



Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-17-0239**

Počítačový dizajn, syntéza, testovanie a dispozícia inhibítorov neuraminidáz chrípkového vírusu typu A ako potenciálnych antivirálnych látok

Zodpovedný riešiteľ **doc. Ing. Vladimír Frecer, DrSc.**

Príjemca **Univerzita Komenského v Bratislave - Farmaceutická fakulta**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Univerzita Komenského v Bratislave

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

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

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

24 článkov v karentovaných časopisoch, ktoré zhrňujú výsledky projektu:

- Kollar, J., Frecer, V.: Diarylcyclopropane hydroxamic acid inhibitors of histone deacetylase 4 designed by combinatorial approach and QMMM calculations. *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 2018, 85, 97-110.
- Allangba, K. N. P. G., Keita, M., N'Guessan, R. K., Megnassan, E., Frecer, V., Miertus, S.: Virtual design of novel Plasmodium falciparum cysteine protease falcipain-2 hybrid lactone-chalcone and isatin-chalcone inhibitors probing the S2 active site pocket. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 2019, 34(1), 547-561.
- Kollar, J., Morelli, A., Chiellini, F., Miertuš, S., Bakos, D., Frecer, V.: Epithelial cell adhesion on films mimicking surface of polymeric scaffolds of artificial urethra compared to molecular modeling of integrin binding. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers* 2019, 34(3), 280-290.
- Hľasová, Z., Košík, I., Ondrejovič, M., Miertuš, S., Katrik, J.: Methods and current trends in determination of neuraminidase activity and evaluation of neuraminidase inhibitors. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 2019, 49(4), 350-367.
- Kučerka, N., Hrubovčák, P., Dushanov, E., Kondela, T., Kholmurodov, Kh. T., Gallová, J., Balgavý, P.: Location of the general anesthetic n-decane in model membranes. *Journal of Molecular Liquids* 2019, 276, 624–629.
- Kouman, K. C., Keita, M., N'Guessan, R. K., Owono, L. C. O., Megnassan, E., Frecer, V., Miertuš, S.: Structure-based design and in silico screening of virtual combinatorial library of benzamides inhibiting 2-trans enoyl-acyl carrier protein reductase of Mycobacterium

- tuberculosis with favorable predicted pharmacokinetic profiles. *International Journal of Molecular Sciences* 2019, 20(19), 4730.
- Frecer, V., Iarossi, G., Salvetti, A. P., Maltese, P. E., Delledonne, G., Oldani, M., Staurengi, G., Falsini, B., Minnella, A. M., Ziccardi, L., Magli, A., Colombo, L., D'Esposito, F., Miertuš, J., Viola, F., Attanasio, M., Maggio, E., Bertelli, M.: Pathogenicity of new BEST1 variants identified in Italian patients with Best vitelliform macular dystrophy assessed by computational structural biology. *Journal of Translational Medicine* 2019, 17(330), 1-15.
 - Lipničanová, S., Chmelová, D., Ondrejovič, M., Frecer, V., Miertuš, S.: Diversity of sialidases found in the human body. A review. *International Journal of Biological Macromolecules* 2020, 148, 857-868.
 - Robajac, D., Križáková, M., Masnikosa, R., Miljuš, G., Šunderić, M., Nedić, O., Katrlík, J.: Sensitive glycoprofiling of insulin-like growth factor receptors isolated from colon tissue of patients with colorectal carcinoma using lectin-based protein microarray. *International Journal of Biological Macromolecules* 2020, 144, 932-937.
 - Dettenhofer, M., Ondrejovič, M., Slavica, A., Kurtanjek, Ž., Tapaloaga, D., Tapaloaga, P.R., KapurPojskić, L., Durmic-Pašić, A., Begović, J., Nedović, V., Dundar, M., Gartland, K.M.A., Miertuš, S.: Current state and prospects of biotechnology in Central and Eastern European countries. Part II: new and pre-accession EU countries (CRO, RO, BAH, SRB). *Critical Reviews in Biotechnology* 2019, 39(1), 137-155.
 - Dettenhofer, M., Ondrejovič, M., Vásáry, V., Kaszycki, P., Twardowski, T., Stuchlík, S., Turňa, J., Dundar, M., Gartland, K.M.A., Miertuš, S.: Current state and prospects of biotechnology in Central and Eastern European countries. Part I: Visegrad countries (CZ, H, PL, SK). *Critical Reviews in Biotechnology* 2019, 39(1), 114-136.
 - Krištofiková, D., Modrocká, V., Mečiarová, M., Šebesta, R.: Green Asymmetric Organocatalysis, *ChemSusChem* 2020, 13(11), 2828-2858.
 - Miertuš, S., Ondrejovič, M., Gartland, K.M.A.: Biotechnology in Europe: A Challenge for Central and East European countries. *Journal of Biotechnology*, 2019, 285, 42-43.
 - Želinská, K., Gallová, J., Huláková, S., Uhríková, D., Ivankov, O.: Solubilisation of model membrane by DDAO surfactant - partitioning, permeabilisation and liposome-micelle transition. *General Physiology and Biophysics* 2020, 39(2), 107-122.
 - Frecer, V., Miertuš, S.: Antiviral agents against COVID-19: structure-based design of specific peptidomimetic inhibitors of SARS-CoV-2 main protease. *RSC Advances* 2020, 10(66), 40244-40263.
 - Lipničanová, S., Chmelová, D., Godány, A., Ondrejovič, M., Miertuš, S.: Purification of viral neuraminidase from inclusion bodies produced by recombinant *Escherichia coli*. *Journal of Biotechnology* 2020, 316, 27-34.
 - Legerská, B., Chmelová, D., Ondrejovič, M., Miertuš, S.: The TLC-Bioautography as a tool for rapid enzyme inhibitors detection - A Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 2020, 1-19.
 - T. Peňaška, V. Modrocká, K. Stankovianska, M. Mečiarová, E. Rakovský, R. Šebesta, Organocatalytic Diastereodivergent Enantioselective Formal oxa-Diels-Alder Reaction of Unsaturated Ketones with Enoates Under Liquid-Assisted Grinding Conditions. *ChemSusChem* 2022, 15(7), Art. No. e202200028.
 - Hľasová, Z., Pažitná, L., Ondrejovič, M., Katrlík, J.: Lectin-based assay for the determination of the inhibition activity of small molecule inhibitors of neuraminidases. In *Journal of Biotechnology*, 2021, 325, 65-72.
 - S. Lipničanová, B. Legerská, D. Chmelová, M. Ondrejovič, S. Miertuš, Optimization of an Inclusion Body-Based Production of the Influenza Virus Neuraminidase in *Escherichia coli*. *Biomolecules* 2022, zaslané do tlače.
 - T. Peňaška, V. Modrocká, K. Stankovianska, M. Mečiarová, E. Rakovský, R. Šebesta, Liquid-Assisted Grinding Promotes Diastereodivergent Enantioselective Formal oxa-Diels-Alder Reaction of Unsaturated Ketones with Enoates. *ChemSusChem* 2022, zaslané do tlače.
 - Kučerka, N., Ermakova, E., Dushanov, E., Kholmurodov, K.T., Kurakin, S., Želinská, K., Uhríková, D.: Cation-Zwitterionic Lipid Interactions Are Affected by the Lateral Area per Lipid. *Langmuir* 2021, 37(1), 278-288.
 - Želinská, K., Gallová, J.: Study of the solubilisation process of bacterial model membranes induced by DDAO. *European Pharmaceutical Journal* 2021, 68(1), 17-23.
 - Kučerka, N., Gallová, J., Uhríková, D.: The membrane structure and function affected by

Uplatnenie výsledkov projektu

Výskum a vývoj nových antivirálnych látok proti vírusu chrípky typu A, ktorý sa každoročne vracia vo forme chrípkovej epidémie (vyše 116 tisíc ochorení na chrípku v SR v sezóne 2019/20), je neustále potrebný najmä kvôli nízkej zaočkovanosti populácie, nedostatočnej ochrane vakcinácie pred sezónnou chrípkou a vznikom rezistencie vírusov na klinicky používané antivirálné liečivá.

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

Projekt výskumu nových inhibítorov neuraminidáz chrípkového vírusu typu A pozostával z piatich na seba nadväzujúcich etáp a čiastkových cieľov, ktoré boli splnené.

- Počítačový dizajn a optimalizácia fosfono a sulfo analógov a stereoizomérov chirálnych liečiv proti vírusu chrípky typu A. FaF UK uskutočnila molekulové modelovanie a počítačový dizajn analógov a stereoizomérov oseltamiviru a zanamiviru a ich derivátov s karboxylovou skupinou nahradenou izostérmi a derivatizovanými funkčnými skupinami na cyklických jadrách týchto liečiv.
- Vývoj nových syntetických postupov. PriF UK uskutočnila výskum syntetických postupov na prípravu stereoizomérov oseltamiviru, založených na organokatalytickej Michaelovej adícii acetalov aldehydov na acylamidonitroetény a skúmala možnosti syntézy fosfono a sulfo derivátov oseltamiviru.
- Príprava nových inhibítorov virálnych neuaminidáz. PriF UK zrealizovala syntézu vybraných stereoizomérov a derivátov oseltamiviru a zanamiviru.
- Vývoj metodík a testovanie inhibičnej aktivity nových látok. CHÚ SAV a ICARST n.o. optimalizovali a vyvinuli nové enzymatické testy s využitím mikroplatničkovej techniky a microarray biočipov a otestovali pripravené analógy, stereoizoméry a deriváty na inhibičnú aktivitu voči virálnym neuraminidázam chrípkového vírusu typu A.
- Vývoj drug-delivery systémov nových inhibítorov. FaF UK vyvíjala nosiče na báze lipidov pre enkapsuláciu, cielečné dopravenie antivirov na mieste účinku.

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

The research project for new neuraminidase inhibitors of influenza A virus consisted of five consecutive stages and sub-goals that were fulfilled.

- Computational design and optimization of phosphono and sulfo analogs and stereoisomers of chiral drugs against influenza A virus. FaF UK performed molecular modeling and computer-assisted design of analogs and stereoisomers of oseltamivir and zanamivir and their derivatives with carboxyl group replaced by isosteres and derivatized functional groups attached to cyclic cores of these drugs.
- Development of new synthetic procedures. PriF UK conducted research on synthetic procedures for the preparation of stereoisomers of oseltamivir, based on the organocatalytic Michael addition of acetal aldehydes to acylamidonitroethenes, and investigated the possibilities of synthesizing phosphono and sulfo derivatives of oseltamivir.
- Preparation of new viral neuraminidase inhibitors. PriF UK accomplished the synthesis of selected stereoisomers and derivatives of oseltamivir and zanamivir.
- Development of methodologies and testing of inhibitory activity of new substances. CHÚ SAV and ICARST n.o. optimized and developed new enzymatic assays using the microplate technique and microarray biochips and tested the prepared analogs, stereoisomers and derivatives for inhibitory activity against viral neuraminidase of influenza A virus.
- Development of drug-delivery systems of new inhibitors. FaF UK has been developing lipid-based carriers for the encapsulation and targeted delivery of antivirals at the site of action.