

Идентификация новых ингибиторов развития инфекции вируса гепатита В

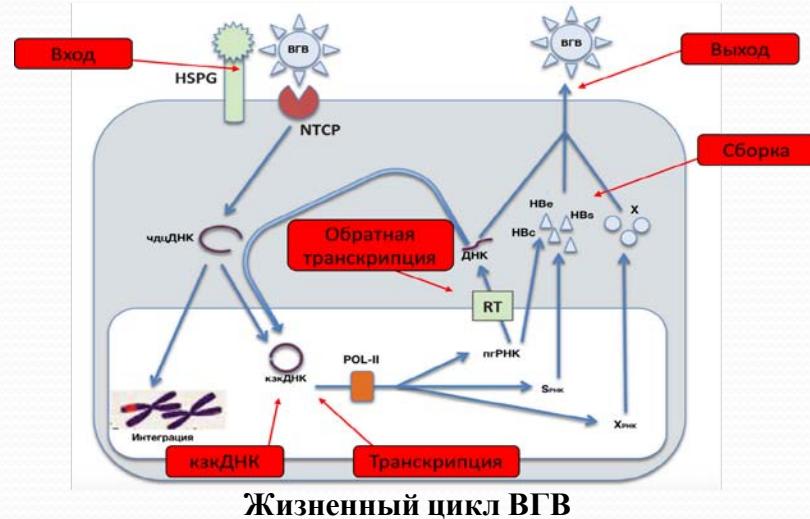
Авторы: Ряховский А.А. Митькин О.Д. Самарская А.С. Аладинский В.А.*¹

Актуальность:

Гепатит В – инфекционное заболевание печени, представляющее угрозу здоровью и жизни. Острый гепатит В характеризуется неблагоприятным клиническим течением - в условиях стандартной терапии 1% случаев заканчивается летально, в 10% случаев заболевание переходит в хронический гепатит. Развившийся хронический гепатит приводит, в свою очередь, к циррозу и первичному раку печени. Во всём мире хронически инфицированы вирусом гепатита В (ВГВ) от 240 до 350 миллионов человек. Приблизительно 650 000 от цирроза и рака печени в результате хронической инфекции гепатита В и еще 130 000 от острого гепатита В. На сегодняшний день против острого гепатита В не существует специфического лечения, по большей части оно состоит из поддерживающей терапии. При развитии хронической инфекции, назначается медикаментозное лечение, которое подавляет репликацию ВГВ и осуществляется на протяжении всей жизни заболевшего.

Цель:

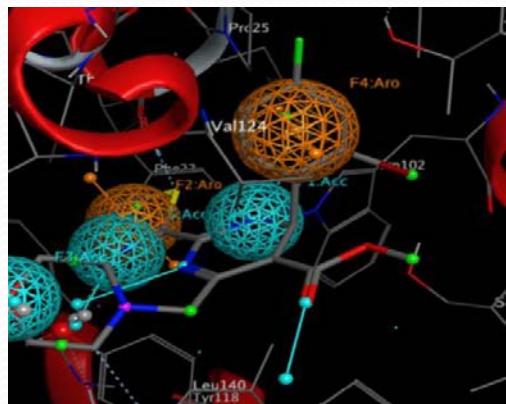
Разработка платформы для скрининга библиотеки химических соединений – потенциальных ингибиторов развития инфекции ВГВ и идентификация кандидатов, действующих на различных этапах жизненного цикла ВГВ, включая ингибиторы вирусного входа в клетку и сборки вирусных кор-частиц.



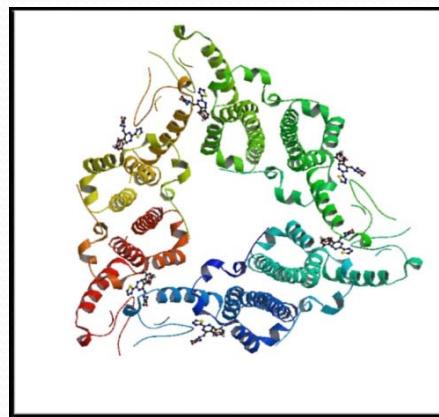
Подходы и методы:

Кор-антиген HBV (HBcAg) является перспективной клинически обоснованной мишенью для разработки новых ингибиторов развития ВГВ. Недавно опубликованная кристаллическая структура с высоким разрешением противовирусного соединения, связанного с HBcAg, позволила провести компьютерное моделирование и *in silico* отбор из общей базы ~1.5 млн соединений.

Для тестирования соединений использовалась разработанная экспериментальная *in vitro* модель инфекции ВГВ с использованием перевиваемых клеточных линий HepG2/NTCP и AD38. В качестве маркера степени развития инфекции ВГВ использовали определение концентрации HBcAg в культуральной среде. Также проводили анализ концентрации вирусной ДНК в культуральной среде и в клетках AD38 методом кПЦР. Параллельно контролировалась цитотоксичность исследуемых соединений. Комбинация методов исследования и вариация момента добавления исследуемых веществ относительно момента инфицирования клеток HepG2/NTCP позволили различать этапы действия обнаруженных ингибиторов развития инфекции ВГВ.



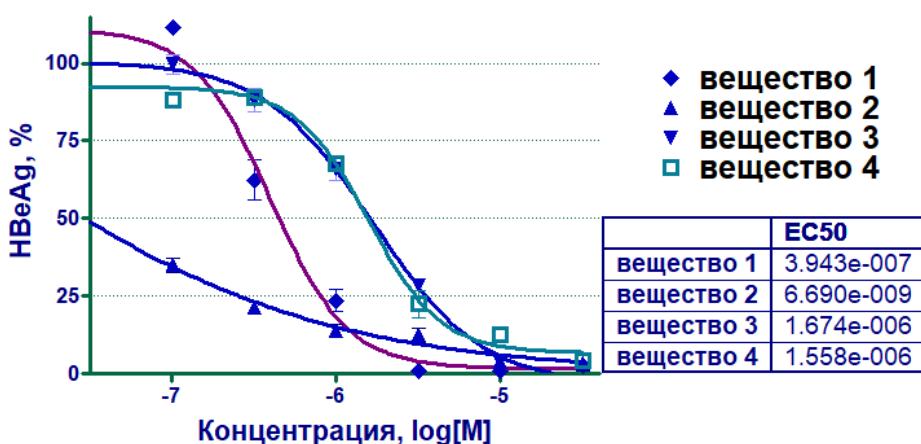
Модель взаимодействия вещества с HBcAg. Синий – акцепторы, оранжевый – регион гидрофобного взаимодействия



Структура HBcAg (код PDB: 5E0I)

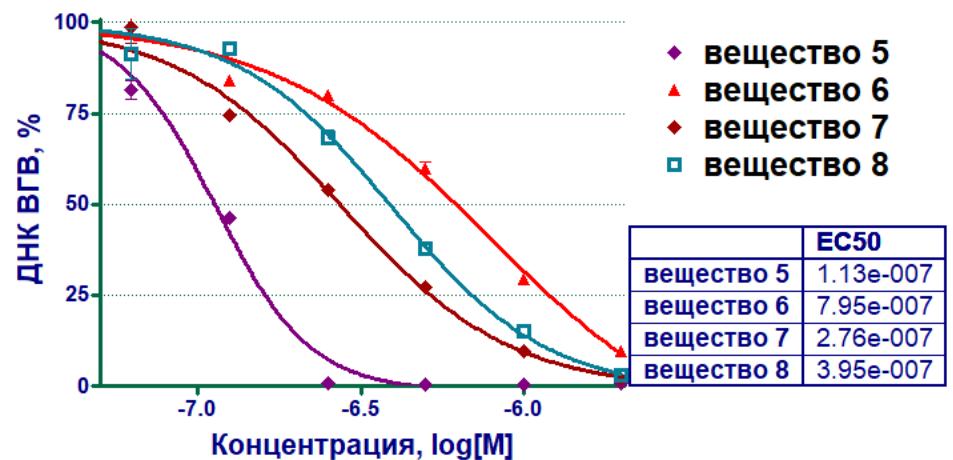
Результаты:

Полученная *in silico* отбором библиотека потенциальных ингибиторов сборки вирусных кор-частиц размером около 10 тысяч соединений была дополнена другими потенциальными ингибиторами развития инфекции ВГВ и протестирована с использованием описанных выше моделей. Было идентифицировано несколько новых классов соединений действующих как на этапе проникновения вирусных частиц в клетку, так и подавляющих формирование и выход из клетки вирусных частиц с величинами IC₅₀ от 10мкМ до менее 0.1 мкМ и с низкой цитотоксичностью с CC₅₀ > 30мкМ (максимальная измеренная концентрация). Исследования SAR позволили оценить влияние положения и характера заместителей. Таким образом, необходимы дальнейшая оптимизация и доклинические исследования идентифицированных ингибиторов ВГВ.



Пример активности веществ, подавляющих развитие инфекции в *in vitro* модели HepG2/NTCP

(оценка концентрации HBcAg в культуральной среде, нормализованной на контроль инфекции без добавления веществ)



Пример активности веществ, подавляющих сборку вирусных частиц в *in vitro* модели AD38

(оценка концентрации ДНК ВГВ в культуральной среде, нормализованной на контроль добавления веществ)