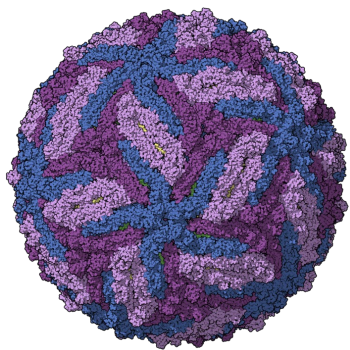




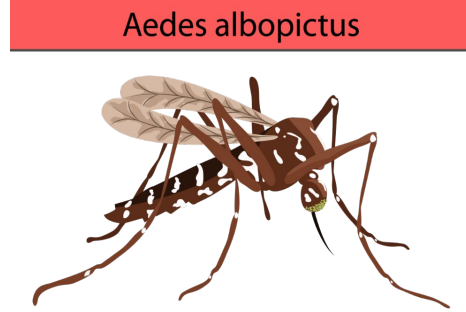
BERECZKI Ilona^{1,4}, KOPASZ Zoltán^{2,4}, TÓTH Gergely¹, SIPOS-SZABÓ Levente³, BAJUSZ Dávid³, HERCZEGH Pál¹, BORBÁS Anikó^{1,4}, KUCZMOG Anett^{2,4}

¹ Gyógyszerészi Kémiai Tanszék, Debreceni Egyetem, Debrecen, Egyetem tér 1, 4032,

² Biológiai Intézet, Pécsi Tudományegyetem, 7624 Pécs, Ifjúság útja 6.

³ Gyógyszerkémiai Kutatócsoport, Szerves Kémiai Intézet, HUN-REN TTK, Magyar tudósok krt. 2, 1117 Budapest,

⁴Nemzeti Virologiai Laboratórium, Szentágotthai János Kutatóközpont, Pécsi Tudományegyetem, Pécs, Ifjúság útja 20, 7624,

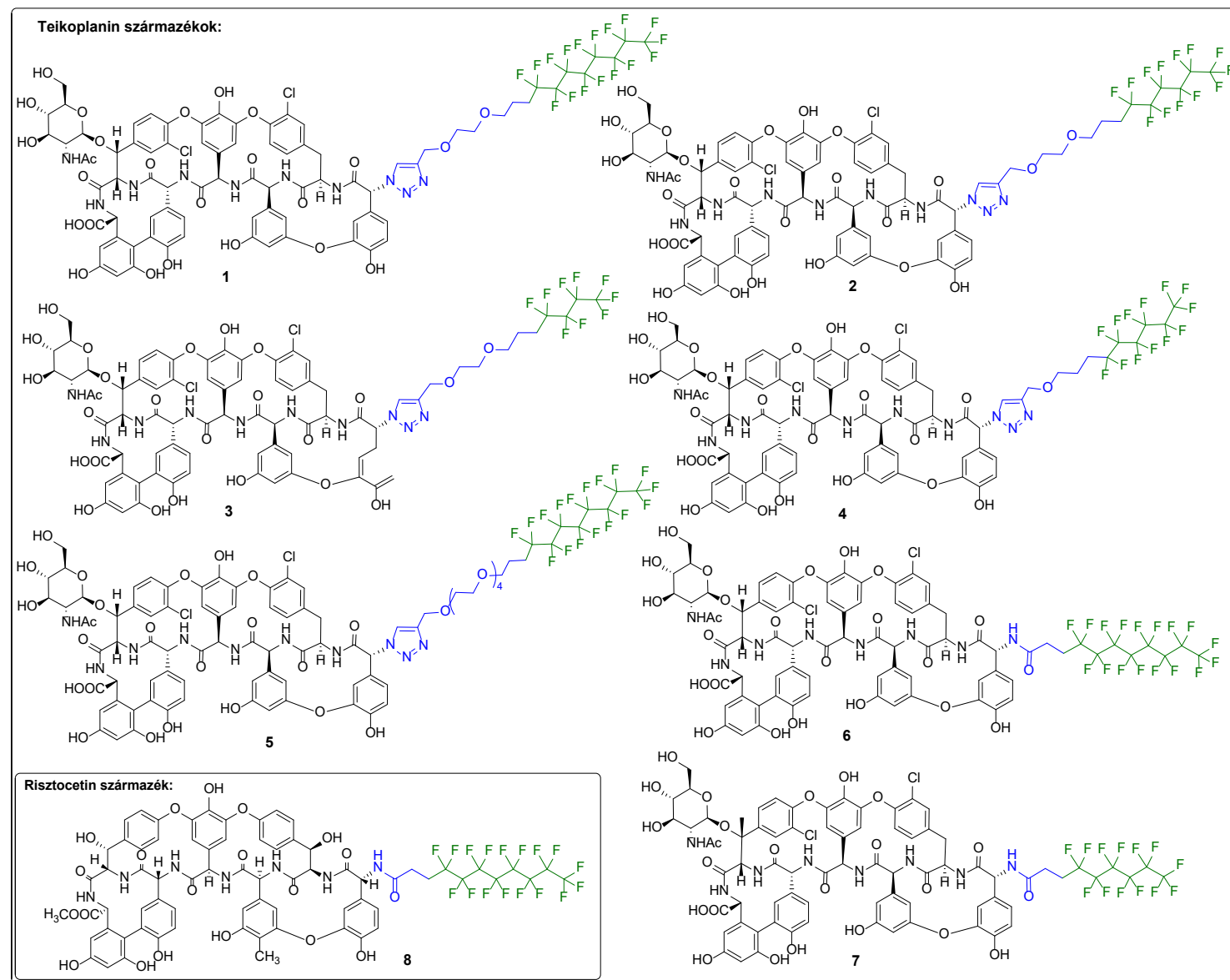
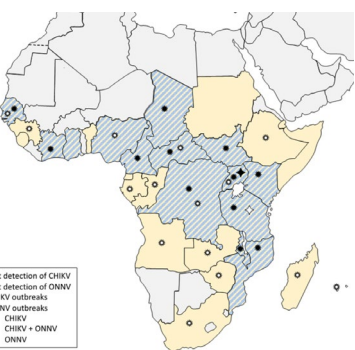
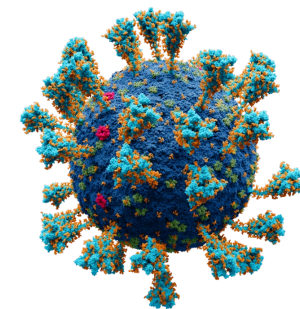
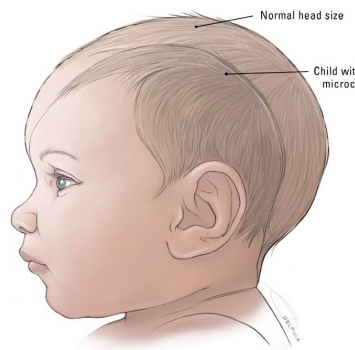


A vakcinák és az antivirális gyógyszerek fejlesztése kulcsfontosságú a súlyos, vírusok okozta betegségek elleni küzdelemben. A glikopeptid antibiotikumok (GPA-k), melyeket eredetileg Gram-pozitív bakteriális fertőzésekre használnak, antivirális hatást mutatnak több vírus, köztük az Ebola, MERS-CoV és SARS-CoV ellen is [1-3]. Legfőképpen a lipofil oldalláncot tartalmazó GPA-k és a szintetikusan módosított lipofil származékok bizonyultak antivirális hatásúnak [2]. Munkánk során az N-terminálison hidrofób, fluor tartalmú csoportokkal módosított GPA aglikon-származékokat állítottunk elő. Vizsgáltuk a peptid vázak, a fluorozott csoportok és a köztük levő linker hatását az vírusellenes aktivitás változására. A legtöbb vegyület széles spektrumú antivirális aktivitást mutatott különböző vírusokkal szemben. Ezen kívül kísérletet tettünk a hatásmechanizmus meghatározására is a Zika vírus esetében.

A Flaviviridae családba tartozó Zika-vírus (ZIKV) a Flavivirus nemzetség tagja, úgy mint más jelentős kórokozók, például a sárgalázvírus (YFV), a nyugat-nílusi vírus (WNV) és a dengue-vírus (DENV). A WHO a ZIKV-t kiemelt kutatási területnek jelölte meg vészhelyzetekben. A Zika-vírus fertőzés terhesség alatt súlyos születési rendellenességeket okozhat, pl. mikrokefáliát.

A SARS-CoV-2 a koronavírusok családjába tartozik. A SARS-CoV-2 okozta a COVID-19-et, a legutóbbi világjárványért felelős légúti megbetegedést.

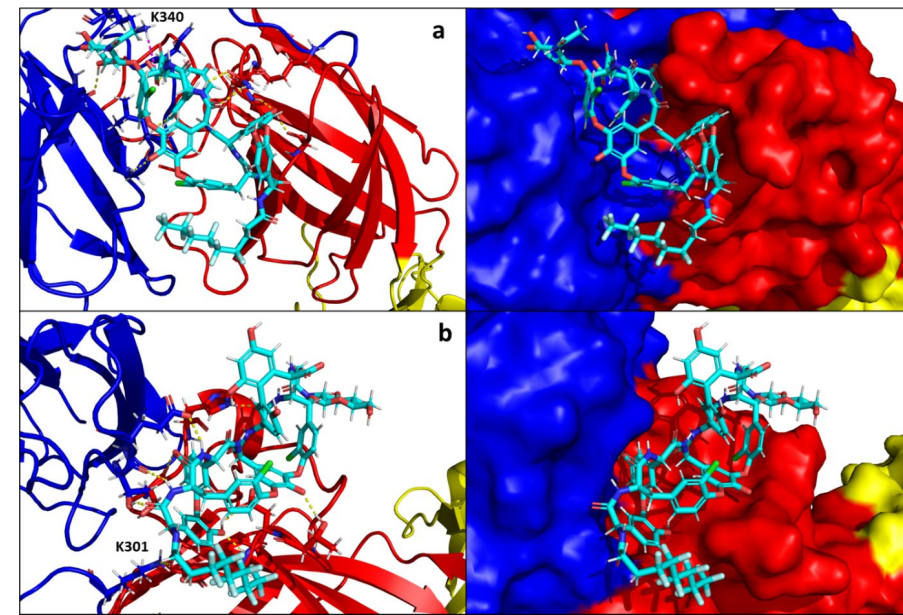
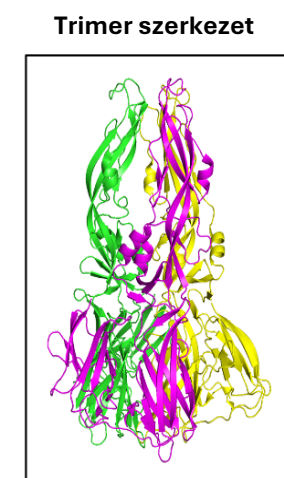
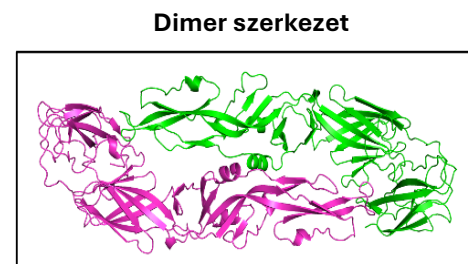
A chikungunya vírus (CHIKV) és az o'nyong nyong vírus (ONNV) a Togaviridae családba tartozó, szúnyogok által terjesztett alfavírusok. Mindkettő Afrikában okoz járványokat jelentős megbetegedési aránnyal. Az általuk okozott ízületi fájdalom néha hónapokig vagy akár évekig is fennállhat a kezdeti fertőzés után.



1. Ábra. A teikoplanin pszeudoaglikon (1-7) és risztocetin aglikon (8) perfluoroalkil származékai.

			ZIKV		SARS-CoV-2		CHIKV		ONNV		
	MCC (μM)	CC ₅₀	EC ₅₀ (μM)	SI	EC ₅₀ (μM)	SI	EC ₅₀ (μM)	SI	EC ₅₀ (μM)	SI	
Teikoplanin	>60	279,90	n.a.	-	33,88	8,26	86,23	3,25	n.a.	-	
1	>50	148,80	24,27	6,13	20,01	7,44	n.a.	-	n.a.	-	
2	>40	195,30	11,77	16,59	17,48	11,17	n.a.	-	n.a.	-	
3	>50	198,20	11,23	18,56	53,21	3,72	35,92	5,52	n.a.	-	
4	>50	249,80	5,26	47,49	10,50	23,79	28,07	8,90	n.a.	-	
6	>60	174,60	6,14	28,44	4,70	37,15	61,07	2,86	n.a.	-	
7	>60	203,30	5,18	39,25	10,29	19,76	6,49	31,33	5,37	37,86	
8	>20	62,63	42,3	1,48	9,88	6,34	14,04	4,46	39,50	1,59	

A ZIKV sejtbe való bejutásáért a burokfehérje (E fehérje) a felelős, mely három doménből (I, II, III) áll. Az endocitózist követően az endoszóma alacsony pH-ja indítja el az E fehérje aktiválódását a fúzióhoz. A savas környezet hatására a fehérje dimerek disszociálnak monomerekre, elérhetővé téve a fúziós hurkot. Ez a hurok beépül az endoszómális membránba, ami E fehérje trimerek kialakulását eredményezi. Ezek a trimerek ezután egyesítik az endoszómális és a vírusemembránokat, felszabadítva a vírus genetikai tartalmát a citoszolban.



2. Ábra. Bal oldal: A ZIKV E fehérjéjének dimer és trimer szerkezete. Jobb oldal: A 7-es vegyület különböző kötőhelyeken modellezett kötődési pozíciói (a: 1. kötőhely, b: 2. kötőhely) különböző ábrázolási módokkal, a különböző domének különböző színekkel vannak jelölve (I. domén: piros, II. domén: sárga, III. domén: kék). A nem kovalens kölcsönhatások pontozott vonalakkal vannak jelölve (a hidrogénkötések sárgák, a sóhidak lilák). A dokkolás eredményei azt mutatják, hogy a 7-es vegyület közvetlenül kötődhet a vírus E fehérjéhez, és gátolhatja a vírus fúzióját.

A 7-es vegyület alacsony mikromoláris koncentrációban hatékonyan bizonyult a ZIKV, az ONNV, a CHIKV és a SARS-CoV-2 ellen. A hatásmechanizmus feltárása érdekében további vizsgálatokat végeztünk Zika-vírussal. A 7-es vegyület adagolásának időbeli változtatásával próbáltuk meghatározni, hogy a fertőzés melyik szakaszában fejt ki hatását. Sem a sejtek előkezelése, sem az utókezelés során nem volt hatásos, csak a viriont előkezelve volt antivirális hatása a vegyületnek. Feltételezésünk szerint a 7-es vegyület közvetlenül a virionra hat. A destabilizációs vizsgálat kimutatta, hogy az inaktiválás nem a virion roncsolódásán keresztül történik.

A vírus E fehérjéjének FMap-szkennelésével azonosítottuk a 7-es vegyülethez potenciálisan nagy affinitású régióikat. Három olyan régiót találtunk, ahol a 7-es vegyület kötődni képes, és ezen régiók mindegyike részt vesz az endoszóma lipidmembránja és a vírusburok közötti fúzió gátlásában. Az NS1 fehérje jelölésével azt is kimutattuk, hogy a gátlás a transláció megtörténte előtt történik. Összegzésként elmondható, hogy a ZIKV esetében a 7-es vegyület közvetlenül a vírus E fehérjéhez kötődik, függetlenül a sejtkörnyezettől, és gátolja a vírus fúzióját és kicsomagolódását.

Táblázat. A GPA-származékok különböző vírusok elleni gátló hatása a Vero E6 sejteken végzett CPE-gátlási vizsgálat alapján.

[1] Y. Acharya, et al. ACS Infectious Diseases, 2022, 8(1), 1–28.

[2] I. Bereczki, et al. Pharmaceuticals, 2021, 14(11), Article 11.

[3] Y. Wang, et al. Antiviral Research, 2016, 125, 1–7.

Köszönetnyilvánítás

A TKP2021-EGA-18 számú projekt a Magyar Kulturális és Innovációs Minisztérium támogatásával, a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból, a TKP2021-EGA finanszírozási program keretében valósult meg. A munkát a Magyar Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal támogatta, támogatási szám: FK146063 B.D., FK 142315 I.B., valamint az RRF-2.3.1-21-2022-00010 „Nemzeti Virologiai Laboratórium” és az RRF-2.3.1-21-2022-00015 „Pharmalab” támogatásával. A kutatást az ÚNKP-23-3-I új nemzeti kiválósági program is támogatta, amely a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapjából, valamint a Kutatási Alap Pályázati Programjából finanszírozott. A kutatást támogatta az ÚNKP-23-3-I új nemzeti kiválósági program is, amelyet a kulturális és innovációs minisztérium indított a nemzeti kutatási, fejlesztési és innovációs alapból, valamint a Pécsi Tudományegyetem Kutatási Alap pályázati programja (009_2023_PTE_RK/15).