

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/94



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	L1-4039
Naslov projekta	Predklinični razvoj novih protimikrobnih učinkovin
Vodja projekta	15284 Stanislav Gobec
Tip projekta	L Aplikativni projekt
Obseg raziskovalnih ur	8430
Cenovni razred	B
Trajanje projekta	07.2011 - 06.2014
Nosilna raziskovalna organizacija	787 Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	104 Kemijski inštitut
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	1 NARAVOSLOVJE 1.09 Farmacija
Družbeno-ekonomski cilj	07. Zdravje
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	3 Medicinske vede 3.01 Temeljna medicina

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

V zadnjih letih zdravstveni sistem postaja vedno bolj odvisen od uporabe antibiotikov. Po drugi strani pa zaradi selekcijskih pritiskov opažamo vedno pogostejše pojavljanje odpornih bakterij, ki so že postale globalni zdravstveni problem. Zdravstveni sistemi nujno potrebujejo nova protibakterijska zdravila, ki bi zdravnikom omogočila nove in bolj uspešne načine zdravljenja bakterijskih infekcij. S tem projektom smo prispevali k razvoju novih encimskih inhibitorjev, ki

delujejo na biosintezo bakterijskega peptidoglikana in imajo zato protibakterijsko delovanje.

Peptidoglikan je makromolekula, ki je nujno potrebna in specifična za bakterijsko celično steno. Pomembna je za vzdrževanje celične celovitosti, saj ščiti bakterijo pred lizo zaradi osmotskega pritiska. Številni encimi, ki so vpleteni v biosintezo peptidoglikana, predstavljajo potencialna tarčna mesta za razvoj novih protibakterijskih učinkovin. Da bi odkrili nove spojine vodnice za razvoj protibakterijskih učinkovin, smo ciljali na izbrane encime iz različnih bakterijskih vrst, ki katalizirajo znotrajcelične stopnje (Mur ligaze MurC-F in DdlB) in zunajcelične stopnje (penicilin vezoči proteini, PBP) biosinteze peptidoglikana. Strategija odkrivanja inhibitorjev je temeljila na dostopnih kristalnih strukturah in na kristalnih strukturah, pridobljenih med izvajanjem projekta in je vključevala *de novo* načrtovanje molekul, virtualno reševanje visoke zmogljivosti, kemijsko sintezo knjižnic potencialnih inhibitorjev in njihovo biokemično (ugotavljanje encimske inhibicije), strukturno (rentgenska kristalografija) in mikrobiološko (MIC vrednosti) vrednotenje. Razvili smo več nekovalentnih inhibitorjev iz različnih kemijskih razredov, ki imajo protibakterijsko delovanje. Pridobili smo tudi več kompleksov inhibitor-tarčni encim.

Značilnost te projektne prijave je bila v (1) pristopu, s katerim smo ciljali na več tarčnih encimov iz različnih bakterij, in (2) v uporabi velikega števila različnih tehnik, ki so na voljo v laboratorijih vodje projekta iz Slovenije in laboratorijih mednarodnih partnerjev. Projektna skupina vodje projekta je bila specializirana za uporabo računalniških metod pri odkrivanju novih protibakterijskih učinkovin, farmacevtsko kemijo in sintezno organsko kemijo. Projektne skupine partnerjev iz tujine pa so sodelovale z ekspertizo iz ekspresije in izolacije encimov biosinteze peptidoglikana, mikrobiologije ter rentgenske kristalografije.

Tekom projekta smo razvili več serij obetavnih inhibitorjev biosinteze peptidoglikana. Spojine vodnice, odkrite med izvajanjem predlaganega projekta, predstavljajo pomemben korak k razvoju novih protibakterijskih učinkovin in s tem k boju proti naraščajoči rezistenci na antibiotike. Vključenost industrijskega partnerja je omogočila hiter prenos znanja v slovensko farmacevtsko industrijo. Dosežki projekta predstavljajo pomemben prispevek k razvoju novih protibakterijskih učinkovin.

ANG

As society has become increasingly dependent upon antibiotics, the selection pressure for emergence of resistant bacterial strains has increased, and so-called antibiotic-resistant 'superbugs' are now a major global health problem. The development of resistance can interfere with, or even prevent, the treatment of bacterial infections, especially in hospitals. New drugs are urgently needed to provide doctors with fresh options to treat these infections. During the project, we discovered new inhibitors which attack the formation of bacterial peptidoglycan and therefore have antibacterial activity.

Peptidoglycan is a macromolecule which is essential for and specific to the bacterial cell wall. The numerous enzymes involved in its biosynthetic pathway constitute potential targets for the discovery of new antibiotics. To identify novel lead compounds that are important for antibacterial drug discovery, we have targeted the selected enzymes that catalyze the intracellular stages (Mur ligases MurC-F and DdlB) and extracellular stages (the penicillin-binding proteins) of peptidoglycan biosynthesis. Strategies for inhibitor discovery were based on the available X-ray crystal structures and have involved sophisticated computational techniques, like *de novo* structure-based inhibitor design and virtual high-throughput screening, and chemical synthesis of libraries of potential inhibitors and their biochemical (evaluation of inhibitory activities), structural (determination of X-ray crystal structures) and antimicrobial (determination of MIC values) evaluation. We discovered several structurally distinct lead molecules with micromolar or nanomolar inhibition of target enzymes and with antimicrobial activities. Additionally, several co-crystal structures of inhibitors with their respective enzymes were resolved.

The strength of this project included (1) the multi-targeted approach that involved enzymes from a variety of pathogenic species, and (2) the vast number of techniques employed, provided by the different types of highly complementary expertise of all partners included. The group of the partners from Slovenia was specialized in computational drug discovery methods like virtual high-throughput screening and *de novo* molecular design, medicinal chemistry and synthetic organic chemistry, while other international partner groups were specialized in bacterial peptidoglycan biosynthesis enzymes expression and purification, biochemistry, microbiology and X-ray crystallography. During the project we have developed a series of promising inhibitors of bacterial peptidoglycan biosynthesis enzymes. Lead compounds identified in this project represent important steps towards the development of new broad action antibacterials that will be of key importance in the fight against emerging bacterial resistance. The involvement of industrial partner has allowed for the rapid transfer of knowledge to the Slovenian pharmaceutical industry.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

1. Encimi znotrajceličnih stopenj biosinteze peptidoglikana

Razvoj inhibitorjev znotrajceličnih stopenj biosinteze peptidoglikana je potekal v sodelovanju z IBBMC, Université de Paris-Sud, Orsay, Francija (dr. Didier Blanot in dr. Helene Barreteau), z University of Warwick, School of Biosciences, UK (dr. David Roper in dr. Adrian Lloyd), z University of Leeds, School of Molecular and Cellular Biology, UK (dr. Alex O'Neill in prof. Ian Chopra) in z Institut de Biologie Structurale, Bacterial Pathogenesis Group, Grenoble, Francija (dr. Andrea Dessen in dr. Carlos Contreras-Martel).

MurA-C

V sodelovanju z IBBMC, Université de Paris-Sud, Orsay, Francija, smo izolirali encime MurA, MurB in MurC iz *Escherichia coli* in v naših laboratorijih postavili test za vrednotenje encimskih inhibitorjev. Za merjenje inhibicije encimov tako zdaj uporabljamo spektroskopski test na mikrotitrskih ploščah, ki omogoča hitro in sočasno merjenje biološke aktivnosti več spojin. S tem testom smo najprej reševali spojine iz knjižnice spojin Fakultete za farmacijo (pribl. 1500 spojin) in dobili prve zadetke, inhibitorje MurA in MurB (Mesec U., Diplomatska naloga, 2014). Izvedli smo tudi virtualno reševanje visoke zmogljivosti na MurC in naši mikromolarne inhibitorje encima z novimi ogradi (Tomašič et al. J. Mol. Model. 2012, 18: 1063-1072; Perdih et al. Bioorg. Med. Chem. 2014, 22: 4124-4134).

MurD

Med projektom smo razvili obsežno serijo inhibitorjev MurD, ki so derivati glutaminske kisline in predstavljajo dobro osnovo za strukturno-podprto načrtovanje izboljšanih derivatov (Židar et al. Eur. J. Med. Chem. 2011, 46: 5512-5523). Nekatere spojine iz te serije so bili dualni inhibitorji MurD in MurE (Tomašič et al. ACS Med. Chem. Lett. 2012, 3: 626-639). V naslednjih stopnjah razvoja smo v inhibitorje MurD vgradili sulfonamidno vez in s pomočjo NMR spektroskopije in študija molekulske dinamike proučili njihov način vezave v aktivno mesto (Simčič et al. PLoS ONE 2012, 7(12): e52817). Inhibitorje MurD smo iskali tudi z metodami virtualnega reševanja in dobili nove derivate benzen-1,3-dikarboksilne kisline (Perdih et al. Bioorg. Med. Chem. 2014, 22: 4124-4134, Perdih et al. J. Chem. Inf. Model. 2014, 54, 1451-1466).

V preteklosti smo v raziskovalni skupini vodje projekta načrtovali predvsem inhibitorje ligaze MurD iz *E. coli*. V zadnjem času pa smo svoje delo še razširili na ligaze MurD iz ostalih patogenih bakterij, saj spekter delovanja MurD inhibitorjev iz *E. coli* ni znan. Spojine, ki smo jih primarno načrtovali kot inhibitorje MurD *E. coli*, smo testirali še na ligazah MurD iz *B. burgdorferi*, *M. tuberculosis*, *S. aureus* in *S. pneumoniae*. Od 19 testiranih spojin jih 14 kaže inhibitorno aktivnost na vsaj eni ligazi MurD. Za boljše razumevanje rezultatov smo s pomočjo računalniških metod zgradili filogenetsko drevo na osnovi medsebojnih podobnosti v sekvenci

ligaz MurD iz patogenih bakterij. Ugotovili smo, da se ligaza MurD iz *E. coli* zelo razlikuje od ostalih štirih ligaz. Ker so kljub temu naše spojine aktivne tudi na teh ligazah MurD, predstavljajo odlično izhodišče za načrtovanje inhibitorjev MurD s širokospektralnim delovanjem (Barreateau et al. Biochem. Pharmacol. 2012, 85: 625-632).

Pripravili smo literaturni pregled dosežkov na področju razvoja inhibitorjev MurD (Šink et al. Biomolecular Concepts 2013, 4: 539-556).

MurE

Med inhibitorji MurD, ki v svoji strukturi vsebujejo D-glutaminsko kislino, smo našli dualne inhibitorje MurD/MurE (Tomašič et al. ACS Med. Chem. Lett. 2012, 3: 626-639). V sodelovanju s partnerji iz University of Warwick (Warwick, UK) smo dobili kristalno strukturo MurE iz seva *Staphylococcus aureus*. Kristalna struktura MurE v kompleksu z ADP in produktom reakcije, UDP-MurNAc-L-Ala-γ-D-Glu-L-Lys, razrešena v resoluciji 1,8 Å, nam je razkrila, na kakšen način ta encim iz Gram-pozitivne bakterije loči med L-lizinom in D,L-diaminopimelinsko kislino, kar je izrednega pomena za razvoj novih inhibitorjev (Ruane et al. J. Biol. Chem. 2013, 288: 33439-33448).

MurF

V okviru projekta smo razvijali predvsem inhibitorje MurF iz *S. pneumoniae*, saj je njegova kristalna struktura na voljo v kristalografski banki podatkov. V sodelovanju z mednarodnimi partnerji smo kot prva akademska skupina uspešno izolirali ligazo MurF iz *S. pneumoniae*. Encim smo nato na Fakulteti za farmacijo kinetično okarakterizirali in določili konstante vezave za vse substrate. Vzporedno smo izvedli virtualno reševanje na osnovi strukture znanih inhibitorjev MurF razvitih pri podjetju Abbott (Turk et al. Acta Chim. Slov. 2013, 60:294-299). Od 31 virtualnih zadetkov ena spojina inhibira MurF iz *S. pneumoniae* in dve MurF *E. coli*. S klasičnimi farmacevtsko-kemijskimi metodami smo načrtovali in sintetizirali obsežno serijo 40 spojin, ki so strukturni analogi spojin razvitih pri podjetju Abbott. Med njimi jih preko 30 kaže inhibitorno aktivnost, najboljše v nanomolarnem koncentracijskem območju. Nekatere spojine imajo tudi protibakterijsko delovanje in vitro. Razrešili smo dve kristalni strukturi inhibitorjev v kompleksu z MurF (Hrast et al. Eur. J. Med. Chem. 2013, 66: 32-45).

Kristalni strukturi pridobljeni v prejšnjih raziskavah sta nam služili kot osnova za nadaljnjo strukturno podprto načrtovanje inhibitorjev. Načrtovali, sintetizirali in biološko ovrednotili smo približno 30 spojin, ki so zavirale delovanje encima MurF iz *Streptococcus pneumoniae* in *Escherichia coli* v nizkem mikromolarnem območju. Tarčne spojine so imele nižjo molekulsko maso in nižjo lipofilnost kot prva serija spojin, poleg tega pa so imele protibakterijsko delovanje na izbrane Gram-pozitivne in Gram-negativne seve, kar je velik napredek pri odkrivanju in načrtovanju inhibitorjev znotrajceličnih encimov (Hrast et al. Eur. J. Med. Chem. 2014, 73: 83-96).

Murein peptidna ligaza (Mpl)

Murein peptidna ligaza (Mpl) je encim prisoten pri nekaterih G- bakterijah. Katalizira pripenjanje tripeptida L-Ala-γ-D-Glu-mezo-diaminopimelat na nukleotidni prekursor UDP-MurNAc in skrbi za energetsko varčno obnavljanje peptidoglikana. Načrtovali in sintetizirali smo lažne substrate tripeptidov z motivom L-Ala-γ-D-Glu-Xaa, ki bi jih Mpl vezal na UDP-MurNAc in bi se na ta način vgradili v celično steno, ter tako motili prečno premreženje peptidoglikana. Tripeptid z Xaa = ε-D-Lys se je izkazal kot odličen substrat za Mpl iz *E. coli*, vendar ni imel protibakterijske aktivnosti, najverjetneje zaradi slabega prehoda v celico (Herve et al. Biochimie 2013, 95: 1120-1126).

Ligaza DdlB

D-Alanin:D-alanin ligaza (Ddl) je esencialen od ATP odvisen bakterijski encim udeležen pri biosintezi peptidoglikana. Odkrivanje novih inhibitorjev

nekompetitivnih z ATP je zahtevno, ker je v ligazi Ddl bimolekularno vezavno mesto za D-alanin zelo majhno in obenem težko dostopno za večje molekule, saj je katalitično aktivna konformacija encima Ddl zaprta. S pomočjo molekulske dinamike smo izvedli študijo odpiranja in zapiranja poklopne zanke ligaze Ddl, kar je olajšalo strukturno podprto načrtovanje novih inhibitorjev tega encima, saj smo lahko upoštevali fleksibilnost aktivnega mesta. S pomočjo virtualnega reševanja na z molekulsko dinamiko zgeneriranih konformacijah encima Ddl smo odkrili nekaj novih inhibitorjev, ki smo jih tudi biokemično ovrednotili (Hrast et al. J. Med. Chem. 2012, 55: 6849-6856). Razvili smo tudi serijo ATP-kompetitivnih inhibitorjev Ddl z 6-arilpridopirimidinsko strukturo (Škedelj et al. PloS ONE 2012; 7: e39922-1).

2. Encimi zunajceličnih stopenj biosinteze peptidoglikana

Razvoj inhibitorjev zunajceličnih stopenj biosinteze peptidoglikana je potekal v sodelovanju s partnerji iz University of Liège, Liège, Belgija (prof. Bernard Joris in dr. Eric Sauvage).

Penicilin vezoči proteini (PBP) so uveljavljena, validirana ter še vedno obetavna tarča za načrtovanje in razvoj novih protimikrobnih učinkovin. Na osnovi naših, pred kratkim odkritih nekovalentnih inhibitorjev transpeptidazne domene PBP iz rezistentnih sevov (Turk et al. PloS ONE 2011, 6: e19418), smo dodatno raziskali kemijski prostor teh spojin. Z namenom bolje razjasniti odnos med strukturo in delovanjem smo sintetizirali ter biokemijsko ovrednotili dve seriji spojin: derivate antranilne kisline ter naftalen- sulfonamidne derivate. Spojinam smo določili inhibitorno aktivnost na treh različnih transpeptidazah, in sicer na PBP2a iz na meticilin odpornega *Staphylococcus aureus* (MRSA), PBP5fm iz *Enterococcus faecium* (sev D63r) ter na PBP1b iz seva *Streptococcus pneumoniae*. Najbolj obetavne rezultate pri obeh serijah spojin smo dobili na encimu PBP2a z IC50 vrednostmi v mikromolarnem območju. Ti rezultati nudijo uporabne podatke o odnosu med strukturo in delovanjem ter tako tudi boljšo osnovo za nadaljnje načrtovanje močnih, nekovalentnih inhibitorjev PBP iz rezistentnih bakterij (Sosič et al. Acta Chim. Slov. 2012, 59: 380-388).

V sodelovanju s partnerjem iz Belgije smo razvijali tudi inhibitorje glikoziltransferazne domene penicilin vezočih proteinov. Na Fakulteti za farmacijo smo s klasičnimi farmacevtsko-kemijskimi metodami načrtovali in sintetizirali obsežno serijo 30 spojin, ki so analogi triptamina. Spojine so bile nato biokemijsko in mikrobiološko ovrednotene na University of Liège. Od 30 spojin jih 12 kaže inhibitorno aktivnost na glikoziltransferazni domeni v nizkem mikromolarnem območju. Od teh 12 spojin, jih ima 6 in vitro protibakterijsko aktivnost (Sosič I., Doktorska disertacija 2012, članek v pripravi).

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

Program dela je v celoti izveden, vsi cilji so doseženi.

V programu dela smo si zadali cilj razviti nove inhibitorje znotrajceličnih encimov (MurA do MurF, Ddl) in zunajceličnih encimov (penicilin vezoči proteini) biosinteze bakterijskega peptidoglikana. Kot je razvidno iz točke 3 tega poročila, smo razvili inhibitorje vseh tarčnih encimov. Za nekatere smo tudi uspeli pridobiti kristalne strukture v kompleksu s svojimi tarčnimi proteini. Razviti inhibitorji predstavljajo pomembne spojine vodnice za razvoj protibakterijskih učinkovin.

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

Program dela projektne skupine se ni spremenil in je potekal skladno z načrtom, oddanim ob

prijavi.

Projektna skupina je številčno ostala ista, zaradi odhoda v tujino je raziskovalca dr. Sama Turka nadomestil dr. Jakob Kljun.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	3007857	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Novi nekovalentni inhibitorji penicilin vezočih proteinov iz na penicilin odpornih bakterij
		ANG	New noncovalent inhibitors of penicillin-binding proteins from penicillin-resistant bacteria
	Opis	SLO	Penicilin vezoči proteini (PBP) so znane in validirane tarče za razvoj novih protimikrobnih učinkovin. Klinično najpomembnejši inhibitorji PBP so beta-laktami, ki zavirajo transpeptidazno aktivnost PBP s kovalentno inhibicijo (z aciliranjem), ki pozroči smrt bakterij. Pri nekaterih na antibiotike odpornih bakterijah se je odpornost razvila s spremembo aktivnega mesta PBP, ki povzroči zmanjšanje acilacijske sposobnosti beta-laktamov in s tem njihovo neučinkovitost. Zaradi tega smo našo pozornost usmerili v razvoj novih nekovalentnih inhibitorjev PBP. Domačo banko spojin smo reševali na tri PBP iz na peniciline odpornih bakterij: PBP2a iz na Meticilin odporne <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA), PBP2x iz <i>Streptococcus pneumoniae</i> 5204 in PBP5fm iz <i>Enterococcus faecium</i> D63r. Spojino zadetek, ki smo jo odkrili na ta način, smo nato uporabili kot izhodišče za računalniško iskanje podobnih spojin in našli še dodatne nove inhibitorje. Dve spojini sta imelidobro inhibitorno delovanje na PBP2a in PBP2x 5204, kakor tudi dobro in-vitro protibakterijsko delovanje proti panelu po Gramu pozitivnih bakterij. Odkrili smo torej nove nekovalentne inhibitorje PBP, ki predstavljajo dobro izhodišče za razvoj učinkovin, kibi delovale na na penicilin odporne bakterije.
		ANG	Penicillin-binding proteins (PBPs) are well known and validated targets for antibacterial therapy. The most important clinically used inhibitors of PBPs beta-lactams inhibit transpeptidase activity of PBPs by forming a covalent penicilloyl-enzyme complex that blocks the normal transpeptidation reaction; this finally results in bacterial death. In some resistant bacteria the resistance is acquired by active-site distortion of PBPs, which lowers their acylation efficiency for beta-lactams. To address this problem we focused our attention to discovery of novel noncovalent inhibitors of PBPs. Our in-house bank of compounds was screened for inhibition of three PBPs from resistant bacteria: PBP2a from Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA), PBP2x from <i>Streptococcus pneumoniae</i> strain 5204, and PBP5fm from <i>Enterococcus faecium</i> strain D63r. Initial hit inhibitor obtained by screening was then used as a starting point for computational similarity searching for structurally related compounds and several new noncovalent inhibitors were discovered. Two compounds had promising inhibitory activities of both PBP2a and PBP2x 5204, and good in-vitro antibacterial activities against a panel of Gram-positive bacterial strains. We found new noncovalent inhibitors of PBPs which represent important starting points for development of more potent inhibitors of PBPs that can target penicillin-resistant bacteria.
	Objavljeno v		Public Library of Science; PloS one; 2011; Vol. 6, no. 5; 10 str.; Impact Factor: 4.092; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.096; A': 1; WoS: CU; Avtorji / Authors: Turk Samo, Verlaïne Olivier, Gerards Thomas, Živec Matej, Humljan Jan, Sosič Izidor, Amoroso Ana, Zervosen Astrid, Luxen André, Joris Bernard, Gobec Stanislav
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek

2.	COBISS ID		5024538	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Funkcija poklopne zanke D-alanin:D-alanin ligaze	
		ANG	Function of the D-Alanine:D-Alanine ligase lid loop	
	Opis	SLO	D-alanin:D-alanin ligaza (Ddl) je esencialen od ATP odvisen bakterijski encim udeležen pri biosintezi peptidoglikana. Odkrivanje novih inhibitorjev nekompetitivnih z ATP se je izkazalo za zahtevno, ker je v ligazi Ddl bimolekularno vezavno mesto za D-alanin zelo majhno in obenem težko dostopno za večje molekule. Razlog gre iskati v tem, da je katalitično aktivna konformacija encima Ddl zaprta. S pomočjo molekulske dinamike smo izvedli študijo odpiranja in zapiranja poklopne zanke ligaze Ddl, kar je olajšalo strukturno podprto načrtovanje novih inhibitorjev tega encima, saj smo lahko upoštevali fleksibilnost aktivnega mesta. S pomočjo virtualnega reševanja na z molekulsko dinamiko zgeneriranih konformacijah encima Ddl smo odkrili nekaj novih inhibitorjev, ki smo jih tudi biokemično ovrednotili.	
		ANG	D-Alanine:D-alanine ligase (Ddl) is an essential ATP-dependent bacterial enzyme involved in peptidoglycan biosynthesis. Discovery of Ddl inhibitors not competitive with ATP has proven to be difficult because the Ddl bimolecular D-alanine binding pocket is very restricted, as is accessibility to the active site for larger molecules in the catalytically active closed conformation of Ddl. A molecular dynamics study of the opening and closing of the Ddl lid loop informs future structure-based design efforts that allow for the flexibility of Ddl. A virtual screen on generated enzyme conformations yielded some hit inhibitors whose bioactivity was determined.	
	Objavljeno v		American Chemical Society; Journal of medicinal chemistry; 2012; Vol. 55, issue 15; str. 6849-6856; Impact Factor: 5.614; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.567; A': 1; WoS: DX; Avtorji / Authors: Hrast Martina, Vehar Blaž, Turk Samo, Konc Janez, Gobec Stanislav, Janežič Dušanka	
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek	
3.	COBISS ID		3274609	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Encimi MurD iz različnih bakterijskih sevov: vrednotenje inhibitorjev	
		ANG	MurD enzymes from different bacteria: evaluation of inhibitors	
	Opis	SLO	D-Glu ligaza (MurD) katalizira pripenjanje D-glutaminske kisline na UDP-N-acetilmuramoil-L-alanin, kar predstavlja esencialen korak v citoplazemskih stopnjah biosinteze bakterijske celične stene. Zato je ligaza MurD pomemben tarčen encim pri razvoju protibakterijskih učinkovin. Nedavno je bilo objavljenih več serij spojin, ki inhibirajo MurD iz bakterije Escherichia coli. Najboljša od teh spojin je imela IC50 vrednost 8 uM. V tem delu smo testirali 20 od teh spojin na ligazah MurD iz bakterijskih sevov Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Borrelia burgdorferi in Mycobacterium tuberculosis. Večina inhibitorjev E. coli MurD je bila manj aktivnih na ostalih ortologih tega encima. Ta rezultat se da pojasniti z analizo razlik v sekvencah in v topoloških lastnostih aktivnih mest preučevanih ligaz MurD.	
		ANG	d-Glutamic acid-adding enzyme (MurD ligase) catalyses the addition of d-glutamic acid to UDP-N-acetylmuramoyl-L-alanine, an essential cytoplasmic step in the pathway for bacterial cell-wall peptidoglycan synthesis. As such, it represents an important antibacterial drug-discovery target enzyme. Recently, several series of compounds have been synthesised and found to inhibit MurD from Escherichia coli, the best one having an IC50 value of 8 uM. In the present work, we have tested 20 of these compounds against the MurD enzymes from Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Borrelia burgdorferi and Mycobacterium tuberculosis. Most of the E. coli	

			MurD inhibitors appeared less efficient against the four other orthologues. This divergent result can be explained by the differences in amino acid sequences and topologies of the active sites of the MurD ligases studied.
	Objavljeno v		Pergamon Press; Biochemical pharmacology; 2012; Vol. 85, issue 5; str. 625-632; Impact Factor: 4.576; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.729; A ¹ : 1; WoS: TU; Avtorji / Authors: Barreateau H��lene, Sosi�� Izidor, Turk Samo, Humljan Jan, Toma��i�� Tihomir, Zidar Nace, Hervé Mireille, Boniface Audrey, Peterlin-Ma��i�� Lucija, Kikelj Danijel, Mengin-Lecreulx Dominique, Gobec Stanislav, Blanot Didier
	Tipologija	1.01	Izvirni znanstveni članek
4.	COBISS ID	3374961	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Sintezni tripeptidi kot alternativni substrati murein peptidne ligaze (Mpl)
		ANG	Synthetic tripeptides as alternate substrates of murein peptide ligase (Mpl)
	Opis	SLO	Murein peptidna ligaza (Mpl) je encim, ki ga najdemo v Gram-negativnih bakterijah. Katalizira pripajanje tripeptida L-Ala-��-D-Glu-mezo-diaminopimelata na nukleotidni prekursor UDP-N-acetilmuraminsko kislino pri recikliranju peptidoglikana. ��prav ta encim za bakterije ni esencialen, predstavlja zanimivo tarčo za protibakterijske ��inkovine. Alternativni substrati, ki bi se vgradili peptidoglikan, bi lahko poškodovali celično steno. Sintetizirali smo 10 tripeptidov z zaporedjem L-Ala-��-D-Glu-Xaa, pri katerih Xaa predstavlja aminokislino drugačno od diaminopimelinske kisline. Tripeptid z Xaa=��-D-Lys se je izkazal kot odličen substrat za Escherichia coli Mpl. Tripeptida z Xaa=p-amino- ali p-nitro-L-fenilalaninom sta bila slabša substrata, medtem ko se tripeptidi z Xaa=D- ali L-2-aminopimelatom, DL-2-aminoheptanojsko kislino, L-Glu, L-norleucinom, L-norvalinom, L-2-aminobutirno kislino ali L-Ala niso izkazali kot substrati. Najboljši Mpl substrat z D-Lys tripeptidom ni imel protibakterijske aktivnosti na E. coli, najverjetneje zaradi slabega prehoda v celico.
		ANG	Murein peptide ligase (Mpl) is an enzyme found in Gram-negative bacteria. It catalyses the addition of tripeptide L-Ala-��-D-Glu-meso-diaminopimelate to nucleotide precursor UDP-N-acetylmuramic acid during the recycling of peptidoglycan. Although not essential, this enzyme represents an interesting target for antibacterial compounds through the synthesis of alternate substrates whose incorporation into peptidoglycan might be deleterious for the bacterial cell. Therefore, we have synthesised 10 tripeptides L-Ala-g-D-Glu-Xaa in which Xaa represents amino acids different from diaminopimelic acid. Tripeptide with Xaa=��-D-Lys proved to be an excellent substrate of Escherichia coli Mpl in vitro. Tripeptides with Xaa= p-amino- or p-nitro-L-phenylalanine were poor substrates, while tripeptides with Xaa=D- or L-2-aminopimelate, DL-2-aminoheptanoic acid, L-Glu, L-norleucine, L-norvaline, L-2-aminobutyric acid or L-Ala were not substrates at all. Although a good Mpl substrate, the D-Lys-containing tripeptide was devoid of antibacterial activity against E. coli, presumably owing to poor uptake.
	Objavljeno v		Masson & cie; Biochimie; 2013; Vol. 95, issue 6; str. 1120-1126; Impact Factor: 3.123; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.814; WoS: CQ; Avtorji / Authors: Hervé Mireille, Kova�� Andreja, Cardoso C��cile, Patin Delphine, Brus Boris, Barreateau H��lene, Mengin-Lecreulx Dominique, Gobec Stanislav, Blanot Didier
	Tipologija	1.01	Izvirni znanstveni članek
5.	COBISS ID	3580017	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Načrtovanje, sinteza in vrednotenje druge generacije inhibitorjev MurF s cianotiofenskim skeletom
		ANG	Design, synthesis and evaluation of second generation MurF inhibitors

		based on a cyanothiophene scaffold
Opis	SLO	Ligaza MurF katalizira zadnjo znotrajcelično stopnjo biosinteze bakterijskega peptidoglikana in je zanimiva tarča za razvoj novih protibakterijskih učinkovin. Načrtovali, sintetizirali in biokemično evaluirali smo novo serijo cianotiofenskih inhibitorjev MurF iz <i>Streptococcus pneumoniae</i> and <i>Escherichia coli</i> . V primerjavi s prvo generacijo MurF inhibitorjev imajo spojine povečano polarnost in ohranjeno encimsko inhibitorno delovanje v nizkem mikromolarnem koncentracijskem območju. Poleg tega imajo najboljši inhibitorji obetavno delovanje proti izbranim po Gramu pozitivnim in po Gramu negativnim bakterijam. Predstavljeni rezultati pomenijo pomemben korak proti razvoju novih protibakterijskih učinkovin z delovanjem na encime biosinteze peptidoglikana.
	ANG	MurF ligase is a crucial enzyme that catalyses the ultimate intracellular step of bacterial peptidoglycan biosynthesis, and thus represents an attractive target for antibacterial drug discovery. We designed, synthesized and evaluated a new series of cyanothiophene-based inhibitors of MurF enzymes from <i>Streptococcus pneumoniae</i> and <i>Escherichia coli</i> . The target compounds had increased polarity compared to the first generation of inhibitors, with demonstrated enzyme inhibitory potencies in the low micromolar range. Furthermore, the best inhibitors displayed promising antibacterial activities against selected Gram-positive and Gram-negative strains. These results represent an important step towards the development of new antibacterial agents targeting peptidoglycan biosynthesis.
Objavljeno v		Edifor; European Journal of Medicinal Chemistry; 2014; Vol. 73; str. 83-96; Impact Factor: 3.432; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.577; A': 1; WoS: DX; Avtorji / Authors: Hrast Martina, Anderluh Marko, Knez Damijan, Randall Christopher P., Barreateau H��lene, O'Neill Alex J., Blanot Didier, Gobec Stanislav
Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

	Družbeno-ekonomski dosežek		
1.	COBISS ID	25380135	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Zoisovo priznanje vodje projekta prof. dr. Stanislava Gobca
		ANG	Zois award for project leader prof. dr. Stanislav Gobec
	Opis	SLO	Vodja projekta prof. dr. Stanislav Gobec je dobitnik Zoisovega priznanja v letu 2011 za izjemne dosežke na področju farmacevtske kemije.
		ANG	The leader of the project Professor Gobec has received Zois award for his achievements in the field of pharmaceutical chemistry.
	��ifra E.01 Domače nagrade		
	Objavljeno v 2011; Avtorji / Authors: Žemva Boris, Milošev Ingrid, Pintar Albin, Gobec Stanislav		
	Tipologija 3.11 Radijski ali TV dogodek		
2.	COBISS ID	9990309	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	UNESCO-L'Orealova ��tipendija Za ženske v znanosti 2012 dr. Vite Majce, raziskovalke na projektu.
		ANG	UNESCO-L'Oréal Fellowship For Women in Science 2012 was granted to dr. Vita Majce, a researcher of this project.

	Opis	SLO	Dr. Vita Majce je dobila L'Orealovo štipendijo Za ženske v znanosti. Ta štipendija ji je omogočila, da je svoje delo opravljala v laboratoriju dr. David Roperja na Univerzi v Warwicku, ki je bil pomemben partner tega projekta.	
		ANG	UNESCO-L'Oréal Fellowship For Women in Science 2012 was granted to dr. Vita Majce, a researcher of this project. This fellowship enabled dr. Vita Majce to perform her research work in the laboratory of Dr. David Roper from University of Warwick, UK, who was an important partner of this project.	
	Šifra		E.02	Mednarodne nagrade
	Objavljeno v		Delo; Delo; 2012; Let. 54, št. 77; str. 32; Avtorji / Authors: Kontler-Salamon Jasna	
	Tipologija		1.25	Drugi sestavni deli
3.	COBISS ID		3653489	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Radijski intervjuji za popularizacijo znanosti	
		ANG	Radio interviews for popularization of science	
	Opis	SLO	Vodja projekta je opravil več radijskih intervjujev z namenom popularizacije znanosti in izobraževanja radijskih poslušalcev: 1. BEOVIĆ, Bojana, SEME, Katja, GOBEC, Stanislav. Črn scenarij: antibiotiki ne delujejo več: oddaja Intelakta. Ljubljana: Radio Slovenija I, 20.4. 2014. 2. GOBEC, Stanislav. Podobe znanja. Ljubljana: Radio Slovenija, Program ARS, 14. 3. 2014. 3. ŽEMVA, Boris, MILOŠEV, Ingrid, PINTAR, Albin, GOBEC, Stanislav (intervjuvanec). Znanstveniki kot estradniki : intervju : RTV Slovenija 1, oddaja Intelakta. 6. 12. 2011.	
		ANG	The project leader was involved in several radio interviews with the purpose of science popularization and education of radio listeners: 1. BEOVIĆ, Bojana, SEME, Katja, GOBEC, Stanislav. Black scenario: antibiotics no longer work; Intelakta. Ljubljana: Radio Slovenija I, 20. May 2014. 2. GOBEC, Stanislav. Images of knowledge. Ljubljana: Radio Slovenija, Program ARS, 14. March 2014. 3. ŽEMVA, Boris, MILOŠEV, Ingrid, PINTAR, Albin, GOBEC, Stanislav. Scientists like celebrities: Interview: RTV Slovenija 1, Intelakta. 6. Dec. 2011.	
	Šifra		F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)
	Objavljeno v		Radio Slovenija I; 2014; Avtorji / Authors: Beović Bojana, Seme Katja, Gobec Stanislav	
	Tipologija		3.11	Radijski ali TV dogodek
4.	COBISS ID		14086149	Vir: vpis v poročilo
	Naslov	SLO	Vodja projekta je član Uredniškega odbora pomembne revije	
		ANG	Project leader is member of Editorial Board of important journal	
	Opis	SLO	Vodja projekta je član uredniškega odbora mednarodne revije Acta Chimica Slovenica. Revija objavlja članke iz vseh področij kemije, je citirana v vseh najpomembnejših podatkovnih zbirkah in ima dejavnik vpliva.	
		ANG	The project leader is a member of Editorial Board of international journal Acta Chimica Slovenica. The journal publishes papers from all fields of chemistry, is cited in all major databases and has Impact Factor.	
	Šifra		C.06	Članstvo v uredniškem odboru
	Objavljeno v		http://acta.chem-soc.si/editorial_board.html	

	Tipologija	3.25 Druga izvedena dela	
5.	COBISS ID	2747249	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Postopek sinteze ezetimiba in njegovih intermediatov
		ANG	Process for synthesis of ezetimibe and intermediates useful therefor
	Opis	SLO	Ezetimib je pomembno zdravilo za zdravljenje hiperholesterolemij. Sinteza ezetimiba v slovenski farmacevtski industriji po patentno neodvisnem postopku pomeni pomembno priložnost za prodor na tuje trge. Obstajala je velika potreba po ekonomičnem postopku sinteze ezetimiba, ki bi zagotavljal velike izkoristke in bil obenem uporaben v generični farmacevtski industriji. V naših laboratorijih smo razvili tak patentno neodvisen postopek in ga uspešno prenesli v slovensko farmacevtsko industrijo (Lek d.d.).
		ANG	Ezetimibe is important drug used for treatment of hypercholesterolemia. The generic production of ezetimibe represents an opportunity for the Slovenian pharmaceutical industry to compete on foreign markets. There was a need to develop a new economical process for the synthesis of ezetimibe which would provide high yields and at the same time be industrially acceptable. We developed such process in our laboratory and successfully transferred it to the Slovene pharmaceutical industry (Lek d.d.).
	Šifra	F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije
	Objavljeno v	Chinese State Intellectual Property Office; 2014; 23 str.; Avtorji / Authors: Mravljak Janez, Sova Matej, Kovač Andreja, Gobec Stanislav, Časar Zdenko	
	Tipologija	2.24	Patent

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine²

Vodja projekta prof.dr. Stanislav Gobec je v letih 2011, 2012 in 2013 pridobil mladega raziskovalca.

Dosežek na projektu v letu 2012 (Funkcija poklopne zanke D-alanin:D-alanin ligaze) je bil s strani ARRS izbran za najboljši izjemni znanstveni dosežek v polju Farmacija. Vodja projekta prof.dr. Stanislav Gobec je dosežek javno predstavil 14.10.2013 v okviru organiziranih javnih predstavitev.

Vodja projekta prof.dr. Stanislav Gobec je v bil med trajanjem projekta mentor pri petih diplomskih nalogah, ki so bile vsebinsko povezane z raziskavami na projektu: Damijan Knez (COBISS.SI-ID 3484529), Uroš Mesec (COBISS.SI-ID 3743601), Anže Rupnik (COBISS.SI-ID 3609713), Bernarda Grešak (COBISS.SI-ID 3411825), Nina Trošt (COBISS.SI-ID 3088753).

Vodja projekta prof.dr. Stanislav Gobec je v bil med trajanjem projekta mentor pri dveh zaključenih doktoratih (Martina Hrast (COBISS.SI-ID 3430257) in Izidor Sosič (COBISS.SI-ID 3215985)) in somentor pri dveh zaključenih doktoratih (Vita Majce (COBISS.SI-ID 260932608) in Blaž Vehar (COBISS.SI-ID 262620672)). Vse disertacije so bile vsebinsko povezane z raziskavami na projektu.

Članica projektne skupine prof. dr. Dušanka Janežič je bila mentorica pri enem zaključenem doktoratu vsebinsko povezan z delom na projektu: Blaž Vehar (COBISS.SI-ID 262620672).

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

Pomen prijavljenega projekta za razvoj znanosti je v odkrivanju novih učinkovin na aktualnem terapevtskem področju ter v razvoju metod za načrtovanje, sintezo in študij delovanja učinkovin na molekularnem nivoju. Projekt predstavlja pomemben prispevek k odkrivanju novih protibakterijskih učinkovin z novimi mehanizmi delovanja. To področje je zaradi vedno bolj grozeče odpornosti bakterij velik izziv za znanost v širšem svetovnem smislu. Med izvajanjem projekta smo skupaj s partnerji iz Slovenije in tujine razvijali naslednja orodja, pomembna za odkrivanje novih zdravilnih učinkovin:

- racionalno načrtovanje in sinteza novih potencialnih zdravilnih učinkovin,
- računalniške metode za strukturno podprto virtualno reševanje visoke zmogljivosti,
- de novo načrtovanje novih encimskih inhibitorjev,
- razvoj novih sinteznih metod in njihova optimizacija,
- razvoj enostavnih in hitrih biokemičnih metod evaluacije encimskih inhibitorjev,
- pridobivanje in razreševanje kristalnih struktur kompleksov encim-inhibitor z rentgensko kristalografijo.

Veliko pozornost smo posvetili posebnostim uporabe teh orodij na področju odkrivanja novih protibakterijskih učinkovin.

Z razvojem nizkomolekularnih nekovalentnih inhibitorjev biosinteze peptidoglikana smo uspeli dobiti nove spojine zadetke in spojine vodnice s protibakterijskim delovanjem.

ANG

Importance of the proposed research project for the development of science resides in (i) discovery of novel drugs in important therapeutic area and in (ii) development of methods for drug design, synthesis and study of their molecular mechanism of action. The research project provided an important contribution to discovery of innovative antibacterial drugs with novel mechanisms of action. Discovery of novel antibacterial drugs is a great challenge to science due to a threatening bacterial resistance to currently used antibacterial drugs. Within the research project, important drug discovery tools were used and developed in close collaboration with Slovene and international partners:

- Rational design and synthesis of new potential drugs,
- Computational methods for structure-based virtual high-throughput screening,
- De novo design of new enzyme inhibitors,
- Development and optimisation of new synthetic methods,
- Development of simple and rapid methods for biochemical evaluation of enzyme inhibitors (drug candidates),
- Resolution of crystal structures of bacterial enzymes in complexes with their inhibitors.

A special attention was devoted to the application of the abovementioned tools in the field of antibacterial drug discovery.

With the development of small molecule non-covalent inhibitors of peptidoglycan we were able to obtain new lead compound inhibitors with antibacterial activity.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Glede na izjemno velik družbeno-ekonomski pomen farmacevtske industrije v Sloveniji so stalne raziskave novih učinkovin nujne, saj zagotavljajo trajnostni razvoj. Nova znanja s področja razvoja novih protibakterijskih učinkovin so izjemnega pomena tako za inovativno kot za generično farmacevtsko industrijo. Raziskovalci, ki so delali na projektu, bodo ob izteku projekta vrhunsko usposobljeni za samostojno delo v raziskovalnih laboratorijih farmacevtske industrije, kjer bodo predstavljali nova raziskovalna jedra. Seveda so doktorji znanosti, ki so izšli iz projekta, kot vrhunski strokovnjaki usposobljeni tudi za ustvarjalno delovanje na univerzi, v raziskovalnih inštitutih in v ustreznih strokovno zahtevnih službah državne uprave. Za Slovenijo je strateško izredno pomembno, da z raziskavami na področju farmacije sledi smerem razvoja v svetu. V okviru predlaganega projekta smo generirali nova in osvajali obstoječa znanja, ki so pomembna za trajnostni razvoj raziskav povezanih z zdravili. Projekt je ustvaril pomembna nova znanja na področju boja proti bakterijski rezistenci. S tem bo potencialno prispeval k zmanjšanju števila bolnišničnih infekcij, ki za vsako nacionalno zdravstveno blagajno pomenijo izjemno visok strošek.

Doseženi cilj predlaganega projekta je tudi znanstvena odličnost, kar preko publikacij v vrhunskih mednarodnih znanstvenih revijah prispeva k ugledu slovenske znanosti v svetu in tako prispeva k prepoznavnosti Slovenije in k utrjevanju slovenske nacionalne identitete v

Evropi in v svetu. Raziskovalci, sodelujoči na projektu, so rezultate raziskovalnega dela objavili v mednarodnih publikacijah s SCI dejavnikom vpliva, v mednarodnih patentnih prijavah, predstavili so jih na kongresih z mednarodno udeležbo. S tem so pomembno prispevali k prepoznavnosti in ugledu Slovenije v svetu.

Projekt je omogočil in krepil sodelovanje dveh najpomembnejših raziskovalnih inštitucij, ki se ukvarjata z razvojem na področju farmacevtskih znanosti: Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani in Kemijskega inštituta. Projekt je omogočil gostovanje naših raziskovalcev na uglednih tujih akademskih inštitucijah (Univerza v Warwicku, Univerza v Parizu, Univerza v Leedsu, Univerza v Liegu, Inštitut za strukturno biologijo v Grenoblu). S tem je bilo omogočeno skupno kreiranje novih znanj na področjih, kot so strukturno podprto načrtovanje novih učinkovin, de novo načrtovanje encimskih inhibitorjev, molekularno modeliranje in molekulska dinamika, rentgenska kristalografija, encimologija, in njihov prenos v Slovenijo.

Ker je projekt potekal pretežno na Fakulteti za farmacijo Univerze v Ljubljani, so bili raziskovalci na projektu v stalnem stiku z diplomanti in doktoranti fakultete, s čimer so pripomogli k razvoju kvalitetnih kadrov in izboljšanju učnega procesa na fakulteti.

ANG

Research and development of novel drugs is a way to assure a sustained growth to Slovenian pharmaceutical industry, which is currently one of major players in the Slovenian economy. The knowledge about discovery of new antibacterial agents relevant for this project is important both for innovative and generic pharmaceutical industry. Researchers, which participated in the proposed research project, have gained competences for autonomous creative work in pharmaceutical industry, where they will create novel research focuses in the future. They have been also perfectly trained for research work at the university, other research institutes and governmental agencies. The proposed research programme has generated new and mastered the existing knowledge both of which are of paramount importance for sustained development of pharmaceutical industry and drug – oriented research in Slovenia.

The proposed research project has created important new knowledge in fight against bacterial resistance. This has the potential to contribute to global reduction of nosocomial infections which represent enormous economic burden to health-care systems.

The scientific excellence, achieved during the proposed research project, has contributed to affirmation of Slovenian science through publications in leading scientific journals. This has contributed to creation and preservation of the country's national identity in Europe and in the world. The results of the research project were published in high-ranked international journals with SCI Impact Factor and international patent applications. The results were also presented on international scientific conferences. This has contributed to international affirmation of Slovenia and Slovenian science.

The research project enabled the collaboration between two most important Slovene research institutions that are active in the field of pharmaceutical sciences: Faculty of Pharmacy from the University of Ljubljana and Chemical Institute. The research project has enabled researchers from Slovenia to visit the esteemed foreign institutions (University of Warwick, University of Leeds, and University of Paris, University of Liege, Institute of Structural Biology in Grenoble). This has enabled the transfer of knowledge in the fields of structure-based drug discovery, de novo design of enzyme inhibitors, molecular modelling, protein crystallography, and enzymology, to Slovenia.

The fact that the research project has been performed at the Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana, has enabled the researchers to be in constant contact with both undergraduate and postgraduate students. This has enhanced the quality of research work of students, their development and their employment opportunities as well as the quality of teaching at the Faculty.

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	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen ▼

	Uporaba rezultatov	Delno
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	Uporabljen bo v naslednjih 3 letih
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	Uporabljen bo v naslednjih 3 letih
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.11	Razvoj nove storitve	

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

	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	

	Uporaba rezultatov	
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	

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	☐	☒	☐	☐	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	☐	☐	☒	☐	
G.01.03.	Drugo: Vpliv na izobraževanje laične javnosti	☐	☐	☒	☐	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	☐	☒	☐	☐	

G.02.02.	Širitev obstoječih trgov					
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje					
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije					
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti					
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost					
G.02.07.	Večji delež izvoza					
G.02.08.	Povečanje dobička					
G.02.09.	Nova delovna mesta					
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih					
G.02.11.	Nov investicijski zagon					
G.02.12.	Drugo:					
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti					
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti					
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij					
G.03.04.	Drugo:					
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja					
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja					
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave					
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti					
G.04.05.	Razvoj civilne družbe					
G.04.06.	Drugo:					
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete					
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj					
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura					
G.07.02.	Prometna infrastruktura					
G.07.03.	Energetska infrastruktura					
G.07.04.	Drugo:					
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva					
G.09.	Drugo:					

Komentar

12. Pomen raziskovanja za sofinancerje¹¹

	Sofinancer		
1.	Naziv	Lek farmacevtska družba d.d.	
	Naslov	Verovškova 57, 1000 Ljubljana	
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:	73.553	EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:	25	%
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja		Šifra
		1. Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	F.01
		2. Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	F.02
		3.	
		4.	
		5.	
	Komentar	Za sofinancerja je bil pomemben predvsem segment projekta, v katerem poteka sinteza in karakterizacija spojin in razvoj novih sinteznih poti.	
	Ocena	Lek d.d. je s sofinanciranjem projekta pridobil pomembna nova praktična znanja s področja sinteznih metod, uporabnih pri sintezi kiralnih in akiralnih gradnikov (building blocks) zdravilnih učinkovin. Poudarek je bil na sklopitvenih reakcijah, kjer nastanejo nove C-C vezi, in iskanju najboljših katalizatorjev za le-te. Nekatere reakcije so bile optimirane v smislu doseganja čim večjih izkoristkov in enantiomernih ali diastereomernih presežkov ter čim enostavnejše izolacije produktov.	

13. Izjemni dosežek v letu 2014¹²**13.1. Izjemni znanstveni dosežek**

Načrtovanje, sinteza in vrednotenje druge generacije inhibitorjev MurF s cianotiofenskim skeletom

Ligaza MurF katalizira zadnjo znotrajcelično stopnjo biosinteze bakterijskega peptidoglikana in je zanimiva tarča za razvoj novih protibakterijskih učinkovin. Načrtovali, sintetizirali in biokemično evaluirali smo novo serijo cianotiofenskih inhibitorjev MurF iz *Streptococcus pneumoniae* and *Escherichia coli*. V primerjavi s prvo generacijo MurF inhibitorjev imajo spojine povečano polarnost in ohranjeno encimsko inhibitorno delovanje v nizkem mikromolarnem koncentracijskem območju. Poleg tega imajo najboljši inhibitorji obetavno delovanje proti izbranim po Gramu pozitivnim in po Gramu negativnim bakterijam. Predstavljeni rezultati pomenijo pomemben korak proti razvoju novih protibakterijskih učinkovin z delovanjem na encime biosinteze peptidoglikana.

European Journal of Medicinal Chemistry 2014, 73: 83-96.

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:

Univerza v Ljubljani, Fakulteta za
farmacijo

Stanislav Gobec

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana

11.3.2015

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/94

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 / prepišite 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 2014 (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/2015 v1.00a

27-60-F7-25-E7-A6-EA-38-E7-07-5D-B2-58-7A-FF-C8-59-1F-41-F7

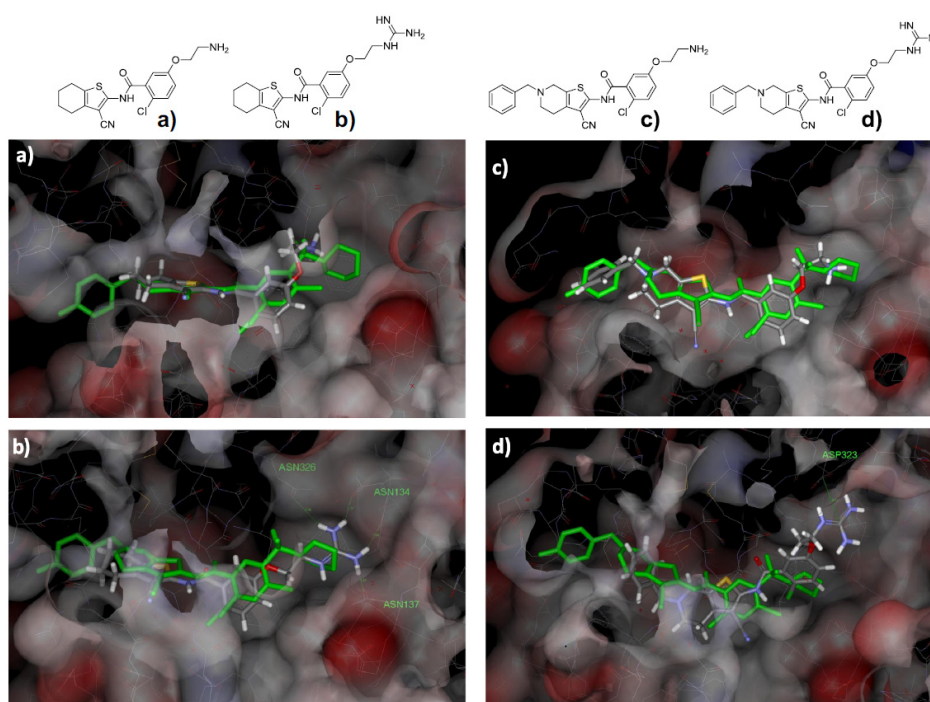
Priloga 1

1. Naravoslovje

1.09 Farmacija

Dosežek 1: Načrtovanje, sinteza in vrednotenje druge generacije inhibitorjev MurF s cianotiofenskim skeletom

Vir: Martina Hrast, Marko Anderluh, Damijan Knez, Christopher P. Randall, H  lene Barreteau, Alex J. O'Neill, Didier Blanot, Stanislav Gobec. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2014, **73**: 83-96.



Ligaza MurF katalizira zadnjo znotrajcelično stopnjo biosinteze bakterijskega peptidoglikana in je zanimiva tarča za razvoj novih protibakterijskih učinkovin. Načrtovali, sintetizirali in biokemično evaluirali smo novo serijo cianotiofenskih inhibitorjev MurF iz *Streptococcus pneumoniae* in *Escherichia coli*. V primerjavi s prvo generacijo MurF inhibitorjev, razvito v podjetju Abbot, imajo spojine druge generacije povečano polarnost in ohranjeno encimsko inhibitorno delovanje v nizkem mikromolarnem koncentracijskem območju. Poleg tega imajo najboljši inhibitorji obetavno delovanje proti izbranim po Gramu pozitivnim in po Gramu negativnim bakterijam. Predstavljeni rezultati pomenijo pomemben korak proti razvoju novih protibakterijskih učinkovin z delovanjem na encime biosinteze peptidoglikana.

Zaradi pogostega pojavljanja bakterij, ki so odporne na več antibiotikov, postaja razvoj novih protibakterijskih učinkovin praktično nujen. Izhajajoč iz spojin, razvitih v podjetju Abbot, smo sintetizirali novo generacijo encimskih inhibitorjev na osnovi cianotiofena. Spojine zavirajo encim MurF, ki sodeluje v biosintezi bakterijske stene. Poleg zaviranja encima imajo razvite spojine tudi protibakterijsko delovanje in zato predstavljajo pomemben korak proti novim protibakterijskim u inkovinom.