



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-18-0284

Multifunkčné inhibítory poly/peptidov spojených s Alzheimerovou chorobou

Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Zuzana Gažová, DrSc.**

Príjemca **Ústav experimentálnej fyziky SAV, v. v. i.**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Oddelenie biofyziky, Ústav experimentálnej fyziky SAV, v.v.i.

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

Celkovo boli výsledky uverejnené v 21 publikáciách, ktoré sú evidované v databázach WoS a Scopus. Za najvýznamnejšie publikácie sme vybrali tieto:

1. GANCAR, Miroslav – KURIN, Elena – BEDNARIKOVÁ, Zuzana – MAREK, Jozef – MUCAJI, Pavel – NAGY, Milan – GAZOVÁ, Zuzana. Green tea leaf constituents inhibit the formation of lysozyme amyloid aggregates: An effect of mutual interactions, In International Journal of Biological Macromolecules, 2023, vol. 242, no. 2, art. No. 124856. (2023: 8.2 – IF, 1.19 – SJR, Q1 – SJR, karentované – CCC). (2023 – Current Contents). ISSN 01418130, 18790003 doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124856> Typ: ADCA

2. TVRDOŇOVÁ, Monika – BOROVSÁ, Barbora – SALAYOVÁ, Aneta – RONČÁK, Róbert – MICHALČIN, Peter – BEDNARIKOVÁ, Zuzana – GAŽOVÁ, Zuzana. Design and synthesis of novel carbohydrate-amino acid hybrids and their antioxidant and anti- β -amyloid aggregation activity. In Bioorganic Chemistry, 2023, vol. 137, art. No. 106636. (2023: 5.1 – IF, 0.76 – SJR, Q1 – SJR, karentované – CCC). (2023 – Current Contents). ISSN 00452068, 10902120, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2023.106636> Typ: ADCA

3. ANTOŠOVÁ, Andrea – GANČÁR, Miroslav – BEDNARIKOVÁ, Zuzana – MAREK, Jozef – BYSTRENOVÁ, Eva – GAŽOVÁ, Zuzana. The influence of cations on alpha-lactalbumin amyloid aggregation. In Journal of Biological Inorganic Chemistry, 2022, vol. 27, no. 7, p.679-689. (2021: 3.862 – IF, Q1 – JCR, 0.620 – SJR, Q1 – SJR, karentované – CCC). (2022 – Current Contents, WOS, SCOPUS). ISSN 0949-8257. doi: <https://doi.org/10.1007/s00775-022-01962-3> Typ: ADCA

4. ANTOŠOVÁ, Andrea – GANČÁR, Miroslav – BEDNÁRIKOVÁ, Zuzana – MAREK, Jozef – ZAHN, D.R.T. – DUTZ, Silvio – GAŽOVÁ, Zuzana. Surface-modified magnetite nanoparticles affect lysozyme amyloid fibrillization. In *Biochimica et Biophysica Acta – General Subjects*, 2021, vol. 1865, no. 9, art. no. 129941. (2020: 3.770 – IF, Q2 – JCR, 1.204 – SJR, Q1 – SJR, karentované – CCC). (2021 – Current Contents, WOS, SCOPUS). ISSN 0304-4165. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2021.129941> Typ: ADCA

5. BEDNÁRIKOVÁ, Zuzana – GANČÁR, Miroslav – WANG, Rui – ZHENG, Lulu – TANG, Yun – LUO, Yating – HUANG, Yan – BOROVSÁ, Barbora – MA, Lei – GAŽOVÁ, Zuzana. Extracts from Chinese herbs with anti-amyloid and neuroprotective activities. In *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, vol. 179, p. 475-484. (2020: 6.953 – IF, Q1 – JCR, 1.140 – SJR, Q1 – SJR, karentované – CCC). (2021 – Current Contents, WOS, SCOPUS). ISSN 0141-8130. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.03.013> Typ: ADCA

6. GAO, Wen – JIN, Li – LIU, Chunhong – ZHANG, Ning – ZHANG, Ruiyan – BEDNÁRIKOVÁ, Zuzana – GAŽOVÁ, Zuzana – BHUNIA, Anirban – SIEBERT, Hans-Christian – DONG, Huijun. Inhibition behavior of Sennoside A and Sennoside C on amyloid fibrillation of human lysozyme and its possible mechanism. In *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, vol. 178, p. 424-433. (2020: 6.953 – IF, Q1 – JCR, 1.140 – SJR, Q1 – SJR, karentované – CCC). (2021 – Current Contents, WOS, SCOPUS). ISSN 0141-8130. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.02.213> Typ: ADCA

7. NEPOVIMOVA, Eugenie – SVOBODOVÁ, Lucie – DOLEŽAL, Rafael – HEPNAROVÁ, Vendula – JUNOVÁ, Lucie – JUN, Daniel – KORABEČNÝ, Jan – KUČERA, Tomáš – GAŽOVÁ, Zuzana – MOTYKOVÁ, Katarína – KUBACKOVÁ, Jana – BEDNÁRIKOVÁ, Zuzana – JANOČKOVÁ, Jana – JESUS, Catarina – CORTES, Luisa – PINA, Joao – ROSTOHAR, Danijela – SERPA, Carlos – SOUKUP, Ondrej – AITKEN, Laura – HUGGES, Rebecca E. – MUSÍLEK, Kamil – MÚČKOVÁ, Ľubica – JOST, Petr – CHVOJKOVÁ, Markéta – VALES, Karel – VALIS, Martin – CHRIENOVÁ, Žofia – CHALUPOVÁ, Katarína – KUČA, Kamil. Tacrine – Benzothiazoles: Novel class of potential multitarget anti-Alzheimers drugs dealing with cholinergic, amyloid and mitochondrial systems. In *Bioorganic chemistry*, 2021, vol. 107, art. no. 104596. (2020: 5.275 – IF, Q1 – JCR, 0.617 – SJR, Q2 – SJR, karentované – CCC). (2021 – Current Contents). ISSN 0045-2068. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104596> Typ: ADCA

8. BARBALINARDO, Marianna – ANTOŠOVÁ, Andrea – GAMBUCCI, Marta – BEDNÁRIKOVÁ, Zuzana – ALBONETTI, Cristiano – VALLE, Francesco – SASSI, Paola – LATTERINI, Loredana – GAŽOVÁ, Zuzana – BYSTRENOVÁ, Eva. Effect of metallic nanoparticles on amyloid fibrils and their influence to neural cell toxicity. In *Nano Research*, 2020, vol. 13, no. 4, p. 1081-1089. (2019: 8.183 – IF, Q1 – JCR, 2.518 – SJR, Q1 – SJR, karentované – CCC). (2020 – Current Contents). ISSN 1998-0124. doi: <https://doi.org/10.1007/s12274-020-2748-2> Typ: ADCA

9. BEDNÁRIKOVÁ, Zuzana – GAŽOVÁ, Zuzana – VALLE, Francesco – BYSTRENOVÁ, Eva. Atomic force microscopy as an imaging tool to study the bio/nonbio complexes. In *Journal of Microscopy*, 2020, vol. 280, no. 3, p. 241-251. (2019: 1.575 – IF, Q3 – JCR, 0.544 – SJR, Q2 – SJR, karentované – CCC). (2020 – Current Contents). ISSN 0022-2720. doi: <https://doi.org/10.1111/jmi.12936> Typ: ADCA

10. GANČÁR, Miroslav – KURIN, Elena – BEDNÁRIKOVÁ, Zuzana – MAREK, Jozef – MUCAJI, Pavel – NAGY, Milan – GAŽOVÁ, Zuzana. Amyloid Aggregation of Insulin: An Interaction Study of Green Tea Constituents. In *Scientific Reports*, 2020, vol. 10, no. 1, art. no. 9115. (2019: 3.998 – IF, Q1 – JCR, 1.341 – SJR, Q1 – SJR, karentované – CCC). (2020 – Current Contents, WOS, SCOPUS). ISSN 2045-2322. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66033-6> Typ: ADCA

11. GANČÁR, Miroslav – HO, Kiet – MOHID, Sk. Abdul – THAI, Nguyen Quoc –

BEDNÁRIKOVÁ, Zuzana – NGUYEN, Hoang, Linh – BHUNIA, Anirban – NEPOVIMOVA, Eugenie – LI, Mai Suan – GAŽOVÁ, Zuzana. 7-Methoxytacrine and 2-Aminobenzothiazole Heterodimers: Structure-Mechanism Relationship of Amyloid Inhibitors Based on Rational Design. In ACS Chemical Neuroscience, 2020, vol. 11, no. 5, p. 715-729. (2019: 4.486 – IF, Q1 – JCR, 1.289 – SJR, Q1 – SJR). (2020 – WOS, SCOPUS). ISSN 1948-7193. doi: <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.9b00419> Typ: ADMA

12. JIN, Li – GAO, Wen – ZHANG, Ning – MUKHERJEE, Shruti – ZHANG, Ruiyan – DONG, Huijun – BHUNIA, Anirban – BEDNÁRIKOVÁ, Zuzana – GAŽOVÁ, Zuzana – LIU, Min – HAN, Jun – SIEBERT, Hans-Christian. Investigating the inhibitory effects of entacapone on amyloid fibril formation of human lysozyme. In International Journal of Biological Macromolecules, 2020, vol. 161, p. 1393-1404. (2019: 5.162 – IF, Q1 – JCR, 0.972 – SJR, Q1 – SJR, karentované – CCC). (2020 – Current Contents, WOS, SCOPUS). ISSN 0141-8130. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.296> Typ: ADCA

13. MARTINS, Pedro M. – NAVARRO, Susanna – PINTO, Maria F. – SÁRKÁNY, Zsuzsa – FIGUEIREDO, Francisco – PEREIRA, Pedro José Barbosa – PINHEIRO, Francisca – BEDNÁRIKOVÁ, Zuzana – BURDUKIEWICZ, Michal – GALZITSKAYA, Oxana V. – GAŽOVÁ, Zuzana – GOMES, Cláudio M. – PASTORE, Annalisa – SEPELL, Louise C. – ŠKRABANA, Rostislav – SMIRNOVAS, Vytautas – ZIAUNYS, Mantas – OTZEN, Daniel E. – VENTURA, Salvador – MACEDO-RIBEIRO, Sandra. MIRRAGGE – Minimum information required for reproducible AGGREGATION experiments. In Frontiers in Molecular Neuroscience, 2020, vol. 13, art. no. 582488. (2019: 4.057 – IF, Q2 – JCR, 1.851 – SJR, Q1 – SJR). ISSN 1662-5099. doi: <https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.582488> Typ: ADMA

14. PARIARI, Ranit – GHOSH, Baijayanti – BEDNÁRIKOVÁ, Zuzana – VARNAVA, Kyriakos Gabriel – RATHA, Bhisma N. – RAHA, Sreyan – BHATTACHARYYA, Dipita – GAŽOVÁ, Zuzana – SAROJINI, Vijayalekshmi – MANDAL, Atin K. – BHUNIA, Anirban. Targeted inhibition of amyloidogenesis using a non-toxic, serum stable strategically designed cyclic peptide with therapeutic implications. In Biochimica et Biophysica Acta : proteins and proteomics, 2020, vol. 1868, no. 5, art. no. 140378. (2019: 2.371 – IF, Q3 – JCR, 1.037 – SJR, Q1 – SJR, karentované – CCC). (2020 – Current Contents, WOS, SCOPUS). ISSN 1570-9639. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2020.140378> Typ: ADCA

Uplatnenie výsledkov projektu

Riešenie projektu prinieslo nové výsledky v oblasti základného výskumu. Rozširujú základné poznanie o štruktúrnych zmenách poly/peptidov spojených s patogenézou Alzheimerovej choroby (ACH) a ich inhibícií pomocou multifunkčných inhibítorov (MTDL). Toto poznanie umožnilo nájsť látky (malé molekuly, nanočastice), ktoré majú terapeutický potenciál pre liečbu Alzheimerovej choroby. Získané poznatky poskytli nové dôkazy o využití malých molekúl schopných súčasne ovplyvniť niekoľko cieľových poly/peptidov spojených s patogenézou ACH ako novej stratégie pre liečbu tohto ochorenia. Výsledky projektu môžu byť využité farmaceutickými spoločnosťami firmami pre ďalší vývoj látok, o čo sa budeme v ďalšom období usilovať. Projekt a jeho výstupy pomohli výskumnému tímu pri zvýšení jeho konkurencieschopnosti v národnom aj medzinárodnom priestore.

Riešenie tohto projektu nám umožnilo zapojenie sa do medzinárodnej spolupráce s mnohými výskumnými skupinami z medzinárodne uznávaných inštitúcií (CNR Taliansko, East China University v Šanghaji, National Taiwan University, Národný ústav mentálneho zdravia v ČR, Univerzita v Hradci Králové, Bose Institute v Kalkate, University v Porto, Poľská akadémia vied a ďalšie). Podieľali sme sa na príprave projektov v rámci výziev: m-ERA-Net 2021 (GORDION - Light-controlled dissociation of bacterial amyloids), HORIZON-EIC-2021-PATHFINDEROPEN-01 (LEAPSynPD - Inhibition of α -Synuclein Aggregation by Late Embryogenesis Abundant Proteins: A New Approach for Parkinson's Disease Treatment), COST (ML4NGP - Non-globular proteins in machine learning era). Na základe výsledkov tohto projektu boli úspešne podané projekty v rámci národných výziev APVV, VEGA, MAD: Viaczložkové ligandy ako modulátory cieľov spojených s patogenézou Alzheimerovej choroby (APVV-22-0598), Objasnenie počiatkových štádií amyloidnej agregácie proteínov - od mechanizmu k terapii (VEGA 02/0176/21), Azobenzénové deriváty ako potenciálne terapeutiká pre Alzheimerovu chorobu (MAD SAS-PAS 2023) a ďalšie.

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

Vedecké ciele projektu boli splnené v plnom rozsahu. Výsledky projektu sú spracované v 21 publikáciách v zahraničných karentovaných časopisoch, 34 konferenčných príspevkoch a sú obsahom piatich dizertačných prác. Vedecká kvalita a akceptácia výstupov a výsledkov projektu je dokumentovaná doterajšími 159 (WOS) SCI citáciami na práce vytvorené v rámci riešenia projektu.

Rozšírili sme postupy a protokoly na prípravu amyloidných agregátov z ďalších poly/peptidov, a to z izoform A β peptidu (A β 40, A β 42 a A β 11-42) a globulárneho proteínu α -laktalbumínu. Stanovili sme experimentálne podmienky vhodné na prípravu amyloidných fibril spomínaných proteínov a podrobne sme preštudovali kinetiku ich tvorby. Naše poznatky týkajúce sa amyloidnej agregácie štruktúrne rozdielnych proteínov a metódy atómovej silovej mikroskopie sme opublikovali v spolupráci s pracoviskami venujúcimi sa tejto problematike vo viacerých komplexných prácach, ktoré sa venujú pochopeniu mechanizmov a reprodukovateľnosti tvorby amyloidných agregátov proteínov. Úspešne sme identifikovali niekoľko zlúčenín modulujúcich aktivitu rôznych cieľov spojených s patológiou Alzheimerovej choroby (inhibícia tvorby A β fibril, deštrukcia A β fibril, inhibícia enzýmov BACE1, acetylcholínových a NMDA receptorov). Testovali sme takrín-benzotiazolové hybridné molekuly, deriváty kurkumínu, prírodné extrakty z čínskych bylín a zeleného čaju, hypericín, deriváty bis-kumarínu a mnohé ďalšie, ako aj nanočastice. Na základe týchto štúdií sme identifikovali niekoľko štruktúrnych motívov zlúčenín, ktoré zohrávajú významnú úlohu pre ich inhibičný účinok na sledované cieľové molekuly. Zistili sme tiež, ktoré štruktúrne prvky, naopak, inhibičný potenciál znižujú (napr. indazolový fragment v kombinácii s chinazolínom a metylpyridínom). Riešenie projektu nám umožnilo získať rozsiahlu knižnicu rôznych zlúčenín alebo ich štruktúrnych fragmentov, ktoré sú schopné efektívne a naraz atakovať vybrané ciele spojené s ACH. Táto databáza inhibítorov nám poskytla základ pre selekciu najúčinnějších látok vhodných na terapiu, resp. moduláciu ACH. Okrem toho umožnila dizajn nových, viac efektívnejších látok s MTDL účinkom.

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

The scientific objectives of the project were met in full. The project results are processed in 21 publications in foreign peer-reviewed journals, 34 conference contributions and are part of five dissertation theses. The scientific quality and acceptance of project outputs and results are documented by 159 (WOS) SCI citations.

We extended the procedures and protocols for the preparation of amyloid aggregates from various poly/peptides, namely the isoforms of the A β peptide (A β 40, A β 42 and A β 11-42) and the globular protein α -lactalbumin. We determined experimental conditions suitable for the preparation of amyloid fibrils of the mentioned proteins and studied the kinetics of their formation in detail. We have compiled our knowledge and experience regarding amyloid aggregation of structurally different proteins and atomic force microscopy in cooperation with research teams in this field in several complex papers devoted to understanding the mechanisms of amyloid protein aggregates formation and reproducibility of obtained data. We have successfully identified several compounds modulating the activity of various targets associated with the pathology of Alzheimer's disease (AD) (inhibition of A β fibril formation, A β fibrils destruction, inhibition of BACE1 enzymes, acetylcholine and NMDA receptors). We tested tacrine-benzothiazole hybrid molecules, natural extracts from Chinese herbs and green tea, hypericin, bis-coumarin derivatives and many other compounds or nanoparticles. Based on these studies, we identified several structural motifs of the compounds carrying the inhibitory effect on the targeted target molecules. We also found out which structural elements, on the contrary, reduce the inhibitory potential (e.g. indazole fragment in combination with quinazoline and methylpyridine). Implementing the project aims allowed us to obtain an extensive library of various compounds or their structural components that effectively and simultaneously attack selected targets associated with AD. This database of inhibitors provides a basis for choosing the most effective substances suitable for AD therapy or modulation of AD-related processes. In addition, it enabled the design of new, more effective substances with MTDL effect.