

## Nowości bibliograficzne

### **Polifenole roślinne jako potencjalne substancje w walce z SARS-CoV-2**

Aktualnie brak skutecznych środków przeciwwirusowych przeciwko COVID-19, istnieją jednak dowody na to, że naturalne związki polifenolowe mogą łagodzić zakażenia koronawirusem ze względu na ich korzystne właściwości i funkcje zakłócające adhezję, wniknięcie do komórek gospodarza i replikację SARS-CoV-2.

Polifenole wykazują silne działanie przeciwwirusowe poprzez wpływ na modulację białek otoczki wirusowej (glikoproteiny kolca *spike* (S), ważnej dla swoistości i zakaźności wirionu) i receptory komórek gospodarza (np. ACE2 funkcjonujący jako brama dla SARS-CoV-2) oraz proteazy transbłonowe.

Znane jest działanie przeciwutleniające i przeciwzapalne polifenoli, zdolnych do przeciwdziałania zaburzeniom równowagi redoks i procesom zapalnym, wywołanym przez zakażenie SARS-CoV-2, co wyjaśnia zwiększoną podatność pacjentów na ciężkie uszkodzenia narządów. Są również dowody wskazujące na korzystną regulację mikrobioty przez polifenole, które mogą zarówno poprawiać dysbiozę wywołaną przez inwazję SARS-CoV-2, jak i zwiększać odpowiedź antywirusową, zmniejszając w ten sposób infekcyjność wirusów.

Polifenole łądzą też czynniki ryzyka związane z zespołem metabolicznym (np. dyslipidemia, insulinooporność, nadciśnienie tętnicze i otyłość), co może być najbardziej pomocne w przypadku istniejących wcześniej dolegliwości kardiometabolicznych, skutkujących gorszymi rokowaniami w przypadku zakażenia COVID-19. Wśród polifenoli liczne prace wskazują m.in. na kwercetynę jako czynnik przeciwwirusowy, a także inne flawonoidy (herbacetyna, izobawachalkon). Kwercetyna wykazuje synergizm działania np. z witaminą C.

### **Kwercetyna, herbacetyna i izobawachalkon – jedne z najaktywniejszych flawonoidów przeciwko SARS-CoV-2**

Solnier J., Fladerer J.P. *Flavonoids: A complementary approach to conventional therapy of COVID-19? Phytochem Rev* 2020 Sep 18, 1-23.

U pacjentów z COVID-19 mogą występować różnicowane objawy, głównie gorączka, suchy kaszel i duszność, czasem infekcja jest bezobjawowa. Zwiastunowymi objawami mogą być zapalenie spojówek (często pierwszy objaw) lub objawy żołądkowo-jelitowe (nudności, wymioty, ból brzucha i biegunka). Rzadziej występujące, ale szczególnie typowe dla tej nowej patologii, to brak węchu i zaburzenia smaku.

Negatywne czynniki ryzyka to starszy wiek, płeć męska i palenie tytoniu, kliniczne czynniki ryzyka obejmują choroby współistniejące, którymi są otyłość, nadciśnienie, cukrzyca, choroby układu krążenia, przewlekła choroba nerek, a także choroby układu oddechowego. Im większa liczba czynników ryzyka i związanych z nimi patologii, tym większe ryzyko złego rokowania. Łagodne objawy mogą ustąpić samoistnie, nawet bez specjalnego leczenia w domu, lub prowadzić do zapalenia płuc (obustronne śródmiąższowe zapalenie płuc) i niewydolności oddechowej, wymagającej hospitalizacji pacjenta. U takich pacjentów może wystąpić zespół ostrej niewydolności oddechowej (ARDS) z zespołem dysfunkcji wielonarządowej (MODS), co może prowadzić do zgonu. Obecnie prowadzona terapia COVID-19 ma jedynie charakter wspomagający (leki przeciwwirusowe, antybiotyki, heparyna oraz glikokortykosteroidy, które jednak nie wydają się skuteczne). Dobrze uzasadnionym sposobem jest stosowanie osocza z przeciwciałami od pacjentów, którzy chorowali na COVID-19, ale wstępne dane od ograniczonej liczby pacjentów nie są zbyt zadowalające. Jedynym sposobem na zmniejszenie transmisji i ograniczenie rozprzestrzeniania się wirusa jest profilaktyka. Zwracają uwagę badania przesiewowe związków występujących w surowcach stosowanych w tradycyjnej medycynie chińskiej. Wśród tych związków, często polifenolowych, wymieniane są kwercetyna i kemferol. Kwercetyna przerywała oddziaływanie białka S wirusa z receptorami ACE2 (enzym konwertujący angiotensynę – typ 2) gospodarza, co prowadzi do zakłócenia interakcji wirus-gospodarz. Bogatymi źródłami, z których można wyodrębnić kwercetynę, są m.in.: *Allium cepa* – Cebula zwyczajna, *Allium*

*fistulosum* – Czosnek dęty (cebula siedmiolatka), *Asparagus officinalis* – Szparag lekarski, *Camellia sinensis* – Herbata chińska, *Capparis spinosa* – Kapary cierniste, *Coriandrum sativum* – Kolendra siewna, *Ginkgo biloba* – Miłorząb japoński, *Hypericum perforatum* – Dziurawiec zwyczajny, *Moringa oleifera* – Moringa olejodajna, *Punica granatum* – Granat właściwy, *Sambucus canadensis* – Bez czarny amerykański. Kwercetyna należy do związków flawonoidowych obecnych w naszej diecie (zioła, warzywa, owoce). Kwercetyna oddziałuje na liczne proteazy SARS i MERS-CoV i jest obiecującym związkiem do leczenia SARS-CoV-2. Analiza 17 badań flawonoidów jako potencjalnych czynników przeciwko CoV pozwoliła na wytypowanie najbardziej obiecujących czynników przeciwko SARS-CoV-2, oprócz kwercetyny są to herbacetyna i izobawachalkon. Herbacetyna występuje np. w *Ephedrae herba* – ziele przęśli, *Linum usitatissimum* – Len zwyczajny i *Rhodiola rosea* – Różeniec górski, a izobawachalkon w gatunkach z rodziny Fabaceae (np. *Anthyllus Hermannie* – Przelot, *Glycyrrhiza gabra* – Lukrecja gładka, *Glycyrrhiza uralensis* – Lukrecja uralaska, *Sophora prostrata* – Perełkowiec drobnolistny) i Moraceae (np. *Dorstenia poinsettifolia*, *D. turbinata*, *Maclura tinctoria* – Morwa farbiarska, *Treculia acuminata* – Afrykański chlebowiec). Chociaż codzienne spożycie pokarmu roślinnego może wydawać się łatwo dostępnym źródłem aktywnych flawonoidów, nie ma naukowych dowodów na to, że wysokie spożycie żywności bogatej we flawonoidy i/lub suplementów, takich jak kwercetyna, zapewnia znaczną ochronę przed chorobami wirusowymi u ludzi, np. przeciwko SARS-CoV-2. Powodem mogą być niska biodostępność, szybki metabolizm i eliminacja flawonoidów w diecie *in vivo*. Z drugiej strony istnieją czynniki zewnętrzne niezwiązane z żywieniem, ograniczające biodostępność flawonoidów w diecie, do których należą: czynniki środowiskowe (np. przechowywanie, ekspozycja na światło), czynniki związane z przetwarzaniem żywności (np. gotowanie), interakcje z innymi polifenolami obecnymi w żywności pochodzenia roślinnego (działanie antagonistyczne), budowa chemiczna (polimer lub glikozyd) i stężenie składników pokarmowych.

### **Kwercetyna o wielokierunkowej aktywności przeciwko SARS-CoV-2**

Derosa G., Maffioli P., D'Angelo A., Di Pierro F. A role for quercetin in coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Phytother Res* 2020 Oct 9, 10.1002/ptr.6887.

Wiedza na temat głównych białek wirusowych ma podstawowe znaczenie w poszukiwaniu nowych

związków przeciwwirusowych. W przypadku SARS-CoV-2 są to proteaza podobna do 3-chymotrypsyny (3CLpro), proteaza podobna do papainy (PLpro), polimeraza RNA zależna od RNA i białko *spike* (S). Kwercetyna hamuje 3CLpro i PLpro z energią wiązania odpowiadającą odpowiednio 6,25 i 4,62 kcal/mol, ma też teoretyczną, ale znaczącą zdolność do zakłócania replikacji SARS-CoV-2.

Biorąc pod uwagę kliniczne objawy COVID-19, związane z zakażeniem SARS-CoV-2 wywołującym silną kaskadę zapalną i zjawisko krzepnięcia krwi, korzystne jest wielokierunkowe działanie kwercetyny: przeciwzapalne (w zależności od dawki zmniejsza poziom mRNA i białka ICAM-1, IL-6, IL-8 i MCP-1) oraz hamujące trombinę.

Potencjalną rolę przeciwwirusową kwercetyny potwierdza kilka badań wykorzystujących modele obliczeniowe oraz testy *in vitro* i *in vivo*, brak jest natomiast wysokiej jakości danych klinicznych. Randomizowane badanie przeprowadzone w 2000 roku, obejmujące 1002 dorosłych pacjentów z infekcjami wirusowymi górnych dróg oddechowych wykazało, że kwercetyna podawana w bardzo wysokich dawkach (1000 mg na dawkę) zmniejszyła liczbę dni choroby u osób w średnim i starszym wieku. Niedawno przeprowadzone badanie w szpitalu w Wuhan wykazało, że u pacjentów, u których oprócz konwencjonalnych terapii stosowano preparaty tradycyjnej medycyny chińskiej, w tym zioła o wysokiej zawartości kwercetyny, obserwowano łagodzenie objawów towarzyszących COVID-19. Jednocześnie leczenie to było bezpieczne i nie powodowało znacznych skutków ubocznych w porównaniu z pacjentami leczonymi wyłącznie metodą konwencjonalną. Problemem jest zły profil farmakokinetyczny kwercetyny, stąd należałoby opracować preparaty poprawiające szybkość jej wchłaniania, co może zapewnić jej forma fitosomowa.

### **Kwercetyna wykazuje synergizm działania przeciwwirusowego z witaminą C**

Colunga Biancatelli R.M.L., Berrill M., Catravas J.D., Marik P.E. *Quercetin and Vitamin C: An Experimental, Synergistic Therapy for the Prevention and Treatment of SARS-CoV-2 Related Disease (COVID-19)*. *Front Immunol* 2020, 11, 1451.

Kwercetyna (3,3',4',5,7-pentahydroksy-flawon) to szeroko rozpowszechniony roślinny flawonoid występujący w formie glikozydów w wielu owocach, zwłaszcza cytrusach, jabłkach i jagodach, zielonych warzywach liściastych, nasionach i orzechach, zielonej herbacie i innych roślinach leczniczych, ciemnej

czekoladzie i czerwonym winie. Badania sugerują, że suplementacja kwercetyną może promować działanie przeciwtleniające, przeciwzapalne, przeciwwirusowe i immunoprotekcyjne. Ponadto 3-metylokwercecytyna, metabolit kwercetyny, pobudza funkcję komórek nabłonka rzęskowego nosa, zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*, gdy jest podawana samodzielnie lub ze wzmacniaczem wchłaniania (HP- $\beta$ -CD).

Kwercetynę badano w różnych typach i modelach infekcji wirusowych ze względu na jej obiecujące działanie przeciwwirusowe: hamujące polimerazy, proteazy, odwrotną transkryptazę i gyrazę DNA oraz wiążące białka kapsydów wirusowych.

Kwercetyna wykazuje szeroki zakres właściwości przeciwwirusowych, które mogą wpływać na wiele etapów zjadliwości patogenu: wnikanie wirusa, replikację wirusa, syntezę białek, a efekty terapeutyczne można spotęgować przez jednoczesne podawanie witaminy C.

Witamina C wykazuje działanie przeciwwirusowe poprzez wspomaganie aktywności limfocytów, zwiększenie produkcji interferonu- $\alpha$ , modulację cytokin, zmniejszenie stanu zapalnego, poprawę dysfunkcji śródbłonka oraz przywrócenie funkcji mitochondriów. Istnieją również sugestie, że witamina C może mieć bezpośrednie działanie wirusobójcze. Jedyne badanie (1967 r.) witaminy C na ludziach przeprowadzone na żołnierzach ZSRR z ciężką infekcją wirusową wykazało, że suplementacja witaminą C (300 mg/dzień) chroniła przed grypowym zapaleniem płuc i wiązała się z krótszymi pobytami w szpitalu.

Istnieją dowody na to, że jednoczesne podawanie witaminy C i kwercetyny wywiera synergistyczne działanie ze względu na nakładające się właściwości przeciwwirusowe i immunomodulujące oraz zdolność witaminy C do recyklingu kwercetyny, zwiększając jej skuteczność. Stosowanie witaminy C i kwercetyny może być zalecane w populacjach wysokiego ryzyka, zarówno w profilaktyce, jak i we wczesnym leczeniu infekcji dróg oddechowych, zwłaszcza u pacjentów z COVID-19 jako uzupełnienie stosowanych środków farmakologicznych, takich jak Remdesivir lub osocze rekonwalescentów. Dodatkowymi atutami są brak poważnych skutków ubocznych i niskie koszty takiej terapii. Doustna suplementacja kwercetyną do 1 g na dobę przez 3 miesiące nie spowodowała znaczących skutków ubocznych. W randomizowanym badaniu kontrolowanym placebo 30 pacjentów z przewlekłym zapaleniem gruczołu krokowego otrzymywało kwercetynę doustnie (1 g/dobę) i zgłoszono tylko dwa łagodne działania niepożądane (ból głowy i przejściowe parestezje obwodowe). Dożylnie podanie kwercetyny w badaniu klinicznym I fazy u pacjentów z rakiem > 10,5 mg/kg (756 mg na osobę o masie

ciała 70 kg) powodowało nudności, wymioty, pocenie się, uderzenia gorąca i duszność. Tylko wyższe dożylnie dawki do 51,3 mg/kg (około 3591 mg na osobę) były związane z nefrotoksycznością. Autorzy sugerują następujące dawki doustne: profilaktycznie i w łagodnych przypadkach 250-500 mg kwercetyny i 500 mg witaminy C dwa razy dziennie, natomiast w ostrych stanach 500 mg kwercetyny i 3 g witaminy C przez 7 dni. W podsumowaniu autorzy stwierdzają, że w obecnej pandemii eksperymentalne stosowanie bezpiecznych i tanich substancji, mających solidne uzasadnienie biologiczne, powinno być traktowane priorytetowo.

### **Nie są jednoznaczne wyniki podawania 22 pacjentom hospitalizowanym z powodu COVID-19 suplementu diety zawierającego kwercetynę, bromelainę, witaminę C i cynk**

*Kamel A., Abdelseed H., Albalawi Y. i wsp. Evaluation of the effect of Zinc, Quercetin, Bromelain and Vitamin C on COVID-19 Patients. medRxiv 2020.12.22.20245993.*

Kwercetyna o znanym efekcie przeciwzapalnym jest bezpieczną cząsteczką i była stosowana w suplementach diety do 1500 mg dziennie w podzielonych dawkach.

Bromelaina to enzym proteolityczny występujący głównie w łodydze ananasa. Biodostępność bromelainy była wysoka po podaniu doustnym i bezpieczna nawet przy spożyciu ponad 11 g dziennie. Badania *in vitro* wykazały, że bromelaina wywiera działanie przeciwzapalne poprzez redukcję bradykininy w surowicy i modulowanie ekspresji niektórych genów związanych ze stanem zapalnym, w tym obniżała ekspresję genów *TLR4*, *TNF- $\alpha$*  i *IL-8*, a podwyższała ekspresję genu *PPAR $\gamma$* .

Suplement (kwercetyna 800 mg, bromelaina 165 mg, octan cynku 50 mg i kwas askorbinowy 1 g) podawano raz dziennie 22 pacjentom zakażonym SARS-CoV-2 przez 3 do 5 dni, jednocześnie stosując konwencjonalną terapię przeciwwirusową i przeciwbakteryjną, część otrzymywała antykoagulanty. Pacjenci wymagali hospitalizacji i przebywali w szpitalu przez 9 dni, próby laboratoryjne (WBC, ANC, ALC, AMC i AST) wykonywane przy przyjęciu nie różniły się od tych, które wykonano na zakończenie pobytu w szpitalu, co mogłoby wskazywać na brak toksyczności podawanego preparatu. Skuteczność połączenia kwercetyny, bromelainy, cynku i kwasu askorbinowego nie była jednoznaczna w tym badaniu z powodu braku placebo lub grupy kontrolnej; nie można jednak wykluczyć roli w zapobieganiu

poważnym konsekwencjom zakażeń SARS-CoV-2, takim jak hiperzapalenie i burza cytokin. Zwiększenie stężenia jonów  $Zn^{2+}$  może zakłócać replikację wirusów RNA, w tym wirusa polio i grypy. Autorzy artykułu podkreślają konieczność przeprowadzenia randomizowanego badania klinicznego, aby udowodnić skuteczność tego połączenia i potwierdzić bezpieczeństwo w przypadku pacjentów z COVID-19 otrzymujących równocześnie terapię przeciwwirusową, przeciwbakteryjną i przeciwzakrzepową.

**Hipotetyczna trójskładnikowa mieszanina: kwercetyna, witamina  $D_3$  i estradiol może wpływać na ekspresję 244 z 332 (73%) ludzkich genów kodujących cele SARS-CoV-2**

*Glinsky G.V. Tripartite combination of candidate pandemic mitigation agents: Vitamin D, Quercetin, and Estradiol manifest properties of medicinal agents for targeted mitigation of the COVID-19 Pandemic Defined by Genomics-Guided Tracing of SARS-CoV-2 Targets in Human Cells. Biomedicines 2020 May 21, 8(5), 129.*

Obserwacje przedstawione w tym artykule mają na celu ułatwienie dalszych ukierunkowanych badań eksperymentalnych oraz, jeśli jest to uzasadnione, randomizowanych badań klinicznych dla zidentyfikowania i zweryfikowania terapeutycznych metod zwalczających pandemię COVID-19. Szczególnie profile ekspresji genów pod wpływem działania witaminy  $D_3$  i kwercetyny oraz udokumentowane bezpieczeństwo tych substancji jako środków leczniczych dostępnych bez recepty sugerują, że mogą one być realnie rozważane jako potencjalnie użyteczne środki łagodzące pandemię COVID-19.

Autor wykorzystał geny kodujące niezbędne modulatory wejścia SARS-CoV-2 do ludzkich komórek: ACE2 i FURIN, jako podstawę do stworzenia sterowanej genomem mapy molekularnej UPSTREAM elementów regulacyjnych, ich ekspresji i funkcji w organizmie człowieka oraz w typach komórek istotnych patofizjologicznie. Represory i aktywatory genów *ACE2* i *FURIN* zidentyfikowano na podstawie analiz wyników eksperymentalnego wyciszania i nadekspresji genów, a także w odpowiednich modelach myszy transgenicznym. Następnie zastosowano panele represorów (VDR; GATA5; SFTPC; HIF1a) i aktywatorów (HMGA2; INSIG1; RUNX1; HNF4a; JNK1/c-FOS) do identyfikacji istniejących leków, które wpływając na ekspresję genów, mogą być potencjalnymi czynnikami łagodzącymi zakażenie koronawirusem. Dzięki tej strategii witamina  $D_3$  i kwercetyna zostały zidentyfikowane jako

potencjalne czynniki łagodzące przebieg infekcji koronawirusowej 2019 (COVID-19).

Kwercetyna została zidentyfikowana jako jeden z najlepszych kandydatów do terapii w programie dokowania leków na superkomputerze SUMMIT oraz w doświadczeniach profilowania ekspresji (EPEs) z analizą wzbogacania zestawu genów (GSEA), co wskazuje, że wysoce podobne strukturalnie kwercetyna, luteolina i eriodyktiol mogą służyć jako związki modelowe do opracowania skutecznych inhibitorów zakażenia SARS-CoV-2. Zgodnie z tym poglądem kwercetyna zmienia ekspresję 98 z 332 (30%) ludzkich genów kodujących białka docelowe SARS-CoV-2, potencjalnie zakłócając funkcje 23 z 27 (85%) białek wirusowych SARS-CoV-2 w ludzkich komórkach. Natomiast witamina  $D_3$  może zakłócać funkcje 19 z 27 (70%) białek SARS-CoV-2 poprzez zmianę ekspresji 84 z 332 (25%) ludzkich genów kodujących białka docelowe SARS-CoV-2. Biorąc pod uwagę potencjalny wpływ zarówno kwercetyny, jak i witaminy  $D_3$  można wnioskować, że funkcje 25 z 27 (93%) białek SARS-CoV-2 w ludzkich komórkach mogą ulec zmianie.

Badania GSEA i EPE identyfikują wiele leków, a także palenie i wiele chorób, które wydają się działać jako przypuszczalne czynniki sprzyjające zakażeniu koronawirusem.

Przeciwstawny wpływ testosteronu i estradiolu na cele SARS-CoV-2 sugeruje możliwe molekularne wyjaśnienie wyraźnie wyższej śmiertelności mężczyzn w czasie koronawirusowej pandemii.

Estradiol, w przeciwieństwie do testosteronu, wpływa na ekspresję większości ludzkich genów (203 z 332; 61%) kodujących cele SARS-CoV-2, potencjalnie zakłócając funkcje 26 z 27 białek wirusa SARS-CoV-2.

Hipotetyczna trójskładnikowa kombinacja, zaproponowana przez autora, zawierająca kwercetynę, witaminę  $D_3$  i estradiol może wpływać na ekspresję 244 z 332 (73%) ludzkich genów kodujących cele SARS-CoV-2.

Ekspresja ACE2 i FURIN zachodzi w wielu ludzkich komórkach i tkankach, łącznie z komórkami układu odpornościowego, co sugeruje, że SARS-CoV-2 może zakażać wiele komórkowych celów w organizmie człowieka. Zakażenie komórek układu odpornościowego może wywoływać immunosupresję, długotrwałe przetrwanie wirusa i rozprzestrzenianie się wirusa na cele drugorzędne.

Aktualne analizy i liczne badania obserwacyjne wskazują, że związany z wiekiem niedobór witaminy  $D_3$  może przyczyniać się do wysokiej śmiertelności starszych dorosłych i osób w zaawansowanym wieku.

Wyniki zachęcają do przeprowadzenia badań eksperymentalnych i klinicznych potencjalnych czynników łagodzących pandemię COVID-19, a mianowicie witaminy D<sub>3</sub> i kwercetyny, a także wysoce selektywnego (K<sub>i</sub>, 600 pm) swoistego wewnętrznie inhibitora FURIN (α1-antytrypsyna Portland [α1-PDX]).

Randomizowane interwencyjne badanie kliniczne oceniające wpływ estradiolu na ciężkość przebiegu infekcji koronawirusowej u pacjentów COVID-19 i z podejrzeniem COVID-19 oraz dwa interwencyjne randomizowane badania kliniczne oceniające wpływ witaminy D<sub>3</sub> w profilaktyce i leczeniu COVID-19 są dostępne na stronie ClinicalTrials.gov.

*Wybór i opracowanie  
prof. dr hab. n. farm. Irena Matławska*