

Σχεδιασμός πολυλειτουργικών μορίων Μια φαρμακοχημική προσέγγιση με εφαρμογή στην αντιμετώπιση πολυπαραγοντικών ασθενειών όπως η αθηροσκλήρωση

A.N. Ματραλής, M.G. Κατσέλου,
A.P. Κουρουνάκη

Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ: Τα τελευταία χρόνια γίνεται όλο και πιο επιτακτική η ανάγκη για τη θεραπεία νόσων, των οποίων η πολυπαραγοντική διάσταση τις καθιστά ανεπαρκώς θεραπεύσιμες. Τέτοιες νόσοι, όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις, οι νευροεκφυλιστικές νόσοι και ο καρκίνος ευθύνονται για τη θνησιμότητα εκατομμυρίων ανθρώπων κάθε χρόνο. Πρόσφατα, τόσο η ακαδημαϊκή κοινότητα, όσο και οι φαρμακοβιομηχανίες έχουν συνειδητοποιήσει σε μεγάλο βαθμό ότι σε πολυπαραγοντικές νόσους όπως οι παραπάνω, μια μονοδιάστατη θεραπευτική προσέγγιση δεν κρίνεται ιδιαίτερα αποτελεσματική. Για τον λόγο αυτόν η έρευνα για την καταπολέμηση τέτοιων ασθενειών έχει μετατοπιστεί από τη στρατηγική της ανάπτυξης φαρμάκων που εστιάζονται αποκλειστικά σε έναν μοριακό στόχο της νόσου προς τον ορθολογικό σχεδιασμό μορίων που απευθύνονται σε περισσότερους από έναν μηχανισμούς πρόκλησης της νόσου. Στο άρθρο που ακολουθεί αναφέρεται η πρόοδος που έχει σημειωθεί την τελευταία δεκαετία στον σχεδιασμό τέτοιων μορίων μέσω αντιπροσωπευτικών παραδειγμάτων σε μερικές επιλεγμένες ασθένειες, όπως η νόσος Alzheimer, η φλεγμονή, το μεταβολικό σύνδρομο, η υπέρταση, η ισχαιμία-επαναιμάτωση και η αθηροσκλήρωση.

Λέξεις ευρητηρίου: Πολυπαραγοντικές ασθένειες, πολυλειτουργικά μόρια, νόσος Alzheimer, φλεγμονή, μεταβολικό σύνδρομο, καρδιαγγειακές παθήσεις, αθηροσκλήρωση.

Design of multifunctional molecules A pharmacochemical approach applied to multifactorial diseases such as atherosclerosis

A.N. Matralis, M.G. Katselou,
A.P. Kourounakis

Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy,
University of Athens, Athens, Greece

ABSTRACT: To date, therapeutic treatment of several multifactorial disorders, such as neurodegenerative, cardiovascular, diabetes and cancer, is considered inadequate and in need of medications with a better pharmacological effect. Multi-target-directed drug design is an approach that is gaining constantly the interest of researchers for treating the multifactorial nature of such diseases. This strategy is applied for the development of pharmacomolecules able to simultaneously modulate multiple relevant-to-the-disease targets. Such compounds may deliver superior efficacy compared to compounds with high specificity for only a single target and thus are considered more appropriate for the treatment of several disorders. The aim of this review is to highlight the gradual emergence of this approach of drug-design and the exciting new area of research for medicinal chemists, particularly those working in disease areas where selective agents often lack optimum clinical efficacy.

Key words: Multifactorial diseases, multifunctional molecules, Alzheimer's disease, inflammation, metabolic syndrome, cardiovascular diseases, atherosclerosis.

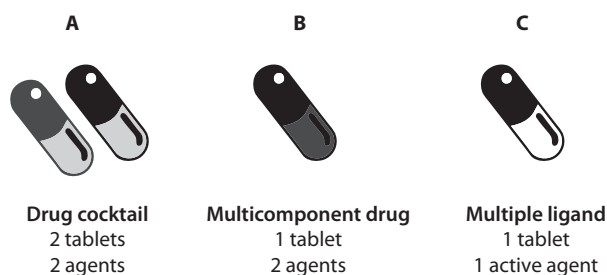
A. Κουρουνάκη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια
Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 71 Αθήνα
Τηλ: 210-72 74 818, Fax: 210-72 74 747
e-mail: angeliki@pharm.uoa.gr

A. Kourounakis, Associate Professor
Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy,
University of Athens, GR-157 71 Athens, Greece
Tel: (+30) 210-72 74 818, Fax: (+30) 210-72 74 747
e-mail: angeliki@pharm.uoa.gr

1. Εισαγωγή

Μέχρι και πριν λίγα χρόνια, αλλά σε αρκετές περιπτώσεις και σήμερα, η φαρμακευτική αντιμετώπιση των ασθενειών βασίζονταν εξ ολοκλήρου σε φαρμακομόρια που απευθύνονται αποκλειστικά στην τροποποίηση της δράσης (αναστολή ή ενίσχυση) ενός συγκεκριμένου μοριακού στόχου (πρωτεΐνη, ένζυμο ή υποδοχέας) ο οποίος φαίνεται να διαδραματίζει πρωταρχικό ρόλο στην ανάπτυξη και εξέλιξη της εκάστοτε νόσου. Από τη στρατηγική αυτή έχουν αναδειχθεί αρκετά επιτυχημένα φάρμακα, τα οποία θα υπάρχουν στην κυκλοφορία για αρκετά ακόμη χρόνια. Ωστόσο, παρά τις μακροχρόνιες και επίπονες προσπάθειες των ερευνητών, κάποιες ασθένειες παραμένουν ακόμα και σήμερα «ανεπαρκώς» θεραπεύσιμες. Παραδείγματα τέτοιων ασθενειών είναι οι νευροεκφυλιστικές νόσοι (όπως η Νόσος Alzheimer και η Νόσος Parkinson), ο διαβήτης, οι καρδιαγγειακές ασθένειες και ο καρκίνος. Ο βασικός λόγος για τον οποίο οι προαναφερθείσες ασθένειες είναι μη θεραπεύσιμες έγκειται στο ότι κατά την πρόκλησή τους λαμβάνουν μέρος πολλαπλοί παθογενετικοί παράγοντες/μηχανισμοί, είναι δηλαδή πολυπαραγοντικές. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα ήδη υπάρχοντα φάρμακα να δρουν προστατευτικά (αφού απευθύνονται σε ένα συγκεκριμένο στόχο) αλλά όχι θεραπευτικά. Διάφορες φαρμακολογικές προσεγγίσεις που έχουν αναπτυχθεί κυρίως τα τελευταία χρόνια προσφέρουν πιθανούς τρόπους για να υπερκεραστούν τα προβλήματα που αναδεικνύονται από τη θεραπευτική χρήση ενός «εξειδικευμένου» φαρμάκου.

Όταν ένα απλό φαρμακομόριο αδυνατεί να αντιμετωπίσει αποτελεσματικά μια ασθένεια, η στρατηγική της πολυφαρμακευτικής θεραπείας (Multiple-Medication Therapy, MMT), γνωστή και ως κοκτέιλ ή συνδυασμός φαρμάκων, μπορεί να εφαρμοστεί. Συνήθως η MMT αποτελείται από δύο ή τρία διαφορετικά φάρμακα που το καθένα απευθύνεται σε διαφορετικό θεραπευτικό μηχανισμό ή στόχο της εκάστοτε ασθένειας (σχήμα 1, A). Ωστόσο τα οφέλη αυτής της προσέγγισης αντι-



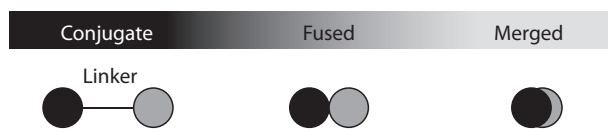
Σχήμα 1. Τα τρία πιθανά κλινικά σενάρια πολυστοχευμένης θεραπείας: (A) πολυφαρμακευτική θεραπεία (MMT), (B) πολυσυστατική θεραπεία (MCM) και (C) θεραπεία με πολυστοχευμένους προσδέτες ή πολυλειτουργικά μόρια (MTDAs).¹

σταθμίζονται συχνά από την προβληματική «συμμόρφωση» των ασθενών στη θεραπευτική αγωγή, ειδικά κατά τη θεραπεία ασυμπτωματικών ασθενειών όπως η υπέρταση.

Μια δεύτερη προσέγγιση στη θεραπεία πολυπαραγοντικών νόσων είναι η στρατηγική της πολυσυστατικής θεραπείας (Multiple-Component Medication, MCM). Η MCM θεραπεία περιλαμβάνει τον συνδυασμό δυο φαρμάκων (με διαφορετικό στόχο το καθένα) μορφοποιημένα στην ίδια φαρμακοτεχνική μορφή (σχήμα 1, B), και σκοπεύει στην απλοποίηση των δόσεων και της θεραπευτικής αγωγής των ασθενών.

Η τρίτη και τελευταία στρατηγική άρχισε να εφαρμόζεται όλο και περισσότερο την τελευταία δεκαετία και κερδίζει συνεχώς περισσότερο έδαφος στο σχεδιασμό φαρμάκων που απευθύνονται σε πολυπαραγοντικές νόσους. Σχετίζεται με την ανάπτυξη απλών φαρμακομορίων τα οποία είναι σχεδιασμένα ώστε να απευθύνονται ταυτόχρονα σε περισσότερους από έναν παθογενετικούς μηχανισμούς της ασθένειας (σχήμα 1, C). Η στρατηγική αυτή ονομάζεται θεραπεία με πολυστοχευμένους προσδέτες (Multi-Target-Directed Agents, MTDAs) ή πολυλειτουργικά μόρια και παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι της MMT και MCM στρατηγικής. Καταρχήν αποφεύγεται η χορήγηση δύο ή περισσότερων φαρμάκων που το καθένα παρουσιάζει διαφορετική βιοδιαθεσιμότητα, φαρμακοκινητική και μεταβολισμό, όπως συμβαίνει στις MMT και MCM στρατηγικές. Επίσης, ο κίνδυνος πιθανής αλληλεπίδρασης δύο διαφορετικών φαρμάκων αποφεύγεται και επακόλουθα αυξάνεται η θεραπευτική προοπτική αντιμετώπισης της ασθένειας. Έτσι, υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι η ανάπτυξη μορίων ικανών να τροποποιούν διάφορους στόχους μιας ασθένειας ίσως ανοίξει νέους δρόμους στην αντιμετώπιση πολυπαραγοντικών νόσων, των οποίων η αποτελεσματική θεραπεία αποτελεί ακόμα επιτακτική ανάγκη και ανέφικτο ως τώρα στόχο.

Υπάρχουν τρεις κύριες κατηγορίες στις οποίες βασίζεται ο σχεδιασμός των MTDAs. Η πρώτη κατηγορία ονομάζεται συζευγμένοι (conjugate) MTDAs και περιλαμβάνει εκείνους τους προσδέτες στους οποίους οι δυο διαφορετικές φαρμακοφόροι δομές (που η καθεμία απευθύνεται εκλεκτικά σε διαφορετικό στόχο) ενώνονται μεταξύ τους με διάφορες ομάδες-συνδέσμους (συναρμοτές) οι οποίες δεν αποτελούν μέρος των δύο φαρμακοφόρων. Οι περισσότεροι συζευγμένοι MTDAs περιέχουν έναν μεταβολικά σταθερό σύνδεσμο (π.χ. μια πολυαμίνη) μεταξύ των δύο επιμέρους φαρμακοφόρων δομών (σχήμα 2). Σε μερικές περιπτώσεις όμως δύναται να περιέχουν χημικές ομάδες (π.χ. εστερικές ομάδες) οι οποίες υφίστανται στοχευμένο μεταβολισμό



Σχήμα 2. Σχεδιασμός MTDAs με βάση τον βαθμό αλληλοεπικάλυψης των εκάστοτε φαρμακοφόρων.²

(υδρόλυση από εστεράσες) ώστε να απελευθερώνονται οι επιμέρους δομές και καθεμία στη συνέχεια να αλληλεπιδρά ανεξάρτητα με τον στόχο της. Όταν τα δύο δομικά συστατικά ενώνονται απευθείας, χωρίς τη μεσολάβηση συνδετικής ομάδας, προκύπτει μια νέα κατηγορία που ονομάζεται *fused* MTDAs (σχήμα 2). Στην τρίτη και πιο κοινή κατηγορία, επιλέγονται δομικά τμήματα δύο φαρμακοφόρων και ενσωματώνονται σε μια δομή (*merged* MTDAs) προκειμένου να προκύψουν νέα μόρια τα οποία όμως διατηρούν σε επιθυμητό βαθμό τις δράσεις των αρχικών φαρμακοφόρων δομών (σχήμα 2).¹⁻⁴

2. Εφαρμογές του σχεδιασμού πολυλειτουργικών μορίων σε πολυπαραγοντικές ασθένειες

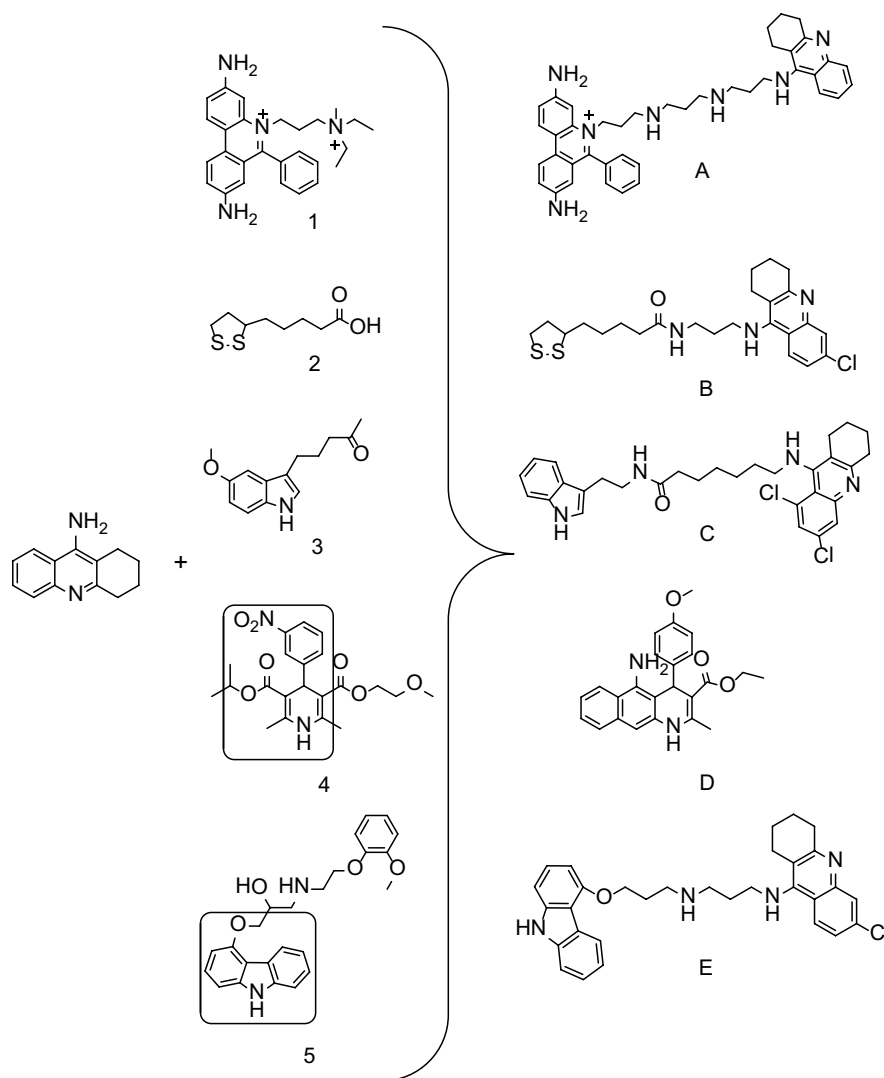
2.1. Νόσος Alzheimer

Η νόσος Alzheimer (AD) είναι η πιο κοινή νευροεκφυλιστική νόσος που εμφανίζεται κυρίως στους ηλικιωμένους και αποτελεί την τέταρτη αιτία θανάτου στις ανεπτυγμένες χώρες. Αν και η παθογένεσή της AD δεν είναι πλήρως αποσαφηνισμένη, εντούτοις αποτελεί μια πολυπαραγοντική νόσο, κατά την οποία γενετικοί, περιβαλλοντικοί και ενδογενείς παράγοντες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο. Ειδικότερα, η εκλεκτική απώλεια των χολινεργικών νευρώνων και συνάψεων (που λαμβάνουν μέρος στις διαδικασίες της μνήμης και της μάθησης), ο σχηματισμός αμυλοειδών πλακών (που αποτελούνται από ολιγομερή και πολυμερή του αμυλοειδούς πεπτιδίου Αβ), ο σχηματισμός νευροϊνωδών κόμβων (που είναι αποτέλεσμα της υπερφωσφορυλίωσης της Ταυ-πρωτεΐνης), το οξειδωτικό stress (προκλυόμενο από ελεύθερες ρίζες και ιόντα μετάλλων) και η φλεγμονή φαίνεται να συμμετέχουν σε μεγάλο βαθμό στην πρόκληση της νόσου. Αν και τα φάρμακα που διατίθενται στην κυκλοφορία σήμερα (αναστολείς της ακετυλοχολινεστεράσης π.χ. τακρίνη, ριβαστιγμίνη και donepezil) δεν δρουν θεραπευτικά, εντούτοις αρκετά αποτελεσματικά φαρμακομόρια έχουν ανακαλυφθεί από ακαδημαϊκούς και τη βιομηχανία (ακολουθώντας κυρίως τη στρατηγική των MTDAs), τα οποία απευθύνονται σε περισσότερες από μία αιτίες πρόκλησης της νόσου. Κάποια ενδεικτικά παραδείγματα περιγράφονται παρακάτω.^{1,2}

Αρκετές ερευνητικές ομάδες, θέλοντας να προσδώσουν στην τακρίνη (φάρμακο, αναστολέας του ενζύμου ακετυλοχολινεστεράση) και άλλες ιδιότητες προκειμένου να διευρύνουν τη θεραπευτική της δυναμική έναντι της AD, συνέδεσαν το μόριο της τακρίνης (μέσω χημικών ομάδων κατάλληλου μήκους) με άλλα δομικά τμήματα φαρμακοφόρων δομών με εκλεκτική δράση έναντι άλλων στόχων πρόκλησης της νόσου. Συγκεκριμένα, προκειμένου να ανασταλεί η συσσωμάτωση του αμυλοειδούς πεπτιδίου Αβ επαγόμενη από την ακετυλοχολινεστεράση, οι Bolognesi et al⁵ εστίασαν στον σχεδιασμό ενώσεων που να αναστέλλουν ταυτόχρονα το ενεργό και αλλοστερικό κέντρο του παραπάνω ενζύμου. Συνέδεσαν έτσι την τακρίνη με τη δομή του προπιδίου (σχήμα 3, ένωση 1), ενός αναστολέα της αλλοστερικής περιοχής της ακετυλοχολινεστεράσης (στην οποία υποτίθεται πως προσδέεται το πεπτίδιο Αβ και αλλάζει διαμόρφωση, γεγονός που αποτελεί ένα από τα πρώιμα γεγονότα δημιουργίας αμυλοειδών πλακών οι οποίες συμβάλλουν στη νευροεκφυλιστική διαδικασία). Το αποτέλεσμα ήταν να προκύψει η ένωση Α (σχήμα 3), ως αναστολέας τόσο της καταλυτικής (δράσης που οφείλεται στο μόριο της τακρίνης) όσο και της αλλοστερικής (δράσης που οφείλεται στο μόριο του προπιδίου) περιοχής της ακετυλοχολινεστεράσης. Έτσι, η ένωση Α ενισχύει τα επίπεδα της ακετυλοχολίνης στον εγκέφαλο και αναστέλλει ταυτόχρονα τη συσσωμάτωση του Αβ πεπτιδίου.

Στοχεύοντας να αντιμετωπίσουν το οξειδωτικό stress που λαμβάνει χώρα στον εγκέφαλο των ασθενών με νόσο AD, οι Rosini et al⁶ συνδύασαν σε μια δομή την τακρίνη με το ενδογενές αντιοξειδωτικό λιποϊκό οξύ (σχήμα 3, ένωση 2). Βασίζόμενοι στην ίδια στρατηγική οι Rodriguez-Franco et al⁷ συνέδεσαν μέσω χημικής αλυσίδας κατάλληλου μεγέθους την τακρίνη με τη μελατονίνη (σχήμα 3, ένωση 3). Ως εκ τούτου προέκυψαν χημικές ενώσεις (σχήμα 3, ενώσεις Β και C) με διπλή δράση: ως αναστολείς της ακετυλοχολινεστεράσης με επιπλέον ισχυρή αντιοξειδωτική δράση.

Σε μια άλλη ερευνητική εργασία, οι Marco-Contelles et al,⁸ έχοντας υπόψη τον καθοριστικό ρόλο της διαταραχής της ομοιόστασης του ασβεστίου στην παθογένεση της AD, σχεδίασαν και συνέθεσαν ενώσεις που περιλαμβάνουν στη δομή τους δομικά χαρακτηριστικά της τακρίνης και ενός αναστολέα του διαύλου ιόντων ασβεστίου, της νιμοδιπίνης (σχήμα 3, ένωση 4). Οι ενώσεις που προέκυψαν (τακριπυρίνες) (σχήμα 3, ένωση D) εμφάνισαν αρκετά καλύτερη ανασταλτική δράση έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης από την τακρίνη, ενώ ανέστειλαν και τη δράση των διαύλων ιόντων ασβεστίου σημαντικά. Επιπλέον, λειτούργησαν νευροπροστατευτικά (σε συγκεντρώσεις χαμηλότερες από τις αντίστοι-



Σχήμα 3. Σχεδιασμός πολυλειτουργικών μορίων (MTDAs) έναντι της AD.

χες της νιμοδιπίνης) σε κυτταροκαλλιέργειες που είχαν εκτεθεί σε μεγάλες συγκεντρώσεις ιόντων ασβεστίου.

Ακολουθώντας έναν διαφορετικό σχεδιασμό, οι Rosini et al⁹ θέλοντας να συνδυάσουν σε μια δομή αντιοξειδωτικές, νευροπροστατευτικές και ανασταλτικές έναντι της καταλυτικής και αλλοστερικής περιοχής (που συμβάλλει στη συσσώρευση του αμυλοειδούς Αβ πεπτιδίου) της ακετυλοχολινεστεράσης, συνέδεσαν την τακρίνη, μέσω μιας διαμίνης με οκτώ άτομα άνθρακα, με δομικό τμήμα της καρβεδιλόλης (σχήμα 3, ένωση 5). Η καρβεδιλόλη είναι ένα αγγειοδιασταλτικό, αναστολέας των β-αδρενεργικών υποδοχέων, που συνδυάζει αντιοξειδωτική και ανασταλτική έναντι των NMDA υποδοχέων (μεταξύ άλλων διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην απόπτωση των κυττάρων και στη ρύθμιση της

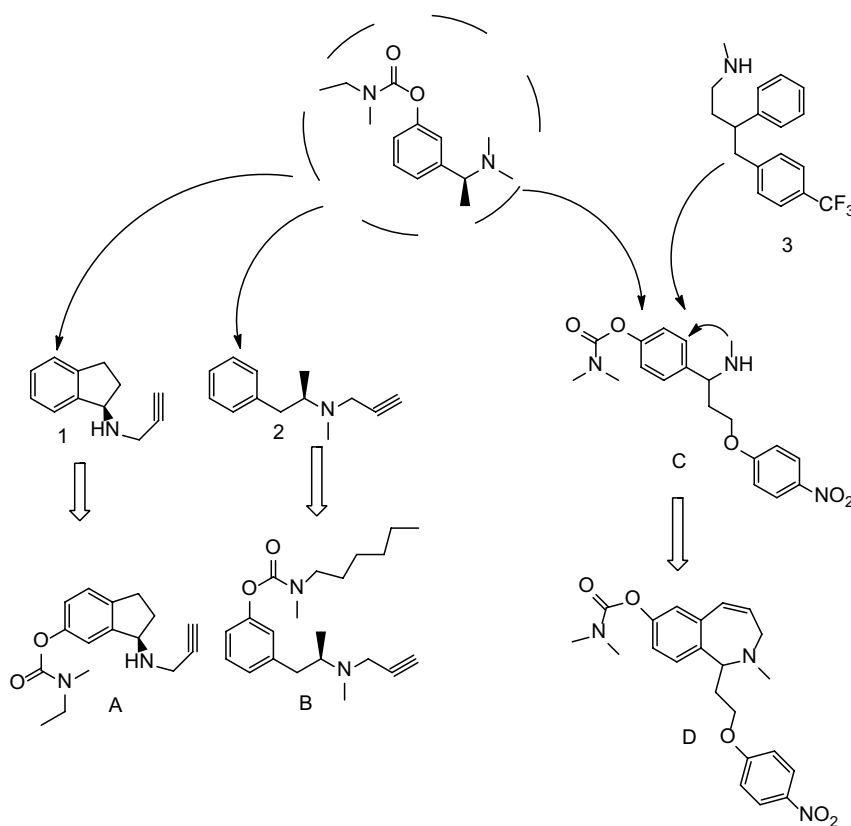
ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης ιόντων ασβεστίου). Το δομικό τμήμα της καρβεδιλόλης που επιλέχθηκε ήταν το αρωματικό σύστημα του καρβαζολίου, που ευθύνεται για την αντιοξειδωτική δράση της καρβεδιλόλης. Η ένωση που προέκυψε (καρβακρίνη) (σχήμα 3, ένωση E) συνδυάζει όλες τις επιθυμητές δράσεις, αναστέλλοντας την καταλυτική περιοχή της ακετυλοχολινεστεράσης σε μεγαλύτερο βαθμό από την τακρίνη, εμποδίζοντας τη συσσωμάτωση του αμυλοειδούς πεπτιδίου Αβ σημαντικά, ενώ παρουσίασε αξιοσημείωτη αντιοξειδωτική και νευροπροστατευτική δράση (αναστέλλοντας τη δράση των NMDA υποδοχέων περίπου δέκα φορές περισσότερο από το φάρμακο μεμαντίνη).

Λαμβάνοντας υπόψη την εμπλοκή και άλλων συστημάτων νευρομεταβιβαστών στην εξέλιξη της AD,

και ειδικότερα το σεροτονινεργικό και το αδρενεργικό σύστημα (οι αλλαγές που υφίστανται στα παραπάνω συστήματα ευθύνονται κυρίως για τα προβλήματα συμπεριφοράς που παρατηρούνται στους ασθενείς με AD), αρκετές ερευνητικές ομάδες προσπάθησαν να σχεδιάσουν παράγωγα που να τροποποιούν τη δράση των προαναφερθέντων συστημάτων νευρομεταβιαστών (παράλληλα με την αναστολή της δράσης της ακετυλοχολινεστεράσης). Μεταξύ άλλων, οι Sterling et al¹⁰ συνδυάζοντας δομικά τμήματα του αναστολέα της ακετυλοχολινεστεράσης ριβαστιγμίνη (φάρμακο) και των αναστολέων της μονοαμινοξειδάσης Β (MAO-B, ευθύνεται για την απαμίνωση της νοραδρεναλίνης και της σεροτονίνης και τη δημιουργία οξειδωτικού στρες στον εγκέφαλο) ρασαγιλίνη (σχήμα 4, ένωση 1) και σελεγιλίνη (σχήμα 4, ένωση 2) σχεδίασαν νέες δομές με πολυλειτουργικές ιδιότητες. Συγκεκριμένα, οι ενώσεις που προέκυψαν (σχήμα 4, ενώσεις Α και Β) παρουσιάζουν ένα πολύ ισορροπημένο φαρμακολογικό προφίλ *in vitro* και *in vivo* (αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης, αναστολή της MAO-B και νευροπροστατευτική δράση), ενώ η ένωση Α (σχήμα 4) δοκιμάζεται σε κλινικές μελέ-

τες φάσης ΙΙΙ για τη θεραπεία της κατάθλιψης και εξωπυραμιδικών συμπτωμάτων τύπου-Parkinson.

Η κατάθλιψη που επέρχεται σε ασθενείς με AD έχει αντιμετωπιστεί επιτυχημένα όχι μόνο με MAO-αναστολείς, αλλά και με αναστολείς του μεταφορέα (επαναπρόσληψης) σεροτονίνης (SERT). Ωστόσο, τα αντικαθλιπτικά που δρουν μέσω του παραπάνω μηχανισμού δεν παρουσιάζουν κάποια αντιχολινεργική δράση. Με βάση το παραπάνω σκεπτικό οι Toda et al¹¹ μέσα από κρυσταλλογραφικές μελέτες και μελέτες μοριακής προσομοίωσης (molecular modeling) συνδύασαν κατάλληλα δομικά τμήματα της ριβαστιγμίνης και του αναστολέα του SERT φλουοξετίνη (φάρμακο) (σχήμα 4, ένωση 3). Σκοπός ήταν να σχεδιάσουν μόρια έναντι της AD που να αναστέλλουν την ακετυλοχολινεστεράση, ενώ παράλληλα να αντιμετωπίζουν και την κατάθλιψη που συνοδεύει τους ασθενείς με AD. Από τις ενώσεις που συντέθηκαν, η ένωση C (σχήμα 4) παρουσίασε σημαντική ανασταλτική δράση έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης και του SERT. Οι δράσεις αυτές βελτιώθηκαν ακόμη περισσότερο όταν η ένωση C (σχήμα 4) μετατράπηκε σε πιο δύσκαμπτη διαμόρφωση (σχηματισμός



Σχήμα 4. Σχεδιασμός MTDAs ως αναστολείς της ακετυλοχολινεστεράσης και της MAO-B (ενώσεις Α και Β) και του SERT (ενώσεις C και D).

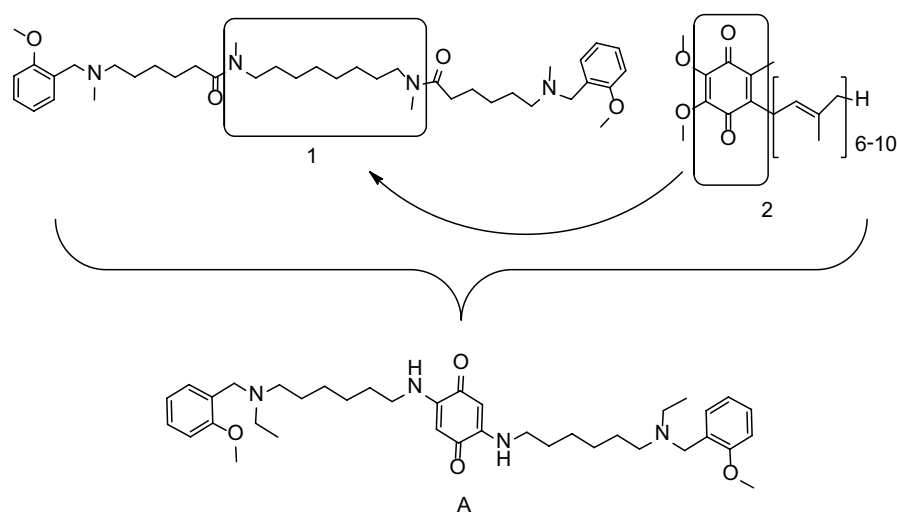
δακτυλίου) (σχήμα 4, ένωση D).¹² Ο επιτυχημένος σχεδιασμός των ενώσεων C και D (σχήμα 4) επιβεβαιώθηκε και *in vivo*, προκαλώντας αύξηση των εξωκυτταρικών επιπέδων της σεροτονίνης και της ακετυλοχολίνης μετά από *per os* χορήγηση σε διάφορα ζωικά πρότυπα.

Ως τελευταίο παράδειγμα στον σχεδιασμό και την ανάπτυξη MTDAs ενάντια στη AD παραθέτουμε το μόριο της μεμοκουίνης (σχήμα 5, ένωση A), το οποίο αποτελεί ένα από τα πιο αποτελεσματικά πολυλειτουργικά μόρια κατά της AD τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Συγκεκριμένα, η ομάδα του Melchiorre^{13,14} ξεκινώντας από το μόριο της καπροκταμίνης (σχήμα 5, ένωση 1), ενός αναστολέα της καταλυτικής και αλλοστερικής (που ευθύνεται για τη συσσωμάτωση του Αβ αμυλοειδούς πεπτιδίου) περιοχής της ακετυλοχολινεστεράσης με επιπλέον ανταγωνιστικές ιδιότητες έναντι των M_2 μουσκαρινικών υποδοχέων, αντικατέστησε την ενδιάμεση πολυμεθυλενική αλυσίδα της καπροκταμίνης με δομικό τμήμα της ουβικινόνης, ενός φυσικού αντιοξειδωτικού. Η ουβικινόνη (σχήμα 5, ένωση 2) έχει δειχθεί ότι τροποποιεί αρκετούς παθογόνους μηχανισμούς της AD και ιδιαίτερα τον σχηματισμό του Αβ αμυλοειδούς πεπτιδίου και τη συσσωμάτωσή του. Το δομικό τμήμα της ουβικινόνης που επιλέχθηκε ήταν το τμήμα της βενζοκινόνης, που ευθύνεται και για τις αντιοξειδωτικές ιδιότητές της. Ο κατάλληλος συνδυασμός των ενώσεων 1 και 2 λοιπόν ανέδειξε το μόριο της μεμοκουίνης. Ο φαρμακολογικός έλεγχος της μεμοκουίνης *in vitro* επιβεβαίωσε τον πολυλειτουργικό της χαρακτήρα, αναστέλλοντας τη δράση της καταλυτικής και αλλοστερικής περιοχής της ακετυλοχολινεστεράσης εκλεκτικά έναντι της βουτυροχολινεστεράσης, και αναστέλλοντας τη δράση της β-σεκρετάσης (ένζυμου που καταλύει τον σχηματισμό

του Αβ αμυλοειδούς πεπτιδίου). Παράλληλα, η μεμοκουίνη αποτελεί πολύ καλό υπόστρωμα και για το ένζυμο οξειδοαναγωγή-1 της NAD(P)H κινόνης, ένζυμο που τη μετατρέπει από την οξειδωμένη μορφή της (κετο) στην ανηγμένη (υδροξυ) μορφή, η οποία ευθύνεται και για τις πολύ καλές αντιοξειδωτικές ιδιότητές της. Η εξαιρετική δράση της μεμοκουίνης *in vitro* οδήγησε και στην αξιολόγησή της *in vivo* σε anti-NGF διαγονιδιακούς μύες, ένα πρότυπο που προσομοιάζει σε μεγάλο βαθμό την AD του ανθρώπου. Στο παραπάνω διαγονιδιακό πρότυπο η μεμοκουίνη επέδειξε προστατευτική δράση έναντι της νευροεκφύλισης τύπου AD σε τρία διαφορετικά στάδια (στους 2, 6 και 15 μήνες). Σε όλες τις ηλικίες των πειραματόζων ανέστειλε τη χολινεργική εκφύλιση, ενώ επίσης ανέστειλε και την υπερφωσφορυλίωση της tau-πρωτεΐνης (που ευθύνεται για τον σχηματισμό των νευροϊνωδών κόμβων). Παράλληλα, παρουσίασε αξιοσημείωτη βελτίωση της προσοχής και της μνήμης σε διάφορα ζωικά πειραματικά πρότυπα. Παρουσίασε επίσης καλή *per os* βιοδιαθεσιμότητα, αποτελεσματικότητα στο να διαπερνά τον αιματο-εγκεφαλικό φραγμό, ευνοϊκό προφίλ ασφαλείας, ενώ είναι καλά ανεκτό μετά από παρατεταμένη χορήγηση. Συμπερασματικά, στη σημερινή εποχή όπου τα φάρμακα αντιμετώπισης της AD που διατίθενται στην κυκλοφορία δρουν προστατευτικά παρά θεραπευτικά, η μεμοκουίνη προκύπτει ως φαρμακομόριο ικανό να απευθύνεται αποτελεσματικά έναντι πολλαπλών μηχανισμών πρόκλησης της νόσου.

2.2. Φλεγμονή

Τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ) εκδηλώνουν την αντιφλεγμονώδη δράση τους αναστέλλοντας τα ένζυμα κυκλοοξυγενάση-1 (COX-1) και

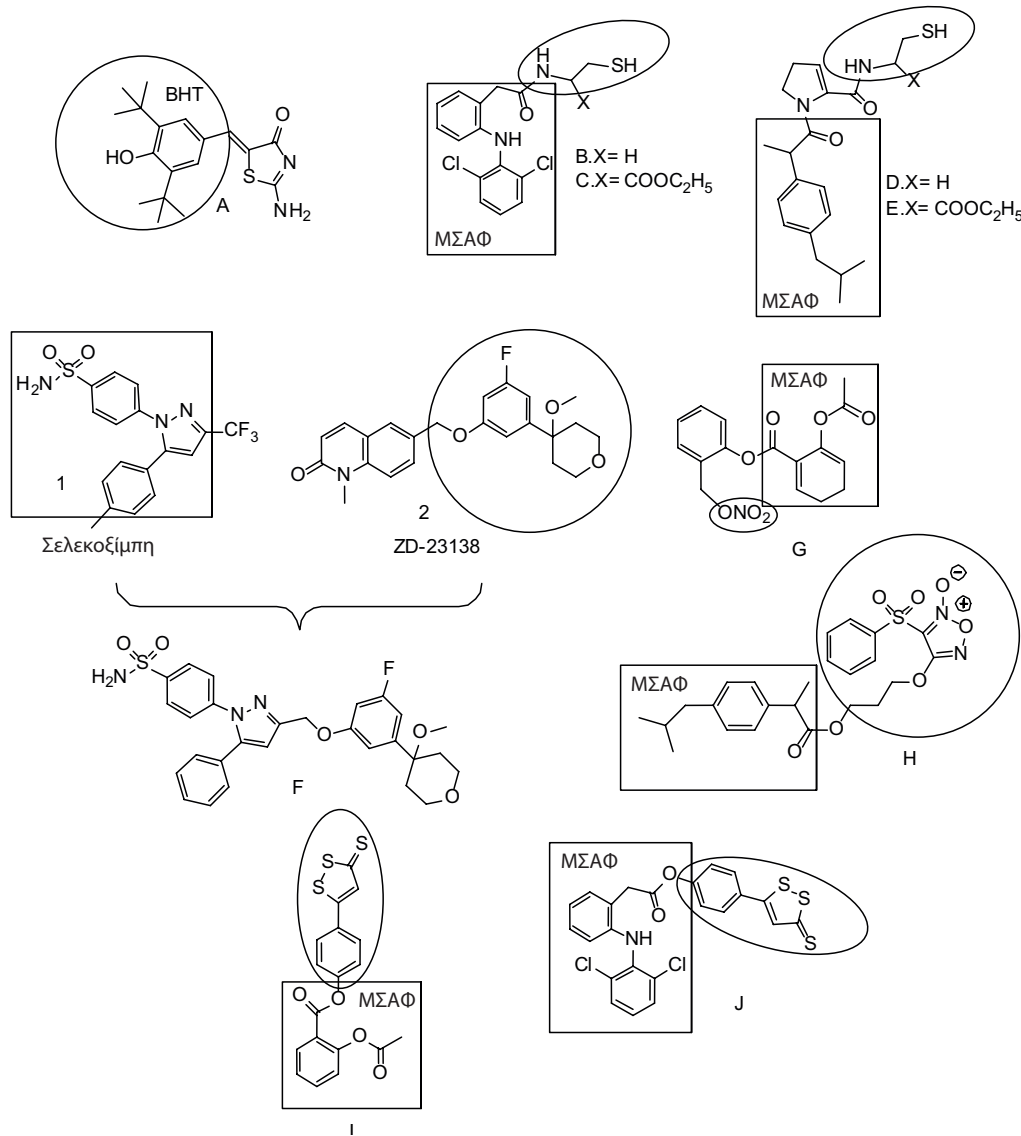


Σχήμα 5. Σχεδιασμός της μεμοκουίνης (ένωση A) συνδυάζοντας δομικά τμήματα της καπροκταμίνης (1) και της ουβικινόνης (2).

κυκλοξυγενάση-2 (COX-2), τα οποία παίζουν καθοριστικό ρόλο στη βιοσύνθεση των προσταγλανδινών από το αραχιδονικό οξύ.¹⁵ Ωστόσο διάφορες παρενέργειες, όπως πρόκληση γαστρεντερικών διαταραχών και νεφρική τοξικότητα περιορίζουν τη χρήση τους. Για την αποφυγή των παραπάνω δυσάρεστων παρενεργειών, εκτός από τους εκλεκτικούς αναστολείς της COX-2 (κοξίμπες), μια πληθώρα MDTAs έχει αναπτυχθεί στοχεύοντας σε διάφορες πρωτεΐνες-κλειδιά που λαμβάνουν μέρος στη βιοσύνθεση του αραχιδονικού οξέος.¹⁶

Τα ΜΣΑΦ, αναστέλλοντας την COX, εντείνουν τον μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος, μέσω της 5-λιποξυγονάσης (5-LO), προς τα προφλεγμονώδη και γαστροτοξικά λευκοτριένια, όπως τα λευκοτριένια-Β4 (LTB₄).¹⁷

Έτσι, η ταυτόχρονη αναστολή της COX και της 5-LO θα μπορούσε να οδηγήσει σε ασφαλέστερα και πιο αποτελεσματικά ΜΣΑΦ.¹⁸ Προς την κατεύθυνση αυτή κινήθηκαν οι Lazer et al.¹⁹ Έχοντας υπόψη το γεγονός ότι οι ελεύθερες ρίζες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της φλεγμονής, συνέθεσαν παράγωγα του γνωστού αντιοξειδωτικού 3,5-δις-τερσιοβουτυλο-4-υδροξυ-τολουόλιο (BHT). Το πιο δραστικό από αυτά (σχήμα 6, ένωση Α) ανέστειλε τα ένζυμα COX-2 και 5-LO σημαντικά, ενώ αποδείχτηκε ότι η αντιφλεγμονώδης δράση του οφείλεται στις αντιοξειδωτικές (μέσω δέσμευσης ελευθέρων ριζών) ιδιότητες της φαινολικής ομάδας. Επίσης η ένωση Α (σχήμα 6) έδειξε και πολύ καλή *in vivo* αντιφλεγμονώδη δράση (από σχέσεις δομής-δράσης αποδείχθηκε ότι οφείλεται στο BHT-τμή-



Σχήμα 6. Σχεδιασμός MDTAs ως θεραπευτική προσέγγιση της φλεγμονής.

μα), καθώς και επιθυμητές φυσικοχημικές και φαρμακοκινητικές ιδιότητες.¹⁹

Ακολουθώντας μια παρόμοια προσέγγιση, οι Kouroumakis et al στοχεύοντας στην αύξηση (ή διατήρηση) της δράσης γνωστών μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων περιορίζοντας όμως ταυτόχρονα την τοξικότητα (γαστρορραγία) που εμφανίζει η παραπάνω κατηγορία κατά τη μακροχρόνια χορήγησή της, υποκατέστησαν την καρβοξυλική ομάδα των ενώσεων ΜΣΑΦ (π.χ. της δικλοφαινάκης) με μη τοξικό πολικό αντιοξειδωτικό, την κυστεαμίνη (σχήμα 6, ένωση Β) ή τον αιθυλεστέρα της κυστεΐνης (σχήμα 6, ένωση C). Τα νέα παράγωγα που προέκυψαν διατήρησαν ή αύξησαν την αντιφλεγμονώδη δράση των οδηγών ενώσεων εμφανίζοντας παράλληλα αρκετά καλή αντιοξειδωτική δράση. Επιπλέον, οι νέες ενώσεις δεν εμφάνισαν κάποια τοξικότητα ή ένδειξη γαστρεντερικών αλλοιώσεων σε αντίθεση με τις μητρικές τους ενώσεις.²⁰⁻²⁴ Η ίδια ομάδα, στοχεύοντας στην πολυμέτρωπη αντιμετώπιση της νόσου Alzheimer (απώλεια μνήμης, οξειδωτικό στρες, φλεγμονή, υπερλιπιδαιμία), ενσωμάτωσε και τη δομή της προλίνης (με γνωστή νοοτρόπο δράση) καθώς και αντιοξειδωτικές ενώσεις σε γνωστά ΜΣΑΦ (π.χ. ιμπουπροφαίνη). Τα νέα παράγωγα που προέκυψαν (σχήμα 6, ένωση D και E) παρουσίασαν τις δράσεις των αντίστοιχων οδηγών ενώσεων σε ικανοποιητικό βαθμό εμφανίζοντας επιπλέον και σημαντική αντι-υπερλιπιδαιμική δράση.^{25,26}

Σε μια διαφορετική προσπάθεια, οι Henichart et al²⁷ σχεδίασαν μικτούς COX-2/5-LO αναστολείς ενώνοντας το τρικυκλικό τμήμα του γνωστού εμπορικού φαρμάκου σελεκοξίμη (COX-2 αναστολέας, σχήμα 6, ένωση 1) με το αρυλοτετραϋδροπυρανικό τμήμα του αναστολέα της 5-LO, ZD-23138 (σχήμα 6, ένωση 2). Και τα δυο αρχικά μόρια είναι αδρανή ως προς τον δεύτερο στόχο, αλλά η ένωση που προέκυψε από το συνδυασμό τους (σχήμα 6, ένωση F) παρουσίασε εξαιρετική ανασταλτική δράση έναντι και των δύο ενζύμων (COX-2 και 5-LO). Επίσης παρουσίασε και πολύ καλή εκλεκτικότητα για την COX-2 έναντι της COX-1.

Το γεγονός ότι οι δότες μονοξειδίου του αζώτου (NO) μειώνουν αποτελεσματικά τις αλλοιώσεις στον γαστρεντερικό βλεννογόνο και ευνοούν την επούλωσή του μετά από έκθεση σε βλαπτικούς παράγοντες, καθώς και το γεγονός ότι το NO και οι προσταγλανδίνες δρουν συνεργιστικά ως γαστροπροστατευτικά μέσα, καθιστούν το NO σημαντικό παράγοντα για την προστασία από τα τοξικά φαινόμενα των ΜΣΑΦ. Τα παραπάνω δεδομένα οδήγησαν στη δημιουργία νέας κατηγορίας φαρμάκων, στην οποία τα γνωστά ΜΣΑΦ είναι ομοιοπολικά συνδεδεμένα με μια ομάδα δότη NO (π.χ. νιτροεστέρες). Οι ενώσεις αυτές απελευθερώνουν μετά από υδρόλυση το μητρικό

ΜΣΑΦ, άρα δρουν ως αντιφλεγμονώδη, αλλά ταυτόχρονα απελευθερώνουν και NO το οποίο δρα γαστροπροστατευτικά και έτσι εμφανίζουν μειωμένη τοξικότητα σε σχέση με τη μητρική ένωση. Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα της παραπάνω κατηγορίας MDTAs αποτελούν τα παράγωγα της ασπιρίνης²⁸ (σχήμα 6, ένωση G) και της ιμπουπροφαίνης²⁹ (σχήμα 6, ένωση H).

Εκτός του NO, του οποίου η σημασία στη φλεγμονή αναλύθηκε παραπάνω, ένας δεύτερος αέριος μεταβιβαστής, το υδρόθειο (H₂S), έχει αποδειχθεί ότι συνδυάζει ορισμένες επιθυμητές βιολογικές δράσεις. Συγκεκριμένα, έρευνες έχουν δείξει ότι το H₂S παρουσιάζει αγγειοδιασταλτικές ιδιότητες *in vitro* και *in vivo*, χαλάρωση των λείων μυών του γαστρεντερικού συστήματος, ενώ έχει επιπλέον αντιοξειδωτικές (είναι ισχυρό αναγωγικό και δεσμεύει τις ρίζες υπεροξυνιτριλίου) και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες (αναστέλλει την προκλυόμενη από την ασπιρίνη προσκόλληση των λευκοκυττάρων στη μεσεντερική φλέβα και μειώνει τη διείσδυση των λευκοκυττάρων σε διάφορα πειραματικά ζωικά πρότυπα φλεγμονής). Οι παραπάνω ιδιότητες του H₂S οδήγησαν τα τελευταία χρόνια τους επιστήμονες στον σχεδιασμό και τη σύνθεση νέων ενώσεων που συνδυάζουν γνωστά εμπορικά ΜΣΑΦ με δομικά τμήματα που έχουν την ικανότητα να απελευθερώνουν H₂S (π.χ. τριθειόνες).³⁰ Τα νέα παράγωγα διατηρούν την αντιφλεγμονώδη δράση του μητρικού NSAID που φέρουν, ενώ η δράση τους ενισχύεται από τις επιπλέον αντιοξειδωτικές-αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες του H₂S που εκλύουν. Παράλληλα, εμφανίζουν και μειωμένη τοξικότητα σε σχέση με το μητρικό NSAID λόγω των γαστροπροστατευτικών ιδιοτήτων του H₂S. Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα της παραπάνω κατηγορίας MDTAs αποτελούν τα παράγωγα της ασπιρίνης³¹ (σχήμα 6, ένωση I) και της δικλοφαινάκης³² (σχήμα 6, ένωση J).

2.3. Μεταβολικό σύνδρομο

Ο διαβήτης τύπου 2 συνιστά το μεγαλύτερο ποσοστό των περιπτώσεων σακχαρώδη διαβήτη. Χαρακτηρίζεται από: (1) παρουσία αντίστασης στην ινσουλίνη, (2) διαταραχή της έκκρισης της ινσουλίνης και (3) αυξημένη ηπατική παραγωγή γλυκόζης. Παράλληλα, παρουσία υψηλών επιπέδων γλυκόζης αυξάνεται η σύνθεση των λιπιδίων οδηγώντας σε υπερλιπιδαιμίες και με την πάροδο του χρόνου επέρχεται αύξηση του βάρους. Αυξημένα επίπεδα λιπιδίων σχετίζονται με νόσους του καρδιαγγειακού που παρατηρούνται συχνά σε διαβητικούς ασθενείς. Τα τελευταία χρόνια ολοένα και περισσότερο επικρατεί η άποψη ότι η αντίσταση στην ινσουλίνη, η δυσλιπιδαιμία και η παχυσαρκία κεντρικού τύπου αποτελούν παθολο-

γικές καταστάσεις, που σε συνδυασμό συντελούν στην εκδήλωση του μεταβολικού συνδρόμου.

Βάσει των παραπάνω έχουν σχεδιαστεί και συντεθεί αρκετοί ΜΤDAs που απευθύνονται σε περισσότερους από έναν μηχανισμούς-αιτίες πρόκλησης του μεταβολικού συνδρόμου. Συγκεκριμένα, αρκετές ερευνητικές ομάδες, έχοντας υπόψη ότι οι φιμπράτες επεμβαίνουν στον μεταβολισμό των λιπιδίων, ως αγωνιστές των PPARα (Peroxisome Proliferator Activated Receptor) υποδοχέων (που λαμβάνουν μέρος στην περιφερειακή λιπόλυση των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών) και ότι οι γλιταζόνες μειώνουν την αντίσταση στην ινσουλίνη στην περιφέρεια (κυρίως στον μυϊκό ιστό) δρώντας ως αγωνιστές των PPARγ υποδοχέων, σχεδίασαν φαρμακομόρια που να συνδυάζουν και τις δυο παραπάνω δράσεις, δηλαδή να είναι μικτοί αγωνιστές των PPARα/γ υποδοχέων.

Ο πρώτος μικτός PPARα/γ αγωνιστής (σχήμα 7, ένωση Α) προήλθε μέσω δομικών τροποποιήσεων του εκλεκτικού PPARγ αγωνιστή τρογλιταζόνη (σχήμα 7, ένωση 1). Η ένωση Α (σχήμα 7) επέδειξε ανώτερη *in vivo* δράση από την αντίστοιχη της τρογλιταζόνης και αυτό οφείλεται στην ενεργοποίηση και των δύο PPAR υποτύπων.³³

Μια άλλη ερευνητική ομάδα, βασιζόμενη σε πειραματικά δεδομένα που ανέφεραν ότι εκλεκτικοί PPARδ αυξάνουν τα επίπεδα της HDL-χοληστερόλης και μειώνουν τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων σε διαβητικούς πηθήκους, προσπάθησε να σχεδιάσει και να συνθέσει μικτούς PPARα/γ/δ αγωνιστές ως πιθανή πολυμέτωση αντιμετώπιση του διαβήτη. Ξεκινώντας από τη ροσιγλιταζόνη (εκλεκτικός PPARγ αγωνιστής, σχήμα 7, ένωση 2) και συνδυάζοντας δομικά χαρακτηριστικά αυτής και των αλκοξυπροπιονικών οξέων (φιμπράτες) προέκυψε μια νέα οδηγός ένωση με ενσωματωμένο τρικυκλικό αρωματικό τμήμα (σχήμα 7, ένωση 3) η οποία παρουσίασε μέτρια αλλά ισορροπημένη αγωνιστική δράση των PPARα και PPARγ υποδοχέων. Στη συνέχεια, με τη βοήθεια μελετών μοριακής προσομοίωσης (molecular modeling) βασιζόμενων στην τρισδιάστατη δομή της ροσιγλιταζόνης συγκρυσταλλωμένης στην περιοχή πρόσδεσης του PPARγ υποδοχέα, το διβενζοθειαζεπινικό τμήμα της ένωσης 3 (σχήμα 7) αντικαταστάθηκε με το επίπεδο τρικυκλικό αρωματικό σύστημα του καρβαζολίου. Το νέο παράγωγο που προέκυψε (σχήμα 7, ένωση 4) παρουσίασε ισχυρή μικτή PPARα/γ αγωνιστική δράση και μέτρια αγωνιστική δράση των PPARδ υποδοχέων.³⁴ Στη συνέχεια, ανοίγοντας τον δακτύλιο του καρβαζολίου και αντικαθιστώντας το άζωτο με έναν sp^2 άνθρακα προέκυψε το διφαινυλικό ανάλογο (σχήμα 7, ένωση 5) με ισορροπημένη δράση έναντι και των τριών υποδοχέων. Ακολουθώντας σχέσεις δομής-δράσης,

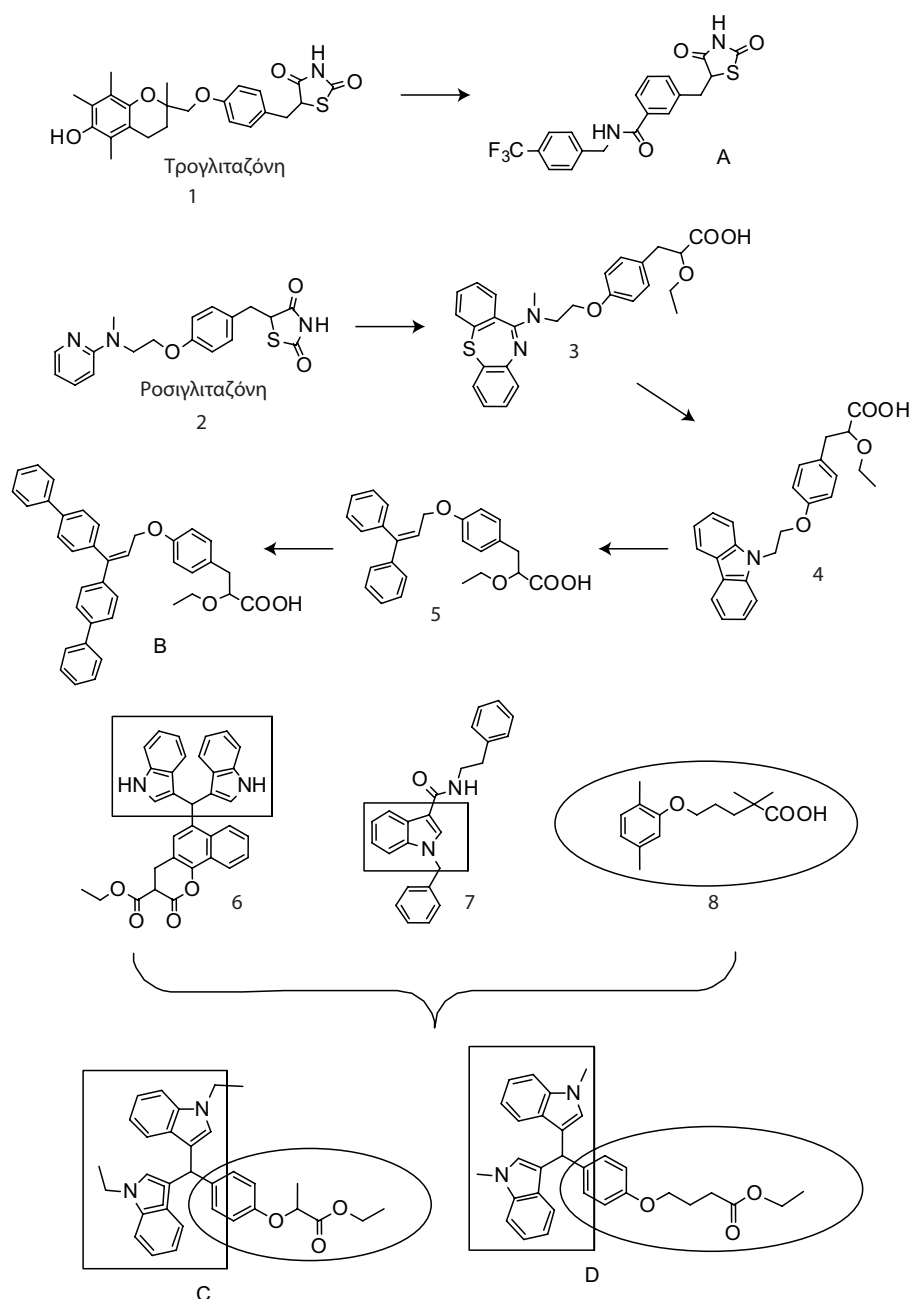
η ίδια ερευνητική ομάδα απέδειξε ότι ογκώδεις και λιπόφιλες ομάδες ευνοούν την πρόσδεση και στους τρεις υποδοχείς και έτσι προέκυψε το δις-διφαινυλικό παράγωγο (σχήμα 7, ένωση Β) με ισχυρή αγωνιστική δράση και προς τους τρεις υποδοχείς (PPARα/γ/δ).³⁵

Ακολουθώντας μια διαφορετική προσέγγιση, οι Sashidhara et al³⁶ συνδυάζοντας δομικά τμήματα παραγώνων ινδολίου με αντιδυσλιπιδαιμική δράση (σχήμα 7, ένωση 6) και δράση κατά της παχυσαρκίας (σχήμα 7, ένωση 7) καθώς και παραγώνων του φιμπρικού οξέος (σχήμα 7, ένωση 8, γνωστών εμπορικών υπολιπιδαιμικών φαρμάκων), σχεδίασαν και συνθέσαν νέα παράγωγα δις-ινδολίου (σχήμα 7, ενώσεις C και D). Τα νέα παράγωγα προκάλεσαν σημαντική μείωση των λιπιδικών παραμέτρων στην κυκλοφορία και μείωσαν σε μεγάλο βαθμό το σπλαγχνικό λίπος χωρίς να εμφανίζουν κάποια ανορεξιογόνο δράση σε διάφορα ζωικά πειραματικά πρότυπα. Επιπρόσθετα, προκάλεσαν αύξηση της δράσης του ενζύμου ακυλοτρανσφεράση της λεκιθίνης της χοληστερόλης καθώς και αύξηση του καταβολισμού της LDL-χοληστερόλης μέσω της ρύθμισης προς τα άνω του υποδοχέα της LDL. Επιπλέον, δεν παρουσίασαν σημαντική τοξικότητα μετά από μακροχρόνια χορήγησή τους.

2.4. Καρδιαγγειακές παθήσεις

Οι αναστολείς του ενζύμου αναγωγής/μετατροπής της αγγειοτενσίνης (Angiotensin Converting Enzyme, ACE), όπως η καπτοπρίλη (σχήμα 8, ένωση 1) χρησιμοποιούνται ευρύτατα για τη θεραπεία της υπέρτασης και της υποσυστολής. Το ένζυμο ουδέτερη ενδοπεπτιδάση (Neutral Endopeptidase, NEP), που ανήκει στην κατηγορία των μεταλλοπεπτιδασών, είναι υπεύθυνο για την αποικοδόμηση του προδρόμου νατριουρητικού πεπτιδίου (μιας πεπτιδικής ορμόνης με αντίθετη δράση από αυτή της αγγειοτενσίνης II), το οποίο απελευθερώνεται από την καρδιά όταν υπάρχει συστολή του κοιλιακού κόλπου προκαλώντας αγγειοδιαστολή. Βάσει των παραπάνω, η ταυτόχρονη αναστολή και των δύο προαναφερθέντων ενζύμων (ACE και NEP) θεωρήθηκε από τους επιστήμονες πιθανό να επέφερε ένα ωφέλιμο συνεργιστικό αποτέλεσμα στην αντιμετώπιση της υπέρτασης και της υποσυστολής.

Οι Robl et al³⁷ στη Bristol-Myers Squibb, ξεκινώντας από εκλεκτικούς αναστολείς του ACE (καπτοπρίλη, σχήμα 8, ένωση 1) και του NEP (σχήμα 8, ένωση 2) και με τη βοήθεια μελετών μοριακής προσομοίωσης (molecular modeling) συνδύασαν κατάλληλα δομικά τμήματα των δύο αναστολέων. Το νέο παράγωγο που προέκυψε (σχήμα 8, ένωση Α) παρουσίασε σημαντική ανασταλτική δράση έναντι και των δύο ενζύμων (σε κλίμακα nanomolar). Προκειμένου να βελτιωθεί η δράση της

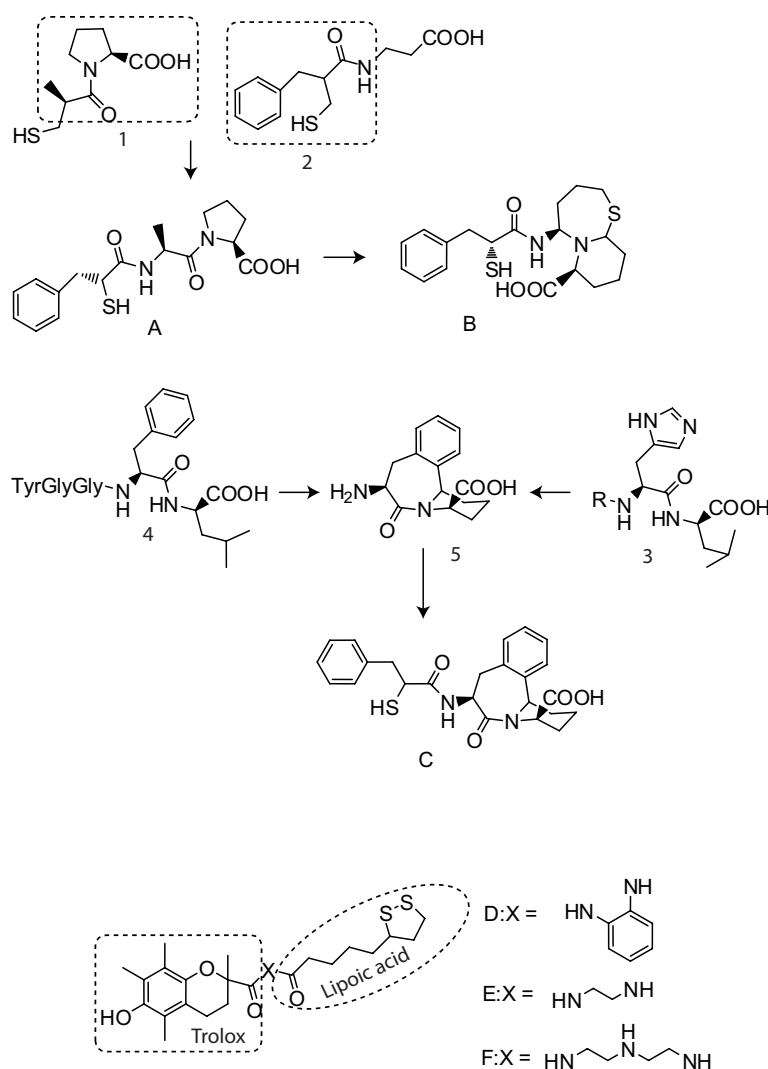


Σχήμα 7. Σχεδιασμός MTDAs ως θεραπευτική αντιμετώπιση του μεταβολικού συνδρόμου.

ένωσης A (σχήμα 8) *in vitro* και *in vivo*, η ίδια ομάδα συνέθεσε πιο άκαμπτες διαμορφώσεις της ένωσης A, παράγωγα 7,6- και 7,5-συμπυκνωμένων δικυκλικών θειαζεπινονών και οξαζεπινονών. Η ομαπατριλάτη (σχήμα 8, ένωση B) παρουσίασε πολύ υψηλή ανασταλτική δράση έναντι των δύο ενζύμων (ACE και NEP) και το καλύτερο φαρμακοκινητικό προφίλ από όλες τις ενώσεις της σειράς και προωθήθηκε σε κλινικές μελέτες για την αντιμετώπιση της υπέρτασης.

Ακολουθώντας την ίδια στρατηγική, ερευνητές του Marion Merrell Dow έχοντας ως βάση τα υποστρώματα

των ενζύμων ACE (αγγειοτενσίνη, σχήμα 8, ένωση 3) και NEP (σχήμα 8, ένωση 4) σχεδίασαν και συνέθεσαν μια ένωση (σχήμα 8, ένωση 5) που μιμείται τη διαμόρφωση χαμηλής ενέργειας του τμήματος His-Leu της ACE που προσδέεται η αγγειοτενσίνη και του τμήματος Phe-Leu της NEP που προσδέεται η λευκίνο-εγκεφαλίνη. Προσθέτοντας στη συνέχεια στην ένωση 5 (σχήμα 8) το αρυλο-μερκαπτοακέτυλο τμήμα της ένωσης 2 (σχήμα 8) προέκυψε η ένωση C (σχήμα 8) η οποία αναστέλλει τα ένζυμα ACE και NEP σε πολύ μεγάλο βαθμό (σε κλίμακα picomolar).³⁸



Σχήμα 8. Σχεδιασμός MTDAs κατά της υπέρτασης (ενώσεις A-C) και της ισχαιμίας-επαναιμάτωσης (ενώσεις D-F).

Σε μια προσπάθεια να σχεδιάσουν και να αναπτύξουν καρδιοπροστατευτικά μόρια, οι Koufaki et al,³⁹ βασιζόμενοι στα ελπιδοφόρα αποτελέσματα της συγχορήγησης λιποϊκού οξέος και βιταμίνης E κατά της ισχαιμίας-επαναιμάτωσης, συνέθεσαν νέα υβρίδια του λιποϊκού οξέος και του υδρόφιλου παραγώγου της βιταμίνης E, trolox. Τα δύο μόρια συνδέθηκαν μεταξύ τους μέσω διαφόρων αλειφατικών ή αρωματικών αλυσίδων διαφόρων μεγεθών προκειμένου να καθοριστούν τα απαραίτητα δομικά χαρακτηριστικά του συνδέτη για την εκδήλωση της καλύτερης καρδιοπροστατευτικής δράσης. Όλες οι ενώσεις που συντέθηκαν επέφεραν σημαντική *in vitro* αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσής μικροσωμικών ηπατικών μεμβρανών επαγόμενη από το οξειδοαναγωγικό σύστημα δισθενούς σιδήρου-ασκορβικού οξέος και η αντιοξειδωτική τους δράση ήταν εξαρτώμενη της φύσης του συνδέτη. Στη συνέχεια αξιολογήθηκαν ορι-

σμένα επιλεγμένα παράγωγα για την αντιαρρυθμική και αντιοξειδωτική τους δράση. Τα περισσότερα από αυτά παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς τη μείωση των επιπέδων μηλονικής διαλδεΐδης σε σχέση με τους μάρτυρες (απουσία ένωσης), ενώ τα ο-φαιθυλενοδιαμινο- και 1,2-αιθυλενοδιαμινο-συζευγμένα παράγωγα του λιποϊκού οξέος και του trolox (σχήμα 8, ενώσεις D και E αντίστοιχα) ολοκληρωτικά κατέστειλαν τις προκληθείσες λόγω επαναιμάτωσης αρρυθμίες στη συγκέντρωση των 5 μM. Ένα άλλο παράγωγο της ίδιας σειράς ενώσεων (το διαιθυλενοτριάμινο-συζευγμένο παράγωγο του λιποϊκού οξέος και του trolox, σχήμα 8, ένωση F) επιλέχθηκε ως ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό προκειμένου να διερευνηθεί κατά πόσον οι ενεργές μορφές οξυγόνου που δημιουργούνται σε συνθήκες υποξίας προκαλούν κυτταρικό θάνατο και να καθοριστεί ο πιθανός τους ρόλος στο αποπτωτικό μονοπάτι που λαμβάνει

χώρα στα μιτοχόνδρια. Έκθεση καρδιομυοκυττάρων σε συνθήκες υποξίας προκάλεσε σημαντική ελάττωση της βιωσιμότητας των κυττάρων και θραυσματοποίηση του DNA, υποδεικνύοντας την ενεργοποίηση απόπτωσης. Υπό αυτές τις συνθήκες το υβρίδιο λιποϊκού οξέος-trolox (σχήμα 8, ένωση F) εμφάνισε ισχυρή κυτταροπροστατευτική δράση αναστέλλοντας το μιτοχονδριακό αποπτωτικό μονοπάτι και σταθεροποιώντας τον παράγοντα-1α που επάγει την υποξία.⁴⁰

2.5. Αθηροσκλήρωση

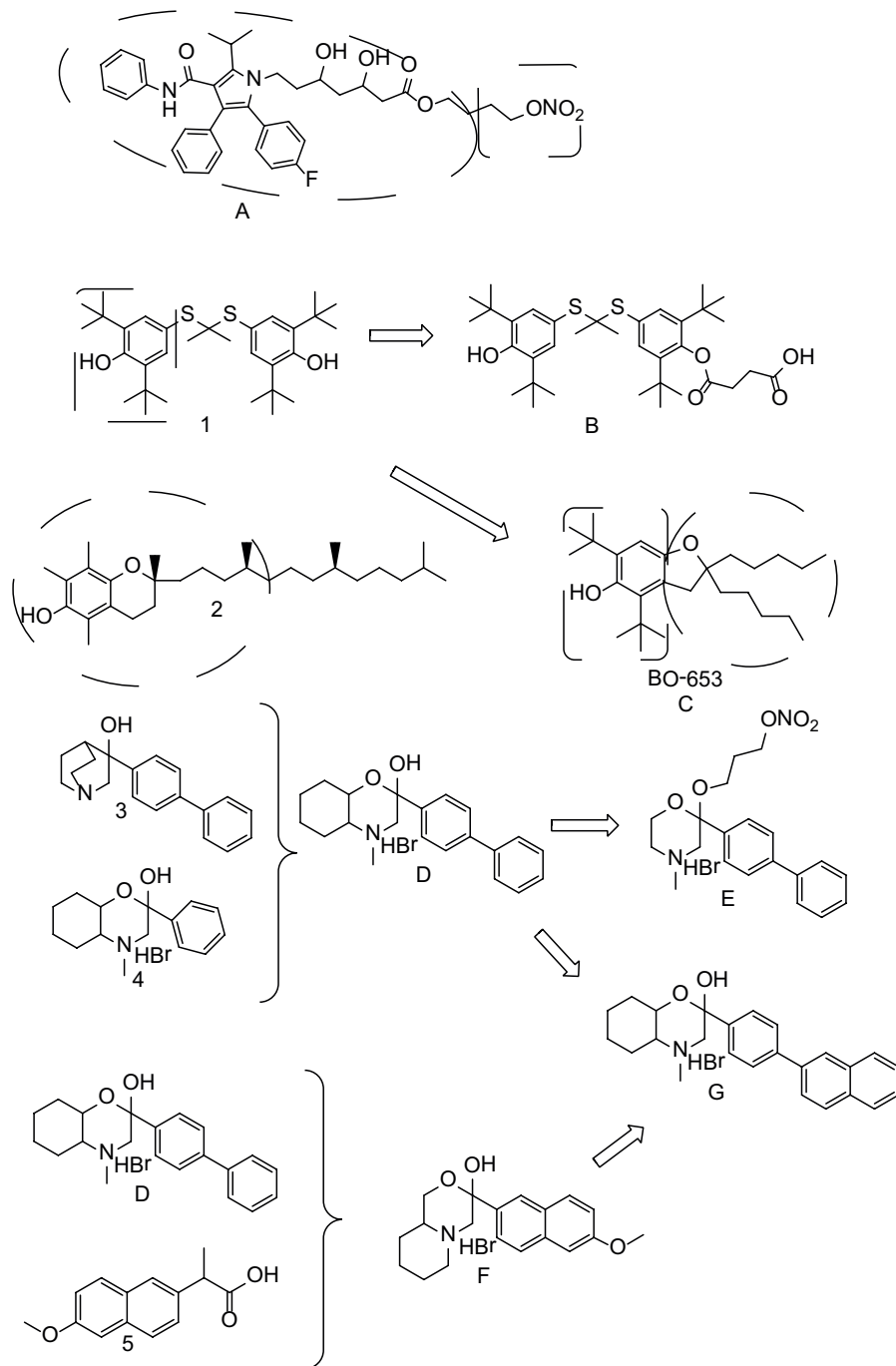
Η αθηροσκληρυνση, αποτελεί και αυτή μια πολυπαραγοντική νόσο, στην οποία η υπερλιπιδαιμία, το οξειδωτικό στρες και η φλεγμονή διαδραματίζουν πρωταρχικούς ρόλους στην εκδήλωσή της. Αν και για την αντιμετώπιση της χρησιμοποιείται ευρύτατα η στρατηγική της πολυφαρμακευτικής (MMT) ή της πολυσυστατικής θεραπείας (MCM), εντούτοις τα τελευταία χρόνια αρκετοί ΜΤDAs έχουν σχεδιαστεί και συντεθεί με εξαιρετικά αποτελέσματα αντιμετώπισης της νόσου σε διάφορα ζωικά πειραματικά πρότυπα. Επιπλέον, δύο ΜΤDAs δοκιμάζονται σε κλινικές μελέτες αναδεικνύοντας τη σημασία του σχεδιασμού ενώσεων που να ανταποκρίνονται σε περισσότερους από έναν μηχανισμούς πρόκλησης της αθηροσκληρυνσης. Ορισμένα αντιπροσωπευτικά παραδείγματα τέτοιων ενώσεων περιγράφονται παρακάτω.

Σε μια προσπάθεια να βελτιώσουν το θεραπευτικό προφίλ των στατινών, οι Momi et al⁴¹ πρόσθεσαν στο μόριο της ατορβαστατίνης (φάρμακο) έναν δότη μονοξειδίου του αζώτου (NO), προκειμένου να συνδυάσουν τις πλειοτροπικές δράσεις της ατορβαστατίνης με τις αγγειοδιασταλτικές και αντιθρομβωτικές ιδιότητες του μονοξειδίου του αζώτου. Το νέο παράγωγο που προέκυψε από αυτόν τον συνδυασμό (NO-ατορβαστατίνη, , ένωση A) παρουσίασε καλύτερη δράση σε σχέση με την ατορβαστατίνη ενώ εμφάνισε και επιπλέον ιδιότητες που απουσιάζουν από την ατορβαστατίνη. Συγκεκριμένα, η NO-ατορβαστατίνη εμφάνισε παρόμοια με την ατορβαστατίνη αναστολή της βιοσύνθεσης της χοληστερόλης σε μυϊκά κύτταρα επιμύων, ωστόσο προκάλεσε μεγαλύτερη μείωση των επιπέδων ολικής χοληστερόλης *in vivo* σε σχέση με τη μητρική ένωση. Επιπλέον, η NO-ατορβαστατίνη προκάλεσε αγγειοδιαστολή και ενεργοποίησε τον σχηματισμό του cGMP σε αρτηρίες κουνελιών, ενώ η ατορβαστατίνη ήταν αδρανής. Η NO-ατορβαστατίνη εμφάνισε επιπλέον αντιφλεγμονώδεις και αντιθρομβωτικές ιδιότητες μειώνοντας: (α) την προσκόλληση των αιμοπεταλίων *ex vivo*, (β) τη θρομβοεμβολή προκλυόμενη από κολλαγόνο και επινεφρίνη σε επίμυες και (γ) τη δράση της i-NOS στα

μακροφάγα. Τέλος, η NO-ατορβαστατίνη μείωσε και την αρτηριακή πίεση σε διαγονιδιακούς μύες.

Σε μια άλλη προσέγγιση, ερευνητές της φαρμακευτικής εταιρείας AtheroGenics, θέλοντας να βελτιώσουν το θεραπευτικό προφίλ της προβουκόλης (σχήμα 9, ένωση 1) σχεδίασαν και συνέθεσαν το μεταβολικά σταθερό ανάλογο της προβουκόλης, τη σουκκινυλοβουκόλη (ηλεκτρικός εστέρας της προβουκόλης, σχήμα 9, ένωση B). Ο σχεδιασμός της σουκκινυλοβουκόλης βασίστηκε στο γεγονός ότι παράγωγα της προβουκόλης, υποκατεστημένα στο ένα από τα δύο της φαινολικά υδροξύλια, διατηρούν τις ωφέλιμες αντιοξειδωτικές και υπολιπιδαιμικές ιδιότητες της προβουκόλης και επιπλέον παρουσιάζουν ένα βελτιωμένο προφίλ ασφάλειας που αποδίδεται στην αδυναμία αυτών των παραγώγων να σχηματίζουν τοξικούς μεταβολίτες-παράγωγα σπιροκινόνης (όπως η προβουκόλη).⁴² Η προσθήκη του ηλεκτρικού οξέος στο μόριο της προβουκόλης προσέδωσε σε αυτήν ένα πλήθος επιθυμητών δράσεων κατά της αθηροσκληρυνσης. Η σουκκινυλοβουκόλη διατηρεί τις αντιοξειδωτικές δράσεις της προβουκόλης, ωστόσο αναστέλλει σημαντικά και εκλεκτικά την έκφραση του VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) και της χημειοτακτικής πρωτεΐνης-1 των μονοκυττάρων (MCP-1) ενώ προκαλεί και αναστολή του πολλαπλασιασμού των λείων μυϊκών κυττάρων σε ανθρώπινες αρτηρίες. Επιπρόσθετα, η σουκκινυλοβουκόλη ανέστειλε την αθηροσκληρυνση και προκάλεσε μείωση των επιπέδων της LDL-χοληστερόλης σε διάφορα ζωικά πρότυπα, ενώ προκάλεσε και μικρή αύξηση των επιπέδων της HDL-χοληστερόλης (σε σχέση με την προβουκόλη που προκάλεσε μείωση των επιπέδων HDL-χοληστερόλης). Η σουκκινυλοβουκόλη δεν μεταβολίζεται προς προβουκόλη στα ζώα και τους ανθρώπους, οπότε δεν αποτελεί προφάρμακο της προβουκόλης.^{43,44} Σε κλινικές μελέτες φάσης II που δοκιμάστηκε, η σουκκινυλοβουκόλη έδειξε αρκετά θετικά αποτελέσματα κατά της αθηροσκληρυνσης, ενώ το γεγονός ότι εκτός των άλλων ιδιοτήτων της δρα και ως ανταγωνιστής του VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1) την κατέστησε υποψήφιο φάρμακο για την αντιμετώπιση του διαβήτη τύπου 2.⁴⁵

Ένα άλλο παράδειγμα ΜΤDA κατά της αθηροσκληρυνσης αποτελεί η ένωση BO-653 (σχήμα 9, ένωση C). Η BO-653 είναι ένα αντιοξειδωτικό που σχεδιάστηκε από ερευνητές της φαρμακευτικής εταιρείας Chugai Pharmaceuticals. Ο σχεδιασμός της βασίστηκε στον συνδυασμό δομικών τμημάτων δύο γνωστών αντιοξειδωτικών, της προβουκόλης (σχήμα 9, ένωση 1) και της βιταμίνης E (σχήμα 9, ένωση 2), προκειμένου να διατηρηθούν τα πλεονεκτήματα και να ξεπεραστούν τα μειονεκτήματα της χορήγησης καθενός αντιοξειδω-



Σχήμα 9. Σχεδιασμός MTDAs ως θεραπευτική προσέγγιση της αθηροσκλήρυνσης.

τικού χωριστά. Συγκεκριμένα, προσφέρει μεγαλύτερη προστασία έναντι της λιπιδικής υπεροξειδωσης και της οξειδωτικής τροποποίησης της LDL από τη βιταμίνη E, καταναλώνεται γρηγορότερα από τη βιταμίνη E και καθυστερεί με αυτόν τον τρόπο την κατανάλωση της ενδογενούς βιταμίνης E, ενώ αναστέλλει αποτελεσματικά και τον σχηματισμό των λιπιδικών υδροξυπεροξειδίων. Σε σχέση με την προβουκόλη, το BO-653 παρουσίασε *in vivo* καλύτερη δράση σε ζωικά πρότυπα αθηρο-

σκλήρυνσης και δεν επέδειξε μείωση των επιπέδων της HDL.⁴⁶ Το BO-653 έχει αποδειχθεί ότι λόγω της αυξημένης λιποφιλικότητάς του και της ενισχυμένης σταθερότητας της ρίζας του, ενσωματώνεται βαθιά στον πυρήνα των LDL σωματίων όπου και ασκεί την ισχυρή αντιοξειδωτική του δράση.⁴⁷ Το BO-653 βρίσκεται σε κλινικές μελέτες φάσης III για την αντιμετώπιση της αθηροσκλήρυνσης και πιθανολογείται ότι η σημαντική του αντιοξειδωτική δράση, η ευνοϊκή του λιποφιλικότη-

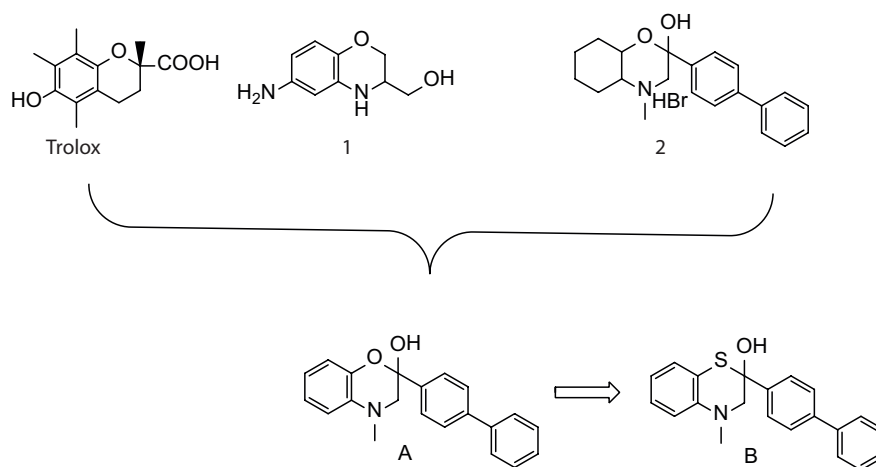
τα και τα αντιαθηρωματικά αποτελέσματα που έχει επιδείξει σε διάφορα ζωικά πρότυπα θα το καταστήσουν καλύτερο φάρμακο από την προβουκόλη ή τη βιταμίνη E, από τα οποία έχει προέλθει ο σχεδιασμός του.⁴⁶⁻⁴⁹

Μια διαφορετική προσέγγιση σχεδιασμού MTDAs ακολουθήθηκε από τους Kourounakis et al. Γνωρίζοντας ότι οι 3-υδροξυ-3-αρυλο-υποκατεστημένες κινουκλιδίνες (σχήμα 9, ένωση 3) δρουν ως αναστολείς της συνθετάσης του σκουαλενίου (SQS),⁵⁰ ενζύμου που συμμετέχει στη βιοσύνθεση της χοληστερόλης, και ότι 2-υδροξυ-2-αρυλο-υποκατεστημένες μορφολίνες (σχήμα 9, ένωση 4) εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση, συνδύασαν δομικά τμήματα των δύο παραπάνω φαρμακοφόρων δομών. Το παράγωγο που προέκυψε (σχήμα 9, ένωση D) εμφάνισε ικανοποιητική ανασταλτική έναντι της συνθετάσης του σκουαλενίου δράση⁵¹ και αρκετά καλή αντιοξειδωτική δράση,⁵² ενώ μείωσε σημαντικά και τα επίπεδα των λιπιδίων στο πλάσμα υπερλιπιδαιμικών επιμύων.⁵² Προεκτείνοντας την παραπάνω έρευνα, σχεδιάστηκε και συντέθηκε ένα νέο παράγωγο (σχήμα 9, ένωση E) στο οποίο το υδροξύλιο της 2-θέσης του μορφολινικού δακτυλίου υποκαταστάθηκε με έναν δότη μονοξειδίου του αζώτου. Το νέο παράγωγο παρουσίασε πολύ καλή ανασταλτική δράση επί της SQS⁵¹ και βελτιωμένη αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με την ένωση D (σχήμα 9), ενώ έχει την ικανότητα να απελευθερώνει NO σε ικανοποιητικές συγκεντρώσεις.⁵³ Επιπλέον προκάλεσε αξιοσημείωτη ελάττωση των επιπέδων ολικής χοληστερόλης, LDL-χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων στο πλάσμα υπερλιπιδαιμικών επιμύων.⁵³ Οι ενώσεις D και E εξετάστηκαν σε ζωικά πειραματικά πρότυπα αθηροσκλήρυνσης (κουνέλια που τρέφονταν με δίαιτα πλούσια σε λιπαρά) και έδειξαν σημαντική αντι-αθηροσκληρωτική δράση, ενώ δεν προκάλεσαν κάποιου είδους τοξικότητα μετά από παρατεταμένη χορήγηση.^{54,55}

Θέλοντας να προσδώσουμε στα μορφολινικά παράγωγα της παραπάνω κατηγορίας και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, η ερευνητική μας ομάδα ενσωμάτωσε ως υποκαταστάτη του μορφολινικού δακτυλίου, δομικό τμήμα του γνωστού NSAID ναπροξένη (σχήμα 9, ένωση 5). Το παράγωγο που προέκυψε (σχήμα 9, ένωση F) παρουσίασε ένα πολύ ισορροπημένο προφίλ επιθυμητών δράσεων αναστέλλοντας τη δράση της SQS, της κυκλοοξυγονάσης και της λιποξυγονάσης σημαντικά, προκαλώντας αξιοσημείωτη μείωση των λιπιδικών παραμέτρων στο πλάσμα υπερλιπιδαιμικών επιμύων, ενώ εμφάνισε και πολύ καλή αντιφλεγμονώδη δράση *in vivo* αναστέλλοντας το οίδημα άκρου ποδός επίμυα προκλυόμενα από το φλογιστικό καραγενίνη.⁵⁶

Σκοπεύοντας στον σχεδιασμό μορίων με πολύ υψηλή ανασταλτική έναντι της SQS δράση και χρησιμοποιώντας μελέτες molecular modeling/docking, αξιόσημα τον όγκο του υποκαταστάτη της 2-θέσης του μορφολινικού δακτυλίου της ένωσης D (σχήμα 9). Αντικαθιστώντας λοιπόν το διφαινύλιο με το πιο ογκώδες και λιπόφιλο 4-(2-ναφθυλο)-φαινύλιο τμήμα προέκυψε η ένωση G (σχήμα 9). Η παραπάνω ένωση ανέστειλε τη δράση της συνθετάσης του σκουαλενίου περίπου 50 φορές πιο ισχυρά, ενώ παρουσίασε και 3 φορές καλύτερη αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με την ένωση D (σχήμα 9). Επιπρόσθετα εμφάνισε και ικανοποιητική *in vivo* υπολιπιδαιμική και αντιφλεγμονώδη δράση.⁵⁶

Τέλος, συνδυάζοντας δομικά τμήματα των αντιοξειδωτικών ενώσεων trolox (υδρόφιλο παράγωγο της βιταμίνης E) και 1 (αναστολέας της απόπτωσης των ενδοθηλιακών κυττάρων που επάγεται από την οξειδωμένη LDL), καθώς και της αντι-υπερλιπιδαιμικής ένωσης 2, προέκυψε το παράγωγο 1,4-βενζοξαζίνης A (σχήμα 10) που συνδυάζει πολύ καλή αντιοξειδωτική (έναντι λιπιδικής υπε-



Σχήμα 10. Σχεδιασμός MTDAs ως θεραπευτική προσέγγιση της αθηροσκλήρυνσης.

ροξειδωσης και LDL-οξειδωσης) δράση και σημαντική αντι-υπερλιπιδαιμική (μέσω αναστολής της SQS) δράση.⁵⁷ Αντικατάσταση του ατόμου του οξυγόνου του βενζοξαζινικού δακτυλίου της ένωσης Α με θείο έδωσε το παράγωγο 1,4-βενζοθειαζίνης Β (σχήμα 10), το οποίο διατήρησε σε σημαντικό ποσοστό τη δράση της ένωσης Α.⁵⁷

3. Συμπεράσματα

Από τα παραδείγματα που αναλύθηκαν σε αυτή την ενότητα αναδεικνύεται η σημασία των ΜΤDAs στην αντιμετώπιση πολύπλοκων και πολυπαραγοντικών ασθενειών, στις οποίες η μονοθεραπεία δεν έχει ή έχει ελλιπώς αποδώσει. Η ενσωμάτωση μέσω ορθολογικού σχεδιασμού δύο ή περισσότερων δράσεων σε μια απλή δομή μπορεί ταυτόχρονα να βελτιστοποιήσει τη θεραπευτική αγωγή και να απαλλάξει τον ασθενή από τις πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες/αλληλεπιδράσεις της πολυφαρμακευτικής (ΜΜΤ) ή πολυσυστατικής θεραπείας (ΜΜΜ). Επίσης είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι ένα ΜΤDA παρόλο που μπορεί να παρουσιάζει μέτρια συγγένεια έναντι δύο ή περισσότερων στόχων-παθογενετικών μηχανισμών πρόκλησης μιας νόσου, μπορεί να είναι αποτελεσματικότερο από μια ένωση με υψηλότερη συγγένεια ως προς έναν μόνο στόχο. Και αυτό μπορεί να συμβαίνει όχι μόνο επειδή αποφεύγονται οι ανεπιθύμητες ενέργειες που είναι πιθανό να προκαλούνται από την αυξημένη και παρατεταμένη αναστολή της δράσης ενός υποδοχέα ή ενός ενζύμου, αλλά και διότι οι αλληλεπιδράσεις των ΜΤDAs με τους εκάστοτε μεμονωμένους αλλά πολλαπλούς στόχους που τροποποιούν, συνολικά θα συμβάλλουν στην πολυμέτωση και άρα πιο αποτελεσματική καταπολέμηση/αντιμετώπιση των διαταραχών και των επιπτώσεων που προκαλούνται από/κατά την εκδήλωση της νόσου και έτσι στην πιο ολοκληρωμένη αντιμετώπιση και θεραπεία της.^{1,2}

Βιβλιογραφία

- Morphy R, Rankovic Z. Designed multiple ligands. An emerging drug discovery paradigm. *J Med Chem* 2005, 48:6523–6543
- Cavalli A, Bolognesi ML, Minarini A et al. Multi-target-directed ligands to combat neurodegenerative diseases. *J Medicin Chem* 2008, 51:347–372
- Zhang HY. One-compound-multiple-targets strategy to combat Alzheimer's disease. *FEBS Letters* 2005, 579:5260–5264
- Youdim MBH, Buccafusco JJ. Multi-functional drugs for various CNS targets in the treatment of neurodegenerative disorders. *Trend Pharmacologic Sci* 2005, 26:27–35
- Bolognesi ML, Andrisano V, Bartolini M et al. Propidium-based polyamine ligands as potent inhibitors of acetylcholinesterase and acetylcholinesterase-induced amyloid-beta aggregation. *J Medicin Chem* 2005, 48:24–27
- Rosini M, Andrisano V, Bartolini M et al. Rational approach to discover multipotent anti-Alzheimer drugs. *J Med Chem* 2005, 48:360–363
- Rodriguez-Franco MI, Fernandez-Bachiller MI, Perez C et al. Novel tacrine-melatonin hybrids as dual-acting drugs for Alzheimer disease, with improved acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties. *J Med Chem* 2006, 49:459–462
- Marco-Contelles J, Leon R, deLos Rios C et al. Novel multipotent tacrine-dihydropyridine hybrids with improved acetylcholinesterase inhibitory and neuroprotective activities as potential drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *J Med Chem* 2006, 49:7607–7610
- Rosini M, Simoni E, Bartolini M et al. Inhibition of acetylcholinesterase, β -amyloid aggregation and NMDA receptors in Alzheimer's disease: A promising direction for the multi-target-directed ligands gold rush. *J Med Chem* 2008, 51:4381–4384
- Sterling J, Herzig Y, Goren T et al. Novel dual inhibitors of AChE and MAO derived from hydroxy aminoindan and phenethylamine as potential treatment for Alzheimer's disease. *J Med Chem* 2002, 45:5260–5279
- Toda N, Tago K, Marumoto S et al. Design, synthesis and structure-activity relationships of dual inhibitors of acetylcholinesterase and serotonin transporter as potential agents for Alzheimer's disease. *Bioorgan Med Chem* 2003, 11:1935–1955
- Toda N, Tago K, Marumoto S et al. A conformational restriction approach to the development of dual inhibitors of acetylcholinesterase and serotonin transporters as potential agents for Alzheimer's disease. *Bioorgan Med Chem* 2003, 11:4389–4415
- Cavalli A, Bolognesi ML, Capsoni S et al. A small molecule targeting the multi-factorial nature of Alzheimer's disease. *Angewandte Chem Intern Ed* 2007, 46:3689–3692
- Bolognesi ML, Cavalli A, Melchiorre C. Memoquin: A multi-target-directed ligand as an innovative therapeutic opportunity for Alzheimer's disease. *Neurotherapeutics* 2009, 6:152–162
- Dannhard G, Kriefer W. Cyclooxygenase inhibitors current status and future prospects. *Eur J Med Chem* 2001, 36:109–126
- Fosslien E. Adverse Effects of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs On the Gastrointestinal System. *Ann Clin Laborator Sci* 1998, 28:67–81
- Gilroy DW, Tomlinson A, Willoughby DA. Differential effects of inhibitors of cyclooxygenase (cyclooxygenase 1 and cyclooxygenase 2) in acute inflammation. *Eur J Pharmacol* 1998, 355:211–217
- Fiorucci S, Meli R, Bucci M et al. Dual inhibitors of COX and 5-LOX. A new avenue in anti-inflammatory therapy. *Biochem Pharmacol* 2001, 62:1433–1438
- Lazer ES, Wong HC, Possanza GJ et al. Anti-inflammatory 2,6-Di-tert-Butyl-4-(2-Arylethenyl)Phenols. *J Med Chem* 1989, 32:100–104
- Galanakis D, Kourounakis AP, Tsiakitzis KC et al. Synthesis and pharmacological evaluation of amide conjugates of NSAIDs with L-cysteine ethylester, combining potent anti-inflammatory and antioxidant properties with significantly reduced gastrointestinal toxicity. *Bioorgan Med Chem Lett* 2004, 14:3639–3643
- Kourounakis AP, Galanakis D, Tsiakitzis K et al. Synthesis and pharmacological evaluation of novel derivatives of anti-inflammatory drugs with increased antioxidant and anti-inflammatory activities. *Drug Developm Res* 1999, 47:9–16
- Kourounakis PN, Tsiakitzis K, Kourounakis AP et al. Reduction of gastrointestinal toxicity of NSAIDs via molecular modifications leading to antioxidant anti-inflammatory drugs. *Toxicology* 2000, 144:205–210

23. Kourounakis AP, Tsiakitzis K, Paramythiotis D et al. Effect of a novel NSAID derivative with antioxidant moiety on oxidative damage caused by liver and cerebral ischaemia-reperfusion in rats. *J Pharm Pharmacol* 2002, 54:1091–1096
24. Peroulis N, Kourounakis AP, Yiangou M et al. Effects of the novel non-steroidal anti-inflammatory compound [N-(2-thiol-ethyl)-2-{2-[N'-(2,6-dichlorophenyl)amino]phenyl}acetamide on cytokines and apoptosis in ischaemic rat brain. *Arzneim Fors/Drug Res* 2006, 10:688–694
25. Doulgeris CM, Galanakis D, Kourounakis AP et al. Synthesis and pharmacological study of novel polyfunctional molecules combining anti-inflammatory, antioxidant and hypocholesterolemic properties. *Bioorgan Med Chem Lett* 2006, 16:825–829
26. Siskou IC, Rekkas EA, Kourounakis AP et al. Design and study of some novel ibuprofen derivatives with potential neuroprotective and neuroprotective properties. *Bioorgan Med Chem* 2007, 15:951–961
27. Barbey S, Goossens L, Taverne T et al. Synthesis and activity of a new methoxytetrahydropyran derivative as dual cyclooxygenase-2/5-lipoxygenase inhibitor. *Bioorgan Med Chem Lett* 2002, 12:779–782
28. Di Napoli M, Papa F. NCX-4016 NicOX. *Curr Opin Invest Drug* 2003, 4:1126–1139
29. Lolli ML, Cena C, Medana C et al. A new class of ibuprofen derivatives with reduced gastrotoxicity. *J Med Chem* 2001, 44:3463–3468
30. Wallace JL. Hydrogen Sulfide-Releasing Anti-inflammatory drugs. *Trend Pharmacol Sci* 2007, 28:501–505
31. Sparatore A, Perrino E, Tazzari V et al. Pharmacological profile of a novel H₂S-releasing aspirin. *Free Radic Biol Med* 2009, 46:586–592
32. Rossoni G, Sparatore A, Tazzari V. The hydrogen sulfide-releasing derivative of diclofenac protects against ischemia reperfusion injury in the isolated rabbit heart. *Br J Pharmacol* 2008, 153:100–109
33. Nomua M, Kinoshita S, Satoh H et al. (3-Substituted Benzyl)-Thiazolidine-2,4-Diones as structurally new antihyperglycemic agents. *Bioorgan Med Chem Lett* 1999, 9:533–538
34. Oliver WR, Shenk JL, Snaith MR et al. A Selective peroxisome proliferator-activated receptor α agonist promotes reverse cholesterol transport. *Proceed Nat Acad Sci USA* 2001, 98:5306–5311
35. Mogensen JP, Jeppesen L, Bury PS. Design and synthesis of novel PPAR α / γ / δ triple activators using known PPAR α / γ dual activators as structural template. *Bioorgan Med Chem Lett* 2003, 13:257–260
36. Sashidhara KV, Kumar M, Sonkar R et al. Indole-based fibrates as potential hypolipidemic and antiobesity agents. *J Med Chem* 2012, 55:2769–2779
37. Robl JA, Sun CQ, Stevenson J et al. Dual metalloprotease inhibitors: Mercaptoacetyl-based fused heterocyclic dipeptide mimetics as inhibitors of angiotensin-converting enzyme and neutral endopeptidase. *J Med Chem* 1997, 40:1570–1577
38. Flynn GA, Beight DW, Mehdi S et al. Application of conformationally restricted Phe-Leu dipeptide mimetic to the design of a combined inhibitor of angiotensin I converting enzyme and neutral endopeptidase 24.11. *J Med Chem* 1993, 36:2420–2430
39. Koufaki M, Calogeropoulou T, Detsi A et al. Novel potent inhibitors of lipid peroxidation with protective effects against reperfusion arrhythmias. *J Med Chem* 2001, 44:4300–4303
40. Vassilopoulos A, Papazafiri P. Attenuation of oxidative stress in HL-1 cardiomyocytes improves mitochondrial function and stabilizes Hif-1 α . *Free Radic Res* 2005, 39:1273–1284
41. Momi S, Impagnatiello F, Guzzetta M et al. NCX6560, a nitric oxide-releasing derivative of atorvastatin, inhibits cholesterol biosynthesis and shows anti-inflammatory and anti-thrombotic properties. *Eur J Pharmacol* 2007, 570:115–124
42. Barnhart JW, Wagner ER, Jackson RL. In: Witiak DT, Newman HAL, Feller DR (eds) *Antilipidemic Drugs: Medicinal, Chemical and Biochemical Aspects*. Elsevier Science, Amsterdam, 1991:277–299
43. Meng CQ, Somers PK, Rachita CL et al. Novel Phenolic Antioxidants as Multifunctional Inhibitors of Inducible VCAM-1. Expression for USE in Atherosclerosis. *Bioorgan Med Chem Lett* 2002, 12:2545–2548
44. Sundell CL, Somers PK, Meng CQ et al. AGI-1067: A Multifunctional Phenolic Antioxidant. Lipid Modulator, Antiinflammatory and Antiatherosclerotic Agent. *J Pharmacol Experiment Ther* 2003, 305:1116–1123
45. Tardif JC, Gregoire J, Schwartz L et al. Effects of AGI-1067 and Probucol After Percutaneous Coronary Interventions. *Circulation* 2003, 107:552–558
46. Cynshi O, Kawabe Y, Suzuki T et al. Antiatherogenic effects of the antioxidant BO-653 in three different animal models. *Proceed the Nat Acad Sci USA* 1998, 95:10123–10128
47. Muller K, Carpender KL, Freeman MA et al. Antioxidant BO-653 and human macrophage-mediated LDL oxidation. *Free Radical Res* 1999, 30:59–71
48. Kaise H, Nakamura M, Takashima Y et al. BO-653 a novel antioxidant, suppressed the atherosclerosis by impaired LDL receptor in both rabbit and mouse models. *Atherosclerosis* 1997, 134:203
49. Watanabe A, Noguchi N, Fujisawa A et al. Stability and reactivity of aryloxy radicals derived from a novel antioxidant BO-653 and Related Compounds. Effects of Substituent and Side Chain in Solution and Membranes. *J Am Chem Soc* 2000, 122:5438–5442
50. Brown GR, Clarke DS, Foubister AJ et al. Synthesis and activity of a novel series of 3-biarylquinuclidine squalene synthase inhibitors. *J Medicin Chem* 1996, 39:2971–2979
51. Tavridou A, Kaklamanis L, Megaritis G et al. Pharmacological characterization *in vitro* of EP2306 and EP2302, potent inhibitors of squalene synthase and lipid biosynthesis. *Eur J Pharmacol* 2006, 535:34–42
52. Chrysselis MC, Rekkas EA, Kourounakis PN. Hypocholesterolemic and hypolipidemic activity of some novel morpholine derivatives with antioxidant activity. *J Med Chem* 2000, 43:609–612
53. Chrysselis MC, Rekkas EA, Siskou IC et al. Nitric oxide releasing morpholine derivatives as hypolipidemic and antioxidant agents. *J Med Chem* 2002, 45:5406–5409
54. Tavridou A, Kaklamanis L, Papalois A et al. EP2306, a novel squalene synthase inhibitor, reduces atherosclerosis in the cholesterol-fed rabbit. *J Pharmacol Experiment Ther* 2007, 323:794–804
55. Tavridou A, Kaklamanis L, Papalois A et al. Antiatherosclerotic properties of EP2302, a novel squalene synthase inhibitor, in the cholesterol-fed Rabbit. *J Cardiovasc Pharmacol* 2008, 51:573–580
56. Kourounakis AP, Matralis AN, Nikitakis A. Design of more potent squalene synthase inhibitors with multiple activities. *Bioorgan Med Chem* 2010, 18:7402–7412
57. Matralis AN, Katselou MG, Nikitakis A et al. Novel benzoxazine and benzothiazine derivatives as multifunctional antihyperlipidemic agents. *J Med Chem* 2011, 54:5583–5591

Ημερομηνία Υποβολής 31/4/2013
Ημερομηνία Έγκρισης 8/7/2013