

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-14-0883****Stereoselektívna syntéza a in vitro štruktúrna modulácia biologickej aktivity funkcionalizovaných sfingozínov**Zodpovedný riešiteľ **prof., RNDr. Gonda Jozef, DrSc.**Príjemca **Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach - Prírodovedecká fakulta**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta
Ústav chemických vied, Katedra organickej chémie

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

-

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

Patentové prihlášky budú odovzdané v priebehu r. 2019. Ich podanie bolo ovplyvnené oneskoreným testovaním biologickej účinnosti (materská dovolenka Doc. Martiny Bago Pilátovej).

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

1. Martinková M., Mezeiová E., Fabišíková M., Gonda J., Pilátová M., Mojžiš J., Total synthesis of pachastrissamine together with its 4-epi-congener via [3,3]-sigmatropic rearrangements and antiproliferative/cytotoxic evaluation (2015) Carbohydrate Research. 402 (2015), 6-24.
2. Stanková K., Martinková M., Gonda J., Pilátová M., Gönciová G., The convergent total synthesis of cytotoxic homospisulosine and its 3-epi-analogue, Tetrahedron: Asymmetry 26 (2015) 1394–1407
3. Maliňák D., Gonda J., Korabečný J., Doležal R., Honegr J., Soukup O., Buzga M., Kuča K., A Review of the Total Synthesis of (+)-Lactacystin and its Analogs, (2015) Current Organic Chemistry. (2015), 19 (20),1980-2001.
4. Fabišíková M., Martinková M., Hirková S., Gonda J., Bago Pilátová M., Gönciová G. Total synthesis and the anticancer activity of spisulosine.. Carbohydrate Research 435 (2016) 26-36.
5. Mezeiová E., Martinková M., Stanková K., Fabišíková M., Gonda J., Pilátová M., Gönciová G..Total synthesis and antiproliferative/cytotoxic profiling of 2-epi-jaspine B. Carbohydrate Research 423 (2016) 70–81.
6. Martinková M., Gonda J., Jacková D. Simple marine 1-deoxysphingoid bases: biological activity and syntheses.. Tetrahedron: Asymmetry 27 (2016) 1187–1212.
7. Martinková M., Gonda J. Marine cytotoxic jaspine B and its stereoisomers: biological

- activity and syntheses.. Carbohydrate Research 423 (2016) 1–42.
8. Takacsová M., Čonková M., Martinková M., Gonda J. Convenient approach to an advanced intermediate for salinosporamide A synthesis.. Tetrahedron: Asymmetry 27 (2016) 369–376.
 9. Elečko J., Gonda J., Martinková M., Vilková M. Contribution to the synthesis of polyhydroxylated indolizidines starting from sugar isothiocyanates. Tetrahedron: Asymmetry 27 (2016) 346–351
 10. Gonda J., Elečko J., Martinková M., Fábian M. Stereoselective synthesis of a novel branched-chain (1S,2R,6R,7S)-7a-(hydroxymethyl)-1,2,6,7-tetrahydroxypyrrolizidine., Tetrahedron Letters 57 (2016) 2895–2897.
 11. Očenášová L., Kutschy P., Gonda J., Pilátová M, Gonciová G., Mojžiš J., Pazdera P. Synthesis of new 5-bromo derivatives of indole and spiroindole Phytoalexins. Chemical Papers 70(5) (2016), 635–648.
 12. Jacková, D.; Martinková, M.; Gonda, J.; Stanková, K.; Bago Pilátová, M.; Herich, P.; Kožíšek, J. „The convergent synthesis and anticancer activity of broussonetinines related analogues“ Carbohydr. Res. 2017, 451, 59–71.
 13. Jacková, D.; Martinková, M.; Gonda, J.; Vilková, M.; Bago Pilátová, M.; Takáč, P. Stereoselective synthesis and anticancer activity of broussonetine analogues. Tetrahedron: Asymmetry 2017, 28, 1175–1182.
 14. Jacková, D.; Martinková, M.; Stanková, K.; Gonda, J.; Bago Pilátová, M.; Gönciová G. Total synthesis and bioactivity of ent-homospisulosine and N,O-diacetylhomoclavaminol A. Curr. Org. Chem. 2017, 21, 463–473.
 15. Psočka, M.; Martinková, M.; Gonda, J. A Lemieux–Johnson oxidation of shikimic acid derivatives: facile entry to small library of protected (2S,3S,4R)-2,3,4,7-tetrahydroxy-6-oxoheptanals. Chem. Pap. 2017, 71(4), 709–719.
 16. Raschmanová J., Martinková M., Gonda J., et al. Synthesis of the cytotoxic phytosphingosines and their isomeric analogues, Carbohydrate Research (2018) 468, 1–12.
 17. Fabišíková M., Martinková M., Gonda J., et al. A stereoselective approach towards a small library of cytotoxic isomeric sphingoid bases, Carbohydrate Research (2018) 468, 51–63.
 18. Gonda J., Psočka M., Martinková M., et al. A short synthesis of protected 3-deoxy-d-arabino-2-heptulosonates (DAH) from shikimic acid based on silyl group migration. Tetrahedron Letters (2018) 59(52) 4620–4621.
 19. Gonda J., Široký M., Martinková M. et al. Synthesis and biological activity of diastereoisomeric octahydro-1H-indole-5,6,7-triols, analogues of castanospermine, Tetrahedron (2019) 75(3) 398–408.
 20. Čonková M., Martinková M., Gonda J., Stereoselective synthesis and antiproliferative activity of the isomeric sphinganine analogues Carbohydrate Research (2018) 472, 76–85.
 21. Gonda J., Fazekášová S., Martinková M., Mitříková T., Roman D., Bago Pilátová M. Synthesis and biological activity of sphingosines with integrated azobenzene switches Organic&Biomolecular Chemistry (2019), prijaté do tlače.

Uplatnenie výsledkov projektu

Syntetizované molekuly preukázali výnimočnú antiproliferatívnu a cytotoxickú aktivitu, v niektorých prípadoch až o 2 rády vyššiu ako u tradičného protirakovinového lieku cisplatina. APVV projekt počas svojho riešenia vyvolal následný vznik 2 VEGA projektov z tejto problematiky, ktorých predmetom je spresnenie získaných experimentálnych faktov. Uplatnenie získaných výsledkov v praxi bude možné až po experimentoch in vivo, ktoré plánujeme uskutočniť v priebehu riešenia nasledujúceho APVV projektu.

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

Počas 4 rokov riešenia projektu sme vypracovali originálne totálne stereoselektívne syntézy viac ako 30-tich prírodných látok a ich stereoizomérov: jaspin B (pachastrissamín), 4-epi-jaspin B, spisulosínu, homospisulosínu, 3-epi-homospisulosínu, jaspínu B a jeho štyroch stereoizomérov, 2-epi-jaspínu B, chirónov pre salinosporamid A, 1-deoxycastanospermínu a jeho stereoizomérov a analógov, nového vetveného tetrahydroxypyrrolizidínu, broussonetínu a analógov, broussonetinínu a jeho analógov, spiroindolových fytoalexínov, homoclavaminolu A, phytosphingozínu jeho a analógov a stereoizomérov. Uvedené

zlúčeniny boli podrobené biologickým testom pričom sa zistila ich vysoká protirakovinová účinnosť. Uvedené typy látok patria prevažne do skupiny sfingozínov a ich analógov predstavujú zároveň vhodné farmakofóry pre naslednú funkcionalizáciu pomocou azobenzénových prepínačov.

Vypracovali sme flexibilný prístup k biologicky aktívnym sfingoidným bázam s integrovaným azobenzénovým prepínačom a to integráciou chirálneho aminoalkoholového segmentu a azobenzénovej časti pomocou Wittigovej reakcie substituovaných (E)-triphenyl[4-(phenyldiazenyl)benzyl]fosfóniových solí a chirálnych aldehydov syntetizovaných z kyseliny D-izoaskorbovej. Všetky finálne molekuly boli podrobené sérii experimentov na preskúmanie ich fotochrómných vlastností včítane reverzibilnej E/Z izomerizácie, materálovej únavy a termickej relaxácie. Cieľové E- a Z-izomérené sfingoidné bázy boli podrobené biologickému skríningu na protirakovinovú aktivitu na sérii šiestich ľudských zhubných bunkových líniiach. Testovane ukázalo výnimočnú antiproliferatívnu a cytotoxickú aktivitu pre všetky testované sfingozíny s azobenzénovou časťou, ktorá bola o 1 až 2 rády vyššia ako u tradičného protirakovinového lieku cisplatina. Dokázali sme tiež, že E a Z formy pripravených látok majú rôznu biologickú aktivitu. Jej úplne presné rozlíšenie bolo znemožnené termickou relaxáciou Z-izomérov. Získané výsledky sú však veľmi zaujímavé a náš ďalší výskum sa bude zameriavať na prípravu naftalén-, fluór- a metoxy-substituovaných azobenzénových prepínačov so zvýšenou termickou stabilitou, tak aby sa dala spoľahlivo študovať biologická aktivita pre obe geometrické izomérené formy (Gonda J., Fazekašová S., Martinková M., Mitriková T., Roman D., Bago Pilátová M. Synthesis and biological activity of sphingosines with integrated azobenzene switches *Organic and Biomolecular Chemistry*, (2019), prijaté do tlače.). Získané výsledky sú súčasťou 21 zahraničných CC publikácií.

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

During last four years we developed the total stereoselective syntheses more than 30 natural products and their stereoisomeric congeners including jaspine B (pachastrissamine), 4-epi-jaspine B, spisulosine, homospisulosine, 3-epi-homospisulosine, advanced intermediates for the naturally occurring salinosporamide A, 1-deoxycastanospermine, its stereoisomers and related analogues, the novel branched-chain tetrahydroxypyrrolizidine, broussonetine analogues broussonetinines related derivatives, spiroindole phytoalexins, homoclavaminole A, L-xylo- and L-lyxo-phytosphingosines, isomeric phytosphingosine derivatives and isomeric dihydrosphingosines. Evaluation for in vitro antiproliferative/cytotoxic activity with a panel of human cancer cell lines revealed for some compounds of our strategy noteworthy activity. The aforementioned target molecules belong to a family of the sphingoid bases and their sphingolipid cyclic derivatives or analogues and they represent the appropriate pharmacophores for their subsequent functionalization with the several azobenzene switches.

Moreover, a flexible synthetic approach to biologically active sphingoid bases with integrated azobenzene switches was achieved through a Wittig reaction of the corresponding substituted (E)-triphenyl[4-(phenyldiazenyl)benzyl]phosphonium salts and D-isoascorbic acid derived aldehydes with the chiral amino-alcohol motif. All the prepared derivatives underwent series of experiments to probe their photochromic properties, including the reversible E/Z isomerisation, material fatigue and thermal relaxation rate. The target (E)- and (Z)-isomeric sphingoid bases were screened for their antiproliferative/cytotoxic activities against seven different human cancer cell lines. Cell viability experiments demonstrated outstanding cytotoxicity of all the tested compounds with the incorporated azobenzene pharmacophore and displayed higher in vitro potency than the traditional anticancer agent cisplatin on both leukaemia and solid tumor cells with IC50 values in the low micromolar range. We have also found that the corresponding (E)- a (Z)-forms of our synthesized compound possess different biological activity. Because of thermal relaxation of the (Z)-forms back to (E)-forms we were not able to compare the potency of these geometric forms. Due to these interesting findings our further examination will be directed towards the construction of fluoro, methoxy and naphthalene substituted azobenzene switches with the increased thermal stability to allow comparisons between both geometric forms (Gonda, J.; Fazekašová, S.; Martinková, M.; Mitriková, T.; Roman, D.; Bago Pilátová, M. „Synthesis and biological activity of sphingosines with integrated azobenzene switches“ *Org. Biomol. Chem.* 2019, accepted for publication).

