



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-19-0189

Aktivácia liečiv proti tuberkulóze

Zodpovedný riešiteľ **doc. RNDr. Jana Korduláková, PhD.**

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

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Katedra biochémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. Laboratory of Structural Biology of Metabolic Enzymes and Complexes; Laboratory of Microbial Individuality and Infection, Pasteur Institute, Paríž, Francúzsko
2. The Center for Infection and Immunity of Lille, Pasteur Institute, Lille, Francúzsko
3. The Institute of Pharmacology and Structural Biology, Toulouse, Francúzsko
4. Mycobacteria Research Laboratories, Department of Microbiology, Immunology and Pathology, Colorado State University, Fort Collins, USA
5. School of Medical Sciences, University of Auckland, Auckland, Nový Zéland
6. Department of Biosciences, Oslo University Hospital, Oslo, Nórsko
7. Institute of Infectious Disease and Molecular Medicine, University of Cape Town, Južná Afrika
8. Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Karlova Univerzita, Hradec Králové, Česko
9. Department of Biology and Biotechnology "Lazzaro Spallanzani", University of Pavia, Pavia, Taliansko
10. Department of Microbiology, University of Zaragoza, Zaragoza, Španielsko
11. Paul Sabatier University, Toulouse, Francúzsko
12. Bakh Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moskva, Ruská federácia

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

1.

Monakhova, N., Korduláková, J., Vocat, A., Egorova, A., Lepioshkin, A., Salina, E. G., Nosek, J., Repková, E., Zemanová, J., Jurdáková, H., Górová, R., Roh, J., Degiacomi, G., Sammartino, J. C., Pasca, M. R., Cole, S. T., Mikušová, K., Makarov, V. (2021) „Design and Synthesis of Pyrano[3,2-b]indolones Showing Antimycobacterial Activity.“ ACS Infect Dis. 7:88-100.

doi: 10.1021/acsinfecdis.0c00622

[Počet citací vo WoS: 7]

2.

Pflégr, V.; Horváth, L.; Stolaříková, J.; Pál, A.; Korduláková, J.; Bősze, S.; Vinšová, J.; and Krátký, M. (2021) Design and synthesis of 2-(2-isonicotinoylhydrazineylidene)propanamides as InhA inhibitors with high antitubercular activity. *Eur J of Med Chem* 223: 113668. doi: 10.1016/j.ejmech.2021.113668.

[Počet citací vo WoS: 5]

3.

Pflégr, V.; Maixnerová, J.; Stolaříková, J.; Pál, A.; Korduláková, J.; Trejtnar, F.; Vinšová, J.; and Krátký, M. (2021) Design and Synthesis of Highly Active Antimycobacterial Mutual Esters of 2-(2-Isonicotinoylhydrazineylidene)propanoic Acid. *Pharmaceuticals* 14(12), 1302. doi: 10.3390/ph14121302.

[Počet citací vo WoS: 2]

4.

Madacki, J.; Jackson, M.; Korduláková, J. (2021) Mycobacterial epoxide hydrolase EphD is inhibited by urea and thiourea derivatives. *Int J Mol Sci* 22(6), 2884. doi: 10.3390/ijms22062884.

[Počet citací vo WoS: 4]

5.

Bouz, G.; Slechta, P.; Jand'ourek, O.; Konecna, K.; Paterova, P.; Barta, P.; Novak, M.; Kucera, R.; Dal, N. K.; Fenaroli, F.; Zemanova, J.; Forbak, M.; Kordulakova, J.; Pavlis, O.; Kubickova, P.; Dolezal, M.; Zitko, J., Hybridization Approach Toward Novel Antituberculars: Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Compounds Combining Pyrazinamide and 4-Aminosalicylic Acid. *ACS Infect Dis* 2023, 9 (1), 79-96.

doi: 10.1021/acsinfecdis.2c00433

[Počet citací vo WoS: 1]

6.

Salina, E. G.; Postiglione, U.; Chiarelli, L. R.; Recchia, D.; Zahorszka, M.; Lepioshkin, A.; Monakhova, N.; Pal, A.; Porta, A.; Zanoni, G.; Kordulakova, J.; Kazakova, E.; Sassera, D.; Pasca, M. R.; Makarov, V.; Degiacomi, G., A New Benzothiazolthiazolidine Derivative, 11726172, Is Active In Vitro, In Vivo, and against Nonreplicating Cells of Mycobacterium tuberculosis. *mSphere* 2022, 7 (6), e0036922.

doi: 10.1128/msphere.00369-22

7.

Ezquerria-Aznarez, J. M.; Degiacomi, G.; Gasparovic, H.; Stelitano, G.; Sammartino, J. C.; Kordulakova, J.; Governa, P.; Manetti, F.; Pasca, M. R.; Chiarelli, L. R.; Ramon-Garcia, S., The Veterinary Anti-Parasitic Selamectin Is a Novel Inhibitor of the Mycobacterium tuberculosis DprE1 Enzyme. *Int J Mol Sci* 2022, 23 (2).

doi: 10.3390/ijms23020771

[Počet citací vo WoS: 7]

8.

Tomas, N.; Leonelli, D.; Campoy, M.; Marthey, S.; Le, N. H.; Rengel, D.; Martin, V.; Pal, A.; Kordulakova, J.; Eynard, N.; Guillet, V.; Mourey, L.; Daffe, M.; Lemassu, A.; Andre, G.; Marrakchi, H., Bioinformatic Mining and Structure-Activity Profiling of Baeyer-Villiger Monooxygenases from Mycobacterium tuberculosis. *mSphere* 2022, 7 (2), e0048221.

doi: 10.1128/msphere.00482-21

[Počet citací vo WoS: 2]

9.

Pflégr, V., Stolaříková, J., Pál, A., Korduláková, J., Krátký, M. Novel pyrimidine-1,3,4-oxadiazole hybrids and their precursors as potential antimycobacterial agents. *Future Med Chem.* 2023 15(12), 1049-1067.

doi: 10.4155/fmc-2023-0096

10.

Nawrot, D. E.; Bouz, G.; Jandourek, O.; Konecna, K.; Paterova, P.; Barta, P.; Novak, M.; Kucera, R.; Zemanova, J.; Forbak, M.; Kordulakova, J.; Pavlis, O.; Kubickova, P.; Dolezal, M.; Zitko, J., Antimycobacterial pyridine carboxamides: From design to in vivo activity. *Eur J Med Chem* 2023, 258, 115617.

doi: 10.1016/j.ejmech.2023.115617

[Počet citácií vo WoS: 2]

11.

Faïon, L.; Djaout, K.; Pintiala, C.; Piveteau, C.; Leroux, F.; Biela, A.; Slupek, S.; Antoine, R.; Záhorszská, M.; Cantrelle, F. X.; Hanouille, X.; Korduláková, J.; Deprez, B.; Willand, N.; Baulard, A. R.; Flipo, M. Exploring the Antitubercular Activity of Anthranilic Acid Derivatives: From MabA (FabG1) Inhibition to Intrabacterial Acidification. *Pharmaceuticals* 2023, 16(3), 335.

doi: 10.3390/ph16030335

[Počet citácií vo WoS: 3]

12.

Chebaiki, M.; Delfourne, E.; Tamhaev, R.; Danoun, S.; Rodriguez, F.; Hoffmann, P.; Grosjean, E.; Goncalves, F.; Azéma-Despeyroux, J.; Pál, A.; Korduláková, J.; Preuilh, N.; Britton, S.; Constant, P.; Marrakchi, H.; Maveyraud, L.; Mourey, L.; Lherbet, C. Discovery of new diaryl ether inhibitors against *Mycobacterium tuberculosis* targeting the minor portal of InhA. *Eur J Med Chem* 2023, 259, 115646.

doi: 10.1016/j.ejmech.2023.115646

[Počet citácií vo WoS: 5]

13.

Mistretta, M.; Cimino, M.; Campagne, P.; Volant, S.; Kornobis, E.; Hebert, O.; Rochais, C.; Dallemagne, P.; Lecoutey, C.; Tisnerat, C.; Lepaillieur, A.; Ayotte, Y.; LaPlante, S. R.; Gangneux, N.; Zahorszka, M.; Kordulakova, J.; Vichier-Guerre, S.; Bonhomme, F.; Pokorny, L.; Albert, M.; Tinevez, J. Y.; Manina, G., Dynamic microfluidic single-cell screening identifies pheno-tuning compounds to potentiate tuberculosis therapy. *Nat Commun* 2024, 15 (1), 4175.

doi: 10.1038/s41467-024-48269-2

14.

Karabanovich, G.; Fabianova, V.; Vocat, A.; Dusek, J.; Valaskova, L.; Stolarikova, J.; Kitson, R. R. A.; Pavek, P.; Vavrova, K.; Djaout, K.; Mikusova, K.; Baulard, A. R.; Cole, S. T.; Kordulakova, J.; Roh, J. Both Nitro Groups Are Essential for High Antitubercular Activity of 3,5-Dinitrobenzylsulfanyl Tetrazoles and 1,3,4-Oxadiazoles through the Deazaflavin-Dependent Nitroreductase Activation Pathway. *J Med Chem* 2024, 67 (1), 81-109.

doi: 10.1021/acs.jmedchem.3c00925

[Počet citácií vo WoS: 1]

Uplatnenie výsledkov projektu

V rámci projektu bol charakterizovaný mechanizmus pôsobenia najnovšieho liečiva - pretomanidu, ktorý sa využíva na liečbu rezistentných foriem tuberkulózy, jeho účinnejších derivátov, ako aj látok, ktoré stimulujú jeho pôsobenie v myšacom modeli. Získané poznatky môžu byť v budúcnosti využiteľné v klinickej praxi.

-

Zároveň bol identifikovaný mechanizmus pôsobenia látok, ktoré ovplyvňujú alebo inhibujú syntézu mykolových kyselín, arabinogalaktánu alebo metabolizmus folátov, respektíve pôsobia doteraz neobvyklým mechanizmom, ako napr. prostredníctvom znižovania variability buniek v populácii. Tieto výsledky predstavujú dôležitý poznatok, ktorý je potrebný pre vývoj týchto zlúčenín ako nových antituberkulotík.

-

Charakterizácia enzýmov, ktoré sa zúčastňujú procesov, ktoré sú pre mykobaktérie

esenciálne alebo zohrávajú dôležitú úlohu v ich virulencii a ich chemická validácia potvrdzuje zasiahnutelnosť týchto proteínov účinnou terapiou.

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

V rámci riešenia projektu sme sa zamerali na biochemickú charakterizáciu proteínov EthA a Rv0565c, ktoré v bunkách mykobaktérií aktivujú antituberkulotikum etiónamid inhibujúci syntézu mykolových kyselín tvoriacich esenciálnu súčasť bunkovej steny mykobaktérií. Optimalizovali sme protokol na produkciu a izoláciu týchto proteínov a podieľali sme sa na vývoji metódy na monitorovanie ich aktivity. Odhalili sme, že monooxygenáza Rv0565c aktivuje aj antituberkulotikum tiacetazón. Ukázali sme, že syntézu mykolových kyselín inhibujú, respektíve ovplyvňujú, viaceré nové chemické zlúčeniny, ktorých štruktúra predstavuje perspektívny základ pre vývoj nových antituberkulotík. Charakterizovali sme mechanizmus pôsobenia najnovšieho antituberkulotika – pretomanidu. Dokázali sme, že toto liečivo v *M. tuberculosis* zasahuje viacero NADH/NADPH závislých procesov, ako napr. tvorbu keto-mykolových kyselín, syntézu donora arabinosylových zvyškov pre výstavbu arabinogalaktánu v bunkovej stene alebo elongáciu mykolových kyselín. Podieľali sme sa na objasnení mechanizmu pôsobenia látok, ktoré v myšacom modeli stimulujú efekt pretomanidu a majú potenciál zvrátiť rezistenciu na toto liečivo. Ukázali sme, že tieto stimulatory zosilňujú inhibičný efekt pretomanidu na výstavbu arabinogalaktánu. Identifikovali sme enzým EphD, ktorý katalyzuje tvorbu keto-mykolových kyselín a ukázali sme, že tento proteín je inhibovaný antituberkulotikami tiacetazónom, izoxylom a močovinovým derivátom AU1235. Odhalili sme, že produkcia keto-mykolových kyselín je inhibovaná aj pôsobením látky M06, ktorá znižuje variabilitu buniek *M. tuberculosis*, a tak zvyšuje ich citlivosť na vybrané antituberkulotiká.

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

In this project, we focused on the biochemical characterization of the proteins EthA and Rv0565c, which in mycobacterial cells activate the TB drug ethionamide. This drug inhibits the synthesis of mycolic acids, which are an essential part of the cell wall of mycobacteria. We optimized the protocol for the production and isolation of these proteins and participated in the development of a method for monitoring their activity. We found that monooxygenase Rv0565c also activates the TB drug thiacetazone. We have shown that the synthesis of mycolic acids is inhibited or affected by several new compounds, which could serve as a promising basis for the development of new antitubercular drugs. We have characterized the mechanism of action of the newest TB drug - pretomanid. We proved that this drug affects several NADH/NADPH-dependent processes in *M. tuberculosis*, such as formation of keto-mycolic acids, synthesis of the donor of arabinosyl residues for the biosynthesis of cell wall arabinogalactan or elongation of mycolic acids. We contributed to elucidating the mechanism of action of compounds that stimulate the effect of pretomanid in a mouse model and have the potential to reverse resistance to this drug. We have shown that these boosters enhance the inhibitory effect of pretomanid on the synthesis of arabinogalactan. We identified EphD as the enzyme that catalyzes the production of keto-mycolic acids and showed that this protein is inhibited by the TB drugs thiacetazone, isoxyl, and the urea derivative AU1235. We revealed that the production of keto-mycolic acids is also inhibited by the compound M06, which reduces the variability of *M. tuberculosis* cells and thus increases their sensitivity to specific antitubercular drugs.