

University of Groningen

## Development and application of novel scaffolds in drug discovery

Boltjes, André

DOI:  
[10.33612/diss.98161351](https://doi.org/10.33612/diss.98161351)

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*  
Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*  
2019

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*  
Boltjes, A. (2019). *Development and application of novel scaffolds in drug discovery: the MCR approach*. Rijksuniversiteit Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.98161351>

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

*Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.*

# SAMENVATTING

---

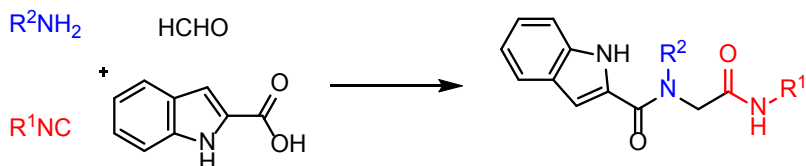
Ontwikkeling van geneesmiddelen begint met het achterhalen van de biologische processen die verantwoordelijk zijn voor specifieke ziektebeelden. Ontregeling van een enzym of eiwitactiviteit in het lichaam is vaak de reden dat een ziekte zich kan manifesteren. Door dit soort enzymen of eiwitten te remmen of juist te activeren kan de biochemische balans hersteld worden en zo de ziekte genezen. De werking van eiwitten kan vergeleken worden met een stuk gereedschap wat in staat is om lichaamseigen stoffen te herkennen en eventueel aan te passen. Welke stof herkend wordt, verschilt per eiwit en zo heeft het lichaam een groot scala aan eiwitten en enzymen, elk met een eigen functie op verschillende plekken in het lichaam. Sommige eiwitten communiceren met andere eiwitten en geven zo signalen door in het lichaam, terwijl andere eiwitten, zoals de enzymen, stoffen kunnen afbreken of opbouwen. De specificiteit van eiwitten is toe te wijden aan het zogenoemde sleutel-slot model. De vorm van een eiwit, de receptor, maakt dat alleen stoffen (chemische structuren/moleculen) met diezelfde vorm, het substraat, erin passen en dus interactie kunnen aangaan. Bij een onbalans in eiwitactiviteit kan door middel van het namaken van het substraat in het lab een enzym geremd worden. Remming of inhibitie van eiwitten en enzymen is een belangrijk thema binnen geneesmiddelenonderzoek.

Binnen het vakgebied drug design wordt de receptor van eiwitten onderzocht, vaak met computer software en worden moleculen ontwikkeld die zowel de juiste vorm als affiniteit (aantrekkende krachten) hebben om te kunnen binden aan deze receptoren. De kunst is om een dergelijke affiniteit te krijgen dat de moleculen zeer makkelijk kunnen binden, maar ook selectiviteit om te voorkomen dat de verkeerde eiwitten worden geremd. Daarnaast is het belangrijk dat het lichaam de moleculen op de juiste plek kan krijgen, zonder dat deze door allerlei metabole processen uit het lichaam worden verwijderd. Dit soort parameters bepalen hoeveel van de verbinding nodig is om een effect te geven, oftewel hoe groot de dosis moet zijn. Een dosis van 100 gram van een medicijn is onpraktisch en snelle afbraak maakt dat er vaker een dosis toegediend moet worden. Het doel is dus om potente verbindingen te ontwikkelen met goede bio-beschikbaarheid en geschikte ADMET (Administration (toediening), Distributie, Metabolisme, Excretie, Toxiciteit) eigenschappen.

Het maken van medicijnen, de actieve verbindingen, wordt veelal in een chemisch lab gedaan. Een verbinding is een molecuul en moleculen worden gemengd met andere geschikte moleculen om deze met elkaar te laten reageren tot een nieuw molecuul, met nieuwe eigenschappen. Het opbouwen of synthetiseren van moleculen kan stap voor stap gedaan worden, zoals een lego-bouwset, totdat de verbinding alle eigenschappen bezit van een 'drug-like' verbinding. Elke synthese stap kost tijd en omdat niet elke chemische reactie volledig verloopt is chemische opzuivering vereist wat bij elke stap tot verlies leidt. In plaats van een dergelijke sequentiële synthese kunnen ook alle stappen verwerkt worden in één reactie. Multi Component Reactie (MCR) chemie kan worden omschreven als het laten reageren van drie of meer componenten/moleculen tot één nieuw molecuul. In één reactie stap worden alle benodigde eigenschappen gecombineerd en door slimme keuze van de begincomponenten kunnen 'drug-like' verbindingen zeer efficiënt gesynthetiseerd worden.

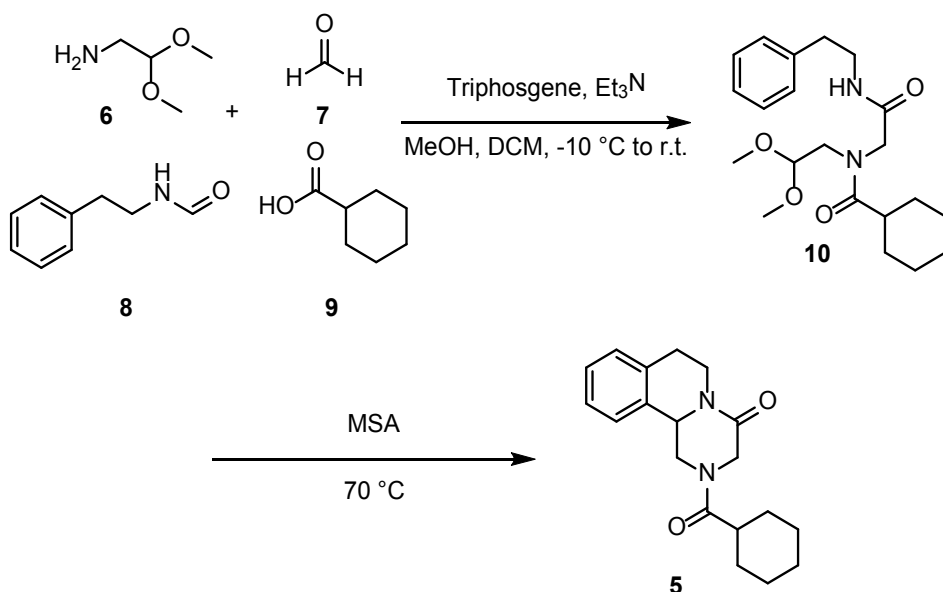
Er bestaan verschillende soorten MCR reacties, elk met de mogelijkheid om bepaalde eigenschappen te kunnen combineren. Voor een brede toepasbaarheid van MCR chemie is het belangrijk om nieuwe MCR varianten te ontwikkelen. Het

werk beschreven in dit proefschrift omvat de ontwikkeling van een aantal nieuwe MCR variaties en hun toepassing als eiwit-remmers en diagnostische probes.



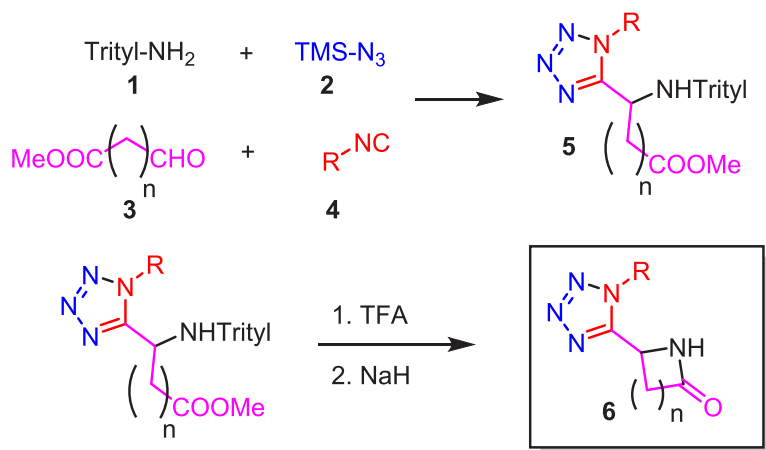
**Schema 1.** Ugi-4CR voor high throughput synthese.

In **Hoofdstuk 2** wordt een remmer ontwikkeld tegen de eiwit-eiwit interactie van p53 met Mdm4. P53 is een eiwit dat verantwoordelijk is voor het stilleggen van de celdeling, wat bijvoorbeeld nodig is om schade aan het DNA te kunnen repareren. Verder zal p53 de cel laten sterven (apoptose) als de cel ongezond is. Mdm4 is net als Mdm2 verantwoordelijk voor de afbraak van p53, nadat de reparatie werkzaamheden zijn voltooid. Dit herstelt het vermogen om de cellen op een gezonde manier verder te laten delen. In het geval van kankercellen wordt dit reparatie mechanisme verstoord door overactiviteit van Mdm2/Mdm4 of door mutaties van het p53-gen, waardoor deze cellen zich blijven delen. Door de synthese van MdmX remmers wordt de functie van p53 hersteld met apoptose tot gevolg. Dit is een effectieve manier om kanker te bestrijden. Door middel van de Ugi 4-component reactie (Ugi-4CR) (schema 1) is een bibliotheek van ruim 100 verbindingen gesynthetiseerd. Hierbij is een nieuwe selectieve Mdm4-p53 inhibitor ontdekt. De selectiviteit is 10 keer zo hoog ten opzichte van Mdm2, met een  $K_i = 5,5 \mu\text{M}$ .



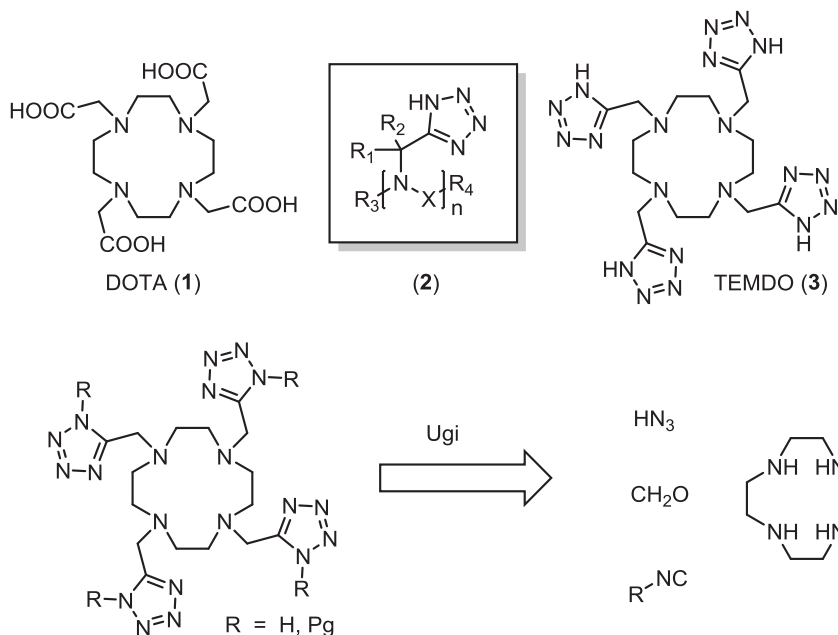
**Schema 2.** De Ugi-4CR met de *in situ* gegenereerde phenethylisocyanide vanuit het formamide 8, gevolgd door de Pictet-Spengler reactie waarbij uiteindelijk praziquantel (5) wordt verkregen.

In **Hoofdstuk 3** wordt de synthese van praziquantel geoptimaliseerd. Praziquantel is een geneesmiddel dat gebruikt wordt ter behandeling van Schistosomiasis, een parasitaire ziekte welke wereldwijd meer dan 200 miljoen mensen besmet heeft. De synthese omvat een vier-staps-synthese, waarbij in de éérste stap grote hoeveelheden kalium cyanide wordt gebruikt. Door incidenten tijdens deze productie methode is in besmet rivierwater al het leven kilometers stroomafwaarts gedood. De nieuwe MCR methode omvat een Ugi-4CR, waarbij één van de stinkende bestanddelen *in situ* wordt gevormd (schema 2). Zodoende wordt middels ‘groene’ chemie in slechts twee synthese stappen praziquantel gemaakt, waarbij het direct hanteren van isocyanides vermeden wordt.



**Schema 3.** Beoogde route voor de synthese van tetrazolo *N*-ongesubstitueerde  $\gamma$ - en  $\delta$ -lactams.

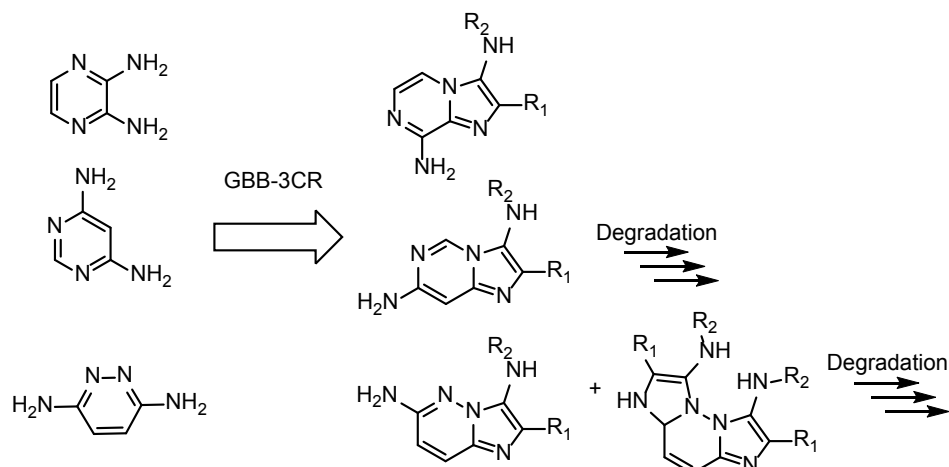
**Hoofdstuk 4** omvat de combinatie van een aminotetrazool- en een lactam-verbinding. De aminotetrazoolverbinding fungeert als een bio-isostere verbinding van een aminozuur. Lactams hebben een brede toepassing, zoals in antibiotica en als HRV protease inhibitors. De genoemde combinatie zou de affiniteit van dit soort verbindingen kunnen verhogen en eventueel fungeren als probe voor de ontwikkeling van nieuwe medicijnen. Door het toepassen van een ester bevattend bi-functioneel component in de Ugi-Tetrazool-4CR, wordt eerst het amino tetrazool gedeelte geïntroduceerd. In een tweede reactie laten we de estergroep in basisch milieu intramoleculair reageren met het aanwezige amine tot *N*-ongesubstitueerde  $\gamma$ - en  $\delta$ -lactams (schema 3). In totaal zijn er 11 verbindingen gesynthetiseerd, met variaties in lactam ringgrootte en tetrazool substituenten.



**Schema 4.** De structuur van DOTA (1) DOTA, algemene oligotetrazolen, TEMDO en de retrosynthese hiervan.

De ontwikkelde aminotetrazool chemie wordt in **Hoofdstuk 5** aangepast voor de ontwikkeling van een nieuwe generatie MRI contrast middelen. Momenteel worden voor diagnostische MRI metingen, contrast middelen, zoals DOTA op basis van gadolinium toegepast. Door de toxiciteit van dit metaal is het van essentieel belang dat deze uitsluitend als het niet toxische gadoliniumcomplex wordt toegepast. De complexerende werking berust op coördinatie van gadolinium aan meerdere amino- en carboxylgroepen van het complexerende molecuul. Door metabolisme in het lichaam wordt dit complex afgebroken, met het lekken van gadolinium tot gevolg. Door het vervangen van de carboxylgroepen met tetrazolen wordt gepoogd de metabolische afbraak en daarmee lekken tegen te gaan. De verbinding TEMDO wordt middels de Ugi-Tetrazool 4CR gesynthetiseerd, gecomplexeerd met gadolinium en toegepast als MRI contrast middel, waarbij de contrast verbetering succesvol aangetoond is (schema 4).

In **Hoofdstuk 6** wordt een overzicht gegeven van de ontwikkeling van de Groebke-Blackburn-Bienaymè 3CR (GBB-3CR). Deze reactie is in 1998 ontdekt als een variatie van de Ugi 4CR, waarbij amidines als amine component een ander product gaven dan in eerste instantie verwacht werd. Dit product bevat een imidazo[1,2a]heterocyclische verbinding als basisstructuur en heeft een veelbelovende toepassing als bioactieve verbinding. In de afgelopen twintig jaar is de reactie doorontwikkeld tot belangrijke MCR en in het overzicht worden de mogelijke variaties van de drie componenten, belangrijke ontwikkelingen van de reactiecondities en de biologische toepassing van de GBB-3CR



**Schema 5.** Pyrazines, pyrimidines en pyridazines in de GBB-3CR.

In het in hoofdstuk 6 beschreven overzicht blijkt dat het gebruik van bis-amidines ondervertegenwoordigd is. Zodoende wordt in **hoofdstuk 7** de toepasbaarheid van bis-amidines onderzocht. Het bleek dat diverse amidines weliswaar product geven, alsmede producten van een dubbele GBB-3CR, maar vervolgens degraderen binnen een periode van minuten wanneer deze bloot gesteld worden aan lucht. Het bis-amidine pyrazine-2,3-diamine gaf echter stabiele producten en resulteerde daarnaast uitsluitend het mono GBB-3CR product. Het hierbij verkregen imidazo[1,2-*a*]pyrazin-8-amine motief heeft een vrij exocyclisch amine, wat mogelijkheden geeft tot waterstofbrug vorming en daarnaast grote gelijkenis vertoont met adenine, een onderdeel van adenosine. Het merendeel van klein moleculaire geneesmiddelen die werken als remmers op kinases, bootsen de gevormde waterstofbruggen na van het adenosine deel van ATP. Deze eigenschappen maken de GBB-3CR producten veelbelovend als adenine 'mimetic' met potentiële toepassing als kinase inhibitoren.





