VU VRIJE UNIVERSITEIT AMSTERDAM

VU Research Portal

Design, synthesis and pharmacological evaluation of non-peptidergic ligands for the human CXCR3 receptor

Storelli, S.

2010

document version
Publisher's PDF, also known as Version of record

Link to publication in VU Research Portal

citation for published version (APA)
Storelli, S. (2010). *Design, synthesis and pharmacological evaluation of non-peptidergic ligands for the human CXCR3 receptor*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights
Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

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.

E-mail address:
vuresearchportal.ub@vu.nl

Download date: 24. Jun. 2025

Samenvatting

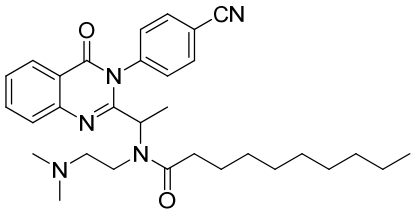
Ontwerp, synthese en farmacologische evaluatie van non-peptiderge liganden voor de menselijke CXCR3 receptor

De CXCR3 receptor behoort tot de klasse van chemokine receptoren. Deze fungeren als de endogene receptoren voor chemokine signaaleiwitten en maken deel uit van de superfamilie van G eiwit-gekoppelde receptoren (GPCRs). CXCR3 lijkt bij verscheidene ziektes betrokken te zijn. Op basis van expressiestudies en/of knock-out modellen is bijvoorbeeld aangetoond dat CXCR3 een rol speelt bij vele ontstekingsgerelateerde aandoeningen zoals multiple sclerose, rheumatoide artritis and psoriasis. Ook heeft CXCR3 de aandacht getrokken door een mogelijke sleutelrol in de afstoting van donororganen door het lichaam. CXCR3 lijkt ook betrokken te zijn bij de metastase van huid- en darm-kankercellen naar de lymfeknopen en bij de metastase van borstkankercellen naar de longen. Dit heeft alles heeft ertoe geleid dat CXCR3 inmiddels wordt gezien als een farmacologisch interessant eiwit met duidelijke therapeutische relevantie. De ontwikkeling van CXCR3 blokkers (antagonisten) is één van de manieren om deze relevantie verder te bestuderen en hopelijk waar te maken.

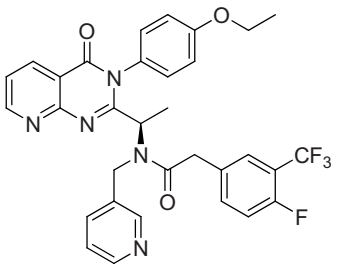
Het doel van het onderzoek dat beschreven staat in dit proefschrift is de ontwikkeling van verscheidene klassen van CXCR3 antagonisten en het identificeren van de moleculaire elementen die vereist zijn voor antagonisme op CXCR3. Het werk in dit proefschrift is in het bijzonder toegespitst op het ontwerpen, synthetiseren en farmacologisch evalueren van kleine, non-peptiderge liganden voor CXCR3.

Hoofdstuk 1 beschrijft in het algemeen de medicinale chemie op de CXCR3 receptor en verschaft daarbij een overzicht van reeds bestaande non-peptiderge CXCR3 liganden. Het laat zien dat publicaties over CXCR3 liganden pas rond 2006 hun intrede deden. Getoond wordt hoe de reeds bekende klassen een grote variëteit aan chemische structuren aan de dag leggen. Toch is het zo dat, voor zover bekend, pas één verbinding (AMG487) het stadium van klinische studies heeft gehaald. Helaas viel deze verbinding in Fase 2 klinisch onderzoek af door gebrek aan effectiviteit. Men vermoedt dat farmacokinetische problemen hieraan ten grondslag kunnen liggen.

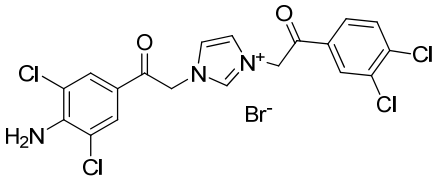
In Hoofdstuk 2 wordt het doel van dit proefschrift in meer detail beschreven. De beoogde synthese en farmacologische evaluatie van nieuwe liganden voor de CXCR3 receptor zal belangrijke informatie verschaffen over de moleculaire elementen die benodigd zijn voor affiniteit en activiteit op CXCR3. Dit zal weer leiden tot een beter begrip van de interacties die CXCR3 liganden aangaan met CXCR3 en tot optimaal beargumenteerde voorstellen voor nieuwe klassen van antagonisten.
In het proefschrift wordt het algemene doel benaderd vanuit verschillende invalshoeken, zoals te lezen is in de verschillende hoofdstukken.



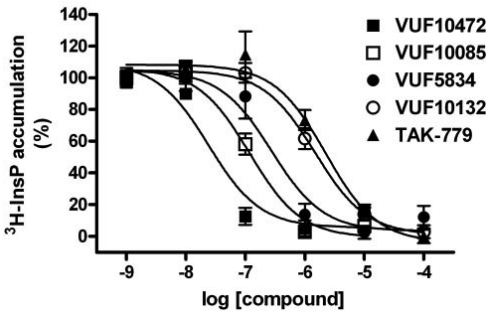
Hoofdstuk 3 behandelt de synthese en structuur-activiteits relaties (SAR) van een serie 3*H*-quinazolin-4-on derivaten. Een 3*H*-quinazolin-4-on dat gerapporteerd was in een octrooi werd gekozen als geschikt uitgangspunt. Vervolgens werden SAR studies uitgevoerd waarin de rollen van de decanoyl groep en phenyl substituenten verder bekeken werden. Deze studies leidden uiteindelijk tot de verbinding VUF5834 die submicromolaire affiniteit vertoont voor CXCR3. De verbinding is ook in staat om effectief CXCR3-geïnduceerde productie van IP3 alsmede calcium mobilisatie te remmen in cellen die de menselijke CXCR3 receptor tot expressie brengen. Ook bleek dat de stof polymerisatie van actine en de chemotaxis van menselijke T cellen reduceert. Bij beide processen speelt CXCR3 een belangrijke rol. Geconcludeerd kan worden dat VUF5834 een waardevolle lead is voor verdere studies.



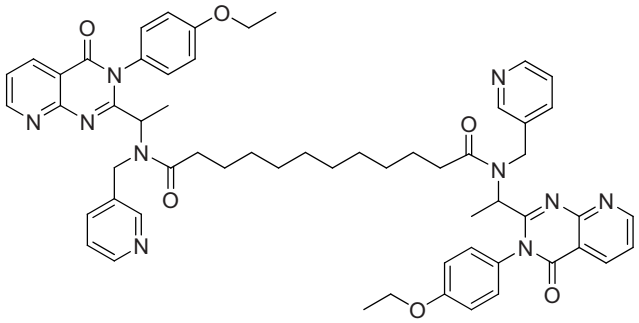
Hoofdstuk 4 beschrijft een gedetailleerde SAR studie van twee klassen CXCR3 antagonisten, namelijk die van de 3H-quinazolin-4-onen (e.g. VUF5834, Hoofdstuk 3) en die van de 3H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-onen (waarvan AMG 487 een voorbeeld is). De SAR resultaten voor beide klassen werden in detail met elkaar vergeleken hetgeen resulteerde in een aantal gemeenschappelijke SAR trends. Zo bleek dat de (4-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl)acetyl en de 3-methylene-pyridine elementen in beide klassen belangrijk zijn om hoge affiniteit voor CXCR3 te bewerkstelligen. Deze studies bevestigden ook dat AMG 487 en NBI-74330 heel effectieve CXCR3 antagonisten zijn en dat het gebruik van deze twee als sleutelverbindingen in CXCR3 onderzoek dus gerechtvaardigd is.



In Hoofdstuk 5 wordt een aanpak beschreven waarbij een farmacofoor model als de basis fungeerde voor het screenen van een in-house database. Helaas leidde dit vooralsnog niet tot nieuwe hits met hoge affiniteit. Wel werd opgemerkt dat veel van de matige hits een imidazool groep als gemeenschappelijk structuurelement bezaten en dat deze imidazool overeenkomsten vertoonde met een geoctrooieerde klasse antagonisten, namelijk die van imidazolium zouten. Uitgaande van deze interessante overeenkomst werd besloten om de structuren van de gevonden matige hits en die van de geoctrooieerde stoffen te combineren tot een nieuw chemotype imidazolium zouten. De beste verbinding uit deze nieuwe klasse bevatte een opmerkelijk dichloroaniline-element en vertoonde submicromolaire affiniteit voor CXCR3.



Het moleculaire werkingsmechanisme van diverse kleine CXCR3 antagonisten wordt behandeld in Hoofdstuk 6. Vijf verschillende non-peptiderge liganden uit drie verschillende klassen (inclusief diegene die in Hoofdstukken 3-5 zijn beschreven) zijn hierbij in detail bestudeerd. De liganden werden getest op rCXCR3 en mCXCR3 maar ook op CXCR3 van rhesus macaque. Met uitzondering van TAK-779 vertoonden alle verbindingen een ietwat lagere affiniteit voor CXCR3 van knaagdieren dan voor CXCR3 van primaten. Ook werd het moleculaire werkingsmechanisme van de stoffen op menselijk CXCR3 bekeken. Hieruit volgde dat alle verbindingen fungeren als non-competitieve antagonisten. Ook bleek dat, met uitzondering van TAK-779, de verbindingen zich als inverse agonisten gedroegen op een constitutief actieve CXCR3 mutant. De verkregen resultaten suggereren dat verschillende klassen CXCR3 antagonisten verschillende werkingsmechanismen op CXCR3 kunnen hebben.



Hoofdstuk 7 beschrijft verkennende studies naar het gebruik van "bivalente" liganden voor CXCR3. In deze aanpak worden twee bekende farmacoforen verbonden door een moleculaire linker. Het idee hierachter is dat, als CXCR3 uit dimeren zou bestaan, bivalente liganden efficiënt beide receptoren van zo'n dimeer kunnen binden. In het algemeen kan dit leiden tot efficiëntere en selectievere liganden. Gebaseerd op de 3*H*-quinazolin-4-on and 3*H*-pyrido[2,3-*d*]pyrimidin-4-on chemotypes beschreven in Hoofdstukken 3 en 4 werd een aantal bivalente liganden gemaakt met amido-alkyl linkers. Farmacologische studies lieten zien dat twee van de gemaakte bivalente liganden micromolaire affiniteit voor CXCR3 bezaten en zich als antagonisten gedroegen in een functionele test. Deze twee liganden zijn dan ook geschikt voor vervolgstudies gericht op mogelijke CXCR3 dimeren.

Het gehele proefschrift in ogenschouw nemend kan gezien worden dat het ontwerpen en synthetiseren van non-peptiderge CXCR3 liganden is nagestreefd vanuit verschillende invalshoeken. Er is bijvoorbeeld gebruik gemaakt van lead optimalisatie, library screening, moleculaire modelling en bivalente liganden. De verkregen CXCR3 liganden verschaffen nieuwe inzichten in de moleculaire structuurelementen die belangrijk zijn voor binding en activiteit op CXCR3. Deze kennis zal uiteindelijk bijdragen aan de verdere ontwikkeling van liganden voor CXCR3.