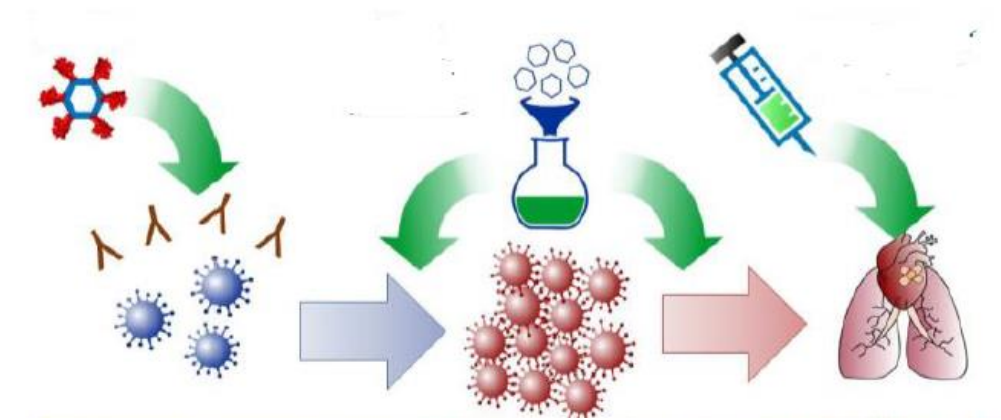


3.4. PROJEKTS

Jaunu terapeitisko un profilaktisko līdzekļu izstrāde pret COVID-19 un koronavīrusiem



Aktivitātes:

1. Platformas radīšana jaunu un pārprofilētu zāļvielu testēšanai pret SARS-CoV-2 un antivielu efektivitātes pārbaudei
2. Jaunu līdersavienojumu pret koronavīrusu kepa metiltransferāzēm atklāšana
3. Ātrās atbildes pret-koronavīrusu vakcīnas attīstības sistēmas izstrāde izmantojot vīrusveidīgo daļiņu un S proteīna RBD biokonjugāciju
4. Izpētīt uz mitohondrijiem mērķēto zāļvielu translācijas potenciālu inducētu plaušu un kardiovaskulāro komplikāciju mazināšanai

1. aktivitāte. Platformas izveide zālvielu un vakcīnu kandidātu testēšanai

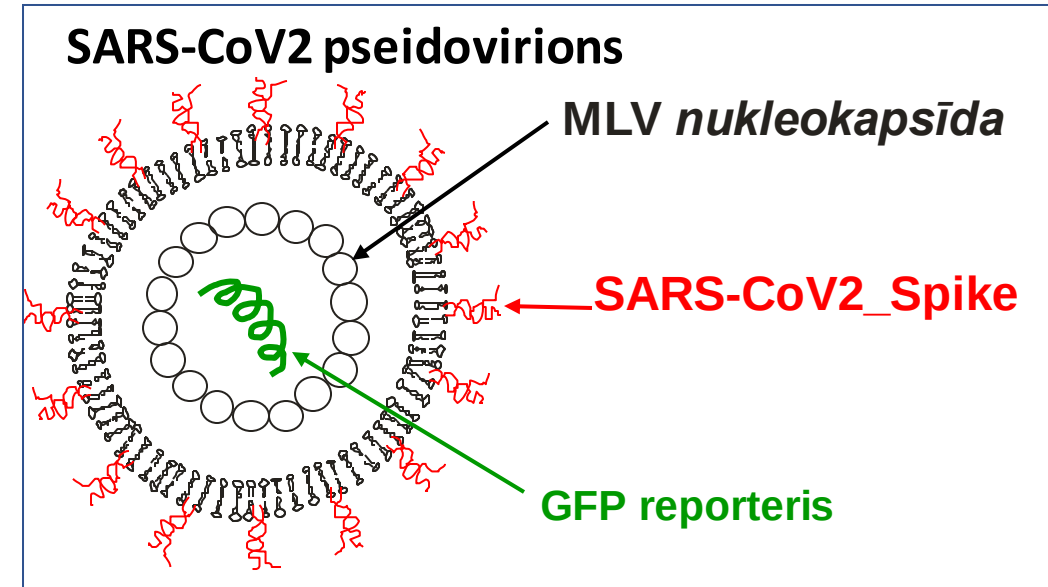
Pseudovirionu testsistēmas izstrāde.

Testsistēmas priekšrocības, salīdzinot ar dabisko SARS-CoV-2 vīrusu:

- Drošība
- Ātra, kvantitatīva vīrusa neitralizācijas noteikšana lielam paraugu skaitam

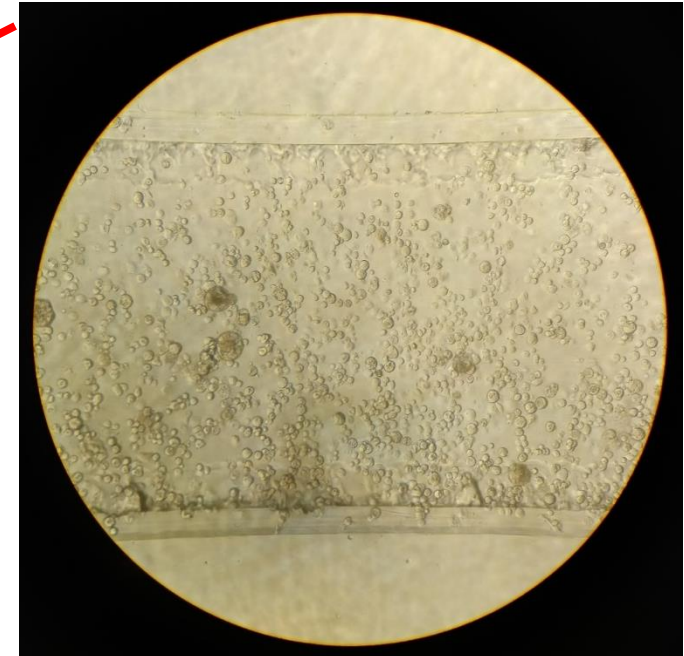
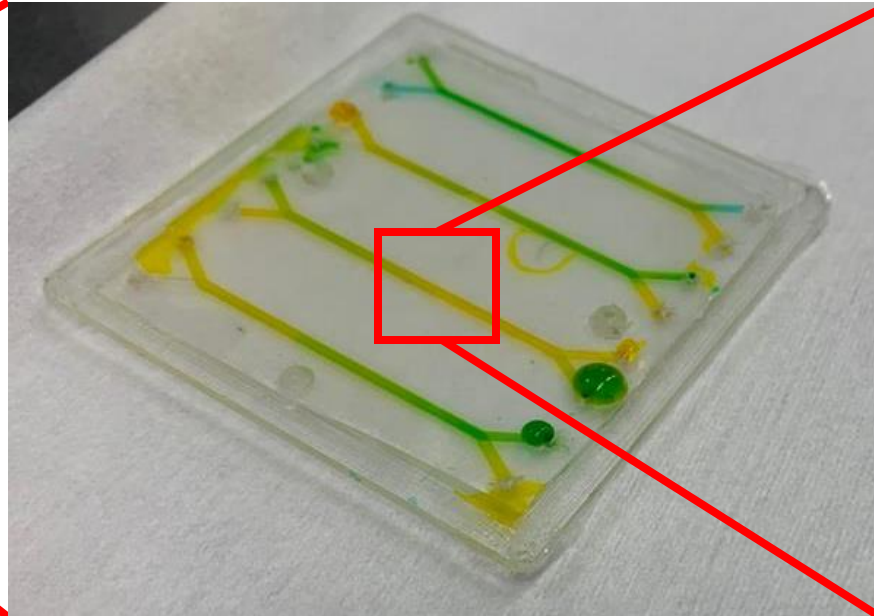
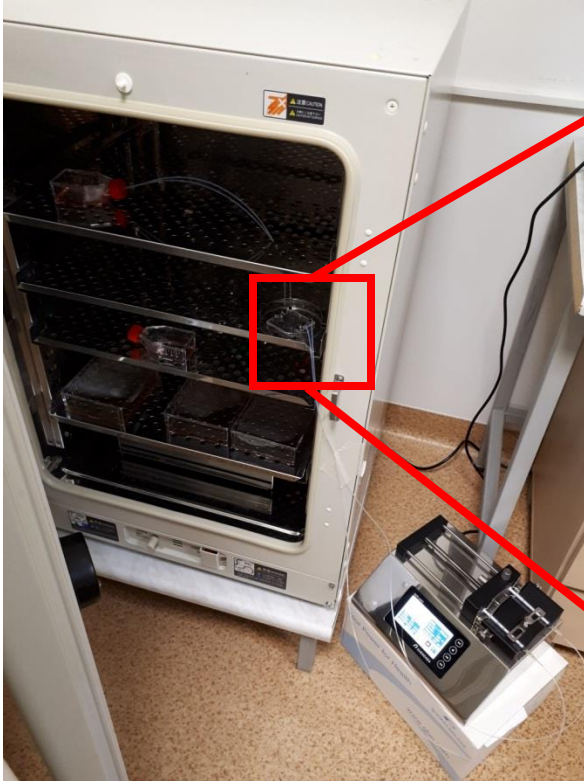
Rezultāti:

- Iegūti SARS-CoV2 pseudovirioni, kuri spēj inficēt hACE2 producējošās šūnas
- Pseudovirionus būs iespējams izmantot vakcīnas kandidāta efektivitātes pārbaudei



1. aktivitāte. Platformas izveide zālvielu un vakcīnu kandidātu testēšanai

Plaušas uz čipa (LoC) platformas izveide.



Testsistēmas priekšrocības, salīdzinot ar pašreizējām *in vitro* testa sistēmām:

- Precīzāk atdarina plaušu uzbūvi un funkcijas, kā pašreiz lietotās *in vitro* sistēmas

Rezultāti:

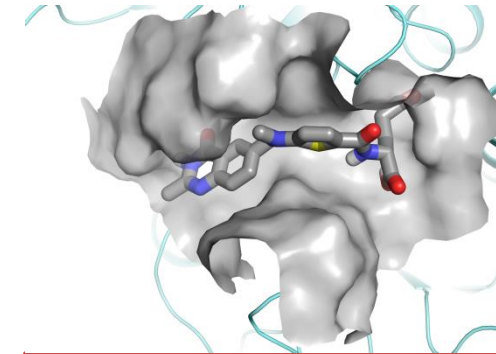
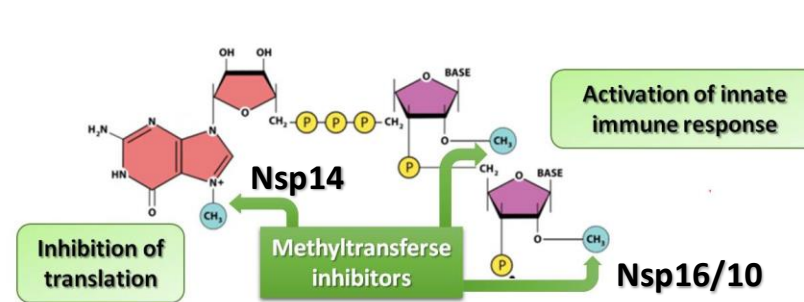
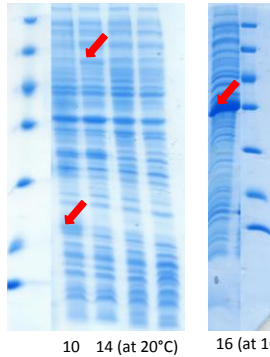
- Izgatavotas pirmās orgānu čipu iekārtas no OSTE materiāliem un *track-etched* membrānām
- Izgatavotas membrānas no OSTE materiāliem (ar 6.5 un 8 μm poru diametriem)
- Noskaidrots ārpus šūnas matriks un tā koncentrācija šūnu kultivēšanai kanālos

1. aktivitātes rezultātu statuss

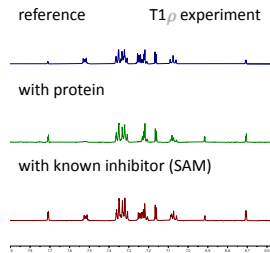
- Rezultāti izveidotajā plaušas-uz-čipa platforma šobrīd ir iegūti aptuveni 70% apjomā, paredzams, ka decembrī varēs iesniegt manuskriptu publicēšanai
- *Horizontālās aktivitātes:*
- 1. aktivitāte ir ļoti labs piemērs veiksmīgai starpnozaru sadarbībai starp LBMC un CFI zinātniekiem («veicināt starpinstitucionālo sadarbību programmas mērķu sasniegšanai»)

2. aktivitāte: Pret koronavīrusu mRNS metiltransferāzēm mērķētu zālvielu līdersavienojumu izstrāde

- Notiek aktīvs darbs visos plānotajos uzdevumos, ir identificēti pirmie aktīvie savienojumi.



Izveidota metode Nsp14, Nsp16 un Nsp10 producēšanai *E. coli*
Uzskākta fragmentu atlase ar KMR



Realizēta sintēze pirmajiem diviem SAM analogiem
Sintēzes procesā vēl X SAM analogi

Sākotnējā aktīvo savienojumu identifikācija

KMR fragmentu atlase

SAM analoģu sintēze

In silico atlase un enzimatiskie testi

Strukturālie un struktūras-aktivitātes likumsakarību pētījumi

Dizains un sintēze

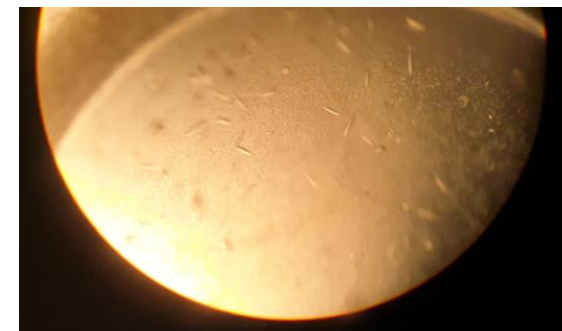
Pre-klīniskā testēšana

In silico atlasīti 81 potenciāli aktīvi savienojumi

Izveidota Nsp14/Nsp10 *in vitro* testa sistēma

Pārbaudīti 43 atlasītie savienojumi, 3 uzrāda augstu akt.

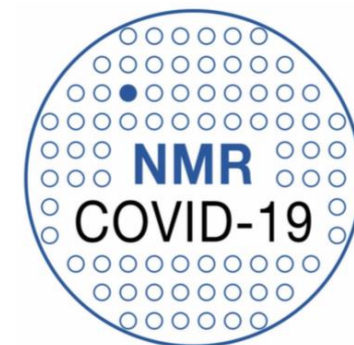
Izveidota Nsp16/Nsp10 kompleksa kristalizācijas metode



Izveidota citotoksicitātes testa sistēma
Notiek šūnu permeabilitātes testa sistēmas optimizēšana

2. aktivitāte: rezultātu statuss

- Projekta gaitā Nsp10/14/16 proteīnu producēšanas & raksturošanas tiks iekļauti topošajā Covid-19 NMR konsorcijs publikācijā
- Horizontālās aktivitātes:*
- Esam iesaistījušies starptautiskā konsorcijs "COVID19-NMR" (covid19-nmr.de), kurā kā pētniecības partneri piedalās zinātnieki no 15 valstīm
- Attīstīta cieša sadarbība starp LBMC, LOSI, LU un RTU. Piemēram, LBMC producētie proteīni tiek izmantoti eksperimentos LOSI, LU sagatavotie lizāti no savienojumu šūnu permeabilitātes testiem tiek mērīti LOSI, RTU sadarbojas ar LOSI SAM analoģu dizaina veikšanā.
- Fragmentu skrīninga uzdevumā esam pieteikuši pētniecības aktivitāti H2020 EU-OPENSREEN-DRIVE projektā, iegūstot tiesības izmantot konsorcijs fragmentu bibliotēku.



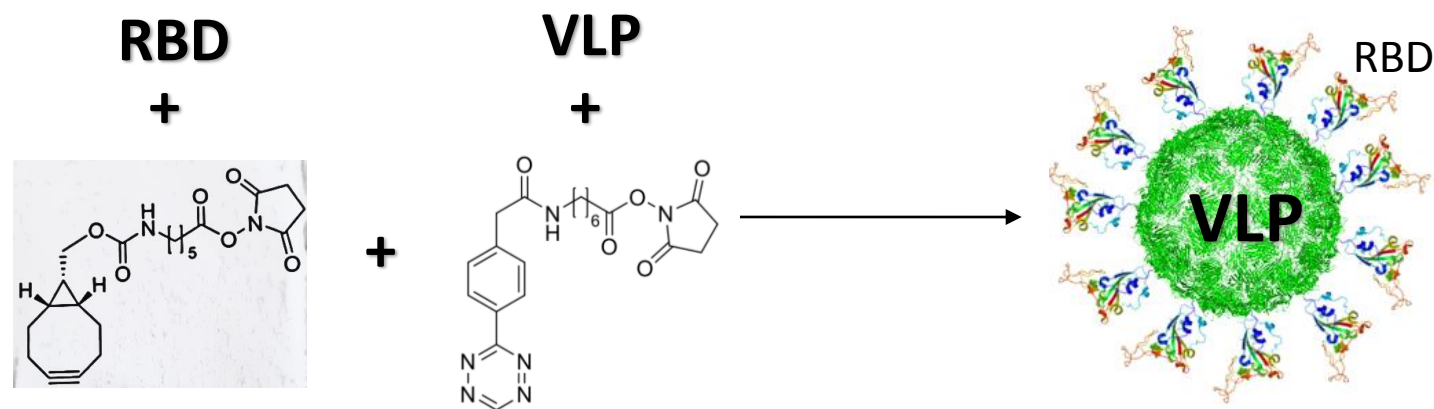
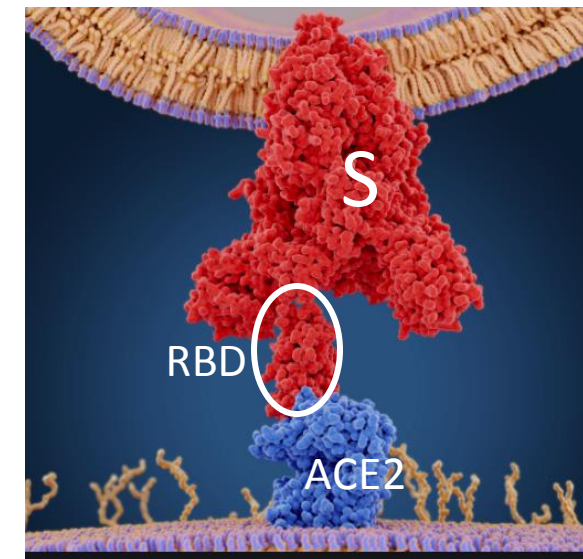
Agenda

<u>Welcome</u>	
<u>New Members</u>	
Douglas Laurents, Spain	Salim OK, Kuwait
Gennaro Esposito, Abu Dhabi	Sartaj Tabassum, India
	<u>Kristaps Jaudzems and Gints Kalniņš</u>
	Latvian Institute of Organic Synthesis, Riga, Latvia
	„Production and purification of mRNA cap methyltransferases Nsp14 and Nsp16 for fragment screening by NMR“
	<u>Katie Henzler-Wildmann</u>
	UW-Madison (NMRFAM), WI, USA
	„Update on Nsp7“

	<u>Anja Böckmann</u>
	University Lyon (IMSB CNRS), France
	„Update from Lyon/Zurich“
	<u>Sridhar Sreeramulu, Frank Löhr and Christian Richter</u>
	Goethe University Frankfurt, BMZ
	„Update on Nsp3b“
	

3. aktivitāte: Ātrās atbildes sistēmas izveide koronavīrusu vakcīnu konstruēšanai ar biokonjugāciju un testēšanai ar pseidovirioniem

- Vakcīnas kandidāta konstruēšanai tiek izmantots eikariotu un raugu šūnās producēts RBD un fāga Q β vīrusveidīgās daļiņas
- RBD-Q β konjugācijai tiek izmantoti OSI un firmas Geneibiotech (AK) izstrādātie ķīmiskie linkeri
- Ir uzsākta peļu imunizācija
- Serumu vīrusu neitralizācijas testi tiks veikti novembra otrajā pusē



3. aktivitātes rezultātu statuss

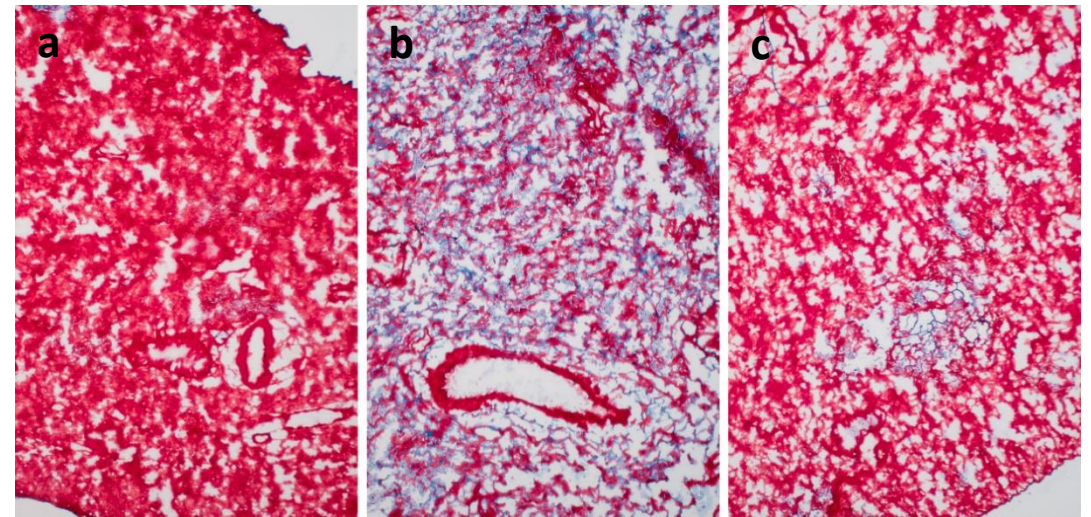
- Publikācijas manuskriptu būs iespējams uzrakstīt pēc serumu vīrusu neitralizējošās aktivitātes testu pabeigšanas novembra beigās
- *Horizontālās aktivitātes:*
- 3. aktivitātes ietvaros notiek sadarbība, ideju un materiālu apmaiņa ar Bernes universitātes pētniekiem un Apvienotās Karalistes firmas GenieBiotech pētniekiem
- Ziņojums Latvijas endokrinologiem «Covid - 19 profilakse un vakcīna - vai tas ir iespējams?»
- Ziņojums RTU seminārā «Vakcīnu izstrāde – tendences, vīzijas un problēmas»
- Ziņojums OVC par vakcīnu izstrādes progresu pasaulē

4. aktivitāte: Uz mitohondrijiem mērķētu zāļu vielu translācijas potenciāls COVID-19 pulmonāro un kardiovaskulāro komplikāciju mazināšanai

VPP ietvaros plānots pārbaudīt vielas potenciālu **COVID-19 izraisīto komplikāciju mazināšanai**

- Endotēlija bojājums plaušu asinsvados; asins skābekļa piesātinājums un vaskulārā reaktivitāte; mitohondriju disfunkcija; aritmijas
- Mitohondriju disfunkcija, ECHO, hemokīnu profils; iekaisuma gēnu ekspresija; orgānu specifiskie bojājumi
- Meldonijs ir kardiometabolas zāles ar preklīniski pierādītu kardiovaskulāru aktivitāti

*Dambrova et al. *Pharmacol Res.* **2016** 113(B):771-780.



Plaušu griezumi no kontroles (a) , MCR (b) un MCR+Meldonium (c) grupas, krāsoti pēc Massona trihroma metodes. Sarkanā krāsā plaušu alveolārie audi, zilā krāsā plaušu fibrozi veidojošie saistaudi. Meldonija terapija samazina monokrotalīna izraisīto plaušu fibrozes attīstību.

Meldonija ietekme uz monokrotalīna izraisīto plaušu fibrozes attīstību

4. aktivitātes rezultātu statuss

- Jau esošie pētījumu rezultāti noteikti tiks publicēti, manuskripts tiks iesniegts līdz projekta pabeigšanai
- Pētījuma rezultāti tiks izmantoti rīcībpolitikas ziņojuma sagatavošanai par esošo ārstniecības līdzekļu pārprofilēšanu