

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2014/15



## ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

## A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

## 1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

<b>Šifra projekta</b>	Z1-4111
<b>Naslov projekta</b>	Načrtovanje novih inhibitorjev bakterijskih Mur ligaz in dinamični model encima MurD iz E. coli
<b>Vodja projekta</b>	25493 Andrej Perdih
<b>Tip projekta</b>	Z Podoktorski projekt
<b>Obseg raziskovalnih ur</b>	3400
<b>Cenovni razred</b>	A
<b>Trajanje projekta</b>	07.2011 - 06.2013
<b>Nosilna raziskovalna organizacija</b>	104 Kemijski inštitut
<b>Raziskovalne organizacije - soizvajalke</b>	
<b>Raziskovalno področje po šifrantu ARRS</b>	1 NARAVOSLOVJE 1.09 Farmacija
<b>Družbeno-ekonomski cilj</b>	07. Zdravje
<b>Raziskovalno področje po šifrantu FOS</b>	3 Medicinske vede 3.01 Temeljna medicina

## B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta<sup>1</sup>

SLO

V okviru podoktorskega projekta Z1-4111 smo se ukvarjali z družino bakterijskih Mur ligaz (MurC-MurF). V prvem delu raziskav smo dinamični model encima MurD nadgradili in razširili. Ovrednotili smo energetske spremembe, povezane s fleksibilnostjo C-terminalne domene encima MurD, in identificirali ključne vmesne konformacije, ki so encimu lažje dostopne. Tako smo dobili kvantitativne kriterije, ki so omogočili uporabo teh struktur pri načrtovanju novih MurD inhibitorjev z upoštevanjem fleksibilnosti proteinske tarče. Izvedli smo tudi serijo simulacij molekulske dinamike (MD) novih MurD inhibitorjev, ki vsebujejo bodisi glutamatni del

ali pa njegov dikarboksilni rigidni D-Glu nadomestek, in izračunali proste energije vezave z uporabo metode linearne interakcijske energije (LIE).

Naš dinamični model in dostopne eksperimentalne podatke smo uporabili pri načrtovanju novih inhibitorjev Mur ligaz (MurC-MurF). Uporabili smo več sodobnih metod računske kemije: tridimenzionalne farmakoforne modele, tehnike virtualnega reševanja na osnovi prilaganja oblike in orodja molekulskega sidranja. Razvili smo tudi integrirano računsko platformo za načrtovanje učinkovin, kjer smo klasične metode strukturno podprtega načrtovanja sklopili z dinamičnimi metodami molekulskega modeliranja, kot je npr. molekulska dinamika in virtualno reševanje z uporabo multiplih proteinskih struktur. Uspešno smo identificirani prve multiple inhibitorje celotne verige MurC-MurF bakterijskih ligaz, ki imajo okarakterizirano inhibično aktivnostjo v nizkem mikromolarnem območju, ter odkrili prvi identificirani ATP-kompetitivni inhibitor encima MurD.

Rezultati, pridobljeni v okviru podoktorskega projekta, so pomembni za večje razumevanje delovanja encimov bakterijske družine Mur ligaz na atomskem nivoju. Nova raziskovalna spoznanja podoktorskega projekta Z1-4111 pa bodo tudi pomembno prispevala v boju proti rezistentnim bakterijam.

ANG

In the scope of the postdoctoral research project Z1-4111 our focus was directed toward the investigation of the bacterial Mur ligases (MurC-MurF). In the first part of our research the dynamical model of the MurD enzyme was further developed, thus providing an in-depth information important for antibacterial drug discovery efforts. The energy demands connected with the motion of the MurD enzyme C-terminal domain were investigated and binding free energies of the newly identified inhibitors were calculated using Linear Interaction Energy (LIE) method to provide critical insights into the driving forces responsible for successful molecular recognition.

Derived dynamical model of the MurD enzyme and available experimental data were utilized in design drug experiments to identify novel Mur ligase inhibitors. Our innovative integrated approach to drug design coupled dynamical computational molecular modeling approaches with classical virtual screening techniques. As a result, beside established screening experiments based on static protein models, molecular design studies taking multiple conformations of the protein into account and molecular dynamic simulations were also performed. The most important results of our design efforts represented successfully identified and characterized multiple inhibitors of the whole Mur ligase family (MurC-MurF) and the discovery of the first know ATP-competitive inhibitor of the MurD ligase.

Results obtained in the scope of the postdoctoral project Z1-4111 significantly complement the present knowledge and understanding of the Mur ligase family at the molecular level and importantly contribute to the antibacterial research efforts to combat resistant bacterial infections.

### 3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu<sup>2</sup>

#### **Realizacija raziskovalnih ciljev podoktorskega projekta Z1-4111:**

##### **1. Modeliranje konformacijskega zapiranja encima MurD**

Obravnavali smo energetiko zapiranja C-terminalne domene encima MurD izhajajoč iz izvedenih simulacij tarčne molekulske dinamike (TMD). Uporabili smo novo simulacijsko metodo replik off-path simulation method (OPS). Pokazali smo, da so gibanja C-terminalne domene, ki so omejena na ravnino centralne in N-terminalne domene, energijsko manj zahtevna kot

gibanja izven te ravnine. OPS simulacije so tudi pokazale, da so energijske bariere povezane z gibanjem C-terminalne domene znotraj ravnine centralne in N-terminalne domene minimalne ter nakazujejo obstoj večih konformacijskih stanj encima MurD, ki so na voljo za vezavo substratov. Ti podatki predstavljajo pomemben korak pri naši teoretični obravnavi gibanja te domene (Perdih et al. *Proteins* 2007) kot tudi pri načrtovanju novih inhibitorjev z upoštevanjem fleksibilnosti MurD.

PERDIH, Andrej, ŠOLMAJER, Tomaž. MurD ligase from *Escherichia coli*: C-terminal domain closing motion. *Computational and theoretical chemistry*, ISSN 2210-271X, 2012, vol. 979, str. 73-81. [COBISS.SI-ID [4840730](#)]

## **2. Raziskave molekulskega prepoznavanja in energetike vezave novih inhibitorjev MurD ligaz**

Izvedli smo serijo simulacij molekulske dinamike (MD) novih MurD inhibitorjev, ki vsebujejo bodisi glutamatni del ali pa njegov rigidni D-Glu nadomestek. Za izračun proste energije vezave smo uporabili metodo linearne interakcijske energije (LIE). Eksperimentalne konformacije novo identificiranih kompleksov inhibitorjev z encimom MurD iz obeh razredov so predstavljale začetne koordinate za simulacije molekulske dinamike.

Poiskali smo korelacije med izračunano interakcijsko energijo ter geometrijskimi parametri inhibitorjev. Ugotovili smo, da naš razvit LIE model za sulfonamidne D-Glu inhibitorje (Perdih et al. *J. Mol. Model* 2009) uspešno reproducira eksperimentalno prosto energijo vezave tudi za nove strukturne razrede. Ponovno se je tudi pokazalo, da so gonilna sila vezave inhibitorjev načrtovanih z D-Glu paradigmo van der Waalsove interakcije, elektrostatske interakcije pa igrajo manjšo vlogo.

PERDIH, Andrej, WOLBER, Gerhard, ŠOLMAJER, Tomaž. Molecular dynamics simulation and linear interaction energy study of D-Glu-based inhibitors of the MurD ligase. *Journal of computer-aided molecular design*, ISSN 0920-654X, Aug. 2013, vol. 27, iss. 8, str. 723-738. [COBISS.SI-ID [5303066](#)]

## **3. Načrtovanje, virtualno rešetje in eksperimentalno ovrednotenje novih inhibitorjev Mur ligaz z uporabo statičnih modelov**

### **3.1. 2,5 dimetilpirol-benzen 1,3-dikarboksilatni multipli inhibitorji Mur (MurC-MurF) ligaz**

V prvi študiji identifikacije novih inhibitorjev Mur ligaz smo izhajali iz odkritega 2,5-dimetilpirol-benzen 1,3-dikarboksilatnega inhibitorja, ki je bil okarakteriziran kot dualni MurD/MurE inhibitor bakterijskih Mur ligaz (Perdih et al. *BMCL*, 2009). Testirali smo razširjeno serijo teh spojin in identificirali nove analoge, ki so nakazovali možnost multiple inhibicije vseh štirih ligaz. Z predpostavljeno vezavno geometrijo inhibitorja smo izvedli simulacije linearne interakcijske energije (LIE), ki so pokazale, da imajo van der Waalsove interakcije najpomembnejšo vlogo za uspešno vezavo. Ovrednotili smo tudi geometrijske lastnosti medmolekulske prepoznavne med ligandom in encimom MurD.

Zgradili smo več farmakofornih modelov in izvedli eksperimente virtualnega rešetanja, ki so ohranili ključne strukturne lastnosti začetnih identificiranih inhibitorjev, pomembnih za uspešno medmolekulsko prepoznavanje. Eksperimentalno ovrednotenje inhibitorne aktivnosti na encimih družine Mur ligaz (MurC-MurF) smo izvedli v sodelovanju z raziskovalno skupino Fakultete za farmacijo. Identificirali smo novo serijo spojin 2,5-dimetilpirol-benzen 1,3-dikarboksilatnih inhibitorjev z rodaninsko skupino, ki so multipli inhibitorji vseh štirih Mur ligaz v določenih IC50 vrednostmi nizkem mikromolarnem območju.

Izbran predstavnik novega razreda je bil v sodelovanju s sodelavci na Fakulteti za farmacijo ovrednoten v kinetični študiji na encimu MurD za natančnejšo pojasnitev mehanizma inhibicije. Določili smo tudi  $K_i$  za to spojino, ki je bila v dobri korelaciji z IC50 vrednostjo. Aktivne spojine so bile ovrednotene v mikrobioloških testih na Statens Serum Institute v Copenhagenu na Danskem. Z najbolj obetavnimi spojinami smo v sodelovanju z raziskovalci na področju strukturne biologije na Institut de Biologie structurale Jean-Pierre Ebel (CNRS) v Grenoblu, Francija (dr. Sandy Favini, dr. Carlos Conteras Martel in dr. Andrea Dessen) in prof. Davidom Roperjem iz Univerze v Warwicku, Velika Britanija pričeli s kristalizacijskimi eksperimenti za določitev strukture kompleksa med posamezno Mur ligazo in najobetavnejšimi inhibitorji. Za nadaljnjo preučitev SAR lastnosti obeh serij smo eksperimentalno ovrednotili še dve seriji reduciranih analogov in ugotovili nujnost benzen 1,3-dikarboksilatnega dela za multiplo

aktivnost za Mur ligazah.

Članek, ki opisuje dobljene rezultate, je v času pisanja poročila v procesu recenzije.

### **3.2. Furan benzen mono- in dikarboksilatni multipli inhibitorji Mur (MurC-MurF) ligaz**

V drugi študiji identifikacije novih inhibitorjev Mur ligaz smo izhajali iz predhodno odkritega furan-benzen 1,3-dikarboksilatnega inhibitorja, ki je bil okarakteriziran kot dualni MurD/MurE inhibitor bakterijskih Mur ligaz (Perdih et al. *BMCL*, 2009). Začeli smo s testiranjem razširjene serije teh spojin in identificirali analoge, ki so izkazovali multiplo inhibicijo vseh štirih encimov družine Mur ligaz (MurC-MurF). Izbrani predstavnik novega razreda je bil v sodelovanju s sodelavci na Fakulteti za farmacijo ovrednoten v kinetični študiji na encimu MurD za določitev mehanizma inhibicije. Ugotovili smo, da je obravnavana spojina prvi znani ATP kompetitivni inhibitor encima MurD, saj je to prva znana spojina, za katero eksperimentalni podatki nakazujejo, da deluje po tem mehanizmu. Določili smo  $K_i$  vrednost, ki je bila v dobri korelaciji z  $IC_{50}$  vrednostjo. Za dodatni vpogled v mehanizem inhibicije smo izvedli simulacije molekulske dinamike v dveh alternativnih legah spojine (ATP mesto in UMA/D-Glu mesto) in izračunali povprečna interakcijskih energij za obe legi. Rezultati simulacij so nakazali, da je vezava spojine v ATP mesto encima MurD energijsko bolj ugodna.

V nadaljevanju smo na osnovi rezultatov simulacij molekulske dinamike načrtovali novo optimizirano serijo inhibitorjev, ki vsebujejo le eno izmed obeh karboksilnih skupin. Spojine so se v encimskih testih prav tako izkazale kot multipli inhibitorji celotne družine Mur ligaz (MurC-MurF) v nizkem mirkomolarnem območju. Aktivne spojine iz obeh serij so bile ovrednotene tudi v mikrobioloških testih na Statens Serum Institute v Copenhagenu, Danska. Reprezentativna spojina iz druge serije furan-benzen monokarboksilatnih inhibitorjev je pokazala obetavno protibakterijsko aktivnost na sevu *S. Aureus*. Z najbolj obetavnimi spojinami smo v sodelovanju s prej omenjenimi raziskovalci s področja strukturne biologije iz Grenobla (F) in Warwicka (VB) pričeli s strukturnimi študijami določitve vezave odkritih inhibitorjev na izbrane encime Mur ligaz. V zadnjem koraku raziskav smo za dopolnitev SAR opisa eksperimentalno ovrednotili še dve seriji reduciranih analogov in ugotovili nujnost benzen mono-karboksilatnega dela za ohranitev inhibitorne aktivnosti na Mur ligazah.

Članek, ki opisuje dobljene rezultate, je v času pisanja poročila v procesu recenzije.

### **4. Uporaba dinamičnega modela encima MurD za identifikacijo novih MurD inhibitorjev**

V tretji študiji identifikacije novih inhibitorjev Mur ligaz smo uporabili rezultate razvitega dinamičnega modela premikanja in energetike C-terminalne domene encima MurD (Perdih et al. *Proteins* 2007 in Perdih et al. *CTC* 2012) za identifikacijo novega razreda spojin s tiazolnim skeletom, ki delujejo kot inhibitorji MurD ligaze. Izbrali smo več intermediarnih proteinskih struktur, pridobljenih v izvedenih simulacijah tarčne molekulske dinamike (TMD), ki so ustrezale off-path OPS energijskim kriterijem. Pri eksperimentih virtualnega rešetanja smo metode molekulskega sidranja kombinirali s strukturno podprtimi farmakofornimi modeli in GRID mapami MurD ATP vezavnega mesta. Kombinacija in konsenz več kriterijev sta služila za izbor dveh kemijskih razredov spojin.

Eksperimentalno ovrednotenje inhibitorne aktivnosti na encime družine Mur ligaz (MurC-MurF) smo izvedli v sodelovanju z raziskovalno skupino Fakultete za farmacijo. Identificirali smo nov inhibitor iz tiazolnega razreda in ga ovrednotili v kinetični študijah na encimu MurD za določitev mehanizma inhibicije. Določili smo tudi  $K_i$  za to spojino, ki je bila v dobri korelaciji z  $IC_{50}$  vrednostjo. Izbrana spojina iz tiazolnega razreda je bila ovrednotena tudi v mikrobioloških testih na Statens Serum Institute v Copenhagenu, Danska in rezultati so pokazali začetno inhibitorno aktivnost na sevu patološke bakterije *S. Aureus*. Simulacije molekulske dinamike vseh uporabljenih proteinskih struktur so ključno pomagale pri razumevanju eksperimentalnih rezultatov kinetičnih meritev. Ti rezultati predstavljajo sodoben primer uporabe multiplih proteinskih struktur pri identifikaciji novih zdravilnih učinkovin.

PERDIH, Andrej, HRAST, Martina, BARRETEAU, H  l  ne, GOBEC, Stanislav, WOLBER, Gerhard, ŠOLMAJER, Tomaž. Inhibitor design strategy based on an enzyme structural flexibility : a case of bacterial MurD ligase. *Journal of chemical information and modeling*, 2014, str. 1-58, doi: [10.1021/ci500104m](https://doi.org/10.1021/ci500104m). [COBISS.SI-ID [5462810](https://www.cobiss.si/id/5462810)]

### **5. Publiciranje nove pregledne literature na področju načrtovanja novih zdravilnih učinkovin, ki je povezana s raziskovalno tematiko tega projekta.**

Tekom trajanja financiranja projekta smo s sodelavci objavili tako v slovenski kot tudi mednarodni periodiki nekaj pomembnih pregledov literature s področja načrtovanja zdravilnih učinkovin.

5.1. Na povabilo glavnega urednika revije *Current Organic Chemistry* smo dopolnili in razširili naš predhodno napisan pregledni članek o sintezi nenaravnih alfa aminokislin [Perdih A et al. *Curr. Org. Chem.* **2007**] z novimi prispevki na tem področju, ki pokrivajo časovno obdobje med leti 2007 in 2010.

PERDIH, Andrej et al. *Current Organic Chemistry*, 2011, vol. 15, no. 22, str. 3750-3799. [COBISS.SI-ID [3129713](#)]

5.2. DNA topoizomeraze so pomembna skupina encimov, ki katalizirajo uvedbo topoloških sprememb v DNA molekulo. Zaradi sposobnosti za modulacijo topologije DNA molekule ti encimi predstavljajo skupino tarč za razvoj novih zdravilnih učinkovin. Objavili smo dva pregledna članek predstavljata stanje razvoja novih katalitičnih inhibitorjev (prvi pregledni članek) in strupov (drugi pregledni članek) DNA topoizomeraze II kot novih protirakovinskih učinkovin.

POGORELČNIK, Barbara, PERDIH, Andrej, ŠOLMAJER, Tomaž. Recent advances in the development of catalytic inhibitors of human DNA topoisomerase II[alpha] as novel anticancer agents. *Current Medicinal Chemistry*, 2013, vol. 20, no. 5, str. 694-709. [COBISS.SI-ID [5190682](#)]

POGORELČNIK, Barbara, PERDIH, Andrej, ŠOLMAJER, Tomaž. Recent developments of DNA poisons - human DNA topoisomerase II[alpha] inhibitors - as anticancer agents. *Current Pharmaceutical Design*, 2013, vol. 19, iss. 13, str. 2474-2488. [COBISS.SI-ID [5190426](#)]

5.3 Objavili smo pregledni članek o integriranem pristopu iskanja spojin vodnic naravnega izvora z uporabo eksperimentalnih in računalniško podprtih metod. Spojine naravnega izvora predstavljajo zgodovinsko najpomembnejši vir zdravilnih učinkovin, ki jih zajema sodobna materia medica.

JUKIČ, Marko, PERDIH, Andrej, ŠOLMAJER, Tomaž. Integriran pristop iskanja spojin vodnic naravnega izvora z uporabo eksperimentalnih in računalniško podprtih metod = Integrated approach in the search of novel natural products as lead compounds using experimental and computer-based approaches. *Farmaceutski vestnik*, letn. 63, str. 54-63. [COBISS.SI-ID [4935450](#)]

5.4. Skupaj s študentko farmacije Barbaro Munda smo za glasilo študentov farmacije Spatula predstavili področje molekulskega modeliranja.

MUNDA, Barbara, PERDIH, Andrej. Pogled v svet atomov in molekul s pomočjo računalnika - molekulske modeliranje. *Spatula*, 2013, št. 61, str. 7-11 [COBISS.SI-ID 5341722]

#### 4. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev<sup>3</sup>

Podoktorski projekt **Z1-4111** je sledil sledečim ciljem:

- 1. Teoretični obravnavi gibanja C-terminalne domene encima MurD**
- 2. Teoretični energijski obravnavi vezave inhibitorjev encima MurD z uporabo metode linearne interakcijske energije (LIE)**
- 3. Načrtovanju in eksperimentalnemu ovrednotenju novih inhibitorjev družine Mur ligaz (MurC-MurF)**
- 4. Uporabi razvitega dinamičnega modela MurD za načrtovanje novih inhibitorjev encima MurD**
- 5. Publiciranju nove pregledne literature na področju načrtovanja novih zdravilnih učinkovin**

V času financiranja projekta smo uspešno končali raziskave opredeljene v predlogu projekta.

**Raziskovalna cilja 1,2** (teoretična razširitev dinamičnega modela MurD) sta že opisana v pripadajočih publikacijah.

**Raziskovalna cilja 3 in 4** sta bila uspešno realizirana.

a) Načrtovali, identificirali in eksperimentalno ovrednotili smo 4 nove strukturne razrede rigidnih multiplih Mur ligaznih inhibitorjev.

b) Uporabili smo rezultate dinamičnega modela premikanja C-terminalne domene MurD za identifikacijo novega razreda MurD inhibitorjev s tiazolnim skeletom.

Najpomembnejša dosežka projekta sta **prvi identificirani multipli inhibitorji celotne verige MurC-MurF bakterijskih ligaz z okarakteriziranimi IC50 vrednostmi na vseh 4 ligazah** ter **prvi ATP-kompetitivni inhibitor encima MurD**. Znanstveni publikaciji, ki opisujeta rezultate raziskovalnega cilja 3 sta v času pisanja poročila v recenzijskih postopkih v revijah s faktorjem vpliva. Rezultati raziskovalnega cilja 4 pa je že opisan v pripadajoči publikaciji.

**Raziskovalni cilj 5:** V sodelovanju z več priznanimi raziskovalci smo objavili 4 pregledne članke iz različnih tematik načrtovanja novih zdravilnih učinkovin.

#### Vzpostavljena mreža raziskovalnega sodelovanja

Poleg realizacije predlaganih raziskovalnih ciljev je bil pomemben korak tudi vzpostavitev novih ter krepitev obstoječih kontaktov z raziskovalnimi partnerji doma in v tujini. Vodja projekta je od aprila 2012 do februarja 2013 raziskoval v laboratoriju prof. Gerharda Wolberga na Freie Universität Berlin, Nemčija, ki je eden vodilnih evropskih raziskovalcev na področju računalniško podprtega načrtovanja zdravilnih učinkovin. Med aprilom 2013 in septembrom 2013 pa je raziskovalec gostoval v laboratoriju prof. Žanete Nikolovske Coleske na ameriški Univerzi v Michiganu, Ann Arbor, ZDA. Tekom projekta je vodja projekta sodeloval tudi s Fakulteto za farmacijo v Ljubljani, kjer je bil konec 2011 izvoljen v naziv docenta za področje farmacevtske kemije.

#### Dodatni raziskovalni cilji

V mnogih aspektih smo tudi preseгли okvire zastavljenih raziskav in uspešno sodelovali pri načrtovanju inhibitorjev in molekulskem modeliranju drugih protibakterijskih tarč, npr. bakterijske DNA giraze B in D-aspartat ligaze. Rezultati teh raziskav so objavljeni v štirih izvirnih znanstvenih člankih. Rezultati sodelovanja, pri molekulskih simulacijah proteina bilitranslokaze, pa so našli svoje mesto v dveh znanstvenih publikacijah (več opisano v razdelku 8).

### 5.Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine<sup>4</sup>

Sprememb programa raziskovalnega projekta in sestave projektne skupine v času izvajanja podoktorskega projekta Z1-4111 ni bilo.

### 6.Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine<sup>5</sup>

Znanstveni dosežek		
1.	COBISS ID	5462810
		Vir: vpis v poročilo
	Naslov	Uporaba razvitega dinamičnega modela MurD pri načrtovanju novih inhibitorjev encima MurD
	<i>SLO</i>	
	<i>ANG</i>	Inhibitor Design Strategy Based on an Enzyme Structural Flexibility: A Case of Bacterial MurD Ligase
		V študiji identifikacije novih inhibitorjev Mur ligaz smo uporabili rezultate razvitega dinamičnega modela premikanja in energetike C-terminalne domene encima MurD (Perdih et al. Proteins 2007 in Perdih et al. CTC

Opis	SLO	<p>2012) za identifikacijo novega razreda spojin s tiazolnim skeletom, ki delujejo kot inhibitorji MurD ligaze. Izbrali smo več intermediarnih proteinskih struktur, pridobljenih v izvedenih simulacijah tarčne molekulske dinamike (TMD), ki so ustrezale off-path OPS energijskim kriterijem. Pri eksperimentih virtualnega reševanja smo metode molekulskega sidranja kombinirali s strukturno podprtimi farmakofornimi modeli in GRID mapami MurD ATP vezavnega mesta.</p> <p>Identificirali smo nov inhibitor iz tiazolnega razreda in ga ovrednotili v kinetični študijah na encimu MurD za določitev mehanizma inhibicije. Določili smo tudi Ki za to spojino, ki je bila v dobri korelaciji z IC50 vrednostjo. Simulacije molekulske dinamike vseh uporabljenih proteinskih struktur so ključno pomagale pri razumevanju eksperimentalnih rezultatov kinetičnih meritev. Ti rezultati predstavljajo sodoben primer uporabe multiplih proteinskih struktur pri identifikaciji novih zdravilnih učinkovin.</p> <p>Vodja projekta je prvi in korespondenčni avtor članka.</p>	
	ANG	<p>In this study we presented a drug design strategy using multiple protein structures for the identification of novel MurD ligase inhibitors. Our main focus was the ATP-binding site of the MurD enzyme. In the first stage, three MurD protein conformations were selected based on the obtained OPS/TMD data (Perdih et al. Proteins 2007 in Perdih et al. CTC 2012) as the initial criterion. Subsequently, a two-stage virtual screening approach was utilized combining derived structure-based pharmacophores with molecular docking calculations.</p> <p>Selected compounds were then assayed in the established enzyme binding assays and one compound from the aminothiazole class was discovered to act as a dual MurC/MurD inhibitor in the micomolar range. A steady-state kinetic study was performed on the MurD enzyme to provide further information about the mechanistic aspects of its inhibition. In the final stage, all used conformations of the MurD enzyme with the aminothiazole compound were simulated in classical molecular dynamics (MD) simulations providing atomistic insights of the experimental results. Overall, the study depicts several challenges that need to be addressed when trying to a hit a flexible moving target such as the presently studied bacterial MurD enzyme and show the possibilities how computational tools can be proficiently used at all stages of the drug discovery process.</p> <p>The project leader is the first and corresponding author of the paper.</p>	
	Objavljeno v	American Chemical Society; Journal of chemical information and modeling; 2014; doi:10.1021/ci500104m Impact Factor: 4.304; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.252; A': 1; WoS: DY, ET, EV; Avtorji / Authors: Perdih Andrej, Hrast Martina, Barreateau Helene, Gobec Stanislav, Wolber Gerhard, Šolmajer Tomaž	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
2.	COBISS ID	5303066	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Simulacije molekulske dinamike in študija linearne interakcijske energije inhibitorjev MurD ligaze	
	ANG	Molecular dynamics simulation and linear interaction energy study of D-Glu-based inhibitors of the MurD ligase	
		<p>V študiji smo izvedli serijo simulacij molekulske dinamike (MD) novih MurD inhibitorjev, ki vsebujejo bodisi D-glutamatni del ali pa njegov dikarboksilni rigidni D-Glu nadomestek. Za izračun proste energije vezave smo uporabili metodo linearne interakcijske energije (LIE).</p> <p>Eksperimentalne konformacije novo identificiranih kompleksov inhibitorjev z encimom MurD iz obeh razredov so predstavljale začetne</p>	

Opis	SLO	<p>koordinate za simulacije molekulske dinamike.</p> <p>Ugotovili smo, da naš predhodno razvit LIE model za sulfonamidne D-Glu inhibitorje (Perdih et al. J. Mol. Model 2009) uspešno reproducira prosto energijo vezave tudi za nove strukturne razrede. Ponovno se je tudi pokazalo, da so gonilne sile za vezavo inhibitorjev, načrtovanih z D-Glu paradigmo, van der Waalsove interakcije, elektrostatske interakcije pa igrajo manjšo vlogo. Atomistični vpogled v medmolekulsko prepoznavanje smo dopolnili še s statičnimi tehnikami načrtovanja zdravilnih učinkovin. Rezultati te študije so pomembni za nadaljnjo optimizacijo spojin vodnic.</p> <p>Vodja projekta je prvi in korespondenčni avtor članka.</p>	
	ANG	<p>In this study as part of our investigation of the MurD bacterial target two recently discovered classes of the MurD ligase inhibitors were investigated resulting from the lead optimization phases of the N-sulfonamide D-Glu MurD inhibitors. Molecular dynamics simulations, based on novel structural data, in conjunction with the Linear Interaction Energy (LIE) method suggested the transferability of our previously obtained LIE coefficients (Perdih et al. J. Mol. Model 2009) to further D-Glu based classes of MurD inhibitors.</p> <p>Analysis of the observed dynamical behavior of these compounds in the MurD active site was supported by static drug design techniques. These results complement the current knowledge of the MurD inhibitory mechanism and provide valuable support for the D-Glu paradigm of the inhibitor design.</p> <p>The project leader is the first and corresponding author of the paper.</p>	
	Objavljeno v	<p>ESCOM; Journal of computer-aided molecular design; 2013; Vol. 27, iss. 8; str. 723-738; Impact Factor: 3.172; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.548; A': 1; WoS: CQ, DA, EV; Avtorji / Authors: Perdih Andrej, Wolber Gerhard, Šolmajer Tomaž</p>	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
3.	COBISS ID	4840730	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Študij energetike zapiranja C-terminalne domene encima MurD iz Escherichia coli	
	ANG	Research article describing the energetics of the C-terminal domain closing motion of the MurD ligase from Escherichia coli	
Opis	SLO	<p>Simulacije »off-path« tehnike (OPS), ki so razširitev že uveljavljene metode replik (RPATH), smo uporabili za določitev energetike povezane z premikanjem C-terminalne domene encima MurD, ki smo jo generirali s pomočjo simulacij tarčne molekulske dinamike (TMD) (Perdih et al., Proteins 2007).</p> <p>Rezultati so pokazali, da je prehod iz odprte 1EEH MurD strukture v zaprto 2UAG energijsko bistveno zahtevnejši od prehoda, izhajajočega iz odprte 1EOD strukture. Gibanja C-terminalne domene, ki so omejena na ravnino centralne in N-terminalne domene, so energijsko bistveno manj zahtevna kot gibanje iz te ravnine.</p> <p>Vodja projekta je prvi avtor članka.</p>	
		<p>Off-path simulation (OPS) technique, an extension of the well established Replica Path Method (RPATH), was applied to compare the relative energy of the two by C-terminal domain closing motions of the MurD ligase generated by TMD simulations (Perdih et al. Proteins 2007).</p>	



		<p>The first C-terminal domain closing process commenced from the experimental open structure in which this domain is located out of plane to the N-terminal and central domains (open structure pdb:1EEH). In the second trajectory the conformational movement is confined to this plane only (open structure pdb:1E0D). The obtained results indicated that the C-terminal domain movement occurring from the "out of plane" starting structure is coupled with much higher energy changes compared to the motion of this domain within this plane which is more freely available to the enzyme.</p> <p>The project leader is the first author of the paper.</p>
	Objavljeno v	Elsevier; Computational and theoretical chemistry; 2012; Vol. 979; Str. 73-81; Impact Factor: 1.139; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.304; WoS: EI; Avtorji / Authors: Perdih Andrej, Šolmajer Tomaž
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
4.	COBISS ID	4999450   Vir: COBISS.SI
	Naslov	<p><i>SLO</i> Strukturno podprto načrtovanje substituiranih bitiazolov kot novih zaviralcev DNA giraze</p> <p><i>ANG</i> Structure-based discovery of substituted bithiazoles as novel DNA gyrase inhibitors</p>
	Opis	<p><i>SLO</i> S pomočjo dostopnih strukturnih informacij vezave inhibitorja klorobiocina smo s kombinacijo farmakofornih modelov in eksperimentov molekulskega sidranja odkrili serijo substituiranih 4,5` bitiazolov kot novih inhibitorjev DNA Giraze B z aktivnostjo v nizkem mikromolarnem območju.</p> <p>Celoten razred inhibitorjev smo podrobno študirali tudi z več biofizikalnimi tehnikami: DSF, površinsko plazmonsko resonanco (SPR) in mikrotermoforezo (MST). Vezavo najpomembnejšega inhibitorja smo določili z metodo proteinske kristalografije (x-ray) in pri tem pokazali tudi na odlično ujemanje med eksperimentalno določeno vezavno geometrijo inhibitorja in in silico postavljenim modelom vezave.</p> <p>Vodja projekta je korespondenčni avtor članka skupaj s prof. T. Šolmajerjem.</p> <p><i>ANG</i> Starting from the available structural information about the binding of the natural product inhibitor, clorobiocin, we identified a novel series of 4,5` bithiazoles inhibitors of the DNA gyrase B with a low micromolar inhibitory activity, by implementing a two-step structure-based design procedure.</p> <p>This novel class of DNA gyrase inhibitors was extensively investigated by various techniques: Differential Scanning Fluorimetry (DSF), Surface Plasmon Resonance (SPR) and microscale thermophoresis (MST). The binding mode of the most potent inhibitor was revealed by Xray crystallography, confirming our initial in silico binding model.</p> <p>The project leader is a corresponding author of the paper together with prof. T. Solmajer.</p>
	Objavljeno v	American Chemical Society; Journal of medicinal chemistry; 2012; Vol. 55, issue 14; str. 6413-6426; Impact Factor: 5.614; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.567; A': 1; WoS: DX; Avtorji / Authors: Brvar Matjaž, Perdih Andrej, Renko Miha, Anderluh Gregor, Turk Dušan, Šolmajer Tomaž
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
5.	COBISS ID	5274906   Vir: COBISS.SI

Naslov	SLO	Odkritje prvih inhibitorjev bakterijskega encima D-aspartat ligaze iz seva <i>Enterococcus faecium</i> (Asl-fm)
	ANG	Discovery of the first inhibitors of bacterial enzyme D-aspartate ligase from <i>Enterococcus faecium</i> (Asl-fm)
Opis	SLO	<p>D-aspartat ligaza, ki je prisotna v bakteriji <i>Enterococcus faecium</i> (Asl-fm), je v zadnjih letih postala pomembna tarča za razvoj novih protibakterijskih učinkovin, usmerjenih proti multirezistentnim sevom te bakterije. V prvi stopnji raziskav smo sintetizirali in ovrednotili majhno kombinatorično knjižnico ATP-kompetitivnih inhibitorjev aminooksazolnega kemijskega razreda, ki delujejo kot inhibitorji bakterijskega encima biotin karboksilaza. Nekaj sintetiziranih spojin je pokazalo obetavno Asl-fm inhibitorno aktivnost v nizkem mikromolarnem območju.</p> <p>V drugi stopnji raziskav smo strukture teh aktivnih ligandov uporabili pri izgradnji in validaciji na ligandih temelječega tridimenzionalnega farmakofornega modela in izvedli virtualno rešanje knjižnice komercialno dostopnih spojin. Eksperimentalno ovrednotenje izbranih spojin je rezultiralo v identifikaciji dveh novih strukturnih razredov inhibitorjev Asl-fm: 7-amino-9H-purinov in 7-amino-1H-pirazolo[3,4d] pirimidinov, ki zavirata delovanje encima v nizkem mikromolarnem območju. Nadaljne kinetične študije so potrdile, da so odkrite spojine ATP-kompetitivni inhibitorji. Vezavo molekul smo študirali tudi z metodo izotermne tradicijske kalorimetrije (ITC). Opisane spojine predstavljajo prve znane inhibitorje Asl-fm.</p> <p>Vodja projekta je korespondenčni avtor članka skupaj s prof. A. Zega.</p>
	ANG	<p>The Daspertate ligase of <i>Enterococcus faecium</i> (Asl-fm) is an attractive target for the development of narrow-spectrum antibacterial agents that are active against multidrug-resistant <i>E. faecium</i>. In the first design stage, we synthesized and screened a small library of known ATP-competitive inhibitors of ATP-grasp enzymes. A series of amino oxazoles derived from bacterial biotin carboxylase inhibitors showed low micromolar activity. In the second design stage, a validated ligand-based pharmacophore modeling approach was used, taking the newly available inhibition data of an initial series of compounds into account.</p> <p>Experimental evaluation of the virtual screening hits identified two novel structural types of Asl-fm inhibitors with 7-amino-9H-purine and 7-amino-1H-pyrazolo[3,4d] pyrimidine scaffolds in the low micromolar range. Investigation of the inhibitors modes of action confirmed that these compounds are competitive with respect to the ATP molecule. The binding of inhibitors to the target enzyme was also studied using isothermal titration calorimetry (ITC). Compounds represent the first inhibitors of Asl-fm reported to date.</p> <p>The project leader is a corresponding author of the paper together with prof. A. Zega.</p>
	Objavljeno v	
Tipologija	1.01	Izvirni znanstveni članek

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine<sup>6</sup>

Družbeno-ekonomski dosežek			
1.	COBISS ID	252671232	Vir: vpis v poročilo
	Naslov	SLO	Soavtorstvo pri univerzitetnem učbeniku Farmaceutvska kemija III
		ANG	Co-authorship of the textbook Medicinal chemistry III: laboratory practice and seminars
	Opis	SLO	V okviru predmeta Farmaceutvska kemija III na dodiplomskem študiju farmacije na Univerzi v Ljubljani smo skupaj s soavtorji izdali nov učbenik, ki vsebuje tudi poglavje o uvodu v molekulsko modeliranje.
		ANG	In the scope of the subject Pharmaceutical Chemistry III, part of the undergraduate curriculum at the Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana the textbook Medicinal chemistry III: laboratory practice and seminars was published. (project leader contribution chapter: Introduction to molecular modeling).
	Šifra	D.10 Pedagoško delo	
	Objavljeno v	Fakulteta za farmacijo; 2010; III, 124 str.; Avtorji / Authors: Anderluh Marko, Mravljak Janez, Perdih Andrej, Sova Matej, Pečar Slavko	
Tipologija	2.03 Univerzitetni, visokošolski ali višješolski učbenik z recenzijo		
2.	COBISS ID	4996378	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Predavanje na Freie Universität Berlin o razvitem dinamičnem modelu encima MurD iz E. coli in in silico načrtovanju novih inhibitorjev
		ANG	Lecture at the Freie Universität Berlin on the developed computational model of the E. Coli MurD enzyme and in silico design of novel inhibitors of the Mur ligase family
	Opis	SLO	Med opravljanjem raziskovalnega dela na Freie Universität Berlin, Nemčija, je imel vodja projekta predavanje s področja raziskovalnega dela svojega podoktorskega projekta: Razvoj dinamičnega modela encima MurD iz E. coli in in silico načrtovanje novih inhibitorjev družine Mur ligaz.
		ANG	During the research visit at the Freie Universität Berlin in 2012 the project leader gave a lecture for the host research group concerning the topic of his postdoctoral project (Computational model of the E. Coli MurD enzyme and in silico design of novel inhibitors).
	Šifra	B.04 Vabljen predavanje	
	Objavljeno v	Freie Universität; 2012; Avtorji / Authors: Perdih Andrej	
Tipologija	3.14 Predavanje na tuji univerzi		
3.	COBISS ID	5302298	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Predavanje na Medical School, University of Michigan, Ann Arbor, USA o razvitem dinamičnem modelu encima MurD iz E. coli in in silico načrtovanju novih inhibitorjev
		ANG	Lecture at the Medical School, University of Michigan, Ann Arbor, USA on the developed computational model of the E. Coli MurD enzyme and in silico design of novel inhibitors of the Mur ligase family
	Opis	SLO	Med opravljanjem raziskovalnega dela na Medical School, University of Michigan, Ann Arbor, ZDA ,v letu 2013 je imel vodja projekta predavanje s področja raziskovalnega dela njegovega podoktorskega projekta: Computational exploration of the E. Coli MurD enzyme and in silico design of novel inhibitors of the Mur ligase family
		ANG	During the research visit at the Medical School, University of Michigan, USA in 2013 the project leader gave a lecture for the hosts research group concerning the topic of his postdoctoral project entitled: Computational

		exploration of the E. Coli MurD enzyme and in silico design of novel inhibitors of the Mur ligase family.
	Šifra	B.04 Vabljeno predavanje
	Objavljeno v	University of Michigan; 2013; Avtorji / Authors: Perdih Andrej
	Tipologija	3.14 Predavanje na tuji univerzi
4.	COBISS ID	5110298 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Somentor pri podeljeni Krkini nagradi ANG Co-mentorship for a Krka Prize
	Opis	SLO Vodja projekta je bil je somentor dr. Matjaža Brvarja pri njegovem raziskovalnem delu za Krkino nagrado z naslovom: Strukturno podprto načrtovanje novih zaviralcev DNAGiraze B. ANG The project leader served as a research co-supervisor for the Krka Prize awarded to dr. Matjaž Brvar for his work entitled: Structure-based design of novel DNA gyrase B inhibitors.
	Šifra	E.01 Domače nagrade
	Objavljeno v	Krka; 42. Krkine nagrade; 2012; Str. 53; Avtorji / Authors: Brvar Matjaž
	Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci
5.	COBISS ID	4996122 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Predstavitev raziskovalnega dela v nemškem jeziku v okviru prireditve Lange Nacht der Wissenschaften v Berlinu ANG Presentation of the research activities in the scope of the event Lange Nacht der Wissenschaften in Berlin to a wide public audience in German language
	Opis	SLO Raziskovalec je v okviru tradicionalne prireditve »dolga noč znanosti« 2. 6. 2012 (Lange Nacht der Wissenschaften), kjer se predstavljajo vse raziskovalne in akademske inštitucije mesta Berlin, med predstavitvijo raziskovalne skupine, kjer je opravljal raziskovalno delo, izvedel predstavitev svojega raziskovalnega področja v nemškem jeziku. ANG Researcher actively participated at the traditional event Lange Nacht der Wissenschaften organized on the 2. 6. 2012 by the city of Berlin to present and promote research activities and academic institutions of the city to the interested audience. In the scope of the research group presentation the project leader presented his research activities in German language.
	Šifra	D.10 Pedagoško delo
	Objavljeno v	Freie Universität; 2012; Avtorji / Authors: Perdih Andrej
	Tipologija	3.14 Predavanje na tuji univerzi

## 8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine<sup>Z</sup>

Vodja projekta je s svojo ekspertizo sodeloval še pri naslednjih raziskavah:

### 1. Bakterijska DNA giraza

a) Z ekspertizo iz virtualnega reševanja je sodeloval pri načrtovanju in karakterizaciji novih inhibitorjev DNA giraze:

BRVAR, Matjaž, PERDIH, Andrej et. al. Bioorg. Med. Chem. 2012, 20, 2572-2580.  
[COBISS.SIID-4935706]

BRVAR, Matjaž, PERDIH, Andrej et al. Journal of Medicinal Chemistry, 2012, 55, 6413-6426. [COBISS.SI-ID 4999450]

b) Z ekspertizo iz virtualnega reševanja je sodeloval pri študijah optimizacije 6-fluorokinolonov kot inhibitorjev DNA giraze:

MINOVSKI, Nikola, PERDIH, Andrej et al. Journal of Comp. Chem, 2013, 34, 790-801 [COBISS.SI-ID 5145626]

MINOVSKI, Nikola, PERDIH, Andrej et al. J. Mol. Model., 2012, 18, 1735-1753 [COBISS.SI-ID-4755738]

## 2. Bakterijska D-aspartat ligaza

Z ekspertizo iz virtualnega reševanja je sodeloval pri odkritju prvih inhibitorjev bakterijskega encima D-aspartat ligaza:

ŠKEDELJ, Veronika, PERDIH, Andrej et al. Eur. J. Med. Chem., 2013, 67, 208-220. [COBISS.SI-ID 5274906]

## 3. Sodelovanje pri študijah strukture proteina bilitranslokaze

S ekspertizo iz simulacij molekulske dinamike je sodeloval pri raziskavah strukture proteina bilitranslokaze:

PERDIH, Andrej, ROY CHOUDHURY, Amrita. PloS one, 2012, 7, e38967 [COBISS.SI-ID 4993562]

ROY CHOUDHURY, Amrita, PERDIH, Andrej et al. Biochimica et biophysica acta, Biomembranes, 2013, 1828, 11, 2609-2619 [COBISS.SI-ID 5261594]

## 4. Popularizacija molekulskega modeliranja med študenti farmacije

Skupaj z dodiplomsko študentko farmacije Barbaro Munda je vodja projekta napisal članek za glasilo študentov farmacije Spatula, kjer sta avtorja predstavila področje molekulskega modeliranja.

MUNDA, Barbara, PERDIH, Andrej. Spatula, okt. 2013, št. 61, str. 7-11 [COBISS.SI-ID 5341722]

## 5. Pedagoško delo

Vodja podoktorskega projekta je bil decembra 2011 izvoljen v naziv docenta za področje farmacevtske kemije na Fakulteti za farmacijo, Univerze v Ljubljani.

## 9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine<sup>8</sup>

### 9.1. Pomen za razvoj znanosti<sup>9</sup>

SLO

Podoktorski projekt Z1-4111: Načrtovanje novih inhibitorjev bakterijskih Mur ligaz in dinamični model encima MurD iz E. coli je obravnaval raziskave novih protibakterijskih zdravilnih učinkovin in teoretično obravnavo encima MurD.

V naših raziskavah smo v prvi fazi z uporabo novo razvite metode simulacije replik - off path simulation method (OPS) uspešno dopolnili naš razviti dinamični model encima MurD z izračuni energetike, povezanimi s premiki C-terminalne domene. Prav tako smo razširili razumevanje medmolekulskega prepoznavanja inhibitorjev MurD, ki so bili načrtovani, v okviru D-Glu paradigme, z metodo linearne interakcijske energije (LIE). Objavljeni članek z rezultati OPS računov predstavlja enega prvih objavljenih aplikacij te metode. Z metodami računalniško

podprtega načrtovanja smo identificirali in okarakterizirali več strukturnih razredov inhibitorjev bakterijskih Mur ligaz, primernih za nadaljnji razvoj do protibakterijskih zdravilnih učinkovin. Najpomembnejša rezultata projekta predstavljata prvi identificirani multipli inhibitorji celotne verige Mur ligaz (MurC-MurF) v nizkem mikromolarnem območju ter prvi identificirani ATP-kompetitivni inhibitor encima MurD.

Pomemben metodološki znanstveni dosežek projekta Z1-4111 je tudi kompleksnejši integriran pristop k načrtovanju zdravilnih učinkovin, saj smo klasične metode strukturno podprtega načrtovanja sklapljali z dinamičnimi metodami molekulskega modeliranja, kot sta npr. molekulska dinamika in reševanje z uporabo multiplih proteinskih struktur. Taka integrirana metodologija je trenutno redkeje prisotna v raziskovalnem procesu odkrivanja novih biološko aktivnih entitet tako zaradi daljšega časa potrebnega za izvedbo, kot relativno kratkega obdobja uporabe takega pristopa na področju načrtovanja zdravilnih učinkovin. Z novimi aplikacijami teh metod na encimih Mur ligaz smo pokazali na uporabnost razvite metodologije za pridobivanje ključnih informacij v fazi optimizacije začetnih zadetkov ter omogočili povečano razumevanje obnašanja proteinskih tarč.

Izvedene študije predstavljajo nova bazična znanja, ki so nujno potrebna za boljše razumevanje bakterijskih Mur ligaz, olajšajo pa tudi nadaljnji razvoj in optimizacijo odkritih spojin v farmacevtski industriji, ki vodi do zdravilnih učinkovin na trgu, namenjenih bolnikom z zdravstvenimi težavami zaradi rezistentnih bakterijskih infekcij.

Rezultate raziskav opravljene v času trajanja projekta smo skupaj s sodelavci objavili v devetih izvirnih in treh preglednih znanstvenih člankih, nekaj člankov z rezultati projekta pa je še v procesu recenzije.

ANG

Main scientific relevance of the performed research in the scope of the postdoctoral project Z1-4111 was the discovery of novel inhibitors of the bacterial Mur ligases which are suitable for subsequent development leading towards novel antibacterial drugs and further development of the existing dynamical model of the MurD ligase.

In the first stage of our research we have further developed the dynamical model of the MurD enzyme. The energy demands connected with the motion of the MurD enzyme C-terminal domain were investigated using a recently developed off-path simulation (OPS) method and binding free energies of the newly identified inhibitors were calculated using Linear Interaction Energy (LIE) method to provide critical insights into the driving forces responsible for successful molecular recognition. The published research article about the application of the OPS method represents one of the first reported applications of the OPS method in the literature. By using various methods of computer-aided molecular design and theoretical computational chemistry we successfully identified and characterized several chemical classes of Mur ligase inhibitors. The most important research breakthroughs obtained during the duration of the research project were successfully identified and experimentally characterized multiple inhibitors of the whole Mur ligase family (MurC-MurF) and the discovery of the first known ATP-competitive inhibitor of the MurD ligase.

Important methodological scientific advance of the Z1-4111 project is also reflected in a developed complex mechanistic-based approach to drug design in which we coupled classical structure-based approaches with dynamical methods of molecular modeling such as molecular dynamics simulation studies and virtual screening experiments using multiple protein structures. This integrated design approach is still in its infancy, partially due to longer timescales necessary to complete the studies, partially due to its relative recent presence in the field. Our results confirmed its promising utility for a better understanding of the investigated protein targets as well as identification of novel promising compounds.

Performed research studies yielded novel data important for better understanding of the bacterial Mur ligases. This gained knowledge can be quickly utilized in further development of the discovered compounds by the pharmaceutical industry which can ultimately produce novel antibacterial drugs as effective therapeutics for bacterial infections.

The most important research results obtained during the duration of the postdoctoral project

were published in nine original scientific articles and three review articles in highly ranked international scientific journals. In addition, several articles also describing the outcomes of this project are at the time of submission of this final report in reviewing process.

## 9.2. Pomen za razvoj Slovenije<sup>10</sup>

SLO

Podoktorski projekt Z1-4111 je opozoril na pereč zdravstveni problem bakterijske rezistence in ponudil potencialne rešitve tako s povečanim razumevanjem delovanja bakterijskih encimov Mur ligaz kot tudi z identifikacijo novih inhibitorjev. V družbi mora biti vseskozi prisotno zavedanje, da sta iskanje in identifikacija novih protibakterijskih zdravilnih učinkovin nujni za ohranjanje dosežene kvalitete življenja in učinkovitosti zdravstva na področju borbe proti patogenim bakterijam.

Farmacevtska industrija v Sloveniji predstavlja zelo pomembno in uspešno gospodarsko panogo, ki vseskozi podpira in tudi financira raziskave na področju farmacije. Zato je primarnega pomena za raziskovalce v Sloveniji, ki delujejo v akademskem okolju, da v okviru svojih zmožnosti in ekspertiz razvijejo uporabne ideje na svojih raziskovalnih področjih, ki bi bile uporabne tudi za nadaljnji industrijski razvoj. V preteklosti so v Sloveniji raziskave novih protibakterijskih zdravilnih učinkovin uspešno izvajali tudi v industrijskem okolju, kar dokazujejo številne objavljene patentne prijave in podeljeni patenti industrijskim raziskovalcem.

Uporabni rezultati podoktorskega projekta Z1-4111, tako novo razvite računske metodologije, ki kombinirajo statične in dinamične pristope k načrtovanju zdravilnih učinkovin, kot tudi odkrite spojine - inhibitorji Mur ligaz - tvorijo dobro osnovo za vzpostavitev nadaljnjega sodelovanja z visokotehnološkimi farmacevtskimi in biotehnološkimi podjetji in potencialno komercializacijo pridobljenega znanja tako v Sloveniji kot v tujini, kar je v skladu s smernicami razvoja slovenskega gospodarstva. Podoktorski projekt je vodji projekta tudi omogočil obisk in izvajanje raziskav na dveh uglednih raziskovalnih inštitucijah: Freie Universität Berlin, Nemčija in University of Michigan, Ann Arbor ZDA in tako krepitev raziskovalne mreže med slovenskimi in elitnimi tujimi raziskovalnimi centri.

Nova znanja (»know-how«), ki smo jih pridobili tako z uporabo teoretičnih pristopov, kot tudi z izvedenimi eksperimentalnimi študijami v povezavi z vzpostavljenimi sodelovanji s Fakulteto za farmacijo v Ljubljani, FU Berlin in skupino strukturnih biologov iz CNRS v Grenoblu, predstavljajo razvojni korak naprej za področje farmacevtske kemije in načrtovanje zdravilnih učinkovin v Sloveniji. Financiranje teh raziskav dokazuje, da je Slovenija na znanju temelječa družba, ki vzpodbuja inovativen razvoj in raziskave.

Posredni pomen za slovensko družbo in državo je bilo tudi večanje njenega znanstvenega ugleda, saj je vodja projekta izsledke znanstvenih rezultatov raziskav skupaj s sodelavci objavil v več uglednih mednarodnih revijah s faktorjem vpliva, aktivno sodeloval na znanstvenih srečanjih in konferencah ter imel tudi štiri vabljenega predavanja.

Nenazadnje je podoktorski projekt Z1-4111 pokazal na pomembnost interdisciplinarnosti in tesnega sodelovanja med raziskovalci z različnih področij za doseg istega cilja; v našem primeru večjega zdravstvenega blagostanja. Tako delovanje pošilja v družbo jasno sporočilo, da mora raziskovalna srenja stremeti k skupnemu reševanju znanstvenih izzivov ter sinergističnemu delovanju, ki presega nacionalne meje in posamezne raziskovalne ekspertize.

ANG

Postdoctoral program Z1-4111 addressed the important problem of bacterial resistance and thus generated and provided new potential solutions in the research field of antibacterials. On one hand it increased the atomistic understanding of the family of the bacterial Mur ligases as well as it enabled the identification of novel Mur ligase inhibitors. The whole society must have a constant awareness that research and identification of novel antibacterial agents is an essential activity to preserve the achieved quality of life and effective functioning of the health care services.

Slovenian pharmaceutical industry represents an important and successful field of the Slovenian economy which throughout its existence supported and financed research activities in the field of pharmaceutical. Thus, it is of fundamental importance for the Slovenian researchers, which are active in the academic field, to contribute as many new applicable ideas and concepts in the scope of their expertise as possible. In the past, the antibacterial research was also successfully performed in the Slovenian industry setting which is reflected by many filled patent applications and granted patents.

Research results of this postdoctoral project Z1-4111 such as novel integrated platforms for computer-aided drug design and inclusion of the targets dynamical aspect in the design experiments can form the basis for the initiation of subsequent fruitful collaborations with the pharmaceutical and biotechnological industry and also commercialization of the gained knowledge. This is in accordance with the currently adapted state guidelines for further development of the Slovenian economy. In addition, the financing of the postdoctoral project enabled the project leader to conduct his research activities at two highly established research institutions FU Berlin, Germany and University of Michigan, Ann Arbor, USA, strengthening the collaboration between Slovenian and established academic research institutions abroad.

New gained "know-how" which resulted as a consequence of the application of theoretical computational approaches coupled with performed experiments (done in collaboration with other research groups) on the investigated biological systems of Mur ligases represents an important step forward in the development of the Slovenian medicinal chemistry field and drug design approaches performed at the Slovenian research facilities. The sole possibility that this highly specialized knowledge could have emerged proves that Slovenian society supports the knowledge-based society paradigm as well as encourages innovative scientific research.

An indirect impact of this project on the Slovenian society was also displayed in its higher scientific reputation as a consequence of several novel publications appearing in highly respected scientific journals, active participation of the project leader at the international scientific conferences and meetings and several invited talks concerning this topic.

Finally, postdoctoral project Z1-4111 has also, hopefully, illustrated the importance of the interdisciplinary approach, when tackling biomedical scientific challenges, via tight collaboration of the researchers from different research groups and backgrounds all aiming to achieve a common goal – in our case - improved health status in the society. This collaboration emits a strong message that the whole research society must support the collaborative synergetic approach, which often goes beyond national borders as well as the expertise of a certain research field.

**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		
<b>F.01</b>	<b>Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.02</b>	<b>Pridobitev novih znanstvenih spoznanj</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.03</b>	<b>Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja</b>	



	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.04</b>	<b>Dvig tehnološke ravni</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.05</b>	<b>Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.06</b>	<b>Razvoj novega izdelka</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.07</b>	<b>Izboljšanje obstoječega izdelka</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.08</b>	<b>Razvoj in izdelava prototipa</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.09</b>	<b>Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.10</b>	<b>Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.11</b>	<b>Razvoj nove storitve</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

<b>F.12</b>	<b>Izboljšanje obstoječe storitve</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.13</b>	<b>Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.14</b>	<b>Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.15</b>	<b>Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.16</b>	<b>Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.17</b>	<b>Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.18</b>	<b>Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.19</b>	<b>Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.20</b>	<b>Ustanovitev novega podjetja ("spin off")</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE

	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.21 Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov</b>		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.22 Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov</b>		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.23 Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev</b>		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.24 Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev</b>		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.25 Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev</b>		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.26 Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev</b>		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.27 Prispevek k ohranjanju/varovanju naravne in kulturne dediščine</b>		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.28 Priprava/organizacija razstave</b>		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

<b>F.29</b>	<b>Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.30</b>	<b>Strokovna ocena stanja</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.31</b>	<b>Razvoj standardov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.32</b>	<b>Mednarodni patent</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.33</b>	<b>Patent v Sloveniji</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.34</b>	<b>Svetovalna dejavnost</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.35</b>	<b>Drugo</b>	
	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
<b>G.01</b>	<b>Razvoj visokošolskega izobraževanja</b>				

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"/>	
<b>G.02</b>	<b>Gospodarski razvoj</b>					
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"/>	
<b>G.03</b>	<b>Tehnološki razvoj</b>					
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"/>	
<b>G.04</b>	<b>Družbeni razvoj</b>					
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"/>	
<b>G.05.</b>	<b>Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete</b>					
<b>G.06.</b>	<b>Varovanje okolja in trajnostni razvoj</b>					
<b>G.07</b>	<b>Razvoj družbene infrastrukture</b>					
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"/>	
<b>G.08.</b>	<b>Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva</b>		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.09.</b>	<b>Drugo:</b>		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

**Komentar**

--

**12.Pomen raziskovanja za sofinancerje<sup>11</sup>**

	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 2013<sup>12</sup>****13.1. Izjemni znanstveni dosežek**

Pri identifikaciji novih inhibitorjev encimov Mur ligaz smo pri načrtovanju uporabili rezultate razvitega dinamičnega modela premikanja in energetike C-terminalne domene encima MurD (Perdih et al. Proteins 2007 in Perdih et al. Comp. Theor. Chem. 2012) za identifikacijo novega razreda spojin s tiazolnim skeletom, ki delujejo kot inhibitorji MurD ligaze. Nadalje izvedene simulacije molekulske dinamike (MD) vseh uporabljenih proteinskih struktur z vezanim inhibitorjem so ključno prispevale k razumevanju eksperimentalnih rezultatov kinetičnih meritev.

Rezultati te raziskave predstavljajo sodoben primer uporabe multiplih proteinskih struktur; tako pri identifikaciji novih biološko aktivnih molekul, kot tudi pri atomistični interpretaciji dobljenih eksperimentalnih rezultatov.

Članek, ki opisuje rezultate raziskav je objavljen v reviji Journal of Chemical Information and Modeling doi: 10.1021/ci500104m [COBISS.SI-ID 5462810] IF=4.304

**13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek**

--

**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:*

Kemijski inštitut

Andrej Perdih

**ŽIG**

Kraj in datum: 

Ljubljana	22.4.2014
-----------	-----------

**Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2014/15**

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

<sup>2</sup> 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](#)

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

<sup>4</sup> 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](#)

<sup>5</sup> 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](#)

<sup>6</sup> 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](#)

<sup>7</sup> 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](#)

<sup>8</sup> 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](#)

<sup>9</sup> Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

<sup>10</sup> Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

<sup>11</sup> 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](#)

<sup>12</sup> Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2013 (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/>, predstavitve dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2014 v1.03

89-64-C9-D7-08-57-D4-FF-DD-39-13-B8-B4-56-91-A6-24-A4-B0-03

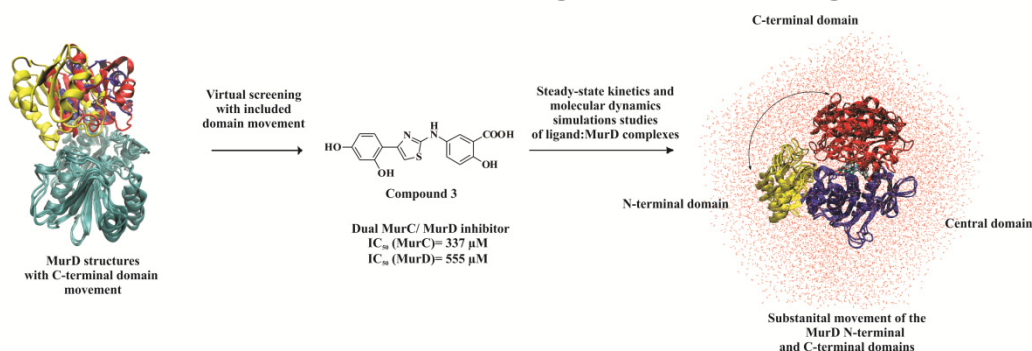


## **Priloga 1**

# NARAVOSLOVNE VEDE

## Področje: 1.09 Farmacija

### **Dosežek 1 – Strategija načrtovanja novih inhibitorjev encima MurD z uporabo razvitega dinamičnega modela**



Vir: PERDIH et al., **Inhibitor design strategy based on an enzyme structural flexibility: A case of bacterial MurD ligase** .*J. Chem. Inf. Model.*, **2014**, doi:[10.1021/ci500104m](https://doi.org/10.1021/ci500104m) [COBISS.SI-ID [5462810](https://www.cobiss.si/id/5462810)] IF=4.304

Povečan razvoj bakterijske rezistence na uveljavljene antibiotike v klinični praksi kaže na nujnost pospešenega iskanja novih protibakterijskih učinkovin.

Pri identifikaciji novih inhibitorjev encimov Mur ligaz smo pri načrtovanju uporabili rezultate razvitega dinamičnega modela premikanja in energetike C-terminalne domene encima MurD (Perdih et al. *Proteins* 2007 in Perdih et al. *Comp. Theor. Chem.* 2012) za identifikacijo novega razreda spojin s tiazolnim skeletom, ki delujejo kot inhibitorji MurD ligaze. Nadalje izvedene simulacije molekulske dinamike (MD) vseh uporabljenih proteinskih struktur z vezanim inhibitorjem so ključno prispevale k razumevanju eksperimentalnih rezultatov kinetičnih meritev.

Rezultati te raziskave predstavljajo sodoben primer uporabe multiplih proteinskih struktur; tako pri identifikaciji novih biološko aktivnih molekul, kot tudi pri atomistični interpretaciji dobljenih eksperimentalnih rezultatov.