

CLIMATE CHANGE AS A CHALLENGE IN MALARIA DRUG DISCOVERY

**Jelena Srbljanović¹, Branko Bobić¹, Tijana Štajner¹, Aleksandra Uzelac¹,
Igor Opsenica², Nataša Terzić-Jovanović³, Neda Bauman¹, Bogdan Šolaja^{2,4},
Olgica Đurković-Đaković¹**

¹ Centre of Excellence for Food- and Vector-borne Zoonoses, Institute for Medical Research, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

² University of Belgrade - Faculty of Chemistry, Belgrade, Serbia

³ Institute of Chemistry, Technology and Metallurgy, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

⁴ Serbian Academy of Sciences and Arts, Belgrade, Serbia

Malaria, a disease which affects millions of people worldwide, is a parasitic infection caused by protozoans of the *Plasmodium* genus. Five species are known to cause human malaria, including *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*, and *P. knowlesi*. The vectors responsible for the transmission of this disease are female mosquitoes of the *Anopheles* genus. Malaria is the greatest health problem facing developing countries, with the highest morbidity and mortality rates in Africa and Southeast Asia. Moreover, due to climate change and mass human migration, autochthonous cases of malaria are increasingly appearing sporadically (Corsica, Italy, Spain) or even as local epidemics (Greece), in countries or regions in which the disease was considered eradicated. *Plasmodium* parasites are developing resistance to nearly all conventional antimalarials, *Anopheles* vectors are becoming resistant to insecticides, and no vaccine exists to date. Given the current situation, there is an urgent need for new antimalarial compounds. Synthetic quinoline derivatives hold the most promise, with 4-aminoquinolines being the most suitable for chemical modifications. Here we report on the antimalarial efficacy of ten novel benzothiophene, thiophene and benzene aminoquinolines. *In vitro* efficacy was evaluated by a lactate dehydrogenase assay in cultures of a chloroquine (CQ)-sensitive *P. falciparum* strain 3D7 and CQ-resistant (CQ^R) *P. falciparum* strain Dd2. Nine of the ten compounds had a lower 50% inhibitory concentration than CQ against the CQ^R strain. Five compounds, available for *in vivo* evaluation, were nontoxic in preliminary experiments. Those compounds were evaluated in C57BL/6 mice infected with *P. berghei* ANKA strain using a modified Thompson test. All five compounds administered at a dose of 160 mg/kg/day for 3 days prolonged the survival of treated compared with untreated mice. Untreated control mice died by Day 7 with a mean parasitaemia of 15%. Among treated mice, a dichotomous outcome was observed, with a two-third majority of treated mice dying by Day 17 with a low mean parasitaemia of 5%, whereas one-third survived longer with a mean hyperparasitaemia of 70%; specifically, five of these mice survived a mean of 25 days, whilst two even survived past Day 31. The significant antimalarial potential of this aminoquinoline series is illustrated by its excellent *in vitro* activity against the CQ^R *P. falciparum* strain and significant *in vivo* activity. Most importantly, compounds CIAQ7, CIAQ9 and CIAQ11 were able to confer resistance to cerebral malaria and afford a switch to hyperparasitaemia to mice prone to the neurological syndrome.

KLIMATSKE PROMENE KAO IZAZOV U POTRAZI ZA NOVIM ANTIMALARIKOM

**Jelena Srbljanović¹, Branko Bobić¹, Tijana Štajner¹, Aleksandra Uzelac¹, Igor
Opsenica², Nataša Terzić-Jovanović³, Neda Bauman¹, Bogdan Šolaja^{2,4},
Olgica Đurković-Đaković¹**

¹ Centar izuzetnih vrednosti za zoonoze prenešene hranom i vektorima, Institut za medicinska istraživanja, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

² Univerzitet u Beogradu - Hemijski fakultet, Beograd, Srbija

³ Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

⁴ Srpska akademija nauka i umetnosti, Beograd, Srbija

Malarija, bolest koja pogađa milione ljudi širom sveta, je parazitska infekcija uzrokovana protozoama roda *Plasmodium*. Danas je poznato pet vrsta koje izazivaju malariju kod čoveka: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* i *P. knowlesi*. Vektori odgovorni za prenošenje ove bolesti su ženke komaraca roda *Anopheles*. Malarija predstavlja najveći zdravstveni problem sa kojim se suočavaju zemlje u razvoju, a najviše stope morbiditeta i mortaliteta beleže se u zemljama Afrike i Jugoistočne Azije. Međutim, usled klimatskih promena i masovnih migracija stanovništva, autohtoni slučajevi malarije sve češće se pojavljuju sporadično (Korzika, Italija, Španija), pa i epidemijski (Grčka), i u zemljama ili regionima u kojima je ova bolest smatrana eradikovanom. Međutim, paraziti *Plasmodium* postaju rezistentni na gotovo sve konvencionalno dostupne antimalarike, anofelični vektori su rezistentni na insekticide, a vakcina i dalje ne postoji. S obzirom na opisanu situaciju, postoji hitna potreba za novim antimalaricima. Sintetski hinolinski derivati najviše obećavaju, a među njima je za hemijske modifikacije najpogodnija struktura 4-aminohinolina. Ovde predstavljamo aktivnost deset novih benzotiofenskih, tiofenskih i benzenovih aminohinolina. Antimalarijska aktivnost ovih jedinjenja u *in vitro* sistemu ispitana je kolorimetrijskim esejom laktat dehidrogenaze na dva soja *P. falciparum*, 3D7, koji je osetljiv na hlorokvin (CQ) i Dd2, koji je rezistentan na CQ. Pet jedinjenja koja su bila dostupna za ispitivanje u *in vivo* sistemima u preliminarnim eksperimentima su se pokazala kao netoksična. Njihova antimalarijska aktivnost u *in vivo* sistemu ispitana je primenom modifikovanog Thompson-ovog test na ženka miševa soja C57Bl/6 inficiranim ANKA sojem *P. berghei*. Svih pet jedinjenja primenjenih u dozi od 160 mg/kg/dan tokom 3 dana produžilo je preživljavanje inficiranih životinja u odnosu na kontrolnu grupu. Životinje iz kontrolne grupe uginule su do 7. dana sa prosečnom parazitemijom od 15%. Među tretiranim miševima primećen je dvojak ishod; naime, dvotrećinska većina miševa uginula je do 17. dana sa niskom srednjom parazitemijom od 5%, dok je jedna trećina preživela duže sa prosečnom hiperparazitemijom od 70%. Konkretno, pet miševa preživelo je u proseku 25 dana, od kojih su dva bila živa čak do 31. dana. Značajan antimalarijski potencijal ove serije aminohinolina ogleda se u njihovoj odličnoj *in vitro* aktivnost prema rezistentnom *P. falciparum* soju i zapaženoj aktivnost u *in vivo* sistemu. Najznačajniji rezultati odnose se na aktivnost jedinjenja CIAQ7, CIAQ9 i CIAQ11 koja su tretiranim životinjama obezbedila otpornost na razvoj cerebralne malarije i omogućila da miševi skloni neurološkom sindromu umesto pomenutog sindroma razviju hiperparazitemiju.