

# **Jaunas pretmalārijas zāļvielu līdersavienojumu klases izveide**

A. Jirgensons

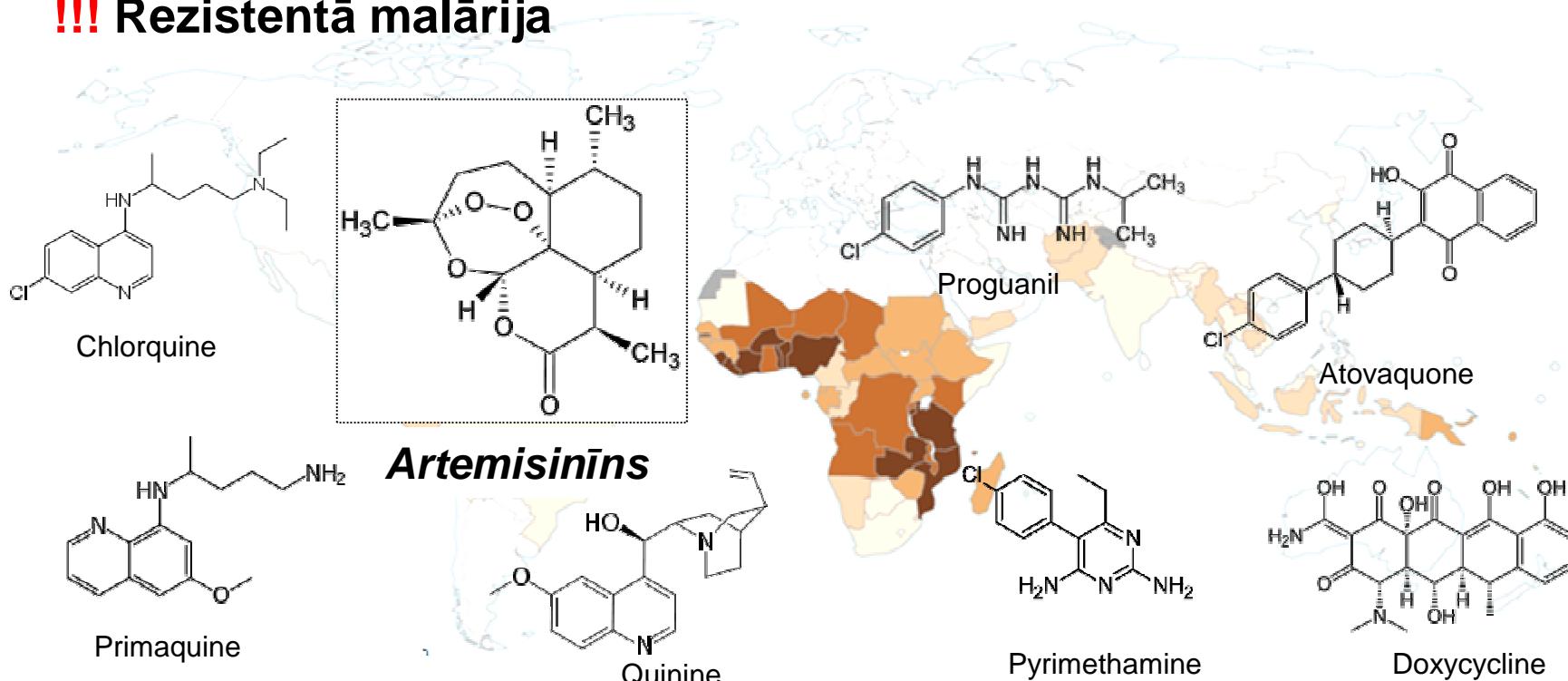
**ZA KBMZN**  
Rīga, Latvija  
2017

## Par malāriju

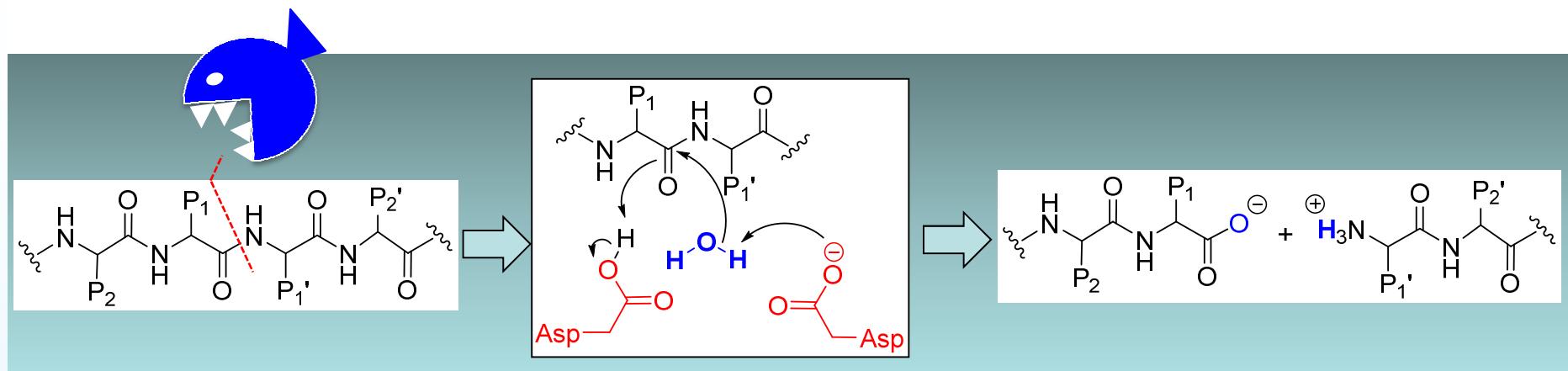
- Izraisa *plasmodium* parazīti, kurus pārnēsā moskīti
- 300–500 miljoni saslimšanas gadījumi gadā
- 0.5–2.5 miljoni letāli gadījumi - augstākā riska kategorija bērni un grūtnieces
- Plasmodium falciparum* ir visbīstamākā malārijas suga
- ~Puse no planētas iedzīvotājiem dzīvo malārijas apdraudētajos reģionos



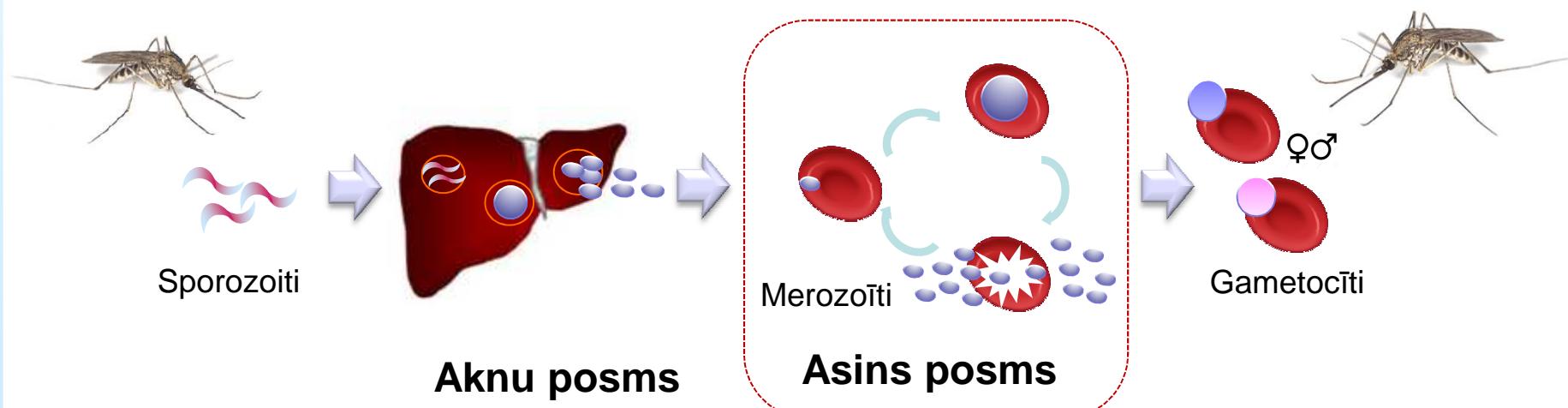
### !!! Rezistentā malārija



# Plasmepsīni – malārijas aspartilproteāzes



*P. falciparum* genomā ir iekodēti desmit (Plm I-X) plasmepsīni  
Septiņi (Plm I-V, IX, X) tiek ekspresēti malārijas dzīves cikla asins posmā



# Plasmepsīni – malārijas aspartilproteāzes

## “Gremošanas” plasmepsīni



### ***Knockout* pētijumi:**

**$\Delta pfpm\ I, II, III$** , neietekmē hgb sašķelšanu  **$\Delta pfpm\ IV$**  būtiski ietekmē

***multiple*  $\Delta pfpm\ I-III$** , neietekmē parazīta augšanu  **$\Delta pfpmI-IV$**  būtiski ietekmē

Bonilla et al. Int. J. Parasitol. 2007; Mol. Microbiol. 2007

**Plm IV – zāļvielu mērķis?**

## “Ne-gremošanas” plasmepsīni

**Plm V**

Izvietots ER. Uzsāk eksportproteīnu pārnesi no parazītskās vakuolas uz asinsšūnu Boddey, J.A. et al. Nature 2010; Russo, I. et al. Nature 2010

**Plm VI-X**

Ierobežota izpratne par funkcijām plasmodijā

**Zāļvielu mērķi?**

**Plm IX,X**

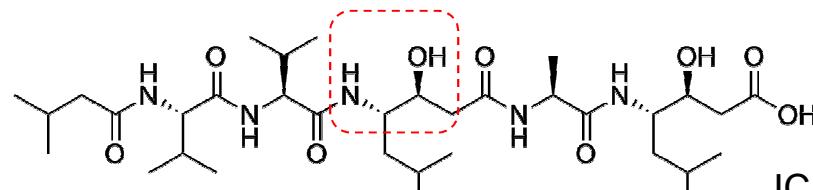
Ekspresēti asinsposmā,  
Augsta sekвences homoloгija ar “gremošanas” Plm



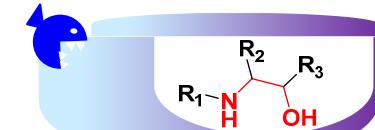
# Plasmepsīnu inhibitori

## Peptīdiskie

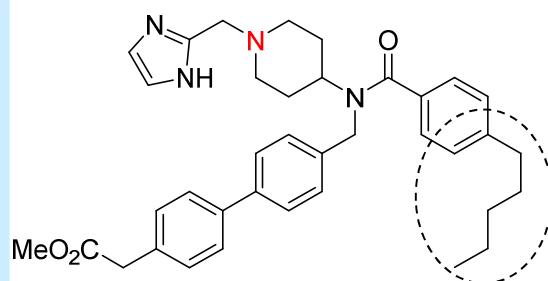
Pārejas stāvokļa mimētīkis



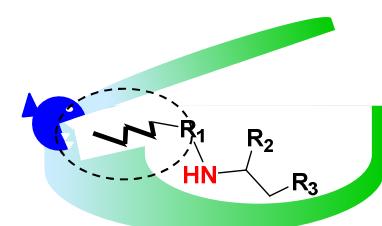
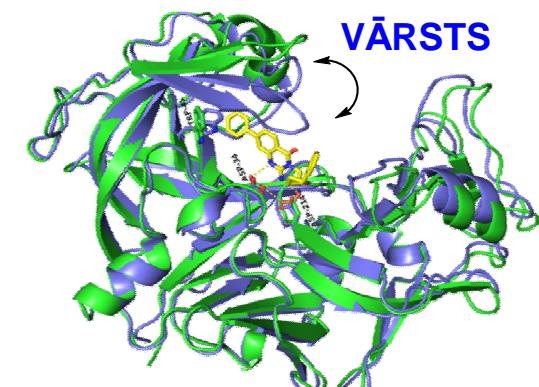
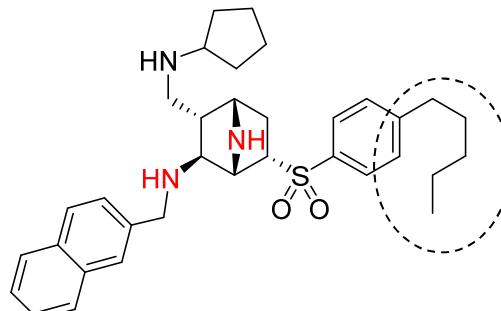
$IC_{50}$ (Plm I,II,IV) = 0.02-0.4 nM  
 $IC_{50}$ (Cath D) = 0.003 nM  
*P. falciparum* AI,  $EC_{50}$ = 4 uM



## Ne-peptīdiskie



$IC_{50}$ (Plm II) = 34 nM  
 $IC_{50}$ (Cath D) = 20 uM  
*P. falciparum* AI,  $EC_{50}$ = 3.4 uM



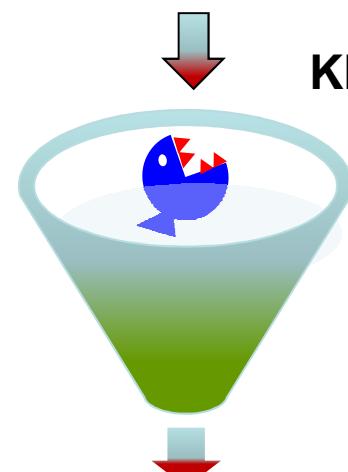
Curr. Med. Chem. 2003  
J.Biol.Chem. 2005

Diederich et al.

ACIE 2006,  
Chem Eur J. 2013

# Ne-peptīdisko Plm inhibitoru atklāšana ar fragmentu pieeju

~1000 fragmenti

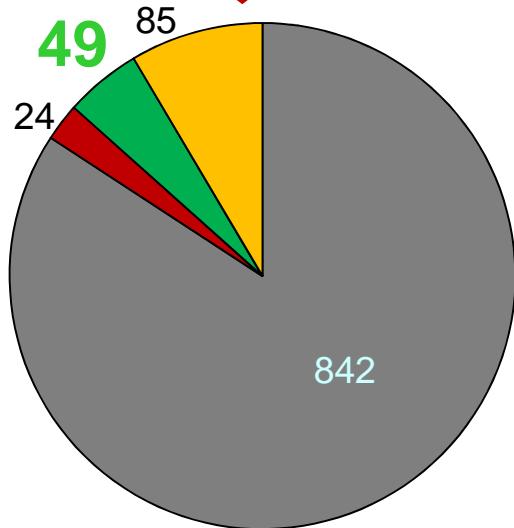


KMR skrīnings  
uz Plm II

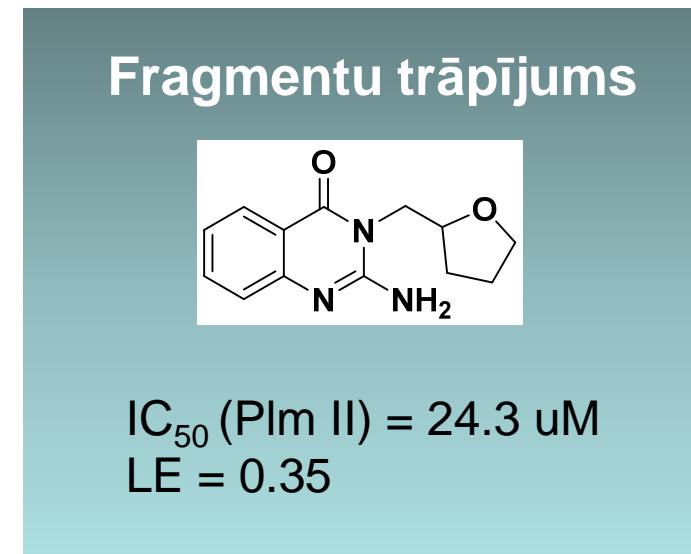


- 1) *T1ρ eksperiments*
- 2) *WaterLOGSY eksperiments*
- 3) *Saturation Transfer Difference*

Konkurējošie eksperimenti ar  
pepstatīnu

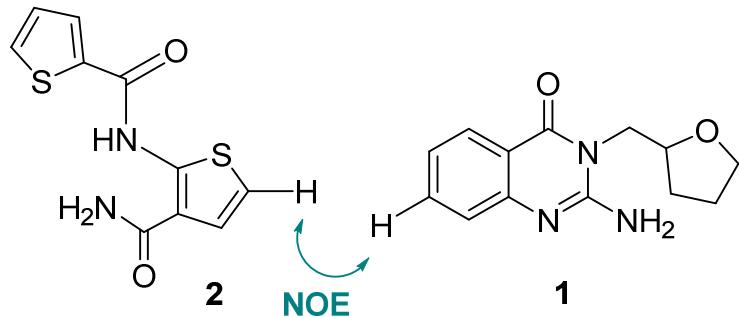


- nesaistās
- nešķīst
- saistās specifiski
- saistās nespecifiski



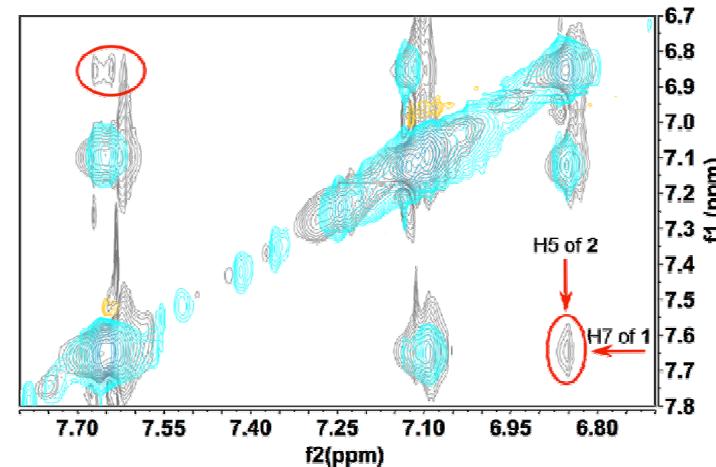
# Fragmenta uzaudzēšana – fragmentu savstrapējas konkurēšanas KMR eksperimenti

## KMR eksperimenti pa pāriem

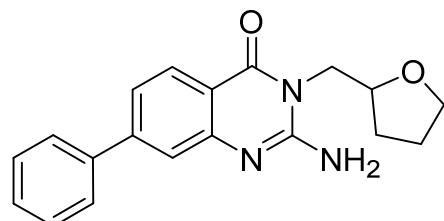


$IC_{50}$ (Plm II) = 100  $\mu M$   
LE = 0.34

$IC_{50}$ (Plm II) = 24  $\mu M$   
LE = 0.35



## Sākotnējā fragmeta sintētiska attīstīšana:

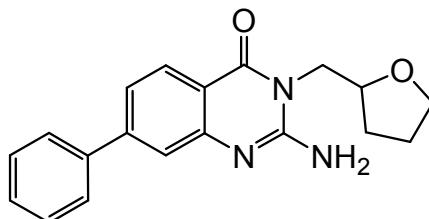


$IC_{50}$ (Plm II) = 2.3  $\mu M$

KMR: M.Otikovs, Dr. K. Jaudzems; sintēze: D. Rasina

Rasina, D. et al. *J. Med. Chem.* 2016, 59, 374.

# Fragmenta uzaudzēšana - molekulārais dokings

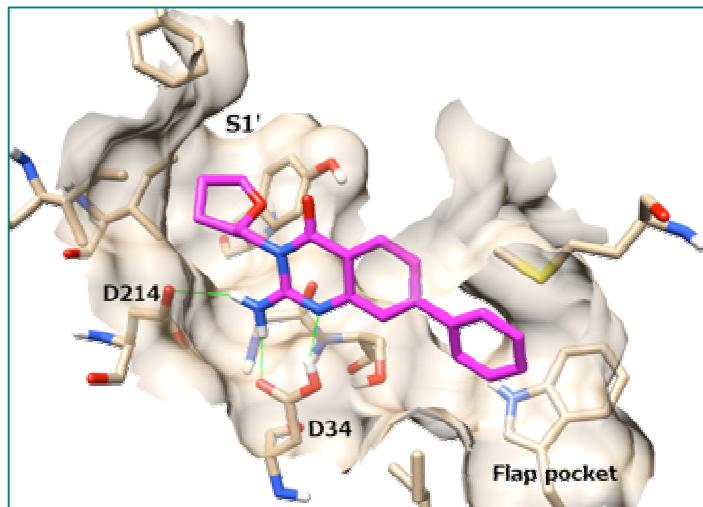


Hidrofobs  
aizvietotājs

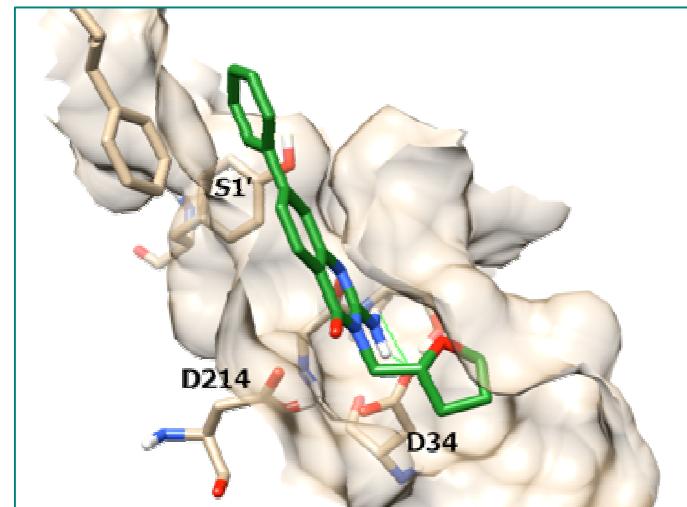
Plm II IC<sub>50</sub> = 2.3 μM

Divi atšķirīgi modelētie optimizēto fragmentu saistības veidi ar Plm II

Atvērta vārstā konformācijā



Slēgta vārstā konformācijā

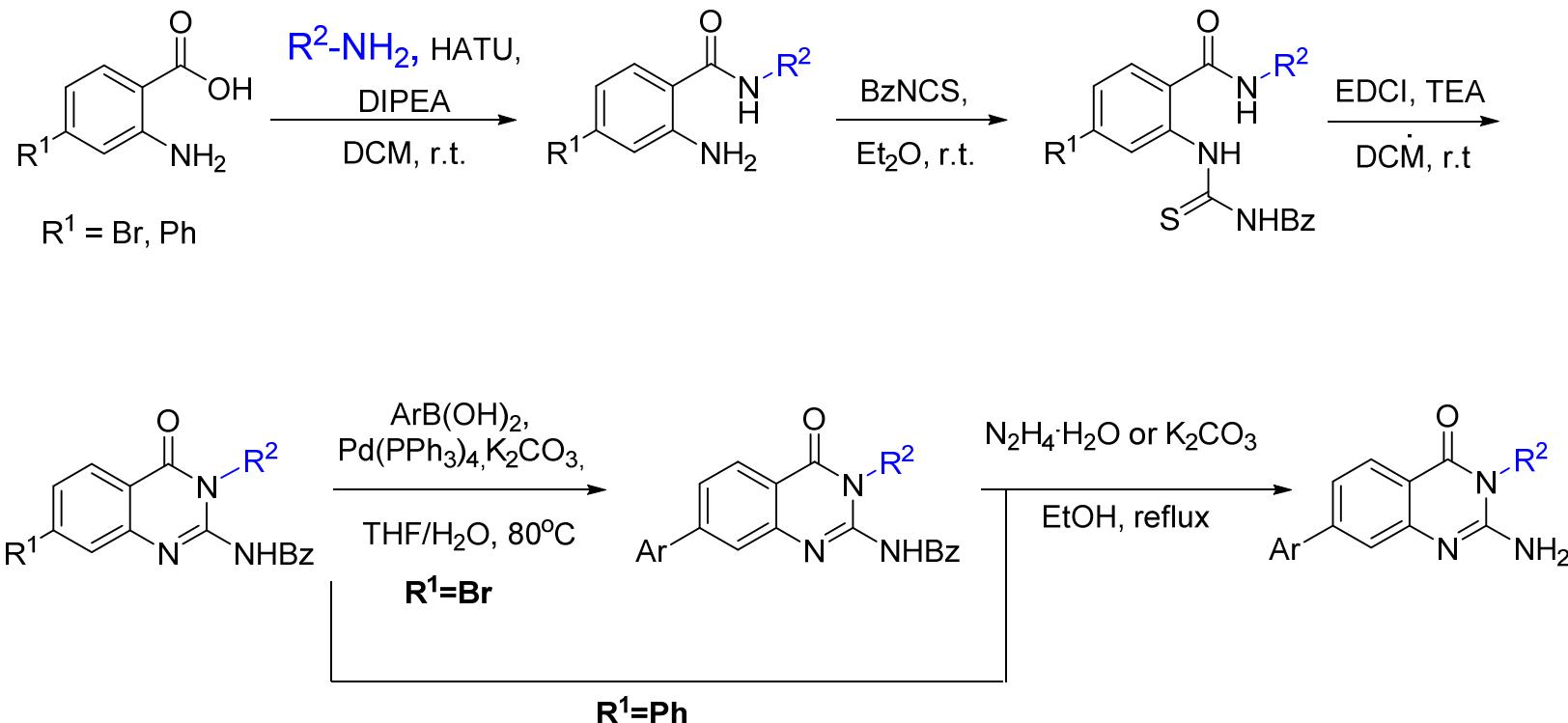


Modelēšana :T. Panteļejevs, Dr. K. Jaudzems.

Rasina, D. et al. *J. Med. Chem.* 2016, 59, 374.

## 2-Aminohinazolīnonu Plm inhibitori

Vispārīgā 2-aminohinazolīnonu sintēzes shēma

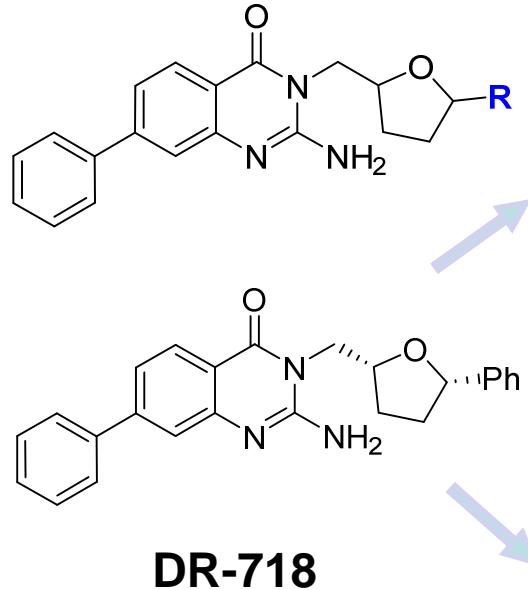


Sintēze: D. Rasina, Dr. O.Borysov

Rasina, D. et al. J. Med. Chem. 2016, 59, 374.

## 2-Aminohinazolīnonu Plm inhibitori

### THF aizvietotāju struktūras aktivitātes likumsakarības

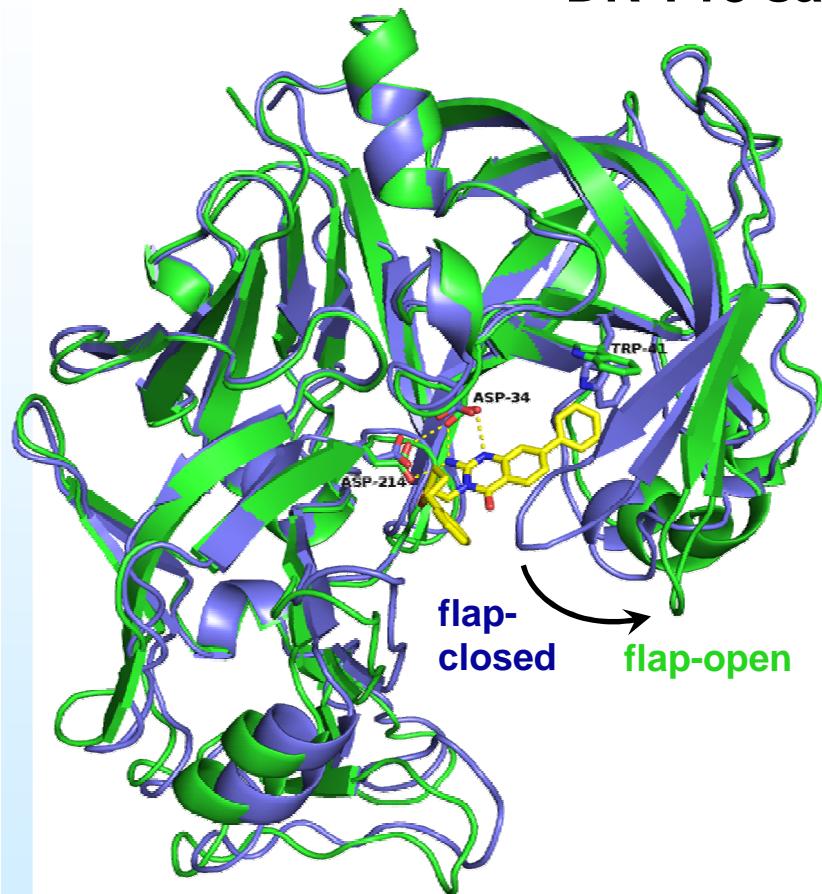


R	IC <sub>50</sub> (uM)			
	PM II	PM I	PM IV	Cat D
H	2.3	nd	nd	nd
<b>cis-Ph</b>	0.57	1.3	0.6	13.8
<b>trans-Ph</b>	2.9	2.4	1.1	9.0
<b>cis-iPr</b>	1.6	2.3	1.5	25
<b>cis-Naphth</b>	2.5	3.7	1.3	19.5
<b>spiro-cHex</b>	5.3	2.0	3	9.0
<b>R,S-cis-Ph</b>	0.34	1.2	0.5	4.6
<b>S,R-cis-Ph</b>	3.0	4.6	2.7	22

**S(Cat D/Plm II, IV) 10-20x**

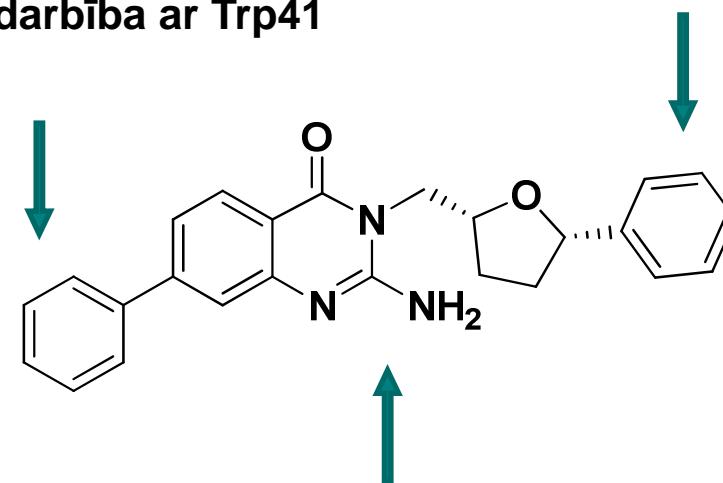
# DR-718 un Plm II kompleksa rentgenstruktūra

DR-718 saistās ar Plm II atvērtā vārsta konformācijā



$\pi-\pi$  sadarbība ar Trp41

S1' kabata,  
 $\pi-\pi$  sadarbība ar Phe294

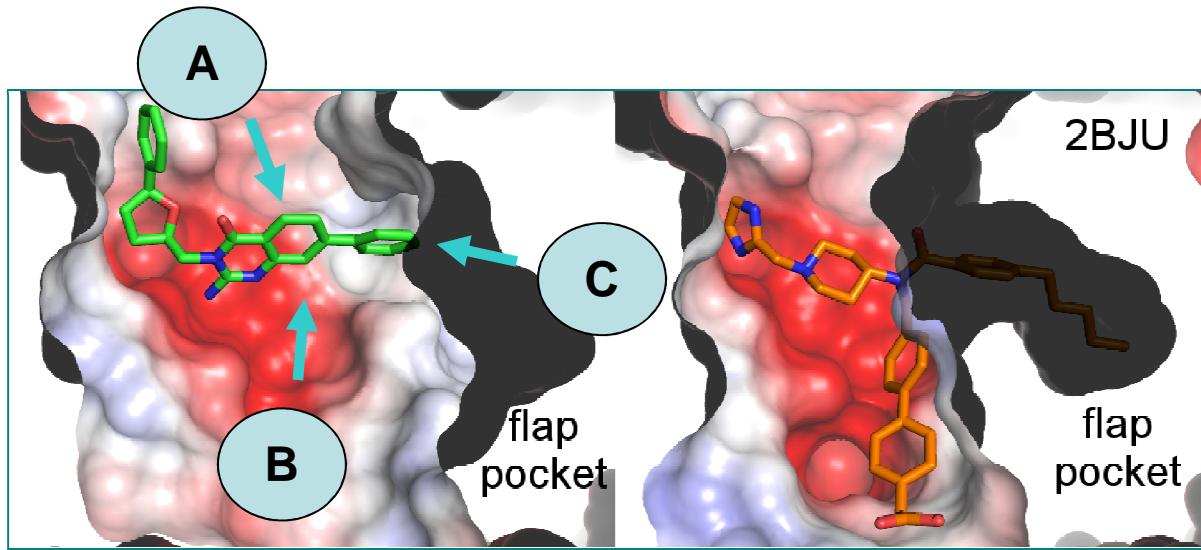


H-saite ar katalītiskajiem  
Asp34 and Asp214

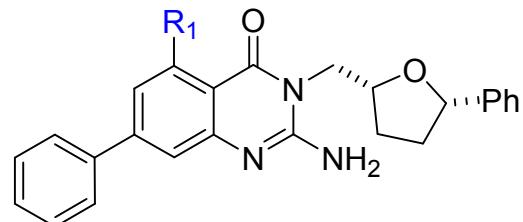


Rentgenstruktūralālīze: R. Recacha, K. Tārs, J. Leitāns

# Hipotēzes DR-718 tālākajai pilnveidošanai

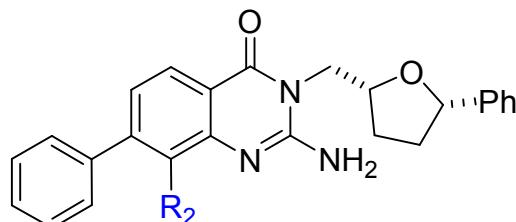


5. pozīcija



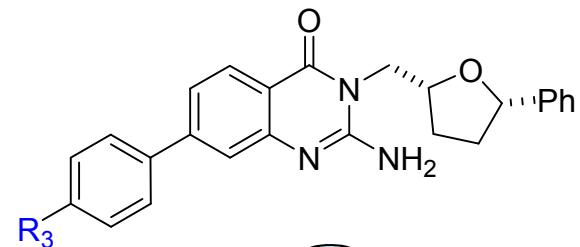
A

8. pozīcija



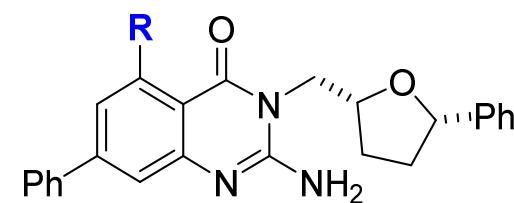
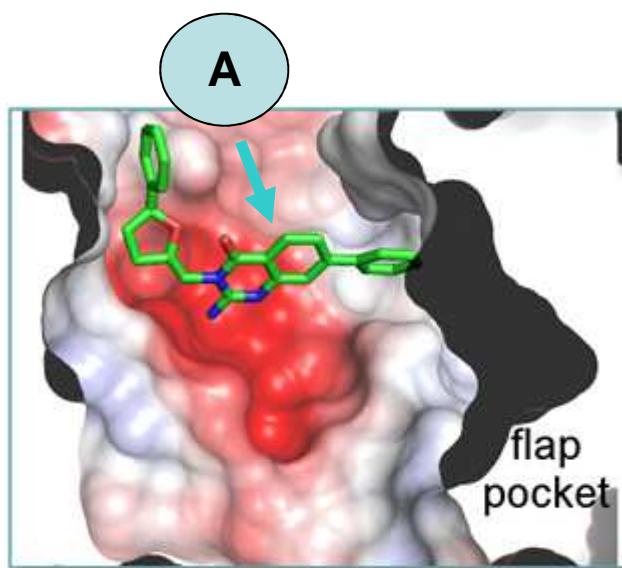
B

Vārsta kabatas aizvietotājs



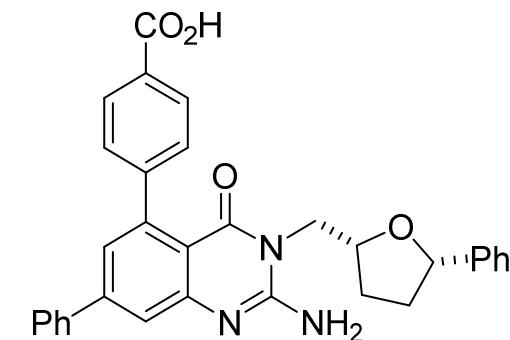
C

## 5-Aizvietoto-2-aminohinazolīnu struktūras aktivitātes likumsakarības



R = MeS-, EtO-, nPrO-, PhO-, Me<sub>2</sub>N-, Ph-, 4-(HO<sub>2</sub>C)C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-

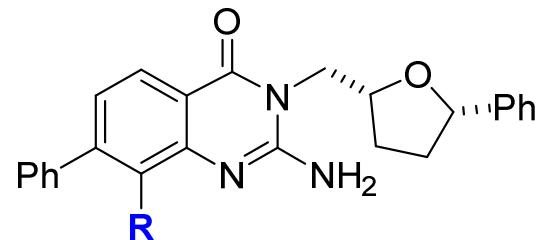
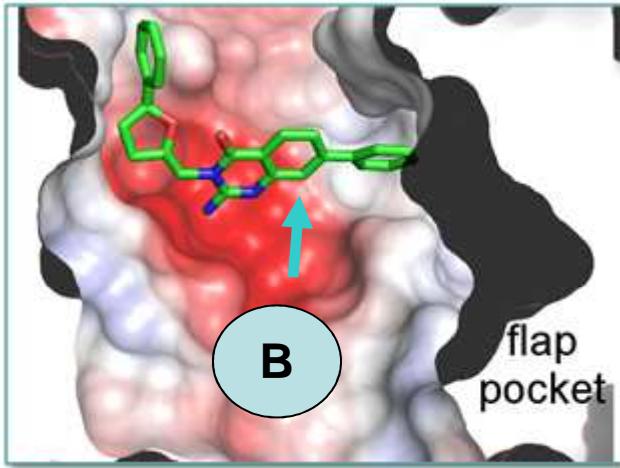
IC<sub>50</sub> (Plm II) = 0.28 – 2.2 μM



IC<sub>50</sub> (Plm II) = 0,28 μM  
(Plm I) = 0,6 μM  
(Plm IV) = 0,5 μM  
(Cat D) = 20 uM

S(Cat D/Plm I, II, IV) ~40-100x

## 8-Aizvietoto-2-aminohinazolīnu struktūras aktivitātes likumsakarības

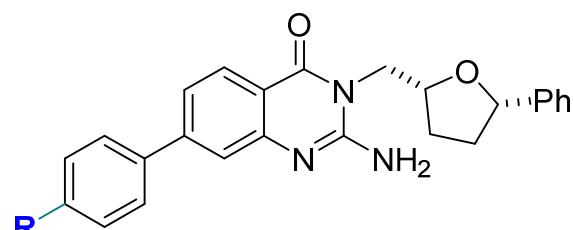
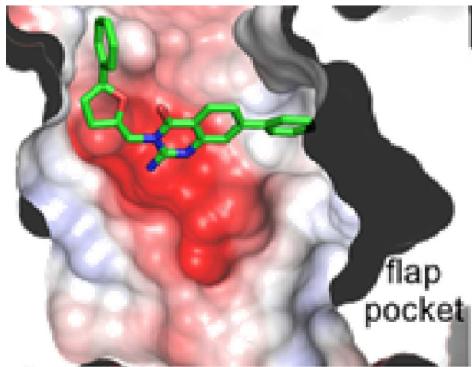


**R** = Me;  $IC_{50}$  (Plm II) = 110  $\mu$ M

**R** = MeO;  $IC_{50}$  (Plm II) = 6.5  $\mu$ M

**R** = Pent;  $IC_{50}$  (Plm II) = 100  $\mu$ M

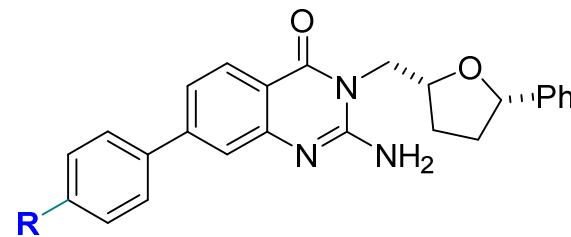
# Vārsta kabatas aizvietotāju struktūras aktivitātes likumsakarības



**S(Cat D/Plm II, IV) 30-50x**

R	IC <sub>50</sub> (uM)			
	Plm II	Plm I	Plm IV	Cat D
H	0.57	1.3	0.6	13.8
<i>n</i> -butil	0.23	0.3	0.2	2.2
<i>n</i> -pentil	0.15	0.3	0.1	5.0
	0.26	0.27	0.4	1.4
	2.4	0.5	0.8	8.6
	10.7	9.4	1.2	100
	0.4	0.48	0.3	3.2
	0.6	1.4	0.4	n.a.
	2.0	2.0	0.7	n.a.
	10	3.2	0.13	6.0
	32	6.5	0.4	91

## 2-Aminohinazolīnu spēja inhibēt *P. falciparum* augšanu

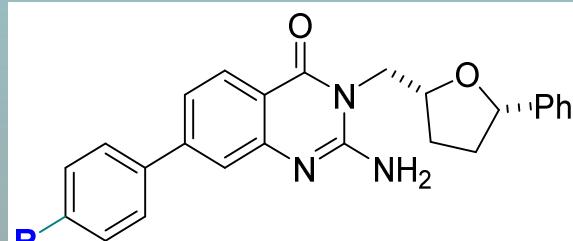


R	IC <sub>50</sub> (μM)				
	Plm I	Plm II	Plm IV	CatD	<i>P. falciparum</i> augšana
n-pentil	0.3	0.15	0.1	5.0	1.1
n-butil	0.3	0.2	0.2	2.2	0.9
Ph(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub>	3.2	10	0.12	6.0	1.2
Ph(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub>	6.5	32	0.4	91	3.9

# Kopsavilkums

## Ne-peptīdiskie Plm inhibitori

### Fragmentu trāpījums



R	IC <sub>50</sub> (μM)				P. f. augšana, EC <sub>50</sub> , μM
	Plm I	Plm II	Plm IV	Cat D	
n-pentil	0.3	0.15	0.10	5.0	1.1
Ph(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub>	3.2	10	0.13	6.0	1.2

$$S (\text{Plm IV/Cat D}) = 50$$

Journal of  
**Medicinal  
Chemistry**

Article

[pubs.acs.org/jmc](https://pubs.acs.org/jmc)

## Fragment-Based Discovery of 2-Aminoquinazolin-4(3*H*)-ones As Novel Class Nonpeptidomimetic Inhibitors of the Plasmeepsins I, II, and IV

Dace Rasina,<sup>†</sup> Martins Otikovs,<sup>†</sup> Janis Leitans,<sup>‡</sup> Rosario Recacha,<sup>†</sup> Oleksandr V. Borysov,<sup>†</sup> Iveta Kanepe-Lapsa,<sup>†</sup> Ilona Domraceva,<sup>†</sup> Teodors Pantelejevs,<sup>†</sup> Kaspars Tars,<sup>‡</sup> Michael J. Blackman,<sup>§</sup> Kristaps Jaudzems,<sup>\*,†</sup> and Aigars Jirgensons<sup>\*,†</sup>

## Finansiālais atbalsts



**European Union**  
European Regional  
Development Fund  
Investing in your future



LIOS iekšējais grants

Access to 1 GHz NMR  
spectrometer in Lyon, France

