

MANFRED SCHUBERT-ZSILAVECZ, INSTITUT FÜR
PHARMAZEUTISCHE CHEMIE

Pirinixinsäure-basierte Fett- säuremimetika als PPAR α / γ - Agonisten und duale Inhibitoren der 5-LO und mPGES-1

PPAR

Der Peroxisomen Proliferator-aktivierte Rezeptor (PPAR) gehört zu den nukleären Rezeptoren und beeinflusst als ligandabhängiger Transkriptionsfaktor die Expression von Genen, die am Glucose- und Lipidstoffwechsel beteiligt sind. Es existieren drei Subtypen (α , β/δ und γ), wobei bisher nur PPAR α und γ durch Arzneistoffe adressiert werden. PPAR α -Agonisten (Fibrate) werden zur Therapie von Dyslipidämien eingesetzt, Agonisten an PPAR γ (Glitazone) finden ihren Einsatz in der Behandlung von Typ 2 - Diabetes mellitus. Da diese Erkrankungen im Rahmen des metabolischen Syndroms häufig assoziiert auftreten, wäre eine Aktivierung beider Rezeptoren durch einen einzigen Arzneistoff sinnvoll. Dieser Ansatz wurde mit der Entwicklung der Glitazare (duale PPAR α / γ -Agonisten) verfolgt. Aufgrund von schwerwiegenden Nebenwirkungen (kardiovaskuläre Ereignisse, Tumorentwicklung) wurde die Entwicklung jedoch eingestellt. Ein möglicher Grund für die unerwünschten Wirkungen könnte das Selektivitätsprofil der Glitazare darstellen. Sie waren entweder präferentielle PPAR γ -Agonisten oder beeinflussten beide Rezeptoren in gleichem Maß. Ein Ansatz zur Lösung dieses Problems könnte die Verschiebung des Profils zu PPAR α -präferentiellen Arzneistoffen sein.

Durch gezielte Veränderung unserer Leitstruktur Pirinixinsäure (Abb.1), die an PPAR α und γ nur eine mäßige Aktivität mit EC₅₀-Werten im mikromolaren Bereich zeigt, konnte sowohl die Potenz der Substanzen als auch deren Selektivitätsprofil verbessert werden. Insbesondere durch die Einführung eines Alkylsubstituenten in α -Position zur Carboxylgruppe (Abb. 2) und den Ersatz des 2,3-Dimethyl-Anillins unter anderem durch Biphenylreste erreichten wir deutlich potentere Substanzen, die einerseits EC₅₀-Werte im nanomolaren Bereich aufweisen, andererseits das erwünschte Selektivitätsprofil zeigen und präferentiell PPAR α vor γ aktivieren, beziehungsweise an PPAR γ nur noch eine modulatorische Beeinflussung statt einer vollen Aktivierung zeigen [1,2]. Die in-vitro-pharmakologische Charakterisierung der Substanzen erfolgt mittels eines im Arbeitskreis etablierten zellulären Reporterassay. [3]

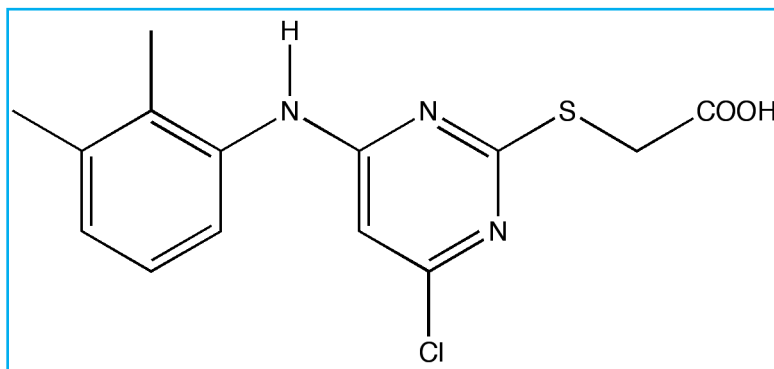


Abb. 1: Pirinixinsäure

MANFRED SCHUBERT-ZSILAVECZ, INSTITUTE OF
PHARMAZEUTICAL CHEMISTRY

Pirinixic acid based fatty acid mimetics as PPAR α / γ -agonists and dual inhibitors of 5-LO and mPGES-1

PPAR

The Peroxisome Proliferator activated Receptor (PPAR) belongs to the superfamily of nuclear receptors and acts as ligand dependent transcription factor of gene expression in lipid and glucose metabolism. There are three subtypes existing (α , β/δ and γ), but only α and γ serve as targets for drugs so far. PPAR α agonists (fibrates) are in use for the therapy of dyslipidemias, whereas agonists of PPAR γ are established in the treatment of type 2 diabetes mellitus. In context of the metabolic syndrome, those diseases are frequently associated. Thus, activation of both receptors by one drug would be reasonable. This approach was implemented with the development of the glitazars (dual PPAR α / γ -agonists), but was discontinued due to severe side effects as cardiovascular events and tumor development. As a possible reason of their failure the pharmacological profile is discussed. Glitazars were either PPAR γ preferential or act on both receptors in the same concentration. Thus, it makes sense to develop compound which have an adjusted profile and act preferentially on PPAR α .

By synthetic variation of our lead structure pirinixic acid (Fig. 1), which has only a weak micromolar activity on PPAR α , we achieved compound

that on the one hand are more potent and on the other hand have the desirable selectivity profile. Especially by introducing an alkyl substituent in α -position to the carboxylic acid (Fig. 2) and the displacement of 2,3-dimethylanillin by for example biphenyl substituents we achieved significant more potent compounds with EC₅₀ values in the nanomolar range which are PPAR α -preferential or have just a

modulating effect on PPAR γ instead of full activation [1,2]. The in-vitro-pharmacological characterization of the compounds is done by a cellular reporter gene assay, which is established in our working group. [3]

5-LO AND mPGES-1

5-Lipoxygenase (5-LO) and the microsomal prostaglandin E₂ synthase-1 (mPGES-1) are enzymes within the arachidonic acid (AA) cascade (Fig. 4) where they play crucial roles in the synthesis of prostaglandins (PG) and leucotriens (LT) and participate in the formation of inflammation and pain.



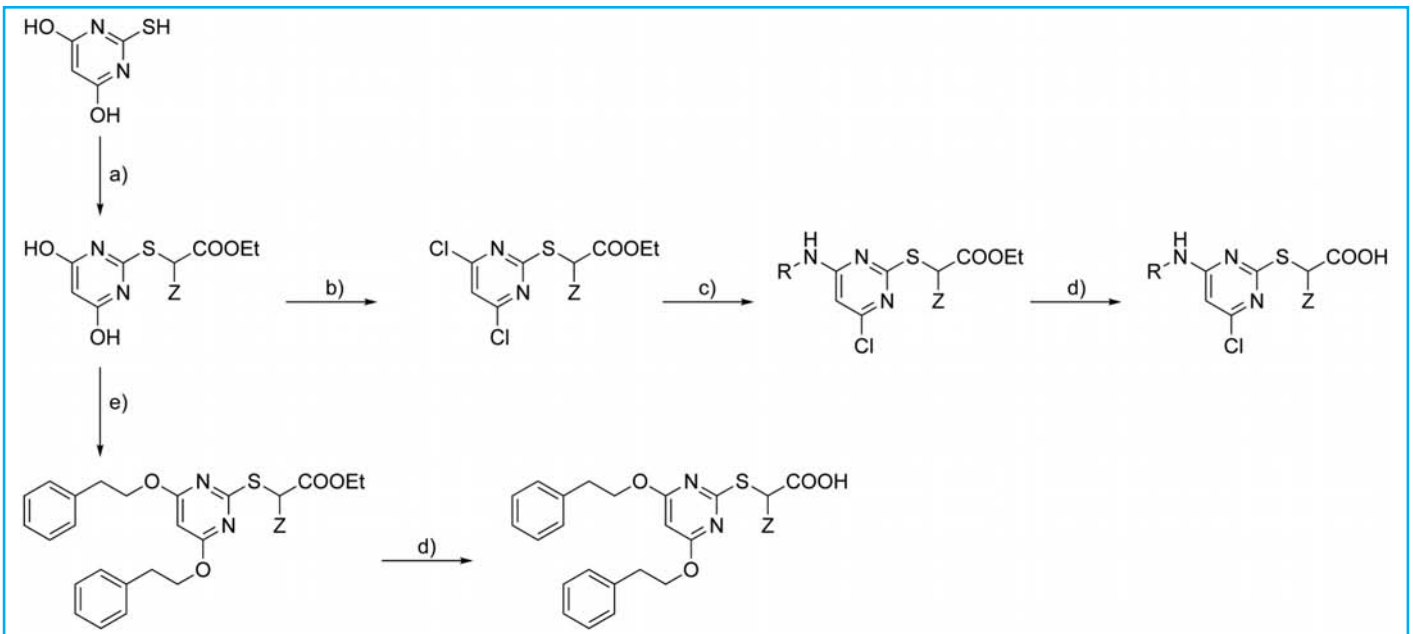


Abb. 2: Synthese der Pirinixinsäurederivate; Reagenzien und Bedingungen siehe [1, 2]

Fig. 2: Synthesis of pirinixic acid derivatives; Reagents and conditions see [1, 2]

5-LO UND mPGES-1

Die 5-Lipoxygenase (5-LO) und die mikrosomale Prostaglandin E₂ Synthase-1 (mPGES-1) nehmen in der Arachidonsäure (AA)-Kaskade (Abb. 4) Schlüsselfunktionen in der Prostaglandin (PG)- beziehungsweise Leukotrien (LT)-Synthese ein und sind so an der Entzündungs- und Schmerzentstehung beteiligt.

Es existieren bereits Arzneistoffe auf dem Markt, die mit der AA-Kaskade interferieren. Hierzu zählen nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR), die unspezifisch die Cyclooxygenasen (COX) 1 und 2 inhibieren. Aufgrund der COX-1-Blockade treten unter einer Therapie häufig gastrointestinale Beschwerden auf, da die COX-1 im GI-Trakt für die Synthese von mukosaprotektiven PG verantwortlich ist.

Dies führte zur Entwicklung von COX-2-selektiven Inhibitoren (Coxiben), die eine Therapie ohne diese Nebenwirkungen möglich machten. Jedoch traten unter Langzeitbehandlung ernstzunehmende kardiovaskuläre Ereignisse und Leberschäden auf, die letztendlich zur Marktrücknahme vom Großteil der zugelassenen Arzneistoffe führte. Inzwischen stehen nur noch Celecoxib und Etoricoxib für die Therapie zur Verfügung und es besteht eine dringende Notwendigkeit, neue Arzneistoffe zur Behandlung von entzündlichen Erkrankungen zu entwickeln. Der Ansatz einer dualen Hemmung der 5-LO und mPGES-1 erscheint vielversprechend, da bereits Studiendaten vorliegen, die eine nebenwirkungsarme Therapie mit diesen neuen Entzündungshemmern versprechen.

Durch gezielte Variation des aromatischen Substituenten am Pyrimidinring der Pirinixinsäure erreichten wir eine duale inhibitorische Wirkung an mPGES-1 und 5-LO [4,5]. Weitere Strukturoptimierungen führten zu potenten Verbindungen mit IC₅₀-Werten im niedrig mikromolaren Bereich und zusätzlich zu einer Selektivität gegenüber PPAR. Im Gegensatz zu anderen Kandidaten, die sich bereits in klinischen Studien befinden, weisen unsere Verbindungen keine relevante Hemmung von COX-1 und COX-2 auf.

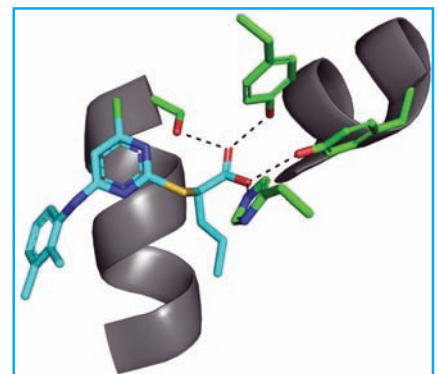
Several drugs are available on the market, which interfere with the AA cascade. These include amongst others the non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), which unselectively inhibit the cyclooxygenases (COX) 1 and 2. Due to inhibition of COX-1, gastrointestinal disorders often are related with a therapy with NSAIDs as COX-1 is responsible for the synthesis of protective PG in the mucosa of the gastrointestinal tract.

These limitations led to the development of COX-2 selective inhibitors (coxibes) which allowed a therapy without the mentioned side effects. Unfortunately these drugs showed an impact on the cardiovascular system and liver toxicity under long term therapy. These findings lead to the withdrawal from the market of most of the coxibes. Just celecoxib and etoricoxib remained as possibilities for therapy of chronic inflammation, which points out the urgent need for new strategies and drugs that are safer than the existing ones.

The approach of a dual inhibition of 5-LO and mPGES-1 seems to be promising as studies confirm that an effective therapy without the mentioned side effects is possible.

Abb. 3: Docking-Experiment: α -alkylsubstituierte Pirinixinsäure in der Bindetasche von PPAR α ; Wasserstoffbrücken-Netzwerk der Carboxylgruppe (AK Prof. G. Schneider)

Fig. 3: Docking experiment: α -alkylsubstituted pirinixic acid in the binding pocket of PPAR α ; Hydrogen bond network of the carboxyl group (Group of Prof. G. Schneider)



Durch zahlreiche Variationen der essentiellen Molekülteile wurde es möglich, sowohl für PPAR als auch für mPGES-1 und 5-LO entscheidende Struktur-Wirkungsbeziehungen abzuleiten, die es erlauben, gezielte Veränderungen am Molekül vorzunehmen, die sowohl die Potenz als auch die Selektivität entscheidend beeinflussen.

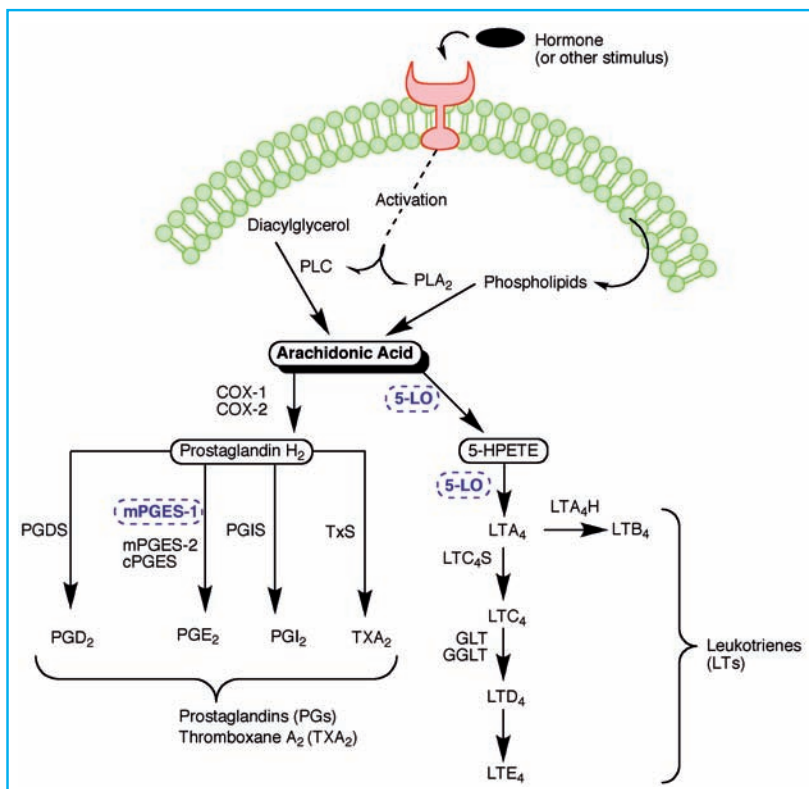


Abb. 4: Arachidonsäure-Kaskade; Schlüsseltargets sind blau hervorgehoben

Fig. 4: Arachidonic acid cascade; key targets are highlighted in blue

By specific variations of the aromatic substituent at the pyrimidine ring of pirinixic acid, we achieved dual inhibitors of mPGES-1 and 5-LO [4,5]. Further structural optimizations led us to balanced inhibitors with IC_{50} values in the low micromolar range and additionally to selectivity towards PPAR. In contrast to other candidates which are already in the late phase of clinical studies, our compounds lack a relevant activity on COX-1 and 2, respectively.

By a large number of variations in the essential parts of the molecules it was possible to assume crucial structure activity relationships for both PPAR and mPGES-1/5-LO. These findings now

allow pointedly variations to influence both potency and selectivity.

LITERATUR / REFERENCES

- [1] Rau O., Syha Y., Zettl H., Kock M., Bock A., Schubert-Zsilavecz M.: Alpha-alkyl substituted pirinixic acid derivatives as potent dual agonists of the peroxisome proliferator activated receptor alpha and gamma; Arch Pharm (Weinheim) 2008, 341 (3): 191-5
- [2] Zettl H., Dittrich M., Steri R., Proschak E., Rau O., Steinhilber D., Schneider G., Lämmerhofer M., Schubert-Zsilavecz M.: Novel Pirinixic Acids as PPAR α -preferential dual PPAR α / γ -agonists; QSAR 2009, in press
- [3] Rau O., Wurglics M., Paulke A., Zitzkowski J., Meindl N., Bock A., Dingermann T., Abdel-Tawab M., Schubert-Zsilavecz M.: Carnosic acid and carnosol, phenolic diterpene compounds of the labiate herbs rosemary and sage, are activators of the human peroxisome proliferator-activated receptor gamma; Planta Med 2006, 72 (10): 881-7
- [4] Koeberle A., Zettl H., Greiner C., Wurglics M., Schubert-Zsilavecz M., Werz O.: Pirinixic acid derivatives as novel dual inhibitors of microsomal prostaglandin E2 synthase-1 and 5-lipoxygenase; J Med Chem 2008, 51 (24): 8068-76
- [5] Werz O., Greiner C., Koeberle A., Hoernig C., George S., Popescu L., Syha Y., Schubert-Zsilavecz M., Steinhilber D.: Novel and potent inhibitors of 5-lipoxygenase product synthesis based on the structure of pirinixic acid; J Med Chem 2008, 51 (17): 5449-53

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Manfred Schubert-Zsilavecz

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Institut für Pharmazeutische Chemie
Max-von-Laue-Str. 9
D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29339

Fax: ++49 (0)69 798-29332

E-Mail: schubert-zsilavecz@pharmchem.uni-frankfurt.de

<http://www.pharmazie.uni-frankfurt.de/PharmChem/>

Prof__Schubert-Zsilavecz/index.html

