

UDC 577.152.3 + 615.32

Антивірусні властивості рослинних флавоноїдів – інгібіторів синтезу ДНК і РНК

Л. Г. Пальчиковська¹, О. В. Васильченко¹, М. О. Платонов¹, Д. Б. Старосила²,
Ю. І. Порва², С. Ю. Римар¹, В. П. Атаманюк², С. П. Самійленко¹, С. Л. Рибалко²

¹Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, Україна, 03680

²ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л. В. Громашевського НАМН України»
Вул. Амосова, 5, Київ, Україна, 03038

L.Palchykovska@ukr.net

Мета. Дослідити вплив рослинного екстракту (РЕ) щучки дернистої (*Deschampsia caespitosa* L.) і війника наземного (*Calamagrostis epigeios* L.) та його компонентів – похідних кверцетину – на синтез ДНК і РНК, а також порівняти їхні антивірусні властивості. **Методи.** Тест-системи: модельна транскрипційна система бактеріофага T7 (РНКП T7), полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР); моделі грипозної і герпетичної інфекцій та модель вірусу гепатиту С. **Результати.** Встановлено, що РЕ, його мажорний (7, 3'-диметоксикверцетин, ДМК) і мінорний (5, 7, 3', 4'-тетраметоксикверцетин, ТМК) компоненти ефективно інгібують синтез РНК у системі РНКП T7 із значеннями IC_{50} 0,07; 4 і 1 мкг/мл відповідно. Згадані агенти повністю пригнічують ПЛР: відповідні величини IC_{50} становлять 8, 30 і 40 мкг/мл для РЕ, ТМК і ДМК. Усі досліджені препарати виявляють високу множинну активність проти РНК- і ДНК-вмісних вірусів. **Висновки.** Протівірусна активність РЕ, вірогідно, зумовлена сукупною дією його компонентів, у тому числі ТМК і ДМК. Зважаючи на багатомішений профіль останніх, можна припустити, що механізм протівірусної дії досліджуваних агентів визначається, серед іншого, блокуванням вірусних ферментативних систем синтезу РНК і ДНК.

Ключові слова: рослинні похідні кверцетину, інгібітори синтезу РНК і ДНК, антивірусні властивості.

Вступ. Через погіршення соціальної та екологічної ситуації в Україні проблема лікування захворювань, обумовлених вірусними інфекціями, є надзвичайно актуальною. Серед інфекційних агентів, що набувають загрозливого розповсюдження, слід відзначити віруси простого герпесу (ВПГ), грипу, гепатиту С (ВГС) та вірус імунодефіциту людини (ВІЛ).

На фармацевтичному ринку України представлено синтетичні препарати вітчизняного та імпортованого виробництва, які зазвичай призначені для лікування окремих видів інфекцій. Однак їхнє застосування нерідко супроводжується несприятливими ефектами – токсичним впливом, побічною дією, пригніченням імунної системи пацієнтів тощо.

Тому як за кордоном, так і в Україні увага фармакологів все частіше зосереджується на фітопрепаратах – багатокомпонентних системах на основі рослинних екстрактів з менш вираженою токсичністю та множинними лікувальними ефектами.

Флавоноїди – гетероциклічні кисневмісні сполуки, що представляють собою одну з найчисельніших груп природних поліфенолів, поширених у вищих рослин і важливих для їхнього метаболізму. До групи представників цього класу, які наразі активно вивчаються, належать кверцетин і його похідні широкого спектра терапевтичної дії. Відомо, що флавоноїди мають протизапальні, антиоксидантні, протиалергенні, антивірусні, антимутагенні, протипухлинні та цитопротекторні властивості [1]. Варто зазначити, що токсична дія кверцетину та його

го похідних на клітини людини і тварин є незначною [2].

Механізм дії кверцетину, пов'язаний з його антиоксидантними властивостями, полягає в сукупному інгібувальному впливі на ферментативні системи клітини, а саме – у втручанні в функціонування оксидаз [3, 4], зокрема, ксантинооксидази [5]. Протизапальна дія кверцетину є наслідком інгібування циклоокси- та ліпоксигеназ, що перешкоджає утворенню медіаторів запалення – лейкотрієнів і простагландинів [6]. Також кверцетин є ефективним інгібітором альдозоредуктази – ферменту, що відіграє важливу роль у формуванні діабетичної катаракти [7]. Зрештою, кверцетин і його похідні пригнічують функціонування зворотної транскриптази ВІЛ-1, а також ДНК- і РНК-полімераз людини [8–10].

Злакові рослини – щучка дерниста (*Deschampsia caespitosa* L.) і війник наземний (*Calamagrostis epigeios* L.) – поширені у різних регіонах України. Збагачений екстракт суміші цих рослин має протівірусну дію щодо ДНК- і РНК-вмісних вірусів. Діючими речовинами екстракту є флавоноїди та їхні глікозиди.

Мета даної роботи полягала у дослідженні впливу збагаченого екстракту суміші цих рослин (РЕ), його мажорного (7,3'-диметоксикверцетину, ДМК) і мінорного (5,7,3,4'-тетраметоксикверцетину, ТМК) компонентів на синтез РНК і ДНК у модельних системах транскрипції і реплікації, а також у порівняльному аналізі антивірусних властивостей усіх трьох досліджуваних препаратів.

Як транскрипційну тест-систему використано модельний ферментативний комплекс ДНК-залежної РНК-полімерази бактеріофага Т7 (РНКП Т7); реплікативну систему представлено полімеразною ланцюговою реакцією (ПЛР) з використанням ДНК-полімерази Таq. Антивірусні дослідження проводили проти ВПГ, грипу, ВГС.

Матеріали і методи. Препарати. В роботі використано РЕ, ДМК і ТМК. Останній присутній у РЕ в значно меншій кількості, ніж ДМК, отриманий синтетичним шляхом. Усі препарати надано НВП «Екофарм» (Україна). Для проведення досліджень РЕ попередньо висушували у вакуумі, сухий залишок розчиняли в ДМСО, так само як ДМК і ТМК, у концентрації 1 мг/мл.

Реакція транскрипції *in vitro*. Вплив досліджуваних речовин на синтез РНК *in vitro* перевіряли в системі транскрипції РНКП Т7, застосовуючи комерційні реагенти фірми «Fermentas» (Литва) [11]. Транскрипцію проводили в 20 мкл реакційної суміші, яка містить 0,5 мкг лінеаризованої ДНК плазмиди *pTZ19R* з промотором РНКП Т7, рибонуклеозидтрифосфати – кожний у концентрації 2 мМ, 20 од. акт. інгібітора РНКаз RiboLock™ за присутності 40 мМ трис-НCl, рН 7,9; 6 мМ MgCl₂, 2 мМ спермідину, 10 мМ NaCl, 10 мМ дитіотреїтолу (ДТТ) та 12 од. акт. Т7 РНК-полімерази. Речовини розчиняли в ДМСО (1 мг/мл). Концентрація ДМСО у контрольній і дослідних пробах становить 2,5 % (концентрація, яка не впливає на продуктивність синтезу РНК). Реакційну суміш витримували впродовж 45 хв за температури 37 °С та зупиняли охолодженням (до –20 °С). Продукти реакції детектували за допомогою гель-електрофорезу в 1 %-й агарозі з додаванням 0,3 мкг/мл бромистого етидію. РНК-транскрипти візуалізували на транслюмінаторі в УФ-світлі. Інтенсивність смуг РНК на фотографії вимірювали денситометрично за допомогою програми Scion Image. Значення IC₅₀ (концентрація інгібітора, необхідна для пригнічення ферментативної активності на 50 %) визначили за графіком залежності останньої від концентрації.

Реакція ампліфікації. ПЛР проводили за стандартною методикою [12], використовуючи набір реагентів для ПЛР «Амплісен» (РФ) та ДНК-рекомбінантну плазмиду на основі вектора *pUC28*, що містить кодуючу послідовність гена *LIF* (leukemia inhibitory factor) людини, як матрицю. Концентрація ДНК становить 1–25 пг/100 мкл суміші для реакції. ДНК ампліфікували в термостаті для ПЛР-аналізу «Терцик» («ДНК-технологія», РФ).

Докінг. Процедуру докінгу ліганду в модельний рецептор здійснювали за методом, описаним у роботі [13]. Усі розрахунки виконано із застосуванням пакету програм QXP /Flo⁺, розробленого авторами роботи [14]. Докінг здійснювали з використанням гнучкого ліганду та фіксованої моделі рецептора. Модель рецептора сформовано на основі рентгеноструктурних даних для транскрипційного комплексу РНКП Т7–ДНК, що відповідає фазі впізнання вхідного нуклеотиду (PDB X-Ray code:

ISOV) [15]. До моделі активного сайту залучали амінокислотні залишки в радіусі 1,0 нм навколо природного субстрату, що беруть участь у впізнаванні і зв'язуванні субстрату і забезпечують функціонування полімерази.

Антигрипозну активність препаратів визначали за умов *in vitro* з використанням добової перещеплюваної культури клітин MDCK (клітини нирки собаки) із суцільним шаром. Перед інфікуванням культуру MDCK обробляли розчином трипсину у дозі 2 мкг/мл. Використовували вірус грипу, штаму A/FM/1/47 (H1N1), інфекційний титр у MDCK – 4,0 lg ID₅₀.

Після інфікування клітин середовище росту зливали, до клітин додавали препарати в різних концентраціях і залишали для контакту на 60 хв, потім вносили вірус грипу, штаму A/FM/1/47 (H1N1), у дозі 100 ID₅₀. Через 1 год вірус, що не адсорбувався, видаляли і в лунки додавали підтримуюче середовище. Після 48–72 год інкубації клітин культуральну рідину збирали і в ній визначали активність гемаглютиніну та інфекційний титр вірусу грипу з титруванням в культурі клітин.

Антигерпетична активність препаратів. Препарати досліджували на перещеплюваній культурі клітин RK13 (клітини нирки кроля). Використовували вірус герпесу 1-го типу, штаму VC (ВПГ), інфекційний титр 4,0 lg TCD₅₀. Для експериментів відбирали добові культури клітин RK13 із суцільним моношаром клітин. Середовище росту зливали, на моношар клітин наносили тест-агенти у різних розведеннях. Після 1 год контакту додавали вірус герпесу у дозі 100 TCD₅₀. Через 5 діб збирали культуральне середовище і в ньому визначали інфекційний титр у кожній пробі.

Модель культури – продуцента клітин, трансфікованих кДНК вірусу гепатиту С [16]. Експерименти проводили на лінії клітин MT-4 – перещеплюваній суспензійній культурі клітин лімфобластоїдного походження. Джерелом ВГС слугувала нерозведена плазма крові хворих на гепатит С з різним вірусним навантаженням, яка містить РНК ВГС. Останню виділяли з використанням комплексу реагентів «РИБО-сорб» (ФДУН «ЦНДІЕ» Росспоживнагляду, РФ). кДНК ВГС отримували реакцією зворотної транскрипції РНК з використанням комплексу

реагентів «Реверта-Л» (ФДУН «ЦНДІЕ» Росспоживнагляду). До 10 мкл готової реакційної суміші (ліофілізований ДТТ, 125 мкл розчину RT-mix і 6 мкл ревертази MMLv – зворотна транскриптаза вірусу лейкемії мишей) додавали 10 мкл РНК-проби і проводили транскрипцію за температури 37 °С протягом 30 хв, в результаті чого отримували кДНК. Суспензійні культури клітин MT-4 трансфікували кальцій-фосфатним методом [17]. До зразка кДНК додавали розчини NEPEs, рН 7,1, і 0,75 мМ Na₂HPO₄. До реакційної суміші по краплинах вводили 2 мМ розчин CaCl₂, продували повітря і витримували впродовж 30 хв за кімнатної температури до формування преципітату. Утворену суспензію вводили в культуру клітин. Трансфіковані культури інкубували за температури 37 °С у термостаті з подачею 5 % CO₂. Вірус у культурі клітин MT-4 тестували методом ПЛР.

Антигепатитна активність препаратів. Для вивчення антивірусної активності препарати у різних концентраціях вводили в культуру клітин MT-4, яка продукує ВГС. Через 5 діб визначали інфекційний титр у кожній пробі методом ПЛР.

Результати і обговорення. Транскрипція є ключовим процесом функціонування і репродукції клітин та одночасно однією з основних мішеней для антивірусної та антимікробної терапії. Органічні сполуки, що здатні впливати на процес транскрипції, використовують як потенційні лікарські засоби – інгібітори репродукції вірусів, бактерій тощо [18].

Відомо, що 3D структури різних ДНК- і РНК-полімераз мають високий ступінь подібності, містять одні й ті самі структурні домени і консервативні мотиви, необхідні для елонгації ланцюга нуклеїнової кислоти [19, 20]. Тому для селекції інгібіторів синтезу РНК, а також виявлення ефективних антимікробних та/або антивірусних агентів – інгібіторів транскрипції ми з успіхом використали просту у застосуванні і продуктивну модельну систему транскрипції РНКП T7 [11, 21–23].

Первинне дослідження РЕ та його компонентів ДМК і ТМК, структури яких представлено на рис. 1, у модельній системі РНКП T7 проводили за концентрації препаратів 25 мкг/мл. Усі тест-агенти за цієї концентрації повністю блокують синтез РНК. Для подальшого детальнішого з'ясування їхнього

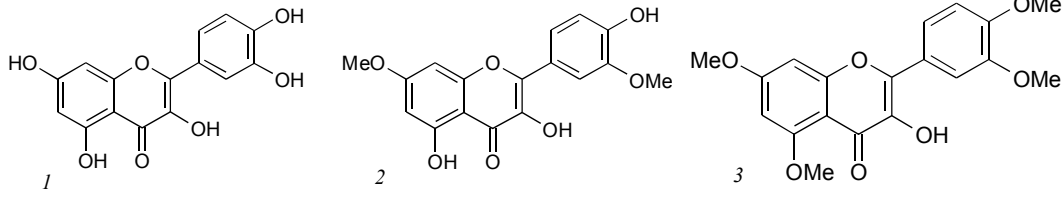


Рис. 1. Структури кверцетину (1); 7,3'-диметокси-кверцетину (2) і 5,7,3',4'-тетраметокси-кверцетину (3)

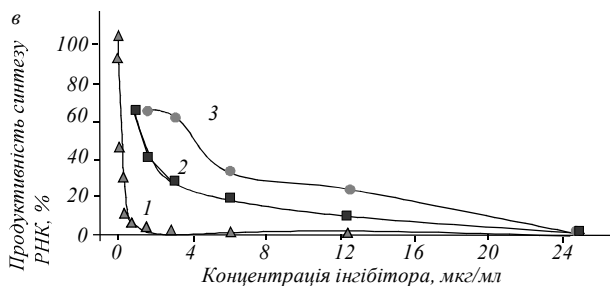
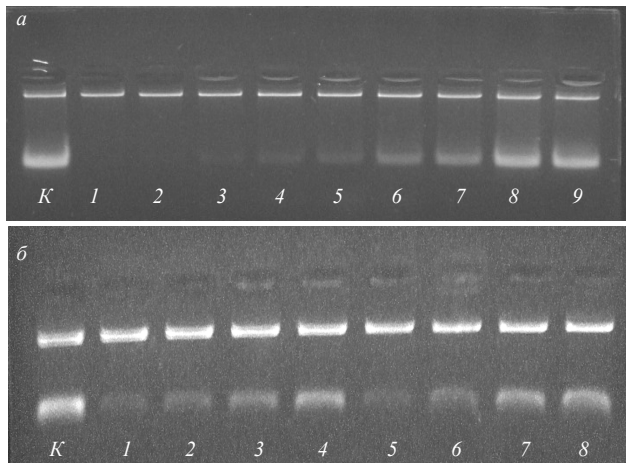


Рис. 2. Інгибування синтезу РНК (транскрипція РНКП Т7) *in vitro*. Повне інгибування визначається відсутністю РНК-продукту в агарозному гелі (а, б – типові електрофореграми РНК-транскриптів з трьох незалежних експериментів). Результати впливу різних концентрацій (мкг/мл) РЕ (а: К – контроль – РНК-продукт, отриманий за відсутності препаратів; 1 – 6,25; 2 – 3,125; 3 – 1,56; 4 – 0,78; 5 – 0,39; 6 – 0,195; 7 – 0,097; 8 – 0,049; 9 – 0,0244), ТМК (б: К – контроль; 1 – 6,25; 2 – 3,125; 3 – 1,56; 4 – 0,7) і ДМК (б: 5 – 12,5; 6 – 6,25; 7 – 3,125; 8 – 1,56) на синтез РНК-транскриптів; в – графік залежності інгибування синтезу РНК від концентрації досліджуваних агентів (1 – РЕ; 2 – ТМК; 3 – ДМК)

концентраційно-залежного впливу на транскрипцію застосовано метод дворазових розведень.

Отримані дані свідчать про високу інгибувальну активність усіх досліджуваних тест-агентів щодо синтезу РНК (рис. 2). РЕ виявився найактивнішим інгібітором транскрипційного комплексу РНКП Т7 із значенням IC_{50} 0,07 мкг/мл. Серед похідних кверцетину ефективнішим інгібітором є ТМК з показником $IC_{50} = 1$ мкг/мл у порівнянні з ДМК ($IC_{50} = 4$ мкг/мл).

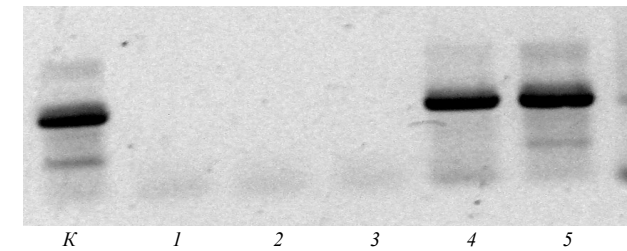


Рис. 3. Інгибування синтезу ДНК (реплікація – ПЛР) *in vitro* рослинним екстрактом (РЕ). Повне інгибування визначається відсутністю ДНК-продукту в агарозному гелі (типова електрофореграма РНК-транскриптів з трьох незалежних експериментів). Результати впливу різних концентрацій (мкг/мл) РЕ на синтез ДНК: К – контроль – ДНК-продукт, отриманий за відсутності препаратів; 1 – 20,0; 2 – 16,0; 3 – 8,0; 4 – 4,0; 5 – 0,4

Аналогічне вивчення впливу РЕ, ДМК і ТМК проведено за умов ПЛР. По суті ПЛР – це реплікація *in vitro* заданих фрагментів ДНК, але на відміну від традиційної реплікації технологія проведення ПЛР настільки продуктивна, що не потребує радіоактивного та будь-якого іншого мічення для візуалізації продуктів ампліфікації ДНК. Існує чимало чинників, природних і синтетичних сполук (солі, іони металів, білки та антибіотики), які за різними механізмами можуть зупиняти або порушувати ампліфікацію ДНК, власне ПЛР [24].

У цьому контексті видається цілком слушним застосування ПЛР як модельної системи для скринінгу і селекції агентів, що порушують або блокують синтез ДНК.

На рис. 3 і 4 представлено дані впливу РЕ та його компонентів на синтез ДНК-фрагментів за умов ПЛР. Як і за інгибування синтезу РНК, спостерігається концентраційно- і структурно-залежне пригнічення процесу ампліфікації. Профіль активності тест-агентів теж зберігається – РЕ > ТМК > ДМК, однак за дещо більших концентрацій, ніж за інгибування модельної транскрипції. Найменші концентрації IC_{90} , за яких агенти повністю пригнічують синтез ДНК, дорівнюють 8, 30 і 40 мкг/мл для РЕ, ТМК і ДМК відповідно.

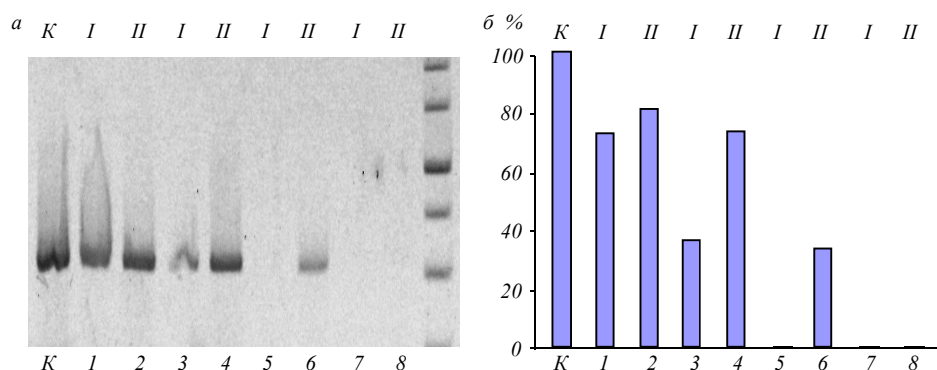


Рис. 4. Інгибування синтезу ДНК (ПЛР) *in vitro* ТМК (I) і ДМК (II). Повне інгибування визначається відсутністю ДНК-продукту в агарозному гелі: а – типова електрофореграма ДНК-продуктів з трьох незалежних експериментів; б – денситограма отриманих ДНК-продуктів (K – контроль – ДНК-продукт, отриманий за відсутності препаратів; доміжки 1–8 результати впливу різних концентрацій (мкг/мл) ТМК і ДМК на синтез ДНК; 1, 2 – 10,0; 3, 4 – 20,0; 5, 6 – 30,0; 7, 8 – 40,0

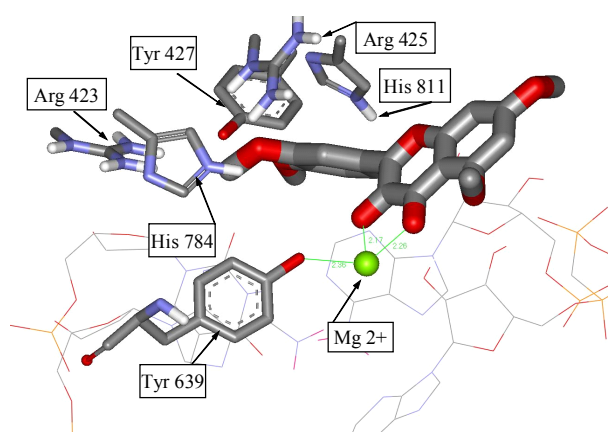


Рис. 5. Розміщення ТМК в моделі каталітичного сайту РНКП Т7 (дані молекулярного докінгу)

Таке підвищення інгібувальної концентрації може бути обумовлено особливостями Таq ДНК-полімерази, специфічними умовами проведення ПЛР і відносно м'якою і негенотоксичною дією досліджуваних агентів.

Для з'ясування можливого способу блокування досліджуваними агентами синтезу ДНК і РНК проведено їхній молекулярний докінг у модель каталітичної кишені транскрипційного комплексу РНКП Т7, зважаючи на те, що каталітичні комплекси ДНК і РНК-полімераз мають значну просторову подібність і практично ідентичний механізм елонгації ланцюга нуклеїнової кислоти [19, 20]. Для проведення докінгу обрано транскрипційний комплекс РНКП Т7, який відповідає фазі впізнавання вхідного нуклеотиду у послідовних етапах синтезу РНК (рис. 5). Виділена ділянка каталітичної кишені радіусом 1,0 нм містить амінокислотні залишки Arg425, Tyr427, Tyr639, His784, His811, Arg423 і Asp812, що відповідають за зв'язування ліганду з рецептором. Пере-

важна більшість з них належить до функціонально важливих консервативних мотивів РНКП Т7 [15]. За одержаними даними, гетероциклічний фрагмент обох досліджуваних сполук (ДМК і ТМК) орієнтується в об'ємі каталітичної кишені подібним чином і утримується за рахунок міцних координаційних зв'язків між атомами кисню у положеннях 4 і 5 з іоном магнію Mg^{2+} (довжина зв'язку 0,218 і 0,258 нм відповідно) та опосередковано через останній – з Tyr 639.

У той же час метокси- та/або гідроксигрупи арильних фрагментів заповнюють полярну кишеню, утворену бічними радикалами амінокислотних залишків Arg425, Tyr427, His784, His811 і Arg423, за рахунок низьки електростатичних взаємодій.

Експериментальну оцінку антивірусної дії тест-агентів здійснювали проти вірусів грипу, простого герпесу та гепатиту С. За результатами дослідження, представленими в таблиці, всі препарати демонструють ефективну антивірусну дію за низького рівня токсичності, про що свідчать високі значення показників хіміотерапевтичного індексу (ХТІ). Рослинний екстракт проявив найвищу ефективність щодо використаних вірусних тест-систем. Потрібно зазначити, що показник рівня інгибування РЕ синтезу РНК є дуже близьким за величиною до показників ефективності пригнічення репродукції усіх трьох вірусів.

Порівняно з рослинним екстрактом ДМК і ТМК виявилися дещо слабшими інгібіторами як ферментативних, так і вірусних систем *in vitro*. Однак ці сполуки залишаються перспективними агентами з широким спектром антивірусної дії і заслуговують на подальше поглиблене вивчення їхніх біологічних властивостей.

Результати дослідження антивірусної активності РЕ та його компонентів ДМК і ТМК

Сполука	Грип (H1N1), культура клітин MDBK			Герпес (ВПГ-1), культура клітин RK-13			ВГС, культура клітин MT-4, яка продукує ВГС			РНКП T7, IC ₅₀ , мкг/мл
	CC ₅₀ , мкг/мл	EC ₅₀ , мкг/мл	ХТІ	CC ₅₀ , мкг/мл	EC ₅₀ , мкг/мл	ХТІ	CC ₅₀ , мкг/мл	EC ₅₀ , мкг/мл	ХТІ	
РЕ	7	0,045	155,6	6,8	0,052	130	6,8	0,01	680	0,07
ДМК	240	1,5	160	240	0,375	640	240	2,4	100	4
ТМК	240	0,375	640	240	0,375	640	240	–	–	1

Примітка. CC₅₀ – цитотоксична концентрація; EC₅₀ – ефективна концентрація, яка на 50 % пригнічує репродукцію вірусу; ХТІ відповідає індексу селективності (selectivity index – SI).

Висновки. У представленій роботі виявлено інгібувальний вплив рослинного екстракту щучки дернистої (*D. caespitosa* L.) і вейника наземного (*C. epigeios* L.) та його компонентів – 7,3'-диметоксикверцетину і 5,7,3',4'-тетраметоксикверцетину на синтез РНК і ДНК *in vitro*. Усі тест-агенти виявилися ефективними інгібіторами реплікації РНК- і ДНК-вмісних вірусів.

Противірусна активність рослинного екстракту зумовлена, вірогідно, сукупною дією його компонентів, у тому числі і зазначених похідних кверцетину. З урахуванням багатомішенного профілю останніх механізм противірусної дії усіх досліджуваних агентів може полягати, серед іншого, у блокуванні вірусних ферментативних систем синтезу РНК і ДНК.

L. G. Palchykovska¹, O. V. Vasylenko¹, M. O. Platonov¹, D. B. Starosyla², J. I. Porva², S. J. Rymar¹, V. P. Atamaniuk², S. P. Samijlenko¹, S. L. Rybalko²

Antiviral properties of herbal flavonoids – inhibitors of the DNA and RNA synthesis

¹Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine
150, Akademika Zabolotnoho Str., Kyiv, Ukraine, 03680

²Gromashevsky L. V. Institute of Epidemiology and Infectious Diseases, NAMS of Ukraine
5, Amosova Str., Kyiv, Ukraine, 03038

Summary

Aim. To investigate influence of the *Deschampsia caespitosa* L. and *Calamagrostis epigeios* L. herbal extract (HE) and its main components – quercetin derivatives – on the DNA and RNA synthesis; to perform comparative analysis of their antiviral activities. **Methods.** The model transcription system of bacteriophage T7 (RNAP T7) and polymerase chain reaction (PCR) were used as test systems. For antiviral studies there were employed models of influenzal and herpetic infections and hepatitis C. **Results.** It was shown, that HE, its major component 7, 3'-dimethoxyquercetin (DMQ) its minor component 5, 7, 3', 4'-tetramethoxyquercetin (TMQ) effectively inhibited the RNA synthesis in the RNAP T7 system with the corresponding values of IC₅₀ – 0.07, 4 and 1 μg/ml. Minimal concentrations of the agents IC₉₀, completely inhibiting PCR, were – 8, 30 and 40 μg/ml for HE, TMQ and DMQ, accordingly. All the studied preparations revealed high multiple antiviral activities against the RNA- and DNA-containing viruses. **Conclusions.** Antiviral activity of the herbal extract is likely determined by the combined action of its components, TMQ and DMQ including. Bearing in mind multi-target profile of quercetin derivatives, an assumption may be made, that antiviral mechanism of the agents studied consists in blocking of enzymatic systems of the RNA and DNA synthesis.

хукеерцетин (ТМҚ) эффективно ингибировала синтез РНК в системе РНКП Т7 с соответствующими значениями IC₅₀ – 0,07, 4 и 1 мкг/мл. Минимальные концентрации агентов IC₉₀, полностью ингибирующие ПЦР, составили – 8, 30 и 40 мкг/мл для РЕ, ТМҚ и ДМҚ, соответственно. Все исследованные препараты показали высокую множественную активность против РНК- и ДНК-содержащих вирусов. Выводы. Противовирусная активность РЕ, вероятно, обусловлена совокупным действием его компонентов, в том числе ТМҚ и ДМҚ. Учитывая многомишенный профиль последних, можно предположить, что механизм противовирусного действия исследованных агентов определяется, среди прочего, блокированием вирусных ферментативных систем синтеза ДНК и РНК.

Keywords: herbal quercetin derivatives, inhibitors of RNA and DNA synthesis, antiviral activity

Л. И. Пальчиковская, А. В. Васильченко, М. О. Платонов, Д. Б. Старосила, Ю. И. Порва, С. Ю. Рымарь, В. П. Атаманюк, С. А. Самойленко, С. Л. Рыбалко

Antiviral properties of flavonoids – inhibitors of the DNA and RNA synthesis

Резюме

Цель. Исследовать влияние растительного экстракта (РЕ) щучки дернистой (*Deschampsia caespitosa* L.) и вейника наземного (*Calamagrostis epigeios* L.) его компонентов – производных кверцетина – на синтез ДНК и РНК, а также сравнить их противовирусные свойства. **Методы.** Тест-системы: модельная транскрипционная система бактериофага Т7 (РНКП Т7), полимеразная цепная реакция (ПЦР); модели гриппозной, герпетической инфекций и модель вируса гепатита С. **Результаты.** Установлено, что РЕ, его мажорный (7,3'-диметоксикверцетин, ДМК) и минорный (5,7,3',4'-тетраметоксикверцетин, ТМК) компоненты эффективно ингибируют синтез РНК в системе РНКП Т7 со значениями IC₅₀ 0,07; 4 и 1 мкг/мл соответственно. Изученные агенты полностью угнетают ПЦР: значения IC₉₀ составляют соответственно 8, 30 и 40 мкг/мл для РЕ, ТМК, ДМК. Все исследованные препараты показывают высокую множественную активность против РНК- и ДНК-содержащих вирусов. **Выводы.** Противовирусная активность РЕ, вероятно, обусловлена совокупным действием его компонентов, в том числе ТМК и ДМК. Учитывая многомишенный профиль последних, можно предположить, что механизм противовирусного действия исследованных агентов определяется, среди прочего, блокированием вирусных ферментативных систем синтеза ДНК и РНК.

Ключевые слова: растительные производные кверцетина, ингибиторы РНК и ДНК синтеза, противовирусные свойства.

REFERENCES

1. *Formica J. V., Regelson W.* Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids // *Food Chem. Toxicol.*—1995.—**33**, N 12.—P. 1061–1080.
2. *Havsteen B. H.* The biochemistry and medical significance of flavonoids // *Pharmac. Ther.*—2002.—**96**, N 2–3.—P. 67–202.
3. *Saija A., Scalese M., Lanza M., Marzullo D., Bonina F., Castelli F.* Flavonoids as antioxidant agents: importance of their interaction with biomembranes // *Free Radic. Biol. Med.*—1995.—**19**, N 4.—P. 481–486.
4. *Miller A. L.* Antioxidant flavonoids: structure, function and clinical usage // *Alt. Med. Rev.*—1996.—**1**, N 2.—P. 103–111.
5. *Chang W. S., Lee Y. J., Lu F. J., Chiang H. C.* Inhibitory effects of flavonoids on xanthine oxidase // *Anticancer Res.*—1993.—**13**, N 6A.—P. 2165–2170
6. *Kim H. P., Mani I., Iversen L., Ziboh V. A.* Effects of naturally-occurring flavonoids and biflavonoids on epidermal cyclooxygenase from guinea pigs // *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.*—1998.—**58**, N 1.—P. 17–24.
7. *Chaudhry P. S., Cabrera J., Juliani H. R., Varma S. D.* Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac, and indomethacin // *Biochem. Pharmacol.*—1983.—**32**, N 13.—P. 1995–1998.
8. *Ono K., Nakane H., Fukushima M., Chermann J. C., Barre-Sinoussi F.* Differential inhibitory effects of various flavonoids on the activities of reverse transcriptase and cellular DNA and RNA polymerases // *Eur. J. Biochem.*—1990.—**190**, N 3.—P. 469–476.
9. *Ng T. B., Huang B., Fong W. P., Yeung H. W.* Anti-human immunodeficiency virus (anti-HIV) natural products with special emphasis on HIV reverse transcriptase inhibitors // *Life Sci.*—1997.—**61**, N 10.—P. 933–949.
10. *Ono K., Nakane H.* Mechanisms of inhibition of various cellular DNA and RNA polymerases by several flavonoids // *J. Biochem.*—1990.—**108**, N 4.—P. 609–613.
11. *Palchykovska L. G., Alexeeva I. V., Kostina V. G., Platonov M. O., Negrutka V. V., Deriabin O. M., Tarasov O. A., Shved A. D.* New amides of phenazine-1-carboxylic acid: antimicrobial activity and structure-activity relationship // *Ukr. Biokhim. Zh.*—2008.—**80**, N 3.—P. 140–147.
12. *PCR: BIOS Essential techniques / Ed. J. F. Burke.*—New York: John Wiley & Sons, 1996.—153 p.
13. *Palchykovska L. G., Vasylchenko O. V., Platonov M. O., Kostina V. G., Lysenko N. A., Alexeeva I. V., Hovorun D. M., Shved A. D.* Design of transcription inhibitors on the basis of N-aryl-amides of 9-methyl- and 9-methoxyphenazine-1-carboxylic acids // *Ukr. Biokhim. Zh.*—2011.—**83**, N 2.—P. 65–73.
14. *McMartin C., Bohacek R. S.* QXP: Powerful, rapid computer algorithms for structure-based drug design // *J. Comput. Aided Mol. Des.*—1997.—**11**, N 4.—P. 333–344.
15. *Temnikov D., Patlan V., Anikin M., McAllister W. T., Yokoyama S., Vassilyev D. G.* Structural basis for substrate by T7 RNA polymerase // *Cell.*—2004.—**116**, N 3.—P. 381–391.
16. *Porva J. I., Rybalko S. L., Dyadyun S. T., Zavelevich M. P., Borovikov V. M., Starosila D. B., Alekseenko I. P., Derjabin O. N.* Cultivating of hepatitis C virus in transfected cell cultures // *Laboratory Diagnostics.*—2010.—**51**, N 1.—P. 20–23.
17. *Graham F. L., van der Eb A. J.* A new technique for the assay of infectivity of human adenovirus 5 DNA // *Virology.*—1973.—**52**, N 2.—P. 456–467.
18. *Uesugi M.* Synthetic molecules that modulate transcription and differentiation: hints for future drug discovery // *Comb. Chem. High Throughput Screen.*—2004.—**7**, N 7.—P. 653–659.
19. *Delarue M., Poch O., Tordo N., Moras D., Argos P.* An attempt to unify the structure of polymerases // *Protein Eng.*—1990.—**3**, N 6.—P. 461–467.
20. *Tunitskaya V. L., Kochetkov S. N.* Structural-functional analysis of bacteriophage T7 RNA polymerase // *Biochemistry (Mosc.)*—2002.—**67**, N 10.—P. 1124–1135.
21. *Stankiewicz-Drogon A., Palchykovska L. G., Kostina V. G., Alexeeva I. V., Shved A. D., Boguszevska-Chachulska A. M.* New acridone-4-carboxylic acid derivatives as potential inhibitors of hepatitis C virus infection // *Bioorg. Med. Chem.*—2008.—**16**, N 19.—P. 8846–8852.
22. *Palchykovska L. G., Alexeeva I. V., Platonov M. O., Kostenko O. M., Usenko L. S., Negrutka V. V., Shved A. D.* New 1,2,4-triazine bearing compounds: molecular modelling, synthesis and biotesting // *Biopolym. Cell.*—2009.—**25**, N 6.—P. 491–499.
23. *De Logu A., Palchykovska L. H., Kostina V. H., Sanna A., Meledu R., Chisu L., Alexeeva I. V., Shved A. D.* Novel N-aryl- and N-heteryl phenazine-1-carboxamides as potential agents for the treatment of infections sustained by drug-resistant and multi-drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* // *Int. J. Antimicrob. Agents.*—2009.—**33**, N 3.—P. 223–229.
24. *Hotta K., Zhu C. B., Phomsuwanisiri P., Ishikawa J., Mizuno S., Hatsu M., Imai S.* PCR inhibition assay for DNA-targeted antibiotics // *J. Antibiot. (Tokyo).*—1995.—**48**, N 11.—P. 1267–1272.

Received 30.12.12