

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-00484-12****Štrukturálny dizajn, syntéza a evaluácia selektívnych inhibítorov glykozidhydroláz z rodiny GH38**Zodpovedný riešiteľ **Ing. Monika Poláková, PhD.**Príjemca **Chemický ústav, Slovenská akadémia vied, Bratislava**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Chemický ústav SAV, Dúbravská cesta 9, 845 38 Bratislava
2. Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta UK, ul. Odbojárov 10, 832 32 Bratislava
- 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. Poláková, M., Stanton, R., Wilson, I.B.H., Holková, I., Šesták, S., Machová, E., Jandová, Z., Kóňa, J. 'Click chemistry' synthesis of 1-(α -D-mannopyranosyl)-1,2,3-triazoles for inhibition of α -mannosidases. Carbohydr. Res. 2015, 406, 34-40.
2. Bobovská, A., Tvaroška, I., Kóňa, J. Using DFT methodology for more reliable predictive models: Design of inhibitors of Golgi alpha-Mannosidase II. J. Mol. Graph. Model. 2016, 66, 47-57.
3. Sládek, V., Kóňa, J., Tokiwa, H. In silico analysis of interaction pattern switching in ligand ...receptor binding in Golgi alpha-mannosidase II induced by the protonated states of

inhibitors. Phys. Chem. Chem. Phys. 2017, 19, 12527-12537.

4. Poláková, M., Horák, R., Šesták, S., Holková, I. Synthesis of modified D-mannose core derivatives and their impact on GH38 alpha-mannosidases. Carbohydr. Res. 2016, 428, 62-71.

5. Bilková, A., Paulovičová, E., Paulovičová, L., Poláková, M. Antimicrobial activity of mannose-derived glycosides. Monatsh. Chem. 2015, 146, 1707-1714.

Uplatnenie výsledkov projektu

Pripravené štruktúry selektívneho GMII inhibítora nájdu uplatnenie pri ďalšom vývoji liečiv založenom na inhibícii N-glykozylácie. Pripravené selektívne inhibítory GMII vykazujú podobné cytotoxické vlastnosti ako doteraz najpotentnejší, ale nie dostatočne selektívny GMII inhibítor, swainsonín. Bol vyvinutý rýchly výpočtový protokol na presnejšie predpovedanie biologickej aktivity ligandov voči glykozidhydrolázam z rodiny GH38. Pomocou týchto predpovedných modelov môže byť v budúcnosti rozvíjaný dizajn nových prototypov liečiv s protirakovinovou aktivitou. Výpočtový protokol založený na defragmentácii štruktúry receptor-ligand bol publikovaný a jeho princíp môže byť všeobecne využitý aj pre dizajn inhibítorov iných farmakoterapeutických receptorov. Na základe antimikróbnych aktivít nasynthesized manozidových derivátov bola optimalizovaná dĺžka aglykonovej alkylovej jednotky. Takáto štruktúrna jednotka môže byť využitá pri dizajne a príprave nových pyrolidínových derivátov s cieľom nájsť štruktúru s dvojitou biologickou aktivitou (antirakovinové a antimikróbne vlastnosti zakomponované do jednej štruktúry inhibítora).

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

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

Bol vyvinutý rýchly počítačový protokol na presnejšie predpovede biologickej aktivity ligandov voči glykozidhydrolázam z rodiny GH38. Kombináciou molekulového modelovania, syntézy derivátov s rôznymi sacharidovými jednotkami a aromatickými linkerami a testovaním ich enzýmovej aktivity bola úspešne identifikovaná vhodná štruktúra sacharidovej nosnej jednotky ako aj aromatického linkera, ktoré sú kľúčové pre selektívny inhibítor cieľového enzýmu GMIIb, čo bolo hlavným cieľom tohto projektu. Štruktúra takejto látky má azasacharidovú základnú jednotku, 1,4-dideoxy-1,4-imino-L-lyxitol, ktorá je N-benzyl substituovaná. Takto navrhnutá stereokonfigurácia inhibítora spĺňa podmienku pre jeho selektívne viazanie do cieľového enzýmu GMIIb, kde selektívny index $IC_{50}(LManII)/IC_{50}(GMIIb)$ bol v rozsahu 80-135, pričom jeho hodnoty >1 indikujú selektivitu voči cieľovému receptoru (GMIIb) a zoslabenú interakciu s LManII (nežiadúci bočný efekt inhibítorov). Takéto pyrolidínové deriváty neinhibovali ani AspMan (α -1,2-manozidáza z organizmu *Aspergillus saitoi*, model pre manozidázy typu I z endoplazmatického retikula), čo pri iných pyrolidínových derivátov bolo pozorované. Získané výsledky naznačujú, že syntetizované pyrolidíny sú prvými známymi selektívnymi GMII inhibítormi s minimálnym alebo žiadnym bočným inhibičným efektom voči lyzozomálnej α -manozidáze a α -manozidáze endoplazmatického retikula. Navyše, cytotoxické vlastnosti týchto pyrolidínov sú podobné ako má swainsonín-potentný, ale nedostatočne selektívny inhibítor GMII, čo indikuje aj ich podobné farmakokinetické vlastnosti. Výsledky boli zverejnené v 13 článkoch v medzinárodných vedeckých časopisoch a prezentované na 26 medzinárodných a domácich vedeckých sympóziách.

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

A fast computational protocol for more accurate predictions of biological activity of ligands of glycoside hydrolases from the GH family 38 has been developed. A combination of molecular modeling, synthesis of compounds differing in saccharide units and aromatic linkers, and

biological evaluation of their enzymatic activity led to an identification of an appropriate structure of the core saccharide unit as well as the aromatic linker, which are the key components of a selective inhibitor of the target enzyme, GMIIb. The selective GMIIb inhibitor has azasaccharide core, i.e. 1,4-dideoxy-1,4-imino-L-lyxitol, which is N-substituted. The defined stereoconfiguration of the inhibitor fulfills the requirements for its selective binding to the target enzyme. A selectivity index $IC_{50}(\text{LManII}) / IC_{50}(\text{GMIIb})$ was in the range of 80-135, indicating about 100-fold higher selectivity towards the target receptor (GMIIb) and weakened interaction with LManII (undesirable side effect of inhibitors). In contrast to other known pyrrolidine inhibitors, the synthesized pyrrolidines did not inhibit *Aspergillus saitoi* α -1,2-mannosidase, that is often used as a model for mannosidases I from endoplasmic reticulum. Thus, the synthesized pyrrolidines represent the first known selective GMII inhibitors with minimal or no side-effect against lysosomal and endoplasmic reticulum α -mannosidases. In addition, the cytotoxic properties of these pyrrolidines are similar to those of the swainsonine, the most potent but insufficiently selective GMII inhibitor, indicating their similar pharmacokinetic properties. The results of the project were disclosed in 13 articles published in international scientific journals and presented at 26 international and domestic scientific symposia.

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

Zodpovedný riešiteľ

Ing. Monika Poláková PhD.

V Bratislave 24. 10. 2017

Štatutárny zástupca príjemcu

Ing. Miroslav Kooš DrSc.

V Bratislave 24. 10. 2017

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu