

非羟肟酸类肿瘤坏死因子转化酶抑制剂的研究进展

孙宇¹, 钟武¹, 李松^{1*}, 贾丽丹²

(1. 军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850; 2. 空军航空大学基础训练基地门诊部, 吉林 长春 130021)

摘要: 类风湿性关节炎属自身免疫性疾病, 全球约有 1% ~ 2% 的人群受该病困扰。肿瘤坏死因子转化酶(TACE)是治疗类风湿性关节炎的潜在的靶点, 当前 TACE 抑制剂主要分为羟肟酸类和非羟肟酸类抑制剂两类。本文对近几年来出现的新型非羟肟酸类 TACE 小分子抑制剂进行介绍, 使读者对当前高活性、高选择性非羟肟酸类 TACE 抑制剂的发展和设计研究现状有个总体的了解。

关键词: 药物化学; 肿瘤坏死因子转化酶抑制剂, 非羟肟酸类; 类风湿性关节炎

中图分类号: R976 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-0440(2009)03-0172-03

Non-hydroxamate tumor necrosis factor converting enzyme inhibitors: research advances

SUN Yu¹, ZHONG Wu¹, LI Song¹, JIA Li-dan²

(1. Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China;

2. The Out-patient Department of Basic Training Base, Air Force Aviation University, Changchun, 130021, China)

Abstract: Rheumatoid arthritis (RA) is one of the most common autoimmune inflammatory diseases, affecting approximately 1% -2% of the worldwide adult population. Tumor necrosis factor-converting enzyme (TACE) has been discovered as a potential therapeutic target for the treatment of RA. Currently, there are two main kinds of TACE inhibitors: hydroxamate TACE inhibitors and non-hydroxamate TACE inhibitors. The recent overseas advance in new small molecule non-hydroxamate TACE inhibitors is introduced in this article. This review aims at providing a perspective to readers about the progress in designing more potent and selective non-hydroxamate TACE inhibitors.

Key words: medicinal chemistry; tumor necrosis factor converting enzyme inhibitors, non-hydroxamate; rheumatoid arthritis

类风湿性关节炎是一种常见的自身免疫性疾病, 目前全球约有 1% ~ 2% 的成年人受到类风湿性关节炎的困扰。而肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 是一种多功能细胞因子, 在类风湿性关节炎和其他免疫性疾病的发生和发展过程中起关键作用, 抑制 TNF- α 能有效地控制类风湿性关节炎的发展。当前, 更多的研究集中在开发可以口服的长效 TNF- α 小分子抑

制剂^[1]。研究表明, 人体内近 90% 游离型的 TNF- α 是经 TNF 转化酶(tumor necrosis factor converting enzyme, TACE)催化水解产生的。因此, 通过抑制 TACE 而抑制游离型 TNF- α 的产生是一个很好的选择。

1 TACE 的生物学作用

金属蛋白酶(MMP)中的解整合素-金属蛋白酶(ADAM)是一类可降解细胞外基质和基底膜的蛋白水解酶类, 它在许多生理和病理过程中发挥着重要作用。TACE 属于 ADAM 家族成员, 它是第 1 个已知的在生理学上作为酶解物和参与炎症反应的 ADAM 蛋白酶。它可以将 26 ku 膜结合型 TNF- α 前体水解为具有生物活性的可溶性 17 ku TNF- α ^[2]。

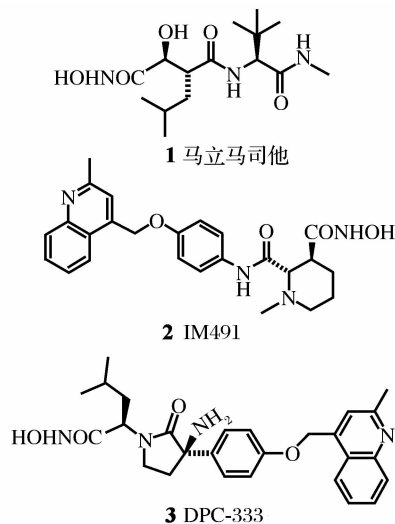
收稿日期: 2009-02-10

作者简介: 孙宇, 男, 在读博士研究生, 研究方向: 药物的设计与合成, Tel: 010-66931643, E-mail: sunyulg@gmail.com

* 通讯作者: 李松, 男, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 计算机辅助药物设计, Tel: 010-66931634, E-mail: lis@bmi.ac.cn

同时 TACE 也是其他一些生理过程所必需的,例如肿瘤生长因子- α 前体和(淀粉样)蛋白前体的分裂^[3];激活表皮生长因子受体在裸小鼠肿瘤中的发育。TACE 基因克隆的成功,证实其为金属水解蛋白家族的膜结合型整合素金属蛋白酶。TACE 和其他 ADAM 蛋白酶可以作为潜在的靶标,应用于关节炎、癌症、糖尿病、艾滋病等疾病的治疗。在用于治疗类风湿性关节炎的临床试验表明,广谱的 MMP 抑制剂会引起一系列不良反应。因此,应寻找一种能特异性抑制 TACE 的抑制剂,对其他 MMP 无抑制,以避免其不良反应。

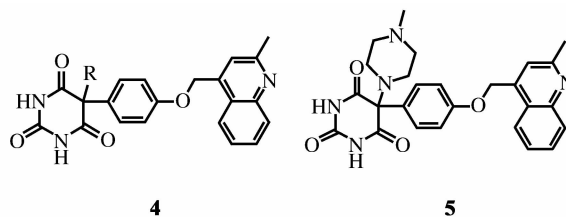
当前 TACE 抑制剂主要可分为异羟肟酸类和非异羟肟酸类抑制剂两类。异羟肟酸类抑制剂代表性化合物主要有马立马司他(marimastat, **1**)^[4], IM491 (**2**)^[5], DPC-333 (**3**)^[6] 等。该类抑制剂研究较为深入,其作用靶点明确,具有结构多样、活性高、特异性强的特点。但这类抑制剂也同时存在许多问题,如在人体内不稳定,生物利用度较低,临床应用有毒性。因此,非异羟肟酸类抑制剂的研究在世界范围内更加受到关注。本文概述了国外近几年来出现的新型非异羟肟酸类 TACE 小分子抑制剂的研究进展。



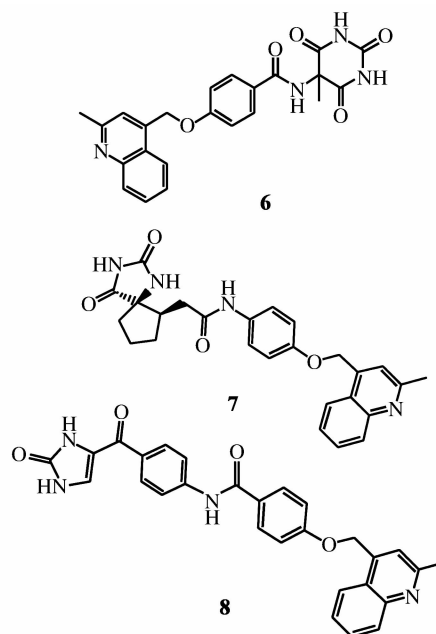
2 5-苯基嘧啶-2,4,6-三酮类抑制剂

研究者将异羟肟酸部分以 5-苯基嘧啶-2,4,6-三酮取代,保留在以前设计中做为 TACE 选择性的关键基团,4-(2-甲基喹啉-4-甲氧基)苯基部分^[7]。当 R 为甲基时,化合物 **4** 的 IC_{50} 值为 $1.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。显示嘧啶三酮是一个有效的锌离子螯合剂。为了进一步增强分子活性,将不同的脂肪族和芳香族基团作为 R 部分引入到分子中。当 R 基团为哌

嗪时可以增强化合物的活性,如化合物 **5** 抑制 TACE 的 IC_{50} 值为 $91 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。



为了进一步增强嘧啶三酮类衍生物的抗 TACE 活性,科学家们增大了嘧啶环和苯环的间距,几次修改得到了该系列活性最好的化合物 **6**,其 IC_{50} 值为 $26 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。化合物 **6** 也显示出相对于其他 MMP 较好的选择性(约 200 倍)。但是,该化合物在全血测定条件下无抑制作用($IC_{50} > 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。随后又尝试在嘧啶核的 5 位引入不同的其他基团,以增强全血测定条件下的活性。但随后研究显示,该系列化合物中在体外有活性的结构,在体内测试均未显示出活性^[8]。



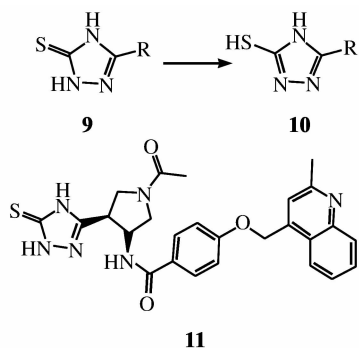
3 乙内酰脲类抑制剂

研究者们也考察了乙内酰脲作为锌离子的配位体。通过计算机分子模拟分析显示乙内酰脲与锌离子有较好的结合,但结合强度不如异羟肟酸^[9]。化合物 **7** 的 IC_{50} 值为 $11 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$,对 TACE 的选择性相对于其他 MMP 至少高出 200 倍。乙内酰脲环的立体构型对化合物的活性起关键性作用^[10],其(5*R*,6*S*)-反式的 IC_{50} 值为 $11 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$,而(5*S*,6*R*)-反式的 IC_{50} 值为 $900 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

4 1,3,4-三唑-2-硫酮类抑制剂

研究者也合成出三唑酮环和咪唑酮环作为有效的锌离子螯合基团。在合成的全部化合物中,最好的化合物 **8**,其 IC_{50} 值为 $9 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$,对 TACE 的选择性高于 MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-12, MMP-13 至少 350 倍,显示出很好的抑制活性和高的选择性^[11]。

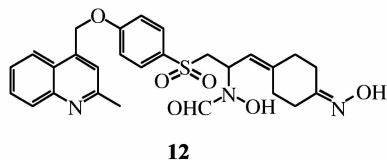
随后,研究小组又测试了 1,3,4-三唑-2-硫酮的骨架 **9** 作为非异羟肟酸类锌离子结合配体^[12]。计算机分子模拟分析显示,硫代羰基与位于酶活性位点中心的锌离子发生作用。硫脲部分的 NH 基能互变异构为硫醇 **10**,从而增强与活性位点 Glu306 的氢键相互作用^[12]。该系列中化合物 **11** 的 IC_{50} 值为 $1.5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$,相对于其他 MMP,选择性至少超过 3 000 倍。



虽然计算机分子模拟分析显示,三唑硫酮类的相互作用要弱于异羟肟酸,还是找到了具有高活性、高选择性的抑制剂。此外,三唑硫酮类抑制剂的出现,以更好的活性取代了 5-苯基嘧啶-2,4,6-三酮类、乙内酰脲类和三唑酮类,成为迄今最有效的非异羟肟酸类抑制剂之一。

5 其他

另外有报道,Kamei 等^[13]合成了化合物 **12**,抑制 TACE 的 IC_{50} 值为 $2 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$,其对 TACE 的抑制作用是对 MMP-1, MMP-2, MMP-9 等的 20 000 倍。



6 结语

非异羟肟酸类抑制剂作为一种新型的抗 TACE 抑制剂,由于结构中没有羟肟酸片段,避免了异羟肟酸类抑制剂在人体内不稳定、生物利用度较低、临床

应用毒性大的普遍问题。随着研究的深入,更多高活性、高选择性的非异羟肟酸类化合物会被发现,从而为通过抑制 TACE 而进行类风湿性关节炎与抗肿瘤方面的治疗提供更多的选择空间,是未来 TACE 抑制剂类药物的一个重要发展方向。

参考文献

- [1] Kathleen ES. TNF and TNF- α inhibitors: Mechanisms of action [J]. *Pediatr Rheum Online J*, 2004, 2(1):7-22.
- [2] Moss ML, White JM, Lambert MH, et al. TACE and other ADAM proteases as targets for drug discovery [J]. *Drug Discov Today*, 2001, 6(8):417-426.
- [3] Black RA. Tumor necrosis factor- α converting enzyme [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2002, 34(1):1-5.
- [4] Brow PD. Ongoing trials with matrix metalloproteinase inhibitors [J]. *Expert Opin Investig Drug*, 2000, 9(9):2167-2177.
- [5] Xue CB, He X, Roderick J, et al. Rational design, synthesis and structure-activity relationships of a cyclic succinate series of TNF- α converting enzyme inhibitors. Part 2: lead optimization [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2003, 13(24):4299-4304.
- [6] Moss ML, Sklair-Tavron L, Nedelman R. Drug insight: tumor necrosis factor-converting enzyme as a pharmaceutical target for rheumatoid arthritis [J]. *Nat Clin Prac Rheum*, 2008, 4(6):300-309.
- [7] Duan JJ, Lu Z, Wasserman ZR, et al. Non-hydroxamate 5-phenylpyrimidine-2,4,6-trione derivatives as selective inhibitors of tumor necrosis factor- α converting enzyme [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15(12):2970-2973.
- [8] Duan JJ, Chen L, Lu Z, et al. Discovery of low nanomolar nonhydroxamate inhibitors of tumor necrosis factor- α converting enzyme (TACE) [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(1):266-271.
- [9] Shepck JE 2nd, Tebben A, Gilmore JL, et al. A molecular modeling analysis of novel non-hydroxamate inhibitors of TACE [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(5):1408-1412.
- [10] Shepck JE 2nd, Gilmore JL, Yang A, et al. Discovery of novel hydantoin as selective non-hydroxamate inhibitors of tumor necrosis factor- α converting enzyme (TACE) [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(5):1413-1417.
- [11] Shepck JE 2nd, Gilmore JL, Tebben A, et al. Hydantoin, triazolones, and imidazolones as selective non-hydroxamate inhibitors of tumor necrosis factor- α converting enzyme (TACE) [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(10):2769-2774.
- [12] Gilmore JL, King BW, Asakawa N, et al. Synthesis and structure-activity relationship of a novel, non-hydroxamate series of TNF- α converting enzyme inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(16):4678-4682.
- [13] Kamei N, Tanaka T, Kawai K, et al. Reverse hydroxamatebased selective TACE inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004, 14(11):2897-2900.