

## Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-0366-07****Potenciálne inhibítory glykozyhydroláz na báze iminosacharidov**Zodpovedný riešiteľ **Ing. Miroslav Koóš, DrSc.**Príjemca **Chemický ústav SAV**

### Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Chemický ústav SAV
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

### Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

- 1.
- 2.
- 3.

### Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

- 1.
- 2.
- 3.

### Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

1. HIRSCH, J. - KOÓŠ, M. - KOVÁČ, P. Chemical synthesis of oligosaccharides related to plant xylans. In NIFANTIEV, N.E. Progress in the synthesis of complex carbohydrate chains of plant and microbial polysaccharides. Trivandrum: Transworld Research Network, 2009. ISBN 978-81-7895-424-0. Chapter 2.3., p. 61-92.
2. STEINER, B. - LANGER, V. - KOÓŠ, M. Synthesis and X-ray structure of a C5–C4-linked glucofuranose–oxazolidin-2-one. In Carbohydrate Research. Vol. 344, (2009), p. 2079-2082.
3. LANGER, V. - STEINER, B. - KOÓŠ, M. 2,3:4,6-Di-O-isopropylidene- $\alpha$ -L-sorbofuranose and 2,3-O-isopropylidene- $\alpha$ -L-sorbofuranose. In Acta Crystallographica Section C. Vol. C65, (2009), p. o151-o154.
4. HIRSCH, J. - KOÓŠ, M. - TVAROŠKA, I. Synthesis of saccharide precursors for

preparation of potential inhibitors of glycosyltransferases. In Chemical Papers. Vol. 63, (2009), p. 329-335.

5. SCHOLTZOVÁ, E. - LANGER, V. - SMRČOK, L. - KOÓŠ, M. - SASINKOVÁ, V. - HIRSCH, J. Crystal structure, infrared spectra and DFT study of benzyl 2,3-anhydro- $\beta$ -D-ribofuranoside. In Journal of Chemical Crystallography. Vol. 41, (2011), p. 167-174.

6. STEINER, B. - LANGER, V. - KOÓŠ, M. Unusual rearrangement in the Grignard reaction of carbohydrate-aldehydes with benzylmagnesium halide. In Program and Abstracts: 11th Bratislava Symposium on Saccharides, September 21-26, 2008, Smolenice. p. 58.

7. HIRSCH, J. - KOÓŠ, M. - TVAROŠKA, I. Synthesis of GlcNAc-TS mimetic part of the potential analog inhibitors of glycosyltransferases. In Program and Abstracts: 8th Carbohydrate Bioengineering Meeting, Ischia, Naples, Italy, 10–13 May, 2009. Castellammare di Stabia: Edizioni Ziino, 2009. ISBN 978-88-900948-5-9. p. P138.

8. HIRSCH, J. - KOÓŠ, M. - TVAROŠKA, I. Glycomimetics of the inhibitors of glycosyltransferases - design and synthesis. In Programme and Abstracts: 3rd EuCheMS Chemistry Congress: Chemistry – the Creative Force, Nürnberg, Germany, 29 August–2 September, 2010. p. Vb.021.

9. STEINER, B. - KOÓŠ, M. Synthesis of N,6-substituted 1,6-dideoxymannojirimycin analogues. In Book of Abstracts: XXIXth Conference of Organic Chemists - Advances in Organic Chemistry, Smolenice, 5-9 September 2010. Bratislava: Comenius University, Faculty of Natural Sciences and Slovak Chemical Society, 2010. p. 105.

## Uplatnenie výsledkov projektu

## CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

### Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Celkovo bolo syntetizovaných 40 nových organických zlúčenín, z toho 31 bolo izolovaných v čistej forme a následne plne charakterizovaných (spektrá, fyzikálno-analytické údaje). Podarilo sa pripraviť 11 finálnych derivátov manojirimycínu, z toho 8 zo série 1,6-dideoxy-6-R-N-R1-manojirimycínových analógov a 3 zo skupiny analógov 6-deoxy-6-R-manojirimycínu. Zistilo sa, že pri Grignardovej reakcii metyl 2,3-O-izopropylidén- $\alpha$ -D-lyxo-pentodialdo-1,4-furanozidu s benzylmagnéziumbromidom (ale aj chloridom) dochádza k neočakávanému a v chémii sacharidov zaujímavému prešmyku, pričom z benzyly vzniká 2-metylfenyl (o-tolyl). Počítačové modelovanie a dizajn iminosacharidových inhibítorov ukázali, že substitúcia v C-6 polohe 1,6-dideoxymanojirimycínových analógov má za následok zníženie inhibičného účinku v porovnaní s referenčným 1-deoxymanojirimycínom a to tak v prípade aromatického ako aj alifatického substituenta. Naproti tomu, C-6-nesubstituované deriváty vykazovali väzbové afinity vyššie alebo porovnateľné s referenčnou štruktúrou 1-deoxymanojirimycínu. Substitúcia na atóme dusíka taktiež ovplyvňuje inhibičný účinok. Zistilo sa, že N-benzylovaný a N-cyklohexylovaný derivát s metylovou skupinou v polohe C-5 vykazovali vyššie afinity k cieľovej Golgi  $\alpha$ -manozidáze II ako pre lyzozomálnu  $\alpha$ -manozidázu. Výsledky praktického testovania inhibičného účinku korelovali s údajmi získanými z molekulového modelovania. Významným výsledkom testovania podmienok kryštalizácie rekombinantnej manozidázy je vytvorenie kryštalického útvaru s definovanou priestorovou štruktúrou. Tieto výsledky sú novým príslubom pre riešenie terciárnej štruktúry klinicky významných enzýmov-manozidáz a ich komplexov s analógmi inhibítorov pri určení molekulárnych základov špecificity.

### Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

In total, 40 new organic compounds were synthesised, among them 31 were isolated in pure form and subsequently fully characterised (spectra, physico-chemical data). 11 final

mannojirimycin derivatives were prepared, among them 8 from the series of 1,6-dideoxy-6-R-N-R1-mannojirimycin and 3 from the series of 6-deoxy-6-R-mannojirimycin analogues.

It was found that unexpected and in the chemistry of saccharides interesting rearrangement occurred during the Grignard reaction of methyl 2,3-O-isopropylidene- $\alpha$ -D-lyxo-pentodialdo-1,4-furanoside with benzylmagnesium bromide (or chloride) to form o-tolyl from benzyl.

Computer modeling and design of iminosaccharide inhibitors revealed that C-6 substitution of 1,6-dideoxymannojirimycin analogues results in decrease in inhibitory effect comparing with 1-deoxymannojirimycin as reference, both for aromatic and aliphatic substituent. On the other hand, C-6-unsubstituted derivatives exhibited bonding affinities higher or comparable with 1-deoxymannojirimycin reference structure. Substitution on N-atom also influenced inhibitory effect. It was found that N-benzyl and N-cyclohexyl derivative with methyl group at C-5 exhibited higher affinity to target Golgi  $\alpha$ -mannosidase II as for lysosomal  $\alpha$ -mannosidase. The results of experimental testing of inhibitory effects correlated with data obtained from molecular modeling.

Creation of a crystalline form with defined space structure is an important result of testing of conditions of recombinant mannosidase. These results are new promise for the solution of tertiary structure of clinically significant enzymes-mannosidases and their complexes with inhibitor analogues in determination of molecular bases of specificity.

Svojím podpisom potvrdzujem, že údaje uvedené v záverečnej karte sú pravdivé a úplné a súhlasím s ich zverejnením.

**Zodpovedný riešiteľ**

Ing. Miroslav Kooš, DrSc.

V Bratislave 28. 01. 2011

**Štatutárny zástupca príjemcu**

Ing. Igor Tvaroška, DrSc.

V Bratislave 28. 01. 2011

.....  
podpis zodpovedného riešiteľa

.....  
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu