**Discovery of a novel therapeutic candidate against animal trypanosomiasis**

Kayhan Ilbeigi1, Dorien Mabille1, An Matheeussen1, Rik Hendrickx1, Nick Van Reet2, Birgit Mertens3, Roel Anthonissen3, Fabian Hulpia4, Louis Maes1, Clement Regnault5, Phil Whitfield5, Marzuq A. Ungogo6, Harry P. De Koning6, Serge Van Calenbergh7, Guy Caljon1\*

1Laboratory of Microbiology, Parasitology and Hygiene (LMPH), University of Antwerp, Antwerp, Belgium

2Protozoology Research Group, Institute of Tropical Medicine, Antwerp, Belgium

3Sciensano, SD Chemical and Physical Health Risks, Brussels, Belgium

4Janssen Pharmaceutica NV, Janssen Pharmaceutical Companies of Johnson & Johnson, Beerse, Belgium

5Polyomics, University of Glasgow, Wolfson Wohl Cancer Research Centre, Switchback Rd, Bearsden, Glasgow, UK

6School of Infection and Immunity, College of Medical, Veterinary and Life Sciences, University of Glasgow, Glasgow G12 8TA, UK

7Laboratory for Medicinal Chemistry (Campus Heymans), Ghent University, Gent, Belgium

\*Presenting and corresponding author, Guy.Caljon@uantwerpen.be

Animal trypanosomiasis (AT) is a widespread disease with a devastating impact on animal husbandry due to the scarcity of efficient drugs and development of drug resistance, hence emphasizing the need for novel treatment options. Following previous identification of 3’-deoxytubercidin as a highly potent trypanocide with curative activity in mouse models of both stage-1 and stage-2 Human African Trypanosomiasis (HAT), we now present a comprehensive preclinical evaluation of new 6-amino substituted tubercidin analogues with promising activity against a broad range of AT species. Potent hits were identified *in vitro* across all important AT species, *i.e.* *Trypanosoma brucei brucei*, sensitive and isometamidium (ISM)-resistant *Trypanosoma congolense*, *Trypanosoma vivax*, *Trypanosoma evansi* (type A and B) and *Trypanosoma equiperdum*. Selected ‘hits’ were further tested for *in vitro* metabolic stability (using bovine, horse and piglet liver microsomes), *in vivo* mouse models for each AT species, genotoxicity assays and mode-of-action studies (*i.e.* genome-wide RNA interference library screening, metabolomics). Analogue **3** was highly active in *T. vivax*, *T. congolense*, *T. equiperdum*, *T. evansi* and *T. brucei* curative mouse models. Furthermore, there was no indication of *in vitro* genotoxicity as confirmed by Vitotox®, the micronucleus and the comet assays. Mode-of-action studies for **3** revealed that the P1 nucleoside transporter and adenosine kinase are involved in drug uptake and activation, respectively. Given the preferred target product profile for a broad-spectrum drug against AT, analogue **3** represents a promising ‘lead’ candidate for treatment of animal trypanosomiasis, regardless of the causative species.

**Découverte d'un nouveau candidat thérapeutique contre la trypanosomiase animale**

Kayhan Ilbeigi1, Dorien Mabille1, An Matheeussen1, Rik Hendrickx1, Nick Van Reet2, Birgit Mertens3, Roel Anthonissen3, Fabian Hulpia4, Louis Maes1, Clement Regnault5, Phil Whitfield5, Marzuq A. Ungogo6, Harry P. De Koning6, Serge Van Calenbergh7, Guy Caljon1\*

1Laboratory of Microbiology, Parasitology and Hygiene (LMPH), University of Antwerp, Antwerp, Belgium

2Protozoology Research Group, Institute of Tropical Medicine, Antwerp, Belgium

3Sciensano, SD Chemical and Physical Health Risks, Brussels, Belgium

4Janssen Pharmaceutica NV, Janssen Pharmaceutical Companies of Johnson & Johnson, Beerse, Belgium

5Polyomics, University of Glasgow, Wolfson Wohl Cancer Research Centre, Switchback Rd, Bearsden, Glasgow, UK

6School of Infection and Immunity, College of Medical, Veterinary and Life Sciences, University of Glasgow, Glasgow G12 8TA, UK

7Laboratory for Medicinal Chemistry (Campus Heymans), Ghent University, Gent, Belgium

\* Auteur présentateur et correspondant, Guy.Caljon@uantwerpen.be

La trypanosomiase animale (TA) est une maladie répandue avec un impact dévastateur sur l'élevage en raison de la rareté de médicaments efficaces et du développement de la résistance, ce qui souligne la nécessité de nouvelles options de traitement. Suite à l'identification précédente de la 3'-désoxytubercidine avec une activité curative dans des modèles murins de stade 1 et de stade 2 de la trypanosomiase humaine africaine (THA), nous présentons maintenant une évaluation préclinique de nouveaux analogues de tubercidin avec une activité prometteuse contre un large éventail d'espèces TA. Les analogues ont été identifiés *in vitro* dans toutes les espèces TA importantes, *Trypanosoma brucei brucei*, *Trypanosoma congolense* sensible et résistant à l'isométamidium (ISM), *Trypanosoma vivax*, *Trypanosoma evansi* (types A et B) et *Trypanosoma equiperdum*. Les « hits » sélectionnés ont ensuite été testés pour la stabilité métabolique *in vitro*, des modèles de souris pour chaque espèce de TA, des tests de génotoxicité et des études de mode d'action (iARN, métabolomique). L'analogue **3** était très actif *in vivo* contre *T. vivax*, *T. congolense*, *T. equiperdum*, *T. evansi* et *T. brucei*. De plus, il n'y avait aucune indication de génotoxicité comme confirmé par Vitotox®, les tests du micronoyau et des comètes. Des études sur le mode d'action de **3** ont révélé que le transporteur de nucléoside P1 et l'adénosine kinase sont respectivement impliqués dans l'absorption et l'activation du médicament. Compte tenu du profil de produit cible pour un médicament à large spectre contre le TA, l'analogue **3** représente un candidat prometteur.