

ІНГІБИТОРИ 15-ЛІПОКСИГЕНАЗИ ЯК ПОТЕНЦІЙНІ АНТИАТЕРОГЕННІ АКТИВНІ ФАРМАЦЕВТИЧНІ ІНГРЕДІЄНТИ

Янченко А.С., Харитоненко Г.І., Бессарабов В.І.

Київський національний університет технологій та дизайну, кафедра промислової фармації, м. Київ, Україна, e-mail: drvib500@gmail.com

У статті розглядається актуальність дослідження нових інгібіторів ферменту 15-ліпоксигенази (15-LOX), яка відіграє значну роль у виникненні запальних процесів в організмі, зокрема, в атерогенезі. Є дані про проатеросклеротичний ефект 15-LOX, включаючи прямий внесок у процес окисної модифікації ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНП). На сьогодні фармацевтичний ринок характеризується наявністю дуже незначної кількості препаратів, які мають здатність пригнічувати даний ензим і не мають специфічної дії, що доводить необхідність подібних досліджень та розробки нових лікарських засобів на основі інгібіторів 15-ліпоксигенази. Перспективною групою сполук, що мають здатність вловлювати вільні радикали та перешкоджати процесам вільнорадикального окиснення є похідні фенолу. Найбільший інтерес в якості активних фармацевтичних інгредієнтів представляють саме флавоноїди, оскільки, окрім антиоксидантних властивостей вони також володіють низькою токсичністю.

Ключові слова: 15-ліпоксигеназа, інгібітор, атерогенез, запальні процеси, лінолева кислота.

15-LIPOXYGENASE INHIBITORS AS A POTENTIAL ANTITATEROGENIC ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENTS

Yanchenko A.S. Kharitonenko H.I., Bessarabov V.I.

Kyiv National University of Technologies and Design, Department of Industrial Pharmacy, Kyiv, Ukraine, e-mail: drvib500@gmail.com

The article considers the relevance of the study of new inhibitors of the 15-lipoxygenase (15-LOX) enzyme, which plays a great role in the development of inflammatory processes in organism, in particular, in atherogenesis. There is evidence for a pro-atherosclerotic effect of 15-LOX, including a direct contribution to the process of oxidative modification of low density lipoproteins (LDL). Today, the pharmaceutical market is characterized by the presence of a very small number of drugs that have the ability to suppress this enzyme and haven't specific action, which proves the necessity for such studies and the development of new drugs, based on inhibitors of 15-lipoxygenase. A promising group of compounds that has the ability to catch free radicals and inhibit free radical oxidation processes are phenol derivatives. The greatest interest as active pharmaceutical ingredients is represented by flavonoids, because, besides antioxidant properties and they also have low toxicity.

Key words: 15-Lipoxygenase, inhibitor, atherogenesis, inflammatory processes, linoleic acid.

Ліпоксигенази (ЕС.1.13.11.) – група залізовмісних оксидоредуктаз, які каталізують приєднання молекулярного кисню до 1,4-цис,цис-пентадієнового фрагменту поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) з утворенням відповідних гідропероксидів [1].

За структурою дані ензими є мономерними білками, з молекулярною вагою 75-80 кДа та 94-100 кДа в тваринних та рослинних клітинах, відповідно. Амінокислотна послідовність представлена близько 670 амінокислотними залишками [2].

Ліпоксигенази, в основному, класифікують за місцем введення гідроперекисної групи до складу арахідонової кислоти на 5-, 8-, 12- або 15-LOX.

Розрізняють 2 види людських 15-ліпоксигеназ: 15-LOX₁ та 15-LOX₂, що були ідентифіковані через їх відмінності в тканинному розподілі [3]. Субстратами в реакціях каталізу за участю 15-LOX є есенціальні поліненасичені жирні кислоти - лінолева та арахідонова. Оптимальним субстратом для 15-LOX₁ є лінолева кислота, проте, 15-LOX₂ також здатна окиснювати цей субстрат, хоча активність пероксидації лінолевої кислоти за участю 15-LOX₁ у два-чотири рази вище [4].

Каталітичний цикл ліпоксигеназ розпочинається відривом атома водню від 1,4-цис,цис-пентадієнового фрагмента молекули ПНЖК з утворенням проміжного пентадієнового жирнокислотного радикалу. Цей процес відбувається внаслідок редокс-циклу негемового заліза (Fe³⁺/Fe²⁺) в активному центрі ферменту. У результаті радикального перегрупування з наступним стерео- та регіоспецифічним приєднанням кисню утворюється пероксидний радикал, який далі відновлюється до відповідного гідропероксиду [5].

Дана реакція перекисного окислення є початковою ланкою широкого ферментативного каскаду, в результаті якої утворюється велика кількість біологічно-активних сполук, які характеризуються потужним спектром регуляторної дії. До таких речовин відносяться лейкотрієни, ліпоксини, гепоксиліни тощо.

Сучасні наукові дослідження довели участь активних кисневих метаболітів у виникненні та розвитку більш ніж 200 різних захворювань та патологічних станів. В їх основі лежить єдиний механізм – порушення балансу між утворенням вільних радикалів та їх знешкодженням антиоксидантною системою організму. Даний дисбаланс має назву окислювального стресу, а його діючими факторами є вільні радикали, окислювальна здатність яких дуже висока, що створює загрозу для редокс-чутливих компонентів клітини, перш за все для ліпідів, білків та нуклеїнових кислот [6]. Вільні радикали відносяться до групи медіаторів запальних процесів. Окислювальний стрес є неспецифічним процесом та має місце при різних патологічних станах [7].

Метаболіти 15-ліпоксигенази відіграють роль у формуванні відповіді організму на дію стресових факторів. Їх надмірне продукування в клітинах живих організмів може призвести до багатьох захворювань. Зокрема, активність 15-LOX пов'язують з такими процесами як атерогенез, ішемія, інтенсифікація перекисного окиснення ліпідів, канцерогенез, нейродегенеративні процеси тощо.

15-ліпоксигеназа бере участь в окисній модифікації ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ). Окислені ЛПНЩ, на відміну від нативних, містять різну кількість гідропероксидів жирних кислот, продуктів їх розпаду, які мають здатність ініціювати цикли окислювального трансформування структурних компонентів судинної стінки, також властивістю цих молекул є посилення адгезії нейтрофілів, що призводить до пошкодження ендотелію. Захоплення

макрофагами окиснених ліпопротеїнів низької щільності відбувається через скавенджер-рецептори, що призводить до утворення пінистих клітин, які накопичуються всередині судин та до формування атеросклеротичних бляшок. Отже, даний процес призводить до розвитку такого поширеного захворювання, як атеросклероз [8]. Атеросклероз - це мультифакторіальне захворювання, яке включає хронічне запалення на кожному його етапі, від ініціювання до прогресування і, зрештою, розриву бляшки.

При атеросклерозі змінюються нормальні гомеостатичні функції ендотелію, що сприяють запальній реакції. Наприклад, молекули адгезії, експресовані запаленням ендотелію, рекрутують лейкоцити, в тому числі моноцити, які потім проникають в інтиму (внутрішня оболонка, яка складається з шару ендотелію та з'єднувально-тканинного прошарку — субендотелію), що спричиняє нарощування ліпідного шару на судинній стінці. Запальні медіатори посилюють поглинання модифікованих частинок ліпопротеїдів та утворення макрофагів.

T-клітини (T-лімфоцити), що відіграють центральну роль у здійсненні клітинної специфічної імунної відповіді також входять в інтиму і секретують цитокіни, які згодом посилюють запальну реакцію та сприяють міграції та проліферації клітин гладкої мускулатури інтими. Пізніше у процесі розвитку захворювання медіатори запалення можуть послабити захисну волокнисту шапку атероми, що в свою чергу може призвести до тромбозу та появи гострих коронарних синдромів, таких як нестабільна стенокардія та інфаркт міокарда (ІМ) [9].

Існує декілька теорій щодо виникнення атеросклерозу:

1) рецепторна теорія атеросклерозу Гольдштейна й Брауна: нерегульований клітинний обмін холестерину, поява так званих пінистих клітин в артеріях, з якими пов'язане утворення атеросклеротичних бляшок;

2) нервово-метаболічна теорія О.Л.М'ясникова: психоемоційна напруга призводить до порушення нейроендокринної регуляції жиру-білкового обміну та вазомоторних розладів;

3) тромбогенна теорія Рокитанського-Дьюгеда – атеросклеротична бляшка будується на пристінкових тромбах;

4) вікова теорія, згідно з якою атеросклероз виникає в результаті вікових змін в організмі [10].

На сьогодні найбільш доведеною є вільнорадикальна концепція атеросклерозу, що пов'язана з виникненням окисного стресу.

Атеросклероз пов'язаний із хронічним запаленням на кожному етапі розвитку хвороби, що значною мірою залежить від балансу про- та протизапальних факторів у відповідний момент часу. При цьому, продукти 15-LOX є критичними чинниками як розвитку, так і

пригнічення запалення. Наприклад, 15-LOX₁ може генерувати ліпоксини, протектини та резолвіни, які пов'язані з інгібуванням запального процесу в мережі судин [11].

Незважаючи на те, що багато сполук, здатних впливати на активність 15-ліпоксигенази, були знайдені та біологічно вивчені, їхні побічні ефекти, зазвичай, спричиняють заборону або обмеження до застосування. До цих пір жоден з вже відомих інгібіторів 15-ліпоксигенази не досяг третьої стадії клінічних випробувань.

Мета дослідження. Метою даної роботи є визначення ролі 15-ліпоксигенази у виникненні патологічних процесів, зокрема, в атерогенезі та визначення групи сполук для пошуку потенційних інгібіторів.

Для досягнення мети вирішувались такі завдання: аналіз інформаційних джерел, щодо участі ліпоксигеназних метаболітів у формуванні захворювань та відомостей про можливі інгібітори даного ферменту для подальшого експериментального дослідження, систематизація результатів пошуку.

Матеріал і методи дослідження. Методом даного дослідження є аналіз науково-інформаційних джерел, навчально-методичної літератури, патентів з подальшою інтерпретацією та узагальненням наукової інформації.

Результати дослідження. Аналіз літературних джерел за останні роки показав, що метаболіти 15-ліпоксигеназного шляху приймають участь в розвитку симптомів більше ніж 20 хронічних захворювань різної етіології. Безпосередні продукти ліпоксигенази – гідро пероксиди поліненасичених жирних кислот є регуляторами активності поліморфоядерних лейкоцитів і таким чином, на тканинному рівні, формують запалення та набряки. В результаті подальших ферментативних перетворень первинних продуктів ліпоксигеназного каталізу утворюється низка біологічно-активних сполук, які мають вазоконстрикторну та проліферативну дію. З іншого боку, гідропероксиди жирних кислот відносяться до активних форм кисню і здатні ініціювати перекисне окиснення ліпідів мембранних структур, викликаючи окисний стрес клітини. Даний фермент сприяє виникненню запальних процесів, оскільки: бере участь в окисній модифікації ЛПНЩ; інтенсифікує пероксидацію ліпідів; більшість утворених метаболітів в ході реакції, яку каталізує 15-LOX є медіаторами запалення.

Отже вплив даного ферменту на фізіологічні процеси здійснюється як за рахунок сигнальних молекул, які синтезуються в результаті ліпоксигеназного каскаду так і індукції перекисного окиснення ліпідів мембранних структур. Патологічні стани в розвитку яких приймають участь ліпоксигеназні метаболіти можна об'єднати в наступні групи: серцево-судинні захворювання, захворювання центральної нервової системи, канцерогенез, захворювання опорно рухової системи, пов'язані з порушенням кальцинування та запаленнями, діабет I типу.

На сьогодні, на фармацевтичного ринку України нараховується дуже незначна кількість препаратів широкого спектру дії, що здатні інгібувати ліпоксигеназу, основна маса яких спрямована на пригнічення активності 5-ліпоксигенази та зменшення кількості лейкотрієнів.

До препаратів занесених до Державного реєстру лікарських засобів України, належать лікарські засоби, що містять у якості АФІ флавоноїд кверцетин:

- 1) «Кверцетин» у лікарській формі гранул а також як субстанція у вигляді порошку для приготування стерильних та нестерильних лікарських форм;
- 2) жувальні таблетки «Квертин»;
- 3) «Корвітин» у вигляді ліофілізату для приготування розчину для ін'єкцій;
- 4) «Ліпофлавіон» у вигляді ліофілізату для емульсії для ін'єкцій та у формі очних крапель [12].

В основі біохімічного та фармакологічного ефектів кверцетину лежить вибіркова інгібуюча дія щодо безлічі важливих ензимів клітин, що дозволяє ставити його в ряд модуляторів багатьох ферментних процесів [13]. Особливості хімічної будови молекули кверцетину визначають його здатність пригнічувати ферменти, що відповідають за різні окислювальні реакції і процеси. Такими ферментами, зокрема, є ліпоксигенази і циклооксигенази, які піддають біотрансформації арахідонової кислоти в такі біологічно активні речовини, як лейкотрієни та простагландини.[14]

На сьогодні відомі деякі природні та синтетичні інгібітори 15-LOX. Дані речовини можуть бути згруповані відповідно до механізму інгібуючої дії в три категорії: окисно-відновні (redox); сполуки, які здатні хелатувати залізо в активному центрі ферменту; інгібітори “nonredox”, які конкурують з субстратом за зв'язування в активному центрі 15-ліпоксигенази.

У відповідності до класу органічних сполук інгібітори 15-ліпоксигенази поділяються на:

- 1) гетероциклічні (пурины, похідні індолізіну, індолу, імідазолу, імідазолтіазоли, триазоли, ізотіазолони);
- 2) фенольні сполуки (флавоноїди, похідні пірокатехіну тощо);
- 3) алілбензоли та алілоксибензоли [15].

В кожному класі сполук є речовини, які можуть бути потенційними інгібіторами 15-LOX за значенням концентрації напівмаксимального інгібування (IC₅₀). Але, найбільш перспективними можна вважати фенольні сполуки, а саме флавоноїди, адже це природні речовини, що мають рослинне походження, завдяки чому володіють низькою токсичністю у порівнянні з іншими класами сполук [16].

Характерними представниками даної групи сполук, цікавими з фармацевтичної точки зору, є флороглюцинол (1,3,5-тригідроксибензол) та гесперидин (3',5,7-тригідрокси-4'-метоксифлавонон-7-рамноглюкозид).

Флороглюцинол є малотоксичною речовиною ($LD_{50} = 5$ г/кг), що робить його перспективним для використання у якості активного фармацевтичного інгредієнту. Флороглюцинол є блокатором потенціалзалежних кальцієвих каналів в гладком'язових клітинах, що обумовлює його спазмолітичні властивості, завдяки яким дана речовина використовується у медицині в лікуванні ШКТ («Ентероспазміл» з флороглюцинолу дигідратом в поєднанні з симетиконом) [12]. Наявні відомості про антиоксидантні властивості 1,3,5-тригідроксибензолу [17].

Також представником фенольних сполук, вартим уваги, є гесперидин. Це біологічно активна речовина, флавоноїдний глікозид, що міститься в основному в цитрусових (найбільше в апельсинах). Працює в комплексі з вітаміном С, разом з яким і зустрічається в природі. За властивостями близький до кверцитину.

Результати досліджень, проведених на людях, показали, що шкірку апельсина можна використовувати для отримання додаткової кількості гесперидину. Дана речовина характеризується антиоксидантною активністю, імуностимулюючою, антигістамінною, ангіопротекторною дією, покращує циркуляцію крові, знижує ризик виникнення судинних захворювань головного мозку [18].

Використовується гесперидин у медицині, входить до складу деяких лікарських засобів, таких, як «Діофлан», «Детралекс» тощо [12].

Отже, флороглюцинол та гесперидин є потенційними сполуками для проведення подальших експериментальних досліджень з метою визначення впливу на активність ферменту 15-ліпоксигенази.

Висновки.

1. 15-ліпоксигеназа є ферментом, який приймає безпосередню участь в появі й розвитку запальних процесів, оскільки метаболіти даного ферменту приймають участь у формуванні окисного стресу; отже пов'язані з процесами атерогенезу, канцерогенезу, ішемією тощо.

2. Перспективною речовинами, що розглядається в якості можливих інгібіторів 15-ліпоксигенази є фенольні сполуки, зокрема, флавоноїди гесперидин та флороглюцинол. Дослідження їх впливу на активність 15-LOX є актуальними й доцільними. Завдяки антиоксидантним властивостям дані речовини можуть бути потенційними активними фармацевтичними інгредієнтами для створення нових перспективних лікарських засобів для лікування ряду запальних захворювань, зокрема, атеросклерозу.

Список літератури.

1. Yamamoto S. Mammalian lipoxygenases: molecular structures and functions / S. Yamamoto. // *Biochim Biophys Acta*. – 1992. – №2. – С. 117–131.
2. Radmark O. P. The molecular biology and regulation of 5-lipoxygenase / O. P. Radmark. // *American Journal of Respiratory and Critical Care*. – 2000. – №2.
3. 15-Lipoxygenase A Janus Enzyme? / P.Chanez, C. Bonnans, C. Chavis, I. Vachier. // *ATS Journals*. – 2002. – №27. – С. 655.
4. Kilty I. Differential characteristics of human 15-lipoxygenase isozymes and a novel splice variant of 15-lipoxygenase / I. Kilty, A. Logan, P. Vickers. // *Eur J Biochem*. – 1999. – №266. – С. 83–93.
5. *Biochemistry* / [E. N. Segraves, M. Chruszcz, M. L. Neidig та ін.]. // ACS Publications. – 2006. – №45. – С. 10233– 10242.
6. Медведева Е. Окислительный стресс и воспаление у больных атеросклерозом [Электронный ресурс] / Е. Медведева, Ю. Щукин, Е. Селезнев. – 2013. – Режим доступа до ресурсу: <http://www.samsmu.ru/files/smu/chairs/propedtherapy/stress.pdf>.
7. Атаман О. В. Запалення [Электронный ресурс] / О. В. Атаман – Режим доступа до ресурсу: <http://polka-knig.com.ua/article.php?book=303&article=16755>.
8. Медведева Е. Окислительный стресс и воспаление у больных атеросклерозом [Электронный ресурс] / Е. Медведева, Ю. Щукин, Е. Селезнев.
9. Paoletti R. Inflammation in Atherosclerosis and Implications for Therapy / R. Paoletti, A. M. Gotto, D. P. Hajjar. // *ANA Journals*. – 2004. – №3. – С. 20.
10. Патоморфогенез хвороб серцево – судинної системи. Атеросклероз. Гіпертонічна хвороба. ІБС. Інфаркт міокарда. [Электронный ресурс] – Режим доступа до ресурсу: https://studopedia.com.ua/1_24407_teorii-rozvitku-aterosklerozu.html.
11. Hersberger M. Potential role of the lipoxygenase derived lipid mediators in atherosclerosis: leukotrienes, lipoxins and resolvins / M. Hersberger. // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. – 2010. – №8. – С. 1063–1073.
12. Державний реєстр лікарських засобів України [Электронный ресурс] – Режим доступа до ресурсу: <http://www.drlz.com.ua>.
13. Кудринская В. А. Сорбционное концентрирование кверцетина и других флавоноидов и их определение различными методами : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. хім. наук / Кудринская В. А. – Москва, 2010. – 22 с.
14. Барабой В. А. Биоантиоксиданты / В.А. Барабой. – Киев: Книга плюс, 2006. – 461 с.

15. Sadeghian H. 15-Lipoxygenase inhibitors: A patent review [Электронный ресурс] / H. Sadeghian, A. Jabbari // Expert Opinion on Therapeutic Patents. – 2015. – Режим доступа до ресурсу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26560362>.
16. Растительные полифенолы [Электронный ресурс] – Режим доступа до ресурсу: <http://www.vivam.club/растительные-полифенолы/>.
17. Cytoprotective effect of phloroglucinol on oxidative stress induced cell damage via catalase activation / [К. А. Kang, К. Н. Lee, S. Chae та ін.]. // J. Cell. Biochem.. – 2006. – №97. – С. 609–620.
18. Гесперидин [Электронный ресурс]. – 2017. – Режим доступа до ресурсу: <http://medukrok.ru/glosarij/14431-gesperidin.html>.