



## Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-17-0373**

**Nové malé molekuly a bioaktívne nanočastice pre terapiu zápalových a degeneratívnych ochorení kostí a kĺbov**

Zodpovedný riešiteľ **prof. Ing. Ferdinand Devínsky, DrSc.**

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

### Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Katedra chemickej teórie liečiv, Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského v Bratislave
2. Katedra analytickej chémie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave
3. Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky, Lekárska fakulta Univerzity Komenského v Bratislave

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

1. Regionální centrum pokročilých technologií a materiálů, Univerzita Palackého v Olomouci, Šlechtitelů 27, 78371 Olomouc, Česká republika
2. Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava, Centrum nanotechnologií, 17. listopadu 2172/15, 708 00 Ostrava-Poruba, Česká republika
3. Institute of Chemistry, Faculty of Science and Technology, University of Silesia in Katowice, Bankowa 14, 40-006 Katowice, Poland
4. Masarykova univerzita, Žerotínovo nám. 617/9, 601 77 Brno, Česká republika
5. Výskumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Hudcova 296/70, 621 00 Brno, Česká republika

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

1. DEVÍNSKY, Ferdinand a JAMPÍLEK, Josef a PISÁRČIK, Martin a LUKÁČ, Miloš a HOŠEK, Jan. Nanoformulácie zlata pre terapiu zápalových a degeneratívnych ochorení kostí, kĺbov a chrupaviek. Prihláška slovenského patentu PP 57-2022, 25/05/2022.
2. DEVÍNSKY, Ferdinand a JAMPÍLEK, Josef a PISÁRČIK, Martin a LUKÁČ, Miloš a HOŠEK, Jan. Nanoformulácie striebra pre terapiu zápalových a degeneratívnych ochorení mäkkých a pevných tkanív. Prihláška slovenského patentu PP 120-2022, 06/12/2022.
3. JAMPÍLEK, Josef a GONĚC, Tomáš a MUSIOŁ, Robert a SPACZYŃSKA, Ewelina a MALARZ, Katarzyna a MROZEK-WILCZKIEWICZ, Anna a KAPUSTÍKOVÁ, Iva (pôvodcovia). Univerzita Komenského v Bratislave (prihlasovateľ). Použitie derivátov naftalénu na liečbu rakoviny hrubého čreva. Slovenský patent SK 288933, 13.12.2021.

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

2019

1. Pisárčik M., Pupák M., Lukáč M., Devínsky F., Hubčík L., Bukovský M., Horváth B.: The Synthesis, Self-Assembled Structures and Microbicidal Activity of Cationic Gemini

- Surfactants with Branched Tridecyl Chains. *Molecules* 24(23), 2019, pp. 4380-4399. ISSN: 1420-3049; DOI: 10.3390/molecules24234380 [IF2018 = 3.060], <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/23/4380>
2. Pisárčik M., Polakovičová M., Markuliak M., Lukáč M., Devínsky F.: Self-Assembly Properties of Cationic Gemini Surfactants with Biodegradable Groups in the Spacer. *Molecules* 24(8), 2019, pp. 1481-1493. ISSN: 1420-3049; DOI: 10.3390/molecules24081481 [IF2018 = 3.060], <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/8/1481>
3. Hošek J., Kos J., Strhářský T., Černá L., Štarha P., Vančo J., Trávníček Z., Devínsky F., Jampílek J.: Investigation of Anti-Inflammatory Potential of N-Arylcinnamamide Derivatives. *Molecules* 24(24), 2019, 4531. ISSN 1420-3049; DOI: 10.3390/molecules24244531 [IF2018 = 3.060], <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/24/4531/pdf>  
2020
4. PISÁRČIK, Martin, LUKÁČ, Miloš, JAMPÍLEK, Josef, BILKA, František, BILKOVÁ, Andrea, PAŠKOVÁ, Ľudmila, DEVÍNSKY, Ferdinand, HORÁKOVÁ, Renáta, OPRAVIL Tomáš: Phosphonium surfactant stabilised silver nanoparticles. Correlation of surfactant structure with physical properties and biological activity of silver nanoparticles. *Journal of Molecular Liquids* 314, (2020), 113683 [ISSN 0167-7322, IF2019 = 5.065], <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113683>
5. KOS, Jiří, BAŃ, Andrzej, KOZIK, Violetta, JANKECH, Timotej, STRHÁŘSKY, Tomáš, ŚWIETLICKA, Aleksandra, MICHNOVÁ, Hana, HOŠEK, Jan, SMOLIŃSKI, Adam, ORAVEC, Michal, DEVÍNSKY, Ferdinand, HUTTA, Milan, JAMPÍLEK, Josef: Biological Activities and ADMET-Related Properties of Novel Set of Cinnamanilides. *Molecules* 25(18), (2020), 4121 [ISSN 1420-3049, IF2019 = 3.267], <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/18/4121/pdf>.
6. JAMPÍLEK, Josef, KRÁĽOVÁ, Katarína: Potential of Nanonutraceuticals in Increasing Immunity. *Nanomaterials* 10(11), (2020), 2224, [ISSN 2079-4991, IF2019 = 4.324], <https://www.mdpi.com/2079-4991/10/11/2224/pdf>.
7. Lukáč, Miloš, Pisárčik, Martin, Garajová, Mária, Mrva, Martin, Dušeková, Aneta, VRTÁK, Andrej, HORÁKOVÁ, Renáta., HORVÁTH, Branislav, DEVÍNSKY, Ferdinand: Synthesis, Surface Activity, and Biological Activities of Phosphonium and Metronidazole Salts, *Journal of Surfactants and Detergents*, 23 (2020), 1025-1032 <https://doi.org/10.1002/jsde.12439>
8. TIMKO, Lukáš, PISÁRČIK, Martin, MRVA, Martin, GARAJOVÁ, Mária, JUHÁSOVÁ, Anna, MOJŽIŠ Ján, MOJŽIŠOVÁ, Gabriela, BUKOVSKÝ, Marián, DEVÍNSKY, Ferdinand, LUKÁČ, Miloš: Synthesis, physicochemical properties and biological activities of novel alkylphosphocholines with foscarnet moiety, *Bioorganic Chemistry* 104 (2020), 104224, <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104224>  
2021
9. KOS, Jiří and KOZIK, Violetta and PINDJAKOVÁ, Dominika and JANKECH, Timotej and SMOLIŃSKI, Adam and ŠTĚPÁNKOVÁ, Šárka and HOŠEK, Jan and ORAVEC, Michal and JAMPÍLEK, Josef and BAŃ, Andrzej. Synthesis and Hybrid SAR Property Modeling of Novel Cholinesterase Inhibitors. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, vol. 22, no. 7, 3444, [ISSN 1422-0067, IF2020 = 5.923, Q1], <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/7/3444/pdf>.
10. PISÁRČIK, Martin and LUKÁČ, Miloš and JAMPÍLEK, Josef and BILKA, František and BILKOVÁ, Andrea and PAŠKOVÁ, Ľudmila and DEVÍNSKY, Ferdinand and HORÁKOVÁ, Renáta and BŘEZINA, Matěj and OPRAVIL, Tomáš. Silver Nanoparticles Stabilised with Phosphorus-Containing Heterocyclic Surfactants: Synthesis, Physico-Chemical Properties, and Biological Activity Determination. *Nanomaterials* 2021, vol. 11, no. 8, 1883, [ISSN 2079-4991, IF2020 = 5.076, Q1], <https://www.mdpi.com/2079-4991/11/8/1883/pdf>.
11. PLACHÁ, Daniela and JAMPÍLEK, Josef. Chronic Inflammatory Diseases, Anti-Inflammatory Agents and Their Delivery Nanosystems. *Pharmaceutics* 2021, vol. 13, no. 1, 642019, [ISSN 1999-4923, IF2020 = 6.321, Q1], <https://www.mdpi.com/1999-4923/13/1/64/pdf>.
12. JAMPÍLEK, Josef and PLACHÁ, Daniela. Advances in Use of Nanomaterials for Musculoskeletal Regeneration. *Pharmaceutics* 2021, vol. 13, no. 12, 1994, [ISSN 1999-4923, IF2020 = 6.321, Q1], <https://www.mdpi.com/1999-4923/13/12/1994/pdf>  
2022
13. ANDRUCH, Vasil and HALKO, Radoslav and TUČEK, Jozef and PŁOTKA-WASYLKA, Justyna. Application of Deep Eutectic Solvents in Atomic Absorption Spectrometry. *Trends*

- Anal. Chem. 2022, 147, 116510. [ISSN 0165-9936, IF2021 = 14.908, Q1], <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116510>
14. STRHÁRSKY, Tomáš and PINDJAKOVÁ, Dominika and KOS, Jiří and VRÁBLOVÁ, Lucia and MICHNOVÁ, Hana and HOŠEK, Jan and STRAKOVÁ, Nicol and LELÁKOVÁ, Veronika and LEVÁ, Lenka and KAVANOVÁ, Lenka and ORAVEC, Michal and ČÍŽEK, Alois and JAMPÍLEK, Josef. Study of Biological Activities and ADMET-Related Properties of Novel Chlorinated N-arylcinnamamides. *Int. J. Mol. Sci.* 2022, vol. 23, no. 6, 3159, <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/6/3159/pdf>. [ISSN 1422-0067, IF2021 = 6.208, Q1]
15. JAMPÍLEK, Josef and KRÁLOVÁ, Katarína. Advances in Nanostructures for Antimicrobial Therapy. *Materials* 2022, vol. 15, no. 7, 2388, <https://www.mdpi.com/1996-1944/15/7/2388/pdf>. [ISSN 1996-1944, IF2021 = 3.748, Q1]
16. ANDRUCH, Vasil and VARFALVYOVÁ, Alica and HALKO, Radoslav and JATKOWSKA, Natalia and PŁOTKA-WASYLKA, J. Application of Deep Eutectic Solvents in Bioanalysis. *Trends Anal. Chem.* 2022, 154, 116660. [ISSN 0165-9936, IF2021 = 14.908, Q1], <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116510>
17. JAMPÍLEK, Josef. Drug Repurposing to Overcome Microbial Resistance. *Drug Discov. Today* 2022, vol. 27, no. 7, 2028-2041. [ISSN 1359-6446, IF2021 = 8.369, Q1], <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2022.05.006>
18. JAMPÍLEK, Josef. Novel Avenues for Identification of New Antifungal Drugs and Current Challenges. *Expert Opin. Drug Dis.* 2022, vol. 17, no. 9, 949-968. [ISSN 1746-0441, IF2021 = 7.05, Q1], <https://doi.org/10.1080/17460441.2022.2097659>
19. PISÁRČIK, Martin and LUKÁČ, Miloš and JAMPÍLEK, Josef and PAŠKOVÁ, Ľudmila and BILKA, František and BILKOVÁ, Andrea and DEVÍNSKY, Ferdinand and VALKO, Jakub and HORÁKOVÁ, Renáta and HOŠEK, Jan and BŘEZINA, Matěj and OPRAVIL, Tomáš. Controlled Synthesis of Gemini Surfactant-Capped Gold Nanoparticles. Gemini Structure-Nanoparticle Properties Relationship Study. *J. Mol. Liq.* 2022, vol. 365, 120210. [ISSN 0167-7322, IF2021 = 6.633, Q1], <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.120210>
20. STRHÁRSKY, Tomáš and PINDJAKOVÁ, Dominika and KOS, Jiří and VRÁBLOVÁ, Lucia and ŠMAK, Pavel and MICHNOVÁ, Hana and GONĚC, Tomáš and HOŠEK, Jan and ORAVEC, Michal and JENDRZEJEWSKA, Izabela and ČÍŽEK, Alois and JAMPÍLEK, Josef. Trifluoromethylcinnamamide Michael Acceptors for Treatment of Resistant Bacterial Infections. *Int. J. Mol. Sci.* 2022, vol. 23, no. 23, 15090, [ISSN 1422-0067, IF2021 = 6.208, Q1], <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/23/15090/pdf>.
21. JAMPÍLEK, Josef and KRÁLOVÁ, Katarína. Insights into Lipid-Based Delivery Nanosystems of Protein-Tyrosine Kinase Inhibitors for Cancer Therapy. *Pharmaceutics* 2022, vol. 14, no. 12, 2706, [ISSN 1999-4923, IF2021 = 6.525, Q1], <https://www.mdpi.com/1999-4923/14/12/2706/pdf>.

### Uplatnenie výsledkov projektu

Projekt APVV-17-0373 bol koncipovaný ako projekt aplikovaného výskumu a tak boli stanovené aj jeho ciele (aj keď sa prirodzene nevyhol z časti ani postupom charakteristickým pre základný výskum):

- Prenos výsledkov základného výskumu do praxe
- Testovať využitie zlúčenín so synergickým antimikrobiálnym a protizápalovým účinkom
- Pripraviť a otestovať také malé molekuly a nanočastice, ktoré by boli vhodné pre liečbu niektorých ochorení kostí a kĺbov
- Vytvoriť preparát s biologickou aktivitou, špecificky cielený na vyššie uvedené tkanivá (s dominantným regeneračným efektom na kĺbnu chrupavku)
- Vytvoriť preparát, ktorý zároveň v mieste aplikácie ostáva v kontakte s cieľovým tkanivom, čím je využitá jeho maximálna efektívnosť
- Snaha vytvoriť preparát s biologickou aktivitou, s dobrou afinitou ku kostnému tkanivu, prienikom cez kostné tkanivo, s dostatočnou retenciou v mieste podania (za predpokladu minimálnych nežiadúcich účinkov a nízkej toxicity pre organizmus)
- Zvýšiť kvalitu života dotknutých pacientov

Nepochybnou pridanou hodnotou projektu sú okrem vedeckých publikácií, ktorých počet vysoko prekročil plánované počty, aj patentové prihlášky a snaha o využitie výsledkov výskumu v praxi. Už pri podávaní žiadosti o financovanie projektu v r. 2017 sme uzavreli zmluvu o budúcej zmluve s firmou Regenmed, spol. s r.o., ktorá bola ochotná stať sa realizátorom výsledkov tohto projektu v prípade, že výsledky budú zodpovedať jej

požiadavkám. Je dôležité uviesť, že v súčasnosti prebiehajú rokovania medzi Univerzitou Komenského a touto firmou (UK je vlastníkom patentových prihlášok PP 57-2022, 25/05/2022 týkajúcou sa zlatých nanočastíc dispergovaných a stabilizovaných kationovými gemini tenzidmi a PP 120-2022, 06/12/2022 týkajúcou sa strieborných nanočastíc taktiež dispergovaných a stabilizovaných kationovými gemini tenzidmi).

V oboch prípadoch ide o kombináciu malých molekúl a nanočastíc pripravených v našich laboratóriách so synergickým antimikrobiálnym a antiflogistickým účinkom. Pri testoch biologických účinkov in vitro sa ukázalo, že tieto prípravky by mohli byť potenciálne vhodné pre liečbu niektorých ochorení kostí a kĺbov (napr. takto dispergované nanočastice zlata majú okrem protizápalového účinku aj chondroprotektívnu aktivitu, tj sú schopné aktivovať proliferáciu chondrocytov a reparovať zápalom a degeneráciou postihnuté kĺbové chrupavky). Žiaľ v dôsledku pandémie covid-19 a teda prerušenia laboratórnych testov, nemohli prebehnúť testy in vivo, ktoré boli taktiež plánované. Aj vzhľadom na pomerne jednoduchú prípravu je uplatnenie týchto výsledkov projektu pravdepodobné.

Pre liečbu degeneratívnych ochorení kostí, kĺbov a chrupaviek sú veľmi zaujímavé niektoré deriváty fosforu (najmä pri liečbe osteoporózy). Túto oblasť využitia sme sledovali v oblasti fosfániových, fosfóliových a dialkylfosfocholínových typov malých molekúl, ktoré bránia deštrukcii kostí pri ich tzv. remodelingu a udržiavajú rovnováhu medzi osteoblastmi, ktoré kosti tvoria a osteoklastmi, ktoré kostnú hmotu degradujú. Tieto malé molekuly sme pripravili a testovali taktiež v našich laboratóriách.

Príkladom využitia výsledkov výskumu v celkom novej oblasti uplatnenia je príprava, čistenie a testovanie amfifilného oligopeptidu Palm-CCCCGGG-(pS)-RGD obsahujúcej v jednej molekule lipidickú časť, časť schopnú vyvolať zosieťovanie nanovlákiek molekuly, tiež hydrofilnú časť molekuly, ktorá sa viaže s iónmi vápnika a vysoko polárnu „hlavu“, ktorá slúži pre bunkovú adhéziu. Celá štruktúra molekuly je zdrojom jej samoagregácie (selfassembling). Ak sa táto molekula spojí s molekulami nesteroidných antiflogistík NASD (v našom prípade to bol ibuprofen, diklofenak) tak jej liečebný účinok na kosti a kĺby sa potencuje aj o súčasné tlmenie bolesti. Táto molekula a jej deriváty patria medzi „multitarget drugs“.

Moderný trend „drug repurposing“, teda opätovné využívanie liečiv na iné indikácie sa dá využiť s derivátmi kyseliny škoricovej, ktoré, ako sme zistili, majú výrazný protizápalový účinok, dokonca na úrovni glukokortikoidov.

Pridaná hodnota a teda uplatnenie výsledkov celého projektu spočíva v unikátnej kombinácii tzv. „multitarget drugs“, liečiv s viaccielovým účinkom, ktoré ovplyvňujú napr. zápalové procesy pôsobením proti patologickým remodeláciám kĺbových chrupaviek a zároveň antimikrobiálnym účinkom. Potenciál pripravených zlúčenín bude zosilnený spracovaním do farmakologicky aktívnych submikrónových formulácií podporujúcich uvedené účinky aktívnych zlúčenín popisovaných v našich odborných publikáciách.

Ako ďalšiu pridanú hodnotu a uplatnenie výsledkov projektu možno uviesť aj výchovu novej generácie vedeckých pracovníkov prostredníctvom doktorandského štúdia, magisterského štúdia pri vypracovávaní diplomových, rigorózných a doktorandských prác riešených študentmi našich fakúlt ale aj odborný rast samotných mladých riešiteľov projektu.

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

Okrem in vivo testov konštatujeme, že všetky ciele projektu boli splnené a v niektorých prípadoch (publikácie, prihlášky patentov) aj prekročené. Za významné výsledky výskumu pokladáme:

- súčasné rokovanie o realizácii výsledkov výskumu s firmou Regenmed spol. s r.o.;
- chromatografické vyčistenie amfifilného oligopeptidu Palm-CCCCGGG-(pS)-RGD a jeho spojenie s NASD;
- nový nami navrhnutý 3D in vitro model reumatoidnej artritídy;
- fyzikálnu charakterizáciu a stanovenie tvaru zlatých nanočastíc stabilizovaných gemini tenzidmi a zistenie závislosti biologickej aktivity od štruktúry molekúl;
- zistenie protizápalovej a chondroprotektívnej aktivity nanočastíc zlata, striebra dispergovaných a stabilizovaných kationovými gemini tenzidmi;
- nanosystémy, ktoré sú výsledkom riešenia projektu sú sľubným základom pre vývoj liečiva na terapiu zápalových a degeneratívnych ochorení kostí, kĺbov a chrupaviek.
- zistenie unikátneho duálneho účinku patentovaných nansystémov;

- dve patentové prihlášky;
- zaujímavý a potešujúci výsledok výskumu v tejto oblasti reprezentovaný patentovou prihláškou týkajúcou sa nanočastíc zlata (PP-57-2022) sa zároveň stal víťazom súťaže "Transfer technológií na Slovensku 2022" v kategórii "Inovácie" tradične vyhlasovanej Centrom vedecko-technických informácií SR. Cena udelená 18.10. 2022.

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

Beyond to the in vivo tests, we note that all project goals were met and in some cases (papers, patent applications) even exceeded. We consider the following to be significant research results worthwhile to mention:

- current negotiations on the implementation of research results with the company Regenmed, Ltd.;
- chromatographic purification of the amphiphilic oligopeptide Palm-CCCCGGG-(pS)-RGD and its binding with NASD;
- a new 3D in vitro model of rheumatoid arthritis designed by us;
- physical characterization and determination of the shape of gold nanoparticles stabilized by gemini surfactants and determination of the relationship between biological activity on the molecular structure;
- determination of anti-inflammatory and chondroprotective activity of gold, silver nanoparticles dispersed and stabilized by cationic gemini surfactants;
- the nanosystems that are the result of the project solving are a promising basis for the development of drugs for the therapy of inflammatory and degenerative diseases of bones, joints and cartilage.
- discovery of the unique dual effect of patented nanosystems;
- two patent applications;
- an interesting and gratifying research result, research in this area represented by a patent application concerning gold nanoparticles (PP-57-2022) also became the winner of the competition "Transfer of technologies in Slovakia 2022" in the category "Innovations" traditionally announced by the Center for Scientific and Technical Information of the Slovak Republic. Awarded on 18.10. 2022.