

## STRESZCZENIE

Zarówno wirus grypy typu A (IAV), jak i drugi koronawirus ciężkiego ostrego zespołu oddechowego (SARS-CoV-2) należą do grupy wirusów RNA. Oba wirusy są przyczyną wybuchów pandemii i epidemii na świecie. Każdego roku Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) odnotowuje 3-5 milionów przypadków ciężkiej grypy i 290 000-650 000 zgonów, a w ciągu ostatnich 2 lat pandemii COVID-19 do WHO zgłoszono prawie 652 miliony przypadków i ponad 6,5 miliona zgonów spowodowanych przez COVID-19. Zarówno SARS-CoV-2, jak i wirus grypy typu A atakują drogi oddechowe i wywołują podobne objawy. Ze względu na poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego, jakie stwarzają wspomniane wirusy, istnieje potrzeba poszukiwania nowych strategii leczenia wywoływanych przez nie chorób i ograniczania ich rozprzestrzeniania się.

Genom IAV składa się z ośmiu jednoniciowych segmentów RNA o ujemnej polarności. Każdy segment jest oddzielną jednostką replikacyjną i transkrypcyjną, kodując określone białka wirusowe. Jak dotąd stwierdzono, że segmenty tworzą złożone struktury drugorzędowe, które są konserwatywne wśród szczepów wirusów. Wykazano również, że określone motywy odgrywają ważną rolę w cyklu replikacyjnym wirusa. Natomiast wirus SARS-CoV-2 posiada genom w postaci jednoniciowego RNA o dodatniej polarności o długości 30 kb, zakończony na końcu 5' czapeczką. Rola niektórych motywów strukturalnych tego wirusowego RNA została potwierdzona eksperymentalnie. Ze względu na swoje znaczenie funkcjonalne i fakt, że cykle replikacji obu wirusów są zależne od RNA bez pośrednictwa DNA, RNA stanowi dobry cel dla potencjalnych nowych strategii przeciwwirusowych.

W tej pracy prowadzono poszukiwania niskocząsteczkowych ligandów jako potencjalnych inhibitorów IAV i SARS-CoV-2. Przeanalizowano bibliotekę 1280 związków Lopac i bibliotekę 8960 związków Enamine za pomocą wysokowydajnej analizy przesiewowej z użyciem testu wyparcia wskaźnika fluorescencji (FID). Jako cele w analizie zastosowano konserwatywne motywy strukturalne IAV i SARS-CoV-2. Wyselekcjonowano czternaście związków z biblioteki Lopac i dwadzieścia jeden związków z biblioteki Enamine, które wiążą się z danymi motywami RNA. Ich właściwości inhibitorowe wobec wirusa grypy A A/California/04/2009 (H1N1) zostały następnie sprawdzone w komórkach MDCK.

Przedstawione wyniki wskazują, że większość testowanych związków z obu bibliotek ma potencjał hamowania namnażania wirusa grypy poprzez działanie na wirusowe RNA. Najbardziej istotne zmniejszenie względnej liczby kopii wirusowego RNA wyselekcjonowanych ligandów biblioteki Lopac zostało osiągnięte przez wpływ związków SML1545, B6311 i M4008. Wymienione związki powodują spadek liczby kopii vRNA w analizowanym eksperymencie o ponad 60%. Ponadto SML2238 spowodował znaczną redukcję miana wirusa. W przypadku biblioteki Enamine trzy z siedmiu wybranych nietoksycznych związków posiadały kluczowe właściwości hamujące. Z154467994 wykazał najbardziej znaczące właściwości hamujące ze wszystkich wybranych SM. Przy stężeniu 10  $\mu$ M zmniejszył względną liczbę kopii vRNA o ponad 36% w porównaniu z nietraktowaną kontrolą. Z kolei Z134817028 zmniejszyło liczbę kopii wirusowego RNA o ponad 27% w najwyższym stężeniu. Z215664726 w najwyższym stężeniu obniżyło względną liczbę kopii vRNA w porównaniu z kontrolą o 35% i znacząco zredukowało ilość wirusa.

Co więcej, w celu sprawdzenia powinowactwa wiązania obiecujących ligandów z wybranymi motywami vRNA i ich miejsca wiązania przeprowadzono dokowanie molekularne. W tym celu najpierw przeprowadzono symulację dynamiki molekularnej motywów RNA. Zgodnie z analizą trajektorii przeprowadzono klasterowanie zasymulowanych motywów RNA. Podczas klasterowania wybrano struktury trzeciorzędowe wybranych motywów i wykorzystano je do dokowania molekularnego ze związkami wybranymi w poprzednich eksperymentach.

Opisane badania pokazują, że konserwatywne motywy strukturalne wirusowego RNA są naturalnymi i dobrymi celami dla strategii antywirusowych. Jednak odpowiedni dobór sekwencji i kontekstu strukturalnego miejsca docelowego ma ogromne znaczenie dla działania inhibitora. Różne podejścia antywirusowe mają różne zalety i ograniczenia, które należy wziąć pod uwagę w celu ich skutecznego zastosowania. Uzyskane wyniki mogą przyczynić się również do stworzenia podstaw eksperymentalnych do projektowania skutecznych i specyficznych strategii terapeutycznych z udziałem niskocząsteczkowych ligandów.