

Molekulový povrch Mpro s C33 naviazaným na aktívnom mieste enzýmu

Zastaviť koronavírus

Antivirálne liečivá proti COVID-19: Dizajn, syntéza a testovanie aktivity špecifických inhibítorov virálnych proteáz koronavírusu SARS-CoV-2

Autor:

prof. Ing. Vladimír Frecer, DrSc.,
Katedra fyzikálnej chémie liečiv
Farmaceutická fakulta UK v Bratislave

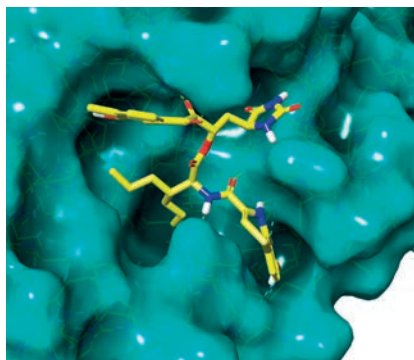
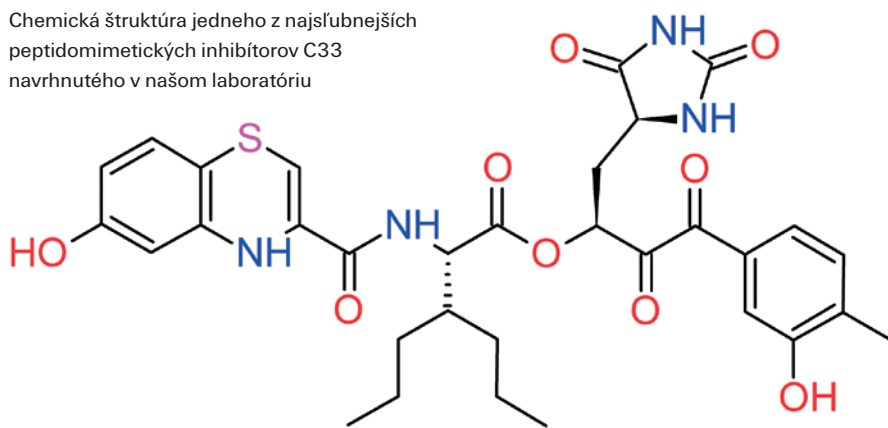
Chrčal a rýchlo ho viezli do nemocnice, ale mal šťastie. Iní nie. Medzi hlavné príznaky covidu 19 patria zvýšená teplota alebo horúčka, kašeľ, ťažkosti s dýchaním, bolesť hrdla, hlavy, chrbta, svalov alebo kĺbov, strata čuchu a prípadne chuti, únava, hnačka, nevoľnosť, nádcha, deti môžu mať „covidové prsty“ – červené a opuchnuté.

Covid-19 je infekčné ochorenie spôsobené novým koronavírusom (SARS-CoV-2). Koronavírusy patria do veľkej rodiny obalených RNA vírusov. Boli objavené v 60. rokoch 20. storočia. Koronavírusy spôsobujú predovšetkým respiračné a gastrointestinálne ochorenia u ľudí, vtákov a cicavcov. Ľudia sa môžu

ochorením covid-19 nakaziť vdychnutím infekčných kvapôčok obsahujúcich vírus od infikovaných ľudí. Kvapôčky sa najčastejšie vytvárajú počas kašľania, kýchania, rozprávania, spievania alebo dýchania. Prenos je mož-

U nás na Farmaceutickej fakulte Univerzity Komenského v Bratislave sa rieši výskum a vývoj nových inhibítorov cysteinových proteáz koronavírusu Mpro a PLpro ako antivirálnych liečiv. Na téme pracuje prof. Ing.

Chemická štruktúra jedného z najslubnejších peptidomimetických inhibítorov C33 navrhnutého v našom laboratóriu



Trojrozmerná štruktúra inhibítora C33 viazaného na katalytické miesto Mpro vymedzené molekulovým povrchom

ný aj kontaktom s kontaminovanými povrchmi a následným dotykom nosa, úst alebo očí.

V oblasti výskumu liečiv proti koronavírusom sa začalo pracovať už v roku 2002 kvôli hrozjacej pandémie SARS, neskôr v 2012 (MERS), ale najmä po roku 2019 pre pandémiu COVID-19. Prvé liečivá (monoklonálne protilátky, remdesivir, molnupiravir, nirmatrelvir/ritonavir) boli schválené v priebehu roku 2021, vakcíny od roku 2020.

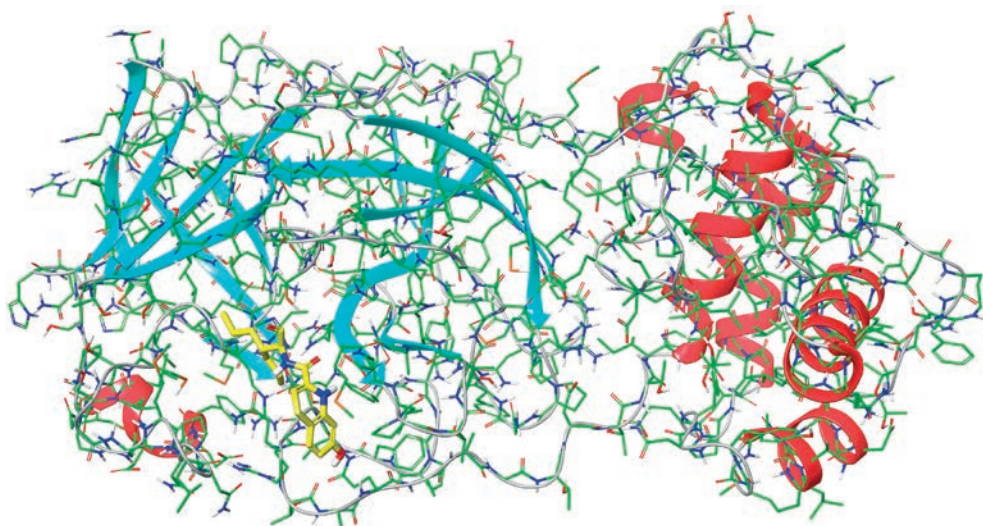
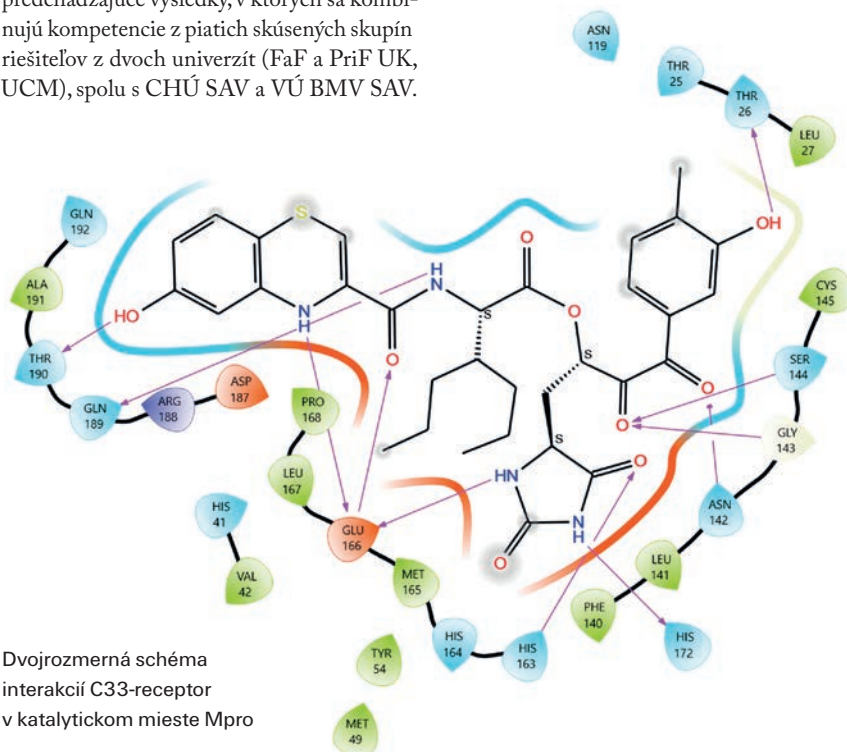
Vladimír Frecer, DrSc., z Katedry fyzikálnej chémie liečiv spolu s kolegami a spoluriešiteľmi grantov APVV, PP-COVID-20-0010 a APVV-21-0108 z Farmaceutickej fakulty a Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave, Fakulty prírodných vied Univerzity Sv. Cyrila a Metoda v Trnave, Virologického ústavu – Centra Biomedicínskeho výskumu Slovenskej akadémie vied a Chemického ústavu SAV. Nadväzujeme naj-

mä na práce kolegov z nemeckých univerzít, ktorí sa už v minulosti zapodievali výskumom liečiv proti koronavírusom SARS a MERS. Okrem uvedených slovenských inštitúcií naša fakulta spolupracuje s Univerzitou v Terste.

Používame skoro kompletný cyklus vývoja nových bioaktívnych molekúl - počítačový dizajn, syntézu, testovanie inhibičného účinku v enzymatických testoch a testovanie antivirálného účinku vyvíjaných látok *in vitro* na bunkových líniách infikovaných koronavírusom. K tomu ešte vyvíjame drug-delivery systémy - t.j. enkapsuláciu (uzatvorenie) liečiva do lipozómov.

Pandémia nového koronavírusu SARS-CoV-2, ktorá spôsobuje závažné ochorenia respiračného traktu (COVID-19), predstavuje dlhodobé ohrozenie zdravia populácie. Zaočkovanosť populácie dostupnými vakcínami na Slovensku je nízka a v súčasnosti je na liečbu COVID-19 schválený len obmedzený počet liekov: širokospektrálne antivirotiká - remdesivir a molnupiravir, ktoré sú zacielené na virálnu RNA polymerázu a nirmatrelvir/ritonavir, ktorý blokuje hlavnú proteázu Mpro a tiež cytochróm P450, čím spomalí odbúravanie podaného liečiva. Naš tím, na základe mnohoročných skúseností v oblasti navrhovania nových antivirálnych látok (napr. proti HIV-1, HCV, Dengue, chrípke typu A), sa od začiatku pandémie COVID-19 intenzívne venuje výskumu inhibítorov virálnych proteáz: hlavnej proteázy Mpro a papáinovej proteázy PLpro vírusu SARS-CoV-2, ktoré patria medzi kľúčové farmakologické ciele pre antivirálnu terapiu. Projekt nadväzuje na naše predchádzajúce výsledky, v ktorých sa kombinujú kompetencie z piatich skúsených skupín riešiteľov z dvoch univerzít (FaF a PrIF UK, UCM), spolu s CHÚ SAV a VÚ BMV SAV.

Dvozmerná schéma interakcií C33-receptor v katalytickom mieste Mpro



3D štruktúra Mpro so zvýraznenými motívmi sekundárnej štruktúry

Stratégia projektu sa opiera o nasledovný integrovaný prístup výskumu liečiv.

- Počítačový dizajn a optimalizácia špecifických peptidomimetických α -ketoamidov, ktoré inhibujú proteolytickú aktivitu Mpro; optimalizáciu sérií bis-benzylidénycklohexanónov a benzamidov, ktoré inhibujú proteolytickú a deubiquitinačnú aktivitu PLpro koronavírusu SARS-CoV-2.

- Vývoj syntetických ciest a syntézu peptidomimetických α -ketoamidov, benzamidov a bis-benzylidénycklohexanónov.

- Testovanie inhibície enzymatickej aktivity troch skupín látok na rekombinantne pripravených enzýmoch Mpro a PLpro a vývoj nových metód testovania inhibičnej aktivity na virálnych enzýmoch.

- Testovanie antivirálnnej aktivity *in vitro*

troch skupín látok na úrovni inhibície ľudských bunkových línií infikovaných vírusom SARS-CoV-2.

- Výskum interakcií nových inhibítorov s biologickými membránami a optimalizácia absorpcie a biodostupnosti v tkanivách respiračného traktu.

Počítačom podporovaný dizajn liečiv (computer-assisted drug design), ktorý na Farmaceutickej fakulte Univerzity Komenského používame, využíva molekulové modelovanie, kvantitatívne vzťahy medzi štruktúrou a aktivitou (QSAR), molekulovú mechaniku (MM), molekulovú dynamiku, kvantovú chémiu (QM), hybridné metódy (QM/MM), kombinatoriálnu chémiu, virtuálny skrining kombinatorických knižnic, počítačové predpovedanie farmakokinetických vlastností, a celý rad ďalších postupov.

Pri výskume systémov, ktoré zabezpečujú, aby sa liek dostal na cieľové miesto v tele (drug-delivery systémov), nám pomáhajú rentgenová a neutrónová difrakcia na vzorkách antivirotik enkapsulovaných vo fosfolipidových a iných membránach. Používame bežne aj inovatívne prístupy, štandardným aj novým spôsobom.

A čo očakávame od našej práce? Ak všetko pôjde tak, ako očakávame, získame nové antivírusové lieky proti SARS-CoV-2 s vyššou účinnosťou, priaznivými ADME vlastnosťami a nové spôsoby enkapsulácie do lipidových nanokapsúl pre perorálnu aplikáciu.

Infekciu koronavírusom SARS-CoV-2, ktorý spôsobuje závažné respiračné ochorenia, sa nepodarí úplne vyriešiť asi nikdy kvôli získanej rezistencii vírusov na antivirálna liečiva. Bude však možné udržať tento typ infekčných ochorení pod čiastočnou kontrolou kombináciou očkovania a vývoja antivirálnych liečiv, podobne ako u chrípky.