

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2016/11



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	Z1-5458
Naslov projekta	Načrtovanje, sinteza in vrednotenje novih modulatorjev napetostno odvisnih natrijevih kanalov
Vodja projekta	28905 Nace Zidar
Tip projekta	Zt Podoktorski projekt - temeljni
Obseg raziskovalnih ur	3400
Cenovni razred	B
Trajanje projekta	08.2013 - 07.2015
Nosilna raziskovalna organizacija	787 Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	1 NARAVOSLOVJE 1.09 Farmacija
Družbeno-ekonomski cilj	
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	3 Medicinske vede 3.01 Temeljna medicina

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

Napetostno odvisni natrijevi kanali (Na_v kanali) so integralni membranski proteini, ki imajo ključno vlogo pri nastanku in prevajanju akcijskih potencialov po nevronih in drugih vzdražnih celicah. Sestavljeni so iz α -podenote, ki tvori poro selektivno za ione in je odgovorna za zaznavo napetostnih sprememb na membrani ter ene ali več pomožnih β -podenot. Do danes je bilo odkritih devet različnih α -podenot ($\text{Na}_v1.1$ – $\text{Na}_v1.9$), ki se razlikujejo po izražanju v

različnih celicah in tkivih. Povečana aktivnost Na_v kanalov se lahko odrazi v različnih nevrodegenerativnih obolenjih, kronični bolečini, epilepsiji, aritmijah in spastičnosti. Obstoječe učinkovine z delovanjem na Na_v kanale imajo relativno nizko aktivnost in so v veliki meri nespecifične, zato obstaja potreba po razvoju selektivnih modulatorjev različnih podtipov Na_v kanalov ki obetajo občutne terapevtske prednosti.

Alkaloidi iz karibskih spužev rodu *Agelas*, npr. klatrodin, oroidin, sceptrin in dibromosceptrin, izkazujejo delovanje na Na_v kanale preko zaviranja ionske prevodnosti oz. z vplivanjem na njihovo inaktivacijo. Poleg delovanja na Na_v kanale izkazujejo nekateri analogi oroidina tudi protibakterijsko delovanje.

V okviru raziskovalnega projekta smo načrtovali in sintetizirali več serij spojin – celokupno več kot 70 – in jih biološko ovrednotili na posameznih podtipih Na_v kanalov z elektrofiziološkimi testi. Kot izhodišče za načrtovanje sta nam sprva služila alkaloida klatrodina in oroidina, kasneje pa tudi spojine z aminobenzen-sulfonamidno strukturo identificirane s pregledom patentne literature. Najobetavnejše rezultate v prvih serijah spojin smo dosegli za podtip kanala $Na_v1.3$, kjer je imelo 5 spojin IC_{50} vrednosti manjše od $15 \mu M$. V nadaljevanju smo modulatorje napetostno odvisnih natrijevih kanalov iskali tudi s pomočjo virtualnega rešetanja na osnovi strukture liganda in strukture tarče. S farmacevtsko-kemijsko optimizacijo zgodnejših serij spojin smo pripravili serijo spojin z aminobenzen-sulfonamidno ali 4-amino-*N*-(sulfamoil)benzamidno strukturo. Najaktivnejša spojina je imela 20 nM IC_{50} vrednost na človeški kanal $Na_v1.3$, s čemer smo za kar 100-krat izboljšali aktivnosti v primerjavi z našimi zgodnejšimi serijami spojin. Spojina je izkazovala tudi zmerno selektivnost, saj ni bila aktivna na človeške kanale tipa $Na_v1.5$, podganje kanale tipa $Na_v1.4$ in mišje kanale tipa $Na_v1.6$. Z nadaljnjimi raziskavami smo dokazali tudi, da nekateri analogi oroidina delujejo kot zaviralci tvorbe bakterijskih biofilmov, kot induktorji apoptoze v nekaterih sesalskih celičnih linijah ali kot inhibitorji napetostno odvisnih kalijevih kanalov.

Ocenjujemo, da sta bila dva glavna cilja projekta, t.j. (i) razvoj spojin s selektivnim delovanjem na različne podtipe napetostno odvisnih natrijevih kanalov in (ii) razvoj analogov oroidina s protibakterijskim delovanjem, uspešno realizirana, kar dokazujemo s sedmimi objavljenimi članki v revijah s faktorjem vpliva in še tremi članki v pripravi.

ANG

Voltage-gated sodium channels (Na_v channels) are integral membrane proteins which play essential roles in the initiation and propagation of action potentials in neurons and other electrically excitable cells. They are composed of a single α -subunit, which forms a voltage-sensing pore, and one or more auxiliary β -subunits. To date, nine different α -subunits ($Na_v1.1$ – $Na_v1.9$) have been identified and their expression is strongly cell-type- and tissue-specific. The abnormally increased activity of sodium channels can cause different neurodegenerative diseases, chronic pain, epilepsy, arrhythmias, and spasticity. Current drugs acting on Na_v channels have low potency and are relatively non-specific, therefore there is a need for the development of isoform-specific modulators which offer the promise of therapies with a significant advantage over current standard of care.

Alkaloids from the Caribbean sponge of the genus *Agelas*, e.g. clathrodin, oroidin, sceptrin and dibromosceptrin affect Na_v channels by influencing channel ion conductance or by modifying the channel inactivation characteristics. In addition to effects on Na_v channels, some alkaloids from the oroidin class also possess antibacterial activity.

We have designed and synthesized several series of compounds – altogether more than 70 – and evaluated them against different Na_v channel subtypes using electrophysiological assays. The design was first based on the structures of clathrodin and oroidin, and later also on aminobenzenesulfonamides identified through the study of patent literature. The most promising results of the beginning series of compounds were obtained for the $Na_v1.3$ channel, for which four compounds were found to possess IC_{50} values lower than $15 \mu M$. In the next stage, modulators of Na_v channels were designed using ligand- and structure-based virtual screening. With medicinal chemistry optimisation of compounds, a small library of aminobenzenesulfonamides and 4-amino-*N*-(sulfamoil)benzamides was prepared. The most potent compound had a 20 nM IC_{50} value against the human $Na_v1.3$ channel, which is 100-

times more potent compared to compounds from the beginning series. This compound displayed also moderate isoform selectivity, as it was not active on human NaV1.5 channels, rat NaV1.4 channels and mouse NaV1.6 channels. Through additional studies we have discovered that some of the oroidin analogues acted also as inhibitors of the bacterial biofilm formation, as inducers of apoptosis in various mammalian cell lines, or as modulators of voltage gated potassium channels.

The two major goals of the research project, i.e., (i) to develop compounds selectively acting on different Na_v channels, and (ii) to identify and develop oroidin analogs with potential antibacterial activity have been successfully reached. This can be demonstrated by seven published research articles and three additional articles that are currently in preparation.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

Načrtovanje in sinteza modulatorjev napetostno odvisnih natrijevih kanalov na osnovi alkaloidov iz morskih spužev rodu *Agelas* (Eur J Med Chem 2014, 74, 23-30)

Načrtovali in sintetizirali smo knjižnico 28 spojin s potencialnim delovanjem na različne podtipe NaV kanalov. Kot izhodišče sta nam služila alkaloida klatrocin in oroidin. Spojine smo elektrofiziološko ovrednotili na različnih podtipih NaV kanalov. Elektrofiziološke teste so opravili partnerji iz laboratorija prof. Jana Tytgata s Katoliške Univerze v Leuvenu (Leuven, Belgija) in iz podjetja Xention Limited (Cambridge, VB). Zaviralno aktivnost spojin smo merili na človeških podtipih kanalov Na_v1.3, Na_v1.4, Na_v1.5 in Na_v1.7. Številne testirane spojine so izkazovale obetavne aktivnosti z IC₅₀ vrednostmi v srednjem mikromolarnem obočju, nekatere izmed njih pa so izkazovale tudi šibko selektivnost na posamezne podtipe NaV kanalov. Najobetavnejše rezultate smo izmerili za podtip kanala Na_v1.3, kjer je 5 spojin izkazovalo IC₅₀ vrednost pod 15 μM. S pomočjo elektrofizioloških študij smo ugotovili, da se spojine vežejo na odprto-inaktivirano obliko kanala in zato izkazujejo delovanje odvisno od stanja kanala (t.i. »state-dependent« delovanje). Rezultati so nam dali pomembne informacije o odnosu med strukturo in delovanjem in so predstavljali dobro osnovo za nadaljnji razvoj selektivnih modulatorjev NaV kanalov.

Iskanje modulatorjev napetostno odvisnih natrijevih kanalov s pomočjo virtualnega rešetanja na osnovi strukture liganda in strukture tarče (J Chem Inf Model 2013; 53: 3223-3232)

Nove modulatorje NaV kanalov smo iskali tudi s pomočjo virtualnega rešetanja na osnovi strukture liganda in strukture tarče. Pri tem smo izhajali iz najaktivnejših zaviralcev NaV kanalov, ki smo jih odkrili v predhodnih študijah. Izvedli smo dve ločeni študiji virtualnega rešetanja. V prvem delu smo za osnovo pri virtualnem rešetanju uporabili spojino *N*-(3-(2-amino-1*H*-imidazol-4-il)fenil)-1*H*-indol-2-carboksamid (**I**), v drugem delu pa spojino *tert*-butil 4-(3-(1*H*-pirol-2-karboksamido)fenil)-2-amino-1*H*-imidazol-1-karboksilat (**II**). Z iskanjem spojin podobnih spojin **I** v bazi podatkov ZINC, smo prišli do petih novih modulatorjev kanalov Na_v1.3 in Na_v1.7 z aktivnostmi boljšimi od spojine **I** (IC₅₀ < 20 μM). Odkrili smo, da dve izmed spojin zavirata tok ionov skozi kanal Na_v1.7 z IC₅₀ vrednostma 7 in 9 μM, s čemer se uvrščata med najaktivnejše do danes odkrite analoge klatrodina. V primeru spojine **II** je iskanje na podlagi 3D podobnosti s spojinami v bazi podatkov ZINC sledilo sidranje obogatene knjižnice spojin v homologni model odprte pore človeškega kanala Na_v1.4. Čeprav sta dve spojinii izkazovali 21% oz. 22% zaviranje toka natrijevih ionov skozi človeški kanal Na_v1.4, nobena izmed izbranih spojin ni imela močnejšega delovanja od spojine **II**. V opisani študiji smo s pomočjo virtualnega rešetanja odkrili dve spojinii, ki predstavljata nov strukturni tip modulatorjev človeških kanalov Na_v1.7.

Aminobenzenesulfonamidi in 4-amino-*N*-(sulfamoil)benzamidi kot zaviralci napetostno odvisnih natrijevih kanalov (članek v pripravi)

Na podlagi rezultatov prvih serij spojin smo se lotili farmacevtsko-kemijske optimizacije z namenom izboljšanja aktivnosti spojin in/ali selektivnosti njihovega delovanja. Osredotočili smo se zlasti na kanal NaV1.3, na katerega smo v začetnih študijah dosegli najboljše zaviralne aktivnosti. Kanali NaV1.3 so izraženi pretežno v centralnem živčnem sistemu, kjer so udeleženi pri prevajanju bolečinskih signalov. Spojine smo načrtovali s pomočjo dveh različnih pristopov: (i) s pomočjo tradicionalnega farmacevtsko-kemijskega pristopa in (ii) s pomočjo računalniško podprtega iskanja spojin s podobno 3D strukturo (t.i. »3D similarity search«). Iskanje po 3D

podobnosti smo izvedli s programom ROCS v banki spojin ZINC, kot osnovno molekulo («query molecule») pa smo uporabili aminobenzensulfonamid z nanomolarno IC₅₀ vrednostjo na kanal Nav1.3. Po pregledu zadetkov smo izbrali in kupili 16 komercialno dostopnih spojin. Skupaj smo pripravili 49 spojin (33 s pomočjo tradicionalnega farmacevtsko-kemijskega pristopa in 16 s pomočjo računalniško podprtega pristopa) z aminobenzensulfonamidno ali 4-amino-*N*-(sulfamoil)benzamidno strukturo in jih v sodelovanju s podjetjem Xention Limited in s Katoliško Univerzo v Leuvenu elektrofiziološko ovrednotili na različnih podtipih človeških NaV kanalov. Najbolj aktivne spojine so imele IC₅₀ vrednosti v srednjem nanomolarnem območju. Najaktivnejša spojina je bila aminobenzensulfonamid z 20 nM IC₅₀ vrednostjo na kanal Nav1.3, s čemer smo za kar 100-krat izboljšali aktivnosti v primerjavi z našimi prejšnjimi serijami spojin. Najaktivnejše spojine so izkazovale delovanje odvisno od stanja kanala. Spojine so izkazovale zmerno selektivno delovanje, saj niso bile aktivne na človeške kanale tipa Nav1.5, podganje kanale tipa Nav1.4 in mišje kanale tipa Nav1.6.

Karakterizacija endogenih Na_v kanalov v nevroblastomski celični liniji ND7-23 (*Assay Drug Dev Technol* **2016**, DOI: 10.1089/adt.2016.704, članek sprejet v objavo)

Nevroblastomska glodalčja celična linija ND7-23 je primerna za ekspresijo NaV kanalov in drugih ionskih kanalov, ki so odporni na heterologno ekspresijo v CHO in HEK celicah. Prednost celične linije ND7-23 je v tem, da vsebuje ustrezne endogene faktorje in signalne poti, ki so potrebni za pravilno zvitje, ekspresijo in delovanje ionskih kanalov na celični površini ter da jih je mogoče uporabiti za analizo z avtomatizirano »patch clamp« tehniko. Znano je, da celice ND7-23 izražajo različne podtipe NaV kanalov (Nav1.2, Nav1.3, Nav1.6 in Nav1.7) vendar do sedaj še ni bilo raziskano kateri podtip je v največji meri odgovoren za prevajanje natrijevih ionov v teh celicah. V naši raziskavi smo s pomočjo elektrofiziološke »patch clamp« tehnike in zaviralcev, ki selektivno zavirajo posamezen podtip kanalov, preučili profil endogeno izraženih NaV kanalov v celični liniji ND7-23. Pri tem smo med drugim uporabili selektivni zaviralec kanala Nav1.3, ki smo ga pripravili v naših predhodnih raziskavah. Naši rezultati potrjujejo, da so za več kot 95% toka natrijevih ionov v celicah ND7-23 odgovorni na tetrodotoksin (TTX) občutljivi NaV kanali, od katerih ima največji prispevek kanal Nav1.7 (75% toka Na ionov), sledita pa mu kanal Nav1.6 (~20%) in kanal Nav1.3 (~2%). V študiji smo prvič ovrednotili učinkovitost (IC₅₀ je 35 nM) in selektivnost (~50 x večja aktivnost kot na kanal Nav1.7) spojine 4,9-anhidro-TTX na kanal Nav1.6 na človeških NaV kanalih izraženih v sesalčjih celičnih linijah.

Mikrobiološko vrednotenje morskih alkaloidov klatrodina, oroidina in knjižnice njunih analogov (*Marine Drugs* **2014**, 12 (2), 940-963)

V skladu z zastavljenimi cilji projekta smo morska alkaloida klatrodin in oroidin in pripravljeno knjižnico njunih analogov vrednotili tudi s stališča njihove protimikrobne aktivnosti. Mikrobiološko testiranje so izvedli partnerji z Univerze v Helsinkih (Helsinki, Finska). Testiranje smo izvedli na treh bakterijskih sevih (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*) in enem glivnem sevu (*Candida albicans*). Izmed 36 testiranih spojin jih je 12 izkazovalo >80% zaviranje rasti vsaj enega mikrobiološkega seva pri 50 μM koncentraciji. Najaktivnejši je bil 4-fenil-2-aminoimidazolni analog **6h**, z 12.5 μM MIC₉₀ vrednostjo na po Gramu pozitivne bakterije in 50 μM na bakterijo *E. coli*. Izbranim spojinam smo določili tudi selektivnostni indeks, ki predstavlja razmerje med zaviralnim delovanjem spojin na bakterijske in človeške celice in je za spojino **6h** pri bakteriji *S. aureus* znašal 2,9.

Derivati oroidina kot zaviralci tvorbe bakterijskih biofilmov (*Bioorg Med Chem Lett* **2014**, 24 (11), 2530-2534)

Poleg protibakterijskega delovanja na prosto plavajoče bakterije nas je zanimal tudi vpliv pripravljenih spojin na zaviranje tvorbe bakterijskih biofilmov. Vrednotenje vpliva spojin na tvorbo bakterijskih biofilmov je bilo izvedeno na Univerzi v Gdanku na Poljskem. Ovrednotili smo serijo indolnih analogov oroidina na tvorbo biofilmov bakterije na metilicilin rezistentnega *Staphylococcus aureus* (MRSA) in biofilmov bakterije *Streptococcus mutans*. Po nam dostopnih podatkih predstavljajo naše spojine prvi objavljeni primer 2-aminoimidazolnih zaviralcev tvorbe biofilmov bakterije *S. mutans*. V študiji smo med drugim dokazali, da je lahko indolni fragment dober mimetik dibromopirrolnega obroča. Kot najaktivnejša spojina se je izkazal 5-(trifluoraometoksi)indolni derivat **4b** (MBIC₅₀ = 20 μM), ki predstavlja dobro osnovo za nadaljnjo optimizacijo in razvoj učinkovitejših zaviralcev tvorbe biofilmov bakterij *S. aureus* in *S. mutans*.

Analogi morskih alkaloidov iz spužev rodu *Agelas* kot induktorji apoptoze v rakavih celičnih linijah (*MedChemComm* **2015** 6 (1), 105-110)

Z namenom ugotavljanja selektivne toksičnosti smo izbranim spojinam določili njihove aktivnosti na izbranih sesalskih celičnih linijah. Zaradi obetavnih začetnih rezultatov, smo se v nadaljevanju odločili, da bomo za pripravljeno serijo spojin preučili še sposobnost indukcije apoptoze v različnih rakavih celičnih linijah. Vrednotenje proapoptotičnega delovanja spojin smo izvedli v sodelovanju s prof. Christianom D. Mullerjem z Univerze v Strasbourgu v Franciji. Uporabili smo celično linijo humanega hepatoceličnega karcinoma HepG2 in celično linijo akutne monocitne levkemije THP-1. S pomočjo rezultatov presejalnega testiranja 96 spojin na celicah HepG2 smo določili ključne strukturne elemente in fizikalno-kemijske lastnosti, ki so pomembni za proapoptotično delovanje. Kot najaktivnejši induktorji apoptoze so se izkazali indolni analogi **24c**, **28c**, **29c** in **34c** z EC_{50} vrednostmi v nizkem mikromolarnem območju. Analiza celičnega cikla je potrdila, da spojine **24c**, **28c**, **29c** in **34c** inducirajo apoptozo celic THP-1 v 25 μ M koncentraciji, s čemer predstavljajo te spojine dobro izhodišče za razvoj protirakavih učinkovin.

Študij mehanizma proapoptotičnega delovanja analogov klatrodina na rakavih celičnih linijah (*Članek v pripravi*)

Z indukcijo apoptoze v rakavih celičnih linijah bi lahko zavrli razvoj različnih tipov raka. Da bi proučili mehanizem proapoptotičnega delovanja štirih izbranih analogov klatrodina smo opazovali razlike v kinetiki proapoptotičnega delovanja spojin na različnih rakavih celičnih linijah (krvnih, jetrnih in pankreasnih) ter izvornih rakavih celičnih linijah (pankreasnih in celicah testisov). Eda izmed spojin, spojina **5**, je v monocitnih THP-1 celicah izkazovala proapoptotično delovanje, ki ni bilo odvisno od tega ali so bile celice med testom izpostavljene pan-kaspaznemu inhibitorju Z-VAD-fmk. Iz teh rezultatov smo sklepali, da apoptoza v monocitnih celičnih linijah poteka po mehanizmu, ki ne vključuje aktivacije kaspazne poti. Predpostavili smo, da je možen mehanizem proapoptotičnega delovanja spojine **5** povezan, ali npr. z modulacijo aktivnosti encima skremblaze, ali npr. z vplivom spojine na transport celičnih komponent iz citoplazme na celično površino.

Delovanje klatrodina, himenidina in oroidina ter njihovih analogov na napetostno odvisne kalijeve kanale (članek v pripravi)

Klatrodin, himenidin in oroidin ter serijo petnajstih analogov smo ovrednotili na šestih različnih podtipih napetostno odvisnih kalijevih kanalov iz poddružine K_v1 ($K_v1.1$ - $K_v1.6$) s pomočjo avtomatizirane »patch clamp« elektrofiziološke metode v podjetju Xention Limited (Cambridge, VB). Izbrane spojine smo dodatno elektrofiziološko ovrednotili tudi na Katoliški Univerzi v Leuvenu v Belgiji. Kot najaktivnejša se je izkazala spojina (*E*)-*N*-(3-(2-amino-1*H*-imidazol-4-il)alil)-4,5-dikloro-1*H*-pirol-2-karboksamid (**6g**) z IC_{50} vrednostmi med 1.4 in 6.1 μ M na kanale $K_v1.3$ -1.6. Vse spojine so bile selektivne proti kanalom $K_v1.1$ in $K_v1.2$. Zaradi nizko mikromolarnih zaviralnih aktivnosti in relativno nizkih molekulskih mas, so pripravljene spojine primerne za nadaljnjo optimizacijo.

4. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev³

Ocenjujemo, da sta bila dva glavna cilja projekta, t.j. (i) razvoj spojin s selektivnim delovanjem na različne podtipe napetostno odvisnih natrijevih kanalov in (ii) razvoj analogov oroidina s protibakterijskim delovanjem, uspešno realizirana. V nadaljnjih raziskavah smo dokazali tudi, da nekateri analogi oroidina delujejo kot zaviralci tvorbe bakterijskih biofilmov, kot induktorji apoptoze v nekaterih sesalskih celičnih linijah ali kot inhibitorji napetostno odvisnih kalijevih kanalov.

Uspešno realizacijo ciljev projekta dokazujemo s sedmimi objavljenimi znanstvenimi članki v revijah s faktorjem vpliva:

- 1.) Tomašič, T.; Hartzoulakis, B.; **Zidar, N.**, Chan, F.; Kirby, R. W.; Madge, D. J.; Peigneur, S.; Tytgat, J.; Kikelj, D. *J Chem Inf Model* **2013**; 53: 3223-3232.
- 2.) Hodnik, Ž.; Los, J. M.; Žula, A.; **Zidar, N.**; Jakopin, Ž.; Los, M.; Dolenc, M. S.; Ilaš, J.;

grzyn, G.; Mašič, L. P.; Kikelj, D. *Bioorg Med Chem Lett* **2014**, 24 (11), 2530-2534.

3.) Peigneur, S.; Žula, A.; **Zidar, N.**; Chan-Porter, F.; Kirby, R.; Madge, D.; Ilaš, J.; Kikelj, D.; Tytgat, J. *Marine Drugs* **2014**, 12 (4), 2132-2143.

4.) **Zidar, N.**; Jakopin, Ž.; Madge, D. J.; Chan, F.; Tytgat, J.; Peigneur, S.; Dolenc, M. S.; Tomašič, T.; Ilaš, J.; Mašič, L. P.; Kikelj, D. *Eur J Med Chem* **2014**, 74, 23-30.

5.) **Zidar, N.**; Montalvao, S.; Hodnik, Ž.; Nawrot, D. A.; Žula, A.; Ilaš, J.; Kikelj, D.; Tammela, P.; Mašič, L. P. *Marine Drugs* **2014**, 12 (2), 940-963.

6.) Tomašič, T.; Nabergoj, D.; Vrbeč, S.; **Zidar, N.**; Jakopin, Ž.; Žula, A.; Hodnik, Ž.; Jukič, M.; Anderluh, M.; Ilaš, J.; Sollner Dolenc, M.; Peluso, J.; Ubeaud-Séquier, G.; Muller, C. D.; Peterlin Mašič, L.; Kikelj, D. *MedChemComm* **2015** 6 (1), 105-110.

7.) Rogers, M.; Kirby, R.; **Zidar, N.**; Kikelj, D. *Assay Drug Dev Technol* **2016**, DOI: 10.1089/adt.2016.704, članek sprejet v objavo

V pripravi so še trije znanstveni članki:

1.) Nabergoj, D.; Vrbeč, S.; **Zidar, N.**; Tomašič, T.; Kikelj, D.; Peterlin Mašič, L.; Muller, C. D. Članek v pripravi.

2.) Ilaš, J.; Žula, A.; **Zidar, N.**; Tomašič, T.; Peterlin Mašič, L.; Rogers, M.; Kirby, R.; Tytgat, J.; Peigneur, S.; Kikelj, D. Članek v pripravi.

3.) **Zidar, N.**; Tomašič, T.; Rogers, M.; Kirby, R.; Tytgat, J.; Peigneur, S.; Kikelj, D. Članek v pripravi.

5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁴

V programu raziskovalnega projekta in sestavi projektne skupine ni prišlo do bistvenih sprememb, le do dveh manjših razširitev dela:

1.) Študij proapoptotičnega delovanja spojin

Razlog, da smo pripravljene spojine ovrednotili tudi s stališča njihovega proapoptotičnega delovanja je bil, da smo rezultate ugotavljanja selektivne toksičnosti pripravljenih spojin na izbranih sesalskih celičnih linijah želeli razširiti tudi na različne rakave celične linije. Proapoptotično delovanje spojin smo izvedli v sodelovanju s prof. Christianom D. Mullerjem z Univerze v Strasbourgu v Franciji. S študijo smo nadaljevali in tekom nadaljnjega dela poskušali določiti tudi mehanizem proapoptotičnega delovanja spojin.

2.) Študij delovanja spojin na napetostno odvisne kalijeve kanale

Ker so napetostno odvisni kalijevi kanali, podobno kot napetostno odvisni natrijevi kanali, zelo zanimive tarče za razvoj novih zdravilnih učinkovin, in ker imajo z Nav kanali sorodno strukturo, smo se odločili, da bomo izbrane predstavnike pripravljenih spojin ovrednotili tudi na Kv kanalih. Elektrofiziološko vrednotenje smo opravili v sodelovanju s partnerji iz podjetja Xention iz Cambrida in iz Katoliške univerze v Luevenu.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	3577713	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Iskanje modulatorjev napetostno odvisnih natrijevih kanalov izhajajoč iz struktur derivatov klatrodina, s pomočjo virtualnega reševanja na osnovi strukture liganda in strukture tarče
		ANG	Ligand- and structure-based virtual screening for clathrocin-derived human

		voltage-gated sodium channel modulators
Opis	SLO	Napetostno odvisni natrijevi kanali (angl. voltage-gated sodium channels, VGSC) so zaradi širokega terapevtskega potenciala njihovih modulatorjev pomembne tarče za razvoj novih učinkovin. Nedavno smo na osnovi strukture klatrodina odkrili nov tip modulatorjev VGSC, selektivnih na različne podtipe natrijevih kanalov. Spojini I in II smo uporabili kot izhodišči za farmacevtsko-kemijsko optimizacijo z dvema različnima študijama virtualnega rešetanja na osnovi strukture liganda in na ta način prišli do novih modulatorjev VGSC. Z iskanjem spojin podobnih spojini I v bazi podatkov ZINC, smo prišli do petih novih modulatorjev kanalov Nav1.3 in Nav1.7 z učinkom odvisnim od stanja kanala, z izboljšano aktivnostjo od spojine I (IC ₅₀ < 20 μM). Odkrili smo, da spojini 2 in 16 zavirata pretok ionov skozi kanal Nav1.7 z IC ₅₀ vrednostma 7 in 9 μM, s čemer se uvrščata med najaktivnejše do danes odkrite analoge klatrodina. V primeru spojine II, je iskanju na podlagi 3D podobnosti s spojinami v bazi podatkov ZINC sledilo sidranje obogatene knjižnice spojin v homologni model odprte pore človeškega kanala Nav1.4. Čeprav sta spojini 31 in 32 izkazovali 21% oz. 22% zaviranje toka natrijevih ionov skozi človeški kanal Nav1.4, nobena izmed izbranih spojin ni izkazovala močnejšega delovanja od spojine II. Za zaključek, v opisani študiji smo s pomočjo virtualnega rešetanja odkrili spojini 2 in 16, ki predstavljata nov strukturni tip modulatorjev človeških natrijevih kanalov Nav1.7.
	ANG	Voltage-gated sodium channels (VGSC) are attractive targets for drug discovery because of the broad therapeutic potential of their modulators. On the basis of the structure of marine alkaloid clathrocin, we have recently discovered novel subtype-selective VGSC modulators I and II that were used as starting points for two different ligand-based virtual screening approaches for discovery of novel VGSC modulators. Similarity searching in the ZINC database of druglike compounds based on compound I resulted in five state dependent Nav1.3 and Nav1.7 modulators with improved activity compared to I (IC ₅₀ < 20 μM). Compounds 2 and 16 that blocked sodium permeation in Nav1.7 with IC ₅₀ values of 7 and 9 μM, respectively, are among the most potent clathrocin analogs discovered so far. In the case of compound II, 3D similarity searching in the same database was followed by docking of an enriched compound library into our human Nav1.4 open pore homology model. Although some of the selected compounds, e.g., 31 and 32 displayed 21% and 22% inactivated state Ipeak block of Nav1.4 at 10 μM, respectively, none showed better Nav1.4 modulatory activity than compound II. Taken together, virtual screening yielded compounds 2 and 16, which represent novel scaffolds for the discovery of human Nav1.7 modulators.
Objavljeno v		American Chemical Society; Journal of chemical information and modeling; 2013; Vol. 53, iss. 12; str. 3223-3232; Impact Factor: 4.068; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.394; A': 1; WoS: DX, DY, ET, EV; Avtorji / Authors: Tomašič Tihomir, Hartzoulakis Basil, Zidar Nace, Chan Fiona, Kirby Robert W., Madge David J., Peigneur Steve, Tytgat Jan, Kikelj Danijel
Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
2.	COBISS ID	3629681
		Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Delovanje klatrodina in njegovih analogov na napetostno odvisne natrijeve kanale
	ANG	Action of clathrocin and analogues on voltage-gated sodium channels
		Morski alkaloid klatrocin, na podlagi nekaterih literaturno dostopnih podatkov izkazuje modulatorno delovanje na napetostno odvisne natrijeve (NaV) kanale. Zaradi velike potrebe po novih majhnih molekulah, ki bi delovale na NaV kanale klatrocin tako predstavlja zanimivo izhodno spojino

	Opis	SLO	za načrtovanje novih biološko aktivnih spojin. V tej študiji smo ponovno ovrednotili delovanje klatrodina na NaV kanele in preučili selektivnost njegovega delovanja na različne podtipe teh kanalov. Klatrocin in serijo njegovih analogov smo testirali na različnih izoformah NaV kanalov s pomočjo t.i. »patch clamp« in »voltage clamp« tehnik. Kljub temu, da klatrocin ni izkazoval aktivnosti, je bila aktivnost nekaterih njegovih analogov dokaz, da so alkaloidi z 2-aminoimidazolno strukturo lahko dobra osnova za nadaljnji razvoj majhnih molekul z modulatornih delovanjem na NaV kanale.
		ANG	Clathrocin is a marine alkaloid and believed to be a modulator of voltage-gated sodium (NaV) channels. Since there is an urgent need for small molecule NaV channel ligands as novel therapeutics, clathrocin could represent an interesting lead compound. Therefore, clathrocin was reinvestigated for its potency and NaV channel subtype selectivity. Clathrocin and its synthetic analogues were subjected to screening on a broad range of NaV channel isoforms, both in voltage clamp and patch clamp conditions. Even though clathrocin was not found to exert any activity, some analogues were capable of modulating the NaV channels, hereby validating the pyrrole-2-aminoimidazole alkaloid structure as a core structure for future small molecule-based NaV channel modulators.
	Objavljeno v	MDPI; Marine drugs; 2014; Vol. 12, no. 4; str. 2132-2143; Impact Factor: 2.853; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.506; WoS: DX; Avtorji / Authors: Peigneur Steve, Žula Aleš, Zidar Nace, Chan-Porter Fiona, Kirby Robert, Madge David J., Ilaš Janez, Kikelj Danijel, Tytgat Jan	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
3.	COBISS ID	3585905	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Substituirani 4-fenil-2-aminoimidazoli in 4-fenil-4,5-dihidro-2-aminoimidazoli kot modulatorji napetostno odvisnih natrijevih kanalov
		ANG	Substituted 4-phenyl-2-aminoimidazoles and 4-phenyl-4,5-dihydro-2-aminoimidazoles as voltage-gated sodium channel modulators
	Opis	SLO	Napetostno odvisni natrijevi kanali imajo ključno vlogo pri prevajanju električnih signalov po živčnih celicah, nepravilnosti v njihovem delovanju pa so pogosto vzrok za številna nevrološka obolenja. Na podlagi strukture morskega alkaloida klatrodina smo načrtovali in sintetizirali serijo osemindvajsetih analogov in ovrednotili njihov vpliv na blokado človeških kanalov NaV1.3, NaV1.4 in NaV1.7 ter njihovo selektivnost nasproti kanalu NaV1.5, ki se nahaja v srčni mišici. Meritve smo izvedli z avtomatizirano elektrofiziološko tehniko »patch clamp«. Številne testirane spojine so izkazovale obetavne zaviralne aktivnosti na različne podtipe NaV kanalov v srednjem mikromolarnem območju, nekatere izmed testiranih spojin pa so izkazovale tudi zmerno selektivno delovanje na različne podtipe NaV kanalov. Najobetavnejše zaviralne aktivnosti smo dosegli na kanalu NaV1.3, na katerem so imele štiri spojine IC50 vrednosti manjše od 15 µM. Vse testirane spojine so se vezale na odprto inaktivirano obliko kanalov in so tako izkazovale od stanja kanala odvisno delovanje. Naši rezultati dokazujejo, da predstavljajo spojine morskega izvora dobro izhodišče za načrtovanje novih učinkovin, pripravljeni analogi klatrodina pa so dobra osnova za razvoj selektivnih modulatorjev NaV kanalov.
		Voltage-gated sodium channels play an integral part in neurotransmission and their dysfunction is frequently a cause of various neurological disorders. On the basis of the structure of marine alkaloid clathrocin, twenty eight new analogs were designed, synthesized and tested for their ability to block human NaV1.3, NaV1.4 and NaV1.7 channels, as well as for their selectivity against human cardiac isoform NaV1.5, using automated patch clamp electrophysiological assay. Several compounds exhibited	

			<p>promising activities on different NaV channel isoforms in the medium micromolar range and some of the compounds showed also moderate isoform selectivities. The most promising results were obtained for the NaV1.3 channel, for which four compounds were found to possess IC50 values lower than 15 μM. All of the active compounds bind to the open-inactivated states of the channels and therefore act as state-dependent modulators. The obtained results validate the approach of using natural products driven chemistry for drug discovery starting points and represent a good foundation for future design of selective NaV modulators.</p>
		Objavljeno v	Edifor; European Journal of Medicinal Chemistry; 2014; Vol. 74; str. 23-30; Impact Factor: 3.447; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.506; A': 1; WoS: DX; Avtorji / Authors: Zidar Nace, Jakopin Žiga, Madge David J., Chan Fiona, Tytgat Jan, Peigneur Steve, Sollner Dolenc Marija, Tomašič Tihomir, Ilaš Janez, Peterlin-Mašič Lucija, Kikelj Danijel
		Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
4.	COBISS ID	3602801	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Protimikrobna aktivnost morskih alkaloidov klatrodina in oroidina ter njihovih sinteznih analogov
		ANG	Antimicrobial activity of the marine alkaloids, clathrodin and oroidin, and their synthetic analogues
	Opis	SLO	<p>Morski organizmi so bogat vir sekundarnih metabolitov ki lahko sami po sebi služijo kot spojine vodnice pri razvoju novih učinkovin, ali pa predstavljajo navdih za nova strukturna ogrodja pri razvoju biološko aktivnih spojin. Sintetizirali smo morska alkaloida klatrodin in oroidin, prvotno izolirana iz spužev rodu Agelas, ter ovrednotili njuno protibakterijsko aktivnost na treh bakterijskih (<i>Enterococcus faecalis</i>, <i>Staphylococcus aureus</i> in <i>Escherichia coli</i>) in enem glivnem sevu (<i>Candida albicans</i>). Oroidin je izkazoval obetavne aktivnosti na grampozitivnih sevih, zato smo v nadaljevanju pripravili 34 njegovih analogov in jih mikrobiološko ovrednotili. Izmed testiranih spojin, jih je 12 izkazovalo >80% zaviranje rasti najmanj enega seva mikroorganizmov pri 50 μM koncentraciji. Najaktivnejši je bil analog 6h, z 12.5 μM minimalno zaviralno koncentracijo (MIC90) proti obema grampozitivnima bakterijama in 50 μM minimalno zaviralno koncentracijo proti grampozitivni bakteriji <i>E. coli</i>. Za izbrane spojine smo določili tudi selektivnostne indekse, t.j. razmerja v aktivnosti spojin na celice bakterij <i>S. aureus</i> in sesalske celice. Selektivnostni indeks za spojino 6h je znašal 2.9.</p>
		ANG	<p>Marine organisms produce secondary metabolites that may be valuable for the development of novel drug leads as such and can also provide structural scaffolds for the design and synthesis of novel bioactive compounds. The marine alkaloids, clathrodin and oroidin, which were originally isolated from sponges of the genus, <i>Agelas</i>, were prepared and evaluated for their antimicrobial activity against three bacterial strains (<i>Enterococcus faecalis</i>, <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Escherichia coli</i>) and one fungal strain (<i>Candida albicans</i>), and oroidin was found to possess promising Gram-positive antibacterial activity. Using oroidin as a scaffold, 34 new analogues were designed, prepared and screened for their antimicrobial properties. Of these compounds, 12 exhibited >80% inhibition of the growth of at least one microorganism at a concentration of 50 μM. The most active derivative was found to be 4-phenyl-2-aminoimidazole 6h, which exhibited MIC90 (minimum inhibitory concentration) values of 12.5 μM against the Gram-positive bacteria and 50 μM against <i>E. coli</i>. The selectivity index between <i>S. aureus</i> and mammalian cells, which is important to consider in the evaluation of a compound's potential as an antimicrobial lead, was found to be 2.9 for compound 6h.</p>
			MDPI; Marine drugs; 2014; Vol. 12, no. 2; str. 940-963; Impact Factor:

	Objavljeno v	2.853;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.506; WoS: DX; Avtorji / Authors: Zidar Nace, Montalvao Sofia, Hodnik Žiga, Nawrot Dorota A., Žula Aleš, Ilaš Janez, Kikelj Danijel, Tammela Päivi, Peterlin-Mašič Lucija	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
5.	COBISS ID	3697265	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Analogi morskih alkaloidov iz spužev rodu Agelas kot induktorji apoptoze v človeških HepG2 in THP-1 rakavih celičnih linijah
		ANG	Analogues of the marine alkaloids oroidin, clathrocin, and hymenidin induce apoptosis in human HepG2 and THP-1 cancer cells
	Opis	SLO	Morski alkaloidi klatrocin, oroidin in himenidin imajo številne opisane biološke učinke. V tej študiji opisujemo načrtovanje knjižnice njihovih analogov in vrednotenje njihovega proapoptotičnega delovanja na celicah človeškega jetrnega karcinoma (HepG2) in celicah akutne monocitne levkemije (THP-1). S pomočjo rezultatov presejalnega testiranja 96 spojin na celicah HepG2 smo določili ključne strukturne elemente in fizikalno-kemijske lastnosti, ki so pomembni za proapoptotično delovanje. Kot najaktivnejši induktorji apoptoze so se izkazali indolni analogi 24c, 28c, 29c in 34c z EC50 vrednostmi v nizkem mikromolarnem območju. Analiza celičnega cikla je potrdila, da spojine 24c, 28c, 29c in 34c inducirajo apoptozo celic THP-1 v 25 µM koncentraciji, s čemer predstavljajo te spojine dobro izhodišče za razvoj protirakavih učinkovin.
		ANG	The marine alkaloids clathrocin, oroidin, and hymenidin, which were isolated from Agelas sponges, possess diverse biological activities. Herein, we describe the design of a library of their analogues and the evaluation of their apoptosis-inducing activities against the human hepatocellular carcinoma HepG2 and acute monocytic leukaemia THP-1 cell lines. The screening of the complete library of 96 compounds using the HepG2 cell line allowed us to determine key structural elements and physicochemical properties that are responsible for the apoptosis-inducing activity. The indole-based compounds 24c, 28c, 29c, and 34c were found to be the most potent inducers of apoptosis in HepG2 and THP-1 cell lines with EC50 values in the low micromolar range. The cell cycle analysis assays confirmed that compounds 24c, 28c, 29c, and 34c induce the apoptosis of THP-1 cells at 25 µM, which highlights these oroidin analogues as interesting candidates for further evaluation of their anticancer activity.
	Objavljeno v	Royal Society of Chemistry; MedChemComm; 2015; Vol. 6, iss. 1; str. 105-110; Impact Factor: 2.495;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.506; WoS: CQ, DX; Avtorji / Authors: Tomašič Tihomir, Nabergoj Dominik, Vrbek Sanja, Zidar Nace, Jakopin Žiga, Žula Aleš, Hodnik Žiga, Jukič Marko, Anderluh Marko, Ilaš Janez, Sollner Dolenc Marija, Peluso Jean, Ubeaud-Séquier Genevieve, Muller Christian D., Peterlin-Mašič Lucija, Kikelj Danijel	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	

7.Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

	Družbeno-ekonomski dosežek		
1.	COBISS ID	3824753	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Novi substituirani aminobenzensulfonamidi kot modulatorji napetostno odvisnih natrijevih kanalov
		ANG	New substituted aminobenzenesulfonamides as modulators of voltage-gated sodium channels

Opis	SLO	Na konferenci XXIII International Symposium on Medicinal Chemistry (EFMC-ISMIC 2014), ki je potekala od 7-11 septembra 2014 v Lizboni na Portugalskem smo predstavil plakat z naslovom Novi substituirani aminobenzensulfonamidi kot modulatorji napetostno odvisnih natrijevih kanalov	
	ANG	On the XXIII International Symposium on Medicinal Chemistry (EFMC-ISMIC 2014) held from 7-11 September 2014 in Lisbon, Portugal, we presented a poster with the title New substituted aminobenzenesulfonamides as modulators of voltage-gated sodium channels	
Šifra	B.06 Drugo		
Objavljeno v	Wiley; Book of abstracts; ChemMedChem; 2014; Str. 159; Impact Factor: 2.968; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.506; WoS: DX, TU; Avtorji / Authors: Zidar Nace, Tomašič Tihomir, Kirby Robert W., Rogers Marc, Kikelj Danijel		
Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci		
2.	COBISS ID	3876977	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Novi, selektivni modulatorji napetostno odvisnih natrijevih kanalov	
	ANG	New isoform selective voltage-gated sodium channel modulators	
Opis	SLO	Na konferenci IXth Joint Meeting in Medicinal Chemistry, ki je potekala od 7-10 junija 2015 v Atenah v Grčiji smo predstavili plakat z naslovom Novi, selektivni modulatorji napetostno odvisnih natrijevih kanalov	
	ANG	On the IXth Joint Meeting in Medicinal Chemistry held from 7-10 June 2015 in Athens, Greece, we presented a poster with the title New isoform selective voltage-gated sodium channel modulators	
Šifra	B.06 Drugo		
Objavljeno v	[s. n.]; IXth Joint Meeting in Medicinal Chemistry, 7-10 June 2015, Athens, Greece; 2015; 1 str.; Avtorji / Authors: Zidar Nace, Tomašič Tihomir, Peigneur Steve, Tytgat Jan, Madge David J., Rogers Marc, Kikelj Danijel		
Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci		
3.	COBISS ID	3974001	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Delovanje klatrodina in oroidina in njihovih sinteznih analogov na napetostno odvisne kalijeve kanale	
	ANG	Action of clathrocin and oroidin, and their synthetic analogues on voltage-gated potassium channels	
Opis	SLO	Na prvem srečanju COST Action BM1406 "Ion Channels and Immune Response", ki je potekalo od 24-25 septembra 2015 v Varšavi na Poljskem smo imeli predavanje z naslovom Delovanje klatrodina in oroidina in njihovih sinteznih analogov na napetostno odvisne kalijeve kanale	
	ANG	On the first meeting of the COST Action BM1406 "Ion Channels and Immune Response" held from 24-25 September 2015 in Warsaw, Poland, we had an oral presentation of my work with the title Action of clathrocin and oroidin, and their synthetic analogues on voltage-gated potassium channels	
Šifra	B.06 Drugo		
Objavljeno v	[s. n.]; Abstracts book; 2015; Str. 25; Avtorji / Authors: Zidar Nace, Tomašič Tihomir, Žula Aleš, Ilaš Janez, Rogers Marc, Kirby Robert W., Kikelj Danijel		
Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci		
4.	COBISS ID	3512945	Vir: COBISS.SI

Naslov	SLO	Sintezni analogi morskega alkaloida klatrodina kot induktorji apoptoze v izvornih rakavih celičnih linijah NTERA-2 preko aktivacije kaspaze 8	
	ANG	Synthetic analogs of marine alkaloid clathrocin induce apoptosis in NTERA-2 testis cancer stem cells through caspase 8 activation	
Opis	SLO	Na srečanju COST Action CM1106, ki je potekalo od 9-20 septembra 2013 v Varšavi na Poljskem smo predstavili plakat in imeli predavanje z naslovom Sintezni analogi morskega alkaloida klatrodina kot induktorji apoptoze v izvornih rakavih celičnih linijah NTERA-2 preko aktivacije kaspaze 8	
	ANG	On the 2nd Working Group Meeting of the COST Action CM1106 held from 9-20 September 2013 in Warsaw, Poland, we presented a poster and had an oral presentation of our work with the title Synthetic analogs of marine alkaloid clathrocin induce apoptosis in NTERA-2 testis cancer stem cells through caspase 8 activation	
Šifra	B.06 Drugo		
Objavljeno v	Warsaw university of life sciences; Chemical approaches to targeting drug resistance in cancer stem cells; 2013; Str. 58; Avtorji / Authors: Zidar Nace, Vrbek Sanja, Nabergoj Dominik, Tomašič Tihomir, Peterlin-Mašič Lucija, Muller Christian D.		
Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci		
5.	COBISS ID	3618673	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Protimikrobno delovanje polsinteznih analogov oroidina in klatrodina	
	ANG	Antimicrobial properties of semisynthetic oroidine and clathrodine analogues	
Opis	SLO	Rezultate študije "Protimikrobno delovanje polsinteznih analogov oroidina in klatrodina" smo predstavili na 14. mednarodnem simpoziju o naravnih spojinah morskega izvora (International Symposium on Marine Natural Products) in 8. evropskem kongresu o naravnih spojinah morskega izvora (European Congress on Marine Natural Products), ki je potekal od 15 - 20 septembra 2013 v La Toji (Galcija, Španija).	
	ANG	The results of our work "Antimicrobial properties of semisynthetic oroidine and clathrodine analogues" were presented on the 14th International Symposium on Marine Natural Products and the 8th European Congress on Marine Natural Products, held from 15th - 20th of September 2013 in La Toja, Galicia, Spain.	
Šifra	B.06 Drugo		
Objavljeno v	[s. n.]; 14th International Symposium on Marine Natural Products and the 8th European Congress on Marine Natural Products 2013, 15th - 20th of September, La Toja, Galicia, Spain; 2013; Str. 186, P 121; Avtorji / Authors: Montalvao Sofia, Nawrot Dorota A., Zidar Nace, Hodnik Žiga, Žula Aleš, Ilaš Janez, Peterlin-Mašič Lucija, Kikelj Danijel, Tammela Päivi		
Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci		

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine²

Večina rezultatov raziskovalnega projekta – tudi rezultati, ki niso navedeni pod točkama 6. in 7. ali ki niso vodeni v sistemu COBISS – je opisanih pod točkama 3. in 4..

Rezultati, ki niso omenjeni pod točkami 3., 4., 6. ali 7.:

1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci:

1.) NABERGOJ, Dominik, VRBEK, Sanja, ZIDAR, Nace, TOMAŠIČ, Tihomir, PELUSO, Jean,

PETERLIN-MAŠIČ, Lucija, KIKELJ, Danijel, MULLER, Christian D. Scramblase, a new therapeutic target to induce apoptosis in cancer stem cells : oral presentations. V: 2nd Working Group Meeting, CM1106, 27-28 March, 2014, Eötvös Loránd University, Budapest, Hungary. URAY, Katalin (ur.), SZABÓ, Ildikó (ur.), KÓCZÁN, György (ur.). Chemical approaches to targeting drug resistance in cancer stem cells : 2nd Working Group Meeting, CM1106, 27-28 March, 2014, Eötvös Loránd University, Budapest, Hungary : programme and abstract book. Budapest: Eötvös Loránd University, 2014, str. II/17. [COBISS.SI-ID 3636593]

2.) VRBEK, Sanja, NABERGOJ, Dominik, ZIDAR, Nace, TOMAŠIČ, Tihomir, PETERLIN-MAŠIČ, Lucija, KIKELJ, Danijel, MULLER, Christian D. Synthetic analogs of marine alkaloid clathrodin induce apoptosis in different human cancer (BXP-3, THP-1) and cancer stem cell lines (NTERA-2, ASPC-1) : poster presentations. V: 2nd Working Group Meeting, CM1106, 27-28 March, 2014, Eötvös Loránd University, Budapest, Hungary. URAY, Katalin (ur.), SZABÓ, Ildikó (ur.), KÓCZÁN, György (ur.). Chemical approaches to targeting drug resistance in cancer stem cells : 2nd Working Group Meeting, CM1106, 27-28 March, 2014, Eötvös Loránd University, Budapest, Hungary : programme and abstract book. Budapest: Eötvös Loránd University, 2014, str. II/113. [COBISS.SI-ID 3637105]

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti²

SLO

Napetostno odvisni natrijevi kanali imajo kot terapevtske tarče izredno velik potencial, ki pa je relativno slabo izkoriščen. Znotraj družine NaV kanalov so številne terapevtsko pomembne tarče in razvoj selektivnih modulatorjev teh kanalov je potencialno pomemben za zdravljenje trenutno še neozdravljivih bolezni. Obstoječe učinkovine z delovanjem na NaV kanale imajo relativno nizko jakost delovanja in so precej nespecifične za določen podtip kanala. Selektivni modulatorji kanala NaV1.3, ki smo jih razvili v okviru projekta so pomemben prispevek k razvoju tega znanstvenega področja. Nove spojine razvite v okviru projekta so pomemben in dragocen znanstveni prispevek k farmacevtski kemiji pri iskanju novih in boljših zdravil za zdravljenje ljudi. Rezultati so potencialno velikega pomena za reševanje problemov v zdravstvu. Najaktivnejše spojine odkrite tekom projekta so odlična osnova za farmacevtsko-kemijsko optimizacijo do še aktivnejših in bolj selektivnih zaviralcev NaV kanalov. Zaradi razširjenosti bakterijske rezistence je za znanost vse bolj pomemben razvoj novih protimikrobnih učinkovin z novimi mehanizmi delovanja. Novi derivati oroidina z delovanjem na različne bakterijske seve, ki smo jih načrtovali in pripravili tekom raziskovalnega projekta, bodo imeli velik pomen za znanost in zdravstvo. Na podlagi odkritih derivatov oroidina je možen nadaljnji razvoj učinkovitejših protibakterijskih učinkovin.

V svojih raziskavah smo dokazali tudi, da nekateri analogi oroidina delujejo kot zaviralci tvorbe bakterijskih biofilmov in tako predstavlja dobro osnovo za nadaljnjo optimizacijo in razvoj učinkovitejših zaviralcev tvorbe biofilmov bakterij *S. aureus* in *S. mutans*. Odkrili smo tudi, da nekateri pripravljene spojine delujejo kot induktorji apoptoze v nekaterih sesalskih celičnih linijah, kar je lahko pomemben prispevek pri razvoju protirakavih učinkovin. Izbrano serijo spojin smo ovrednotili tudi na različne podtipne napetostno odvisnih kalijevih kanalov, kjer so nekatere spojine izkazovale dobre zaviralne aktivnosti.

Rezultate in zanimiva odkritja povezana s projektom smo predstavili v obliki številnih povzetkov na znanstvenih konferencah, ustnih predstavitev in sedmih publikacijah v mednarodnih znanstvenih revijah. Tri dodatne publikacije so še v pripravi. Z objavami v mednarodnih revijah smo svoje ugotovitve delili s svetovno znanstveno skupnostjo in s tem prispevali k razvoju znanosti na različnih področjih.

ANG

NaV channels have an immense therapeutic potential which remains significantly under-exploited. Within the family of NaV channels there are many therapeutically highly relevant targets and the design of modulators of specific NaV channel subtypes might turn out as a key step towards new drugs for currently incurable diseases. Current drugs acting on NaV channels are neither very potent nor subtype-selective. NaV1.3 channel selective inhibitors that were

discovered within this project are of invaluable importance to the development of this scientific field. The results are of potential importance for science and human health care. New compounds developed during this project are an important and valuable scientific contribution to medicinal chemistry and health science in general, and represent a good basis for further development towards more potent and more selective inhibitors of NaV channels. Because of the widespread occurrence of resistant bacterial strains the search for new drugs with novel mechanisms of action is of great scientific importance. New oroidin analogues possessing activity on different bacterial strains identified during this project are relevant to health and life sciences. On the basis of the discovered structures, the development of improved antibacterials is possible.

We have discovered also that some of the prepared oroidin analogues inhibit the bacterial biofilm formation and thus represent good basis for further development of more effective inhibitors of *S. aureus* and *S. mutans* biofilm formation. We have discovered also, that some of the prepared analogues possess proapoptotic activity on selected mammalian cell lines which is a potentially relevant to the discovery of anticancer agents. A selected subset of compounds was evaluated also against different isoforms of voltage-gated potassium channels where some of the compounds displayed good inhibitory activities.

The results obtained during this project were disseminated in form of contributions at scientific conferences, oral communications and in seven scientific publications. Three more publications are currently in preparation. New scientific concepts and findings emerging from this project were made available to the worldwide scientific community and will hopefully stimulate creative research in different scientific fields.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Skupna tržna vrednost učinkovin z delovanjem na ionske kanale je ocenjena na približno 12 bilijonov ameriških dolarjev (Wickenden, A. in sod., *Future Med. Chem.* 2012, 4, 661–679) zato ni presenetljivo, da je to področje deležno velike pozornosti s strani farmacevtske industrije, kar se odraža tudi v velikem številu vloženih patentnih prijav. NaV kanali nudijo veliko priložnost za razvoj novih zdravil na različnih terapevtskih področjih, kljub temu pa spadajo med relativno slabo izkoriščene terapevtske tarče. Selektivni modulatorji kanala NaV1.3, ki smo jih razvili v okviru projekta imajo zato velik pomen za gospodarstvo in za družbo ter so potencialna priložnost za razvoj Slovenije. Njihov nadaljnji razvoj in uporaba v zdravilih bi imela velike pozitivne učinke na zdravje in gospodarstvo.

Razširjenost bakterijskih sevov, odpornih na obstoječe razrede antibiotikov predstavlja velik zdravstveni in družbeni problem. Prispevek k razvoju spojin s protimikrobnim delovanjem v okviru tega projekta bi lahko imela velike pozitivne učinke na zdravje in družbo.

Projekt je imel pozitiven vpliv za razvoj Slovenije tudi zaradi razširjanja novega znanja preko predstavitev rezultatov na številnih konferencah in v znanstvenih publikacijah. Te dejavnosti so bile hkrati promocija znanosti znotraj države in promocija slovenske znanosti in države po svetu. Projekt je bil pomemben za krepitev vezi v interdisciplinarnem, interinstitucionalnem in mednarodnem znanstvenem okolju.

ANG

Worldwide sales of ion channel-targeted drugs is estimated to be approximately US\$12 billion (Wickenden, A. et al., *Future Med. Chem.* 2012, 4, 661–679) so it is not surprising that this has prompted a high degree of interest from the pharmaceutical industry, resulting in numerous patent applications and patents. NaV channels offer a huge pool of opportunities for developing new drugs in different therapeutic areas, but nevertheless remain significantly under-exploited as therapeutic targets. Selective NaV1.3 channel modulators prepared during this project are of relevance for the society and its economy and are potentially important for the development of Slovenia. Later development and launching of a successful drug would have an immense positive effect on health and economy.

In addition, the widespread occurrence of bacterial strains resistant to currently used antibiotics presents a great health threat for the society. Our contribution to the identification of new

compounds with antibacterial activity could have a positive impact on health and society. The project had a positive impact for the development of Slovenia also through generation and dissemination of new knowledge through presentations at conferences and in scientific publications. These activities were important to promote science inside the country and also to promote Slovenian science and country worldwide. The project was very important for reinforcing the cooperation in interdisciplinary, interinstitutionary and international scientific environment.

10. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!

Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni

Cilj		
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	

		<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE

	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>

	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

Komentar

--

11.Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!**Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja**

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete					
	Varovanje okolja in trajnostni					

G.06.	razvoj	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.09.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

Komentar

--

12.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹¹

	Sofinancer		
1.	Naziv		
	Naslov		
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:		EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:		%
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja	Šifra	
		1.	
		2.	
		3.	
		4.	
		5.	
	Komentar		
	Ocena		

13.Izjemni dosežek v letu 2015¹²**13.1. Izjemni znanstveni dosežek**

Rezultate študije »Analogi morskih alkaloidov iz spužev rodu Agelas kot induktorji apoptoze v človeških HepG2 in THP-1 rakavih celičnih linijah« smo objavili v ugledni mednarodni znanstveni reviji Medicinal Chemical Communications s faktorjem vpliva 2.495.

- Tomašič, T.; Nabergoj, D.; Vrbeč, S.; Zidar, N.; Jakopin, Ž.; Žula, A.; Hodnik, Ž.; Jukič, M.; Anderluh, M.; Ilaš, J.; Sollner Dolenc, M.; Peluso, J.; Ubeaud-Séquier, G.; Muller, C. D.; Peterlin Mašič, L.; Kikelj, D. Analogues of the marine alkaloids oroidin, clathrocin, and hymenidin induce apoptosis in human HepG2 and THP-1 cancer cells. MedChemComm 2015 6 (1), 105-110.

13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

Rezultate študije z naslovom »Novi, selektivni modulatorji napetostno odvisnih natrijevih

kanalov« smo predstavili na ugledni mednarodni konferenci IXth Joint Meeting in Medicinal Chemistry, ki je potekala od 7-10 junija 2015 v Atenah v Grčiji. Joint Meeting in Medicinal Chemistry (JMMC) je priznana evropska konferenca s področja farmacevtske kemije in jo vsako drugo leto organizira Evropska federacija za farmacevtsko kemijo (EFMC).

- ZIDAR, Nace, TOMAŠIČ, Tihomir, PEIGNEUR, Steve, TYTGAT, Jan, MADGE, David J., ROGERS, Marc, KIKELJ, Danijel. New isoform selective voltage-gated sodium channel modulators. V: IXth Joint Meeting in Medicinal Chemistry, 7-10 June 2015, Athens, Greece : program. Athens: [s. n.], 2015, 1 [COBISS.SI-ID 3876977]

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Univerza v Ljubljani, Fakulteta za
farmacijo

Nace Zidar

ŽIG

Datum:

17.3.2016

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2016/11

¹ Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

² Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

³ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)

⁴ V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

⁵ Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'. [Nazaj](#)

⁶ Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'.

Družbeno-ekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.

Povzetek družbeno-ekonomskega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni

enoznačen, izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. prehod mlajših sodelavcev v gospodarstvo na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovitev podjetja kot rezultat projekta ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)

⁷ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ni voden v sistemu COBISS). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)

⁸ Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)

⁹ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹⁰ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹¹ Rubrike izpolnite / prepisite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

¹² Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2015 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2016 v1.00

20-3C-DC-A8-E5-D2-85-45-CD-43-F7-4E-32-A3-66-12-D4-3A-0E-30

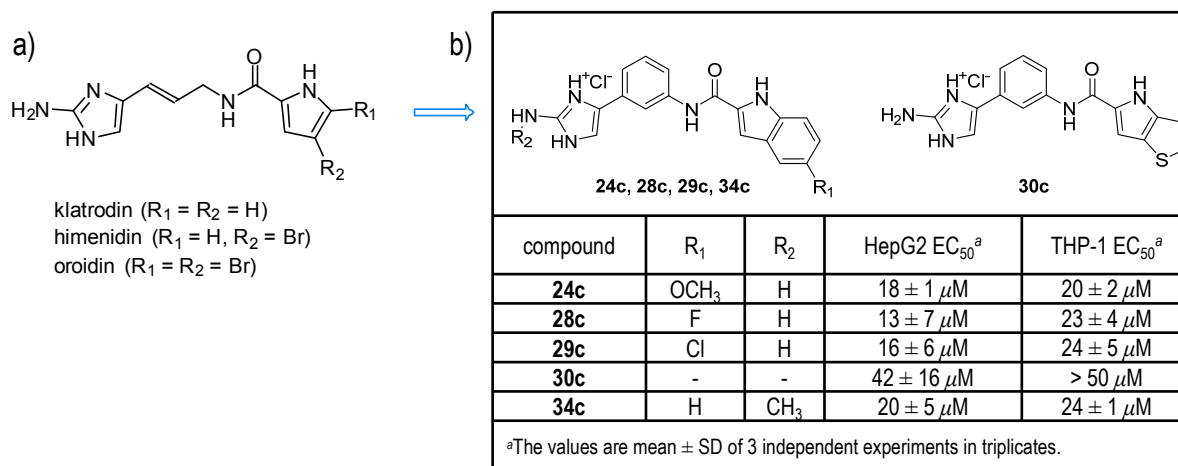
Priloga 1

VEDA: NARAVOSLOVJE IN MATEMATIKA

Področje: 1.09 - Farmacija

Dosežek: Analogi morskih alkaloidov iz spužev rodu *Agelas* kot induktorji apoptoze v človeških HepG2 in THP-1 rakavih celičnih linijah

Vir: Tomašič, T.; Nabergoj, D.; Vrbek, S.; Zidar, N.; Jakopin, Ž.; Žula, A.; Hodnik, Ž.; Jukič, M.; Anderluh, M.; Ilaš, J.; Sollner Dolenc, M.; Peluso, J.; Ubeaud-Séquier, G.; Muller, C. D.; Peterlin Mašič, L.; Kikelj, D. *MedChemComm* **2015** 6 (1), 105-110..



Shema 1. a) Strukture pirol-2-aminoimidazolnih alkaloidov klatrodina, himenidina in oroidina; b) Proapoptotično delovanje analogov **24c**, **28c-30c** in **34c**.

Morski alkaloidi klatrodin, oroidin in himenidin imajo številne opisane biološke učinke. V tej študiji smo opisali načrtovanje knjižnice njihovih analogov in vrednotenje njihovega proapoptotičnega delovanja na celicah človeškega jetrnega karcinoma (HepG2) in celicah akutne monocitne levkemije (THP-1). S pomočjo rezultatov presejalnega testiranja 96 spojin na celicah HepG2 smo določili ključne strukturne elemente in fizikalno-kemijske lastnosti, ki so pomembni za proapoptotično delovanje. Kot najaktivnejši induktorji apoptoze so se izkazali indolni analogi **24c**, **28c**, **29c** in **34c** (Shema 1) z EC₅₀ vrednostmi v nizkem mikromolarnem območju. Analiza celičnega cikla je potrdila, da spojine **24c**, **28c**, **29c** in **34c** inducirajo apoptozo celic THP-1 v 25 μM koncentraciji, s čemer predstavljajo te spojine dobro izhodišče za razvoj protirakavih učinkovin.