



**Cominnex**

**DR. BERTÓK BÉLA**

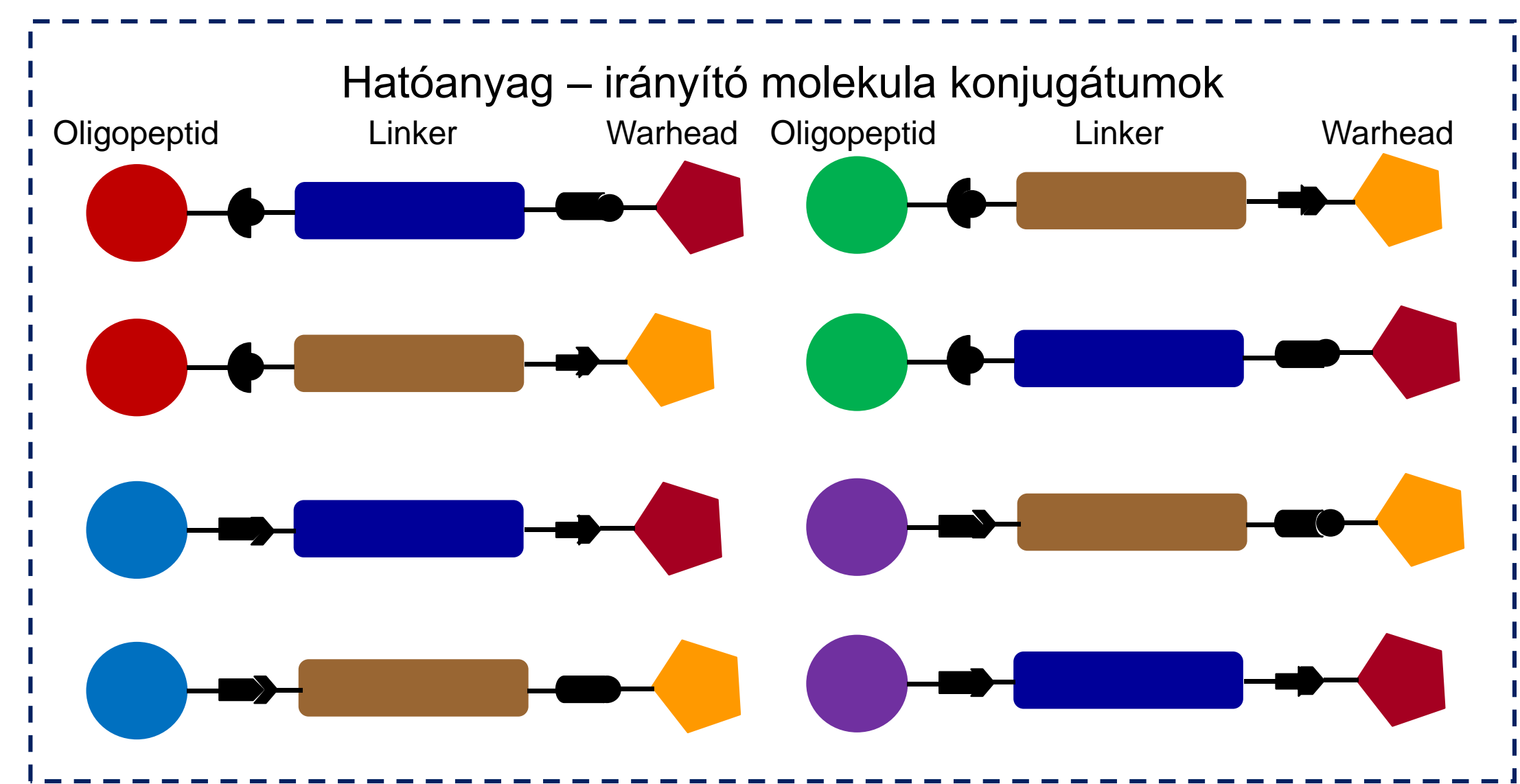
**ÚJ, TUMOR ELLENES, APOPTÓZIST KIVÁLTÓ, VIVŐPEPTIDEKKEL  
KONJUGÁLHATÓ HATÓANYAGOK TERVEZÉSE ÉS ELŐÁLLÍTÁSA**

**NVKP16 pályázat, egy racionális gyógyszerfejlesztés időközi összefoglalója**

A Nemzeti Kutatási és Fejlesztési Innovációs Hivatal által támogatott NVKP16-1-2016-0036 pályázat keretében kutatási konzorcium alakult, melynek célja a még nem gyógyítható tumor típusokra új gyógyszerjelöltek kifejlesztése.

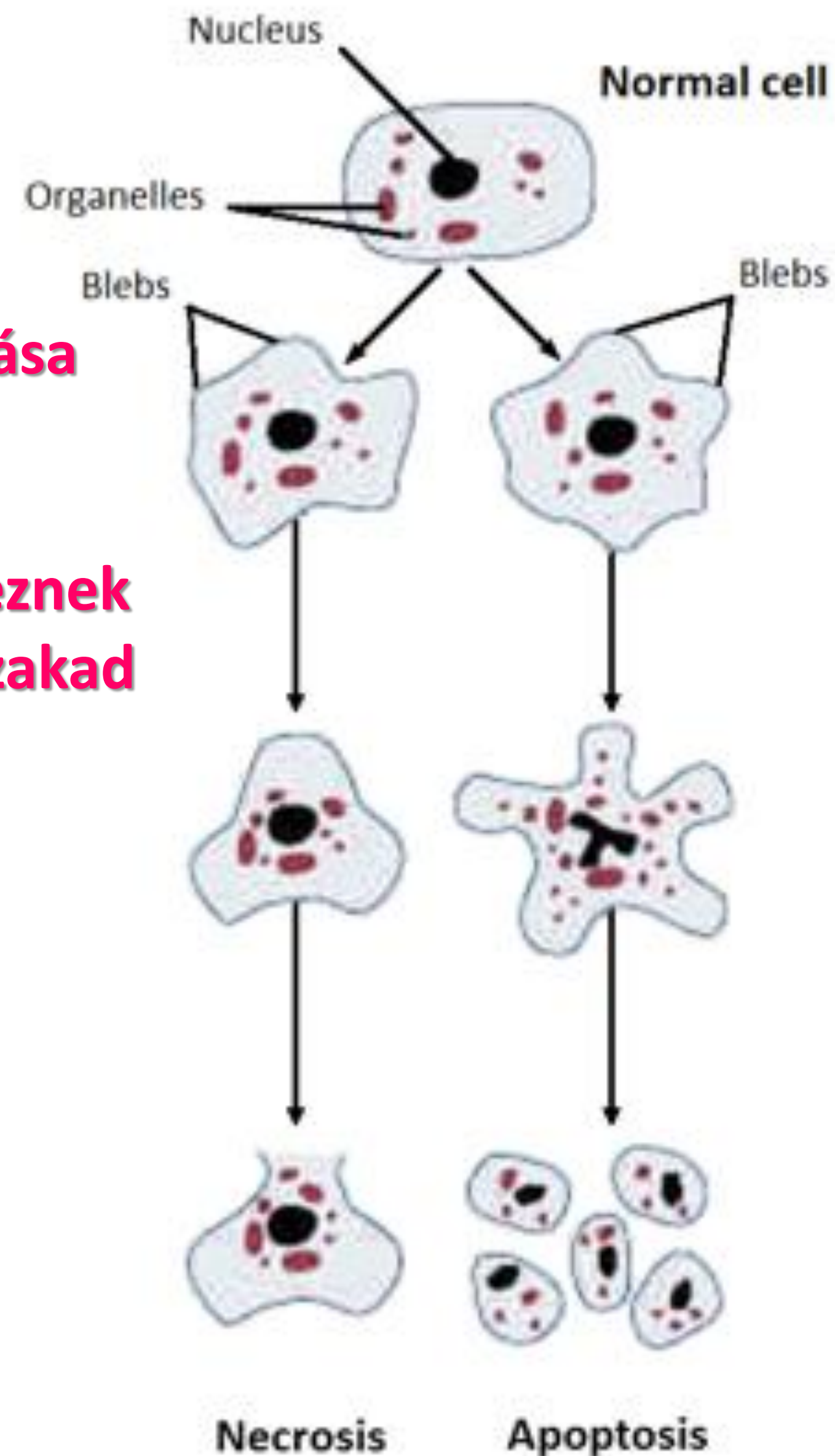


**Cél: új, tumorszelektív citotoxikus vivőmolekula-hatóanyag modulok és konjugátumok kifejlesztése**



**Ezen belül a ComInnex feladata új hatóanyagok, „warhead-ek” kutatása és előállítás.**

[https://pak.elte.hu/NVKP\\_16-2016-0036](https://pak.elte.hu/NVKP_16-2016-0036)



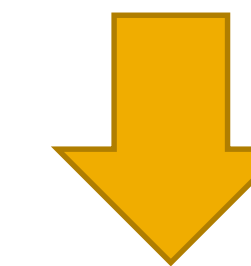
- A fehérjék kicsapódása miatt a citoplazma tejszerűvé válik
- Vakuólumok keletkeznek
- A sejtmembrán felszakad a sejt szétesik

**Gyulladás**

**Hasznosítás**

- A citoplazma sejtmembrán hasadás nélkül zsugorodik
- Sejtmembrán és sejtmaghártya gyűrődik
- Membránnal határolt csomagokká esik szét
- Annexin expresszálódik a sejtfelszínre
- Fagocitálódik

A hagyományos kemoterápia nekrozist vált ki, alig tolerálható, rezisztenciát okoz, ez egyben limitálja is alkalmazását

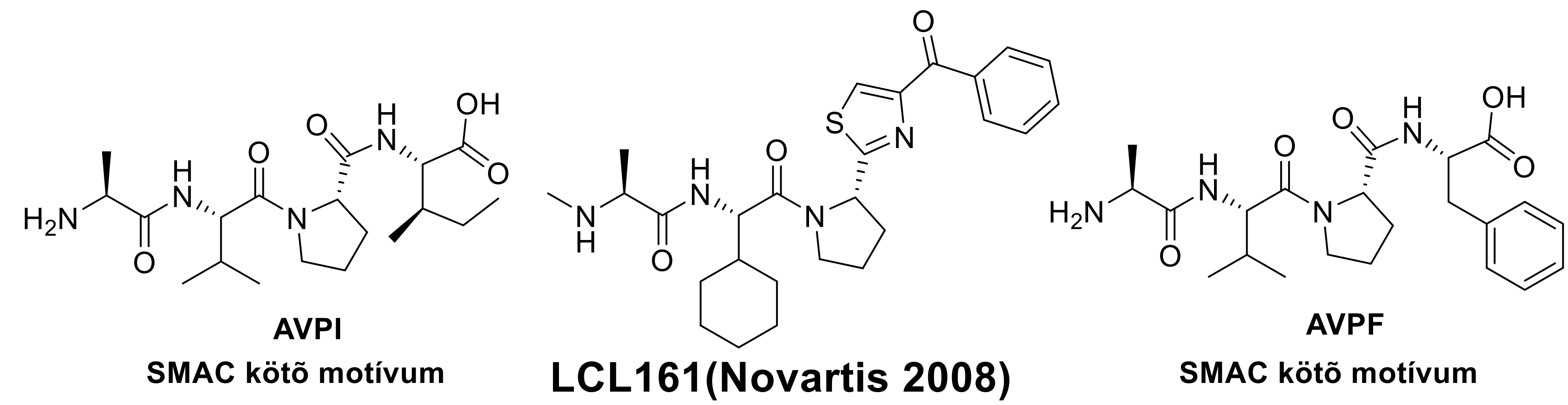


**Apoptózis indukció**



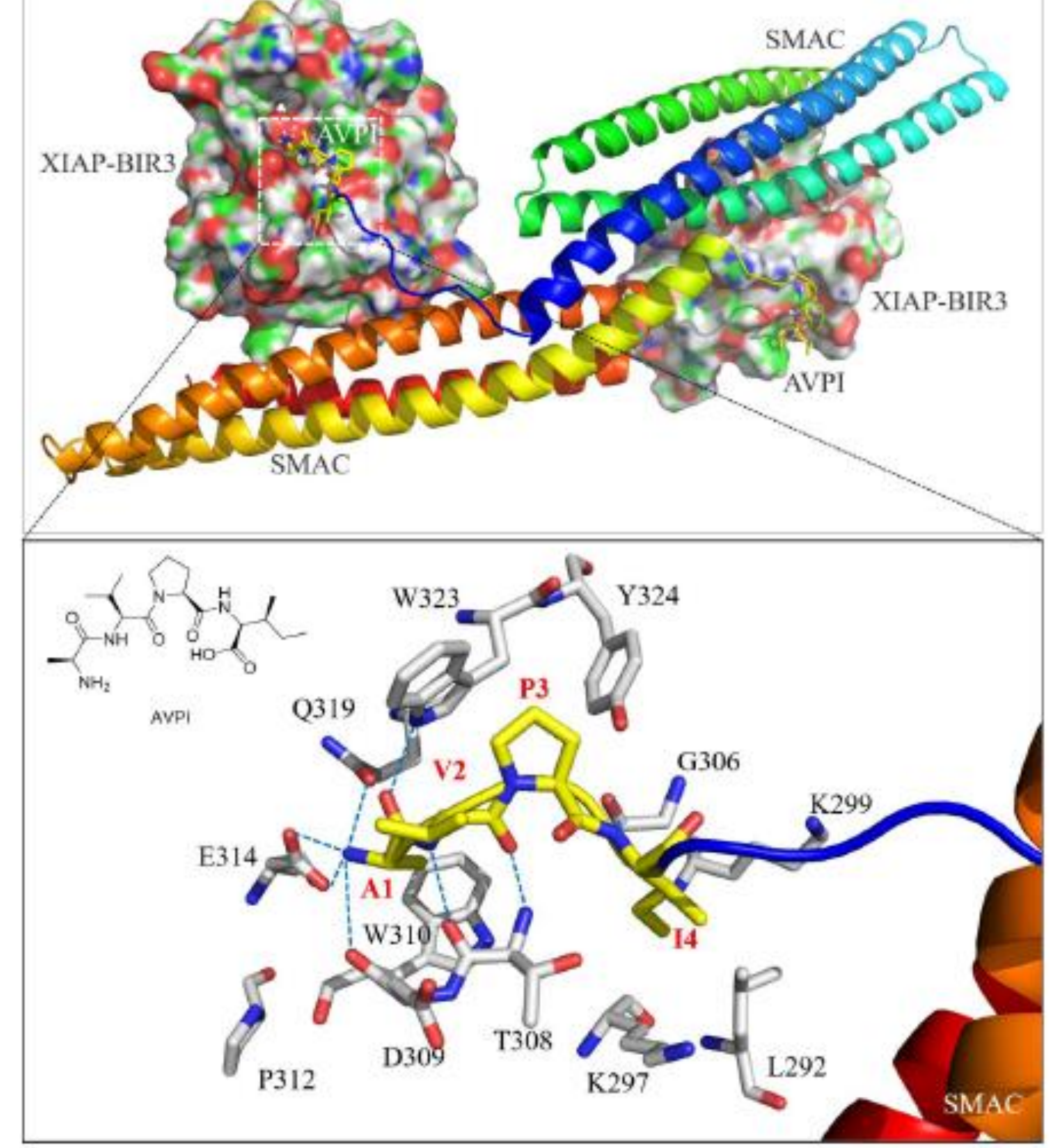
Az apoptózis jellemzően gátolt a rákos sejtekben többnyire a magas inhibitor koncentráció miatt

## Diverz könyvtárak szűrése



## In silico modellezés és vegyület tervezés

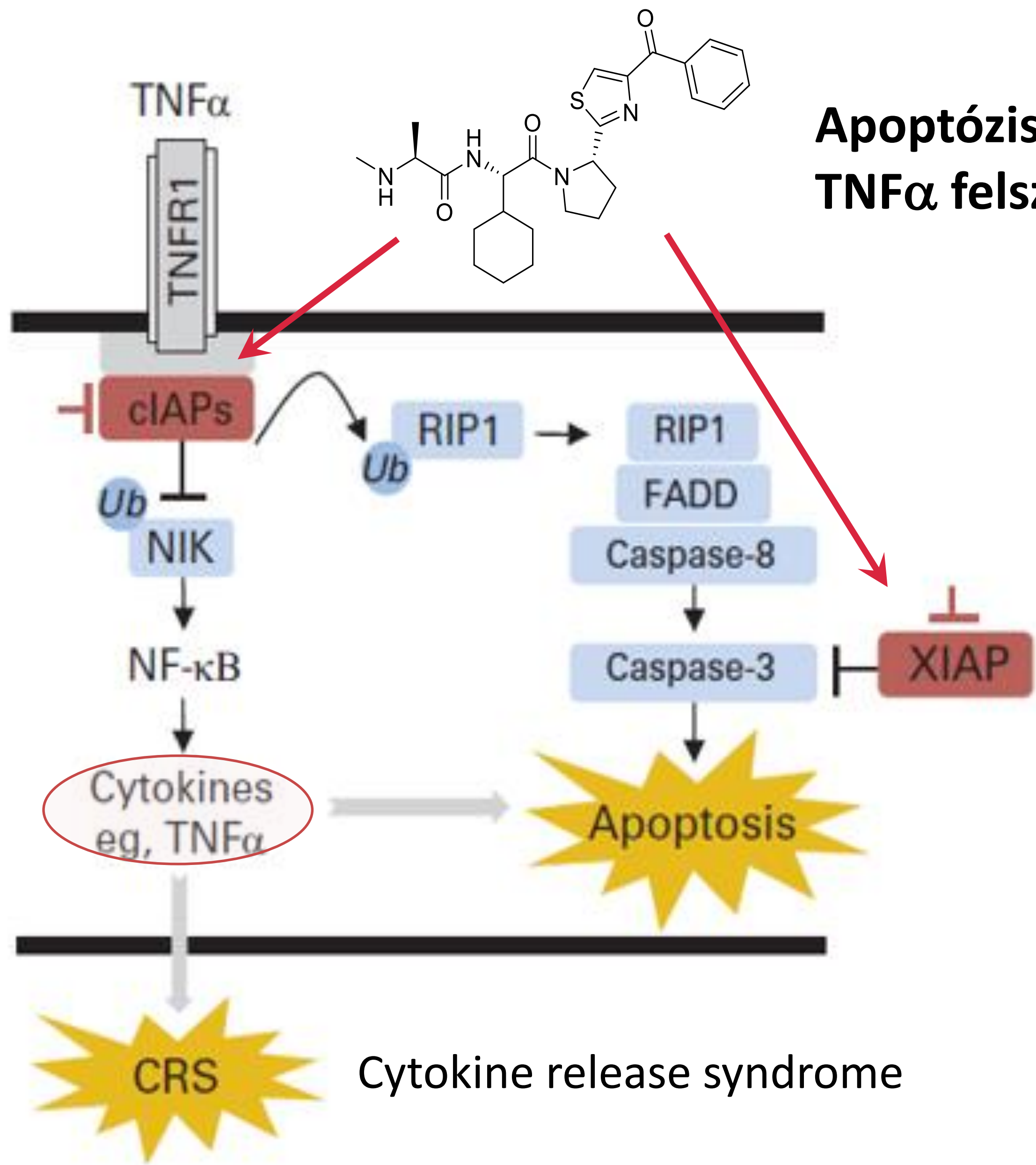
## Apoptózis gátlás feloldás: IAP-SMAC fehérje kötődés Second Mitochondria-derived Activator of Caspases



TRENDS in Biochemical Sciences, 2004, 39(9), 486-94; Journal of Medicinal Chemistry 2019, 62(12), 5750-5772

# EGYENES ÚT

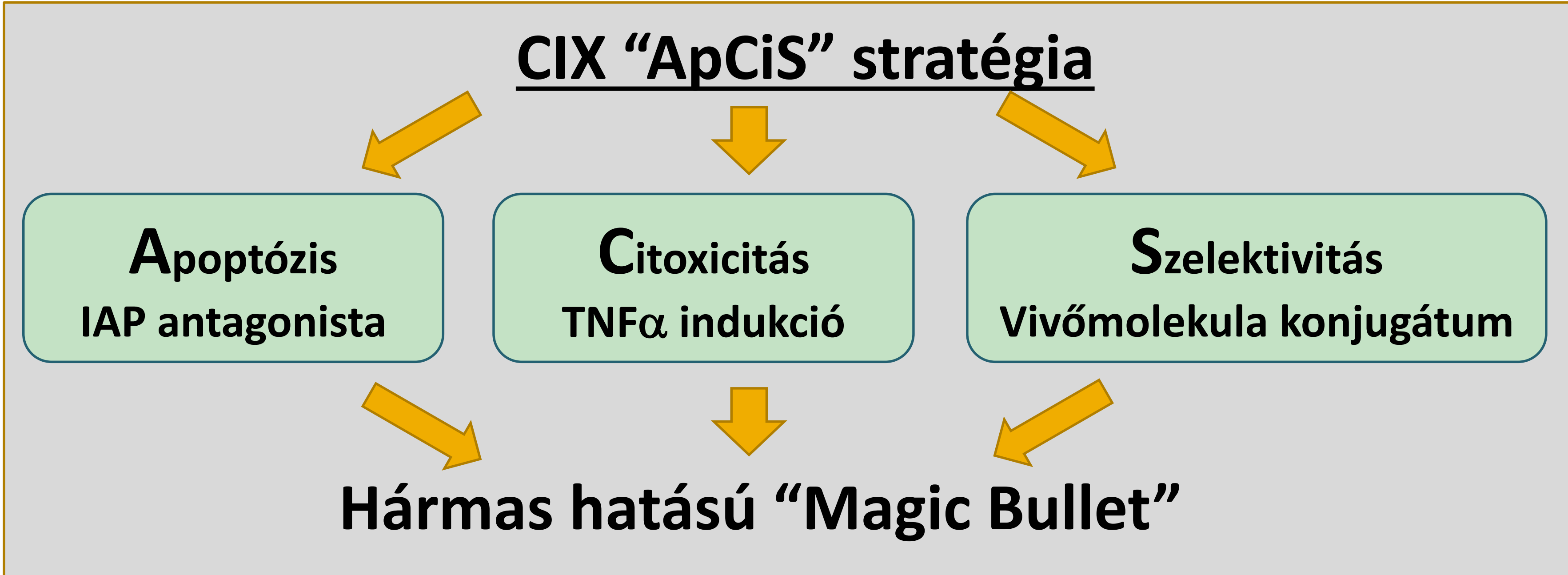




- Sejtes IC<sub>50</sub>: 5-50 μmol
- Klinika Fázis I: 1x1800 mg/hét
- Klinika fázis II: ->1x3000 mg/hét
  - Kombinációs terápia
  - >3000 mg: Citokin "cunami"

Hatékonyság növelés

Szelektivitás növelés



J.Clin.Oncol., 2014, 32(28), 319091; WO2005097791, WO2007075525, WO2008085610, US2010056467, WO2011018474

<https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=LCL161>

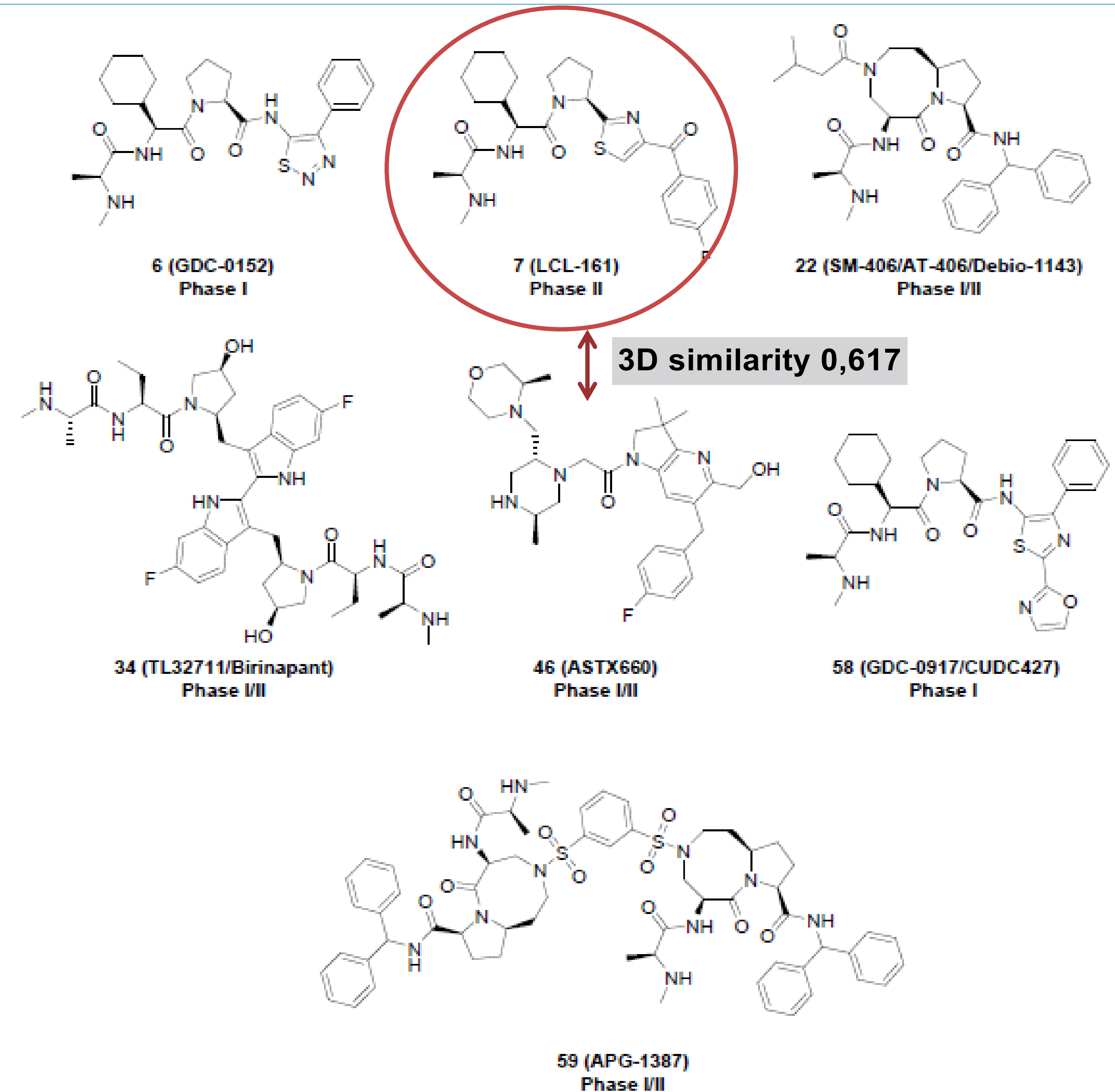
## IAP antagonisták mimetikumok klinikai vizsgálata

Compound	Developer
GDC-0152 (terminated)	Genentech
LCL-161	Novartis
SM-406/AT-406/Debio-1143	Debiopharm
TL32711/Birinapant	Tetralogic Pharmaceuticals
ASTX660	Astex
GDC-0917/CUDC427	Genentech
APG-1387	State Key Laboratory of Oncology in South China
AEG40816 (HGS1029)	Aegera Therapeutics

AEG40816 (Cas 1107664-44-7)  
 nem publikált struktúra  
 nincsenek adatok

## Alapvetően hasonló szerkezetek

*Journal of Medicinal Chemistry* 2019, 62(12), 5750-5772



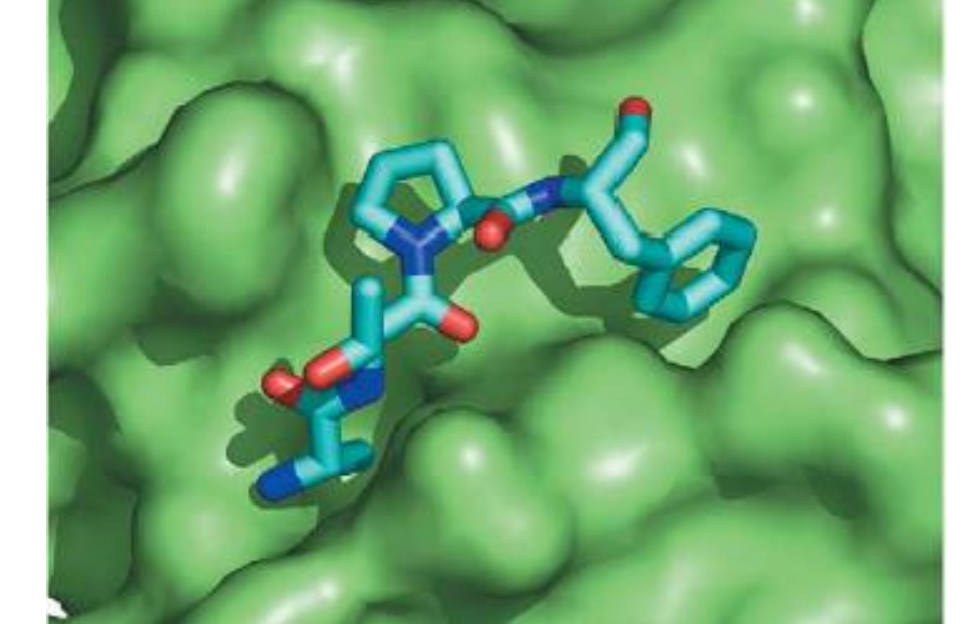
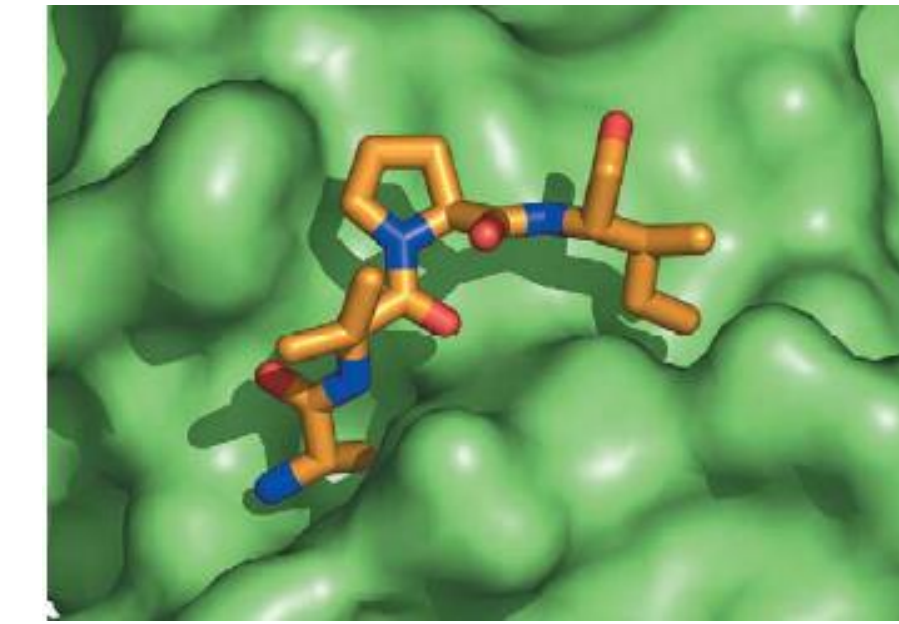
## Protein-protein kölcsönhatás

SMAC-XIAP complex

### AVPI hatás-szerkezet adatok

AVPI

AVPF



LCL161 vs. AVPF 3D hasonlóság



Tanimoto 0,7; Chemaxon MarvinSketch 3D alignment

Nem változtatható,  
Protonálható forma  
alapvető

Nagy alifás csoport  
kedvező

Szubsztitúció lehetséges,  
de nem helyettesíthető

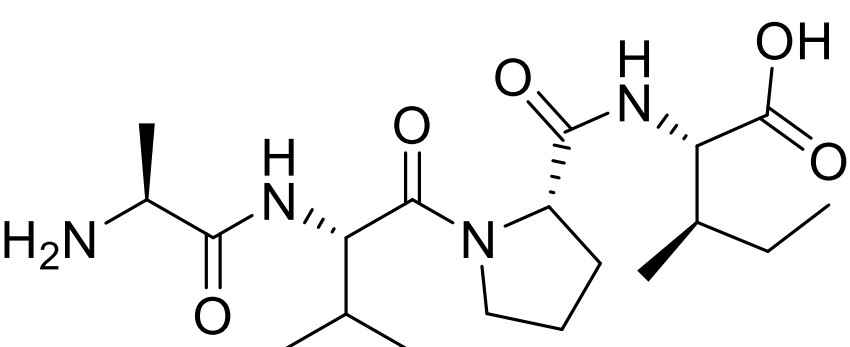
Nem metilezhető

Aromás csoport  
kedvező

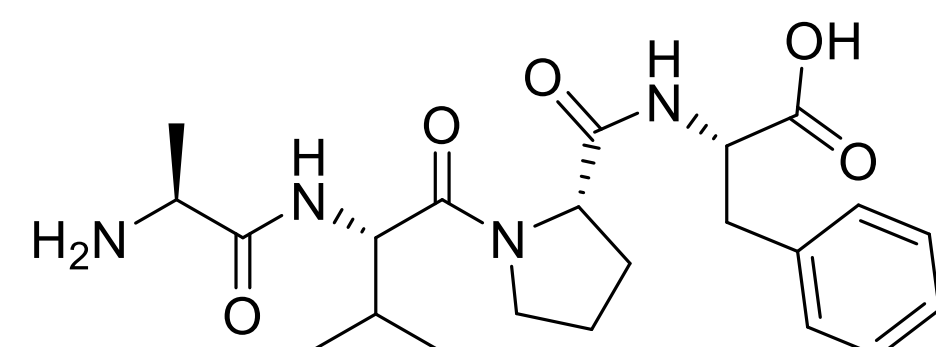
Változtatható

“Horgony”

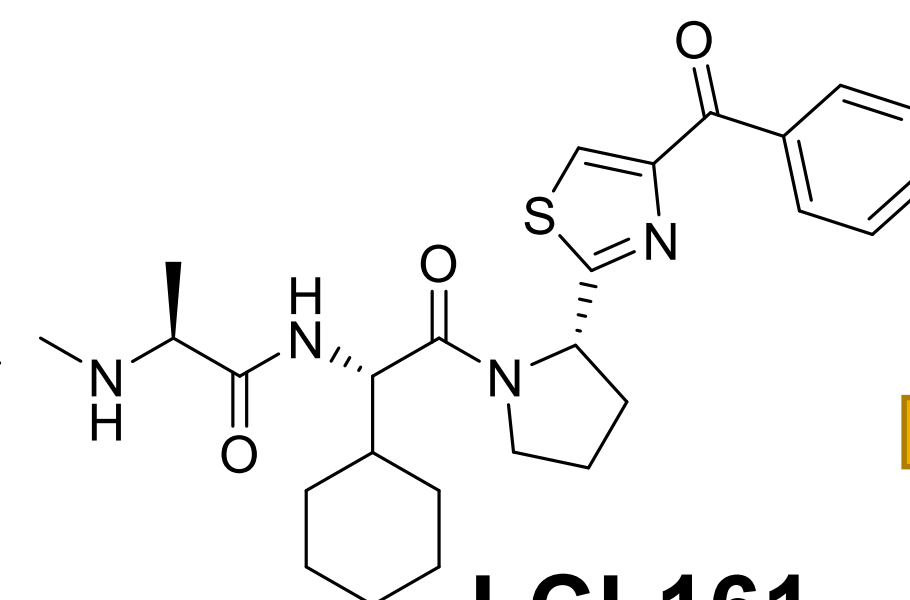
“Uzáló”



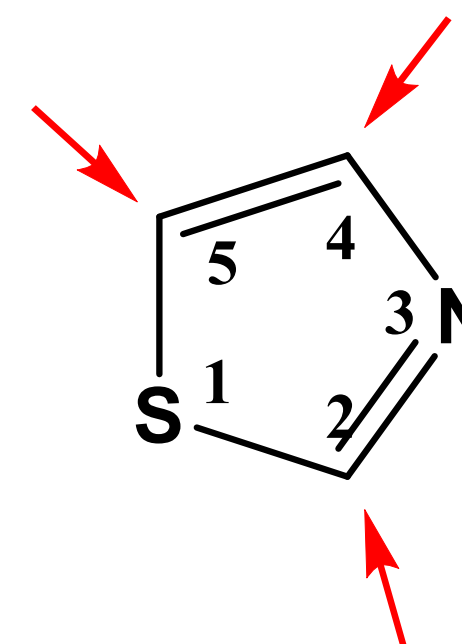
AVPI



AVPF



LCL161

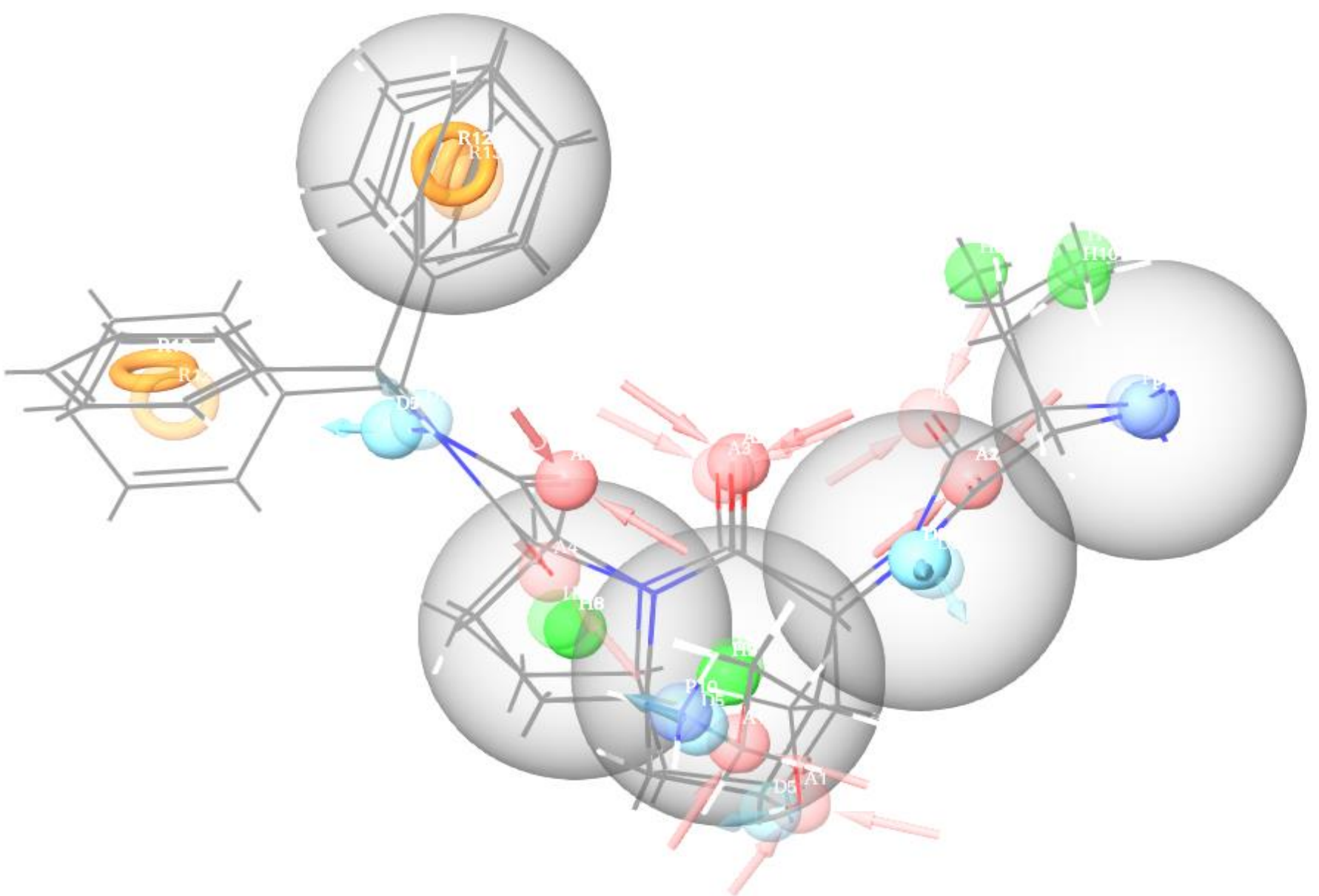


- ✓ Molekulatervezés
- ✓ *In silico* modellezés
- ✓ Kémiai fejlesztés

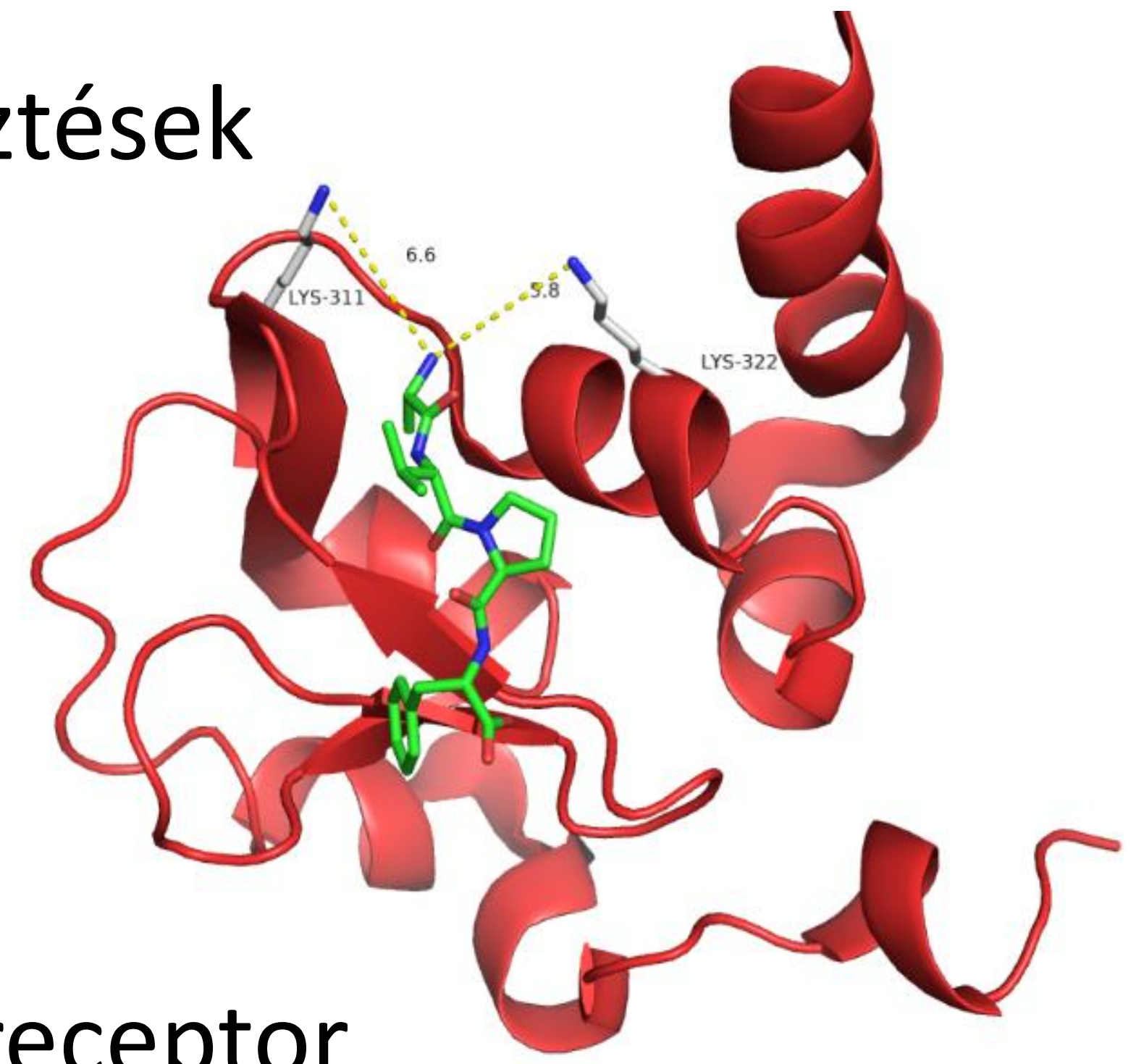
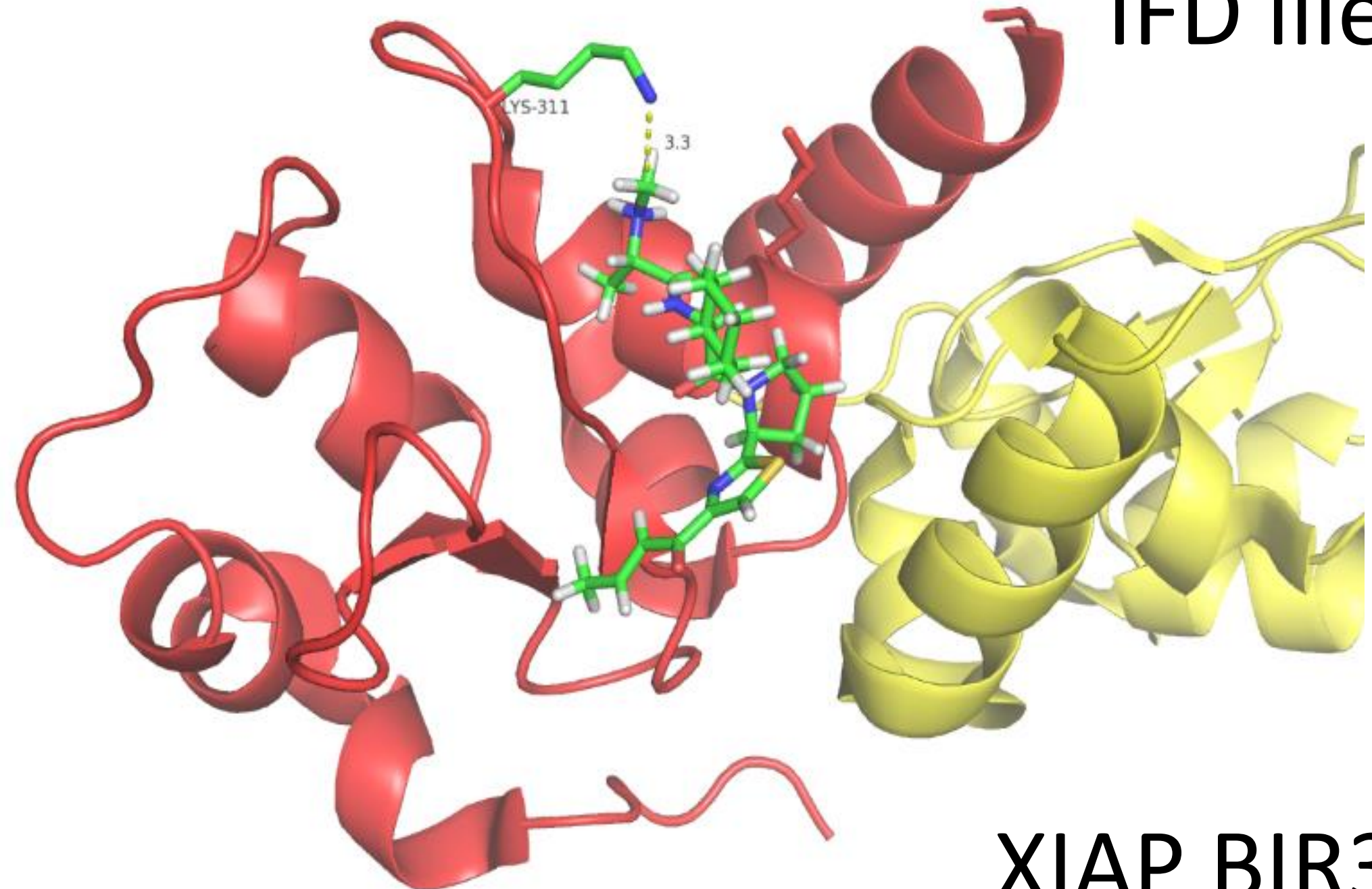


- Glide SP és Induced Fit Docking (IFD) módszerekkel, **PDB 4HY0** kristályszerkezetbe dokkoltunk
- Optimalizáltuk a kötőhely szerkezetét, majd MM/GBSA kötési szabadentalpia számításokat végeztünk

Farmakofor modell



IFD illesztések



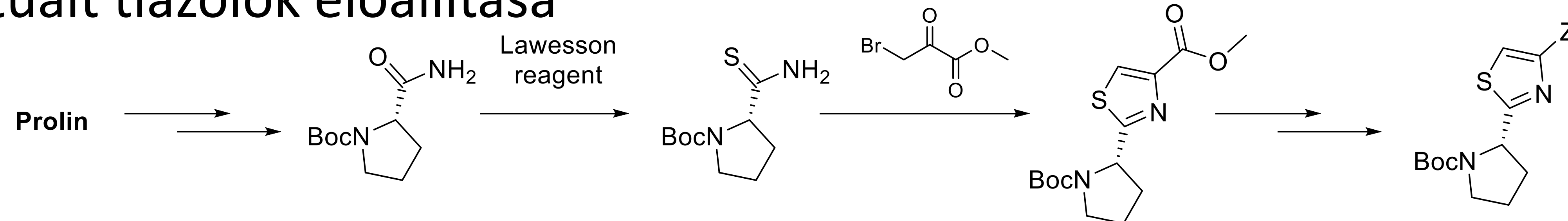
XIAP BIR3 receptor

**Potenciális kovalens kötő pontok:** a ciszteinek távol esnek. Jobban megközelíthetőek a lizinek butilamino csoportjai: K299, (P4) és K311, K322 (P1). **Kovalens kötő molekula hatékonyabb lehet, de potenciális hátránya a pan-IAP hatás leszűkülése.**

Schrödinger Small-Molecule Drug Discovery Suite programcsomag

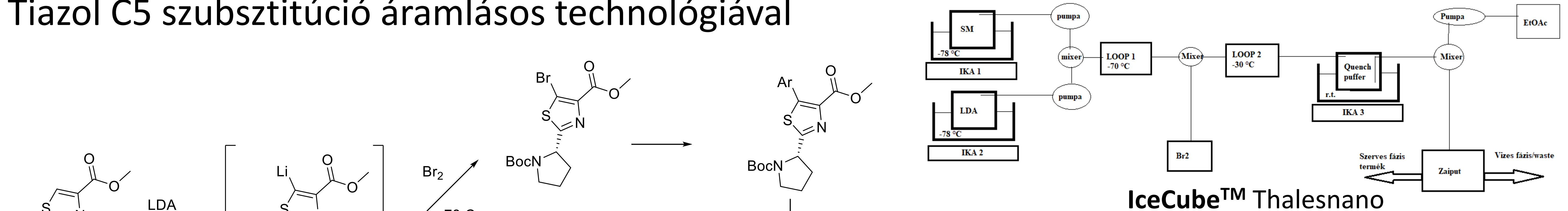
*J. Med. Chem.*, 2018, 61, 6350-63

## C2-4 szubsztituált tiazolok előállítása

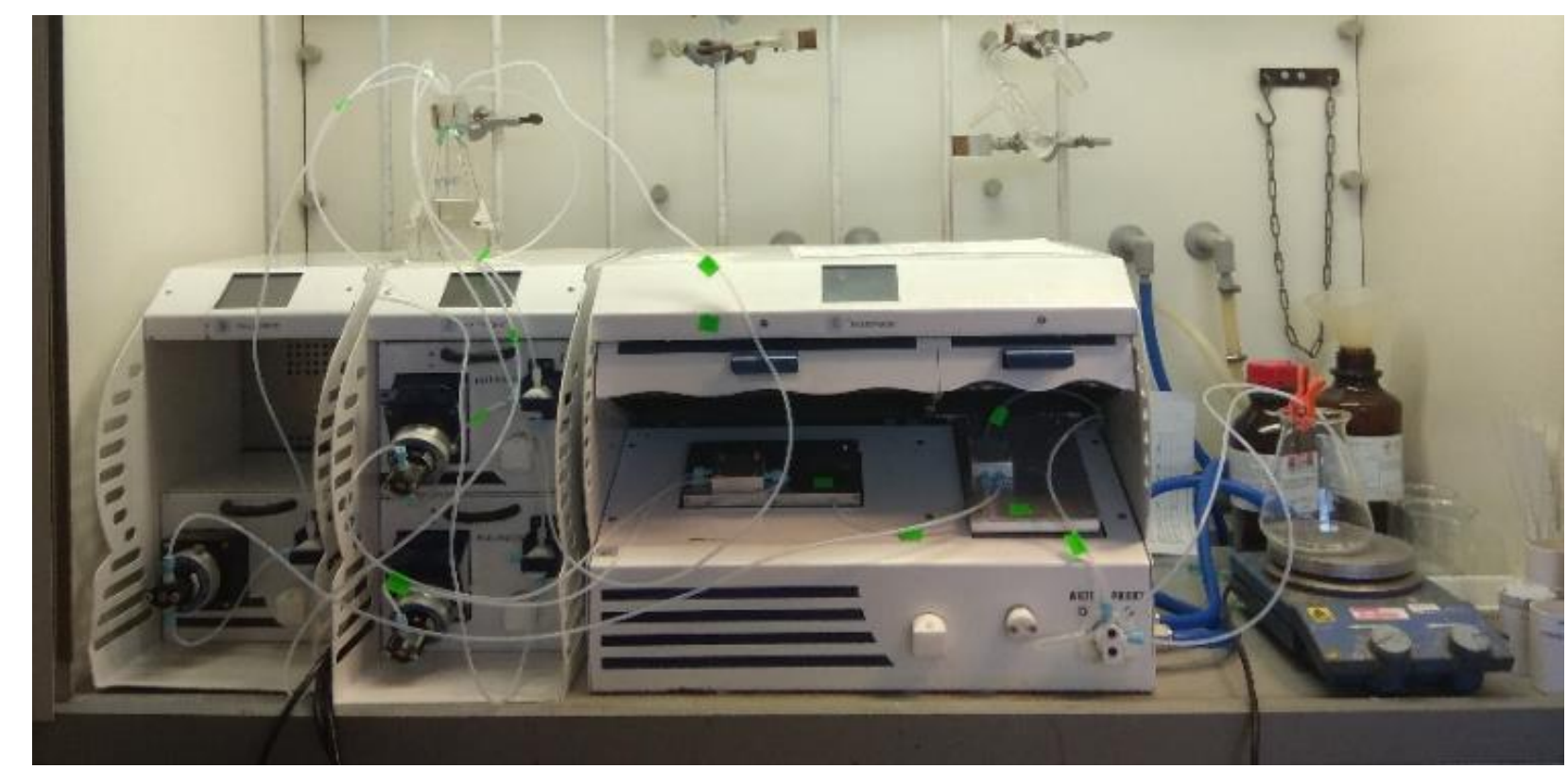


**Racemizáció lehetősége!**  
**Királis HPLC követés.**

## Tiazol C5 szubsztitúció áramlásos technológiával



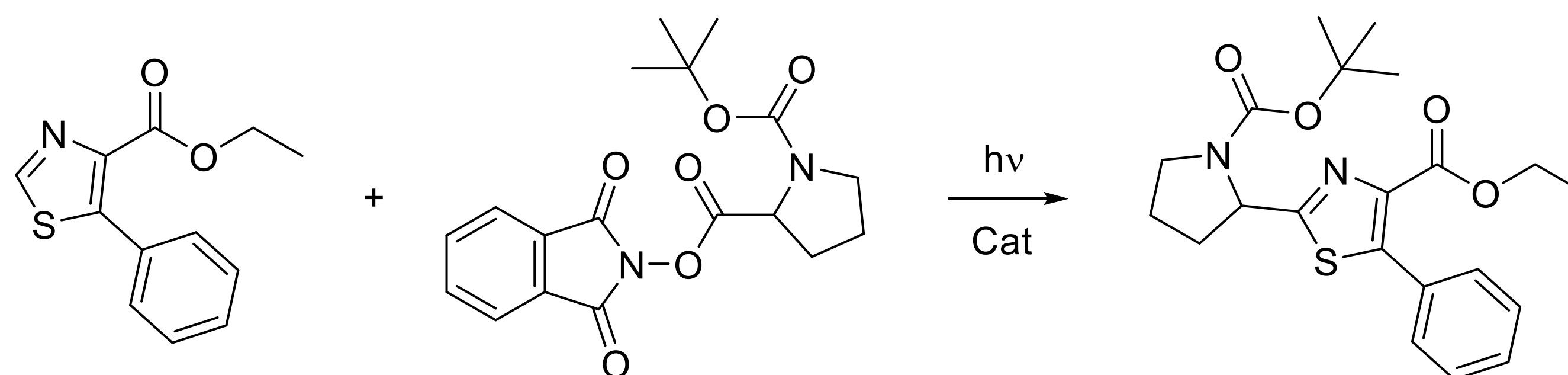
**IceCube™ Thalesnano**



*JACS*, 2002, 124(6), 916-7; US2010056467  
*Org. Lett.*, 2005, 7(2), 299-301

**További lehetőség: CH aktiválási reakció**

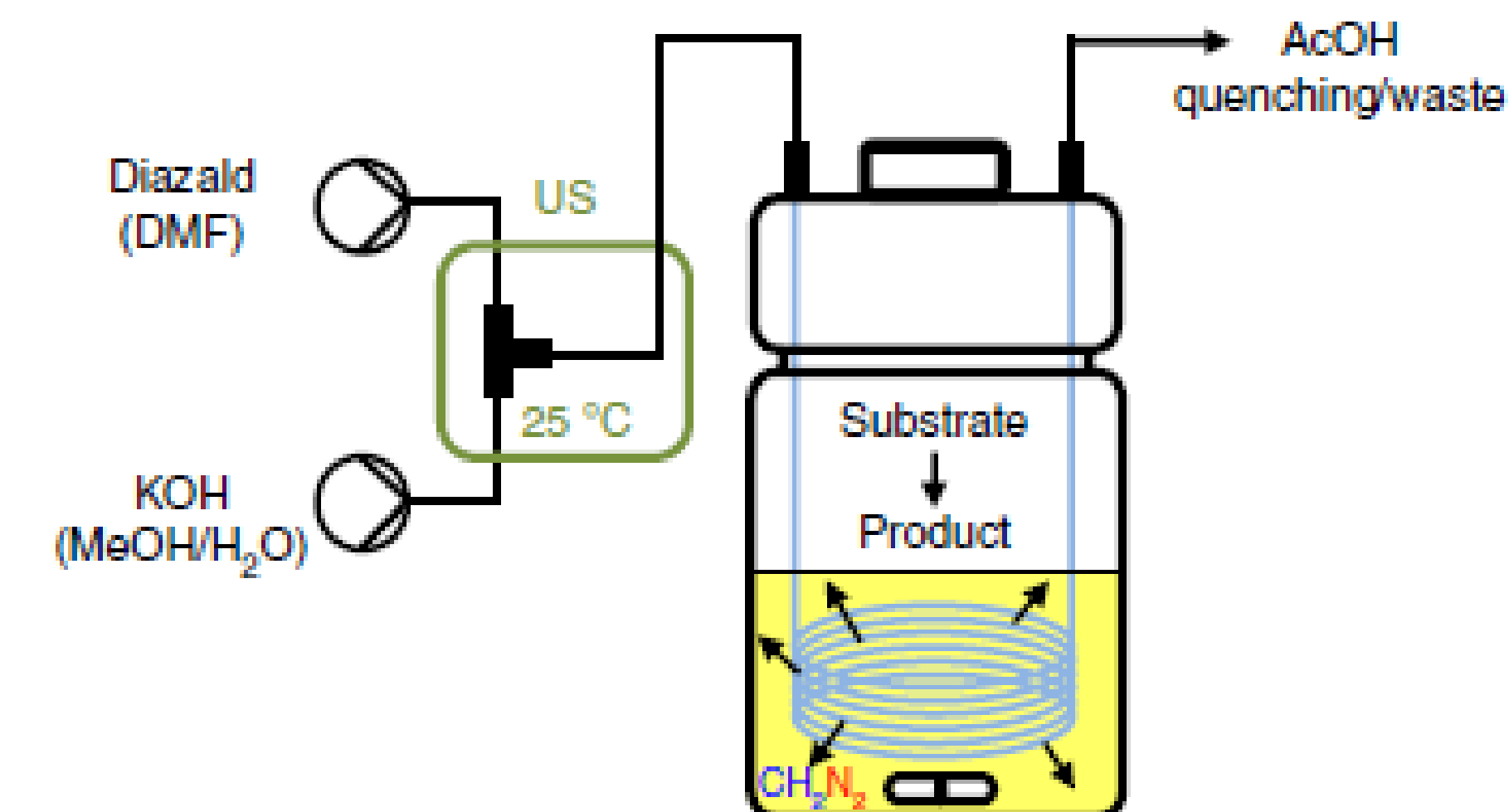
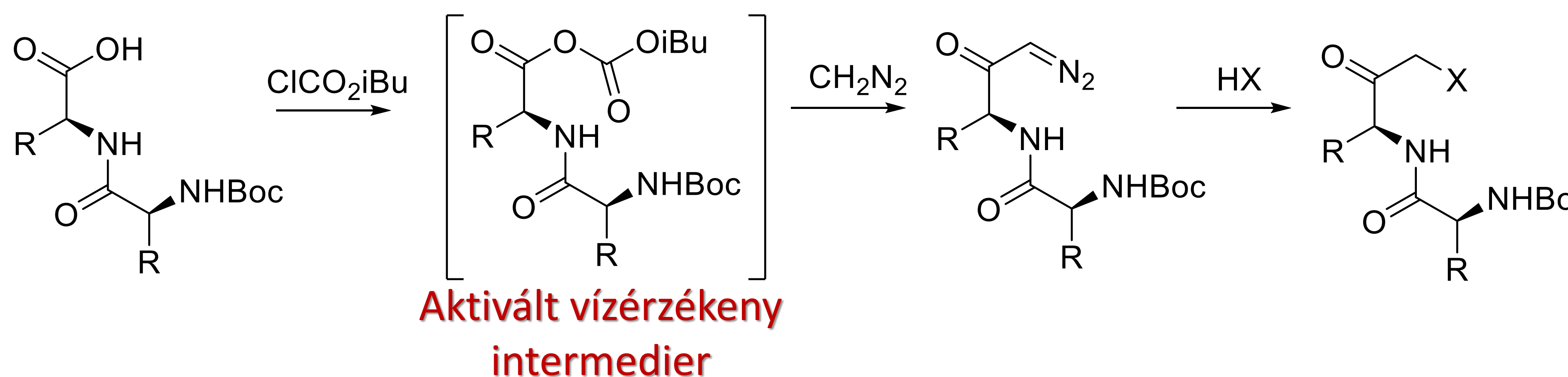
## Tiazol C2 szubsztitúció fotoredox reakcióval



**ÚJDONSÁG**  
**PhotoCube™ Pro**  
 Thalesnano



## Oligo-peptid homologizálás áramlásos membrán technológiával



*J.Org. Chem.*, **2018**, *83*, 3000-12; *J.Org. Chem.*, **2016**, *81*, 5814-22

Diversity oriented synthesis of highly substituted heteroarenes  
 using photochemistry and flow technology  
 Gellért Sipos, Fall 2019 ACS National Meeting

Permeábilis cső: Teflon AF-2400

## Hatodik sorozat hetes molekulaszervezet citotoxicitási eredményei különböző rákos sejtvonalakon

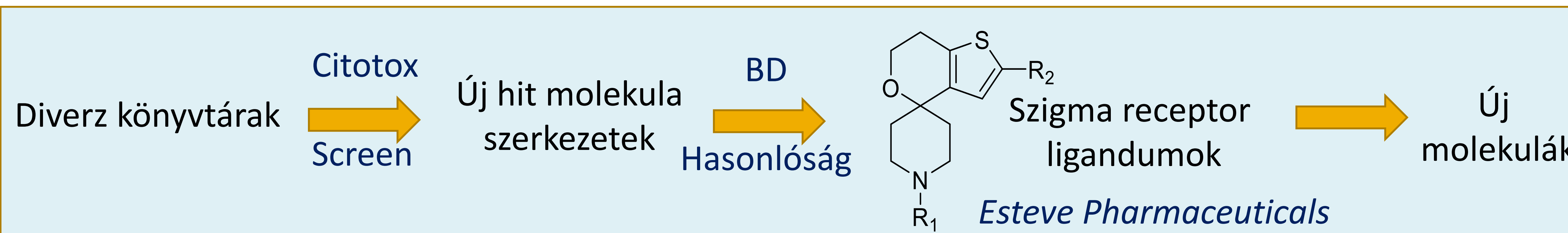
Vegyület forma és izomer	Teszt ID	PANC-1 – xCELLigence SP (Hasnyálmirigy)			A2058 (Melanoma)			EBC1 (Tüdő)			Colo205	MiaPaca (Hasnyálmirigy)	MdaMb231 (Emlő)	Modell kötődés* (kcal/mol)
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	72 h	72 h	72 h	MM/GBSA $\Delta G_{\text{bind}}$
LCL161 bázis (SSS)	CI4-49	5.49 E-5	7.95 E-5	5.85 E-5										-83.19
LCL161 xHCl(SSS)	CI6-6	1 E-4	1 E-4	6.75 E-5	9.9 E-5	5.5 E-5	5.2 E-5	> 10 <sup>-4</sup> M	8.4 E-5	5.4 E-5				
LCL161 bázis (SSS)	CI10-1			4.02 E-5			3.56 E-5				3.94 E-5	1.68 E-5		
CIX CI6-7 xHCl (RS,SS)	CI6-7	3.2 E-5	3.7 E-5	3.1 E-5	1.8 E-5	2.1 E-5	1.4 E-5	2.95 E-5	2.5 E-5	2.5 E-5				
CIX CI6-7bázis (RS,SS)	CI9-4			2.57 E-5			0.9 E-5			0.77 E-5	0.74 E-5	0.88 E-5	0.15 E-5	
CIX CI6-7 2xTFA (RS,SS)	CI10-2			1.43 E-5			1.39 E-5				1.47 E-5	0.65 E-5		
CIX CI6-7 2xTFA (SSS)	CI10-3			1.17 E-5			1.46 E-5				1.33 E-5	0.62 E-5		-88.85
CIX CI6-7 2xTFA (RSS)	CI10-4			2.32 E-5			1.18 E-5				1.19 E-5	1.03 E-5		
		Flow cytometry teszt			AlamarBlue teszt									*Induced Fit Docking

- **CI6-7** 2-4x hatékonyabb mint az LCL161
- A hatás növekedés minden sejtvonalon igazolódott más módszerrel mérve is
- Az aktivitás növekedés különböző só és bázis formában is igaz
- Az IFD dokkolás értékei jól korrelálnak
- Az izomerek és ezek keverékeinek eredményei megfeleltek a várt értéknek megerősítve a tesztek eredményeit és a molekula hatékonyságát

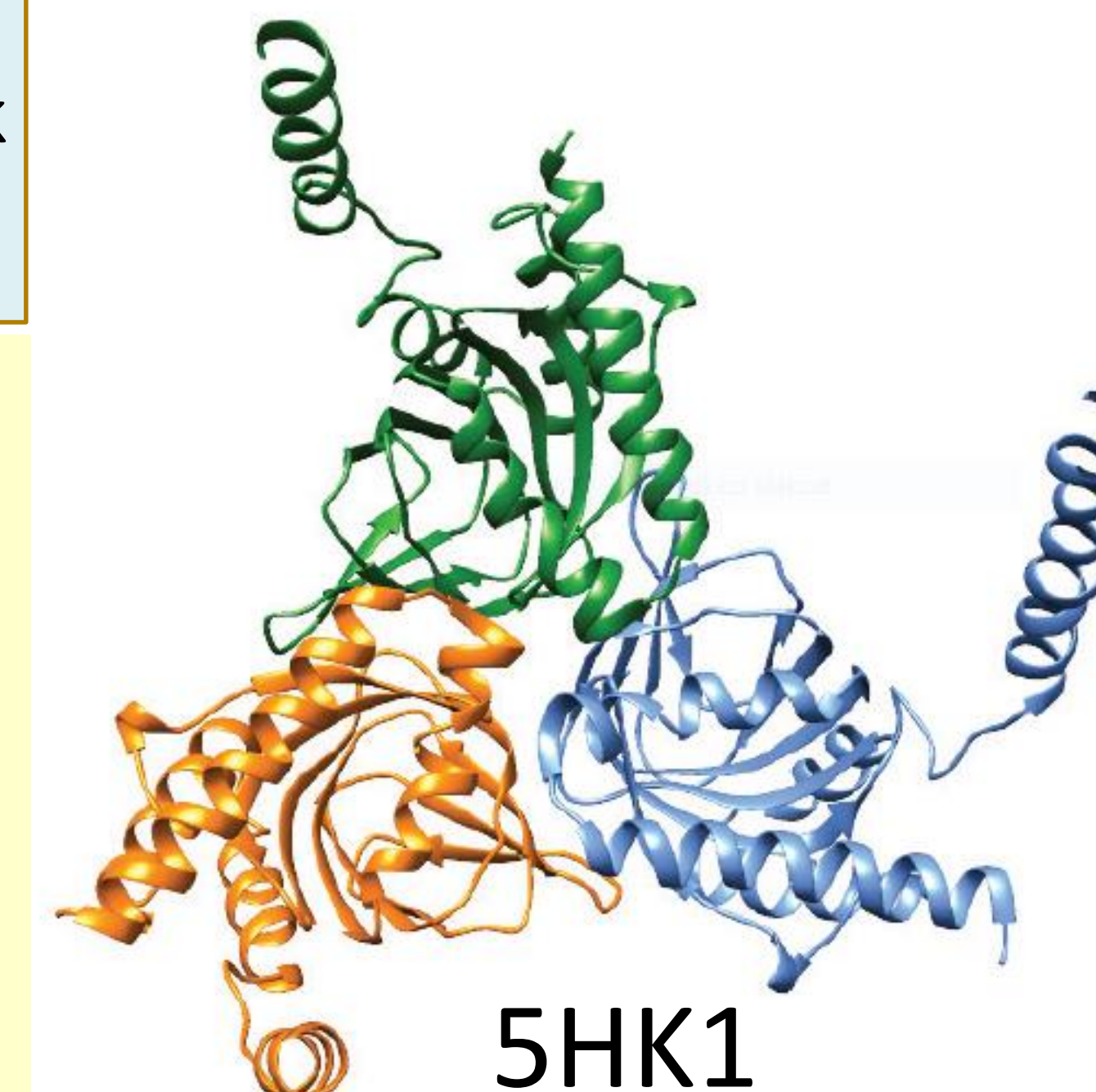
**CI6-7 új, szabadalmi elővizsgálat alatt áll.**

Paraméter	LCL161	CI6-7	AST660
Mw	500.63		539.7
HBD	2	2	2
HBA	5	5	7
TPSA	91.4	91.4	81.17
cLogP (számított)	3.78	4.22	2.62
ChromLogD (mért)	3.0	3.1	3.1*
PFI (Property Forecast Index)	5.0	5.1	5.1
			* Irodalmi adat

Vegyületünk molekuláris paramétereit hasonlítjuk a két referencia molekulához. Az LCL161 eredményei és az összehasonlító PFI értékek alapján CI6-7 továbbfejlesztése gyógyszer jelöltté biztató.



## Szigma1 kristályszerkezet



Szigma2 nem ismert (még)

Molekula	MM-GBSA $\Delta G$ (kcal/mol)	HBA	HBD	LogP	Fsp3	TPSA	Rotable Bonds
CI7-7	-81.8	4	1	3.07	0.35	51.4	3
CI7-8	-89.0	3	0	4.29	0.61	25.4	3
Haloperidol	-84.4	3	1	3.66	0.38	40.5	6

## Szigma receptor1, 2 (S1,2R)

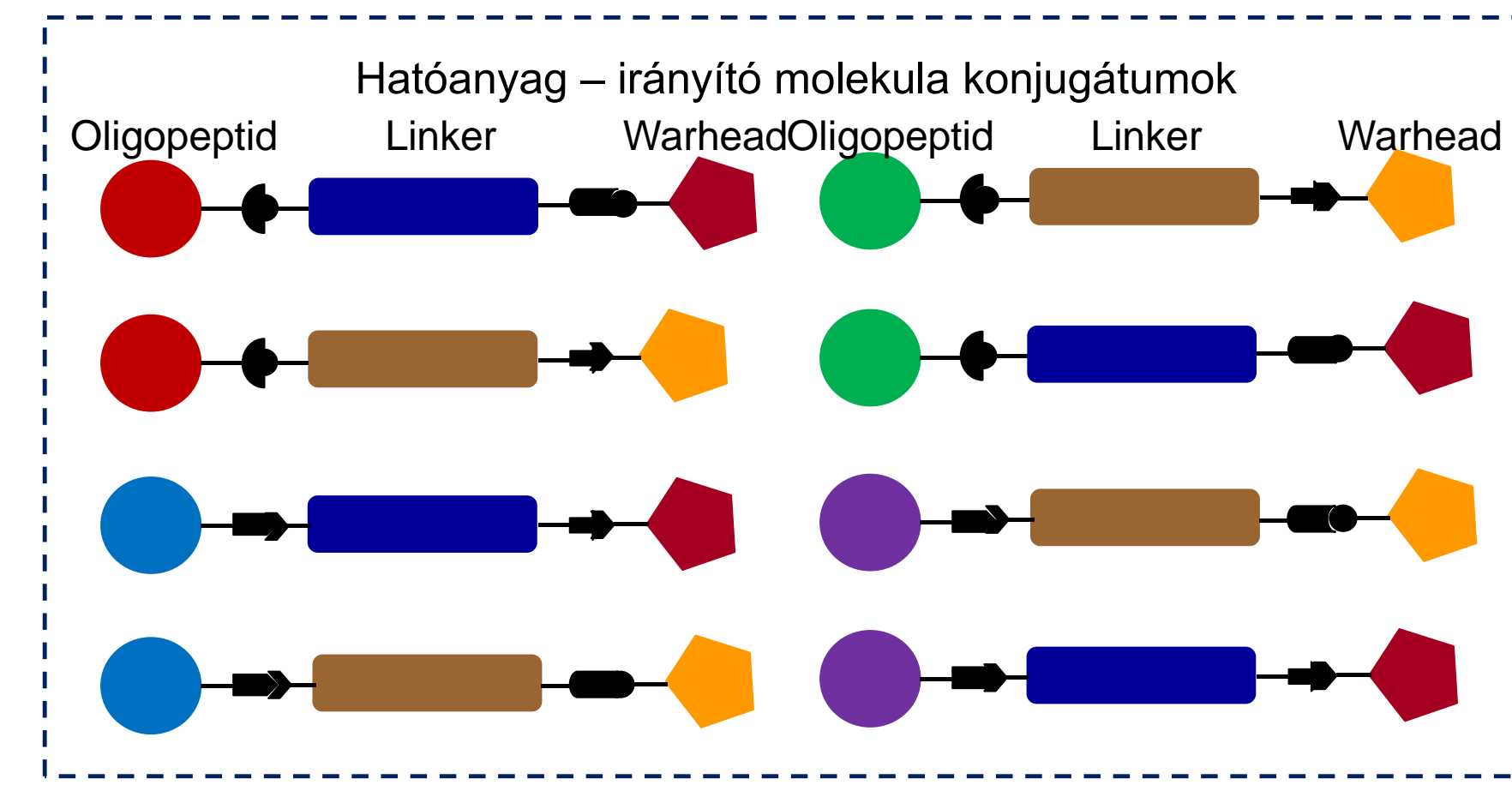
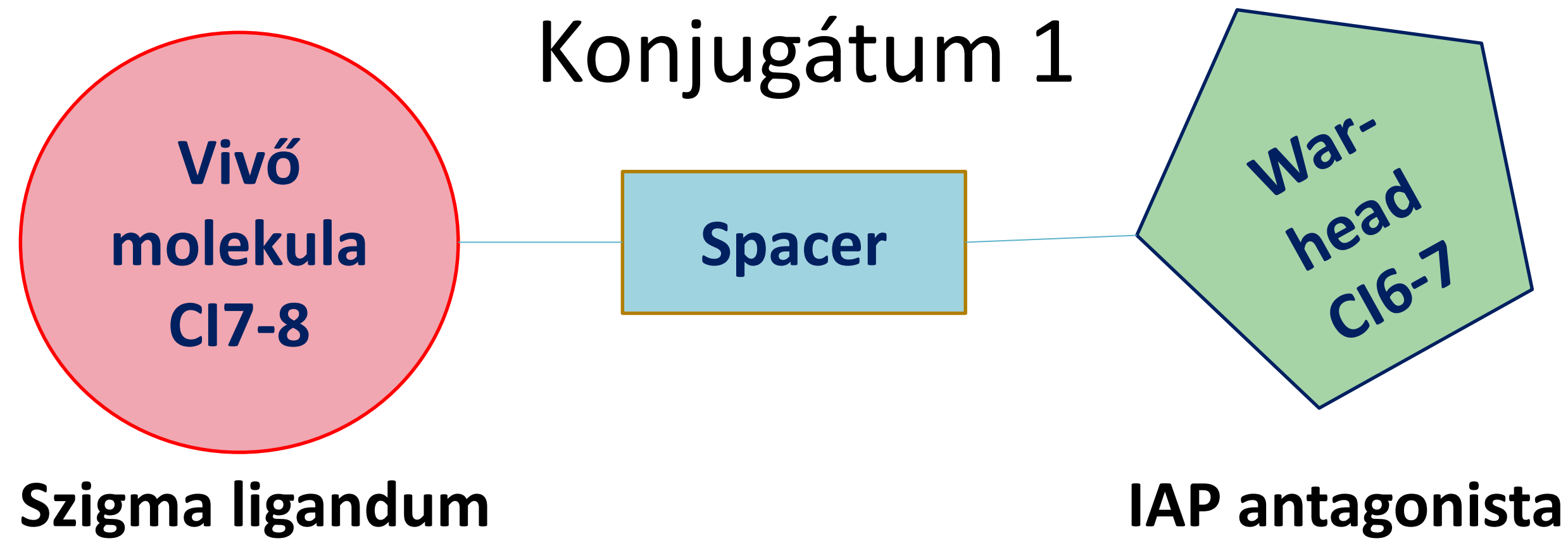
- CNS hatás, pl. neuropátias (rák indukált) fájdalomcsillapítás
- Domináns rákos sejteken: **S2R tumor marker**
- Ligandum **alloszterikus kötődés**
- **Pan-SR** ligandum stratégia: **S2R agonista - S1R antagonist** apoptózis kiváltás, **de S1R agonista sejt növekedés, angiogenesis, tumor proliferáció !!**

## Új citotoxikus aktív molekulák

Viability (%) GSI KÓD inkubálás (h)	PANC1						A2058 - Melanoma						Colo205- Colon						EBC1 - Lung					
	10 <sup>-4</sup> M			10 <sup>-5</sup> M			10 <sup>-4</sup> M			10 <sup>-5</sup> M			10 <sup>-4</sup> M			10 <sup>-5</sup> M			10 <sup>-4</sup> M			10 <sup>-5</sup> M		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
CI7_7	17	16	16	90	95	64	23	11	9	97	99	108	39	18	14	100	84	86	62	23	14	98	89	73
CI7_8	11	10	9	90	93	86	27	15	13	102	97	96	37	18	14	96	75	53	48	22	14	91	86	70
Módszer	Flow citometria						Alamar Blue																	

## Nagyságrendileg LCL161 hatás

WO2008155132, *J.Med.Chem.*, **2012**, *55*, 5350-60; *Oncotarget*, **2017**, *8*(53), 91099-91111; Sigma1 Pharmacology in the Context of Cancer, *Handbook of Experimental Pharmacology*, 244(2017); *Frontiers in Pharmacology*, **2018**, *9*, (article 711); **2019**, *10*, (article 490)



Vegyület forma és izomer	Teszt IC <sub>50</sub> (Mol)	PANC-1 – xCELLigence SP (Hasnyálmirigy)			A2058 (Melanoma)			EBC1 (Tüdő)			Colo205
	ID	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	72 h
LCL161 bázis (SSS)	CI4-49	5.49 E-5	7.95 E-5	5.85 E-5							
LCL161 xHCl(SSS)	CI6-6	1 E-4	1 E-4	6.75 E-5	9.9 E-5	5.5 E-5	5.2 E-5	> 10 <sup>-4</sup> M	8.4 E-5	5.4 E-5	
LCL161 bázis (SSS)	CI10-1			4.02 E-5			3.56 E-5				3.94 E-5
CI6-7 2xTFA (SSS)	CI10-3			1.17 E-5			1.46 E-5				1.33 E-5
CI6-7 konjugátum bázis (SSS)	CI12_1	6.50E-6	6.71E-6	6.56E-6	5.18E-6	5.54E-6	3.44E-6	6.85E-6	6.97E-6	6.58E-6	3.17E-6
		Flow cytometry teszt			AlamarBlue teszt						

Az első, irodalmi analógia szerint előállított, még nem peptid konjugátum megerősítette az „ApCiS” stratégia helyességét. A **CI12-1** mintegy **10x hatékonyabb** mint az **LCL161** és elsőre is jobb, mint az eddig publikált ilyen típusú konjugátum IC<sub>50</sub> értéke.

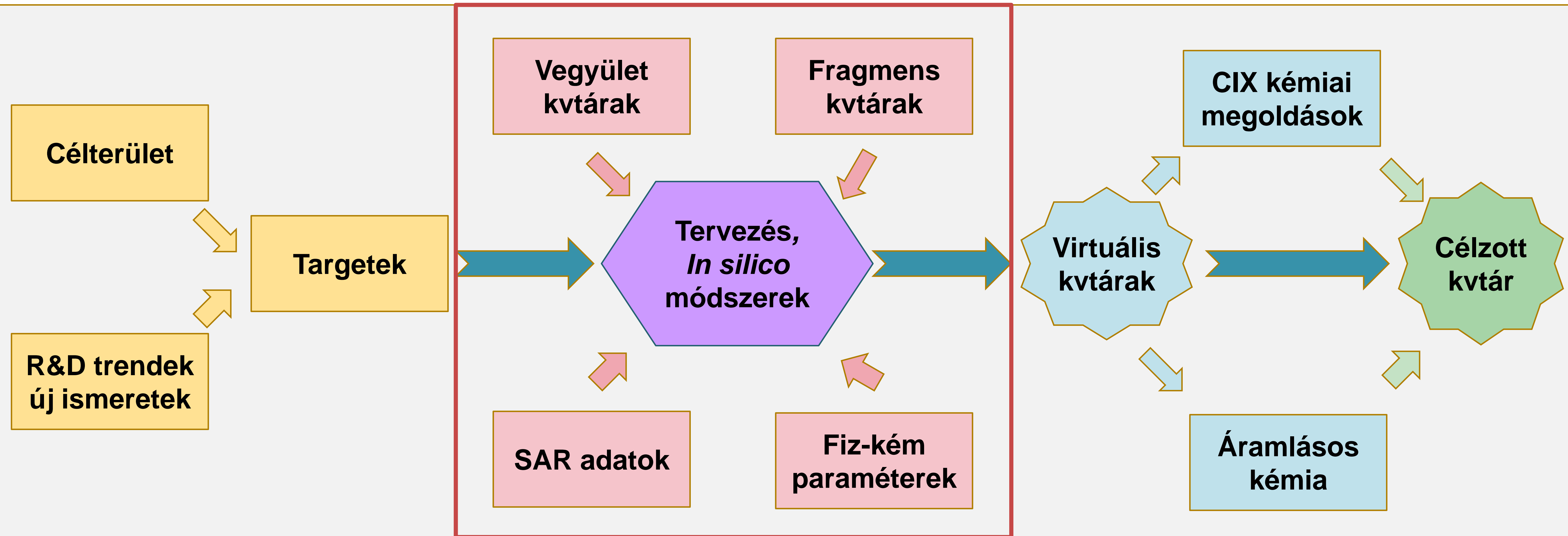
Molecular Oncology., 2014, 8, 956-67



1. Új lehetőség a rák gyógyítására
2. Új Lead molekulák biztató továbbfejlesztés lehetőségével
3. Sikeres konjugáció vivő molekulával
4. Működő ApCiS stratégia
5. IAP antagonisták továbbfejlesztésének új példája
6. **Apoptózis indukció és fájdalomcsillapítás rákos sejtekben egy molekulával?**



## ComInnex (CIX) Target Oriented Library Platform



<https://cominnex.com/research-development>

## ComInnex Zrt

Berkes Barbara

Dormán György

Ignác Gergő

Farkas Norbert

Kócsi Dániel

Kővári Dániel

Sipos Gellért

Szávuly Miklós

Wachtler Alexandra

## Thalesnano Zrt

A rendelkezésünkre bocsátott  
áramlásos reaktorokért

## Semmelweis Egyetem

Kőhidai László

Láng Orsolya

## ELTE

Mező Gábor

Csámpai Antal

## MTA TTK Enzimológiai

Intézet

Magyar Csaba

## BME

Simon András

NVKP16-1-2016-0036



## Schrödinger/Chemicro Kft

a 3 hónapos ingyenes szoftver  
licencért