

Bruch mit dem Dogma metallkoordinierender Carbonsäuren in Integrinliganden: Änderung von Selektivität und Aktivität durch Hydroxamsäuren als MIDAS-Binder**

Dominik Heckmann, Burkhardt Laufer, Luciana Marinelli, Vittorio Limongelli, Ettore Novellino, Grit Zahn, Roland Stragies und Horst Kessler*

Die Inhibition der Zelladhäsion durch Integrinliganden ist ein vielversprechender Angriffspunkt für neue Medikamente. Alle Integrine haben eine Metallionen-abhängige Bindungstasche (MIDAS), in der fünf der sechs möglichen Koordinationsstellen des Metallions bereits besetzt sind. Der Ligand in der extrazellulären Matrix stellt die sechste Koordinationsstelle in Form der Carboxygruppe eines Asparaginsäurerestes zur Verfügung, wie im Fall der bekannten RGD-Tripeptidsequenz. Bisher enthielten alle Proteine sowie niedermolekulare peptidische und nichtpeptidische Liganden eine Carboxygruppe zur Bindung an das Metallion, und jeder Versuch zum Austausch der Carboxygruppe gegen isostere Gruppen scheiterte. Wir berichten hier erstmals über den Einsatz von Hydroxamsäuren zu diesem Zweck, wobei die Bindungsaffinität der neuen Liganden erhalten bleibt oder sich verschiebt. Dies ist von besonderer Bedeutung, da die Carboxygruppe unter neutralen pH-Bedingungen ionisiert vorliegt, wodurch eine hohe Hürde für das pharmakodynamische Verhalten der Integrinliganden aufgebaut wird. Hydroxamsäuren liegen hingegen unter denselben Bedingungen nicht ionisiert vor.

Integrine bilden eine Familie von heterodimeren, transmembranären, bidirektionalen Adhäsionsrezeptoren, die Zellen mit den gerüstbildenden Proteinen der extrazellulären Matrix verbinden.^[1] Störungen der Integrinfunktion sind mit einer Vielzahl von pathologischen Prozessen, wie Thrombo-

se,^[2] Krebs,^[3] Osteoporose^[4] und Entzündungen,^[5] verbunden, was sie zu wichtigen Zielstrukturen für die Pharmaforschung macht. Unter den 24 bekannten Heterodimeren haben die Integrine $\alpha\beta 3$, $\alpha\beta 5$ und $\alpha 5\beta 1$ besonderes Interesse gefunden: Sie sind Schlüsselfaktoren der Angiogenese (der Bildung und Reifung neuer Blutgefäße) – eines Prozesses, der eine bedeutende Rolle bei der Tumorentwicklung und Metastasierung spielt.^[3,6] In den natürlichen Liganden aller drei Integrine findet sich dasselbe tripeptidische Erkennungsmotiv: Arginin-Glycin-Aspartat (RGD).^[7] Die Fähigkeit einzelner Integrine zur selektiven Bindung an unterschiedliche räumliche Anordnungen eines Bindungsmotivs sowie die große Bedeutung der Integrine für die Medizin veranlassten Forscher dazu, eine immense Zahl an peptidischen und nichtpeptidischen Liganden zu entwerfen.^[8] So befindet sich z. B. ein potenter $\alpha\beta 3$ -Ligand, das cyclische Peptid Cilengitid^[9] [*cyclo(RGDfNMeV)*] momentan in der klinischen Phase III für Patienten mit *Glioblastoma multiforme*, während das $\alpha IIb\beta 3$ -bindende Peptidmimetikum Tirofiban^[10] bereits ein zugelassener Gerinnungshemmer ist. Die Anwendung RGD-basierter Medikamente wird jedoch durch ihre schlechten pharmakologischen Eigenschaften behindert, die zu einem gewissen Anteil das Ergebnis des Zwitterionencharakters des RGD-Motivs sein dürften. Die Verbesserung der pharmakologischen Parameter war das Thema der neuesten Forschungsarbeiten, in deren Verlauf hauptsächlich die Polarität und Starrheit des Grundgerüsts oder die Art des Basenrestes verändert und die Synthese von Propharmaka versucht wurde.^[11]

Während bei der Entwicklung von Peptidmimetika die Guanidiniumgruppe von Arginin bereits durch vielzählige basische Heterocyclen ersetzt wurde, ist die Carboxygruppe von Aspartat als Säurefunktion das am stärksten konservierte Merkmal aller bisherigen Liganden; unseres Wissens ist bislang noch von keiner Substitution der Carboxygruppen berichtet worden. Die Säurefunktion ist an der ausschlaggebenden Koordination des zweiwertigen Metallkations der in allen Integrinen vorhandenen MIDAS beteiligt.^[12] Zwar konnte das Metallion bisher noch nicht sicher bestimmt werden (es wird über Ca^{2+} , Mg^{2+} oder Mn^{2+} diskutiert), unbestritten ist jedoch die Bedeutung der Kation-Carboxylat-Wechselwirkung.^[13] Wir konnten zeigen, dass die Selektivität der Integrine $\alpha 5\beta 1$ und $\alpha\beta 3$ – der wichtigsten Integrine in der Angiogenese – durch Veränderung der Ligandenlänge und sperriger Substituenten nahe der Metallkoordinationsstelle in beide Richtungen umgeschaltet werden kann.^[14] Obwohl diese Position sehr empfindlich gegen Modifikatio-

[*] Dr. D. Heckmann,^[+] M. Sc. B. Laufer,^[+] Prof. Dr. H. Kessler
Institute for Advanced Study, TU München, Department Chemie
Lichtenbergstraße 4, 85747 Garching (Deutschland)
Fax: (+49) 89-2891-3210
E-Mail: kessler@ch.tum.de

Prof. Dr. L. Marinelli, Dr. V. Limongelli, Prof. Dr. E. Novellino
Dipartimento di Chimica Farmaceutica e Tossicologica, Università
di Napoli „Federico II“
Via D. Montesano, 49-80131 Napoli (Italien)
Dr. G. Zahn, Dr. R. Stragies
Jerini AG
Invalidenstraße 130, 10115 Berlin (Deutschland)

[+] Diese Autoren haben in gleichem Maße zu dieser Arbeit beigetragen.

[**] Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 563), dem Center for Integrated Protein Science Munich (CIPSM) und der International Graduate School for Science and Engineering (IGSSE) für finanzielle sowie M. Wolff, B. Cordes, J. Thielmann und Dr. W. Spahl für technische Unterstützung.

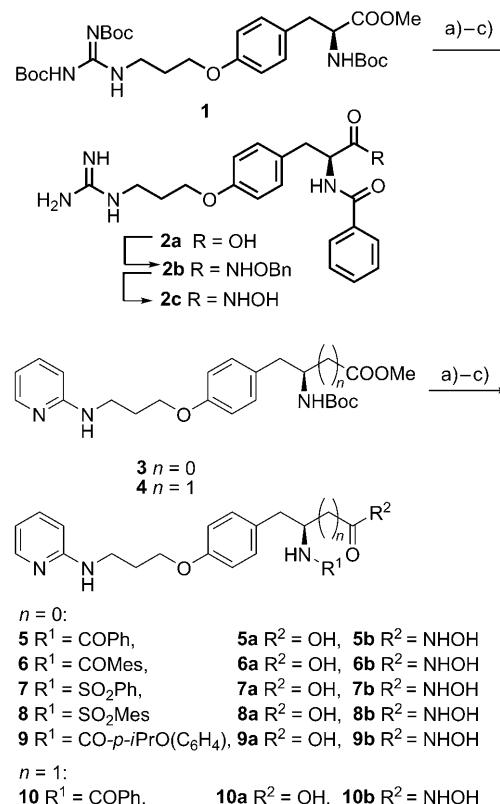
 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.200900206> zu finden.

nen zu sein scheint – mehrere Versuche, das Carboxylat durch Tetrazol oder Sulfonsäure zu ersetzen, scheiterten – dachten wir über Alternativen zu Carbonsäuren nach, die zu einem anderen Bindungsmodus und damit einer Veränderung im Selektivitätsprofil führen könnten.

Wir hielten Hydroxamsäuren für vielversprechend, da sie je nach der Umgebung als zwei- oder einzähnige Liganden wirken und bekanntermaßen viele Metalle gut koordinieren.^[15] Zunächst untersuchten wir die Liganden **2** (siehe Schema 1), um einen Beleg für unser Denkmodell zu erhalten (**2a**: IC_{50} : 60 nm für $\alpha 5\beta 1$ und 131 nm für $\alpha v\beta 3$); wir beobachteten, dass der IC_{50} -Wert von **2c** für $\alpha 5\beta 1$ auf 6700 nm stieg und für $\alpha v\beta 3$ auf 53 nm sank. Diese Befunde veranlassten uns zu einer systematischen Untersuchung des Potenzials der Hydroxamsäuren als Integrinliganden wie auch der strukturellen und elektronischen Aspekte der beobachteten Selektivität. In unserer vorangegangenen Studie hatten wir gefunden, dass die räumliche Orientierung des aromatischen Restes in der Nähe der Carbonsäure entscheidend für die Selektivität des Liganden ist – ein Mesitylcarboxamid führt zu $\alpha 5\beta 1$ -Selektivität, während eine Sulfonamidgruppe biselektive Liganden ergibt.^[14b–d] Daher erwarteten wir, dass die Substitution des Carboxylats durch ein Hydroxamat einen großen Einfluss auf die Positionierung dieser Gruppe haben würde. Hierfür wurden sechs Ligandenpaare, welche die 2-Aminopyridingruppe als basischen Rest gemein haben, synthetisiert und auf ihr Aktivitäts- und Selektivitätsprofil hin untersucht. Des Weiteren fertigten wir Hydroxamatanaloga eines $\alpha v\beta 3$ -selektiven Liganden an, der auf einem β -Homo-tyrosin beruht. Zusätzlich erstellten wir eine andere Verbindlungsbibliothek auf Grundlage einer Leitstruktur mit einem Tetrahydropyrimidin als basischer Gruppe und einem Benzosulfonamidsubstituenten, das bereits zuvor Liganden mit hoher Affinität für $\alpha v\beta 3$ und moderater Affinität für $\alpha 5\beta 1$ ergeben hatte.^[14b,c] Die Überführung der Carbonsäure in einen Ester, ein Amid, ein Azylhydrazin und eine *N*-Methylhydroxamsäure sollte die Frage beantworten, ob andere Carbonsäurederivate ähnlich veränderte Affinitäten und Selektivitäten wie die Hydroxamsäure zeigen.

Die Synthese aller Liganden begann ausgehend von literaturbekannten Vorstufen (**1**, **3**, **4** und **11**).^[14b,c] Nach Boc-Entschützung mit verdünnter Salzsäure in Dioxan wurden die resultierenden Amine entweder mit aromatischen Carbonsäuren oder mit aromatischen Sulfonylchloriden entsprechend dem gewünschten Selektivitätsprofil acyliert. Während die Verseifung der Methylester mir LiOH in Methanol/Wasser die Carbonsäuren ergab, ließen sich die Hydroxamsäuren am besten erhalten, indem die Verseifungslösung mit einem Überschuss Hydroxylamin versetzt wurde.^[16] Eine zuvor untersuchte Prozedur mit Kaliumcyanid-katalysierter Aminolyse des Methylesters (**11**→**12b**; siehe Schema 2) wurde wegen der geringeren Ausbeute und längeren Reaktionszeit verworfen. Im Unterschied zu den restlichen Hydroxamsäureliganden wurde **2b** durch Kupplung der freien Säure an *O*-Benzylhydroxylamin mit anschließender Hydrogenolyse erhalten. Dieser Reaktionsweg erwies sich als schwer zu steuern, da manchmal eine Überreduktion zum Amin erfolgte, und wurde daher bei der Synthese der anderen Hydroxamsäureliganden nicht mehr genutzt (Schema 1). Die

zweite Serie von Verbindungen ging von Vorstufe **11** aus, die in die Derivate **12a–f** umgesetzt wurde (Schema 2). Alle Liganden wurden durch HPLC an reverser Phase (RP-HPLC)

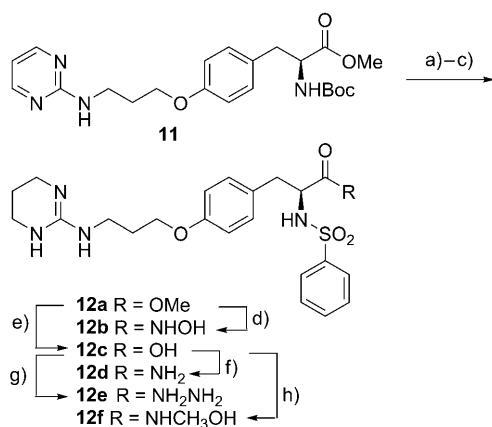


Schema 1. Synthese der Hydroxamsäure- und Carbonsäureliganden

5–10. Reagentien und Bedingungen: a) HCl/H₂O/Dioxan; dann b) PhCOCl, NaHCO₃, THF/H₂O oder MesCOOH, HATU, DIPEA, DMF oder ArSO₂Cl, DIPEA, DMF; c) LiOH, MeOH/H₂O (Säuren) oder LiOH, wässr. NH₂OH, MeOH/H₂O (Hydroxamsäuren). Alle Verbindungen wurden durch RP-HPLC unter Verwendung von MeCN/H₂O mit 0.1% TFA als Laufmittel gereinigt. Details und analytische Daten siehe Hintergrundinformationen. Bn = Benzyl, Boc = *tert*-Butoxycarbonyl, DIPEA = Diisopropylethylamin, HATU = 2-(1*H*-7-Azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-hexamphosphat, Mes = 2,4,6-Trimethylphenyl, TFA = Trifluoressigsäure.

gereinigt und durch ELISA („enzyme-linked immunosorbent assay“) ausgewertet, für das die immobilisierten natürlichen Integrinliganden Fibronectin und Vitronectin sowie die gelösten Integrine $\alpha 5\beta 1$ bzw. $\alpha v\beta 3$ verwendet wurden.

Rechnungen wurden durchgeführt, um die Selektivität der Inhibierung des $\alpha v\beta 3$ - oder $\alpha 5\beta 1$ -Integrinrezeptors durch die Liganden **5–9** besser zu verstehen. Tabelle 1 zeigt, dass die unterschiedlichen metallkoordinierenden Gruppen zusammen mit den sperrigen Substituenten in der α -Position entscheidend für die Inhibierung der Aktivität wie auch für die Rezeptorselektivität sind. Um diesen Einfluss zu untersuchen, wurden die Inhibitoren automatisch mithilfe von AutoDock4 (AD4) in unser publiziertes Homologiemodell des $\alpha 5\beta 1$ -Integrins^[14a] und in die Kristallstruktur des $\alpha v\beta 3$ -Rezeptors im Komplex mit Cilengitid (PDB-Code: 1L5G)^[17] nach Entfernung des cokristallisierten Inhibitors gedockt. Da



Schema 2. Synthese der Liganden **12a–f**. Reagentien und Bedingungen: a) HCl/Dioxan; b) PhSO₂Cl, DIPEA, DMF; c) H₂/Pd/C, MeOH; d) KCN, NH₂OH, MeOH/H₂O; e) LiOH, MeOH/H₂O; f) Rink-Amidharz, TBTU, HOBr, DIPEA, NMP, dann 95%TFA; g) NH₂NHBoc, TBTU/HOBr, DMF; h) LiOH, NHMeOH, MeOH/H₂O. Details und analytische Daten siehe Hintergrundinformationen. HOBr=1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol, NMP=N-Methylpyrrolidinon, TBTU=2-(1*H*-Benzotriazo-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-tetrafluoroborat.

Tabelle 1: IC₅₀-Werte der Integrinliganden für α₅β₁ und α_vβ₃.

	R ²	n	R ¹	IC ₅₀ [nM] α ₅ β ₁ ^[a]	IC ₅₀ [nM] α _v β ₃ ^[a]
5a	-OH			243	207
5b	-NHOH	0		2470	14
6a	-OH			2.5	703
6b	-NHOH	0		1244	72
7a	-OH			284	1.9
7b	-NHOH	0		296	11
8a	-OH			46	3.4
8b	-NHOH	0		132	4.8
9a	-OH			1	279
9b	-NHOH	0		40	13.5
10a	-OH			264	1.2
10b	-NHOH	1		4500	12

[a] IC₅₀-Werte wurden durch ELISA mit den immobilisierten natürlichen Integrinliganden Fibronectin und Vitronectin und den gelösten Integrinen α₅β₁ bzw. α_vβ₃ erhalten (siehe Hintergrundinformationen für Details).

die AD4-Ergebnisse mit den Standardladungen (Gasteiger) für die Liganden und das Protein die Koordinationsgeometrie der metallkoordinierenden Gruppen nicht ganz zufriedenstellend wiedergaben, führten wir orientierende Ab-initio-Rechnungen am Manganion in der MIDAS-Region, an seiner

koordinierenden Aminosäure (Unterseite des Manganzentrums) und am Liganden selbst durch (siehe Hintergrundinformationen für Details). Unter Verwendung der durch Ab-initio-Rechnungen erhaltenen Ladungen gelang eine genauere Wiedergabe der experimentellen Bindungsgeometrie von Cilengitid, was eine Grundvoraussetzung für das Docken von **5–9** war.

Gemäß unseren Docking-Studien koordiniert **9a** im Integrin α₅β₁ das Metallion mit einem der zwei Sauerstoffatome des Carboxylats, während das andere Sauerstoffatom eine H-Brücke mit der Rückgrat-NH-Gruppe von (β1)-Asn218 bildet, ähnlich wie die Carboxygruppe in der Struktur von Cilengitid im Kristall (Abbildung 1). Der Isopropoxyphe-

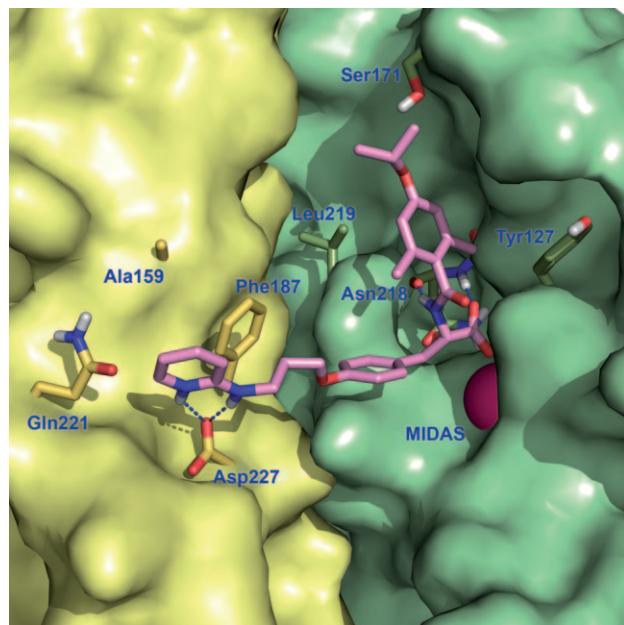


Abbildung 1. In die Bindungstasche des α₅β₁-Integrins gedocktes **9a** (pink); weiß H, blau N, rot O. Die α₅- und β₁-Untereinheiten sind durch die gelbe bzw. grüne Oberfläche dargestellt. In beiden Untereinheiten sind die für die Ligandenbindung wichtigen Aminosäuren als Stäbchen hervorgehoben. Das Metallion in der MIDAS-Region ist durch eine magentafarbene Kugel dargestellt.

nylrest fügt sich sehr gut in die β₁-Region ein, wo er eine π-π-Wechselwirkung mit (β1)-Tyr127 (Abstand zwischen den Schwerpunkten der Ringe: 6.1 Å) eingeht. In dieser Anordnung liegt die *p*-Isopropoxylgruppierung in der Nähe der (β1)-Ser171-Seitenkette (Abstand der beiden Sauerstoffatome: 3.6 Å), die aus dem (β1)-SDL (specificity-determining loop) herausragt und wahrscheinlich eine H-Brücke bildet. Das Tyrosingerüst von **9a** befindet sich in der Nähe von (α5)-Phe187, wodurch es dem basischen Rest möglich ist, eine gabelförmige Salzbrücke mit dem hochkonservierten (α5)-Asp227 aufzubauen. All diese Wechselwirkungen sind eindeutig für die subnanomolare Aktivität von **9a** in Bezug auf den α₅β₁-Rezeptor verantwortlich, wogegen seine (1000fach) verminderte Affinität für α_vβ₃ von uns bereits zuvor der sterischen Hinderung zwischen dem Isopropoxypheylrest von **9a** und der (β3)-Arg214-Seitenkette zugeschrieben wurde.^[14b,c]

Beim Docken des Hydroxamsäureanalogons **9b** in $\alpha\beta 3$ wurden sowohl ein zweizähniger (O,O)-Chelatmodus als auch ein einzähniger (O)-Koordinationsmodus gefunden. Überraschenderweise wurde allerdings die zweizähnige (O,O)-Chelatbindung, die in biologischen Systemen am häufigsten beobachtet wird, in unseren Docking-Studien nur selten gefunden und ergab auch keinerlei plausiblen Bindungsmodus. Tatsächlich kann, sofern ein zweizähniger (O,O)-Chelatmodus betrachtet wird, aufgrund der Form der Bindungstasche und der Gegenwart von ($\beta 3$)-Ser121, ($\beta 3$)-Glu220 und ($\beta 3$)-Ser123, die das Metallion direkt in der MIDAS koordinieren, der basische Rest des Liganden nicht korrekt in die enge Furche oben auf der Propellerdomäne von αv eingesetzt werden, wo die Kontakte mit ($\beta 3$)-Asp218 und/oder ($\beta 3$)-Asp150 vermutet werden. Dagegen brachte einer der mit dem AD4-Programm berechneten, einzähnigen Koordinationsmodi den Liganden in eine sehr sinnvolle Position, die es ihm ermöglichte, zusätzlich zur Koordination des Metallions in der MIDAS-Region π - π -Wechselwirkungen mit (αv)-Tyr178 über sein Tyrosingerüst, eine hydrophobe Wechselwirkung mit ($\beta 3$)-Tyr122 über den Isopropoxyphenylrest sowie eine gabelförmige Salzbrücke zwischen dem basischen Rest und (αv)-Asp218 einzugehen (Abbildung 2).

Tabelle 1 zeigt, dass bei der Substitution der Carboxygruppe von **9a** durch einen Hydroxamatrest (**9b**) die Aktivität für den $\alpha\beta 3$ -Rezeptor erhalten bleibt. Legt man den Bindungsmodus von **9a** (in $\alpha 5\beta 1$, Abbildung 1) graphisch über jenen von **9b** (in $\alpha\beta 3$, Abbildung 2), sieht man eine Abwärtsbewegung des Isopropoxyphenylrestes des Hydroxamatderivates (Abbildung 3), die für die Aktivität für $\alpha\beta 3$ verantwortlich sein dürfte. Darüber hinaus ist der Ab-

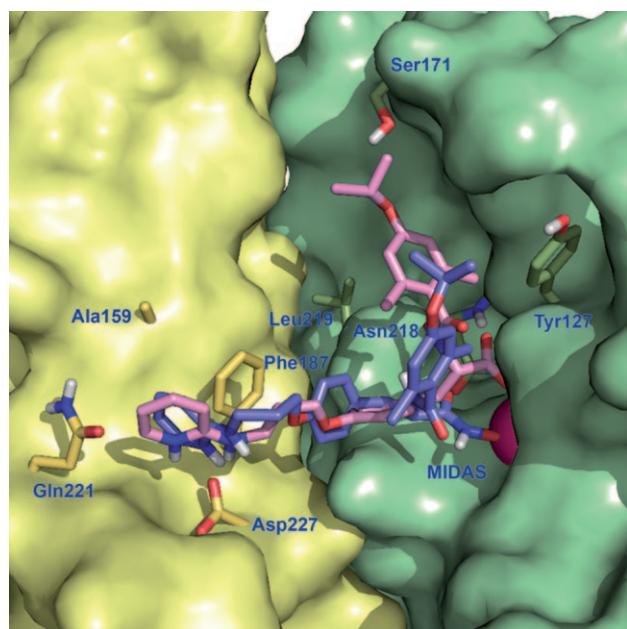


Abbildung 3. Überlagerung der Bindungsmodi von **9b** (blau) in $\alpha\beta 3$ und **9a** (pink) in $\alpha 5\beta 1$; weiß H, blau N, rot O. Lediglich die Oberfläche von $\alpha 5\beta 1$ ist gezeigt.

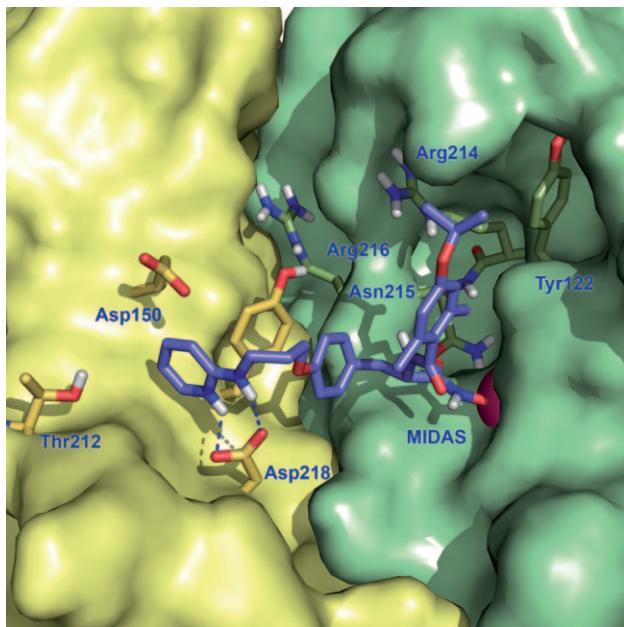


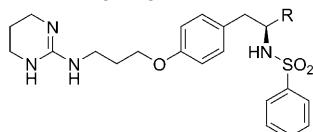
Abbildung 2. In die Bindungstasche des $\alpha v \beta 3$ -Integrins gedocktes **9b** (blau); weiß H, blau N, rot O. Die α - und $\beta 3$ -Untereinheiten sind durch gelbe bzw. grüne Oberflächen dargestellt. In beiden Untereinheiten sind die für die Ligandenbindung wichtigen Aminosäuren als Stäbchen hervorgehoben. Das Metallion in der MIDAS-Region ist durch eine magentafarbene Kugel dargestellt.

stand zwischen dem metallkoordinierenden Sauerstoffatom und dem sperrigen Rest in der α -Position wegen der Strukturunterschiede zwischen Carbon- und Hydroxamsäuren (die einen größeren Abstand zwischen den beiden Sauerstoffatomen haben) für **9b** größer als für **9a**. Als Konsequenz dessen ermöglicht die Koordination durch das Hydroxamat bei **9b** eine Verschiebung des Isopropoxyphenylrestes zur α -Untereinheit hin und damit eine Orientierung, in der die Isopropoxyphenylgruppe eine hydrophobe Wechselwirkung mit ($\beta 3$)-Tyr122 eingehen kann (Abbildung 3). Weiterhin ist die Selektivität von **9b** in Bezug auf **9a** invertiert; **9b** bevorzugt tendenziell die Inhibierung des $\alpha v \beta 3$ -Rezeptors anstatt des $\alpha 5\beta 1$ -Rezeptors. Unseren Befunden zufolge ist dies mit dem gewachsenen Abstand zwischen den sauren und basischen Gruppen im Fall der Hydroxamsäure in **9b** zu begründen (siehe oben). In Übereinstimmung mit unseren kürzlich publizierten Ergebnissen^[14b,c] verringert die Mutation von (αv)-Thr212 zu ($\alpha 5$)-Gln221 im $\alpha 5\beta 1$ -Rezeptor den für den basischen Rest des Liganden verfügbaren Raum, weshalb Verbindungen mit einer kürzeren Kette bevorzugt an den $\alpha 5\beta 1$ -Rezeptor binden. Dementsprechend verliert **10b**, das gegenüber den Hydroxamaten nochmals um eine Methylengruppe verlängert ist, vollständig seine Aktivität für $\alpha 5\beta 1$. Bei **8a** haben frühere Docking-Experimente gezeigt, dass das Vorhandensein eines Sulfonamids der Mesitylengruppe ein Zurückfallen in Richtung der α -Untereinheit ermöglicht, was dem Liganden eine Inhibitoraktivität für beide Rezeptoren verleiht. Die leicht höhere Aktivität von **8a** für $\alpha v \beta 3$ kann dem polaren Kontakt zwischen den Sulfonamidsauerstoffatomen und der Guanidinogruppe von ($\beta 3$)-Arg214 zugeschrieben werden. Entsprechend zeigt das Hydroxamat-analogon **8b** eine geringere Affinität für das $\alpha 5\beta 1$ -Integrin als sein Carboxylatanalagon **8a**; die Ursache scheint hier wieder

im größeren Abstand zwischen dem metallkoordinierenden Sauerstoffatom und dem basischen Rest zu liegen. In Bezug auf das Selektivitätsprofil von **8b** kann ein ähnlicher Einfluss wie in **9b** angenommen werden.

Um zu untersuchen, ob weitere Derivate der Carbonsäuren und Hydroxamate ebenfalls an Integrine binden können, verglichen wir sechs unterschiedliche C-Termini eines Liganden, von dem eine hohe $\alpha\beta 3$ -Aktivität in seiner Carbonsäureform **12c** angenommen wurde. Tabelle 2 zeigt

Tabelle 2: IC₅₀-Werte der Integrinliganden für $\alpha 5\beta 1$ und $\alpha\beta 3$.



	R	IC ₅₀ [nM] $\alpha 5\beta 1^{[a]}$	IC ₅₀ [nM] $\alpha\beta 3^{[a]}$
12a	-COOMe	2366	419
12b	-CONHOH	85	5.3
12c	-COOH	79	4.2
12d	-CONH ₂	>20000	>1000
12e	-CONHNH ₂	9000	290
12f	-CONCH ₃ OH	5216	359

[a] IC₅₀-Werte wurden durch ELISA mit den immobilisierten natürlichen Integrinliganden Fibronectin und Vitronectin und den gelösten Integrinen $\alpha 5\beta 1$ bzw. $\alpha\beta 3$ erhalten (siehe Hintergrundinformationen für Details).

die herausragend hohe Affinität der Hydroxamsäure **12b** im Vergleich zu den anderen Derivaten. Es ist bemerkenswert, dass die Hydroxamate trotz ihrer reduzierten Acidität [pK_s (*N*-Hydroxyacetamid) = 9.40; zum Vergleich: pK_s (HOAc) = 4.76],^[18] immer noch fähig sind, das MIDAS-Metallion effizient zu binden. Die niedrige Affinität von **12e** ist das Ergebnis der Substitution des MIDAS-bindenden Sauerstoffatoms durch eine Hydrazid-NH₂-Gruppe mit schlechten Koordinationseigenschaften. Ein noch drastischerer Effekt wird für das Amid **12d** beobachtet. Ähnlich wie bei **12e** kann eine Restbindungsaffinität beim Methylester **12a** erkannt werden. Die Empfindlichkeit des Bindungsmodus in Bezug auf zusätzliche Substituenten wird durch die niedrige Affinität der *N*-methylierten Hydroxamsäure **12f** belegt.

Auf Grundlage eines Homologiemodells von Integrin $\alpha 5\beta 1$ und früheren Studien zu den Struktur-Aktivitäts-Beziehungen gelang uns die erstmalige Substitution der allgemeinwährtigen Carbonsäurefunktion in Integrinliganden. Aufwändiges Molecular Modeling der MIDAS-Region von $\alpha\beta 3$ und $\alpha 5\beta 1$ half bei der Aufklärung des Bindungsmodus dieser neuen Ligandenklasse und der beobachteten Selektivitäten für $\alpha\beta 3$. Unsere Ergebnisse brechen mit dem Dogma der Unverzichtbarkeit von Carbonsäure-funktionalisierten RGD-Mimetika und könnten neue Leitstrukturen für die pharmazeutische Forschung ergeben.

Ein eingegangen am 13. Januar 2009
Online veröffentlicht am 2. April 2009

Stichwörter: Hydroxamsäuren · Integrinliganden · Tumortherapeutika · Struktur-Aktivitäts-Beziehungen · Molecular Modeling

- [1] a) J. W. Tamkun, D. W. DeSimone, D. Fonda, R. S. Patel, C. Buck, A. F. Horwitz, R. O. Hynes, *Cell* **1986**, *46*, 271–282; b) R. O. Hynes, *Cell* **2002**, *110*, 673–687; c) M. Cohen, D. Joester, B. Geiger, L. Addadi, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 1393–1399.
- [2] R. M. Scarborough, D. D. Gretler, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3453–3473.
- [3] T. Arndt, U. Arndt, U. Reuning, H. Kessler in *Cancer Ther. Molecular Targets in Tumor-Host Interactions* (Hrsg.: G. F. Weber), Horizon Bioscience, Wymondham, Großbritannien, **2005**, S. 93–141.
- [4] R. Dresner-Pollak, M. Rosenblatt, *J. Cell. Biochem.* **1994**, *56*, 323–330.
- [5] a) A. T. Springer, *Cell* **1994**, *76*, 301–314; b) A. Davidson, B. Diamond, *N. Engl. J. Med.* **2001**, *345*, 340–350.
- [6] a) D. A. Cheresh, R. C. Spiro, *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 17703–17711; b) P. C. Brooks, A. M. Montgomery, M. Rosenfeld, R. A. Reisfeld, T. Hu, G. Klier, D. A. Cheresh, *Cell* **1994**, *79*, 1157–1164; c) J. Folkman, *N. Engl. J. Med.* **1971**, *285*, 1182–1186; d) J. Folkman, *Sem. Oncol.* **2002**, *29*, 15–18; e) A. Meyer, J. Auernheimer, A. Modlinger, H. Kessler, *Curr. Pharm. Des.* **2006**, *12*, 2723–2747.
- [7] M. D. Pierschbacher, E. Ruoslahti, *Nature* **1984**, *309*, 30–33.
- [8] a) T. Weide, A. Modlinger, H. Kessler, *Top. Curr. Chem.* **2007**, *272*, 1–50; b) C. Henry, N. Moitessier, Y. Chapleur, *Mini-Rev. Med. Chem.* **2002**, *2*, 531–542.
- [9] M. A. Dechantsreiter, E. Planker, B. Mathä, E. Lohof, G. Hölezmann, A. Jonczyk, S. L. Goodman, H. Kessler, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3033–3040.
- [10] a) G. D. Hartman, M. S. Egbertson, W. Halzenko, W. L. Laswell, M. E. Duggan, R. L. Smith, A. M. Naylor, P. D. Manno, R. J. Lynch, G. Zhang, C. T.-C. Chang, R. J. Gould, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 4640–4642; b) J. J. Cook, B. Bednar, J. J. Lynch, R. J. Gould, M. S. Egbertson, W. Halzenko, M. E. Duggan, G. D. Hartman, M. W. Lo, G. M. Murphy, L. I. Deckelbaum, F. L. Sax, E. Barr, *Cardiovasc. Drug Rev.* **1999**, *17*, 199–224.
- [11] a) R. Dayam, F. Aiello, J. X. Deng, Y. Wu, A. Garofalo, X. Y. Chen, N. Neamati, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 4526–4534; b) R. Haubner, D. Finsinger, H. Kessler, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1440–1456; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1374–1389; c) P. J. Coleman, B. C. Askew, J. H. Hutchinson, D. B. Whitman, J. J. Perkins, G. D. Hartman, G. A. Rodan, C. T. Leu, T. Pruesaritanont, C. Fernandez-Metzler, K. M. Merkle, R. Lynch, J. J. Lynch, S. B. Rodan, M. E. Duggan, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2463–2465; d) J. J. Marugán, C. Manthey, B. Anacletio, L. Lafrance, T. Lu, T. Markotan, K. Leonard, C. Crysler, E. Eisennagel, M. Dasgupta, B. Tomczuk, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 926–934.
- [12] M. J. Humphries, *Biochem. Soc. Trans.* **2000**, *28*, 311–339.
- [13] a) T. Xiao, J. Takagi, B. S. Coller, J. H. Wang, T. A. Springer, *Nature* **2004**, *432*, 59–67; b) D. F. Legler, G. Wiedle, F. P. Ross, B. A. Imhof, *J. Cell Sci.* **2001**, *114*, 1545–1553.
- [14] a) L. Marinelli, A. Meyer, D. Heckmann, A. Lavecchia, E. Novellino, H. Kessler, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 4204–4207; b) D. Heckmann, A. Meyer, L. Marinelli, G. Zahn, R. Stragies, H. Kessler, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 3641–3644; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 3571–3574; c) D. Heckmann, A. Meyer, B. Laufer, G. Zahn, R. Stragies, H. Kessler, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 1397–1407; d) R. Stragies, F. Osterkamp, G. Zischinsky, D. Vossmeyer, H. Kalkhof, U. Reimer, G. Zahn, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 3786–3794.
- [15] a) C. Marmion, D. Griffith, K. Nolan, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2004**, 3003–3016; b) S. S. Tam, D. H. Lee, E. Y. Wang, D. G. Munroe,

- C. Y. Lau, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 13948–13955; c) N. Nishino, J. C. Powers, *Biochemistry* **1979**, *18*, 4340–4347; d) M. Arnold, D. A. Brown, O. Deeg, W. Errington, W. Haase, K. Herlihy, T. J. Kemp, H. Nimir, R. Werner, *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 2920–2925.
[16] C. Y. Ho, E. Strobel, J. Ralbovsky, R. A. Galemmo, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4873–4875.
-
- [17] J. P. Xiong, T. Stehle, R. Zhang, A. Joachimiak, M. Frech, S. L. Goodman, M. A. Arnaout, *Science* **2002**, *296*, 151–155.
[18] W. M. Wise, W. W. Brandt, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 1058–1059.