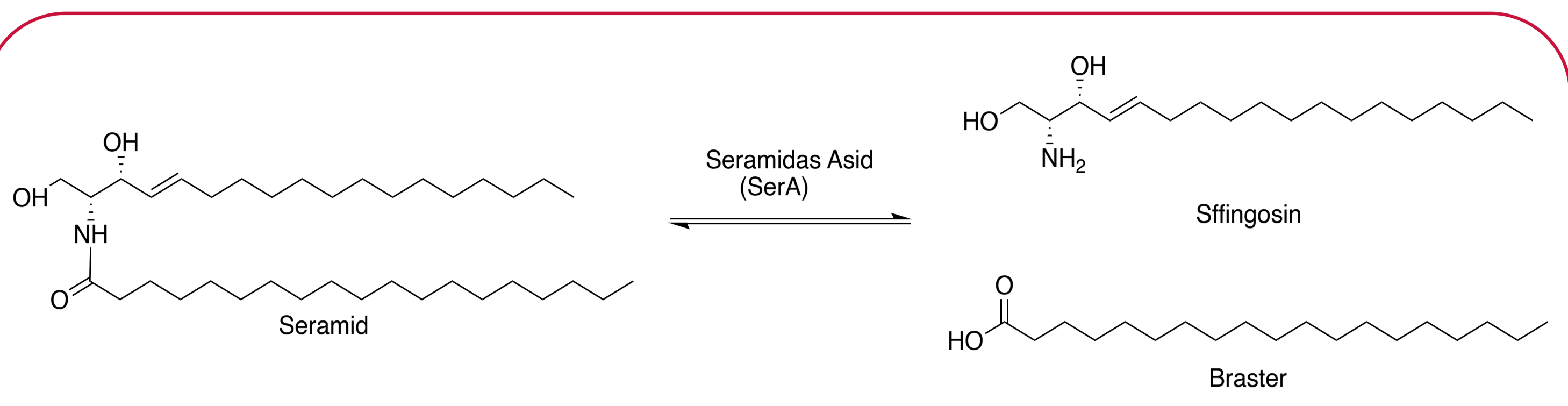


Gwenno Rowlands, Gabrielle Evans, Jonathan Cubitt, Ninon Grenouillat, Mari Davies, Ben Bax, Emyr Lloyd-Evans, Simon Ward, Helen Waller-Evans and D. Heulyn Jones
Sefydliad Darganfod Meddyginiaethau, Prifysgol Caerdydd, Plas y Parc, Caerdydd, CF10 3AT

Cefndir

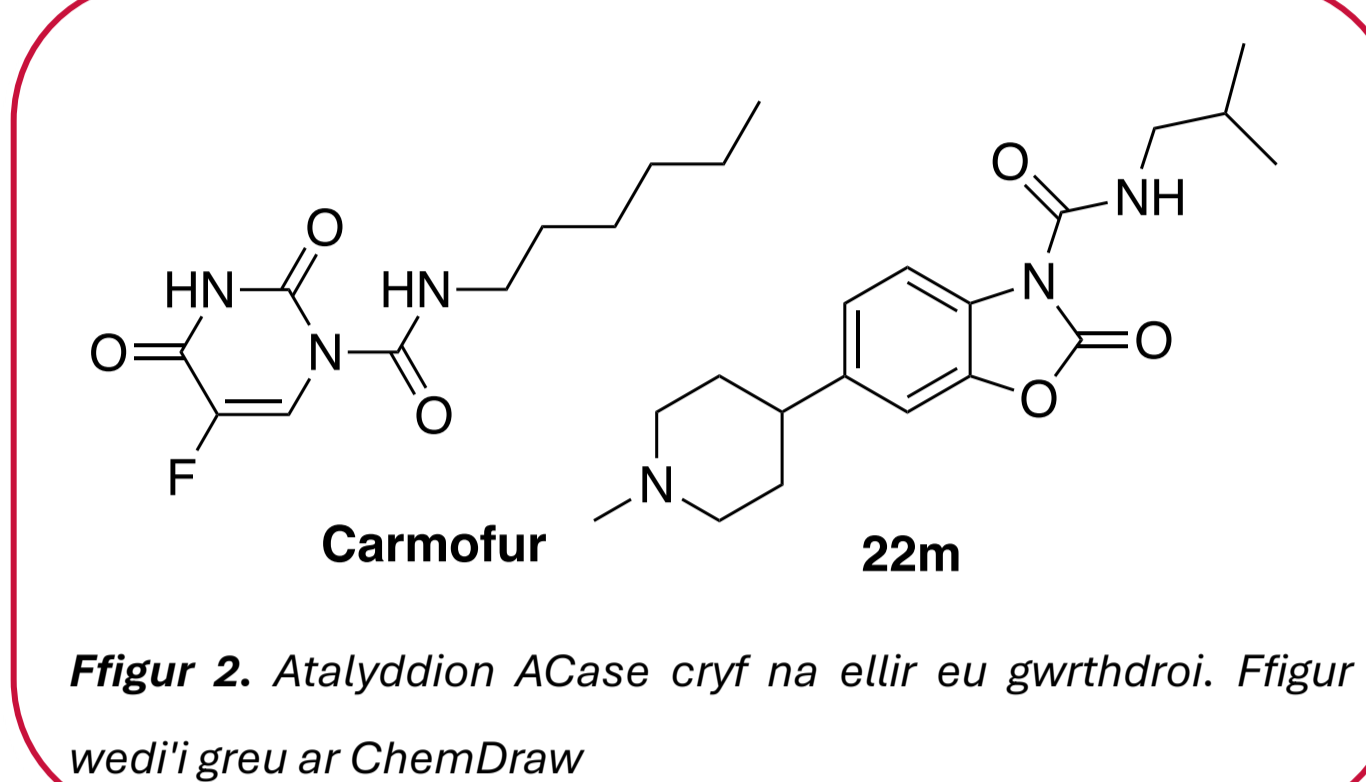


Figur 1. Hydrolysis seramid wedi'i gatalyddu gan Seramidas Asid.^[1] Ffigur wedi'i greu ar ChemDraw

- Mae Seramidas Asid (**SerA**) yn rheoleiddio'r cydbwysedd rhwng seramid a sffingosin-1-ffosffad (S1P), wedi'i syntheseiddio o sffingosin.
- Mae seramid yn signal marwolaeth gellog ble mae S1P yn signalu thwf cellog, mae ei gamreoleiddiad yn gysylltiedig â chanser, diabetes, niwroddirwyiad ac anhwylderau metabolaidd prin.^[2-5]
- Yma rydym yn cyflwyno canlyniadau rhagarweiniol addawol ar gyfer atalyddion dethol, newydd, anghofalent o SerA.

Nod a Rhesymeg

- Mae'n ddisgwyliedig y bydd atal SerA gan ddefnyddio moleciwlau bychain yn gallu adfer lefelau seramid a modiweiddio llwybrau signalau sy'n berthnasol i glefydau, gan ddarparu dull hylaw o normaleiddio homeostasis sffingolipid.
- Mae atalyddion cofalent fel **Carmofur** a **22m** yn gryf ond maen nhw'n dangos detholiad cyfyngedig, ataliad lipas oddi ar y targed ac atebolrwydd sy'n eu gwneud yn anaddas ar gyfer dosio cronig.^[6,7]



Figur 2. Atalyddion ACCase cryf na ellir eu gwrthdroi. Ffigur wedi'i greu ar ChemDraw

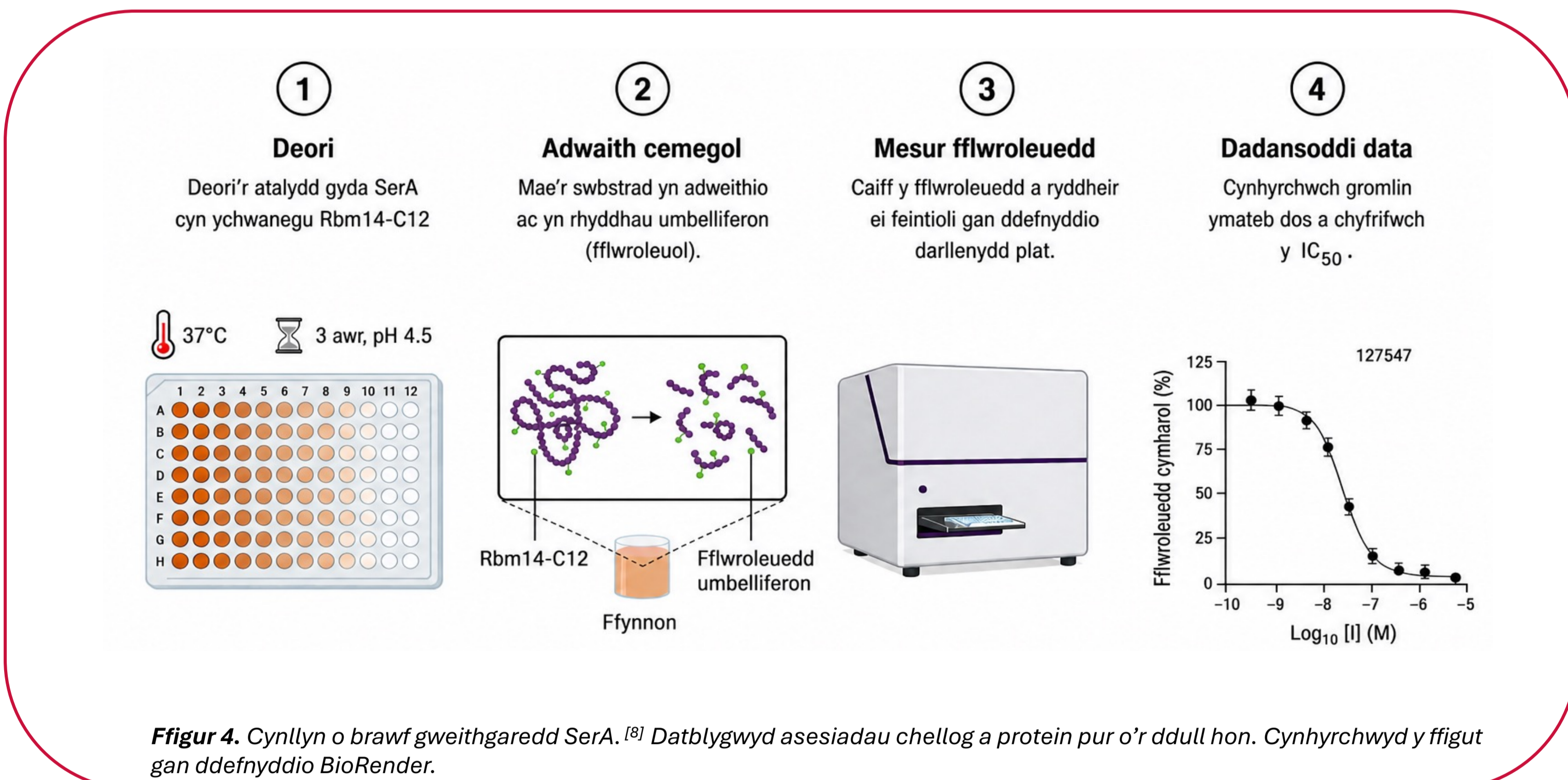
Nod – Datblygu cyfres newydd o atalyddion SerA cryf, dethol, anghofalent â nerth cellog ffariol a ddetholus gan ddefnyddio cylch dylunio-gwneud-profi-dadansoddi iterus.

Dulliau

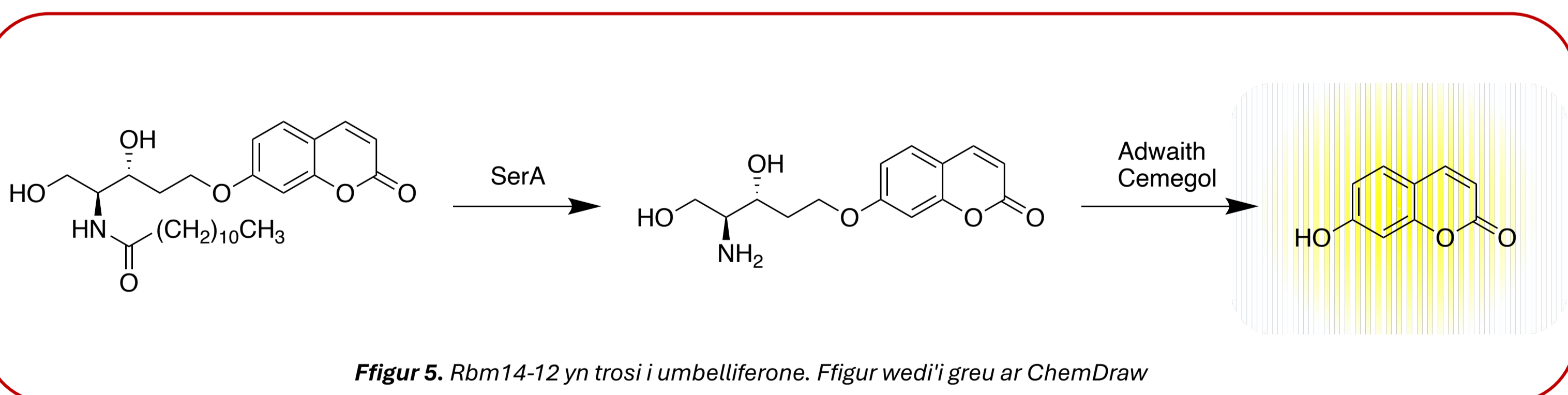


Figur 3. Llif gwaith dylunio-gwneud-profi-dadansoddi ar gyfer optimeiddio atalydd SerA anghofalent. Ffigur wedi'i gynhyrchu gan ddefnyddio BioRender.

- Cynhyrwyd >100 o gyfansoddion anghofalent SerA gan ddefnyddio dull dadansoddi perthynas strwythur-gweithgarwch (SAR) mewn cyfnod o 12 mis.
- Profwyd y cyfansoddion gan ddefnyddio arbrawf lysad yna profwyd y cyfansoddion gweithredol mewn arbrawf cellog i bennu athreiddedd celloedd.
- Profwyd y cyfansoddion gorau mewn arbrowfion oddi ar y targed (NAAA, seramidas niwtral, FAAH, hERG).
- Defnyddir gwybodaeth strwythurol SerA i gefnogi rhwymiad anghofalent a dociwyd a'r ensym yn y feddalwedd Maestro i gynhyrchu syniadau newydd.



Figur 4. Cynllyn o brawf gweithgaredd SerA.^[8] Datblygwyd asesiadau chellog a protein pur o'r dull hon. Cynhyrwyd y ffigur gan ddefnyddio BioRender.



Figur 5. Rbm14-12 yn trosi i umbelliferone. Ffigur wedi'i greu ar ChemDraw

Crynodeb a Gwaith yn y Dyfodol

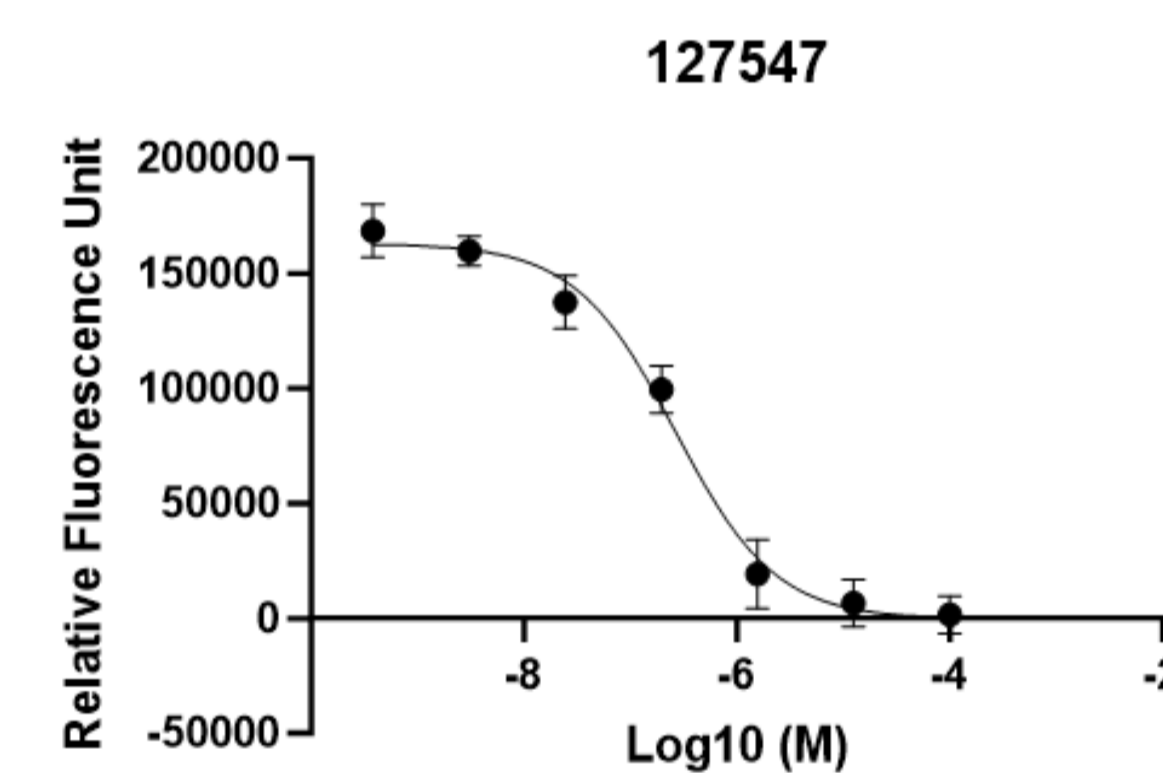
- Mae cyfres newydd o atalyddion anghofalent SerA wedi cael eu datblygu gyda thueddiad SAR clir ar gyfer datblygiad pellach.
- Mae gan y gyfres ddetholiad gwell na **Carmofur** a **22m**, gan ddangos dim ataliad o'r ensym NAAA sy'n gysylltiedig â SerA yn strwythurol.
- Bydd gwaith y dyfodol yn canolbwyntio ar addasiadau o gyfansoddion 127547 yn seiliedig ar ganlyniadau docio Maestro.
- Bydd dadansoddiad ITC yn cael ei wneud i gadarnhau dull gweithredu cyfansoddion gorau'r gyfres a bydd asesiad o bridweddau DMPK *in vitro* i baratoi ar gyfer astudiaethau *in vivo*.

Canlyniadau

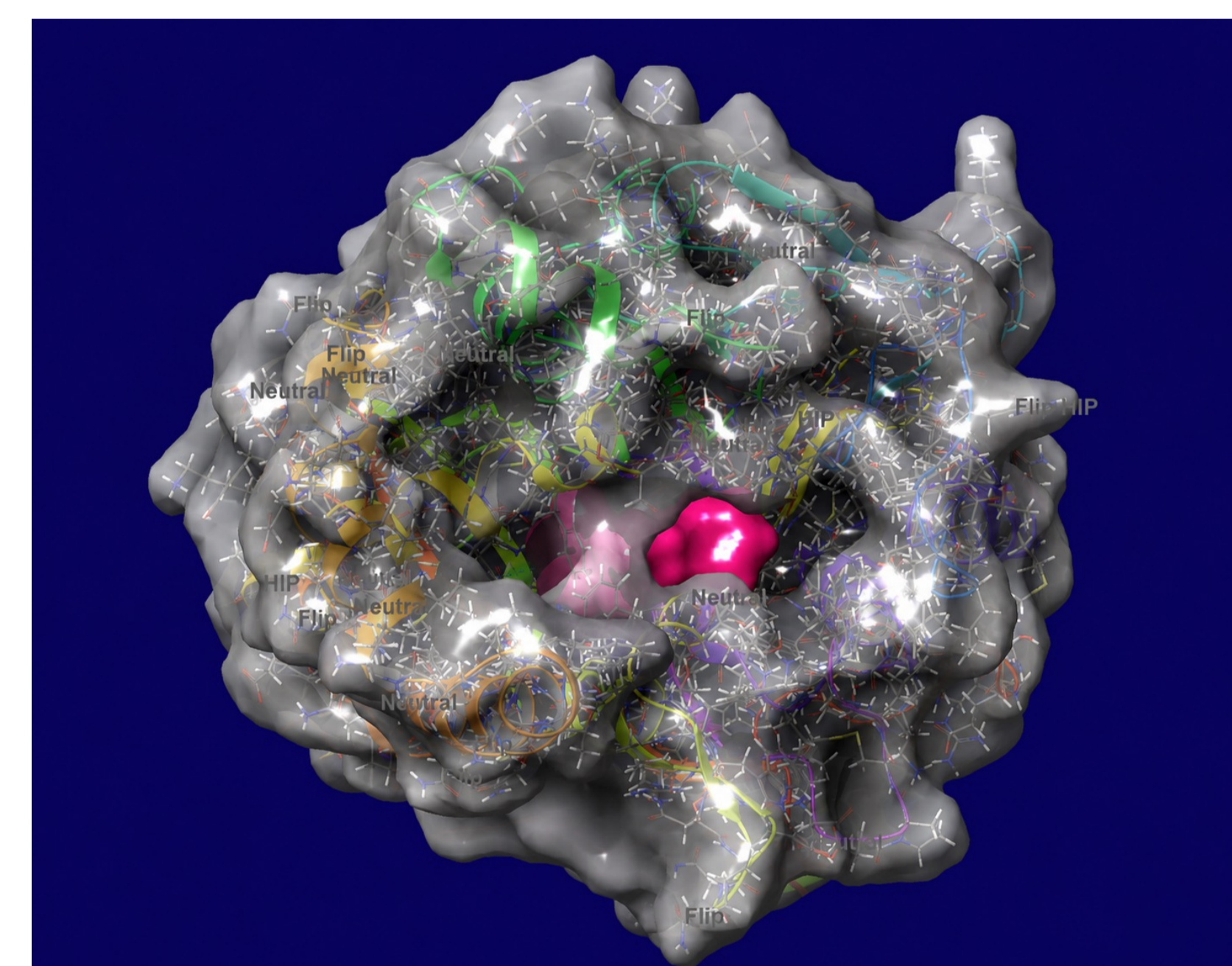
Tabl 1. Gwerthoedd IC₅₀ cyfansoddion gorau yn ein cyfres ni, **Carmofur** a **22m**. Ataliad SerA ac effaith oddi ar y targed yn cael ei hadroddi mewn μM. Mae'r data a ddangosir yn gymysgedd o ddadansoddiad mewnol a llenyddiaeth.^[7,9]

Cyfansoddyn	Lysad	Cellog	NAAA	Seramidas Niwtral	FAAH	hERG
Carmofur	0.013	0.138	0.710	-	0.110	-
22m	0.160	0.615	0.413	anactif	0.070	5
118237	10	0.200	-	anactif	-	-
118290	5	-	anactif	anactif	-	-
127547	0.686	0.265	-	-	-	30

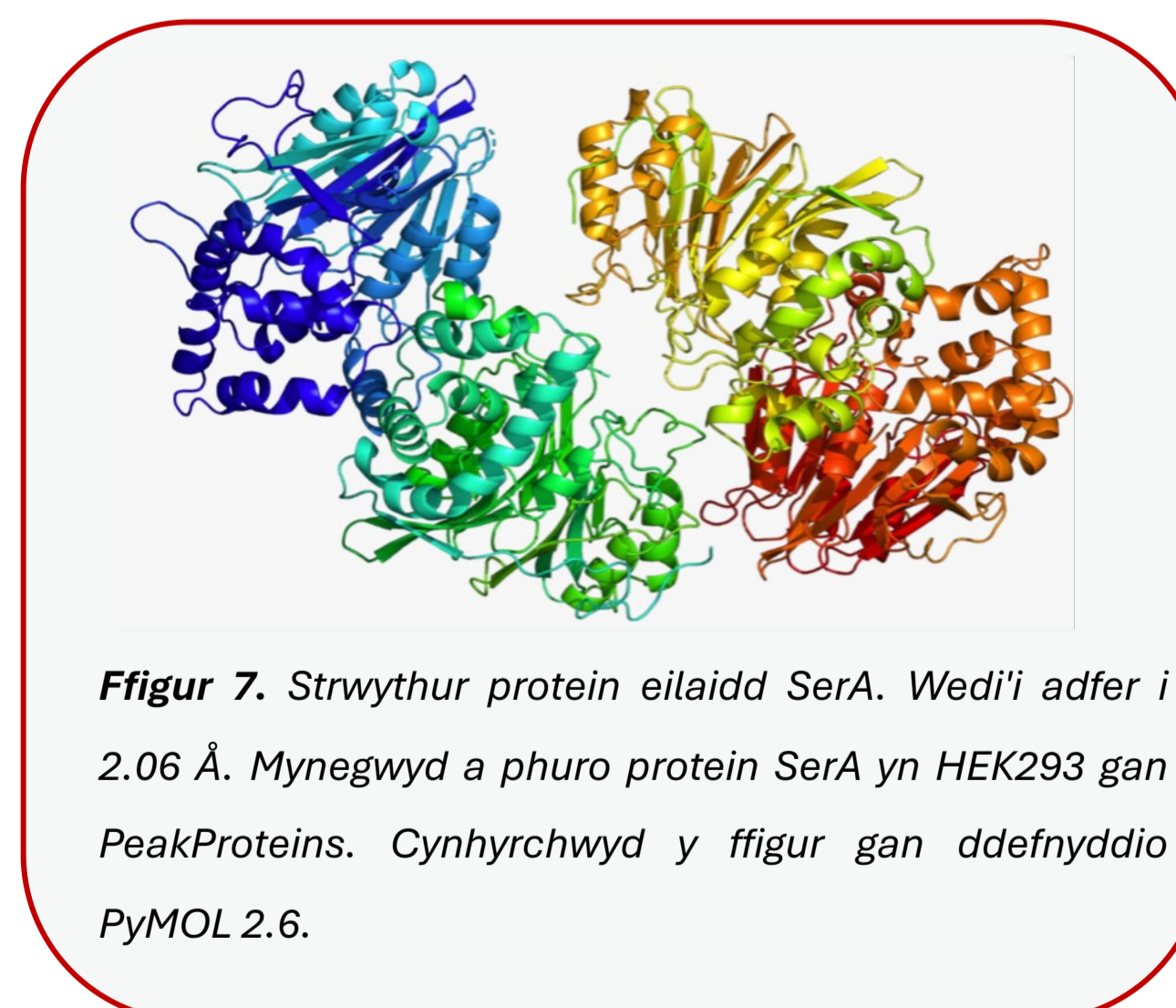
- Dangoswyd y cyfansoddion cychwynnol, **118237**, cryfder biocemegol cymedrol ond dangoswyd gweithgaredd cellog addawol, sy'n dynodi athreiddedd ac ymgysylltiad da.
- Rhoddyd y dull optimeiddio a ddarparwyd cyfansoddion **127547** gyda chryfder biocemegol is-ficromolar mewn asesiadau lysad a chellog, sy'n cynrychioli gwelliant >14 gwaith dros yr ergyd gychwynnol yn yr arbrawf lysad.



Figur 6. Yn cynrychioli cromlin IC₅₀ ar gyfer cyfansoddion gorau'r gyfres yn yr arbrawf cellog.



Figur 8. Cyfansoddion 127547 wedi ei ddocio yn safle gweithredol SerA. Ffigur wedi ei greu ar Maestro.



Figur 7. Strwythur protein eilaidd SerA. Wedi'i adfer i 2.06 Å. Mynegwyd a phuro protein SerA yn HEK293 gan PeakProteins. Cynhyrwyd y ffigur gan ddefnyddio PyMOL 2.6.

- Rhoddyd y feddalwedd Maestro fewnwelediad i sut mae cyfansoddion arweiniol y gyfres yn ffitio i mewn i safle gweithredol SerA.
- Cynhyrwyd syniadau newydd o'r docio a gobeithio syntheseiddwyr a phrofwyd yr atalyddion hyn yn y dyfodol agos.

Cyfeiriadau

1.M. Bataller, A. Sánchez-García, Y. Garcia-Maya, C. Mir, I. Rodriguez and M. E. Lleonat, *Frontiers in Oncology*, 2021, **11**. 2.V. Filippov, M. A. Song, K. Zhang, H. V. Vinters, S. Tung, W. M. Kirsch, J. Yang and P. J. Duerksen-Hughes, *Journal of Alzheimer's Disease*, 2012, **29**, 537-547. 3.S. M. Turpin-Nolan and J. C. Brüning, *Nature Reviews Endocrinology*, 2020, **16**, 224-233. 4. M. Aseeri, J. L. Abad, A. Delgado, G. Fabriàs, G. Triola and J. Casas, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2023, **38**, 343-348. 5. B. Ogretmen and Y. A. Hannun, *Nature Reviews Cancer*, 2004, **4**, 604-616. 6. D. Pizzirani, C. Pagliuca, N. Realini, D. Branduardi, G. Bottegoni, M. Mor, F. Bertozzi, R. Scarpelli, D. Piomelli and T. Bandiera, *Journal of medicinal chemistry*, 2013, **56**, 3518-3530. 7. S. Di Martino, P. Tardia, V. Cilibrasi, S. Caputo, M. Mazzonna, D. Russo, I. Penna, N. Realini, N. Margaroli, M. Migliore, D. Pizzirani, G. Ottonello, S. M. Bertozzi, A. Armirotti, D. Nguyen, Y. Sun, E. R. Bongarzone, P. Lansbury, M. Liu, R. Skerij and R. Scarpelli, *Journal of Medicinal Chemistry*, 2020, **63**, 3634-3664. 8. Bedia et al. (2010). *J Lipid Res.*, 51(12): 3542. 9. Wu, Y. Xiu, P. Zhou, Y. Qiu and Y. Li, *Front Pharmacol*, 2019, **10**, 818.