные взаимодействием конкретных лигандов с конкретными мишенями» [4]. Средняя

точность прогноза составляла около 95% (Leave-one-out cross-validation). Проведен виртуальный скрининг следующих веществ: γ -аминомасляная кислота (ГАМК), пиперазин и его производные, агонисты рецептора ГАМК (A), витамины, действующие компоненты некоторых растительных экстрактов. Всего было исследовано 60 веществ. При проведении виртуального скрининга анализ был направлен на выявление следующей потенциальной активности: противовирусной, как агонистов интерферонов и иммуностимулирующей.

Результаты исследования и их обсуждение. Данные, полученные при виртуальном скрининге, представлены на Рисунках 1-3 как оценки вероятности наличия (P_a) и отсутствия (P_i) активности, имеющие значения от 0 до 1. В качестве потенциально биологически активных агентов выбраны только те вещества, у которых P_a больше 0,5 и значительно превосходит P_i ($P_i < 0,03$).

Противовирусная активность. Как видно из Рис.1, в результате было отобрано тринадцать веществ, которые могут проявить высокую потенциальную активность против вирусов гриппа. Для ГАМК и валериановой кислоты такой плеiotропный эффект, скорее всего, объясняется тем, что они с высокой вероятностью являются агонистами интерферона- α (Рис. 2) и, таким образом, опосредовано делают клетки невосприимчивыми к вирусу. Помимо этого ГАМК показывает потенциальную активность против семейств вирусов Picornaviridae ($P_a=0,609$) и RhoXviridae ($P_a=0,638$). Борнил валерат и борнил ацетат (соли монотерпена борнеола) обладают как противовирусными, так и противовоспалительными свойствами, что позволяет одновременно контролировать репродукцию вирусов гриппа через прямое противовирусное действие и снижать провоспалительную реакцию организма [2]. Особенность гриппозной инфекции заключается в значительной активации провоспалительного врожденного иммунного ответа уже на ранней стадии инфекционного процесса [20]. На следующем этапе развивается «цитокиновый шторм», осложняющий течение инфекции и приводящий к таким осложнениям, как отек легких и системное поражение органов [22]. Поэтому сочетанный противовирусный и противовоспалительный эффект солей борнеола делает их одними из наиболее перспективных АФИ возможных противогриппозных препаратов.

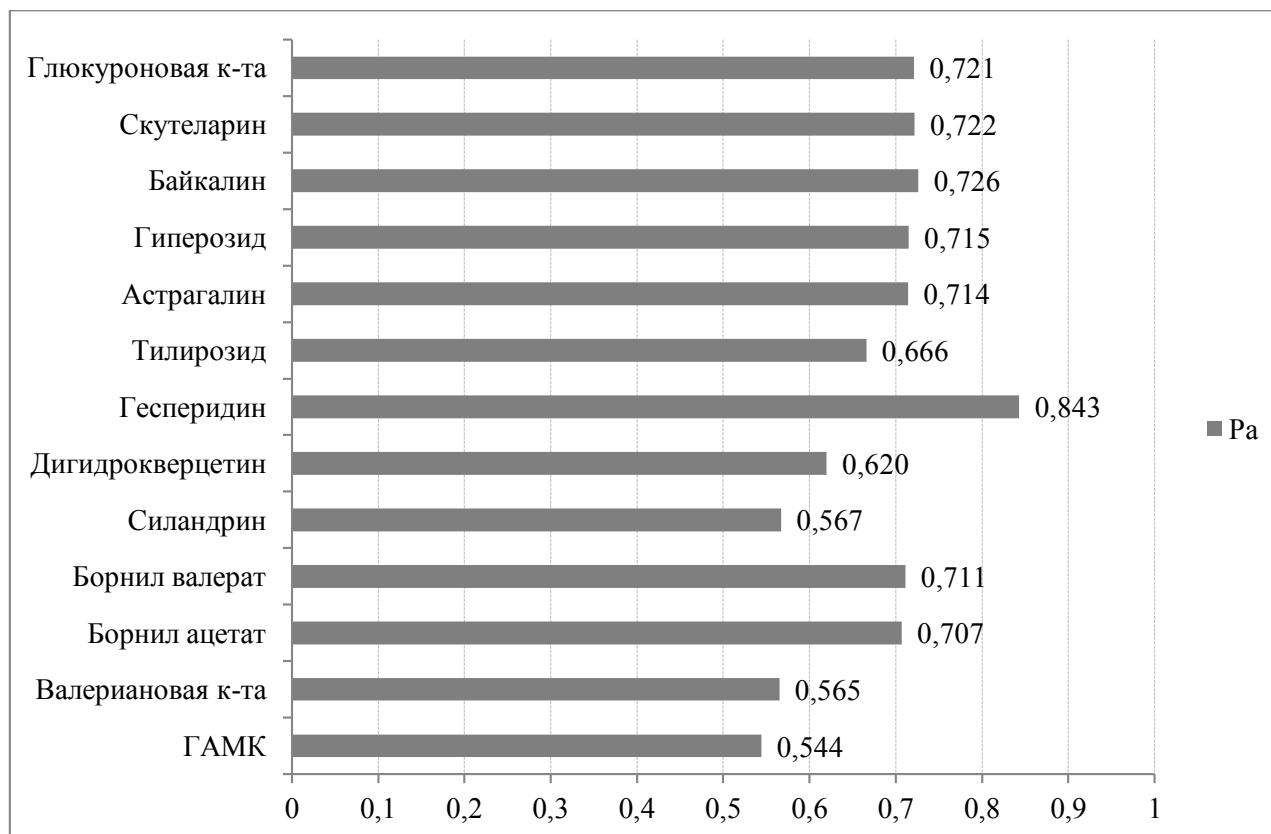


Рисунок 1. Потенциальная активность АФИ против вирусов гриппа.

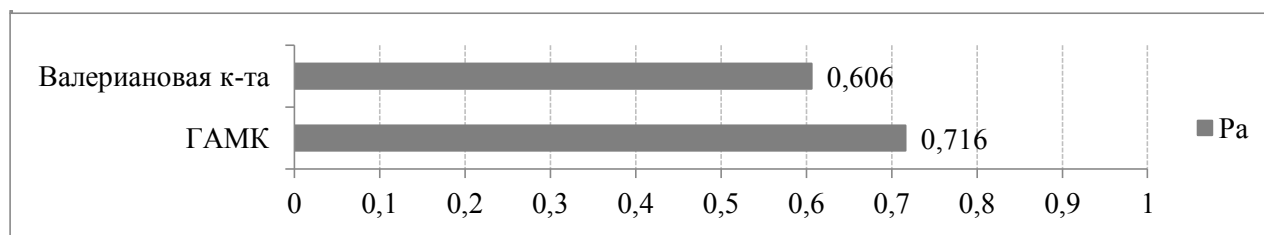


Рисунок 2. Потенциальная активность АФИ как агонистов интерферона- α .

В нашем исследовании *in silico* установлено, что потенциально высокую активность против вирусов гриппа проявляют флавоноиды (Рис.1). В исследованиях флавоноидов *in vitro* подтверждается их противовирусная активность [7, 9, 12, 16, 19], антибактериальная активность [7, 16], антигипертензивное и антиаритмическое действие [9]. В исследованиях *in vitro* показано, что флавоноиды подавляют внутриклеточную репликацию вирусов и уменьшают их инфекционность [16], установлено их взаимодействие с интерферонами α и β [21] и фактором некроза опухоли α (TNF- α) [15]. Показано, что посредством химической модификации флавоноидов возможно повысить их активность [6].

Основной целью нашего исследования был поиск антигриппозной активности у известных АФИ, однако следует отметить потенциальную ($P_a > 0,5$) активность выбранных соединений против других вирусов, а именно: цитомегаловируса (валериановая к-та), аденовирусов (валериановая к-та, ГАМК), пикорнавирусов (валериановая к-та, ГАМК, глюкуроновая к-та), поксвирусов (валериановая к-та, ГАМК), риновирусов (валериановая к-та, борнил валерат, борнил ацетат, силандрин, дигидрокверцетин (таксифолин)), герпесвирусов (силандрин, гесперидин, тилирозид, астрагалин, гиперозид).

Иммуностимулирующая активность. В результате наших исследований *in silico* установлено, что ГАМК, астрагалин, гиперозид и глюкуроновая к-та, проявляют потенциальную иммуностимулирующую активность (Рис.3).

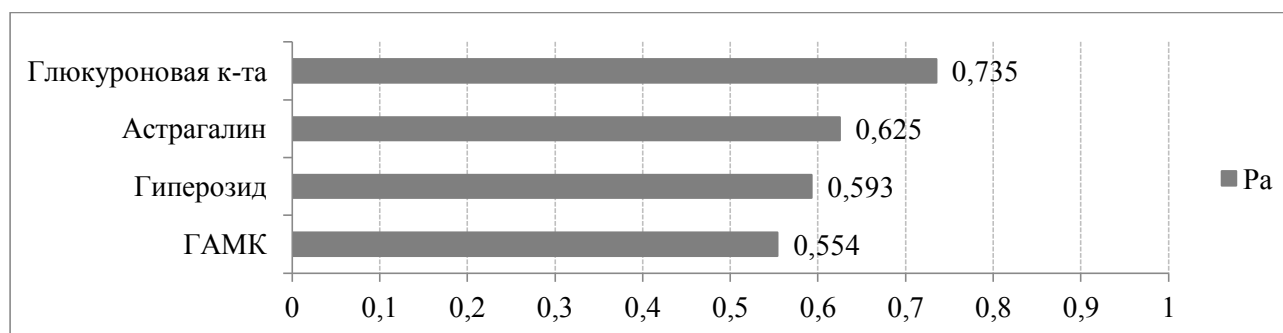


Рисунок 3. Потенциальная иммуностимулирующая активность АФИ.

Токсичность. В целом, выбранные вещества имеют невысокую токсичность. Однако следует учесть результаты исследования, в котором *in vitro* показано, что в условиях деполяризации повышенный уровень ГАМК является токсичным для субпопуляции развивающихся нейронов гиппокампа [13]. Также следует отметить возможную мутагенную токсичность флавоноидов, хотя эти сведения противоречивы и в других работах говорится об их антимуtagenной и цитостатической активности [3, 7]. Следовательно, этот вопрос требует дополнительного глубокого и комплексного изучения.

Плейотропные свойства выбранных АФИ. ГАМК оказывает успокаивающее и релаксирующее действие, также ее используют в комплексном лечении артериальной гипертензии. Флавоноиды обладают антиоксидантной и гепатопротекторной активностью. Борнил валерат и борнил ацетат имеют антиоксидантные и противовоспалительные свойства.

Источники получения. Все выбранные вещества (кроме ГАМК и то не абсолютно, если вспомнить о специально ферментированных сортах т.н. ГАМК чая [14]) содержатся в растительных экстрактах: экстракте корневищ валерианы (валериановая кислота, борнил валерат, борнил ацетат), экстракте плодов расторопши пятнистой (силандрин, дигидрокверцетин (таксифолин)), экстракте цветков липы сердцелистной (гесперидин, астрагалин, тилирозид), экстракте листьев малины (гиперозид, астрагалин), экстракте корня шлемника байкальского (байкалин, скутеларин, глюкуроновая кислота) и в других экстрактах лекарственных растений. ГАМК синтезируют химическим путем.

Вывод. Выбранные *in silico* вещества имеют потенциально высокую активность против вирусов гриппа и в силу низкой токсичности и положительных плейотропных свойств могут рассматриваться как активные фармацевтические ингредиенты новых комплексных лекарственных препаратов для борьбы с инфекциями вирусов гриппа у людей пожилого возраста.

Список литературы.

1. Ильницкий А.Н. К вопросу о распространенности синдрома мальнутриции среди людей пожилого возраста / А.Н. Ильницкий, К.И. Прощаев, Я.В. Журавлева, В.И. Бессарабов, В.В. Кривецкий // Проблемы старения и долголетия. - 2012. - Т. 21, № 3. - С. 422-426.
2. Киселев О. И. Фармацевтические соли аминобицикло[2.2.1]гептанов как ингибиторы транскрипционного фактора nf-kb с противовирусной активностью (варианты) и их применение. / О. И. Киселев, С. Н. Тандура, Э. Г. Деева // Патент России №2448692 09.11.2009
3. Максимов А. Ю. Генетические эффекты флавоноидов в бактериальных культурах: Автореф. дис. канд. биол. наук. - Пермь, 2004.
4. Поройков В. В. Компьютерное предсказание Биологической активности химических веществ: виртуальная хемогеномика / В.В. Поройков, Д.А. Филимонов, Т.А. Глориозова, А.А. Лагунин, Д.С. Дружиловский, А.В. Степанчикова // Вавиловский журнал генетики и селекции. - 2009. - Т. 13, № 1. - С. 137-143.
5. Филимонов Д.А. Прогноз спектра биологической активности органических соединений / Д.А. Филимонов, В.В. Поройков // Рос. хим. журн. – 2006. – Т. 50, № 2. – С. 66-75.

6. van Acker F.A. New synthetic flavonoids as potent protectors against doxorubicin-induced cardiotoxicity / F.A. van Acker, J.W. Hulshof, G.R. Haenen, W.M. Menge, W.J. van der Vijgh, A. Bast // *Free Radic Biol Med.* - 2001. - Vol. 31, №1. – P. 31-37.
7. Tim Cushnie T.P. Antimicrobial activity of flavonoids / T.P. Tim Cushnie, Andrew J. Lamb. // *International Journal of Antimicrobial Agents.* - 2005. - № 26. – P. 343–356.
8. Ershler W.B. Influenza and aging: Age-related changes and the effects of thymosin on the antibody response to influenza vaccine / W.B. Ershler, A.L. Moore, M.A. Socinski. // *Journal of Clinical Immunology.* - 1984. - Vol. 4, № 6. - P. 445-454.
9. Formica J.V. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids / J.V. Formica, W. Regelson. // *Food and Chemical Toxicology.* - 1995. - Vol. 33, № 12. – P. 1061–1080.
10. Gavazzi G. Ageing and infection / G. Gavazzi, K.H. Krause // *Lancet Infect Dis.* – 2002. - Vol. 2, № 11. – P. 659-66.
11. Kang K.S. An altered relationship of influenza vaccine-specific IgG responses with T cell immunity occurs with aging in humans / K.S. Kang, N. Lee, M.S. Shin, S.D. Kim, Y. Yu, S. Mohanty, R.B. Belshe, R.R. Montgomery, A.C. Shaw, I. Kang // *Clin Immunol.* - 2013. – Vol. 147, № 2. – P. 79-88.
12. Kaul Tej N. Antiviral effect of flavonoids on human viruses / Tej N. Kaul, Elliott Middleton Jr. M.D. Pearay L. Ogra // *Journal of Medical Virology.* - 1985. - Vol. 15, № 1. – P. 71–79.
13. Lukasiuk K. GABA(A)-mediated toxicity of hippocampal neurons in vitro / K. Lukasiuk, A. Pitkänen // *J Neurochem.* – 2000. - Vol. 74, № 6. – P. 2445-2454.
14. Jeng-Leun Mau. Antimutagenic and Antimicrobial Activities of γ -Aminobutyric Acid (Gaba) Tea Extract / Jeng-Leun Mau, Shioh-Ying Chiou, Ching-An Hsu, Hsiu-Lan Tsai, Sheng-Dun Lin // *International Conference on Nutrition and Food Sciences IPCBEE. IACSIT Press, Singapore.* – 2012. - Vol. 39. - P. 178-182.
15. Ohnishi E. Quercetin potentiates TNF-induced antiviral activity / E. Ohnishi, H. Bannai // *Antiviral Res.* - 1993. - № 22. – P. 327-331.
16. Özcelik B. Antiviral and Antimicrobial Assessment of Some Selected Flavonoids / B. Özcelik, I. Orhan, G. Tokerb. // *Naturforsch.* – 2006. – Vol. 61. – P. 632-638.
17. Poroikov V.V. Robustness of biological activity spectra predicting by computer program pass for noncongeneric sets of chemical compounds / V.V. Poroikov, D.A. Filimonov, Y.V. Borodina, A.A. Lagunin, A. Kos // *Journal of Chemical Information and Computer Sciences.* - 2000. - Vol. 40. № 6. - P. 1349-1355.

18. Poroikov V.V. Pass biological activity spectrum predictions in the enhanced open nci database browser / V.V. Poroikov, D.A. Filimonov, T.A. Glorizova, A.A. Lagunin, Y.V. Borodina, A.V. Stepanchikova, W.D. Ihlenfeldt, M.C. Nicklaus// Journal of Chemical Information and Computer Sciences. - 2003. - Vol. 43. № 1. - P. 228-236.
19. Sánchez I. Antiviral effect of flavonoids on the dengue virus / I. Sánchez, F. Gómez-Garibay, J. Taboada, B.H. Ruiz. // Phytother Res. – 2000. - Vol 14, № 2. – P. 89-92.
20. Seo S.H. Lethal H5N1 influenza virus escape host anti-viral cytokine responses / S.H. Seo, E. Hoffman, R.G. Webster // Nat. Med. - 2002. - Vol.8. - P. 950-954.
21. Veckenstedt A. Synergistic action of quercetin and murine alpha/beta interferon (MuIFN- α/β) in the treatment of Mengo virus infection in mice / A. Veckenstedt, J. Güttner, I. Beladi // Antiviral Res. – 1987. - Vol. 7, № 3. – P. 169-178.
22. Zhou J. Differential expression of chemokines and their receptors in adult and neonatal macrophages infected with human and avian influenza viruses / J. Zhou, H.K.W. Law, C.Y. Cheung et al. // J. Infect. Dis. - 2006. - Vol.194. - P.61-70.

References.

1. Il'nickij A.N., Proshhaev K.I., Zhuravleva Ya.V., Bessarabov V.I., Kriveckij V.V. Problemy stareniya i dolgoletiya, 2012, Vol. 21, no. 3, pp. 422-426.
2. Kiselev O. I., Tandura S. N., Deeva E' G. Patent of Russia №2448692 09.11.2009.
3. Maksimov A. Yu. Geneticheskie e'ffekty flavonoidov v bakterial'nyx kul'turax: Avtoref. dis. kand. biol. nauk. Perm'. 2004.
4. Poroikov V.V. , Filimonov D.A., Glorizova T.A., Lagunin A.A., Druzhilovsky D.S., Stepanchikova A.V. VOGiS Herald, 2009, Vol. 13, no. 1, pp. 137-143.
5. Filimonov D.A., Poroikov V.V. Ros. khim. zhurn., 2006, Vol.50, no. 2, pp. 66-75.
6. van Acker F.A. Hulshof J.W., Haenen G.R., Menge W.M., van der Vijgh W.J., Bast A. Free Radic. Biol. Med., 2001, Vol. 31, no. 1, pp. 31-37.
7. Tim Cushnie T.P., Andrew J. Lamb. International Journal of Antimicrobial Agents, 2005, no. 26, pp. 343–356.
8. Ershler W.B., Moore A.L., Socinski M.A., Journal of Clinical Immunology, 1984, Vol. 4, no 6, pp. 445-454.
9. Formica J.V., Regelson W. Food and Chemical Toxicology, 1995, Vol. 33, no. 12, pp. 1061–1080.

10. Gavazzi G., Krause K.H. *Lancet Infect Dis.*, 2002, Vol. 2, no. 11, pp. 659-666.
11. Kang K.S., Lee N., Shin M.S., Kim S.D., Yu Y., Mohanty S., Belshe R.B., Montgomery R.R., Shaw A.C., Kang Y. *Clin Immunol.*, 2013, Vol. 147, no. 2, pp. 79-88.
12. Kaul Tej N., Elliott Middleton Jr. M.D., Pearay L. Ogra. *Journal of Medical Virology*, 1985, Vol. 15, no. 1, pp. 71-79.
13. Lukasiuk K., Pitkänen A. *J. Neurochem.*, 2000, Vol. 74, no. 6, pp. 2445-2454.
14. Jeng-Leun Mau, Shiow-Ying Chiou, Ching-An Hsu, Hsiu-Lan Tsai, Sheng-Dun Lin. *International Conference on Nutrition and Food Sciences IPCBEE*. IACSIT Press, Singapore. 2012, Vol. 39, pp. 178-182.
15. Ohnishi E., Bannai H. *Antiviral Res.*, 1993, no. 22, pp. 327-331.
16. Özcelika B., Orhanb I., Tokerb G. *Naturforsch.*, 2006, Vol. 61, pp. 632-638.
17. Poroikov V.V., Filimonov D.A., Borodina Y.V., Lagunin A.A., Kos A. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 2000, Vol. 40, no. 6, pp. 1349-1355.
18. Poroikov V.V., Filimonov D.A., Glorizova T.A., Lagunin A.A. Borodina Y.V., Stepanchikova A.V., Ihlenfeldt W.D., Nicklaus M.S. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 2003, Vol. 43, no. 1, pp. 228-236.
19. Sánchez I., Gómez-Garibay F., Taboada J., Ruiz B.H. *Phytother Res.*, 2000, Vol 14, no 2, pp. 89-92.
20. Seo S.H., Hoffman E., Webster R.G. *Nat. Med.*, 2002, Vol.8, pp. 950-954.
21. Veckenstedt A., Güttner J., Beladi I. *Antiviral Res.*, 1987, Vol. 7, no. 3, pp. 169-178.
22. Zhou J., Law H.K.W., Cheung C.Y. et al. *J. Infect. Dis.*, 2006, Vol.194, pp. 61-70.