

Diss. ETH Nr. 21674

**Strukturbasiertes Design und Synthese von Arylsulfat-Sulfotransferase-
(ASST) und Serin-Hydroxymethyltransferase- (SHMT) Inhibitoren**

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels

DOKTOR DER WISSENSCHAFTEN der ETH Zürich

(Dr. sc. ETH Zürich)

vorgelegt von

Sandro Tonazzi

Master of Science ETH in Chemie

geboren am 30.12.1982

von Ingenbohl (SZ)

angenommen auf Antrag von

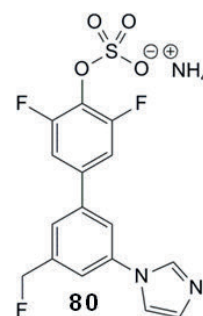
Prof. Dr. François Diederich, Referent

Prof. Dr. Helma Wennemers, Korreferentin

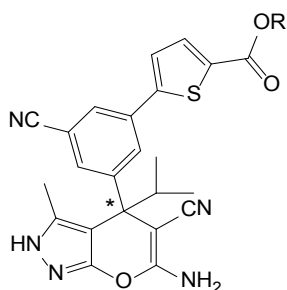
Zürich 2014

Zusammenfassung

Harnwegsinfektionen werden durch uropathogene *E. coli* verursacht und stellen für viele Menschen (mehrheitlich Frauen) ein sehr schmerzhaftes Problem dar. Behandlungen mit Antibiotika sprechen immer weniger an, da Resistenzbildungen der *E. coli*-Stämme beobachtet werden. Mit der Entwicklung von Inhibitoren der Arylsulfat-Sulfotransferase (ASST) – einem Enzym mit sehr polarer Bindungstasche – können nicht nur neue Antibiotika gegen Harnwegsinfektionen gefunden, sondern auch wichtige Erkenntnisse in der Wirkstoffentwicklung im Falle polarer Bindungstaschen gewonnen werden. Mit diesem Ziel wurden, ausgehend von 200 *in-silico screening hits*, phenolische Sulfate als Leitstruktur definiert. Über ein *de-novo*-Design mit MOLOC wurde während 2.5 Jahren der Inhibitor **80** entwickelt, welcher mit einem IC₅₀-Wert von 4 nM eine interessante Basis für weitere Forschungsarbeiten darstellt.



Malaria ist in tropischen und subtropischen Gebieten weit verbreitet und wird über den Stich einer infizierten, weiblichen *Anopheles*-Stechmücke übertragen. Der Malariaerreger *Plasmodium falciparum* bildet immer mehr Resistenzen gegen vorhandene Malariamedikamente, was die Entwicklung neuer Wirkstoffe fordert. Synergien zwischen der Agro- und Medizinalchemie führten zur Identifizierung der sehr aktiven Pyrazolopyrane, welche das Enzym Serin-Hydroxymethyltransferase (SHMT) hemmen. SHMT ist ein Virulenzfaktor von *P. falciparum* und sollte die Entwicklung von Medikamenten mit neuem Wirkmechanismus ermöglichen.

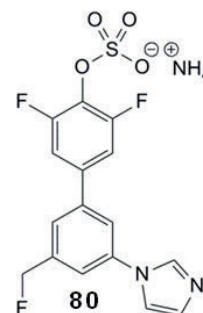


(±)-**30**: R= Me
(±)-**129**: R= Benzyl

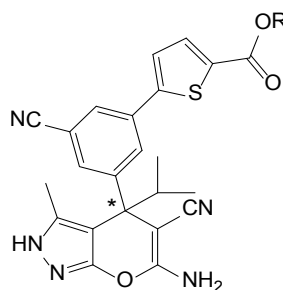
Kürzlich synthetisierte thiophenylphenyl- und isopropylsubstituierte Pyrazolopyrane (z.B. (±)-**30**) zeigten hervorragende *in-vitro*-Aktivität gegen *P. falciparum* und wurden als Ausgangspunkt für weitere Arbeiten genommen. Dabei sollte die Löslichkeit sowie die Zellpermeabilität der Inhibitoren durch Derivatisierung mit tertiären Aminoalkyl-Seitenketten zugunsten erhöhter *in-vivo*-Aktivität verbessert werden. Leider besaßen alle acht neu hergestellten Derivate keine der erhofften Eigenschaften. Eine signifikante Verbesserung der Ausbeute im Schlüsselschritt der Syntheseroute ermöglichte die Synthese von bis zu 400 mg der beiden sehr aktiven Verbindungen (±)-**30** (2.8 nM) und (±)-**129** (2.1 nM). Beide wurden in die Enantiomere aufgetrennt und für weitere *in-vitro*- und *in-vivo* (Maus)- Aktivitätsmessungen verwendet.

Abstract

Urinary tract infections (UTI) are caused by uropathogenic *E. coli* and pose a painful issue to many people, especially women. Treating UTIs becomes increasingly difficult due to the resistance of *E. coli* strains against present antibiotics. Developing inhibitors of arylsulfate sulfotransferase (ASST), an enzyme having a very polar active site, can lead to new antibiotics as well as further develop the knowledge of how to inhibit targets with polar active sites. This in turn proves valuable in the research of new drugs against cancer and obesity. *In-silico* screening afforded 200 hits of which phenolic sulfates were used as the starting lead structures. Using *de-novo* design with the modeling package MOLOC and iterative improvements over 2.5 years of research, the inhibitor **80** was obtained, achieving an IC_{50} value of 4 nM which represents a valuable basis for further developments.



Malaria is a severe infectious disease that is widespread in tropical and subtropical regions. The pathogen causing malaria is known to be *Plasmodium falciparum* and is usually trans-



(±)-**30**: R= Me

(±)-**129**: R= Benzyl

ferred by female mosquitos (*Anopheles*). Emerging antibiotic resistant strains of *P. falciparum* require the development of new drugs. Synergies between agro- and medicinal chemistry led to the identification of new lead structures such as pyrazolopyranes. They inhibit the enzyme serine hydroxymethyltransferase, a potential target with new mode of action. Recently synthesized thiophenylphenyl- and isopropyl substituted pyrazolopyranes such as (±)-**30** showed excellent *in vitro* activity against *P. falciparum* and were used as a starting point for further research. Aiming at increased solubility and cell permeability for enhanced *in vivo* activity, derivatization of the pyrazolopyranes with tertiary aminoalkyl sidechains was carried out. Unfortunately all eight newly synthesized inhibitors did not lead to the enhancement in IC_{50} we hoped for. Key steps of the synthesis were optimized in order to yield sufficient quantities (up to 400 mg) of (±)-**30** (2.8 nM) and (±)-**129** (2.1 nM), which belong to the most potent SHMT inhibitors available. Both were separated into the enantiomers and used for further *in vitro* and *in vivo* (mouse) measurements.