



EURÓPSKA ÚNIA
Európske štrukturálne a investičné fondy
OP Integrovaná infraštruktúra 2014 – 2020



KARTA PROJEKTU

| | | |
|---|--|------------------|
| Operačný program | Integrovaná infraštruktúra | |
| EÚ fond | Európsky fond regionálneho rozvoja | |
| Výzva | OPII-VA/DP/2020/9.4-01 - Výzva na predkladanie žiadostí o poskytnutie nenávratného finančného príspevku na podporu mobilizácie a využitia potenciálu výskumných inštitúcií pri boji proti pandémie vyvolanej ochorením COVID-19 a znižovaní negatívnych následkov pandémie | |
| Kód výzvy | OPII-VA/DP/2020/9.4-01 | |
| Kód projektu v ITMS2014+ | 313011ATT2 | |
| Názov projektu | Vývoj produktov modifikáciou prírodných látok a štúdium ich multimodálnych účinkov na ochorenie COVID-19 | |
| Subjekt/prijímateľ pomoci | SITNO PHARMA s. r. o. | |
| Partner 1 | Centrum experimentálnej medicíny SAV | |
| Partner 2 | Chemický ústav Slovenskej akadémie vied | |
| Partner 3 | Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum | |
| Financovanie projektu | COV | 3 215 875,63 EUR |
| | NFP | 2 893 457,97 EUR |
| | VZ | 322 417,66 EUR |
| Obdobie realizácie projektu | 07/2021 – 06/2023 | |
| Miesto realizácie projektu | SR/Trnavský kraj/Hlohovec SR/Trnavský kraj/ Dunajská Streda/ Lehnice SR/ Bratislavský kraj / Bratislava - mestská časť Karlova Ves | |
| Doména inteligentnej špecializácie | D4 Zdravie obyvateľstva a zdravotnícke technológie | |
| Hlavné relevantné SK NACE odvetvie | Q86 – Zdravotníctvo | |
| Funkčné väzby | C21-Výroba základných farmaceutických výrobkov | |

PREDMET VÝSKUMU

- Syntéza a príprava vybraných látkových entít na báze derivátov chinolínu a chroménu, zmesných entít – extraktov rastlín a polymérnych entít (vzoriek beta-glukánov).
- Analytické zabezpečenie k entitám z kategórii látkové entity, zmesné entity i polymérne entity.

- Hodnotenie látkových, zmesných a polymérnych entít na vybrané biologické a terapeutické parametre.
- Technologický vývoj a príprava zdrojov zmesných a polymérnych entít.
- skúmanie lyofilizačnej stabilizácie a vplyvu jednotkových operácií na vybrané vlastností hodnotených entít.

VÝSTUPY DO PRAXE

- Vybudovanie a sprevádzkovanie technologického pracoviska na prípravu parenterálnych formulácií.
- Návrh a príprava látok /kategória látkové entity/ tak, aby príprava viedla k látke originálnej, patentovo čistej s predpokladom inhibičný účinok na proteázu SARS-COV-1, respektíve významný antibakteriálny účinok, pričom hodnotená bude i protizápalová aktivita a antioxidačná aktivita v súvislosti s patológiou COVID-19.
- Príprava zmesných entít - rastlinných extraktov, ktoré vykázali simultánny antivirálny, antibakteriálny a antioxidačný účinok a publikovaný je i protizápalový účinok.
- Výber polymérnych matric - vybrané vzorky beta-glukánu z fungálnych, eventuálne cereálnych zdrojov s predpokladaným imunostimulačným účinkom
- Ochrana duševného vlastníctva entít s perspektívnymi vlastnosťami pre ďalšiu aplikáciu.
- Publikácie výsledkov výskumu riešiteľského kolektívu v karentovaných aj nekarentovaných časopisoch.

DÁVAME DO POZORNOSTI....(ŠPECIFIKÁ/UNIKÁTY A ZAUJÍMAVOSTI PROJEKTU)

- SITNO Pharma, s.r.o. realizuje projekt aseptické výroby kvapalných liekových foriem vo forme injekcii. Cieľom projektu bude navrhnuť konštrukčné a dispozičné riešenie priestorov a objektov na predmetnú výrobu, návrh nového plne automatizovaného skladu hotovej výroby a návrh úpravy infraštruktúry areálu tak, aby vyhovovali dispozičným a technologickým požiadavkám výroby a požiadavkám GMP kladených na výrobu injekčných liekových foriem. Tento projekt bude vychádzať aj z výsledkov dosiahnutých v aktuálnom projekte. Najmä sa jedná o API ako jednoduchú alebo zmesnú entitu vo forme lieku, alebo liekového doplnku.
- Mimoriadny dôraz budeme kladť na udržateľnosť prevádzky výskumno-vývojového laboratória lyofilizácie a jednotkových operácií vytvoreného ako detašované pracovisko Sitno Pharma v Hlohovci. Laboratórium bude po ukončení projektu pracovať s tromi stálymi pracovníkmi (vedúci laboratória, technik, doktorand). Odborným garantom zostane prof. Rajniak. Prevádzku a ďalší rozvoj zabezpečí potrebnými investíciami Sitno Pharma. Zásadný vplyv na udržateľnosť a rozvoj pracoviska budú mať vlastné komerčné aktivity spočívajúce v integrácii laboratória do projektu aseptické výroby kvapalných liekových foriem a poskytovanie služieb pri vývoji a optimalizácii lyofilizačného cyklu.
- Zdôrazňujeme synergiu troch spolupracujúcich laboratórií: Detašované pracovisko ChÚ SAV schopné zabezpečiť analytickú časť, Detašované pracovisko FChPT STU schopné zabezpečiť syntézu a novovytvorené detašované pracovisko Sitno Pharma zamerané na jednotkové operácie vo farmaceutickom priemysle s dôrazom na lyofilizáciu.
- Smeruje k zlepšeniu zdravotného stavu obyvateľstva. Z ekonomického hľadiska je tak prínosom pre spoločnosť zníženie nákladov na zdravotnú starostlivosť. Z medzinárodného hľadiska môžu publikované výsledky ako prípadové štúdie doplniť chýbajúce informácie.

ODBORNÉ AKTIVITY PROJEKTU

Aktivita 1

Partner 2: ChÚ SAV Bratislava

Téma: Výskum a syntéza vybraných látkových entít na základe chinolínu a chroménu v sub-gramových a gramových množstvách. Charakter aktivity: Nezávislý výskum a vývoj

Cieľ aktivity: Zabezpečenie zdrojov vzoriek kategórie látkových entít, konkrétne syntéza a semi-derivatizácia látok vybraných skeletov. Ako vybrané skelety boli na základe publikovaných výsledkov vybrané nasledovné skelety /"scaffold"-y/: 8-

Aktivita 4

Partner 1: CEM SAV Bratislava.

Charakter aktivity: Nezávislý výskum a vývoj.

Téma: Hodnotenie látkových, zmesných a polymérnych entít na vybrané biologické a terapeutické parametre.

Cieľ aktivity: Cieľom aktivity je CADD aktívnych látok a realizácia testov na úrovni in vitro / imunostimulačnej aktivity a testy cytotoxicity MTT,

hydroxychinolínový, 5,8-dihydroxychinolínový alebo chinolín-5,8-diónový skelet, ďalej benzopyrán-4-ónový skelet derivovaný substituovaným fenylom v polohe 2, respektíve 3. Syntéza látok na základe primárnych impulzov (verejne dostupné informácie, ukončené projekty) a smerovania z CADD, návrh nových skeletov a k tomu prislúchajúce analytické zabezpečenie. Podrobný popis výskumno-vývojovej aktivity projektu: Podstatou tejto aktivity sú syntetické štúdie. Jedná sa o derivatizáciu skeletov látok, ktoré majú svoje ekvivalenty medzi látkami prírodnými, ako aj syntetickými. Po chemickej stránke sa jedná o deriváty 8-hydroxychinolínu, 5,8-dihydroxychinolínu a chinolín-5,8-diónu a v neposlednom rade o deriváty chroménov /benzopyrán-4-ón/derivovaných substituovaným fenylom v polohe 2, respektíve 3. Jedná sa o látky u ktorých bol zistený jeden z dvoch menovaných účinkov: inhibičný účinok na proteázu SARS-COV-1, respektíve významný antibakteriálny účinok. Cieľom tejto štúdie je príprava skriningových množstiev látok /kategória LE/ tak, aby príprava viedla k látke originálnej, patentovo čistej s predpokladom vyššie uvedených duálnych aktivít, pričom hodnotená bude i protizápalová aktivita a antioxidačná aktivita v rámci balíka vybraných biochemických účinkov v súvislosti s patológiou COVID-19. Látky budú pripravené v kolekciiach homologických radov v úzkej väzbe s dizajnom látok v rámci štúdie CADD. Syntéza látok bude logicky sprevádzaná nutnou analytickou podporou, to znamená stanovenie identity pripravených látok pomocou NMR a stanovenie čistoty látok prostredníctvom HPLC. Pripravené látky budú hodnotené na CEM SAV čo sa týka účinnosti v testoch in vitro i čo do toxicity v rámci Aktivity 3. Vybrané látky, u ktorých sa preukáže očakávaná potencia v zmysle antivirálneho, antibakteriálneho a protizápalového účinku budú pre testy prevediteľnosti procesových operácií v zmysle prípravy parenterálnych a aplikačných foriem /Aktivita 4/ pripravené v gramových množstvách.

Aktivita 2

Partner 2: ChÚ SAV Bratislava.

Téma: Analytické zabezpečenie k entitám z kategórii LE, ZE i PE.

Charakter aktivity: Nezávislý výskum a vývoj

Cieľ aktivity: Cieľom Aktivity 2 je analytické zabezpečenie existujúcim i „de novo“ syntetizovaným testovaným entitám z kategórii LE, ZE i PE. Podrobný popis výskumno-vývojovej aktivity projektu: Projektový zámer, ktorého globálnym cieľom je „ťažiť“ z dvoch zdrojových aktivít pre priradenie kľúčových biochemických aktivít v súvislosti s možným terapeutickým potenciálom (primárnym i sekundárnym) v súvislosti s COVID-19 a sledovanie vplyvu procesového zaťaženia na stabilitu týchto vlastností vyžaduje kvalitnú, analytickú podporu, kvalitný, analytický „processing“ („analytical support“) a to na všetkých úrovniach. Úrovne, ktoré vyžadujú kvalitný, analytický servis sú nasledovné kategórie: úroveň produkcie skriningových vzoriek v predpokladanom množstve do 100 mg, kde sa vyžaduje potvrdenie identity danej chemickej, látkovej entity metódami NMR, eventuálne metódami s MS detekciou (GC-MS, LC-MS, eventuálne násobná MS detekcia) a potvrdenie čistoty látky metódami HPLC, respektíve GC, eventuálne interpretáciou 13C NMR spektra látky, vo všeobecnosti je možné do skriningových testov zaradiť látky čistotou nad 90 plošných % po HPLC analýze. Druhou úrovňou je príprava gramových množstiev látok s uplatnením rovnakých metód stanovenie identity (štruktúry) danej látky s tým rozdielom že všeobecne takéto vzorky pripravujú v gramových množstvách, s priradením kódu i šarže danej látky a prípuštná je čistota látok nad 95 plošných % v testoch HPLC. Tieto ciele je možné zveriť len špecializovaným pracovníkom, ktorí sa dlhodobo špecializujú na daný analytický test, mali by byť nezávislí od dodávateľov vzoriek, syntetikov, chemikov, biochemikov, aby ich výsledok bol objektívny a pod výsledok sa podpisujú svojím menom. Aktivita 2 predpokladá

NRT/ Podrobný popis výskumno-vývojových aktivít projektu: Cieľom aktivity je realizácia nasledovných štúdií: CADD derivátov chinolínov, derivátov 5,8-dihydroxy- chinolín-5-8diónu, respektíve derivátov chroménov. Hodnotenie imunostimulačnej aktivity testovaných entít. V neposlednom rade hodnotenie toxicity testovaných entít. Hodnotenie vzoriek zo všetkých troch kategórií entít /LE, ZE i PE/. . V rámci CEM SAV bude realizované hodnotenie látok a ich zmesí z hľadiska potenciálnej toxicity a imunostimulačných vlastností. Súčasne sa uskutoční in silico výber potenciálnych inhibítorov proteázy metódou virtuálneho skriningu. Výber aktívnych látok pomocou CADD sa bude robiť na základe virtuálneho skriningu pomocou program MOE. Najprv ohodnotíme základné skelety chinolínov, chinolínolínov, prípadne benzopyránov pomocou metódy molekuleového kotvenia na vybranom modeli SARS-COV-2-3CL proteázy z pdb databanky. Po analýze interakcií identifikujeme najdôležitejšie miesta pre derivatizáciu skeletov a vyberieme vhodné substituenty, ktoré budú základom pre vytvorenie kombinatorických databáz derivátov. Tieto podrobíme virtuálnemu skriningu pomocou multi-kotviacej techniky (multi-docking) a na základe dosiahnutých hodnôt celkového skóre vyberieme set molekúl pre ďalšie štúdium. Pri hodnotení budeme prihliadať aj na predikované hodnoty ADMET parametrov z programu ADMET Predictor. Toxicita látok sa bude sledovať na bunkovej línii Vero-6, ktorá je zlatým štandardom na štúdium cytotoxicity kombinovanej s vírusovou aktivitou. Táto bunková línia sa používa pre štúdium replikácie, kinetiky, adaptácie a cytopatológie SARS-CoV-2 a bežne sa používa aj v laboratóriách Virologického ústavu SAV na štúdie produkcie a infekcie vírusmi. V súvislosti s výskumom SARS-CoV-2 bol nedávno popísaný prístup, ktorý využíva in vitro trojdimenzionálny rekonštituovaný tkanivový model ľudských dýchacích ciest (3D RHuA). In vitro 3D RHuA modely z primárnych ľudských buniek majú svojimi vlastnosťami oveľa bližšie k ľudskému tkanivu dýchacích ciest. Sú kultivované na rozhraní vzduch-kvapalina (ALI) a vďaka ich kultivácii v inzertách umožňujú simuláciu inhalačnej ako aj systémovej expozície. Vďaka tomu 3D RhuA umožňujú flexibilitu pri modelovaní fyziologicky relevantných expozícií. Modely 3D RHuA, komerčne dostupné ako EpiAirway alebo MucilAir™ majú špecifické mechanizmy na boj proti patogénom, ktoré sú porovnateľné s podmienkami in vivo, v ľudských pľúcach (napr. produkcia hlienu, mukociliárny klírens a sekrécia obranných látok). Takisto otvárajú možnosť študovať infekciu inhaláciou alebo systémovou cestou. Okrem inhalačnej expozície 3RHuA umožňuje sledovať aj systémovú expozíciu bazo-laterálne (t.j. cez kultivačné medium) v statických ale aj dynamických podmienkach (t.j. v mikro-cirkulácii) v kultivačnej komore alebo čipe samostatne alebo v kombinácii s inou 2D alebo 3D kultúrou. Ďalší navrhovaný model pre použitie v projekte je 3D rekonštituovaný model tenkého čreva, EpiIntestinal, ktorý je mimoriadne vhodný pre štúdie resorpcie liečiv a ich aktivity. Podobne ako 3D RHuA je kultivovaný na ALI a umožňuje štúdium látok v statických aj dynamických podmienkach a na multi-tkanivových čipoch. Navrhované 2D a 3D tkanivové kultúry sa použijú na (i) vyhodnotenie toxikologických profilov najúčinnejších inhibítorov vybraných z in silico modelovania a proteínových testov; (ii) výber necytotoxických nových inhibítorov, ktoré budú vhodné pre ďalšie predklinické testovanie. Imunostimulačné vlastnosti látok sa budú sledovať pomocou merania chemoluminiscencie v plnej krvi potkana. V neutrofiloch, nachádzajúcich sa v krvi, sa odmeria hladina luminolom potencovanej luminiscencie bez prítomnosti a v prítomnosti sledovaných látok chrenovej peroxidázy. Použije sa mikroplatničkový luminometer Immunotech LM-01T, ktorým sa odmerajú integrálné hodnoty chemoluminiscencie za dobu 3600 S

Aktivita 5

Ziadateľ: Sitno Pharma, s.r.o., ako predkladateľ projektu.

Téma: Vybudovanie a sprevádzkovanie technologickeho pracoviska na prípravu parenterálnych formulácií,

nutnú účasť a začlenenie do personálnej matice /PM/ NMR špecialistov, MS špecialistov a v neposlednom rade odborníkov na kvapalinovú chromatografiu /LC/ a plynovú chromatografiu /GC/.

Aktivita 3

Partner 3: Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum

Téma: Technologický vývoj a príprava zdrojov zmesných a polymérnych entít

Charakter aktivity: Nezávislý výskum a vývoj

Príprava a odovzdanie štandardizovaných a stabilizovaných vzoriek zmesných a polymérnych entít pre nadväznú aktivitu s príslušnou analytickou dokumentáciou. Podrobný popis výskumno-vývojových aktivít projektu: Podstatou tejto aktivity sú výskumné a technologické štúdie ktoré sa viažu ku zabezpečeniu zdrojov dvoch z troch entít, ktoré sú predmetom návrhu projektu, konkrétne zmesné entity a polymérne entity. Na základe publikovaných, verejne dostupných údajov i na základe výsledkov ukončených projektov, ktoré viedli k podaniu predloženého návrhu projektu budú vybrané zmesné entity: rastlinné extrakty, ktoré vykázali simultánny antivirálny, antibakteriálny a antioxidačný účinok a publikovaný je i protizápalový účinok. Z kategórie polymérnych matric budú vybrané vzorky -glukánu z fungálnych, eventúálne cereálnych zdrojov s predpokladaným imunostimulačným účinkom. Spomínané testované entity /ZE i PE/ budú hodnotenie na potvrdenie a kvantifikáciu vyššie uvedených. Z príslušných, rastlinných drog budú pripravené primárne extrakty v merítku do 10l (1 kg), následne do 100 l(10 kg) spolu s príslušnou analytickou dokumentáciou. Študovaná bude technologická realizovateľnosť prípravy uvedených vzoriek, ekonomické a environmentálne aspekty možnej technológie výroby, skladovateľnosť a stabilita pripravených produktov, čo do fyzikálnochemických vlastností a zachovania biologických a terapeutických vlastností, čo bude predmetom Aktivity 4, realizovanej na CEM SAV.

ich lyofilizačnú stabilizáciu a skúmanie vplyvu jednotkových operácií na vybrané vlastností hodnotených entít.

Charakter aktivity: Priemyselný výskum

Cieľ aktivity: Aktivita 5 má stavbu dvoch konzistentných celkov, ktoré na seba nadväzujú majú označenie WP /„work package“/ WP5.1 a WP5.2. Globálnym cieľom Aktivity 5 je vybudovanie a uvedenie do prevádzky poloprevádzkového laboratória, ktorého cieľom bude príprava parenterálnych formulácií, ich lyofilizačná stabilizácia a sledovanie zachovania terapeutického potenciálu (definovaného exaktne ako súbor biochemických vlastností v úzkom prepojení s fyzikálnymi vlastnosťami a analytickou realitou) hodnotených entít všetkých kategórií /LE, ZE i PE/ v procese postupnosti jednotkových operácií, nutných pre vývoj moderných, aplikačných foriem. Cieľom WP5.1 Aktivity 5 je vybudovanie jednotkových operácií. Predovšetkým hodnotenie termo-stability, acido-bázickej stability a lyofilizovateľnosti testovaných entít.

INÉ RELEVANTNÉ INFO/KONTAKTY/WEB PROJEKTU

Prijímateľ pomoci-SITNO PHARMA s. r. o.

Kontaktné osoby:

Konateľ: Ing. Ľudovít Černák, CSc.

Mail: l.cernak@sitno.sk

Ing. Vladimír Žvak, CSc.

Tel.č.: +421 907 727 456

Mail: vladimir.zvak@gmail.com

Mgr. Martin Huraj

Tel. č. +421 905 347 191

Mail: huraj@cns-e.eu

Webové sídlo: www.sitnopharma.sk

Partner 1 - Centrum experimentálnej medicíny SAV /

Kontaktné osoby:

Riaditeľ a štatutár: RNDr. Mojmír Mach, PhD.

Tel.č.: +421 2 322 957 01

E-mail: mojmir.mach@savba.sk

RNDr. Magdaléna Májeková, PhD.

Tel.č.: +421 902 672 749

E-mail: magdalena.majekova@savba.sk

Partner 2- Chemický ústav Slovenskej akadémie vied

Kontaktné osoby:

Riaditeľ: Ing. Miroslav Kooš, DrSc.

Tel.č.: +421 902 075 918

Mail: chemmiro@savba.sk

Ing. Vladimír Pätoprstý, CSc.

Tel.č.: +421 944 028 529

Mail: vladimir.patoprsty@savba.sk

Webové sídlo: <http://chem.sk/>

Partner 3 Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum

Kontaktné osoby:

Doc. Ing. Stanislav Šilhár, CSc.

Tel. č.: +421 914 322 094

E-mail: stanislav.silhar@nppc.sk

Ing. Stanislav Baxa, PhD.

Tel. č.: +421 907 459 889

E-mail: stanislav.baxa@nppc.sk

RNDr. Marcela Blažková

Tel. č.: +421 904 615 846

E-mail: marcela.blazkova@nppc.sk

Webové sídlo: www.nppc.sk