

## PŘEHLEDY A ODBORNÁ SDĚLENÍ

**Prehľad inhibítorov MMP a TACE hydroxamátového typu a ich terapeutický potenciál**

ŠILLE J., GARAJ V., ŠRAMKO M., REMKO M.

Univerzita Komenského Bratislava, Farmaceutická fakulta, Katedra farmaceutickej chémie, SR

Došlo 14. dubna 2009 / Prijato 5. května 2009

## SÚHRN

**Prehľad inhibítorov MMP a TACE hydroxamátového typu a ich terapeutický potenciál**

Hydroxamová funkčná skupina je významným štruktúrnym prvkom pre účinok inhibítorov na metaloproteínázy. Selektivita inhibítorov k jednotlivým metaloproteínázam závisí nielen od štruktúry nosnej časti molekuly, ale aj od rôznych substituentov. Kombinácia tradičných prístupov založených na štruktúre a mechanizmoch účinku s novými metódami, akými sú racionálne projektovanie liečiv a kombinatorická chémia, bude nevyhnutná pre ďalší rozvoj špecifických inhibítorov proteáz. V blízkej budúcnosti môžeme očakávať úspech pri klinickom skúšaní nových inhibítorov hydroxamátového typu.

**Kľúčové slová:** hydroxamáty – MMP – TACE – metaloenzyмы – metaloproteínázy**Čes. a slov. Farm., 2009; 58, 95–102**

## SUMMARY

**Review of hydroxamic matrix metalloproteinase inhibitors and their therapeutic potential**

The hydroxamic acid moiety is the key structural element for the potency of the inhibitors against metalloprotease enzymes. However, the selectivity of the inhibitors towards various metalloproteases depends on the structures of the templates or scaffolds as well as the variations of the substituents. A combination of the traditional substrate- and mechanism-based approaches and the new technologies, such as the structural-based drug design as well as combinatorial chemistry, will be essential for the future development of specific protease inhibitors. Success in a clinical trial of new hydroxamic acid-based inhibitors is expected soon.

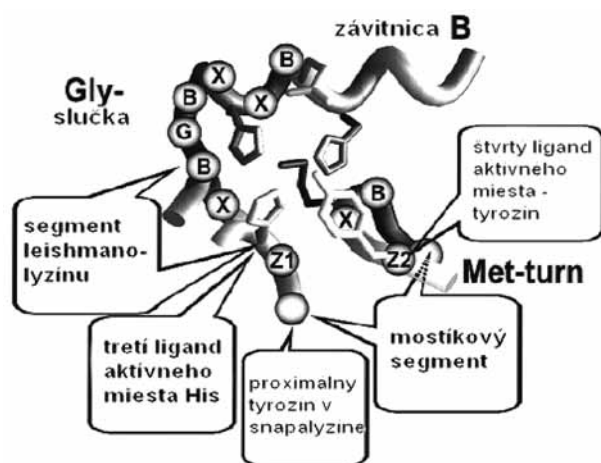
**Key words:** hydroxamates – MMP – TACE – metalloenzymes – metalloproteinases**Čes. a slov. Farm., 2009; 58, 95–102***Má***Úvod**

Súbor enzýmov „metzincínu“ sa skladá z veľkého počtu zinočnatých metaloproteáz, ktoré majú značne podobné sekvencie. Patria sem štyri rozdielne skupiny metaloproteáz (astacíny, adamalyzíny, matrixíny a bak-

teriálne serralyzíny), ktoré spája: 1. spoločný segment sekvencie HEXXHXXGXXH/D (obr. 1), ktorá obsahuje v aktívnom mieste tri ligandy zinočnatého katiónu a 2. zachovaná metionínová funkčná skupina za tretím zinočnatým ligandom, ktorá je zodpovedná za podobnú konformáciu  $\beta$ -slučky u metzincínov (Met-turn) <sup>1)</sup>.

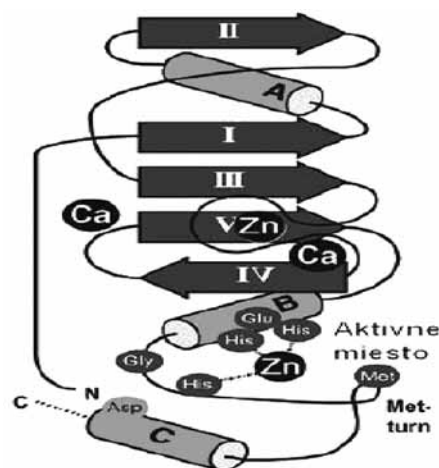
**Adresa pre korešpondenciu:**

PharmDr. Július Šille  
Katedra farmaceutickej chémie FaF UK  
Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, Slovenská republika  
e-mail: sille@fpharm.uniba.sk



Obr. 1. Schéma aktívneho miesta so spoločným segmentom HEXXHXXGXXH/D v skupine enzýmov metzincínu (slučky Met-turn a Gly, B sú apolárne aminokyseliny, X ľubovoľné jednotky a X sú špecifické aminokyseliny charakteristické pre jednotlivé enzýmy)<sup>51)</sup>

Enzýmy týchto štyroch rodín sa rozlišujú podľa skupín, ktoré nasledujú po treťom ligande, histidíne<sup>2)</sup>. Na základe porovnávania 3D-štruktúr jednotlivých enzýmov z rôznych rodín sa zistilo, že aj napriek malej podobnosti sekvencie majú podobnú topológiu. Podobnosť štruktúry je oveľa markantnejšia v okolí aktívneho miesta enzýmov, napriek tomu, že rozdiely v regiónoch, ktoré viažu substrát majú špeciálnu úlohu pri modelovaní selektívnych inhibítorov. Najvýznamnejšie rozdiely sú v primárnej časti aktívneho miesta, v mieste, ktoré spája  $\beta$ -slučku s  $\alpha$ -závitnicovou časťou katalytickej domény, nazvanej ako  $S_1'$  slučka<sup>3)</sup>. Dĺžka a zloženie aminokyselín slučky sa výrazne líši u rôznych rodín metzincínov, ale len nepatrne medzi členmi rovnakej rodiny. Celková variabilita  $S_1'$  domény je základným kľúčom vývoja selektívnych inhibítorov týchto enzýmov<sup>4, 5)</sup>.

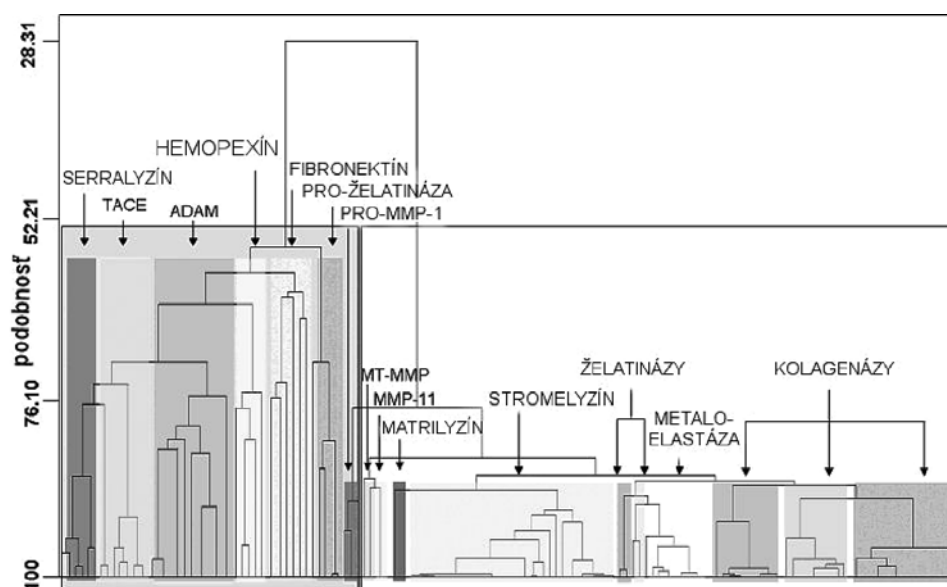


Obr. 2. Topológia enzýmu ľudskej neutrofilnej kolagenázy (1jan) zo skupiny metzincín ( $\beta$ -štruktúra I-V,  $\alpha$ -závitnica, dôležité aminokyseliny sú zobrazené v aktívnom mieste)<sup>51)</sup>

Metzincínové proteázy sú schopné štiepiť veľké množstvo bunkových a mimobunkových substrátov, ako aj mimobunkových matrixových substrátov, kolagény, prokolagény, proteoglykány, cytokíny a ich ligandy, chemokíny a elastíny. Takýmto spôsobom obmieňajú štruktúru a funkciu tkanív vo fyziologických a patologických stavoch<sup>6)</sup>.

### Matrixová metaloproteináza

Matrixové endopeptidázy (MMP) tvoria veľkú skupinu neutrálnych endopeptidáz, ktoré degradujú prvky mimobunkového matrixu a podporujú premodelovanie tkanív<sup>7)</sup>. Všetky aktívne miesta enzýmov MMP obsahujú spoločný segment sekvencie aminokyselín HexGHxxGxxH, ktorý sa skladá z troch histidínov koordinujúcich katalytický zinočnatý kation, päťkrát



Obr. 3. Dendrogram stromovitých klastrov proteínov metaloproteáz. Hodnoty sekvencie a podobnosti sú na horizontálnych, resp. na vertikálnych osiach<sup>11)</sup>

stočený  $\beta$ -skladaný list (jeden paralelný a štyri antiparalelné) a tri  $\alpha$ -závitnice v endopeptidázovom vačku (obr. 2)<sup>8)</sup>. Enzymy MMP sa skladajú zo štyroch odlišných domén: N-terminálna pro-doména, ktorá je rozštiepená počas aktivácie; katalytická doména, ramenný región; C-terminálna hemopexínová doména<sup>9)</sup>. Katalytická doména je stočená do sférickej jednotky s približným priemerom 35 Å a obsahuje dva tetraedrálne koordinované zinočnaté katióny: „štruktúrny“ a katalytický ión. Katalytická doména okrem zinočnatých iónov obsahuje aj 1–3 vápenaté ióny<sup>10)</sup>. Enzymy MMP patria do rodiny matrixínov a na základe katalytickej domény a ďalších štruktúrnych/funkčných motívov (signálny peptid, propeptid, štiepne miesto konvertázy, fibronektínový modul, C-koniec atď.) sa rozdeľujú do štyroch hlavných skupín: 1. archetypické, 2. matrilýzíny, 3. želatinázy a 4. enzýmy aktivované konvertázou (obr. 3). Archetypické enzýmy MMP majú organizovanú katalytickú doménu, ktorá sa skladá zo signálneho peptidu, z N-koncového pro-peptidu a z hemopexínovej C-koncovovej domény, ktorá je dôležitá pre substrátovú špecifickosť a interakciu s tkanivovým MMP inhibítorom. Do tejto skupiny patrí deväť členov MMP (kolagenázy: MMP-1, MMP-8, MMP-13; stromelyzíny: MMP-3, MMP-10; metaloelastázy: MMP-12; enamelyzíny: MMP-20, MMP-19, MMP-27). Druhá skupina je reprezentovaná matrilýzínmi (MMP-7, MMP-26), v ktorých chýba C-terminálny hemopexínový koniec a katalytická doména, je veľmi malá. Tretiu skupinu tvoria želatinázy s tromi modulmi fibronektínového typu II, ktoré sú poskladané do domén na väzbu kolagénu. Tieto domény urýchľujú degradáciu kolagénu a želatíny. Štvrtú skupinu (konvertázou aktivované MMP) charakterizuje bázičná zložka v propeptidovej časti, ktorú štiepi furínová proteáza. Medzi proteíny štvrtej skupiny patria tri vylučované enzýmy MMP, šesť enzýmov MMP membránového typu (MT) a dva atypické transmembránové MMP enzýmy typu II (MMP-23A, MMP-23B)<sup>11)</sup>.

Enzymy MMP sa podieľajú na mnohých patologických ako aj fyziologických procesoch. Strata riadenia aktivity a expresie MMP je spojená s množstvom chorobných procesov, ako sú nádorové metastázy, reumatoidná artritída (RA), skleróza multiplex, ochorenie fixačného aparátu zubov a ischemická choroba srdca. Napriek enormnej snahe vyvinúť efektívny inhibítor MMP (MMPI) je v súčasnosti na trhu len jediné liečivo (Periostat) na liečbu choroby fixačného aparátu zubov<sup>12)</sup>. Nanešťastie väčšina sľubných počiatkových klinických štúdií rôznych typov MMPI zlyhala v pokročilých fázach klinického skúšania hlavne kvôli nežiaducim muskuloskeletárnym účinkom. To, že tieto inhibítory neprešli klinickými skúšaniami môžeme pripísať extrémne komplexnej biológii MMP, ktorá doteraz nie je úplne objasnená. Napríklad niektoré MMP podporujú progresiu nádorov, kým iné izoformy majú obrannú úlohu pri angiogenéze a metastáze nádorov. Na základe fyziologických funkcií enzýmov môžeme rozdeliť MMP do troch kategórií: 1. cieľový enzým (target) – podporuje tvorbu nádorov (je nutná inhibícia enzýmu, kvôli farmakologickej spätnej regulácii); 2. anti-cieľový enzým (anti-target) – má esenciálnu úlohu

v normálnych bunkách a ich inhibícia nie je žiadaná, nakoľko môže spôsobovať nežiaduce účinky a zrušenie výhod inhibície; 3. proti-cieľový (counter-target) – funkcia MMP nesúvisí s chorobnými procesmi, ale jeho ovplyvnenie môže zmeniť biologickú funkciu MMP a vyvolávať vedľajšie účinky<sup>11)</sup>.

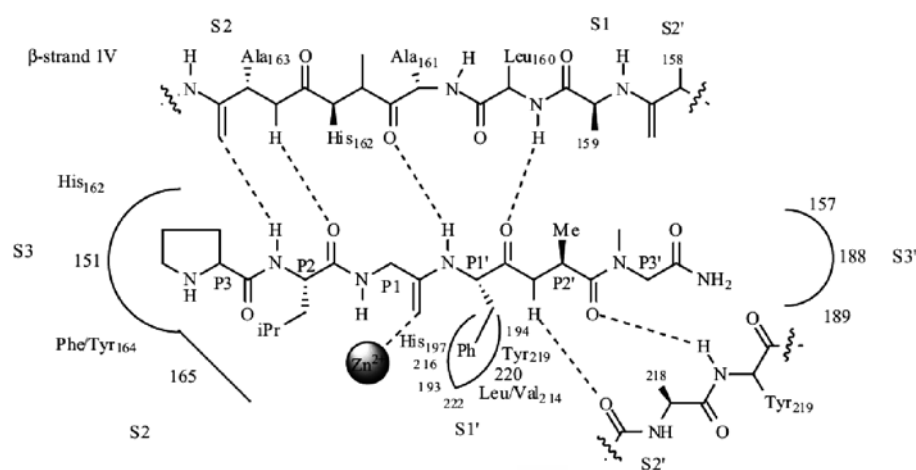
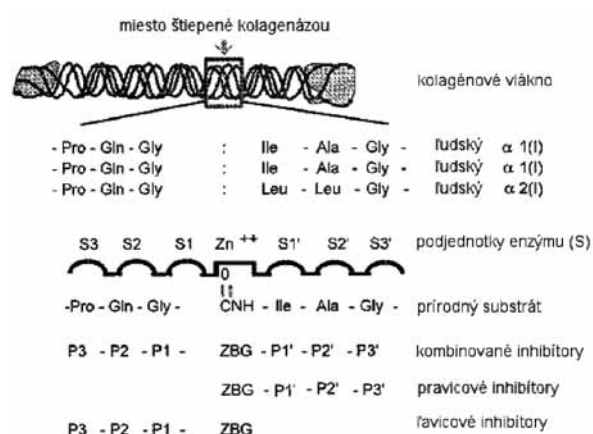
### Inhibítory MMP

Inhibítory MMP (MMPI) môžeme z biologického hľadiska rozdeliť na široko-spektrálne a selektívne inhibítory. Predpokladalo sa, že široko-spektrálne inhibítory by mohli byť výhodnou voľbou pri liečbe rakoviny a špecifické inhibítory kolagenáz (MMP-1, MMP-8, MMP-13) pri liečbe artritíd. Klinické štúdie širokospektrálnych inhibítorov ukázali, že inhibítory ako marimastat majú závažné muskuloskeletárne vedľajšie účinky. Na základe výsledkov vznikla hypotéza, podľa ktorej sa musí zachovávať aktivita izoenzýmu MMP-1, aby sa zabránilo vedľajším účinkom<sup>13)</sup>.

Inhibítory MMP sa chemicky delia podľa mechanizmu inhibície na komplexotvorné, nekomplexotvorné a mechanické (inhibítor indukuje konformačnú zmenu mikroprostredia zinočnatého iónu). Komplexotvorné inhibítory môžeme na základe funkčnej skupiny, ktorá sa viaže na zinok ďalej rozdeliť do nasledujúcich skupín: A. sukcinyl hydroxamáty, B. nepeptidové sukcinyl hydroxamáty, C. deriváty sulfónamidových hydroxamátov, D. iné ako hydroxamátové inhibítory (napr. deriváty karboxylových kyselín, tiolov; zlúčeniny fosforu), E. rôzne prírodné produkty (tetracyklíny; katechín, pyknidón, deriváty futoenónu; skupina pseudopeptidov; nikotínamid, rifampicín)<sup>4)</sup>.

Keď ešte neexistovalo mnoho poznatkov o biologickej úlohe MMP v patofyziológii rakoviny a zápalu, chelatačné inhibítory hydroxamátového typu dominovali vo vývoji nových potenciálnych liečiv. Hydroxamáty vo forme aniónov vytvárajú komplexy so zinočnatým iónom aktívneho miesta, kde sa ako ligandy viažu prostredníctvom dvoch atómov kyslíka<sup>14)</sup>. Zlyhanie klinických skúšok betimastatu a marimastatu prinútilo vedec-kú komunitu, aby prehodnotila situáciu vývoja ďalších inhibítorov hydroxamátového typu<sup>15)</sup>. Príčinou masívneho zlyhávania bol nedostatok spoľahlivých klinických skúšok a slabý farmakologický profil MMPI<sup>16)</sup>.

V dnešnej dobe je veľkým problémom index selektivity. Hlavným dôvodom neschopnosti prvotných inhibítorov hydroxamátového typu selektívne inhibovať enzýmy MMP bola príliš veľká kapacita funkčnej skupiny kyseliny hydroxámovej viazať zinočnatý ión, ktorá prevyšuje slabšie, ale špecifické nekovalentné interakcie inhibítora so substrátovými regiónmi enzýmu. Napriek týmto faktom sa mnoho vývojových skupín snaží racionálne optimalizovať štruktúru MMPI hydroxamátového typu využitím rozdielov medzi špecifickými interakčnými miestami MMP (obr. 4). Zatiaľ sa však dosiahol len čiastočný úspech (parciálne selektívne inhibítory pre malú podskupinu MMP). Prvé inhibítory MMP napodobňovali sekvenciu aminokyselín štiepneho miesta kolagénu (obr. 5). V substrátom riadenom projektovaní inhibítorov je funkčná skupina, zodpovedná za väzbu na zinočnatý

Obr. 4. Schéma aktívneho miesta MMP-8 s prirodzeným substrátom <sup>4)</sup>Obr. 5. Inhibitory MMP projektované na základe natívneho substrátu <sup>4)</sup>

ión, pripojená na peptidový skelet, ktorý kopíruje časť štiepanej sekvencie. Rozlišujeme tri typy inhibítorov MMP: inhibitory, v ktorých sa peptidový skelet nachádza napravo aj naľavo od funkčnej skupiny zodpovednej za väzbu na zinočnatý ión, a inhibitory, v ktorých peptidová časť smeruje buď doľava, alebo do prava (obr. 5).

Výskumná skupina British Biotech vyvinula sériu selektívnych MMPI modifikáciou nosnej štruktúry, marimastatu. V štruktúre sa najprv nahradila terc-butyl glycinová P2' jednotka za piperidín (viď obrázok 6 šablónu nosnej štruktúry I). Zavedenie N-metyl sulfónamidovej skupiny do alfa polohy voči hydroxámovej funkčnej skupine prinieslo enzýmovú selektivitu založenú na charaktere sulfonylového substituenta. Zvýšenie aktivity sa môže dosiahnuť integrovaním cyklopentyl metylevej skupiny v oblasti P1'. Zlúčenina I je selektívny inhibítor MMP-1, MMP-8 a MMP-13 s dobrou perorálnou dostupnosťou <sup>17)</sup>.

Hannesianova skupina uskutočnila porovnávacie štúdium kotviacich programov na dostupných 3D štruktúrach MMP získaných NMR a röntgenovou difrakciou, a ukázali, že program Autodock spoľahlivo reprodukuje spôsob väzby inhibítorov pozorovaný v kryštálových štruktúrach <sup>18)</sup>. Na základe výsledkov táto skupina pripravila sériu N-arylsulfónových S-alkyl homocysteín

| šablóna | nosná štruktúra |
|---------|-----------------|
|         |                 |
|         |                 |
|         |                 |
|         |                 |
|         |                 |
|         |                 |
|         |                 |
|         |                 |

Obr. 6. Vybrané inhibitory MMP <sup>52)</sup>



hydroxámových kyselín s nanomolárnou a subnanomolárnou inhibičnou aktivitou voči rôznym MMP<sup>19)</sup>. Obmena P1, P1', P2' oblastí výrazne ovplyvňuje účinnosť a selektivitu MMPI, napríklad zlúčenina II je 2900 krát silnejším inhibítorom MMP-9 ako MMP-1.

Spoločnosť Pfizer objavila skupinu bifenylylsulfónových derivátov a karboxylových analógov ako selektívnych inhibítorov MMP-2, MMP-3 a MMP-13 s mikromolárnou aktivitou voči MMP-1, MMP-7 a MMP-9<sup>20)</sup>. Z tejto série (PD 166793) mala najlepšie farmakokinetické vlastnosti zlúčenina III<sup>21)</sup>. Ďalšia skupina z firmy Pfizer (Robinson a spol.) objavila potenciálne pyrolidínové inhibítory MMP-13 štruktúrne riadeným projektovaním liečiv, využitím homológového modelovania enzýmu, pričom vychádzali zo štruktúry MMP-8<sup>22)</sup> (nosná štruktúra IV).

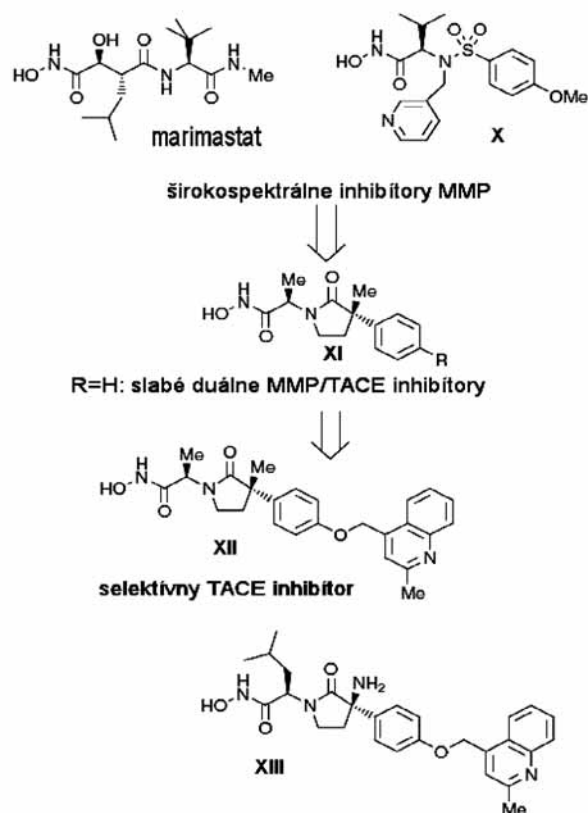
Barta a kol. (Pharmacia) zistili, že nové arylhydroxámové sulfónamidy, ktoré šetria MMP-1, sú nanomolárnymi inhibítormi MMP-2 a MMP-13<sup>23)</sup>. Analýza kryštálovej štruktúry komplexu zlúčeniny V s izoenzýmom MMP-8 ukázala, že selektivita k MMP-1 sa dá dosiahnuť úpravou skupiny P1' na požadovanú dĺžku, tak aby vznikla sterická interferencia s arginínom MMP-1, ktorá je pozičným ekvivalentom leucínu v MMP-8.

Fray a kol. z firmy Pfizer (UK) objavili succinyl hydroxámové selektívne inhibítory MMP-3<sup>24, 25)</sup>. Zistili, že afinita inhibítorov k MMP-2 sa dá drasticky znížiť modifikáciou P3' skupiny (zlúčenina VI). Ďalšia skupina vo firme Celltech (Baxter a kol.) objavila nové arylsulfónové hydroxamáty (VII), ktoré sú vynikajúcimi inhibítormi MMP-2, MMP-3, MMP-8 a MMP-9, pričom vykazujú len minimálnu inhibičnú aktivitu k MMP-1<sup>26)</sup>.

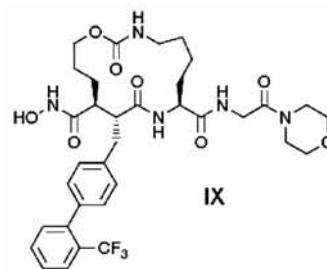
Firma Abbott sa snažila vyvinúť efektívne inhibítory MMP-9 a MMP-2, ktoré by sa mohli použiť na terapiu nádorov. Pripravili sériu N-formylhydroxylamínov, vysoko selektívnych inhibítorov MMP-2 a MMP-9 v porovnávaní s inhibíciou MMP-1<sup>27)</sup>. Látka VIII (ABT-518), ktorá výrazne inhibovala rast nádorov na zvieracích modeloch, sa dostala do prvej fázy klinického testovania.

## ADAM

Rodinu ADAM (A desintegrin a metaloproteáza) tvorí približne 40 proteínov, pričom 30 z nich je exprimovaných v ľudskom organizme a polovica týchto enzýmov má aj proteolytickú aktivitu<sup>28)</sup>. ADAM sú integrované membránové proteíny typu I, mnoho týchto enzýmov je súčasťou ektodoménového uvoľňovania membránových proteínov<sup>29)</sup>. Najviac preštudovaným členom je ADAM-17, proteáza, ktorá uvoľňuje zápalový cytokín faktor- $\alpha$  nekrotizujúci nádor (TNF- $\alpha$ ) z jej membránového prekursoru. ADAM-17 je hlavnou TNF- $\alpha$  konvertázou (TACE) a zodpovedá za riadenie hladiny solubilnej TNF- $\alpha$  v krvi pri zápalových ochoreniach<sup>30)</sup>. Vďaka výsledkom liečby artritídy TNF-špecifickými protilátkami sa väčšina klinických štúdií s TACE sústredila na tento typ ochorenia<sup>31, 32)</sup>. Na nešťastie sa kvôli hepatotoxicite dostali do druhej fázy klinického skúšania len dve látky<sup>33, 34)</sup>. O osude TACE inhibítorov rozhodne klinický vývoj vysoko selektívnych inhibítorov s vhodnými fyzikálno-chemickými vlastnosťami.



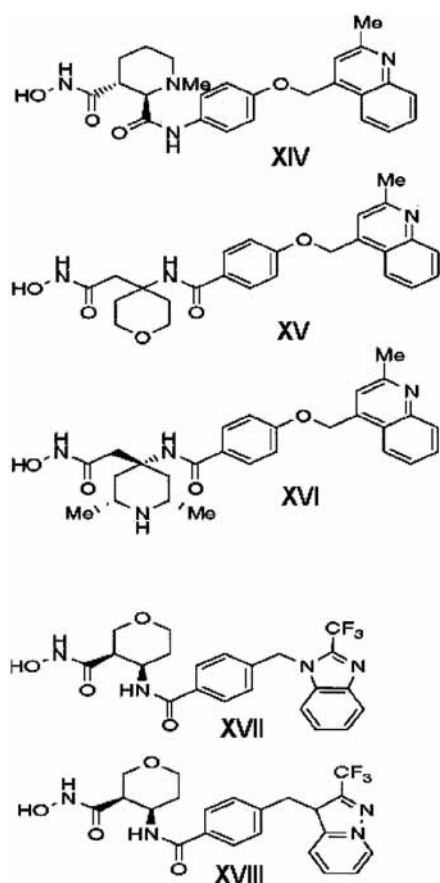
Obr. 7. Projektovanie selektívnych inhibítorov TACE<sup>3)</sup>



Obr. 8. Selektívny makrocyclický inhibitor TACE<sup>3)</sup>

## Inhibítory TACE

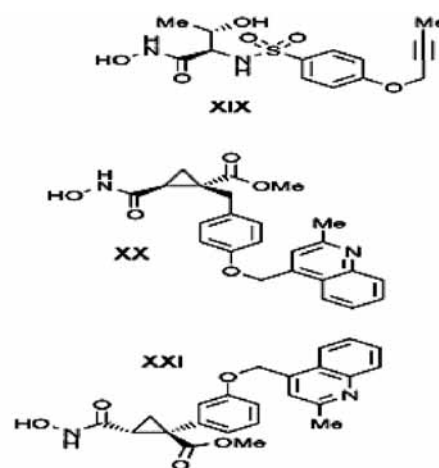
Počas hľadania selektívnych inhibítorov TACE bolo hlavnou snahou zabrániť možnej inhibícii MMP, aby sa predišlo vedľajším účinkom spojeným s inhibíciou MMP a len malá pozornosť sa venovala diskriminácii ďalších členov ADAM a ADAMTS (desintegrin a metaloproteínáza s trombo-spondínovým motívom). Prvá úspešná práca o vývoji selektívnych inhibítorov TACE bola uverejnená v roku 2001 skupinou DuPont. Vložením vhodného spojovacieho reťazca medzi skupiny P1 a P2' širokospektrálneho MMPI, marimastatu (obr. 7), vylepšili fyzikálno-chemické vlastnosti inhibítora<sup>35)</sup>. Spojovací reťazec vytvára makrocyclický skelet inhibítora a napodobňuje proteín. Zvýšenú selektivitu voči prasačiemu TACE (pTACE) oproti MMP dosiahli na základe SAR (structure-activity relationship) štúdií bočného reťazca inhibítora P1'. Interakcie bifenylovej funkčnej skupiny s P1' kavitou

Obr. 9. Inhibitory spoločnosti Bristol-Myers Squibb <sup>3)</sup>

TACE sú uprednostňované pred interakciami s MMP (zlúčenina IX, obr. 8) <sup>36)</sup>.

Výskumníci z firmy Bristol-Myers Squibb objavili β-laktámové hydroxamové kyseliny <sup>37)</sup>. β-laktámovú kostru vytvorili na základe kľúčových interakcií širokospektrálnych inhibítorov marimastatu a CGS27023A (zlúčenina X, obr. 7) s izoenzýmom MMP-3. Analýzovaním kryštálových štruktúr MMP a homológového modelu TACE (pripraveného podľa atrolyzínu, hadieho jedu z adamalyzínovej skupiny) sa identifikovala unikátna S1' kavita s prehnutým tvarom, ktorá sa dá ideálne využiť na modelovanie selektívnych inhibítorov <sup>38)</sup>. Po zavedení (2-metyl-chinolín-4-yl)metoxy substituenta v para polohe fenylového jadra (zlúčenina XI, obr. 8) sa získali zo širokospektrálnych MMP/TACE inhibítorov vysoko selektívne pTACE inhibítory (IK682, zlúčenina XII). IK682 je extrémne silným inhibítorom ľudskej TACE s dobrou orálnou dostupnosťou <sup>39)</sup>. Modifikáciou štruktúry IK682 získali analóg XIII (obr. 7), ktorý sa dostal do druhej fázy klinických štúdií.

Racionálnou obmenou hlavného skeletu MMPI CGS27023A (X) a kombináciou s (2-metyl-chinolín-4-yl)metoxy skupinou v polohe P1' (determinant pre TACE selektivitu oproti MMP) vyvinuli deriváty cyklických sukcinátov <sup>40, 41)</sup>. Zlúčenina IM491 (piperidín dikarboxamidový derivát, XIV, obr. 9) sa vyznačuje nanomolárnou pTACE inhibičnou aktivitou, dobrou membránovou permeabilitou a šetrí enzýmy MMP-1, -2 a -9. Aby sa zabránilo vzniku toxických metabolitov,

Obr. 10. Cyklopropyl a alkynyl deriváty selektívnych inhibítorov TACE <sup>3)</sup>

ktoré vznikajú hydrolýzou anilidovej väzby, anilidová väzba sa nahradila amidovou <sup>42)</sup>. V ďalšej sérii nasynťizovaných amidov (XV, XVI) sa sukcinyl hydroxamový skelet vymenil za β-hydroxamovú kyselinu. Zlúčeniny tejto série mali výbornú TACE selektivitu a dobré farmakokinetické vlastnosti. β, β-tetrahydropyránový derivát XV je špecifickým subnanomolárnym inhibítorom pTACE bez výraznejšej inhibície väčšej skupiny MMP (mierna selektivita oproti MMP-3 a -7) a ADAMTS. Piperidínový analóg XVI je tiež selektívnym inhibítorom, ale má zvýšenú afinitu voči MMP-14 a 15 v porovnaní s XV (obr. 9) <sup>43)</sup>. Metabolická nestabilita fenoxu väzby a slabá, ale nie zanedbateľná afinita k MMP-3, -7, -8 a 12 izoformám priviedol vedcov k tomu, aby ďalej optimalizovali P1' bočný reťazec <sup>44, 45)</sup>. Zlúčeniny XVII a XVIII (obr. 9) sú najzaujímavejšími predstaviteľmi novej generácie. Majú excelentný inhibičný a farmakokinetický profil. Zlúčenina XVII sa nachádza v predklinickej fáze vývoja RA.

Firma Wyeth na základe SAR štúdií modifikovala sulfónové a sulfónamidové hydroxamáty, aby získala TACE a MMP inhibítory. Úpravou sulfónamidovej štruktúry v pozícii P1', konkrétne zavedením alkynyl skupiny získali selektívne TACE inhibítory s nízkou MMP afinitou <sup>46)</sup>. Butynyl substituent naviazaný na fenoxu skupinu je schopný natiahnuť sa do S3' polohy cez S1' kavitu a takto kopírovať prehnutú konformáciu, ktorá nie je prijateľná pre MMP enzýmy s dlhým S1' kanálom <sup>47)</sup>. Reprezentatívnym príkladom tejto skupiny je TACE inhibítor TMI-2 (zlúčenina XIX, obr. 10), ktorý má dobrú selektivitu a nízku afinitu k šiestim MMP a ADAM-10 a používa sa v predklinických štúdiách liečby RA <sup>48)</sup>.

Súčasný štúdie Zhu a kol. poukázali na niektoré nedostatky existujúcich farmakofórov a SAR štúdií <sup>49)</sup>. Inhibítory čiastočne hydroxamátového typu XX a XXI (obr. 10) sú vysoko selektívne inhibítory a líšia sa len stereokonfiguráciou cyklopropylového cyklu, ale iba zlúčenina XX je inaktívna voči ADAM-10. Kým hydroxamát XX svoju chinolínovú skupinu orientuje smerom k podjednotke S3' cez plytkú S1' kavitu, XXI je rozšírený opač-

ným smerom (karbonylmetoxy a chinolínová skupina smerujú k S1 a S3 podjednotkám. Na základe rozdielneho tvaru S3 kavity sa môžu naprojektovať TACE inhibitory s lepším farmakologickým profilom a výraznejšou selektivitou <sup>50)</sup>.

## ZÁVER

V dnešnej dobe, ako vidíme, je najväčším problémom index selektivity. Hlavným dôvodom zlyhania prvotných inhibítorov hydroxamátového typu selektívne inhibovať enzýmy bola príliš veľká kapacita funkčnej skupiny kyseliny hydroxámovej viazať zinočnatý ión, ktorá prevažuje slabšie, ale špecifické nekovalentné interakcie skeletu inhibítorov s postrannými reťazcami aminokyselín aktívneho miesta enzýmu. Napriek týmto faktom sa mnoho vývojových skupín snaží racionálne optimalizovať štruktúru hydroxamátového typu využitím rozdielov medzi špecifickými interakčnými miestami daných enzýmov. Súčasné štúdie poukázali na niektoré nedostatky existujúcich farmakofórov a SAR štúdií. Možnosti terapeutického využitia inhibítorov, ako ukázali aj *in vitro* a *in vivo* testy, sú naozaj široké: liečba nádorov, antiflogistický a imuno-modulačný účinok, antifibrotický a antiprotozoálny účinok, prevencia neurodegenerácie, stimulácia replikácie vírusov a prevencia hypertrofiie srdca. Pomer účinnosti a toxicity inhibítorov prvej triedy počas klinických skúšok bol prijateľný. V klinických štúdiách sa najčastejšie objavovali gastrointestinálne vedľajšie nežiadúce účinky, preto môže byť vývoj inhibítorov s dobrou orálnou dostupnosťou problematický, aj napriek tomu, že nové inhibitory majú výhodné farmakokinetické vlastnosti. Objav selektívneho inhibítora hydroxamátového typu môže v budúcnosti znamenať prevratný krok v tejto oblasti.

Táto práca bola vytvorená s podporou grantu Ministerstva školstva SR (č. grantu 1/4301/07).

## LITERATURA

1. Bode, W., Gomis-Rüth, F.X., Stöckler, W.: FEBS Lett., 1993; 331, 134–140.
2. Hooper, N. L.: FEBS Lett., 1994; 354, 1–6.
3. Georgiadis, D., Yiotakis, A.: Bioorg. Med. Chem., 2008; 16, 8781–8794.
4. Whitakker, M., Floyd, C. D., Brown, P., Gearing, A. J. H.: Chem. Rev., 1999; 99, 2735–2776.
5. Rao, B. G.: Curr. Pharm. Des., 2005; 11, 295–322.
6. Turk, B.: Nat. Rev. Drug. Disc., 2006; 5, 785–799.
7. Flannery, C. R.: Front. Biosci., 2006; 11, 544–569.
8. Baran, I., Varekova, R. S., Parthasarathi, L., Suchomel, S., Casey, F., Shields, D. C.: J. Chem. Inf. Model., 2007; 47, 464–474.
9. Skiles, J.W., Monovich, L.G., Jeng, A.Y.: Annual Reports in Medicinal Chemistry, 2000; 35, 167–176.
10. Hagmann, W.K., Lark, W.K., Becker, J.W.: Annual Reports in Medicinal Chemistry, 1996; 31, 231–240.
11. Nicolotti, O., Miscioscia, T. F., Lonetti, F., Muncipinto, G., Carotti, A.: J. Chem. Inf. Model., 2007; 47, 2439–2448.
12. Hu, J., Van den Steen, P. E., Sang, Q. X., Opdenakker, G.: Nat. Rev. Drug Disc., 2007; 6, 480–498.
13. Hutchinson, J. W., Tierney, G. M., Parsons, S. L., Davis, T. R. J.: J. Bone Joint Surg. (Br), 1998; 80–B: 907–908.
14. Abbenante, G., Fairlie, D. P.: Med. Chem., 2005; 1, 71–104.
15. Peterson, J. T.: Heart Fail. Rev., 2004; 9, 63–79.
16. Zucker, S., Cao, J., Chen, W. T.: Oncogene, 2000; 19, 6642–6650.
17. Martin, F. M., Beckett, R. P., Bellamy, C. L., Courtney, P. F., Davies, S. J., Drummond, A. H., Dodd, R., Pratt, L. M., Patel, S. R., Ricketts, M. L., Todd, R. S., Tuffnell, A. R., Ward, J. W. S., Whittaker, M.: Bioorg. Med. Chem. Lett., 1999; 9, 2887–2892.
18. Hanessian, S., Moitessier, N., Therrien, E.: J. Computer-Aided Mol. Design, 2001; 15, 873–881.
19. Hanessian, S., Moitessier, N., Gauchet, C., Viau, M.: J. Med. Chem., 2001; 44, 3066–3074.
20. O'Brien, P. M., Ortwine, D. F., Pavlovsky, A. G., Picard, J. A., Sliskovic, D. R., Roth, B. D., Dyer, R. D., Johnson, L. L., Man, C. F., Hallak, H.: J. Med. Chem., 2000; 43, 156–166.
21. Parker M. H., Ortwine D. F., O'Brien P. M., Lunney E. A., Banotai C. A., Mueller W. T., McConnell P., Brouillette C. G.: Bioorg. Med. Chem. Lett., 2000; 10, 2427–2430.
22. Robinson, R. P., Laird, E. R., Blake, J. F., Bordner, J., Donahue, K. M., Lopresti-Morrow, L. L., Mitchell, P. G., Reese, M. R., Reeves, L. M., Stam, E., Yocum, S. A.: J. Med. Chem., 2000; 43, 2293–2296.
23. Barta, T. E., Becker, D. P., Bedell, L. J., De Crescenzo, G. A., McDonald, J. J., Munie, G. E., Rao, S., Shieh, H.-S., Stegeman, R., Stevens, A. M., Villamil, C. I.: Bioorg. Med. Chem. Lett., 2000; 10, 2815–2817.
24. Fray, M. J., Burslem, M. F., Dickinson, R. P.: Bioorg. Med. Chem. Lett., 2001; 11, 567–570.
25. Fray M. J., Dickinson R. P.: Bioorg. Med. Chem. Lett., 2001; 11, 571–574.
26. Baxter, A. D., Bhogal, R., Bird, J., Keily, J. F., Manallack, D. T., Montana, J. G., Owen, D. A., Pitt, W. R., Watson, R. J., Wills, R. E.: Bioorg. Med. Chem. Lett., 2001; 11, 1465–1468.
27. Wada, C. K., Holms, J. H., Curtin, M. L., Dai, Y., Florjancic, A. S., Garland, R. B., Guo, Y., Heyman, H. R., Stacey, J. R., Steinman, D. H., Albert, D. H., Bouska, J. J., Elmore, I. N., Goodfellow, C. L., Marcotte, P. A., Tapang, P., Morgan, D. W., Michaelides, M. R., Davidsen, S. K.: J. Med. Chem., 2002; 45, 219–232.
28. Seals, D. F., Courtneidge S. A.: Genes Dev., 2003; 17, 7–30.
29. Huovila A. P., Turner A. J., Pelto-Huikko M., Kärkkäinen I., Ortiz R. M.: Trends Biochem. Sci., 2005; 30, 413–422.
30. Black, R. A.: Int. J. Biochem. Cell Biol., 2002; 34, 1–5.
31. Moss M. L., Bartsch J. W.: Biochemistry, 2004; 43, 7227–7235.
32. Moss M. L., Sklair-Tavron L., Nudelman R.: Nat. Clin. Pract. Rheumatol., 2008; 4, 300–309.
33. Grootveld M., McDermott M. F.: Curr. Opin. Investig. Drugs, 2003; 4, 598–602.
34. Thabet, M. M., Huizinga, T. W.: Curr. Opin. Investig. Drugs, 2006; 7, 1014–1019.



35. Xue, C. B., He, X., Corbett, R. L., Roderick, J., Wasserman, Z. R., Liu, R. Q., Jaffee B. D., Covington, M. B., Qian, M., Trzaskos, J. M., Newton, R. C., Magolda, R. L., Wexler, R. R., Decicco, C. P.: *J. Med. Chem.*, 2001; 44, 3351–3354.
36. Holms, J., Mast, K., Marcotte, P., Elmore, I., Li, J., Pease, L., Glaser, K., Morgan, D., Michaelides, M., Davidsen, S.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2001; 11, 2907–2910.
37. Duan, J. J., Chen, L., Wasserman, Z. R., Lu, Z., Liu, R. Q., Covington, M. B., Qian, M., Hardman, K. D., Magolda, R. L., Newton, R. C., Christ, D. D., Wexler, R. R., Decicco, C. P.: *J. Med. Chem.*, 2002; 45, 4954–4957.
38. Wasserman, Z. R., Duan, J. J., Voss, M. E., Xue, C. B., Cherney, R. J., Nelson, D. J., Hardman, K. D., Decicco, C. P.: *Chem. Biol.*, 2003; 10, 215–223.
39. Niu, X., Umland, S., Ingram, R., Beyer, B. M., Liu, Y. H., Sun, J., Lundell, D., Orth, P.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 2006; 451, 43–50.
40. Cherney, R. J., Duan, J. J., Voss, M. E., Chen, L., Wang, L., Meyer, D. T., Wasserman, Z. R., Hardman, K. D., Liu, R. Q., Covington, M. B., Qian, M., Mandlekar, S., Christ, D. D., Trzaskos, J. M., Newton, R. C., Magolda, R. L., Wexler, R. R., Decicco, C. P.: *J. Med. Chem.*, 2003; 46, 1811–1823.
41. Xue, C. B., He, X., Roderick, J., Corbett, R. L., Duan, J. J., Liu, R. Q., Covington, M. B., Qian, M., Ribadeneira, M. D., Vaddi, K., Christ, D. D., Newton, R. C., Trzaskos, J. M., Magolda, R. L., Wexler, R. R., Decicco, C. P.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2003; 13, 4299–4304.
42. Gilmore, J. L., King, B. W., Harris, C., Maduskuie, T., Mercer, S. E., Liu, R. Q., Covington, M. B., Qian, M., Ribadeneira, M. D., Vaddi, K., Trzaskos, J. M., Newton, R. C., Decicco, C. P., Duan, J. J.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2006; 16, 2699–2704.
43. Wang, X., Feuerstein, G. Z., Xu, L., Wang, H., Schumacher, W. A., Ogletree, M. L., Taub, R., Duan, J. J., Decicco, C. P., Liu, R. Q.: *Mol. Pharmacol.*, 2004; 65, 890–896.
44. Chen, X. T., Ghavimi, B., Corbett, R. L., Xue, C. B., Liu, R. Q., Covington, M. B., Qian, M., Vaddi, K. G., Christ, D. D., Hartman, K. D., Ribadeneira, M. D., Trzaskos, J. M., Newton, R. C., Decicco, C. P., Duan, J. J.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2007; 17, 1865–1870.
45. Lu, Z., Ott, G. R., Anand, R., Liu, R. Q., Covington, M. B., Vaddi, K., Qian, M., Newton, R. C., Christ, D. D., Trzaskos, J., Duan, J. J.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2008, 18, 1958–1962.
46. Levin, J. I., Chen, J. M., Du, M. T., Nelson, F. C., Killar, L. M., Skala, S., Sung, A., Jin, G., Cowling, R., Barone, D., March, C. J., Mohler, K. M., Black, R. A., Skotnicki, J. S.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2002; 12, 1199–1202.
47. Levin, J. I., Chen, J. M., Cheung, K., Cole, D., Crago, C., Santos, E. D., Du, X., Khafizova, G., MacEwan, G., Niu, C., Salaski, E. J., Zask, A., Cummons, T., Sung, A., Xu, J., Zhang, Y., Xu, W., Ayral-Kaloustian, S., Jin, G., Cowling, R., Barone, D., Mohler, K. M., Black, R. A., Skotnicki, J. S.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2003; 13, 2799–2803.
48. Zhang, Y., Hegen, M., Xu, J., Keith, J. C. Jr., Jin, G., Du X., Cummons, T., Sheppard, B. J., Sun, L., Zhu, Y., Rao, V. R., Wang, Q., Xu, W., Cowling, R., Nickerson-Nutter, C. L., Gibbons, J., Skotnicki, J., Lin, L. L., Levin, J.: *Int. Immunopharmacol.*, 2004; 4, 1845–1847.
49. Zhu, Z., Mazzola, R., Sinning, L., McKittrick, B., Niu, X., Lundell, D., Sun, J., Orth, P., Guo, Z., Madison, V., Ingram, R., Beyer, B. M.: *J. Med. Chem.*, 2008; 51, 725–736.
50. Lukacova, V., Zhang, Y., Kroll, D. M., Raha, S., Comez, D., Balaz, S.: *J. Med. Chem.*, 2005; 48, 2361–2370.
51. Gomis-Rüth, F. X.: *Molecular, Mol. Biotechnol.*, 2003; 24, 157–202.
52. Boliang L., Kexin Y.: *Mini Rev. Med. Chem.*, 2003; 3, 609–620.

## Abstrakta z akcí ČFS v časopisu Česká a slovenská farmacie

Redakce časopisu Česká a slovenská farmacie nabízí možnost zveřejňovat limitované množství abstrakt z odborných akcí pořádaných Českou farmaceutickou společností, například sympozií, seminářů, pracovních dnů apod.

Jednotlivá abstrakta (písmo Courier New, velikost 12, řádkování 2), by neměla přesáhnout 1 rukopisnou stranu formátu A4.

Počet abstrakt předem dohodnou předsedové příslušných sekcí, které akci pořádají, případně osoby zodpovědné za akci s redakcí časopisu, která poskytne i bližší informace.

Lze zveřejnit rovněž na internetových stránkách ČFS ([www.cfs-cls.cz](http://www.cfs-cls.cz))

### Kontakt:

doc. RNDr. Pavel Komárek, PhD., vedoucí redaktor, Katedra farmaceutické technologie a kontroly léčiv IPVZ  
100 05 Praha 10, Ruská 85, e-mail: [komarek@ipvz.cz](mailto:komarek@ipvz.cz), tel.: 271 019 278