

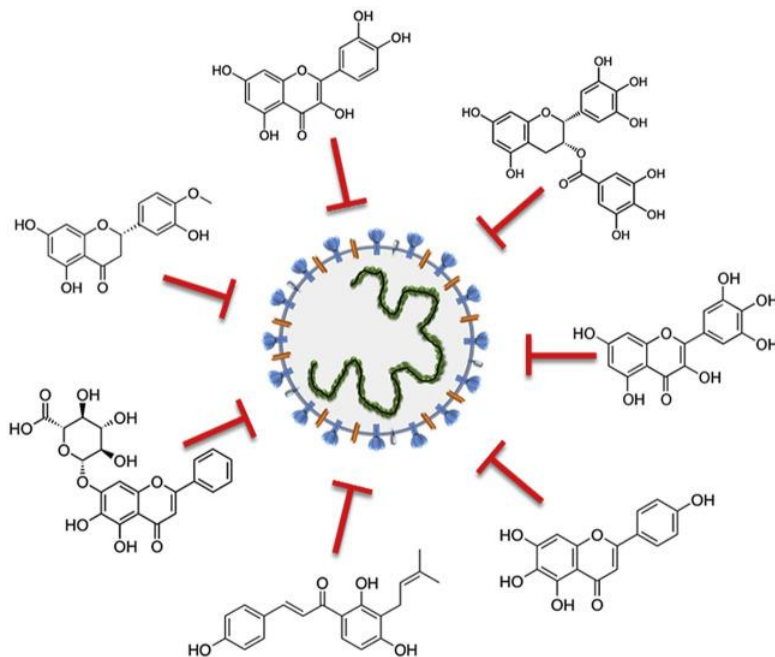
# A flavonoidok szerepei a koronavírus fertőzésekkel szemben

## Összefoglalás

A közegészségügy szempontjából, a 21. századot koronavírus világjárványok jellemzték: 2002-2003-ban a SARS-CoV vírus ami a SARS-ot okozta; 2012-ben pedig a MERS-CoV bukkant fel majd később pedig 2019-ben egy új béta-koronavírus törzs, név szerint a SARS-CoV-2, ami a példátlan COVID-19 kitörést okozta. A mostani járványhelyzet alatt, az életmentő egészségügyi kihívásoknak és tudományos kutatásoknak az a célja hogy felfedjék az új kórokozó élet-ciklusának a **biokémiáját (biochemistry)** és evolúciójának genetikai alapjait, ami új megelőző és gyógyászati stratégiákhoz vezethet a SARS-CoV-2 ellen. A mai napig nincs gyógymód a COVID-19-re, és várva a hatásos vakcinát, addig a „régiji” gyulladáscsökkentő és vírusellenes gyógyszerekre alapozott fejlődő „durva” protokollok nyújtanak egy alapos és alternatív gyógyító megközelítést a szituációra. Mint egy alternatíva vagy mint egy plusz gyógyászati/megelőző opció, különböző *in silico* és *in vitro* tanulmányok kimutatták, hogy kis természetes molekulák, amik a polifenol családba tartoznak, meg tudják bolygatni a koronavírus behatolása és replikációja ciklusának többféle szakaszait. Itt, felülvizsgáltuk a kapacitását az ismert (pl. quercetin, baicalin, luteolin, hesperetin, gallokatekin gallát, epigallokatekin-gallát) és kevésbé ismert (pl. scutellarein, amentoflavone, papyriflavonol A) flavonoidoknak, és az antioxidáns és antimikrobiális funkciókkal rendelkező növényi szövetekben nagy mértékben jelen lévő másodlagos metabolitoknak, hogy képesek e arra hogy megakadályozzák a koronavírus fertőző ciklusában részt vevő fontos fehérjéket, mint például a PL<sup>pro</sup>, 3CL<sup>pro</sup>, vagy az NTPase/helikázt. A pleiotropikus tevékenységeiknek és a **rendszer-mérgező (systemic toxicity)** hatás hiányaiknak köszönhetően, a flavonoidok és derivátumjuk leheteés hogy képviselik a cél vegyületeket amiket tesztelnek a jövőbeli klinikai vizsgálatokban, hogy gazdagítsák az arsenált a koronavírus fertőzések ellen.

**Kulcsszavak:** Koronavírus, Flavonoidok, SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2

## Grafikus összefoglalás



## **Rövidítések:**

**3CL<sup>pro</sup>** 3C-like-protease (3C-szerű proteáz)

**ACE2** Angiotensin Receptor Enzyme-2 (angiotenzin konvertáló enzim 2)

**CC50** 50% cytotoxicity concentration (50%-os citotoxicitási koncentráció)

**CLD** C-terminal collectrin

**COVID-19** Coronavirus Disease 2019 (koronavírus-betegség 2019)

**E** Small envelope protein (kis envelop fehérje)

**EGCG** Epigallocatechin-3-gallate (epigallokatekin-3-gallát)

**GCG** Gallocatechin gallate (gallokatekin gallát)

**gRNA, sgRNA** Genomic, sub-genomic RNA (genomikus, szubgenomikus RNS)

**HE** Hemagglutinin esterase (hemagglutinin-észteráz)

**HR** Heptad regions (HR1 and HR2) (heptad régiók [HR1 és HR2])

**HSV-1** Herpes simplex virus type 1 (1-es típusú herpesz vírus)

**M** Membrane or matrix protein (membrán vagy mátrix fehérje)

**MERS-CoV** Middle East Respiratory Syndrome CoronaVirus (Közél-keleti légúti koronavíruss)

**M<sup>pro</sup>** Main protease (fő proteáz)

**N** Nucleocapsid protein (nukleokapszid fehérje)

**NSP** Not structural proteins (nem szerkezeti fehérjék)

**ORF** Open reading frame (nyitott leolvasási keret)

**PD** N-terminal peptidase domain (n-terminális peptidáz domén)

**PEDV** Porcine epidemic diarrhea virus (sertés járványos hasmenésvírus)

**PL<sup>pro</sup>** Papain-like cysteine protease (papain-szerű cisztein proteáz)

**RBD** Receptor-binding domain structure (receptorkötő domén szerkezet)

**RBM** Receptor binding motif (receptorkötő motívum)

**RdRp** RNA-dependent-RNA-polymerase (RNS-függő RNS-polimeráz)

**RSV** Respiratory syncytial virus (légúti óriássejtes vírus)

**RTC** Replication/transcription complex (replikációs/transzkripció komplex)

**S** Spike glycoprotein (spike glikoprotein)

**SAR** Structure–activity relationship (szerkezet-tevékenység kapcsolat)

**SARS-CoV** Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus (súlyos akut légzőszervi szindróma koronavíruss)

**SARS-CoV-2** Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus-2 (súlyos akut légzőszervi szindróma koronavíruss-2)

**SPR** Surface Plasmon resonance (felületi plazmon rezonancia)

**TCM** Traditional Chinese Medicine (hagyományos kínai orvoslás)

**TfR** Transferrin receptor (transzferrin receptor)

**TM** Transmembrane domain (transzmembrán domén)

**TMPRSS2** Transmembrane peptidase serine 2 (transzmembrán proteáz a szerin 2)

**UTR** Untranslated region (lefordítatlan régió)

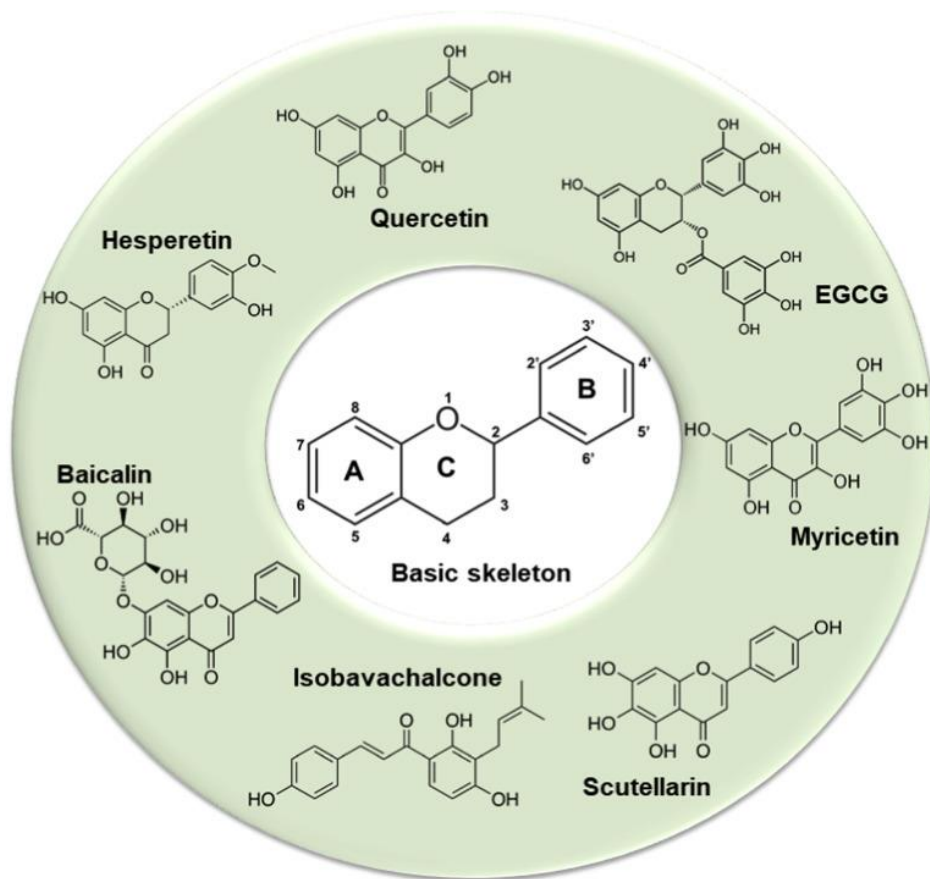
## **1. Bevezetés**

A 21. század második évtizede egy példátlan járvánnyal kezdődött az emberi történelemben: az új béta-koronavírus törzs felbukkanása 2020 elején Kínában kezdődött, az úgynevezett SARS-CoV-2-nek (súlyos akut légzőszervi szindróma koronavírus-2) ami az etiológiai ágense a Koronavírus-Betegség 2019-nek (COVID-19). Világszerte, a cikk írásakor (2020. július 11.), 12 322 395 megerősített COVID-19 esetet jegyeztek fel, beleértve 556 335 halált a világ minden részéről, kivéve az Antarktisz kontinensről, jelentette a WHO (<https://covid19.who.int/COVID-19>). Néhány mikrobiológus elvárásának ellenére, ez a világméretű járvány az egészségügyi rendszerét a nyugati országoknak (Olaszország, Spanyolország, Franciaország, Egyesült Királyság és az USA) nagymértékben váratlanul érte. Habár, egyúttal megmozgósította a tudományos közösséget, több mint 6000 ezer szakértői tudományos cikkel az utóbbi 5 hónapban a PubMed-en. Vakcinára várva, perpillanat nincs jellegzetes gyógymód a COVID-19-re. Mélyebb ismeretek a SARS-CoV-2 életciklusának és ragályosságának genetikai alapjairól és **biokémiájáról (biochemistry)** biztosan egy új gyógyászati protokoll fejlesztéséhez fognak vezetni.

Minapi tanulmányok tanúsították hogy a SARS-CoV-2 egy eredményesebb gyilkos, a szorosan kapcsolódó 2003-ban felbukkanó, SARS-CoV-hoz hasonlítva, mivel az előbbi elért egy tömbnyi „stratégiai alkalmazkodást” az emberektől. A természetben történő evolúciója során, valószínűleg évtizednyi meta-genetikai elemzések bizonyítják hogy az új koronavírus törzs „átugrott” egy denevérről egy ismeretlen emlősre és azután az emberekre. Itt, a SARS-CoV-2 már célba tudott venni különböző szöveteket több szinten is, kezdve az orr és a torok sejtjeivel, le a tüdőn, megszállva, esetleg a vazális endotheliumon keresztül, a veséket és az idegrendszert ahol súlyos betegséget és halált is képes okozni.

Azonban még nagyon sokat kell tanulni a SARS-CoV-2-ről, mélyebb ismeretek a biológiájáról, és az előző koronavírusok (SARS-CoV és a MERS-CoV) metagenomikai elemzéseinek és biokémiai jellegzetességeinek összehasonlítása, fontosak lesznek a gyógyászati és/vagy megelőző stratégiák meghatározásában.

A „régie” gyógyszereken (lényegében vírusellenes szerek, mint a favipiravir és ribavirin; HIV-ellenes proteázgátlók, mint a ritonavir és lopinavir, és gyulladásgátló szerek, mint a tocilizumab vagy dexamethasone) kívül amiket klinikusok használnak jelenleg a súlyos esetek ellen amiket a mostani COVID-19 kitörés okozott, a természetes vegyületek kivonva a növényi királyságból, amik a flavonoidok **többszörös és heterogén osztályához (the multiple and heterogeneous class)** tartoznak (1-es ábra), egy érdekes opciót képviselhetnek. Valójában, a flavonoidokból hiányzik a **rendszer-mérgező (systemic toxicity)** hatás, és a képességüket hogy szinergizálnak hagyományos gyógyszerekkel nagyrészt bizonyították; végül, „pleiotropikus” vegyületek, tehát a funkciós csoportjaik tudnak hatni a különböző sejtes célpontokra és fel tudnak tartóztatni többféle útvonalat. Ezek a tulajdonságok teszik a flavonoidokat potenciális jelölté a koronavírus életciklusának megzavarásában.



1-es ábra

A flavonoidok és a vegyületek képviselő példáinak az **alapsontváza (basic skeleton)** amik képesek megakadályozni a koronavírus fertőzést.

A flavonoidok nagy mennyiségben tartalmaznak másodlagos metabolitokat, amiket zöldségekben, magvakban, gyümölcsökben, és italokban találhatunk, mint például a vörösbor és a tea. Több mint 6000 szerkezetileg azonosított flavonoid molekula létezik. Ezek a vegyületek a növények stresszes állapotra való reakciójuk közben vannak szintetizálva, és fontos szerepet játszanak a növényi sejtek védelmében a kórokozók és rovarok ellen. Kémiai szempontból, a flavonoidok a fenilpropanoid útvonal által szintetizált hidroxilezett fenolos molekulák, amik a szerkezeti oszálgyúkról, hidroxilációs mértékükről, és polimerizációjukról vannak megkülönböztetve. A flavonoidok funkcionális hidroxilcsoportjai felelősek az antioxidáns aktivitásukra, és két benzolgyűrűből állnak (A- és B-gyűrű), amiket egy heterociklusos piréngyűrű (C-gyűrű) (1-es ábra) köt össze. A flavonoidokat több különböző csoportba osztjuk, mint az antocianinok, kalkonok, dihidrokalkonok, dihidroflavonolok, flavanolok, flavanonok, flavonok, flavonolok, izoflavonoidok (lásd Phenol-Explorer adatbázisa <http://phenol-explorer.eu>). A flavonoidok gyógyszeres tulajdonságaihoz tartoznak az antimikrobális, antioxidáns, gyulladáscsökkentő, és a vírusellenes hatások is. A flavonoidokat tanulmányozták már sokféle DNA és RNA vírus ellen. Például, az apigenin hatékony a pikornavírus (RNA vírus) ellen, elnyomja az IRES vírusos aktivitást, és ezzel meggátolja a fehérjeszintézist. Az epigallocatekin-3-gallát (EGCG), egy aktív polifenol katekin ami körülbelül az 59%-át teszi ki az összes zöld tea leveléből származó katekineknek (*Camellia sinensis* (L.), Kuntze) amik megzavarják a DNA vírusok replikációs ciklusait, olyanokat mint a hepatitis B vírus, herpes simplex vírus, és az adenovírus.

Ez az áttekintő cikk készítéséhez, legfőképp a PubMed adatbázisa [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/) (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) össze lett hívva 2020 május végén, hogy hozzák vissza az

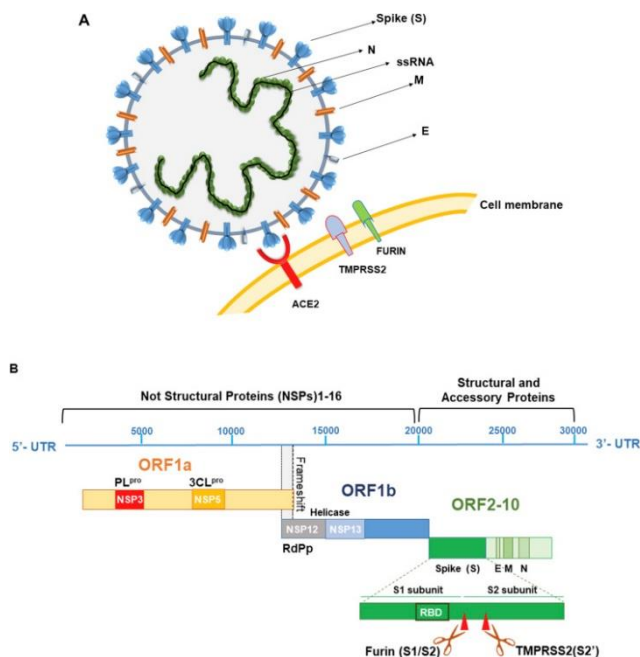
összescikkben amiben a következő szavak kombinációjai szerepeltek: „koronavírus” és „flavonoid”. Mi kiválasztottuk azokat a papírokat amik határozottan az emberi koronavírusról az elleni meghatározott flavonoidok vírusellenes aktivitásukra koncentrálnak, kivéve néhány mostani előnyömtatott cikket a SARS-CoV-2-ről amik nem lettek szakértők által bírálva amik, a véleményünk szerint, nem voltak elég minőségiek. Előre is elnézést kérünk a hely korlátozás miatt kihagyott lehetséges hivatkozások miatt.

## 2. Koronavírus biológia

### 2.1 Morfológia és biokémia

A koronavírus egy egyszálú (+) RNA burkolt víruscsalád a Nidovirales rendben. Eredetileg a hatvanas években azonosították az Egyesült Királyságban és az Egyesült Államokban, ahol tudósok elkülönítettek két vírust ami megfázást okozott az emberekben. A koronavírusról gömb vagy pleomorfa alakúak, egy 80-120 nm-es átmérővel. 1986-ban, az elektronmikroszkópos képek felfedték a vírus koronaféle szerkezetét, amik a „nap koronájára” hasonlítanak, és ebből adták ennek a családnak a latin származású nevet: „koronavírus”. Azóta és az előző évig, két magas patogenitású ember törzset bukant fel: a SARS-CoV 2003-ban, és a MERS-CoV (Közép-keleti légúti koronavírus) 2012-ben ami, a WHO szerint, több súlyos járványi kitérőt okozott. A civetek és dromedárok adják át az emberekre ezt a két fajta vírust, amik a denevérekből származnak, akik természetes fenntartójuk több száz ismeretlen koronavírusról.

A koronavírus RNA genom sokkal nagyobb mint a többi RNA vírus, amiknek a mérete elterjed 26,000-tól 32,000 bázisig amik 6-11-ig nyitott leolvasási kereteket (ORF) tartanak (bases including from 6 to 11 open reading frames). Az első ORF (a genom 67%-a) bekódolja a nem szerkezeti fehérjéket (NSP), amíg a maradék ORF-ek lehetővé teszik a fejlődést a mellék- és szerkezeti fehérjéknél. Főleg, az első ORF (ORF1a/b) lefordít két polifehérjét: pp1a és pp1ab-t az ORF1a és ORF1b közötti fázisváltás jelenlétéhez. Ezeket a polifehérjéket a fő proteáz ( $M^{pro}$ ), másik nevén 3C-szerű-proteáz ( $3CL^{pro}$ ), és egy vagy kettő papain-szerű proteázok ( $PL^{pro}$ ) dolgozzák fel 16 NSP-ekké, amik vírusos RNA-t hoznak létre ami bekódolja a négy fő szerkezeti fehérjét (2-es ábra).



2-es ábra

**A.** A koronavírusok 100-160 nm-es burkolt és gömbölyű részecskéket formálnak. Egy pozitív értelmű egyszálú RNA (**ssRNA**) genomot és nukleokapszid fehérjéket (**N**) tartalmaznak, amik hozzákötődnek az RNA genomhoz és megalkotják a nukleokapszidot. A trimetrikus **Spike glikoprotein (S)** a vírusburkolat felületén helyezkedik el, és szükséges a gazdasejtekbe való vírus bejutásához. Felismeri a gazda receptor fehérjét **ACE2** a sejtmembránon két gazda szerin-proteáz hasadása és aktiválása után: a **TMPRSS2** és a **FURIN**. Membrán vagy mátrix fehérje (**M**) és a **kis envelop fehérje (small envelope protein) (E)** mind szükségesek a virionok összerakásukhoz és kibocsátásukhoz. **B.** SARS-CoV-2 genom, gének és fehérjék. 10 darab leolvasási keret (ORFs) van. Az első ORF (a genom 67%-a) bekódolja a nem szerkezeti fehérjéket (NSP), amíg a maradék ORF-ek lehetővé teszik a fejlődést a mellék- és szerkezeti fehérjéknek. Főleg, az első ORF (ORF1a/b) lefordít két polifehérjét: pp1a és pp1ab-t az ORF1a és ORF1b közötti fázisváltás jelenlétéhez. Ezeket a polifehérjéket a fő proteáz ( $M^{pro}$ ), másik nevén 3C-szerű-proteáz ( $3CL^{pro}$ ), és egy vagy kettő papain-szerű proteázok ( $PL^{pro}$ ) dolgozzák fel 16 NSP-ekké. Az NSP-ek replikáz komplexet hoznak létre ami létfontosságú a vírusos replikációhoz: