

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

ИНТЕГРИСАНЕ АКАДЕМСКЕ СТУДИЈЕ ФАРМАЦИЈЕ

B22 - Медицинска хемија 2

АСЕ-инхибитори

Проф. др Слободан Новокмет

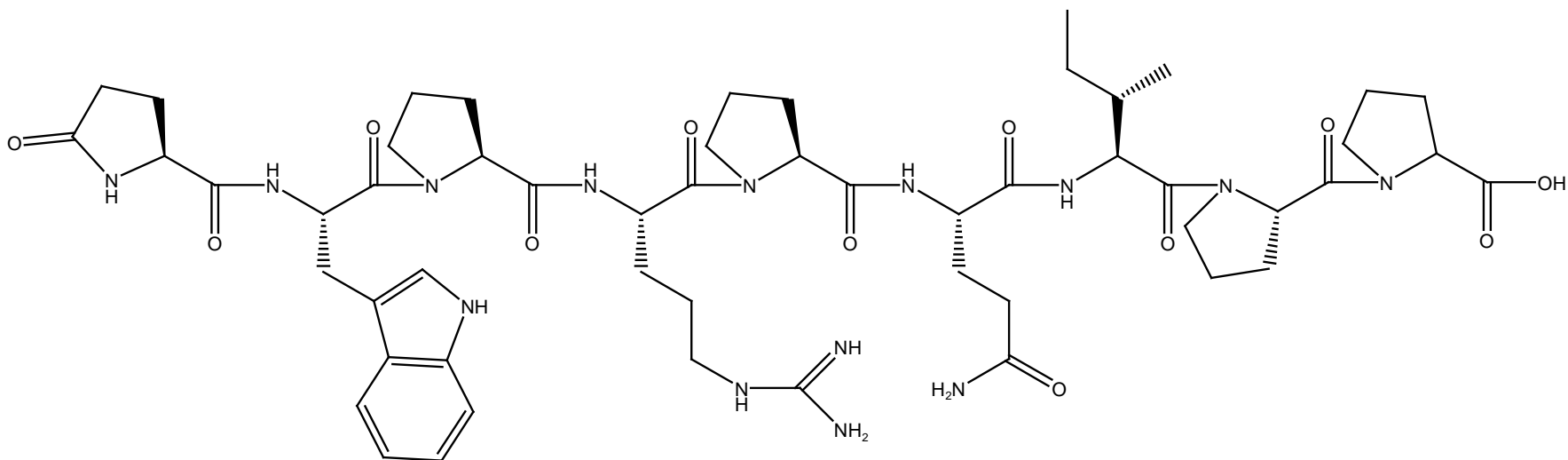
Девета недеља наставе

Зимски семестар школске 2017 / 2018. године

Тепротид

Нонапептид SQ-20.881 тепротид, изолован из змијског отрова, након интравенске примене показао је хипотензивни ефекат код пацијената са есенцијалном хипертензијом.

Због губитка биорасположивости након *per os* примене ограничено се користио у терапији, али је послужио као даља структурна основа за извођење непептидних АСЕ-инхибитора.

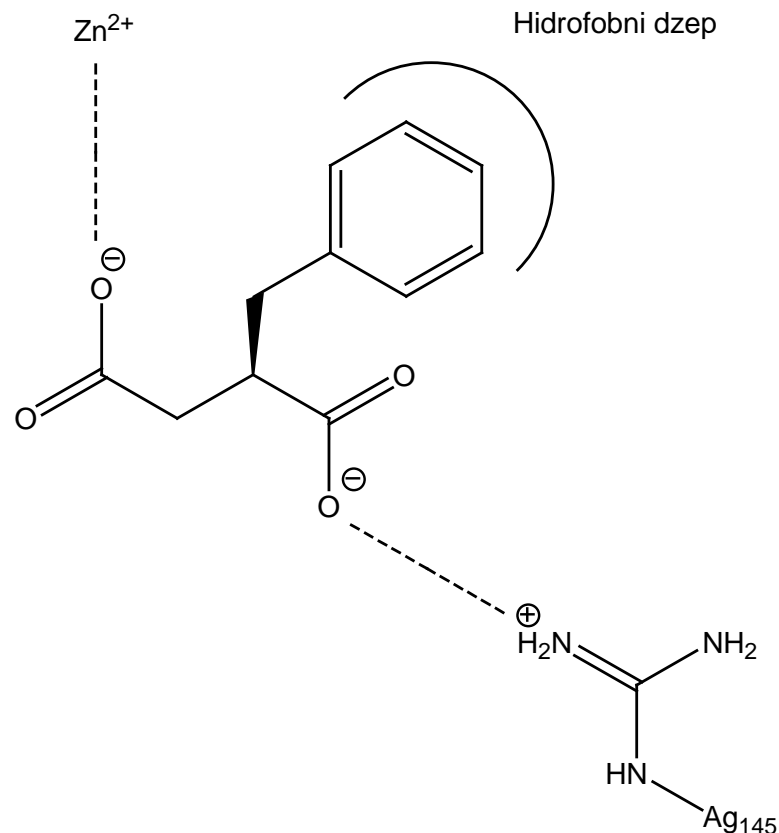


SQ-20.881

Развој каптоприла

Развој каптоприла отпочео је након уоченог ефекта D-2-бензил-ћилибарне киселине да јако инхибира карбоксипептидазу A.

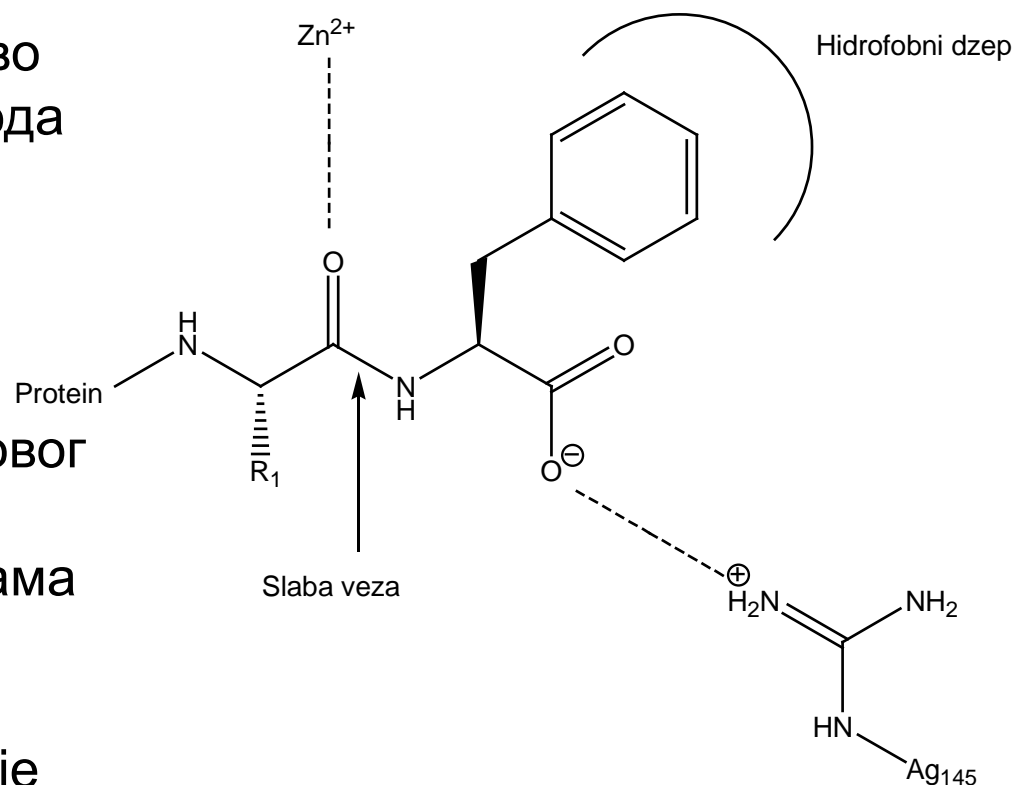
Везивање D-2-бензил-ћилибарне киселине за карбоксипептидазу A је врло слично везивању супстрата за ACE ензим уз изузетак да се двовалентни јон цинка везује за карбоксилну групу уместо за пептидну везу.



Развој каптоприла

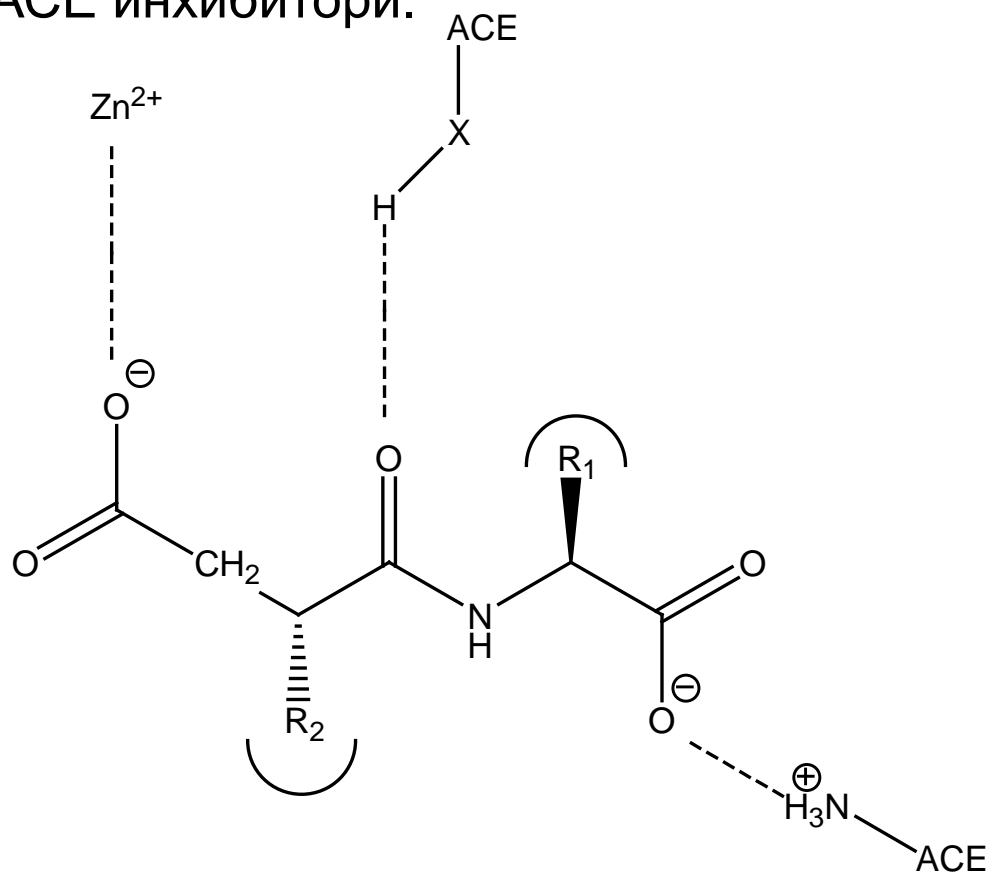
Претпоставило се да је овакво једињење аналог нуспроизвода ензимске деградације и да структурно садржи делове производа који су настали хидролизом пептида.

Већина структурних делова овог једињења су идентични са терминалним аминокиселинама супстрата код којих додатна карбоксилна група мимикује карбоксилну групу која настаје хидролизом пептида.



Развој каптоприла

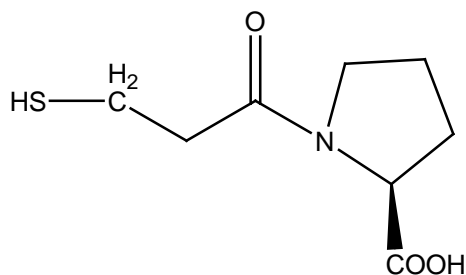
Применом овог концепта на хипотетички модел АСЕ ензима изведена је група деривата ћилибарне киселине који су испитивани као потенцијални АСЕ инхибитори.



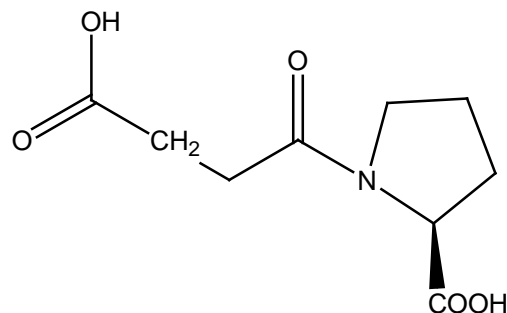
Развој каптоприла

С обзиром да је пролин присутан на С-терминусу тепротида као и на другим позицијама, он је коришћен као структурна основа за извођење новог инхибитора – сукцинил-L-пролина.

Због слабе инхибиторне активности овог деривата извршена је супституција са другом аминокиселином уместо пролина где је добијен још слабији дериват. SAR анализа је показала да ACE инхибиторни деривати морају да садрже L-пролин у структури.



3-меркаптопропаноил-L-пролин

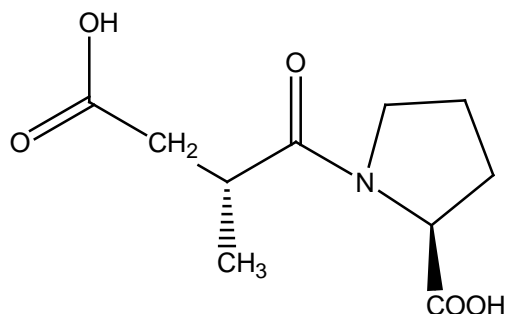


сукцинил-L-пролин

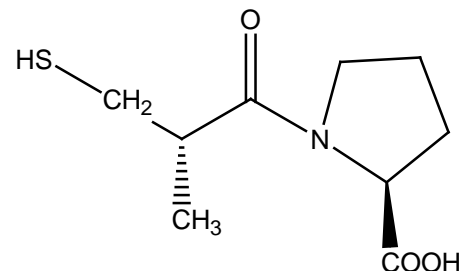
Развој каптоприла

Увођење метил групе у позицију 2 сукцинил-L-пролина ради мимиковања аминокиселинског бочног низа (R_2) супстрата је довело до повећања активности D-2-метил-сукцинил-L-пролина и уједно се указало на фаворизованост D изомера у односу на L изомере.

Заменом карбоксилне групе тиолном групом изведен је 3 мертапто-прпаноил-L-пролин. Увођењем 2-D-метил групе у овај дериват коначно је изведен каптоприл.



D-2-метил-сукцинил-L-пролин



каптоприл

Каптоприл – нежељена дејства

Тиолна група каптоприла одговорна је за одличну инхибиторну активност, али и за уобичајена нежељена дејства осип и поремећај чула укуса (метални укус у устима и губитак чула укуса).

Ова нежељена дејства обично се ублажавају смањењем дозе или престанком употребе каптоприла.

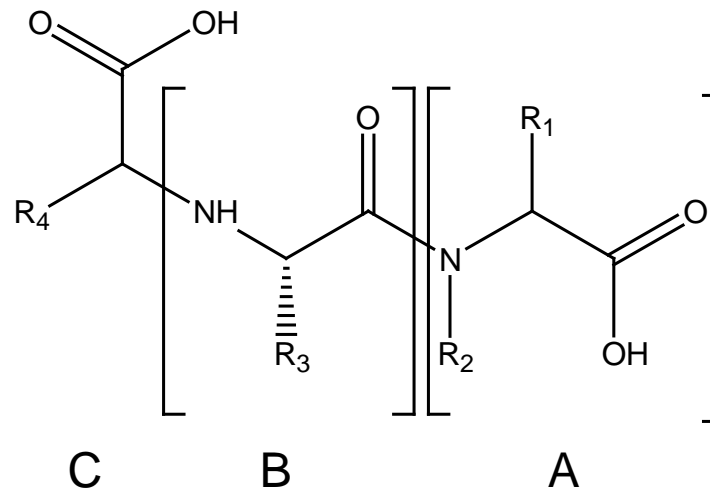
Слични ефекти су уочени код примене пенициламина (код лечења Вилсонове болести и реуматоидног артритиса) јер и он садржи тиолну групу.

Дикарбоксилни АСЕ-инхибитори

Развој еналаприла

Истраживачи из Мерка су настојали да развију молекуле који у својој структури не садрже тиолну групу присутну у каптоприлу, али да се сачува способност везивања за јон цинка.

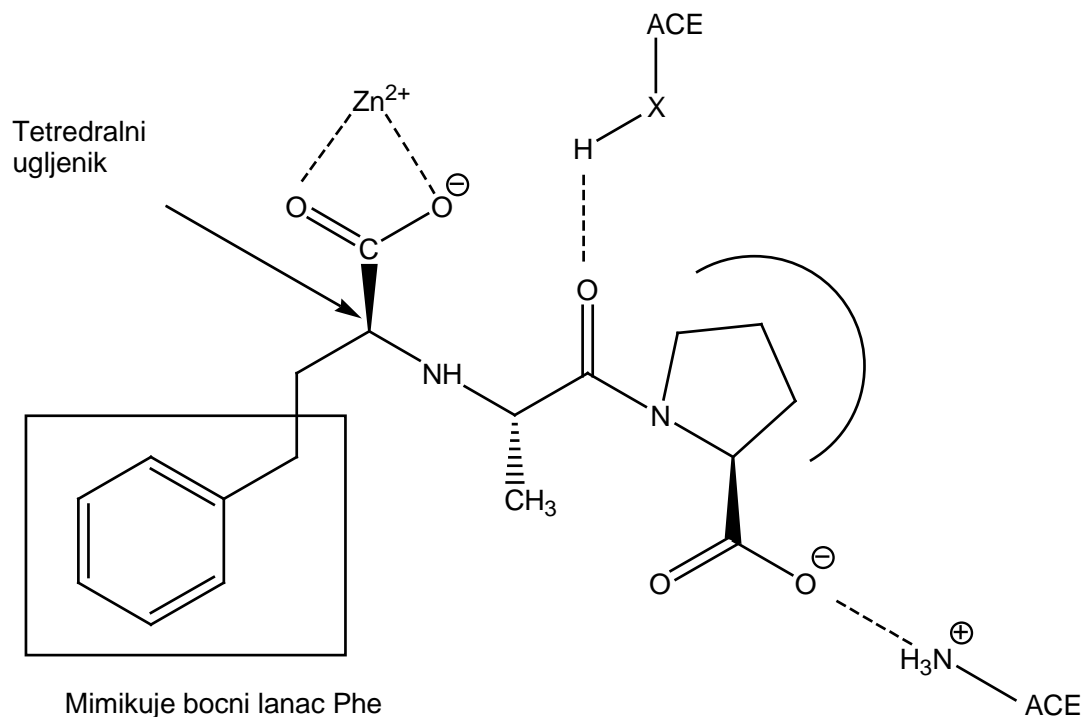
Синтетисана једињења била су аналози трипептидног супстрата, при чему су задржани: (А) С-терминални део и (Б) претпоследња аминокиселина, а изостерно је замењена трећа аминокиселина супституисаном N-карбоксиметил групом (В).



Развој еналаприла

Слично као и код синтезе каптоприл, приликом синтезе еналаприла оптималну активност су показивали аналози који су на С-терминусу имали пролин.

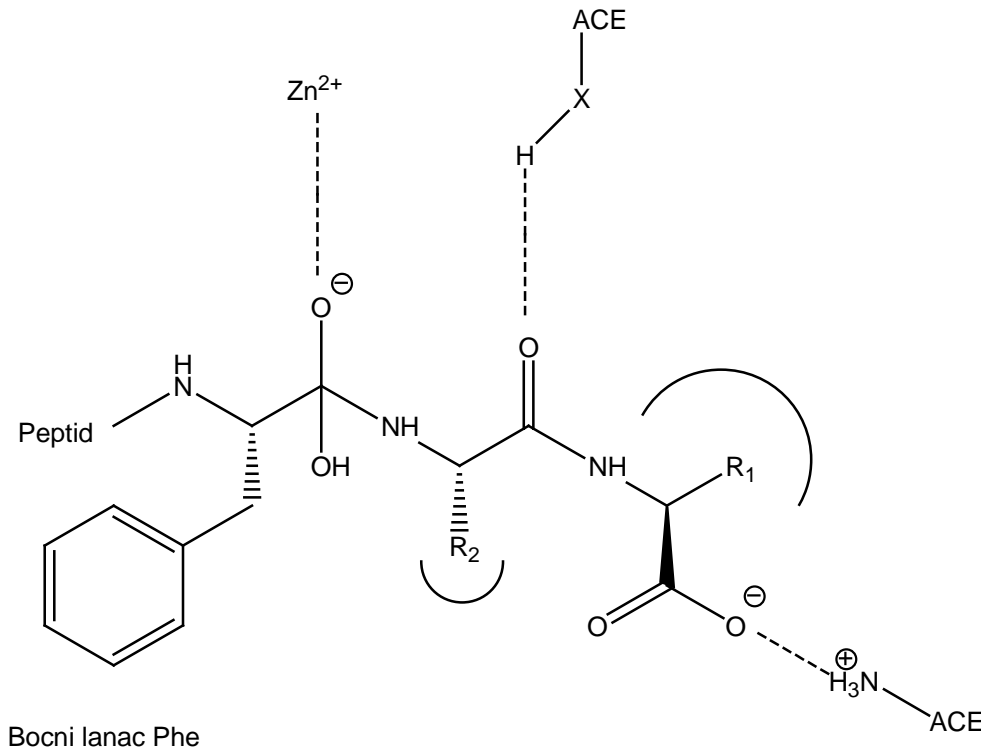
Еналаприлат у својој структури у положају R_3 има метил групу, док у положају R_4 има фенил-етил групу.



Развој еналаприла

Поређењем активности каптоприла и еналаприлата, утврђено је да је еналаприлат ($K_i = 0,2 \text{ nmol/L}$) десет пута потентнији у односу на каптоприл.

Са друге стране еналаприлат има значајно мању способност да се веже за јон цинка у ензиму. Сматра се да је разлог повећаног везивања еналаприлата за АСЕ-ензим његова способност да мимикује прелазно стање ангитензина I које настаје у процесу хидролизе.



Развој еналаприла

Еналаприлат поседује тетраедарски угљеник који учествује у грађењу слабе пептидне везе.

- Везивању за АСЕ-ензим доприносе секундарни амин, карбоксилна група и фенил-етил група. Секундарни амин је позициониран на истом месту као и слаб азот из амидне групе, јонизована карбоксилна група ствара јонску везу са цинковим јоном, док фенил-етил група мимикује хидрофобни бочни ланац фенилаланина, који се налази у ангиотензину I.

Упркос сјајној активности након и.в. примене еналаприлат има врло малу биорасположивост након *per os* примене.

Развој еналаприла

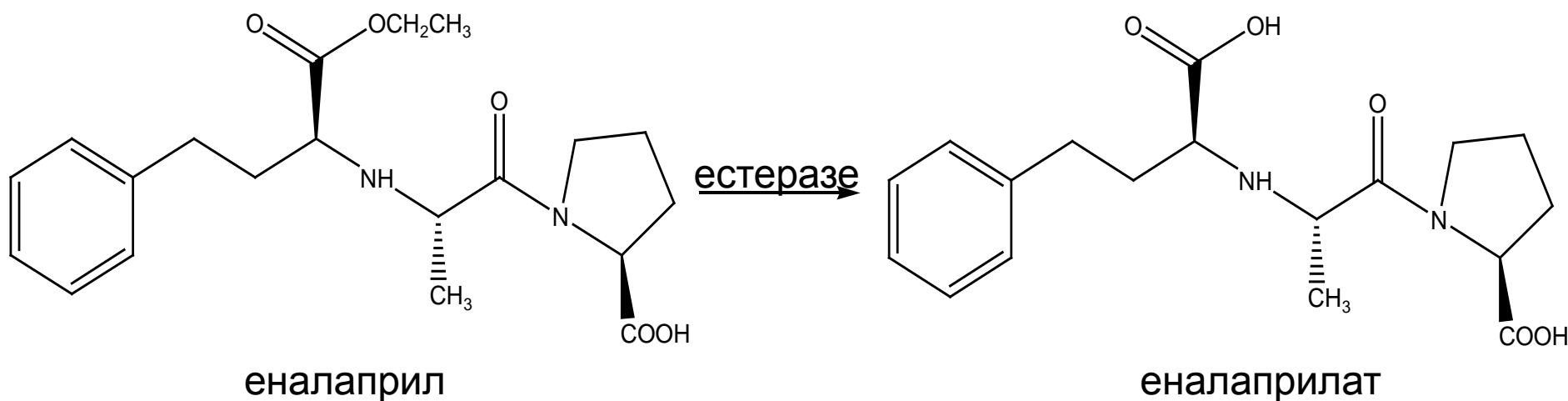
Естерификацијом еналаприлата настао је еналаприл, једињење које има добру биорасположивост након *per os* примене. Структурне особине еналаприлата, нарочито две карбоксилне групе и секундарни амин су одговорни за његову малу липофилност и биорасположивост након *per os* примене.

Такође, сматра се и да настанак цвитер јона доприноси малој активности након *per os* примене. Поређењем pK_a вредности секундарног амина у еналаприлату и еналаприлу ова претпоставка је потврђена. Јонизација суседне карбоксилне групе у еналаприлату значајно повећава базност секундарног амина, тако да је pK_a вредност амина у овом једињењу 8,02, док је у еналаприлу само 5,49.

Према томе, у танком цреву амин из еналаприлата ће јонизовати и формирати цвитер јон са суседном карбоксилном групом, док ће амин у еналаприлу бити нејонизован.

Развој еналаприла

Интравенска примена еналаприла и еналаприлата доводи до сличних ефеката на продукцију ангиотензина II, упркос чињеници да еналаприл показује 1000 пута мању *in vitro* активност. Еналаприл представља пролек, његовом биоактивацијом настаје еналаприлат. До биоактивације еналаприла и настанка еналаприлата доводе естеразе присутне у јетри.



Остали дикарбоксилни инхибитори

Осам дикарбоксилних инхибитора је одобрено за различите индикације, међутим спираприл се никада није нашао на тржишту.

Лизиноприл је хемијски јединствен из два разлога:

- прво, у својој структури садржи аминокиселину лизин, уместо стандардног неполарног аланина;
- друго, њему није неопходна биоактивација јер ниједна од његових карбоксилних група није естерификована.

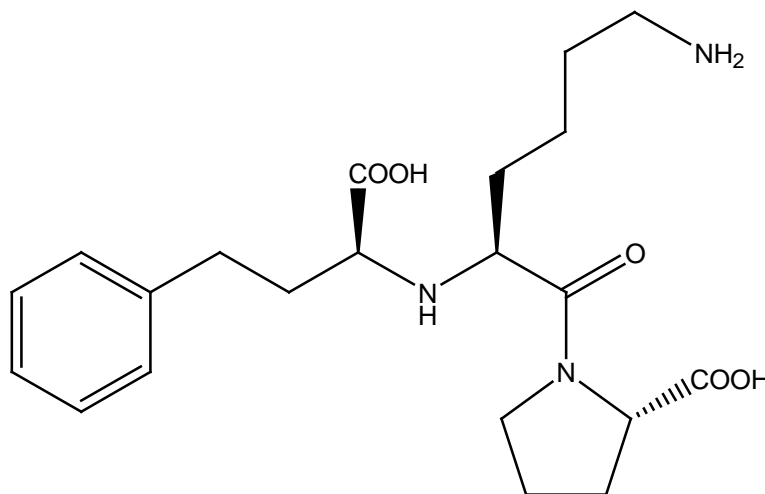
Лизиноприл је развијен у исто време када и еналаприл. Упркос додавању још једне групе која може да јонизује, апсорпција лизиноприла након *per os* примене је била већа у односу на еналаприлат, али мања у односу на еналаприл. Студије су показале да је лизиноприл нешто потентнији у односу на еналаприлат.

Тренутно, лизиноприл и каптоприл су једини АСЕ-инхибитори који нису пролекови.

Остали дикарбоксилни инхибитори

Највеће структурне разлике између преосталих АСЕ-инхибитора су у прстену С- терминауса.

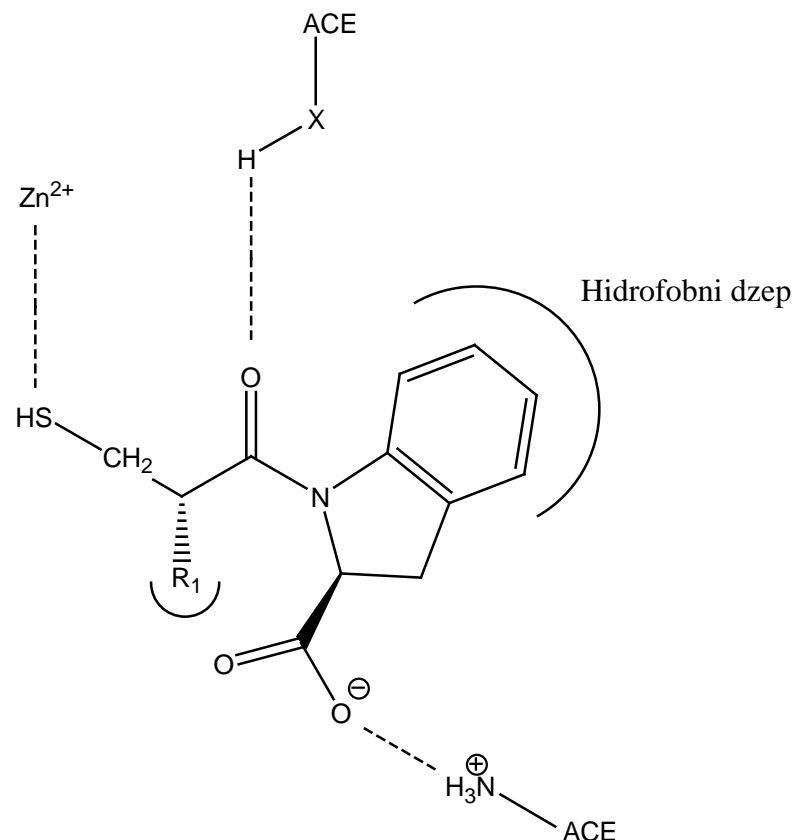
- Лизиноприл, као и еналаприл и каптоприл садржи пиролидински прстен пролина, док друга једињења садрже веће бицикличне или спиро системе.



лизиноприл

Остали дикарбоксилни инхибитори

Проучавањем индолинских аналога каптоприла уочено је да АСЕ-ензим поседује хидрофобан џеп који је пронађен и код карбоксипептидазе А. Ово откриће је довело до промене оригиналног модела и развоја инхибитора са већим прстеном који даје хидрофобни карактер. Иако је овај модификован модел предложен за добијање аналога каптоприла, лако је прилагођен за добијање аналога еналаприла.



Остали дикарбоксилни инхибитори

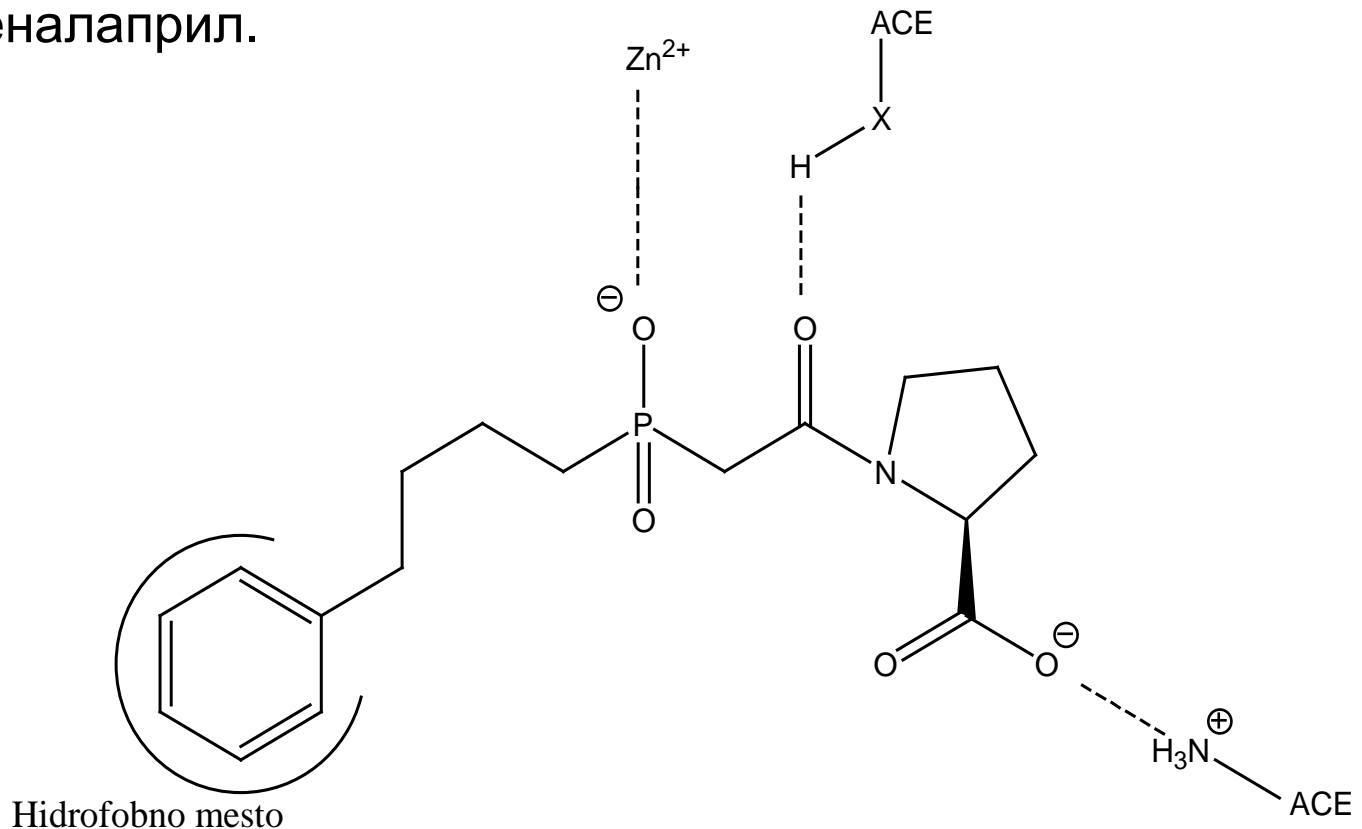
Промене цикличних ситема (беназеприл, моексиприл, периндоприл, квинаприл, рамиприл, спираприл и трандолаприл) довеле су до повећања потентности и везивања лекова за ензим.

Ове структурне разлике такође условљавају и разлике у апсорпцији, везивању за протеине плазме, елиминацији, времену за који наступа почетак деловања, дужини деловања и дозирању.

Фосфонатни АСЕ-инхибитори

Развој фосиноприла

Потрага за АСЕ-инхибиторима који немају тиолну групу довела је до истраживања једињења која садрже фосфор. Фосфинска киселина је способна да се веже за АСЕ ензим на сличан начин као и еналаприл.



Развој фосиноприла

Интеракција фосфинске киселине са јоном цинка је слична као и код тиолне и карбоксилне групе.

Фосиноприл је способан да слично као и еналаприл и остали дикарбоксилни АСЕ-инхибитори награди јонску и водоничну везу, као и да ступи у хидрофобне интеракције.

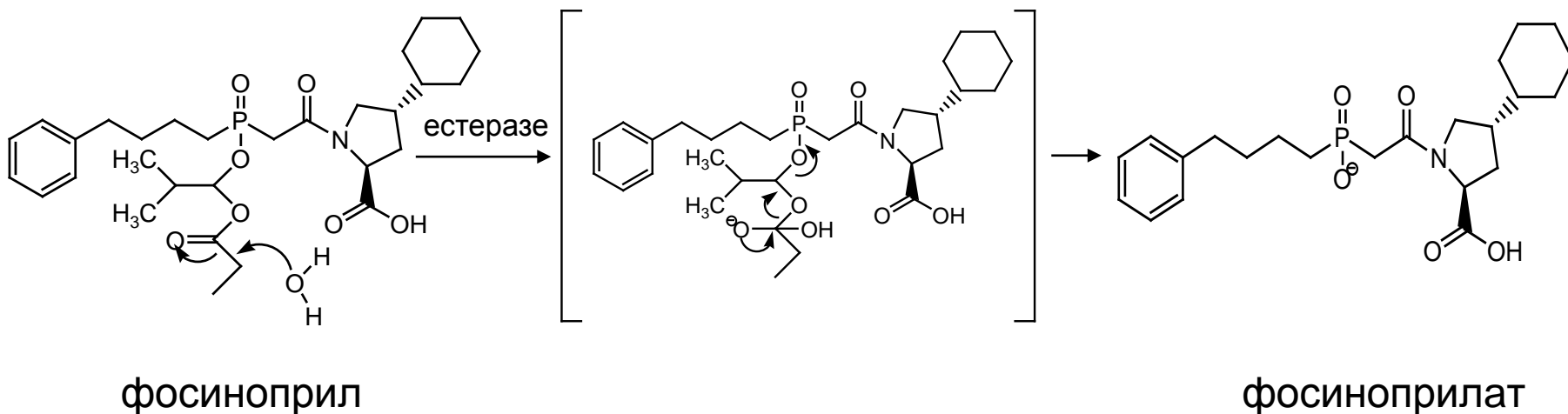
Фосфинска киселина у фосиноприлу има способност да мимикује јонизован, тетраедарски интермедијер који настаје хидролизом пептида.

- За разлику од еналаприла и других дикарбоксилних аналога, „спејсер“ између ових тетраедарских врста и азота у пролину је краћи. Такође, „спејсер“ између азота у пролину и хидрофобног фенилног прстена је за један атом дужи у односу на „спејсер“ који је присутан код дикарбоксилних аналога.

Развој фосиноприла

4-цикло-хексилпролински аналог фосфинске киселине је изведен увођењем хидрофобнијег прстена на С-терминусу.

На овај начин је добијен фосиноприлат који је био потентнији у односу на каптоприл, али је мање потентан од еналаприлата.



Развој фосиноприла

Разлика у присуству величине „спејсера“ између фосфинске киселине и фенилне групе може условити ову разлику у потентности.

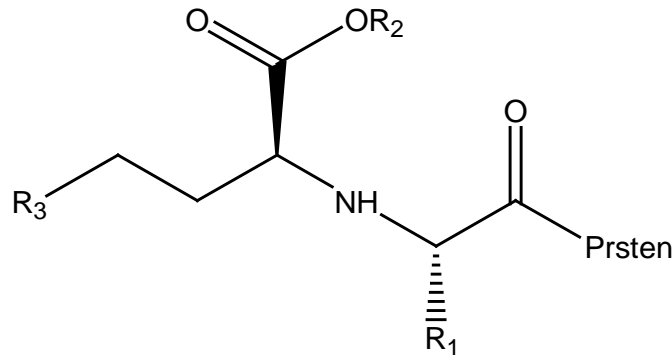
Слично као код дикарбоксилних аналога, фосиноприлат је био јако хидрофилан и испољавао је слабу активност након *per os* примене. Фосиноприл је пролек који садржи ацил-окси-алкил групу која повећава растворљивост овог лека у липидима и на тај начин повећава биоискористљивост.

Биоактивацијом фосиноприла учешћем естераза у јетри и зидовима црева настаје његов активан облик фосиноприлат.

Механизам дејства

АСЕ инхибитори утичу на ренин-ангиотензин систем тако што инхибирају конверзију ангиотензина I у ангиотензин II. Такође, инхибирају и конверзију [*des-Asp*¹] ангиотензина I у ангиотензин III, међутим ова инхибиција има минималну улогу у кардиоваскуларним ефектима лекова из ове групе.

АСЕ инхибитори су селективни тако да не интерагују са другим једињењима ренин-ангиотензин система, али могу да узрокују и друге ефекте који нису повезани са смањењем концентрације ангиотензина II.



Општа структура

Механизам дејства

АСЕ инхибитори повећавају ниво брадикинина што доводи до стимулације биосинтезе простагландина. Оба једињења доприносе активности АСЕ инхибитора. Смањење нивоа ангиотензина II повећава ослобађање ренина и продукцију ангиотензина I.

С обзиром да је ангиотензин конвертујући ензим инхибиран, ангиотензин I смањује продукцију ангиотензина 1-7 и других пептидна. Учешће ових пептида у дејству АСЕ инхибитора је још увек непознат.

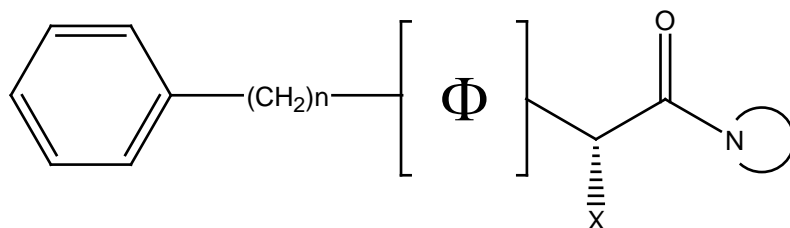
SAR-приступ

Структурне карактеристике ACE инхибитора дате су у табели. ACE је стереоселективна мета за молекуле лекова. ACE инхибитори су ди- или трипептидни аналози супстрата, који морају да поседују одговарајућу стереохемију за L-амино киселине које се налазе у природном супстрату.

Уколико конфигурација карбоксилатног анјона или R_1 супституента није одговарајућа, инхибиторна активност може бити мања за 100-1000 пута. S, S, S- конфигурација еналаприла и других дикарбоксилних инхибитора испуњава претходно наведене критеријуме и пружа оптималну инхибицију ензима.

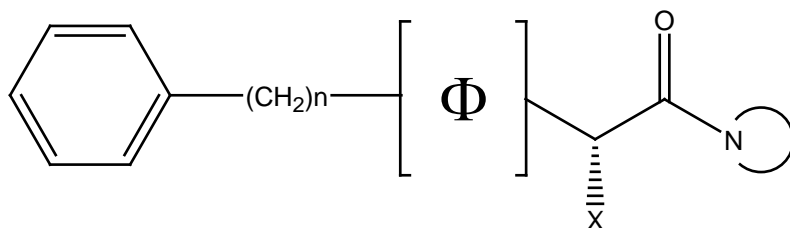
SAR-приступ

- Хетероциклус са азотом мора да садржи карбоксилну функционалну групу ради мимике C-теминуса пептидног супстрата за ензим ACE.
- Величина хетероциклуса утиче на јачину и фармаколшки ефекат ACE-инхибитора:
 - ▶ Са повећањем прстена појачава се дејство и мењају се фармаколошки ефекти.
- Биоизостерне функционалне групе (Φ) које се везују за цинк(II)-катјон су: тиолна, карбоксилна или фосфинска.



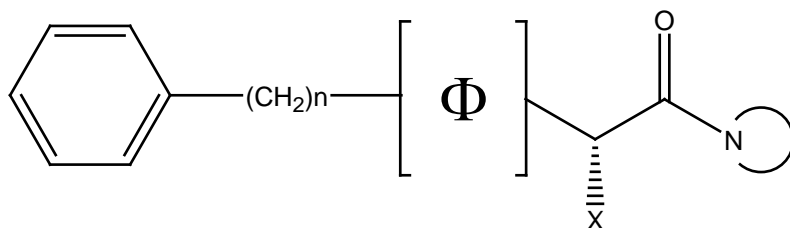
SAR-приступ

- Тиолна група има највећи афинитет према цинковом катјону.
- Тиолни *ACE*-инхибитори изазивају високу инциденцу осипа и поремећаја укуса. Такође, могу да награде димере и дисулфиде који скраћују време дејства.
- Код дикарбоксилних и фосфинских *ACE*-инхибитора јачину везивања за цинк у односу на тиолне, делимично умањује део бочног низа једињења које мимикује фенилаланин, са једне стране, док са друге стране граде комплекс који мимикује прелазно стање пептида у току хидролизе и тако појачавају везивање.

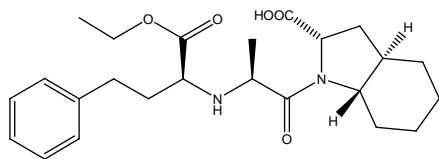


SAR-приступ

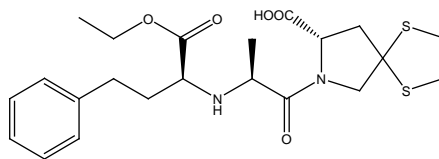
- Естерификацијом карбоксилата или фосфината добијају се прекурзори (пролекови) који имају повећану биорасположивост.
- X је најчешће метил-група која опонаша бочни низ аланина.
- У случају лизина, дикарбоксилног АСЕ-инхибитора, увођењем *n*-бутиламина уместо метил-групе, стабилизује се молекул тако да се не преводи у прекурзор већ се користи у свом активном облику за оралну примену.



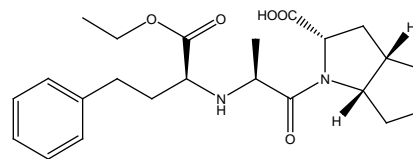
Дикарбоксилни АСЕ-инхибитори



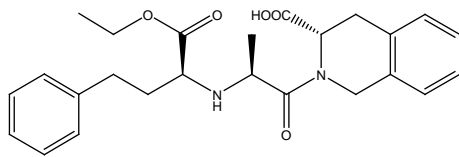
трандолаприл



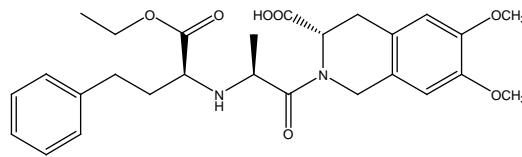
спираприл



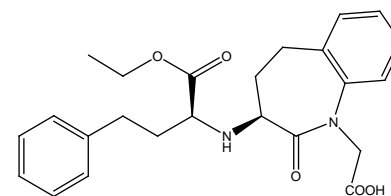
рамиприл



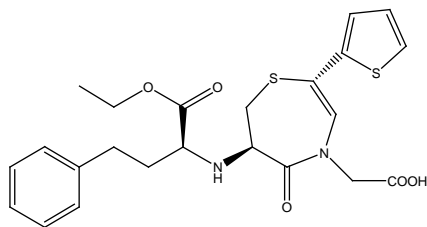
квинаприл



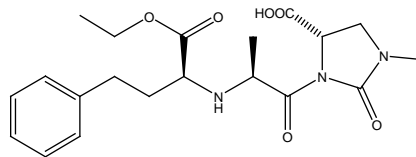
моексиприл



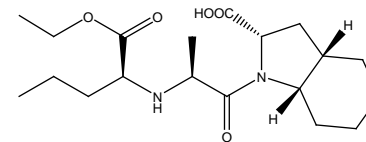
беназеприл



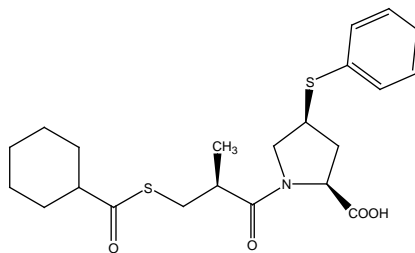
темокаприл



имидаприл



периндоприл



зофеноприл - тиолни

Физичко-хемијске особине

Каптоприл и фосиноприл имају кисели карактер, али сви остали АСЕ инхибитори имају амфотерни карактер. Карбоксилна група на пролинском прстену је структурна карактеристика свих АСЕ инхибитора. pK_a вредност се креће у опсегу од 2,5 до 3,5 и на физиолошкој pH вредности ће бити јонизована.

pK_a и јонизованост секундарног амина код дикарбоксилних АСЕ инхибитора зависи од суседних група на пролеку, односно активном облику лека.

Код пролекова, амино група која је у близини естарске групе, је мање базна и на физиолошкој pH вредности се налази у нејонизованом облику. Након биоактивације, амин је у близини јонизовне карбоксилне групе, што побољшава и базност и јонизацију амина.

Физичко-хемијске особине

Слично, базност азота побољшава киселост суседне карбоксилне групе која најчешће има нижу pK_a вредност у односу на карбоксилну групу у пролинском прстену.

На пример, pK_a вредност еналаприла је 3,39 до 2,39. ове вредности одговарају карбоксилној групи на пролину и карбоксилној групи која се налази у близини амино групе.

Код лизиноприла pK_a вредности за ове функционалне групе су 3,3 и 1,7.

Физичко-хемијске особине

Сви АСЕ инхибитори сем каптоприла, еналаприлата и лизиноприла се добро растварају у липидима. Молекули лекова који садрже хидрофобни бициклични прстен су растворљивији у липидима од оних молекула лекова који у својој структури садрже пролински прстен. Еналаприлат је хидрофилнији од одговарајућег пролека и једини је од свих АСЕ инхибитора који се примемјује интравенски.

У погледу растворљивости лизиноприл је најхидрофилнији АСЕ инхибитор, али је за разлику од еналаприлата активан након *per os* примене.

Физичко-хемијске особине

Једно од могућих објашњења за овај феномен је да ће у дуоденуму лизиноприл постојати као ди-цвистер јон, где ће његове јонизоване групе међусобно интераговати, при чему ће лизиноприл постати неутрално наелектрисан и лако ће пролазити кроз липидни двослој.

