

ANTİKANSER ETKİLİ MATRİKS METALLOPROTEİNAZ ENZİM İNHİBİTÖRLERİ

MATRIX METALLOPROTEINASE INHIBITORS WITH ANTICANCER ACTIVITY

Zehra ARSLAN^{1,2}   ROR, Oya BOZDAĞ DÜNDAR^{1*}   ROR

¹Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

² Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye

ÖZ

Amaç: Matriks metalloproteinazların (MMP'ler) yapısı, işlevi ve özgül aktiviteleri hakkında güncel bilgileri sunmak; özellikle MMP-2 ve MMP-9 olarak bilinen jelatinazların kanser gelişimi, anjiyogenez, tümör invazyonu ve metastaz oluşturmadaki rolleri doğrultusunda antikanser terapötik hedefler olarak önemini vurgulamaktır. Ayrıca, sentetik MMP inhibitörleri başta olmak üzere jelatinaz inhibitörlerinin tasarımı, geliştirilmesi ve seçicilik stratejilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Sonuç ve Tartışma: MMP'ler, hücre dışı matriksin yapısal bileşenlerini parçalayarak doku yeniden şekillenmesi, yara iyileşmesi ve anjiyogenez gibi birçok fizyolojik ve patolojik süreçte rol oynayan metalloproteinazlar ailesine ait enzimlerdir. Jelatinazlar olarak sınıflandırılan MMP-2 ve MMP-9'un çeşitli malignitelerde aşırı ekspresyon göstermesi, bu enzimleri önemli terapötik hedefler haline getirmiştir. İlk kuşak MMP inhibitörleri; hidroksamik asit, tiyol, karboksilat, fosfonat veya azot içeren heterosiklik yapılarda çinko bağlayıcı gruplar (ZBG) taşıyan bileşiklerden oluşmuştur. Hidroksamat bazlı inhibitörler güçlü çinko şelatlama özellikleri ve geniş spektrumlu etkileriyle öne çıkmış; ancak seçicilik eksikliği ve kas-iskelet sistemi toksisitesi gibi klinik sınırlamalar, ZBG içermeyen inhibitörler ile mekanizma temelli ve allosterik inhibisyon yaklaşımlarının geliştirilmesini teşvik etmiştir. Yapısal çalışmalar, özellikle S1' alt cebinin seçiciliğin belirlenmesindeki kilit rolünü ortaya koymuş ve jelatinazlara özgü dar spektrumlu inhibitörlerin rasyonel tasarımına yön vermiştir. Ayrıca protein mühendisliği, antikör temelli inhibitörler ile TIMP ve pro-domain benzeri biyolojik ajanlar, seçiciliği ve biyoyumumluluğu artıran yeni nesil yaklaşımlar arasında yer almaktadır.

Anahtar Kelimeler: Antikanser aktivite, çinko (II) bağlama grubu, hidroksamik asit, jelatinaz inhibitörleri, matriks metalloproteinaz

ABSTRACT

Objective: To provide up-to-date information on the structure, function, and specific activities of matrix metalloproteinases (MMPs), with particular emphasis on gelatinases MMP-2 and MMP-9 as anticancer therapeutic targets due to their roles in cancer development, angiogenesis, tumor invasion, and metastasis. Additionally, this review evaluates the design, development, and selectivity strategies of gelatinase inhibitors, focusing primarily on synthetic MMP inhibitors.

* Sorumlu yazar: Oya Bozdağ Dündar

E-mail: bozdag@pharmacy.ankara.edu.tr

Geliş tarihi: 07.07.2025 Kabul tarihi: 27.07.2026 Yayınlanma tarihi: 19.09.2026

Atıf bilgisi: Arslan, Z., Bozdağ-Dündar, O. (2026). Antikanser etkili matriks metalloproteinaz enzim inhibitörleri. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 50(3), 834-859.

Result and Discussion: MMPs are enzymes belonging to the metalloproteinase family that participate in numerous physiological and pathological processes, including tissue remodeling, wound healing, and angiogenesis, by degrading structural components of the extracellular matrix. The overexpression of gelatinases MMP-2 and MMP-9 in various malignancies has rendered these enzymes significant therapeutic targets. First-generation MMP inhibitors consisted of compounds bearing zinc-binding groups (ZBGs), such as hydroxamic acid, thiol, carboxylate, phosphonate, or nitrogen-containing heterocyclic structures. Hydroxamate-based inhibitors emerged as prominent candidates in early studies due to their strong zinc-chelating properties and broad-spectrum activity; however, clinical limitations, including lack of selectivity and musculoskeletal toxicity, have driven the development of alternative approaches, such as ZBG-free inhibitors and mechanism-based or allosteric inhibition strategies. Structural studies have revealed the critical role of the S1' subsite in determining selectivity, thereby guiding the rational design of narrow-spectrum, gelatinase-selective inhibitors. Furthermore, protein engineering approaches, antibody-based inhibitors, and biological agents such as TIMPs and pro-domain-like molecules represent next-generation strategies that enhance selectivity and biocompatibility.

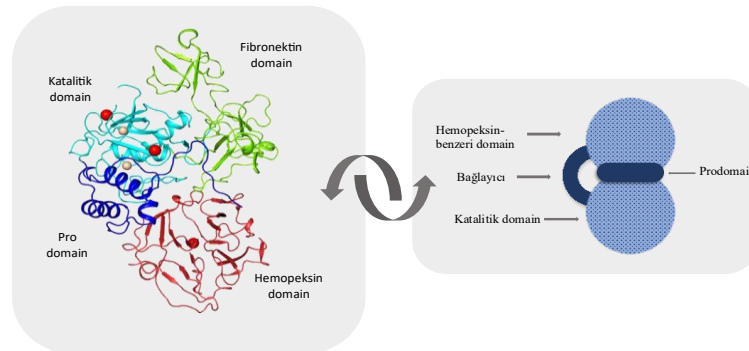
Keywords: Anticancer activity, gelatinase inhibitors, hydroxamic acid, matrix metalloproteinase, zinc (II) binding group

GİRİŞ

Matrix metalloproteinaz (MMP)'lar, metalloproteinaz enzim üst ailesi içinde yer alan, benzer yapısal özellikler gösteren ancak farklı substrat tercihlerine sahip çinko bağımlı endopeptidazlardır [1]. MMP'ler, hücreler tarafından inaktif proenzim formunda sentezlenerek ekstraselüler ortama salınmakta ve burada yapısal bir dönüşüm geçirerek aktive edilmektedir [2]. Bugüne kadar toplam 28 MMP enzimi tanımlanmıştır. Bu enzimler; hücrel kaynaklarına, primer yapılarına, substrat seçiciliğine ve biyolojik fonksiyonlarına bağlı olarak beş gruba ayrılabilirler [1-3]:

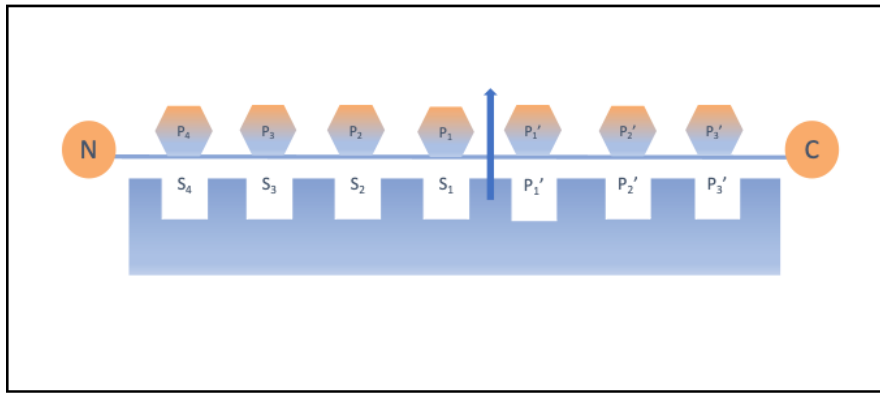
- (A) Kollajenazlar (MMP-1, -8, -13 ve -18),
- (B) Jelatinazlar (MMP-2 ve -9),
- (C) Stromelisinler (MMP-3, -10 ve -11),
- (D) Membran tipi MMP'ler (MMP-14, -15, -16, -17, -23, -24 ve -25),
- (E) Matrilisinler (MMP-7 ve -26) ve
- (F) Diğerleri (MMP-12, -19, -20, -21, -22, -27 ve -28).

MMP'ler yapısal olarak genellikle bir pro-domain, bir katalitik domain, bir hemopeksin-benzeri domain içerir. Membran tipi MMP'ler, klasik MMP yapısına ek olarak bir transmembran domaini de içerir [4]. MMP'lerin ortak yapısal özellikleri Şekil 1'de gösterilmiştir. Bununla birlikte, bazı MMP'ler şekilde gösterilen tüm yapısal özellikleri taşımamaktadır. Pro-domain, MMP'yi katalitik çinko ile etkileşime girmesini engelleyen bir sistein anahtarıyla inaktif tutar. Katalitik domain, yüksek derecede korunmuş iki çinko iyonu, üç kalsiyum iyonu ve üç histidin kalıntısı içermektedir. Katalitik domainin terminal kısmında, substrat özgüllüğü için belirleyici bir faktör olan S1' cephesinin dış duvarını oluşturan bir bölge bulunur. Bu bölge aynı zamanda MMP'ler arasında en fazla varyasyon gösteren yapısal unsurdur [5].



Şekil 1. MMP genel yapısı ve şematik gösterimi

MMP enzim sınıflarında katalitik merkez ve doğal substrat önemli ölçüde değişmektedir. Bu nedenle, amino asit kalıntılarının ve enzim yüzeyindeki tanıma bölgelerinin sistemli ve tutarlı bir şekilde adlandırılabilmesi için ortak bir sınıflandırma sistemine ihtiyaç duyulmuştur. Büyük oranda kabul gören bu adlandırma sistemi, Schechter ve Berger tarafından önerilmiştir [6]. Bu sisteme göre amino asitler Şekil 2'de gösterildiği gibi Scissile amid bağından başlayarak adlandırılır. Substratın amino asit pozisyonları (P), scissile amid bağından sayılır ve enzim topolojisinin işgal ettikleri alt bölge numaralandırılması ile paraleldir. Substratın N-terminal ucunda yer alan amino asit kalıntıları P₁, P₂ ve P₃; C-terminal ucunda bulunan kalıntılar ise P₁', P₂' ve P₃' olarak adlandırılmaktadır. Benzer şekilde substratın N-terminal kısmıyla etkileşen bölgeler S₁, S₂ ve S₃ olarak adlandırılırken enzimin C-terminal kısmındaki astarlanmış bölgeler S₁', S₂' ve S₃' olarak adlandırılır. Metallopeptidazlar için standart yönlendirme sistemine uygun olarak enzimin astarlanmamış tarafına ilişkin model, Bode ve çalışma arkadaşları tarafından önerilmiştir [7]. Bu bölge MMP'ler içinde önemli ölçüde farklılık gösterdiği için S₁' alt bölgesinin önemi sonraki çalışmalarda da sıklıkla vurgulanmıştır [8].



Şekil 2. Substrattaki amino asitlerin isimlendirilmesi

MMP'ler; ekstraselüler matris proteinleri ve glikoproteinlerin yanı sıra, membran reseptörleri, sitokinler, hormonlar, kemokinler, adezyon molekülleri ve büyüme faktörleri gibi çeşitli biyomolekülleri işleyebilirler [9]. MMP'lerin yalnızca ekstraselüler ortamda değil, intrasellüler düzeyde de aktif olabildikleri gösterilmiştir. Örneğin, bazı çalışmalar MMP-2'nin miyokardiyal miyositlerde intrasellüler olarak lokalize olduğunu ve kardiyak miyofilamentlerde troponin I ile ortak lokalizasyon gösterdiğini ortaya koymuştur. Ek olarak MMP-2 aktivitesi insan kalp dokusu ve sıçan karaciğer hücrelerinde de tespit edilmiştir [10]. MMP'ler, doku onarımı ve remodelasyonu, hücre farklılaşma, embriyogenez, anjiyogenez, hücre hareketliliği, morfogenez, yara iyileşmesi, inflamatuvar yanıt, apoptoz, ovulasyon ve endometrial proliferasyon gibi birçok biyolojik süreçte yer almaktadır [9].

MMP aktivitesinin düzensizleşmesi, hangi enzimin dahil olduğuna bağlı olarak kanser ve metastaz, inflamatuvar süreçler, artrit, ülser, periodontal hastalıklar, beyin dejeneratif hastalıkları, karaciğer sirozu, fibrotik akciğer hastalıkları, otoskleroz, ateroskleroz, multipl skleroz, dilate kardiyomyopati, aort anevrizması gibi çeşitli patolojilerin ilerlemesine yol açar [11].

Jelatinazlar (MMP2 ve MMP9) ve Antikanser Hedefler Olarak Önemleri

Jelatinazlar, inaktif form halinde sentezlenip genel olarak fibroblastlar, vasküler düz kas hücreleri ve lökositler tarafından salgılanırlar ve hücreler ile dokuların ara boşluklarına yönlendirilerek ekstrasellüler matris proteinlerinin yıkımında ve hücre yüzey proteinlerinin düzenlenmesinde hem fizyolojik hem de patolojik koşullar altında görev alırlar [1]. Jelatinazlar, MMP ailesindeki diğer proteinazlarla yapısal olarak benzerlik göstermelerine rağmen, jelatin bağlanması için gerekli olan ve katalitik domainin N-terminalinde yer alan üç ardışık fibronektin tip II tekrarından oluşan özgün bir kollajen bağlama bölgesine sahiptirler [12].

Jelatinazların aktivasyonu, "sistein anahtarı (cysteine switch)" olarak adlandırılan özel bir

mekanizma ile gerçekleşir [13]. Bu süreçte enzimin pro-peptid bölgesinde yer alan korunmuş bir sistein kalıntısı, çinko iyonuna bağlanarak substratın katalitik bölgeye erişimini engeller. Bu mekanizma ile çinko-sistein şelasyonu yoluyla MMP'lerin inaktif pro-enzim formda tutulması sağlanmaktadır. Bu temel mekanizma, çinko bağlanma bölgesi ve sistein kalıntısı taşıyan tüm MMP izoformları için geçerlidir [13]. Jelatinazlar ve inhibitörlerinin kristal yapıları üzerine gerçekleştirilen X-ışını çalışmaları, daha seçici MMP inhibitörlerinin geliştirilmesine yönelik yapı-aktivite ilişkileri hakkında önemli bilgiler sunmuştur. Jelatinazların katalitik domaininde yer alan S1' cebi gibi bölgeler, farklı MMP izoformları arasında değişkenlik göstermekte olup, bu varyasyonlar belirli MMP'lere özgü inhibitörlerin tasarımında kilit rol oynamaktadır [14].

MMP-2 ve MMP-9, kanser progresyonunda kritik roller üstlenmekte olup; anjiyogenez, metastaz ve tümör hücrelerinin proliferasyonu gibi çeşitli patofizyolojik süreçlerde doğrudan etkilidir [15]. MMP ailesinin diğer üyeleriyle karşılaştırıldığında, MMP-2 ve MMP-9'un özellikle tümör gelişiminin farklı evreleri arasındaki dinamik etkileşimlerde belirgin rolleri nedeniyle terapötik hedefler arasında ön plana çıkmaktadır.

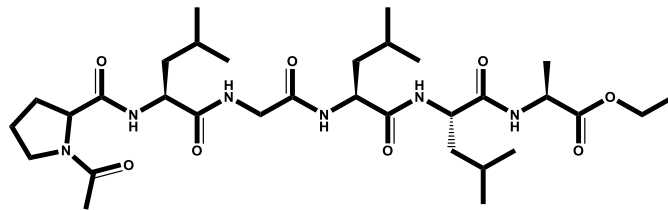
Kanserde MMP düzenlenmesi ve aşırı ifadesi, birçok katı tümör türünde belgelenmiştir [16]. Öte yandan yüksek MMP düzeyleri neredeyse tüm katı malignitelerde genel sağkalım ile ilişkilendirilir. Araştırmalar ayrıca tümörün agresifliği ile yüksek MMP ifadesi arasında anlamlı ilişkiler göstermiştir [16]. Örneğin ileri evre meme kanseri metastazları; MMP-1, -2, -7, -9, -11 ve -13 gibi çeşitli MMP'lerin artmış düzeyleri ile ilişkilendirilmiştir [17]. MMP-9 aşırı ifadesi, meme, akciğer, kolon, mide, pankreas ve prostat kanseri dahil olmak üzere birçok malignitede kötü prognozla güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir [18].

Anjiyogenez, damar yapısında yeni kılcal kan damarlarının oluşumunu içeren bir süreçtir ve stroma ile vasküler hücreler arasında çoklu etkileşimleri içerir [19]. MMP-1, -2, -7, -9 ve -14 başta olmak üzere çeşitli MMP'ler, farklı biyolojik mekanizmalar aracılığıyla anjiyogenez sürecine katkı sağlamaktadır [20].

MMP inhibitör (MMPI)'leri, kanser tedavisinde umut vadeden hedefler olarak kabul edilmiş ve malign dokulardaki özel rolleri nedeniyle sitostatik ve anti-anjiyogenik ajanlar olarak tanımlanan birçok sentetik ve doğal MMPI, klinik denemelere tabi tutulmuştur [21]. Son yıllarda, birçok hayal kırıklığı yaratan sonuçlar ve/veya sınırlı başarılar görülmüş olmasına rağmen, ön klinik çalışmalar ileri denemeleri teşvik etmek için ikna edici bir temel oluşturmuştur. Bu nedenle etkinliği artırılmış ve yan etki profili iyileştirilmiş inhibitörlerin elde edilmesi yolunda MMP inhibisyon stratejilerinin ciddi bir şekilde yeniden değerlendirilmesi önemlidir.

MMP İnhibitörleri

İlk nesil sentetik MMP inhibitörlerinin yapısal tasarımı, enzim ile doğal substratı arasındaki etkileşimlerin analiz edilmesi sonucunda geliştirilmiştir. MMP enzim ailesinin birçok üyesinin kolajeni parçalayabildiği bilgisiyle minimal substrat 1'in tanımlanması, inhibitörlerin geliştirilmesi için bir başlangıç noktası olarak ele alınabilir (Şekil 3) [17].



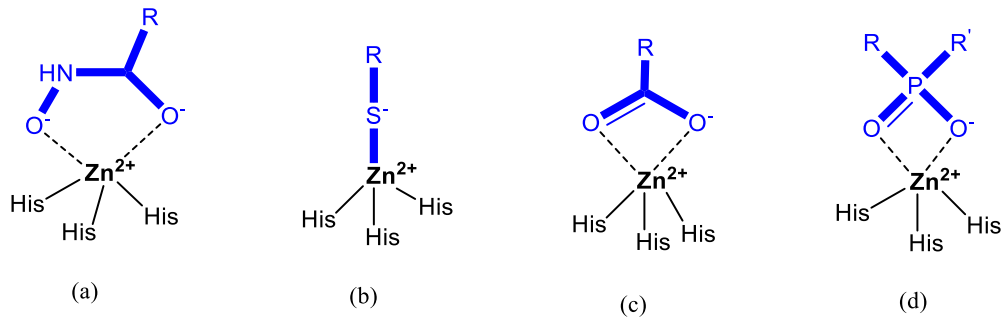
Şekil 3. Minimal substrat 1'in yapısı

Substrat 1 benzeri MMP inhibitörlerinin geliştirilmesi için kolajenin alfa zincir yapısı şablon olarak kullanılmıştır. Amit bağının hidrolize duyarlı olmayan bir izoster ile değiştirilmesi ile MMP'lerin ilk peptidomimetik inhibitörleri elde edilmiştir [22]. Substrat temelli inhibitörlerin genellikle farklı MMP alt tipleri arasında seçicilik göstermediği bilinmekle birlikte, özellikle MMP-2 ve MMP-9'a karşı

seçicilik gösteren peptitler de bildirilmiştir [23]. MMP'ler, katalitik merkezlerinde benzer bir yapı paylaşp substrat bağlama bölgesinde farklılık gösterirler; bu nedenle inhibitör içindeki terminal dizilimlerin doğasının anlaşılması ile seçici sentetik inhibitörler elde edilebilir [23].

İlk nesil sentetik MMP inhibitörlerinin gelişimi; farklı kimyasal işlevselliğe sahip, proteazlar tarafından tanınan ve çinko iyonu ile güçlü bir şekilde etkileşime girebilen 'kollajen'in peptit dizisine dayanır. Etkili bir inhibitör için gereklilikler (Şekil 4):

- (i) Çinko iyonunu şelatlayabilen fonksiyonel bir grup; çinko bağlama grubu (ZBG) olarak birinci nesil inhibitörlerin yapısında hidroksamat (CONHO-) yer alır, ancak ikinci nesil inhibitörlerin yapısında karboksilat (COO-), tiyolat (S-), fosfonil (PO₂) grupları da yer almıştır;
- (ii) Protein ile hidrojen bağı oluşturan en az bir fonksiyonel grup;
- (iii) Enzim alt bölgeleriyle Van der Waals etkileşimlerine giren bir veya daha fazla yan zincir olarak tanımlanabilir [24].

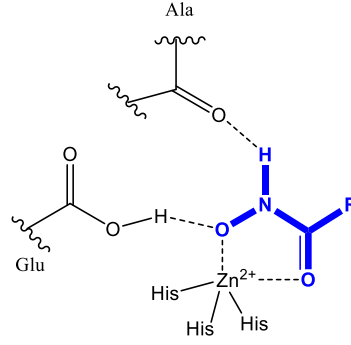


Şekil 4. Farklı bağlanma moduna sahip çinko bağlama grupları (ZBG): (a) Hidroksamat bazlı inhibitör; (b) tiyolat bazlı inhibitör; (c) karboksilat bazlı inhibitör; (d) fosfor bazlı inhibitör

Çinko bağlayıcı grupların taşıdığı negatif yükler, hücre içine nüfuzlarını engelleyerek etkinliklerini hücre dışı alanda sınırlar; bu da inhibitörlerin oluşturabileceği hücre toksisitesini azaltır [25]. ZBG yapısında veya ZBG'nin MMP inhibitörün omurgasına bağlandığı noktada yapılan değişiklikler, inhibitörün etkinliğinde ve seçiciliğinde farklılıklara yol açabilir. Yapılan çalışmalarda elde edilen veriler ışığında etkili ve seçici inhibitörlerin tasarımı, iki moleküler özelliğe dayanır; katalitik çinko için şelat kapasitesi ve S1' cephesi için aktif merkezin hidrofobik köprülerinin bulunması [25]. Bu hedeflere göre tasarlanan inhibitörler temelde farklı çinko bağlama gruplarına göre sınıflandırılmıştır.

Hidroksamik Asit Yapılı İnhibitörler

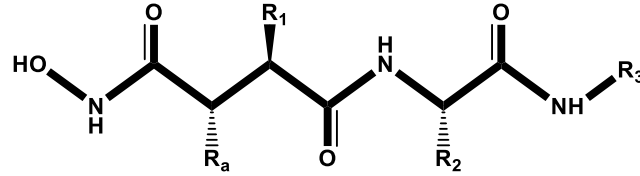
İlk nesil MMP'ler, kollajenin üçlü sarmal amino asit dizisi baz alınıp belirli substratlardan elde edilen bilgilerden yola çıkılarak tasarlanmıştır. Bu bileşikler, ZBG olarak bir hidroksamik asit grubu içerir. Hidroksamik asitler, monoanyonik yapıları, bidante (iki dişli) şelatlayıcı ajan olmaları ve iyi derecede çinko şelatlama özellikleri nedeniyle MMP'ler için daha popüler ZBG'ler olmalarının yanı sıra sentezlenmesi de kolay bileşiklerdir [26]. Hidroksamik grup, iki oksijen ve iki hidrojen bağının (sırasıyla HA'nın Ala ve Glu ile NH ve OH grupları) oluşturduğu çinko iyonları ile Şekil 5'deki gibi etkileşim kurar [27].



Şekil 5. Hidroksamit grubu ile katalitik çinko arasındaki etkileşim

Hidroksamik asit içeren inhibitörler için önerilen yapı-aktivite ilişkisi [26] (Şekil 6):

- (i) R_1 pozisyonundaki substitüent stokiometrik yönlendirmesi etkinlik için önemlidir;
- (ii) Fenilpropil grubu, R_1 pozisyonu için en iyi substitüent olarak belirlenmiştir;
- (iii) R_2 pozisyonunda hidrofobik substitüentler ve R_3 pozisyonunda N-metilamidler en uygun seçenekler olarak kabul edilmiştir;
- (iv) R_a pozisyonunda (α substitüent) hidrojen bağı yapabilen lipofilik substitüentlerde olumlu bir etki sağlanmıştır.



Şekil 6. Hidroksamik asit içeren MMPI'lerin genel yapısı. OH grubu: katalitik çinko bağlayıcı grup; R_a : α substitüent; R_1 : P_1 'in substitüent grubu ve bu grup seçicilik ve aktiviteyi belirler; R_2 : P_2 'nin substitüent grubu R_a ve R_3 ile siklize edilebilir; R_3 : P_3 'ün substitüent grubu

Reich ve arkadaşları, 1988 yılında, fare modelinde kollajenazı bloke ederek metastazı önleyen hidroksamik asit bileşiği olan SC-44463'ü (1) geliştirmişlerdir, bu çalışma MMP inhibitör arayışı için yeni bir dönemin başlangıcı olarak kabul edilir [27]. R_a pozisyonunda büyük grupların getirilmesi ile MMP-2, -8 ve -9 için inhibisyon sağlanmasının beraberinde, S_1 ' cebinin derinliği de keşfedilmiştir [28]. S_1 ' cebi belirli substitüentler ile etkileşim için konformasyonel değişikliklere izin verdiği için R_1 pozisyonuna uzun grupların eklenmesinin, "MMPI'lerin seçiciliğini teşvik edebileceği" sonucuna varılmıştır. Igarashi ve ekibi geliştirdikleri R-94138 bileşiğinin (2), R_1 pozisyonunda bir alkil zincirinin MMP-1 inhibisyonunu azalttığını ancak MMP-2, -3 ve -9'e karşı inhibisyon aktivitesini sürdürdüğünü göstermiştir [29].

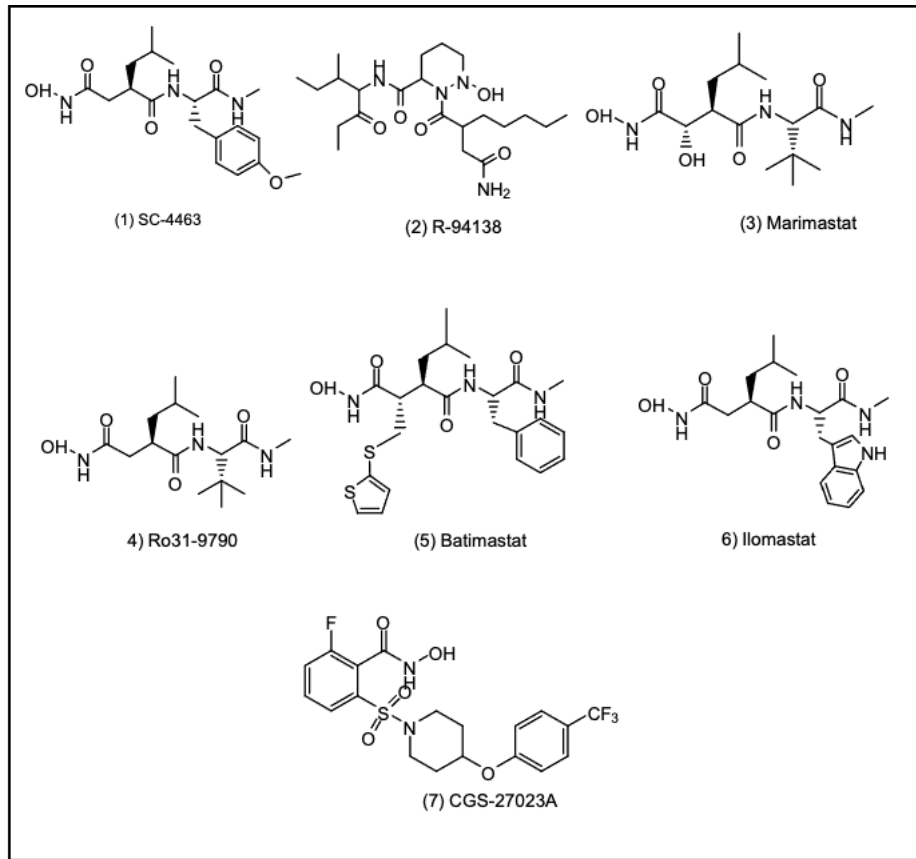
R_2 pozisyonundaki değişiklikler ile *in vitro* inhibisyon aktivitesinde etki artışının yanında farmakokinetik özellikler de olumlu yönde etkilenmiştir. Bu doğrultuda Marimastat (3) ve Ro31-9790 (4), taşıdıkları büyük ter-butil grubu sayesinde hücre zarının lipid ortamına emilimi sırasında bitişik amit bağıni destekleyerek iyi oral aktivite sergilemişlerdir [30]. Bunun yanında Ter-butil grubunun α -hidroksil grubu ile olumlu kombinasyonu suda çözünürlüğü artırır. Marimastat, MMP-1, -2, -3, -7, -9, -12 ve -13 aktivitesini inhibe eder. Ancak klinik denemelerde terapötik etki eksikliği ve tedavi edilen hastalarda kas-iskelet toksisitesi gelişmesi nedeniyle başarısız olmuştur [31]. Batimastat (5), Marimastat ve Ilomastat (6), Zn^{2+} 'yi "bidante" şelasyon yoluyla koordine ederek MMP inhibisyonu sağlayan süksinil hidroksamikat grubunun öncü örnekleridir ve kollajenin yapısına benzer bir yapıya sahiptir. Batimastat, malign plevral efüzyonların tedavisi için klinik deneylerde incelenmiş, ardından faz III denemelerine geçilmiştir ancak oral biyoyararlılığın eksikliği ve peritonit gibi yan etkiler nedeniyle faz çalışmalarına son verilmiştir [32]. Kollajen yapısı temel alınarak tasarlanmış olan bir diğer hidroksamik

asit bazlı MMP inhibitörü olan Ilomastat, Batimastat gibi oral yolla uygulanamamaktadır. Ilomastat için faz II/III çalışmaları enfeksiyöz frank korneal ülserli hastalarda başlatılmış olsa da, yetersiz biyoyarlanım nedeniyle klinik ilerleme sınırlı kalmıştır [33].

R₃ pozisyonundaki değişiklikler için S₃' cephesi açık bir alan olduğundan bu pozisyona birçok grup dahil edilebilir [28].

Peptit temel yapısı taşıyan Batimastat, Marimastat ve Ilomastat gibi hidroksamat türevi inhibitörler, klinik araştırmalarda düşük oral biyoyarlanım, düşük seçicilik, geniş spektrumlu MMP inhibisyon profilinin yanında kas-iskelet sistemi sendromları gibi yan etkiler göstermiştir. Bundan hareketle, daha iyi biyoyarlanım ve seçicilik profiline sahip ve aynı zamanda ciddi yan etki oluşturma ihtimali azaltılmış peptit içermeyen küçük molekülü MMP inhibitörlerinin keşfi öncelikli hedef hâline gelmiştir [34].

1990'lı yıllarda, peptit bağı içermeyen ilk sülfonamid-hidroksamat analogu olan CGS-27023A (7) molekülünün duyurulması, potansiyel geniş spektrumlu MMP inhibitörleri arayışında yeni bir ufuk açmıştır. CGS-27023A, iyi oral biyoyarlanıma sahip ancak klinik denemelerde başarılı olamayan bir non-peptidik MMP-3 inhibitörü olarak geliştirilmiştir [35]. Yapıdaki izopropil grubu, yanındaki hidroksamik asit grubunun metabolize olmasını yavaşlatırken; 3-piridil substitentinin yapının negatif yüklü ortama uyum göstermesinde yardımcı olduğu kaydedilmiştir. CGS-27023A, klinik denemelerde başarılı olmasa da sülfonamid içeren ikinci nesil hidroksamat bazlı inhibitörlerin geliştirilmesi için öncü yapı olarak kabul görülmüştür [36]. Bileşik 1-7 yapıları, Şekil 7'de verilmiştir.



Şekil 7. Hidroksamik asit grubu çinko (II) bağlayıcı yapı içeren inhibitör 1-7

CGS-27023A'nın yapısında küçük bir değişiklik yapılması - sülfonamid azotuna bağlı piridilmetil grubunun benzil grubu ile değiştirilmesi - ile, tümör görüntüleme ajanı olarak kullanıma potansiyeli taşıyan CGS-25966 (8) bileşiği geliştirilmiştir [37].

CGS-25966'nın D-valin yan zinciri yerine dimetiltiyomorfolin grubu ve metil grubu yerine

aromatik 4-piridin halkası içeren bir yapı eklenmesiyle; artırılmış potentlik ve seçicilik sağlayan, aynı zamanda insan glioma tümörlerine karşı etkili olduğu gösterilen Prinomastat (9) geliştirilmiştir [38]. Prinomastat'ın büyük hidrofobik arılsülfonil grubu, özellikle MMP-2, MMP-3, MMP-9 ve MMP-13 enzimlerinin derin S₁' cepleriyle güçlü etkileşim kurmaya uygundur. Preklinik çalışmalarda Prinomastat, iyi bir oral biyoyararlanım, antitümör ve anti-anjiyogenik etkinlik göstermiştir ve bu etkiler çeşitli kanser modellerinde doğrulanmıştır. Ancak şaşırtıcı bir şekilde, Prinomastat'ın faz I/II/III klinik denemelerinde, doza ve zamana bağlı kas-iskelet sistemi toksisiteleri gözlemlenmesi nedeniyle çalışmalar erken sonlandırılmış ve tedavi etkinliğine dair bir sonuca ulaşılamamıştır [39].

Hugenberg ve arkadaşları, CGS-27030A'nın öncü yapısı temel alınarak geliştirilen bir γ -florlu sülfonilamino hidroksamik asit türevleri içerisinde enantiyomerik olarak saf iki yeni inhibitör bildirmişlerdir. Flor atomunun enzimlerin aktif bölgeleriyle kurduğu ekstra etkileşimler nedeniyle her iki enantiyomerin de biyolojik olarak neredeyse eşit düzeyde aktif olmasına neden olduğu kaydedilmiştir. Ancak beklenmedik bir şekilde, (S)-enantiyomer (10), CGS serisi öncül yapılardan farklı olarak (R)-izomerden daha yüksek biyolojik aktivite göstermiştir. Öte yandan (S)-enantiyomerinin metabolik stabilitesi, benzil halkasının triazol halkasıyla değiştirilmesi yoluyla artırılabilceği sonucuna ulaşılmıştır. Benzil türevli γ -florlu α -sülfonilaminohidroksamik asit türevinin MMP inhibitör potansiyelini değerlendirmek amacıyla, radyoaktif olmayan florlu hedef bileşiğin her iki enantiyomerik formu sentezlenmiş ve *in vitro* fluorometrik MMP testleri ile değerlendirilmiştir. Sonuç olarak bu seriye ait Bileşik 10'un (Şekil8, S-enantiomeri), MMP-9 üzerinde (IC₅₀ = 3.0 nM) MMP-2 IC₅₀ = 32.8 nM)'ye göre en az 10 kat daha yüksek seçicilik sergileyerek, özgül jelatinaz inhibisyonu açısından dikkat çekici bir profil ortaya koymuştur [40].

Zapico ve arkadaşları tarafından, "click kimyası" yaklaşımı kullanılarak bir dizi fenilalanin türevi hidroksamat sentezlenmiştir. Elde edilen triazol halkasındaki substitüsyonun, her iki jelatinaz için yüksek düzeyde seçicilik elde edilmesi açısından kritik bir rol oynadığı kaydedilmiştir. Çalışmada türevlerin inhibisyon etkileri, tiyopetid kromojenik substrat kullanılarak kolorimetrik (spektrofotometrik) yöntemle belirlenmiştir. En başarılı bileşik olan 11, MMP-2'ye karşı subnanomolar IC₅₀ değeri gösterirken, MMP-9'a karşı 95 kat daha düşük etki sergilemiştir (MMP-2 için IC₅₀ = 17 nM ve MMP-9 (IC₅₀ = 30 nM) [41].

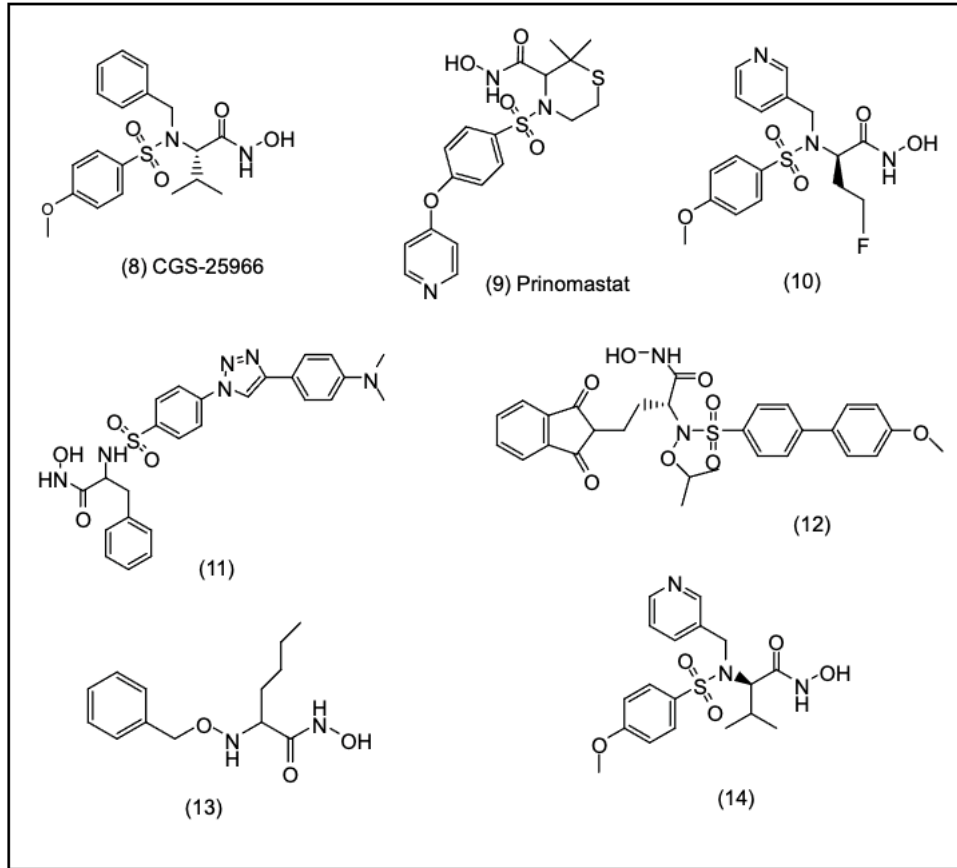
Nuti ve arkadaşları, bazı N-izopropoksi-arılsülfonamido hidroksamat türevlerinin, diğer MMP izoformlarına kıyasla jelatinazlar üzerinde yüksek seçiciliğe sahip umut verici inhibitörler olabileceğini raporlamışlardır. Sentezlenen yeni hidroksamik asit türevleri, insan rekombinant MMP enzimleri üzerinde florojenik peptit substrat kullanan fluorometrik test ile değerlendirilmiştir. Bu seride yer alan Bileşik 12, MMP-2 için IC₅₀ = 0.67 nM ve MMP-9 (IC₅₀ = 0.43 nM) düzeyinde güçlü bir inhibisyon göstermiştir. Yapılan *in vitro* çalışmalar, Bileşik 12'nin, düşük konsantrasyonlarda insan umbilikal ven endotelial hücrelerinin (HUVEC) invazyon ve migrasyonunu anlamlı derecede azalttığını ortaya koymuştur. Bileşik, endotelial hücreler üzerinde sitotoksik etkiler göstermiş ve apoptoz indükleyici özellikler sergilemiştir [42].

Sjoli ve arkadaşları, bir dizi hidroksamik asit analogu sentezlemiş ve bu bileşikleri MMP-2, MMP-9 ve ADAM-17 enzimlerine karşı test etmiştir. Çalışma sonucunda bileşiklerin büyük çoğunluğunun, MMP-9 ve ADAM-17'ye kıyasla MMP-2 üzerinde yüksek etki ve seçicilik gösterdiği bulunmuştur. Yapı-aktivite ilişkisi verilerine göre Bileşik 13 öne çıkmıştır. Bulgular doğrultusunda, S2' cebine yönelen N-izopropoksi grubunun MMP-2 seçiciliği açısından gerekli olduğu; buna karşın aynı pozisyonadaki izobütil grubunun MMP-9'a seçiciliği artırdığı sonucuna varılmıştır [43].

Barta ve arkadaşları, MMP-2 ve -13'e karşı inhibisyon gösteren bir dizi arilhidroksamat sülfonamid bileşiği tanımlamıştır. Öne çıkan 14 bileşiğinde, sülfonil grubu Leu160 ile tek bir hidrojen bağı oluşturmuş ve piperidin-O-fenil kısmının Van der Waals etkileşimleri ile S1' cebine kadar uzandığı kaydedilmiştir [44].

MMP İnhibitörleri üzerinde yapılan güncel bir çalışmada, etkili inhibitörlerin elde edilmesine öncülük etmek amacıyla uygun farmakofor modelini belirlemek adına Batimastat, Marimastat, Prinomastat, CGS-27023A ve Ro31-9790 gibi hidroksamik asit yapıları inhibitörler incelenmiştir. Oluşturulan model, iki hidrojen bağı alıcısı (HBA), bir hidrojen bağı donörü (HBD) ve bir hidrofobik yapı (HY) taşıma özelliklerini içermektedir. Yapı-aktivite ilişkisi değerlendirmesi, dahil edilen tüm inhibitörlerin tasarlanan farmakofora mükemmel uyum sağladığını, yalnızca CGS-27023A ve Ro31-

9790 için ikinci HBA taşıma şartından dolayı bu durumun geçerli olmadığını ortaya koymuştur. Elde edilen sonuçlar, MMP-9 inhibitörlerinin potansiyel afinitesini ve biyolojik aktivitesini sağlamak için modeldeki HBA, HBD ve HY farmakofor bölgelerinin varlığının gerekliliğini vurgulamaktadır [45]. Bileşik 8-14 yapıları, Şekil 8’de verilmiştir.



Şekil 8. Hidroksamik asit grubu çinko (II) bağlayıcı yapı içeren inhibitörler (8-14)

MMP'leri düşük konsantrasyonlarda inhibe etmelerine rağmen, oral biyoyararlanımlarının zayıf olması, çoklu MMP inhibisyonu göstermeleri ve yan etki profilleri, hidroksamat bazlı inhibitörleri dezavantajlı kılmaktadır. Bu doğrultuda, katalitik çinko (II) iyonu ile etkileşim gösteren, hidroksamat dışında çeşitli metal şelatlayıcı gruplar içeren yeni inhibitör arayışları devam etmektedir [46].

Hidroksamik Asit Yapısı Taşımayan İnhibitörler

Hidroksamik asit grubu taşımayan inhibitörler (15-23) (Şekil 9), katalitik bölgede çinko iyonuna bağlanma özelliğine sahip tiyol, karboksilik asit, fosfor, azot bazlı farklı gruplar ve heterosiklik yapılar içermektedir. Bu inhibitörlerin Zn^{2+} şelat yetenekleri, hidroksamat grupları ile kıyaslandığında daha zayıf olsa da kas-iskelet toksisitesi gibi ciddi yan etki oluşturma olasılıkları çok daha azdır [47].

Tiyol Bazlı İnhibitörler

Tiyoller (-SH), proenzim yasadaki çinko iyonuna tek dişli bağlanma özelliği taşımalarından dolayı yeni nesil MMP'lerinin tasarımı için aday olarak değerlendirilen gruplar arasına girmiştir. Tiyol inhibitörlerinin etkinliği, hidroksamat ve karboksilat bazlı inhibitörlerin etkinliği arasında bir seviyede kabul edilebilir [47]. MMP inhibisyonunda tiyol bazlı inhibitörlerin ilk örneği bipeptit analogudur (15). Yapıya tiyol grubunun α substitüenti olarak dahil edilmesi, aktivitenin iyileşmesi ile sonuçlanmıştır [48].

Bristol-Myers ekibi merkaptto açıl fonksiyonu sayesinde katalitik çinko iyonuna güçlü şelatlayıcı

bağlanma özelliği gösteren MMP-2 ve -9 inhibitörü olan Rebimastatı (16) geliştirmiştir. Rebimastat, erken faz I klinik denemelerinde iyi performans göstermiş ve erken dönem meme kanseri için faz II denemelerine ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri için faz III denemelerinde test edilmiştir. Ancak ileri klinik çalışmalarda, bu bileşik kas-iskelet sistemi sendromları ile ilişkili artralji ve miyalji gibi yan etkiler göstermiştir [49]. Sonraki çalışmalarda, Rebimastat'a benzer biçimde merkaptto açıl grubu içeren bir dizi inhibitör tanımlanmış ve bu bileşiklerin, derin cebe sahip çeşitli enzimlere karşı orta düzeyde inhibitör aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir (17). Bu serideki bileşiklerde yer alan tiyol ve açıl karbonil gruplarının, enzimin aktif bölgesindeki çinko iyonuna bağlanmak üzere birlikte hareket ettikleri önerilmiştir [50]. Aynı seri üzerinde ilerleyen çalışmalarda; P₂' pozisyonundaki amit azotu, P₁' grubu ile kovalent bağlanarak elde edilen β -merkaptosilamid türevi (18), MMP-9'a karşı aktif bulunmuştur. Seride yer alan bileşiklerde, sikloheksana bağlı 4-alkoksi substitüentinin, tüm MMP enzimlerine karşı inhibitör etkinliği artırdığı rapor edilmiştir [51].

Karboksilat Bazlı İnhibitörler

Tek dişli şelat oluşturan karboksilat yapılı inhibitörler; daha yaygın karşılaşılan inhibitör grubu olan hidroksamatların sentetik öncüleri olmakla birlikte hidroksamatlardan daha zayıf çinko (II) bağlayıcı ligand olmalarına rağmen özellikle *in vivo* yüksek stabilite, çözünürlük ve biyoyararlanım konusundaki olumlu etkileri nedeniyle öne çıkmaktadırlar [47]. Hidroksamat bazlı inhibitörler, asitlik sabitelerindeki farklılıklar nedeniyle fizyolojik koşullarda karboksilat inhibitörlerinden daha etkilidir. Karboksilat inhibitörleri, düşük pH koşullarında MMP'lere daha yüksek bağlanma affinitesi gösterirken; hidroksamat bazlı inhibitörler ise pH 5 ile 8 arasında daha geniş bir pH aralığında etkili olmaktadır [52].

Hidroksamat ve karboksilat inhibitörlerinin inhibisyon profillerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, yapıdaki karboksilat grubunun hidroksamat grubu ile değiştirilmesinin inhibitörün MMP-3'e karşı potansiyel aktivitesinin 10 kat artışına yol açtığı; ancak MMP-1, -2, -9, ve -14'ye karşı seçiciliğini azalttığı gözlenmiştir. Bu etki, hidroksamik asit gruplarında güçlü çinko (II) bağlanma enerjisinin ana belirleyicisi olduğu; karboksilatlarda ise bu enerji daha büyük ölçüde belirli ceplerle etkileşimlere dayandırılmıştır [53].

Bayer tarafından geliştirilen, karboksilat bağlanma grubu taşıyan MMP inhibitörü, Tanomastat (19), MMP-2, -3, -9 ve -13'e karşı inhibisyon aktivitesi göstermiştir. Tanomastat, mide bulantısı, yorgunluk ve azalan şiddet derecesinde anemi gibi yan etkilerle genel olarak iyi tolere edilebilir bir tablo ile klinik deneylere girmiştir. Buna karşın Tanomastat ile tedavi edilen hastaların genel sağ kalımlarının artmaması nedeniyle çalışmalar durdurulmuştur [54].

Adhikari ve arkadaşları, bir dizi bifenilsülfonil türevi karboksilat ZBG grubu taşıyan jelatinaz inhibitörü sentezlemiş ve biyolojik aktivitelerini değerlendirmiştir. MMP inhibisyon testleri, saflaştırılmış rekombinant enzimler kullanılarak yürütülen biyokimyasal *in vitro* koşullarda belirlenmiştir. Buna ek olarak, bileşiklerin biyolojik etkilerini değerlendirmek amacıyla sitotoksikite, göç ve invazyon gibi hücresel testler ayrı olarak gerçekleştirilmiştir. Bu bileşikler arasında yer alan Bileşik (20), MMP-2'ye karşı MMP-9'a oranla 20.53 kat daha yüksek seçicilik sergilemiştir (MMP-2 için IC₅₀ = 24 nM, MMP-9 için IC₅₀ = 492 nM). Bileşiğin tasarımında, Bayesyen modeline göre, molekülün yapısına yeni bir terminal karboksamid grubu dâhil edilmiştir. Elde edilen aktif türevler, insan akciğer karsinomu hücre hattı (A549) üzerinde sitotoksik etki göstermemiştir. Sitotoksik olmayan konsantrasyonlarda bu inhibitörler, hücre içi MMP-2 ekspresyonunu %78'e kadar azaltmış ve aynı zamanda A549 hücrelerinde anlamlı düzeyde anti-migrasyon ve anti-invaziv özellikler sergilemiştir. Bu aktif bileşiklerden bazıları için detaylı prelinik ve klinik değerlendirmelerin ardından akciğer kanserinde adjuvan tedavi ajanı olarak kullanılabilecekleri bildirilmiştir [55].

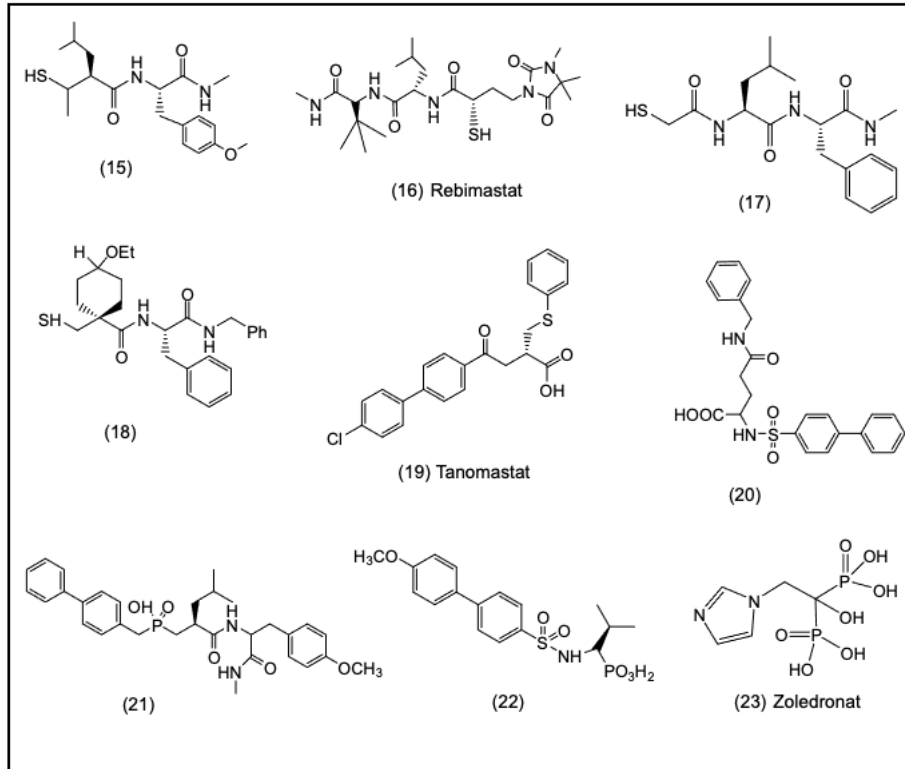
Fosfor Bazlı İnhibitörler

Fosfonik asitler tek dişli çinko şelatlarıdır. Fosfor bazlı inhibitörler (PO(OH)-CH₂), her iki oksijen atomunun hem katalitik çinkoyu hem de katalitik Glu'yu koordine edebildiği bir geçiş durumunu taklit eder. Hidroksamat bileşiklerinin aksine, fosfonik bileşikler, ZBG'nin N- veya C- terminalleri yerine yapının ortasına yerleştirilmesiyle katalitik bölgenin hem astarlanmış hem de astarlanmamış tarafıyla etkileşime girer. Ayrıca fosfonik asitlerin, hidroksamik asitlerle karşılaştırıldığında daha yüksek metabolik stabiliteye sahip olduğu ifade edilmektedir [25].

Fosfonik asit inhibitörlerinin etkililiği incelendiğinde en iyi performansı elde etmek için işaretlenmemiş üç cebin birden değerlendirilmesi gerektiği ortaya çıkarılmıştır [8]. S₁-S₂ cepleri aromatik gruplar kullanılarak değerlendirilebilir, bu nedenle Reiter ve arkadaşları, S₂ cebi ile uyum gösterebilecek bir substitüent olarak 4-benzil (21) içeren bileşikler sentezlemişlerdir. Bu substitüentin yokluğu veya “küçük alifatik” ya da “sikloheksil metal” gruplarıyla değiştirilmesi durumunda, aktivitede azalma meydana geldiği rapor edilmiştir [56].

Karbamoil fosfatlar, iki oksijenin çinko iyonu ile bir beş üyeli halka oluşturduğu fosfor bazlı ZBG' lerdendir. Bu inhibitörlerin taşıdığı negatif yük, hücre içine girişlerini kısıtlayarak etkilerini ekstraselüler alanda sınırlar ve bu durum, düşük sitotoksisiteye katkıda bulunur [8]. Pochetti ve arkadaşları bu gruptan, MMP-8'e yüksek bağlanma afinitesine sahip aynı zamanda MMP-2 ve MMP-3'ü inhibe eden Bileşik 22'i geliştirmişlerdir [57].

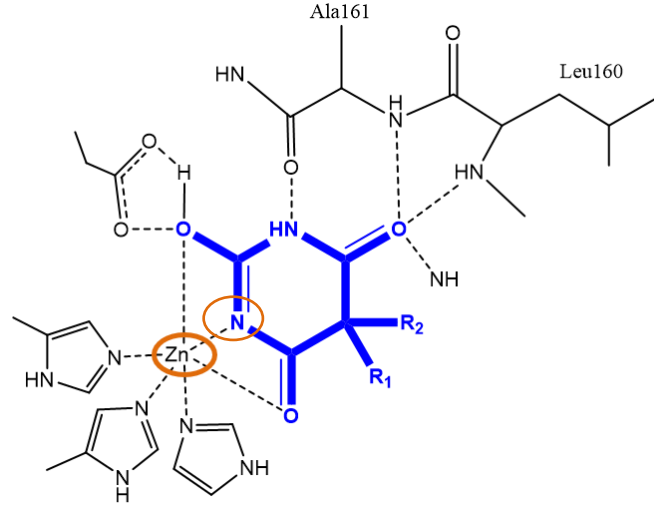
Kanser hastalarında tedaviye bağlı ortaya çıkan hiperkalsemiyi gidermek için geliştirilen Zoledronat (CGP 42446) (23), bir bifosfonat türevi olarak makrofaj infiltrasyonu yoluyla MMP-9 ekspresyonunu inhibe etmektedir. Zoledronatın ayrıca, sıçan vasküler düz kas hücrelerinde MMP-2, MMP-9 ve MMP-13 ekspresyonları üzerindeki etkileri de ortaya konulmuştur [58].



Şekil 9. Hidroksamik asit grubu taşımayan çinko (II) bağlayıcı yapı içeren inhibitörler (15-23)

Azot Bazlı İnhibitörler

Azot bazlı inhibitörler, geçiş metallerine bağlanma eğilimlerinin yanında MMP'ler gibi çinko içeren enzimlere de yüksek affinite gösterirler [59]. Pirimidin-2,4,6-trion türevleri, MMP'lere pirimidin parçasından çinko ile şelat yaparak bağlanır. Bunun yanı sıra dört hidrojen bağı ile proteine neredeyse tüm olası etkileşimleri verecek şekilde bağlanırlar (Şekil 10). Öte yandan pririmidin-2,4,6-trion türevlerinde yapının geri kalanında peptidik parçalar kullanmadan hidroksamatların aktivitesine benzer inhibitör aktivite elde edilmiştir [59].



Şekil 10. Primidin yapısının katalitik çinko ile etkileşimi

Azot bazlı heterosiklik çinko bağlayıcı gruplar arasında, özellikle pirimidin-2,4,6-trion ve pirimidin diontiyon temelli inhibitörler en çok çalışılan bileşikler olmuştur. Bu inhibitörler, barbitürat sınıfına ait olduklarından, metabolizma ve biyoyararlanım özellikleri birçok FDA onaylı barbitürat üzerinde kapsamlı şekilde incelenmiştir [60]. Bu tip inhibitörler, barbitürat fonksiyonundaki N3 atomu aracılığıyla katalitik çinko iyonuna koordinasyon sağlar [60].

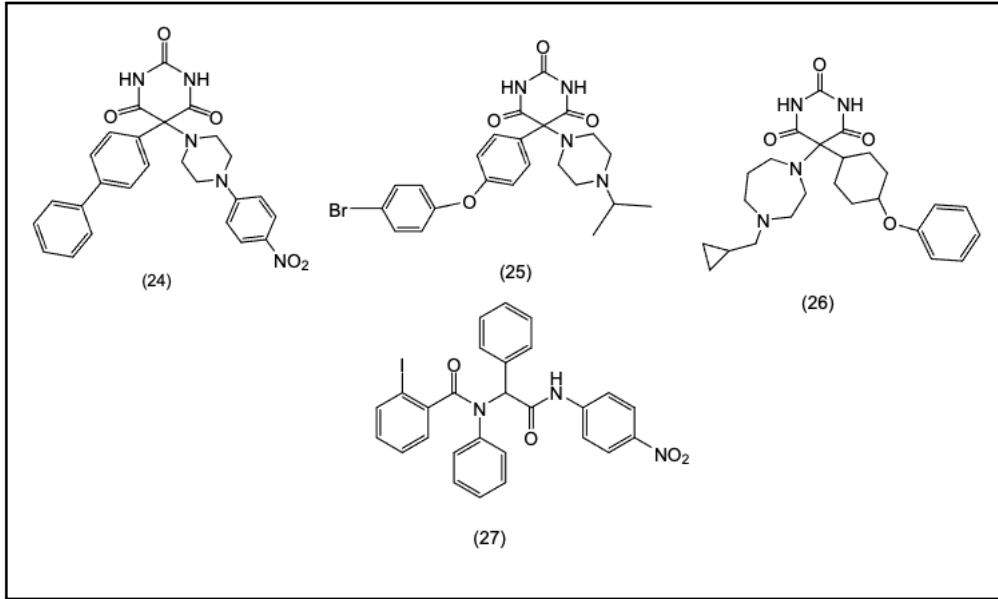
Pirimidin-2,4,6-trion inhibitörleri, Hoffman-LaRoche tarafından yayınlanan bir çalışmada tanıtılmıştır. Potansiyel jelatinaz inhibitörleri olarak aktarılan C-5 di-substitüe barbitürat yapısına sahip Ro28-2653 (24), MMP-2 ve MMP-9'a karşı oldukça seçici aktivite sergilemiştir. Klinik çalışmalarda sıçanlarda prostat kanseri hücre kültürlerinde tümör büyümesini azalttığı gösterilmiştir. Yapıda bifenil ve piperazin bölümünün, MMP-2 ve MMP-9'un S1' ve S2' bağlanma ceplerini işgal ettiği belirtilmiştir [60].

Breyholz ve arkadaşları, bazı C-5 pozisyonunda çift süstitüe edilmiş barbitürat türevlerinin, potansiyel jelatinaz inhibitörleri olduğunu bildirmiştir. Modifiye edilmiş barbitürat analoglarının etkinlikleri, MMP-2 ve MMP-9 enzimleri üzerinde florojenik inhibisyon testleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu seride yer alan Bileşik 25, MMP-9 için $IC_{50} = 1$ nM ile yüksek düzeyde inhibitör aktivite göstermiş ve MMP-2'ye karşı 26 kat daha fazla seçicilik sergilemiştir (MMP-2 için $IC_{50} = 26$ nM). Ayrıca, ^{125}I ile radyo-etiketlenen Bileşik 25, radyo-görüntüleme aracı olarak kullanıma uygun bulunmuş ve inflamasyon, ateroskleroz gibi hastalıkların yanında bazı kanser türlerinin tedavisinde etkili olmuştur [61].

Wang ve arkadaşları, bazı N-süstitüe homopiperazin barbitüratlarının, ümit verici jelatinaz inhibitörleri olduğunu raporlamıştır. Yeni sentezlenen barbitürat türevlerinin MMP-2 ve MMP-9 üzerindeki inhibitör etkileri, 12-O-tetradekanoylforbol-13-asetat (PMA) ile uyarılan HT1080 fibrosarkom hücre hattı kullanılarak zimografi yöntemi ile incelenmiştir. Bu serideki Bileşik 26, MMP-2 ve MMP-9 enzimlerine karşı benzer etkinlik göstermiştir (her ikisi için $IC_{50} = 1.1$ nM). Çalışmada homopiperazin halkalı barbitüratların daha düşük IC_{50} değerleri sergilemeleri, daha büyük halkaların S2' cebini daha iyi doldurabileceği hipotezini desteklemeklemiştir. Son olarak Bileşik 26, kolon kanseri hücreleri (CACO-2) kullanarak yapılan *in vitro* metastaz modelinde kanser hücresi göçünü etkili bir şekilde inhibe etmiştir [62].

Ayoup ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada kombinatorial yaklaşımdan faydalanarak farklı non-hidroksamat bis-amid yapıları incelenmiştir [63]. Çalışmada MMP-9/AKT inhibitörlerinin kaspaz 3/7 aktivasyon potansiyeli ile desteklenmiş inhibitörler bir araya getirilmiştir. Öncü bileşiklerin farmakofor yapıları (*p*-nitrofenil izonitril, asitler, aminler ve aldehitler) Ugi reaksiyonu ile genişletilmiştir. Bu bileşikler, MMP-9'a karşı MMP-1, -2 ve -13'e göre %51'in üzerinde büyük bir seçicilik göstermiştir. İlaç-benzeri özellikleri bağlamında da değerlendirilen bu bileşiklerden öne çıkan molekül 27 ilaç adayı olarak ilerleyen çalışmalarda değerlendirilebileceği belirtilmiştir [63].

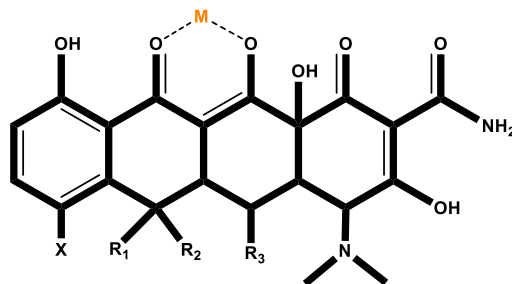
Bileşik 25-27 yapıları Şekil 11’de verilmiştir.



Şekil 11. Hidroksamik asit grubu olmayan çinko (II) bağlayıcı yapı içeren inhibitörler (24-27)

Tetrasiklin Bazlı İnhibitörler

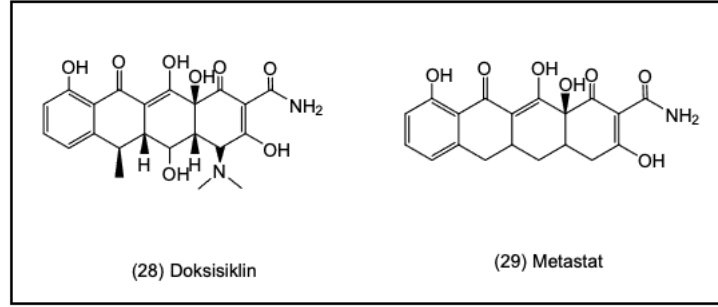
Tetrasiklinler, çinko ve kalsiyum iyonlarını şelatlayabilmelerinden dolayı MMP inhibitör özellikteki antibiyotiklerdir [64]. Kimyasal olarak modifiye edilmiş tetrasiklinler (KMT) (Şekil 12), konvansiyonel tetrasiklinlere kıyasla daha uzun yarılanma süreleri ve daha yüksek plazma konsantrasyonları nedeniyle tercih edilmektedir. Bu bileşikler, pro- veya aktif formlardaki MMP'lere bağlanarak proteinin yapısal bütünlüğünü bozmakta ve enzim aktivitesini engellemektedir. Bu nedenle umut verici anti-proliferatif ve anti-metastatik aktiviteye sahip MMP inhibitörleri olarak öne çıkmaktadır. Tetrasiklin ana yapısındaki C-4 pozisyonundan dimetilamino grubunun çıkarılmasıyla antimikrobiyal aktivitenin ortadan kalktığı ve kollajen inhibisyonu aktivitesinin ortaya çıktığı kaydedilmiştir. Doksisiklin (28), MMP-2, -9, -7 ve -8'i inhibe eden yarı-sentetik bir tetrasiklin olmasının yanında periodontit tedavisinde kullanılmak üzere FDA tarafından onaylanmış tek MMP inhibitörü bileşiktir [64].



Şekil 12. Kimyasal olarak değiştirilmiş tetrasiklinlerin genel yapısı ve metallerle bağlanma modu

Metastat (29), C4–C9 pozisyonlarında süstitüe edilmemiş tetrasiklin yapısına sahiptir. Matastat, MMP aktivitesinin düzenleyicileri olan tripsinojen-2 ve indüklenebilir nitrik oksit üretimini azaltarak MMP-2, -9 ve -14 için seçicilik göstermiştir. Oldukça lipofilik olan Metastat, daha yüksek dozlarda kan beyin bariyerini geçebilir. Klinik çalışmalarda plazma proteinlerine bağlanma kapasitesinin yüksek

olduğu gösterilmekle birlikte faz çalışmalarında da değerlendirilen bir MMP inhibitörüdür [65]. Bileşik 28 ve 29 yapıları Şekil 13'te verilmiştir.



Şekil 13. Tetrasiklin bazlı inhibitörler (28,29)

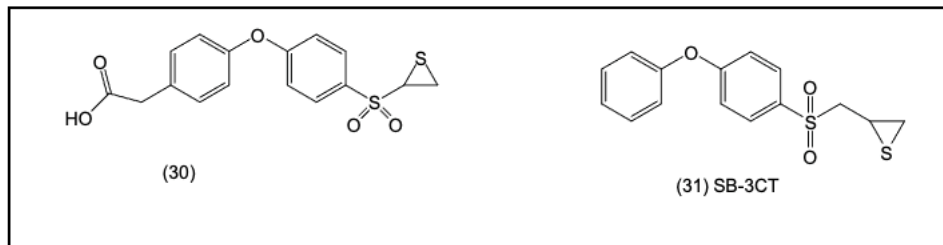
MMP İnhibisyonunda Farklı Yaklaşımlar

Mekanizma-Bazlı İnhibitörler

Mekanizma bazlı inhibitörler, aktif bölge üzerinde korunmuş bir glutamat kalıntısının nükleofilik atağına maruz kaldıktan sonra tek dişli bir modda katalitik çinko iyonu ile koordine olur. Bu atak; katalitik bölge ortamında inhibitörün ayrışmasını önleyen, katalitik dönüşüm hızını ve aynı zamanda enzimi doyurmak için gereken inhibitör miktarını azaltan konformasyonel bir değişikliğe neden olur [66].

Ikejiri ve arkadaşları, jelatinazları mekanistik bir mod ile bloke eden yeni tür MMP inhibitörlerini raporlayan ilk çalışmayı gerçekleştirmişlerdir. Bileşik 30, MMP-2 ve MMP-9'a karşı mekanizma bazlı yavaş bağlanma inhibisyonu göstermiştir. Bu inhibitörün, melanoma hücrelerinin büyümesini ve invazyonunu azalttığı ve metastatik yayılmanın gecikmesine yol açtığı gösterilmiştir [67].

Mekanizmaya dayalı bir inhibitör olarak geliştirilen SB-3CT (31), özellikle MMP-2 ve MMP-9'a karşı yüksek düzeyde etkinlik ve seçicilik sergilemiştir [68]. SB-3CT, jelatinazların aktif bölgesine özgül olarak bağlanan yavaş etkili bir inhibitör olup, bağlanmanın ardından kimyasal bir dönüşüm süreci başlatmaktadır. Kompleksin oluşumunu takiben, jelatinazların korunan aktif bölgesinde bulunan glutamat kalıntısı, bileşiğin sülfonil grubuna komşu alfa karbonundaki protonu uzaklaştırarak halkanın açılmasına neden olur. Bu reaksiyon sonucunda oluşan tiyonat, katalitik çinko iyonu ile koordine olarak enzimin güçlü bir şekilde inhibisyonunu sağlar. Diğer MMP izoformları bu eliminasyon tepkimesini katalizleyemediklerinden, inhibisyon ya yok denecek kadar az ya da oldukça düşük düzeydedir. Bu mekanizma, SB-3CT'nin özellikle jelatinazları hedef alan seçici inhibitör tasarımıdaki önemini vurgulamaktadır [69]. Bileşik 30 ve 31 yapıları Şekil 14'te gösterilmiştir.

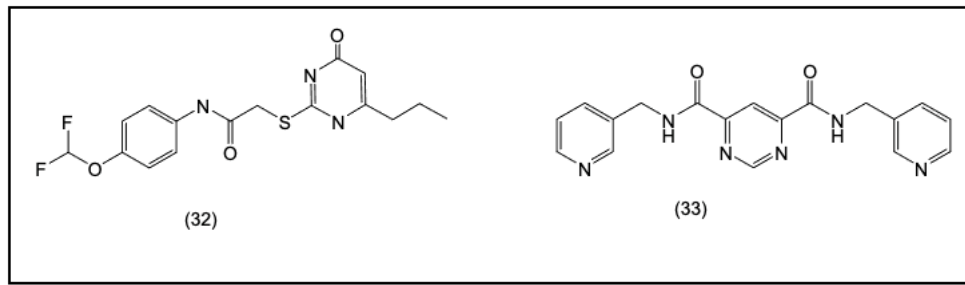


Şekil 14. Mekanizma bazlı MMP inhibitörlerinin kimyasal yapıları (30,31)

Çinko Bağlayıcı Grup İçermeyen Katalitik Domain İnhibitörleri

Yukarıda belirtilen tüm sentetik inhibitörlerin ortak noktası, yüksek oranda korunmuş katalitik alanla etkileşime girerek MMP'lerin enzimatik aktivitesini bloke etmeleridir. MMP'lerin katalitik bölgesi, çinko bağlama alanı dışındaki ek hedef bölgelere de sahiptir [17]. MMP-7, -23 ve -26 dışındaki MMP alt tiplerinin çoğu, katalitik aktivitelerini engellemeyen; hücre göçü gibi süreçlerde rol oynayan homodimerizasyon gibi özgün fonksiyonlarının düzenlenmesi amacıyla, küçük moleküllerce hedef alınabilen, düşük oranda korunmuş hemopeksin benzeri bir bölgeye sahiptir [52]. Dufour ve arkadaşları MMP-9'un hemopeksin benzeri alanını hedef alan bileşiklerin tanımlanması amacıyla *in silico* docking yaklaşımını kullanmıştır. Seçilen bileşiklerin biyokimyasal ve biyolojik değerlendirmeleri sonucunda Bileşik 32'nin, ekzo- veya endojen MMP-9 eksprese eden hücrelerde proliferasyona müdahale ettiğini ancak bunu yaparken MMP-9'un katalitik aktivitesini modüle etmediği görülmüştür. Bileşik 32, spesifik olarak MMP-9'un hemopeksin benzeri domainine bağlanarak, MMP-9 aracılı hücre göçü için kritik öneme sahip CD44-EGFR-MAPK sinyal yolunun aktivasyonu için gerekli olan homodimerizasyonu engellemiştir. Ayrıca, bir tümör ksenograft modelinde MDA MB-435 tümör büyümesini geciktirerek akciğer metastazını inhibe etmiştir [70].

Bu gruptan diğer bileşik, S₁' cebinin yanında diğer MMP'ler için tanımlanmamış bir yan cebe derinlemesine bağlanarak MMP-13 inhibisyonu için yüksek seçiciliğe sahip Bileşik 33'tür. Piridil grubu, S₁' cephesinin girişine yönelmiş olup, katalitik çinko (II) iyonu ile doğrudan etkileşime girmez. Ayrıca, amit (peptidik) bağları (Thr245 ile Thr247 arasında) veya Thr247 yan zincirinin S₁' cephesindeki hidroksil grubu tarafından da oksijen atomları ile etkileşmez [71]. Bileşik 32 ve 33 yapıları, Şekil 15'te verilmiştir.



Şekil 15. Çinko bağlayıcı grup içermeyen katalitik domain inhibitörleri (32,33)

MMP Regülasyonu Sağlayan Metal Kompleksleri

Belirtilen MMP düzenleyicilerinin çoğu MMP'lerin aktivitesini inhibe ederken, metal kompleksler MMP'lerin ekspresyonunu ve aktivitesini azaltarak kanser tedavisinde fayda sağlayabilir. Metal komplekslerinin MMP düzenlemesindeki rollerinin arkasındaki mekanizma, henüz tam olarak aydınlatılamamıştır [72]. Ancak metal kompleksleri; metal iyonları ve ligandlarının türlerine bağlı olarak DNA ve MMP'lere doğrudan bağlanma, ROS oluşturarak DNA'ya zarar verme veya COX-2 ve NF-κB sinyalleşmesinin baskılanması gibi farklı mekanizmalar üzerinden özellikle MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonunu ve aktivitesini düzenleyebilecekleri ortaya çıkarılmıştır [73]. DNA/RNA veya mitokondrileri hedefleyen ve kanserlerin başlangıç veya ilerleme riskini azaltmak için anti-Aβ agregasyon yeteneğine sahip Pt-, Ru-, Fe-, Cu-, Au-, Ni-, Zn-, Sn-kompleksleri gibi çeşitli metal kompleksleri, MMP'lerin hem ekspresyonunu hem de enzimatik aktivitesini düzenleyici olarak kullanılabilir [73].

Pt(II) kompleksleri, özellikle cisplatin ve türevleri, yaygın olarak kanser tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca, MMP'lerin kanserin başlaması ve ilerlemesiyle ilişkili olduğu göz önüne alındığında, Pt(II) komplekslerinin MMP aktivitesi ve ekspresyonunu düzenlemesi tedavide güçlü bir strateji olarak önerilmektedir. Bir Pt(II) kompleksi olan Pt-EtOMeSphen (34) bileşiği çeşitli nöroblastom hücre hatlarında anti-metastatik potansiyeli açısından incelenmiştir. Pt-EtOMeSphen'in 24 saatlik tedavisi ile bu hücrelerde MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonu belirgin bir şekilde azalmıştır [74].

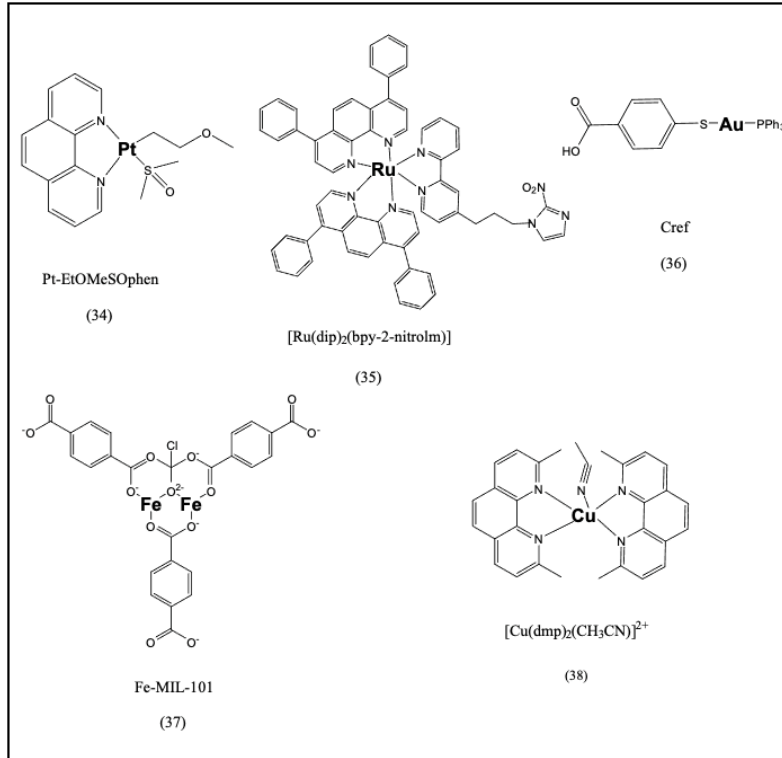
Ru kompleksleri de güçlü anti-kanser ajanlar olarak önerilmektedir. Ru iyonları fizyolojik

koşullarda Ru(II) ve Ru(III) olmak üzere iki kararlı oksidasyon durumunda bulunabilir. Her iki oksidasyon durumu da altı koordinatlı oktahedral bir yapıyı destekler. Bununla birlikte, bu iyonlar ligandlarla farklı geometrilere koordine olabilir ve çeşitli biyolojik redoks reaksiyonlarına katkıda bulunabilir. Ru(II) komplekslerinin, düşük toksisiteyle birlikte MMP-2 ve MMP-9'un ekspresyonunu ve aktivitesini inhibe ettiğini destekleyen çalışmalar bulunmaktadır [75]. [Ru(dip)₂(bpy-2-nitroIm)] (35) meme kanseri hücrelerine (4T-1 ve A549) karşı etkili bir anti-kanser ajanı olarak önerilmiştir. Bu kompleks, hem normoksik hem de hipoksik koşullar altında 4T-1 hücrelerinde 24 saatlik bir tedavi sonrası MMP-9 gen ekspresyonunu önemli ölçüde azaltabilmiştir [76].

Cref (36), altın (Au) monometalik kompleks yapısı taşıyan MMP-2 ekspresyonunun düzenleyicisi olarak görev yapmaktadır. Cref, insan böbrek kanser hücrelerinde (Caki-1) 72 saatlik tedavi sonucunda MMP-2 ekspresyonunu yaklaşık %50 oranında azaltmıştır. Bu bileşiğin, MMP-9 ekspresyonunu düşürmede küçük bir etkisi de gözlenmiştir [77].

Fe-MIL-101 (37), HeLa, A549, insan yumurtalık kanseri hücreleri (SK-OV-3) ve insan umbrikal endotel hücreleri (HUVEC) üzerinde proliferatif etkiye karşı geliştirilmiştir. Fe-MIL-101'in, belirgin bir toksisite olmadan yumurtalık tümör büyümesini sınırlayabildiği ortaya çıkarılmıştır. Çalışılan kanser hücrelerinde 24 saatlik Fe-MIL-101 tedavisinden sonra hem MMP-2 hem de MMP-9'un daha düşük seviyelerde olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, Fe-MIL-101'in MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonu ve aktivitesinin upregülasyonunda rol oynayan vasküler endotelial büyüme faktörünü (VEGF) önemli ölçüde inhibe ettiği tespit edilmiştir [78].

Cu(II) kompleksinin antikanser aktivitesi, NF-κB yolunun inhibisyonu üzerinden MMP ekspresyonunun baskılanmasıyla ilişkilendirilmiştir. Öne çıkan kompleks olan [Cu(dmp)₂(CH₃CN)]²⁺ (38), hem monolayer hem de sferoidlerde NF-κB yolunu etkisiz hale getirerek, HT-29 hücrelerinde MMP-2 üretimini %75, MMP-9 üretimini ise %50 oranında düşürmüştür [79]. Bileşik 34-38, Şekil 16'da verilmiştir.



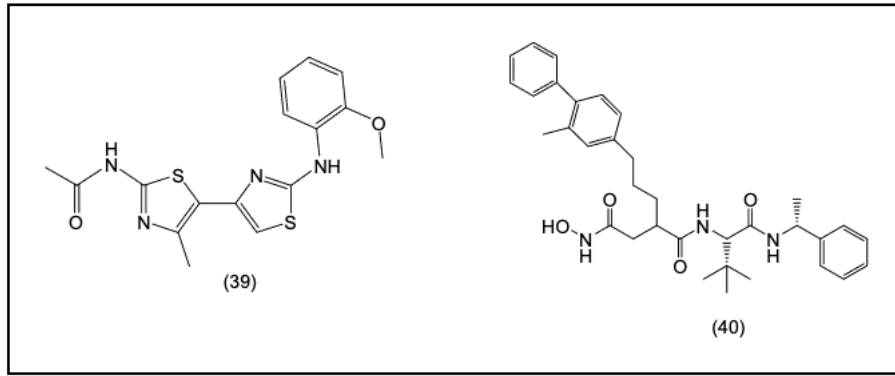
Şekil 16. MMP Regülasyonu sağlayan metal kompleksleri (34-38)

Allosterik İnhibitörler

Matriks metalloproteinazlarda katalitik çinko iyonu, substratlarla etkileşimlerin azaltılması durumunda inhibitör seçiciliğinin artırılmasına olanak tanımaktadır [80]. MMP'lerde yer alan hemopeksin benzeri domain, katalitik domaine göre konformasyonel hareketlilik gösterebilir ve bu şekilde enzimin aktivitesini allosterik olarak düzenleyebilir. Allosterik ilaçlar, non-kompetitif inhibisyon mekanizması ile etki gösterir; MMP'nin aktif bölgesine bağlanarak bu bölgeyi kilitler ve substrat bağlanması için daha az elverişli bir konformasyona yol açar. Bu sayede, hedef dışı inhibisyonun önüne geçilir ve yan etki oluşumu engellenebilir [81].

JNJ0966 (39), MMP-9 zimojeninin aktivasyonunu seçici bir şekilde inhibe eden bir bileşik olarak tanıtılmıştır. Bu bileşik, pro-MMP-9'un katalitik olarak aktif MMP-9 formuna dönüşümünü önleyerek enzimin aktivasyonunu engeller [82].

Seçici MMP inhibitörü arayışında allosterik inhibisyon yaklaşımının bir diğer umut verici örneği olarak UK-356618 (40) karşımıza çıkmaktadır. Süksinil hidroksamik asit türevleri üzerinde yapılan çalışmalarda UK-356618, P1' ve P3' gruplarında yapılan küçük yapısal değişikliklerle güçlü ve seçici MMP-3 inhibitörü olarak elde edilmiştir [83]. Bileşik 39 ve 40 yapıları Şekil 17'de verilmiştir.



Şekil 17. Allosterik inhibitörler (39,40)

Dual İnhibitörler

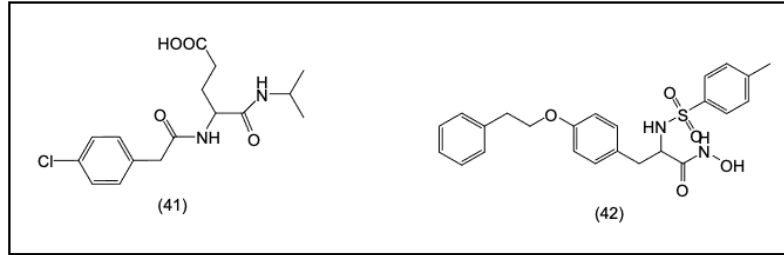
Son yıllarda, histon deasetilaz (HDAC)' lar ve MMP'ler gibi metalloenzimlerin hem solid hem de hematolojik karsinogenez süreçlerinde rol oynadığı belirlenmiştir [84]. Sınıf I HDAC enzimlerinden biri olan HDAC 8, transkripsiyon faktörlerinin düzenlenmesinde etkili olan ve tümör oluşumu ile ilişkili kromatin yapısını değiştiren bir "epigenetik düzenleyici" olarak görev yapmaktadır [85].

MMP-2'nin hematolojik malignitelerde invazyon, metastaz ve anjiyogenez gibi olaylardaki etkisinin, RECK proteini aracılığıyla HDAC inhibitörleri tarafından baskılanabildiği ortaya konmuştur. Bu bağlamda, izoform-selektif HDAC-8 ve MMP-2 inhibitörleri lösemi tedavisinde sinerjistik bir farmakolojik etki sağlayabilir [86]. Bu durum, HDAC inhibisyonunun MMP'leri (özellikle MMP-2) dolaylı olarak baskılayarak çift yönlü antikanser etki sağladığını ortaya koyan sinerjistik bir mekanizmaya işaret etmektedir.

Cheng ve arkadaşları, farklı çinko bağlayıcı gruplar (hidroksamatlar, karboksilatlar) içeren çeşitli L-tirozin türevleri tasarlamış ve sentezlemiştir. Bu bileşiklerin HDAC-8 ve MMP-2 inhibitör aktiviteleri değerlendirilmiş ve elde edilen veriler, standart inhibitörler olan SAHA ve N-izobütil-N-(4-metoksifenilsülfonil)glisil hidroksamik asit (NNGH) ile karşılaştırılmıştır. Bu hidroksamat türevlerinden özellikle (41) FDA onaylı ilaç SAHA ile karşılaştırılabilir düzeyde HDAC-8 inhibisyonu göstermiştir. Moleküler docking analizlerine göre bu bileşik, MMP-2'nin aktif bölgesi ile etkileşim kurmakta; burada feniletiloksi grubu S1' cebine yerleşirken, hidroksamat fonksiyonu çinko iyonu ile koordinasyon sağlamaktadır [87].

Bir dizi izoglutamin türevi, HDAC-8 ve MMP-2 enzimlerine karşı değerlendirilmiştir. Elde edilen bileşiklerin büyük kısmı MMP-2'ye karşı seçici olup, MMP-8 ve MMP-12 gibi hedef dışı enzimlere karşı daha düşük etkinlik göstermiştir. MMP-2'ye karşı yüksek etkinlik gösteren bileşikler, aynı

zamanda HDAC-8 enzimine karşı da etkili olmuş; ancak HDAC-1 ve HDAC-2 gibi diğer sınıf 1 HDAC'lere karşı daha düşük etki sergilemiştir. Moleküler dinamik simülasyonları, bu tasarlanmış bileşiklerin HDAC-8'in 'asetat iyon kanalı' bölgesinde farklı bir etki mekanizması üzerinden hareket edebileceğini göstermiştir. En etkili dual MMP-2/HDAC-8 inhibitörü (42), A549 insan akciğer karsinom hücre hattı üzerinde yapılan *in vitro* hücresel testlerde incelenmiştir. Bu analizler, söz konusu çift etkili inhibitörlerin belirgin anti-migrasyon ve anti-invazyon özellikleri taşıdığını ortaya koymuştur [88]. Bileşik 41 ve 42 yapıları Şekil 18'de verilmiştir.



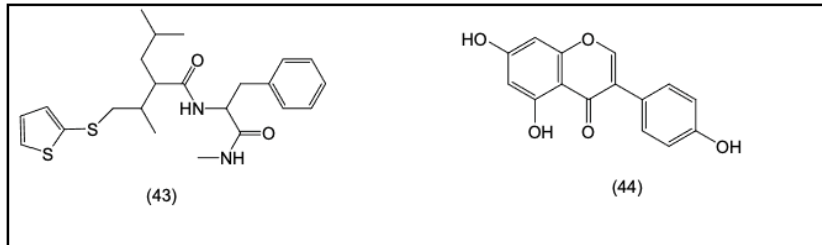
Şekil 18. Dual inhibitörler [41,42]

Doğal Kaynaklardan Elde Edilen İnhibitörler

Birçok doğal bileşiğin seçici inhibisyon gösterdiği çalışmalarla ortaya konulmuştur. Wang ve arkadaşları, tıbbi bitkilerden izole edilen 4000 doğal bileşik arasından potansiyel MMP inhibitörü olabilecek 19 adet bileşik tespit etmişlerdir [89]. Kafeatlar ve flavonoidlerin de S1' ve S3 cephesini kaplayarak MMP-2 ve -9'a karşı seçici inhibitör aktivite sergiledikleri kaydedilmiştir [90]. Doğal MMP'ler biyo-uyumlu ve daha az toksik olmasına rağmen, etkili dozajlarının sentetik inhibitörlerden binlerce kat daha yüksek mikromolar ölçekte olması ve patentlenmesinin zor olması gibi dezavantajları vardır [90].

Köpekbalığı kıkırdağından elde edilen bir ekstrakt olan Neovastat (43), VEGF ve MMP'leri inhibe ederek anti-metastatik ve anti-anjiyogenik etkiler göstermektedir. Faz-I klinik çalışmasında, Neovastatin yüksek dozda kullanımında sağkalım üzerinde olumlu etkiler sağladığı ve iyi tolere edildiği gösterilmiştir. Ancak, kolorektal, meme, küçük hücre dışı akciğer ve böbrek kanseri hastalarında kullanılmak üzere Faz-III çalışmasına başlanmış olsa da istenmeyen etkiler nedeniyle bu çalışma sonlandırılmıştır [91].

Genistein (4',5,7-trihidroksiizoflavon) (44), doğal flavonoidlerin bir alt sınıfına ait bir fitoöstrojen olup, tümör büyümesini ve yayılımını etkin bir biçimde inhibe ederek çeşitli hücre mekanizmaları modüle eder. Genistein, MMP-2 ve MMP-9 üzerindeki inhibitör etkisini nükleer faktör kappa B (NF-κB) aktivasyonunun baskılanması yoluyla gösterdiğine dair çalışmalar da raporlanmıştır [92]. Bileşik 43 ve 44 yapıları, Şekil 19'da verilmiştir.



Şekil 19. Doğal kaynaklardan elde edilen inhibitörler [43,44]

Yeni Yaklaşımlar

Son çalışmalarda, her bir MMP enziminin seçici inhibisyon için hedeflenebilecek kendine özgü potansiyel inhibitör bölgelere veya 'sıcak noktalar (hot spot)'a sahip olduğu ileri sürülmüştür [93]. Bu sıcak noktalar, her enzimin yapısında potansiyel bağlanma boşluklarında bulunur. Bu tür bölgeler aracılığıyla proteinin; amino asit bileşimine, kimyasal potansiyeline ve geometrisine bağlı olarak inhibe edici etki ortaya koyulabilir. Bu nedenle, protein yüzeyinde bulunan alternatif inhibe edici bölgelere yönelik inhibitörler tasarlamak, bu boşlukların esnekliğini kısıtlayabilir veya korunmuş hale getirebilir; bu da MMP'ler için seçici ve etkili inhibitörlerin oluşumunda yardımcı olabilir [93]. Protein esnekliğindeki değişikliklerin, bir proteinin aktif ve inaktif konformasyonları arasında belirgin yapısal farklılıkların gözlemlenmediği durumlarda, proteinlerin allosterik regülasyonu için etkili bir yöntem olarak önerildiği ifade edilmiştir. Bu sayede inhibisyon, proteinlerin statik değil dinamik yapılar olması nedeniyle proteinin davranışındaki değişikliklerle kendini gösterir [94]. Bu çalışmanın ortaya koyduğu hipotez, enzim katalitik bölgesi dışındaki çeşitli MMP alanlarına karşı etkili inhibitör antikorumların geliştirilmesine zemin hazırlamıştır [95].

Antikorumlar, seçici bir şekilde yakın ilişkili antijenlere bağlanabildiklerinden terapötik ajanlar olarak umut verici adaylar arasında gösterilir. Ancak antikorumların antijen bağlanma bölgeleri genellikle düz veya çukur yapıda olduğundan, proteazların katalitik yarığının çukurumsu şekliyle etkili bir şekilde etkileşim kurmaya uygun değildir. Son birkaç yılda araştırmacılar, antikorumların yalnızca katalitik yarıkla değil, proteinin yüzeyindeki düzenleyici sıcak noktalarla etkileşim kurmasını gerektiren bir yaklaşıma geçerek son derece seçici ve etkili antikorum bazlı MMP inhibitörleri geliştirme engellerini aşmayı başarmışlardır. Bunun yanında antikorum bazlı ve TIMP'ler ile Pro-domain bazlı MMP inhibitörleri gibi endojen benzeri protein inhibitörlerin gelişimindeki ilerlemeler de kayda değer bulunmuştur [95].

Marshall ve arkadaşları, MMP-9 için son derece seçici ve etkili allosterik inhibe edici antikorumlar olan AB0041 ve AB0046 yapılarını bildirmiştir. Bu antikorumlar, fareleri insan MMP-9'un tam boyutlu hali ile immünize ederek üretilmiştir. Her iki antikorum da yüksek afiniteye ve potansiyele sahip olmanın yanı sıra rekabetçi olmayan inhibisyon özellikleri göstermiştir. AB0041 sadece insan ve sıçan MMP-9'a bağlanırken, AB0046 yalnızca fare MMP-9'a bağlanmıştır. Bu durum, araştırmacıların her antikorumun bağlanma epitopunu haritalamasına imkân vermiştir. Bağlanma bölgesinin hemopeksin domaini yerine pro-katalitik domain olarak tanımlanmasının ardından yapılan nokta mutasyon analizleri, bu bölgenin aktif alan çinko iyonuna yakın olduğunu ancak substrat bağlanma cebine müdahale etmediğini göstermiştir [96].

Andecaliximab, AD0041'ün insanlaştırılmış versiyonu olup, oldukça seçici bir monoklonal antikordur ve kolorektal karsinoma modelinde tümör büyümesi ve metastaz üzerinde allosterik kontrol sağlayarak etkili olmuştur. Bu antikorum, klinik denemelere tabi tutulmuş tek antikorum olup, pro-MMP-9 aktivasyonunu engellemiş ve MMP-9 enzim aktivitesini non-kompetitif bir şekilde inhibe etmiştir [97].

Yüksek inhibitör kapasitesi ve özgüllük farklılıkları nedeniyle TIMP'ler, MMP enzim ailesinin farklı üyelerine karşı yeni inhibitör varyantlarının tasarımında önemli bir hedef haline gelmiştir [98]. TIMP ailesinde en küçük bir değişiklik bile proteinin inhibitör etkisini önemli ölçüde artırabilir veya azaltabilir. TIMP'lerin büyük avantajı, yönlendirilmiş evrim durumunda oldukça kullanışlı bir başlangıç noktası olan substrat esnekliği sağlamasıdır [98]. Grossman ve arkadaşlarının yayımladığı bir çalışmada, TIMP-1'in N-terminal domaininde yer alan tek bir amino asit mutasyonunun, enzimin omurgasını doğru bağlanma konformasyonuna stabilize ederek MT1-MMP'ye karşı inhibitör etkinliğini belirgin şekilde artırdığı gösterilmiştir [99].

SONUÇ VE TARTIŞMA

MMP'ler çeşitli hastalıkların tedavisi için yüksek öneme sahip ilaçlanabilir hedefler olarak kabul edildiğinden, bu inhibitörlerin gelişimine duyulan ihtiyaç devam etmektedir. Çoğu MMP enzimi homolog bir katalitik alanı paylaştığından tek bir MMP'yi inhibe edecek seçiciliğe ulaşmak zordur [100]. Nitekim geliştirilen ilk bileşikler; seçicilikten yoksun olup, neredeyse tüm MMP'lere aynı anda inhibisyon aktivitesi ortaya koymaları nedeniyle klinik çalışmalarda yan etkilere ve toksisiteye yol açmıştır. MMP inhibitörlerinin yan etkileri ağırlıklı olarak hedef dışı metal şelasyonu ile ilişkilidir [101]. Klinik çalışmalarda en sık görülen yan etkiler; eklemlerde ağrı ve hareketsizlik, artralji, ellerde kontraktür ve genel olarak yaşam kalitesinde azalma şeklinde kendini gösteren kas-iskelet sistemi

sendromudur. Bu yan etki MMP'nin klinik deneylerin son aşamalarında başarısız olmasına yol açmaktadır [101].

Jelatinazlar (MMP-2/-9) üzerinde en çok çalışılan MMP grubu olarak öne çıkmaktadır. Bunun sebebi olarak MMP-2/-9'un aşırı ekspresyonu ve düzensizliğinin kanser prognozu üzerindeki ilişkisinin önemli ölçüde aydınlatılması olarak öne sürülebilir [38]. Bugüne kadar klinik çalışmalarda özellikle antikanser aktiviteleri açısından incelenen MMP-2/-9 inhibitörleri Tablo 1'de derlenerek bir araya getirilmiştir.

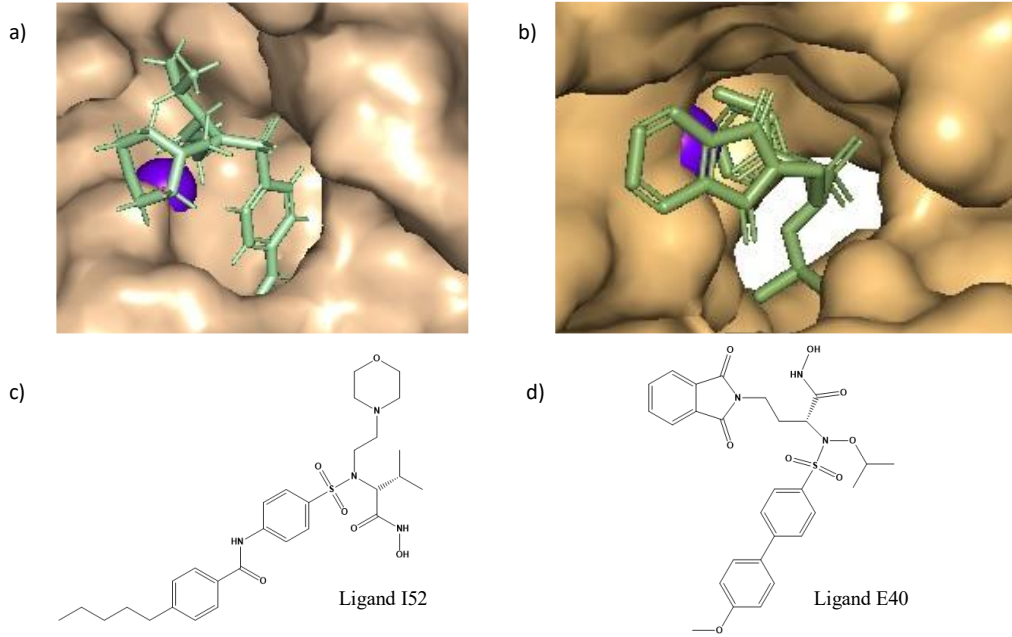
Tablo 1. Klinik denemelerdeki MMP-2 ve MMP-9 inhibitörleri

İnhibitör	Yapı/Sınıf	Hedef(ler)	Klinik Fazlar	Çalışılan Yıllar	Durum*
Marimastat	Hidroksamat temelli	Geniş (MMP-1, -2, -9)	Faz I–III	~1994–2002	Kas-iskelet toksisitesi nedeniyle sonlandırılmıştır
Batimastat	Hidroksamat temelli	Geniş (MMP-2, -9)	Faz I	~1992–1998	Düşük çözünürlük nedeniyle sistemik kullanımı sınırlı kalmış; ilerletilmemiştir
Ilomastat	Hidroksamat temelli	Geniş spektrum (MMP-1, -2, -3, -9)	Preklinik	~1990'lar	Yetersiz biyoyararlanım nedeniyle klinik ilerleme sınırlı kalmıştır
Prinomastat	Hidroksamat temelli	MMP-2, -9, -14	Faz I–III	~1998–2003	Kas-iskelet sistemi toksisiteleri gözlemlenmesi nedeniyle erken sonlandırılmıştır
CGS-27023A	Hidroksamat temelli	MMP-2, MMP-9	Faz I	~1997–2001	Bazı etkinlik göstermiştir ancak geliştirme devam ettirilmemiştir
Rebimastat	Tiyol bazlı MMPI (non-hidroksamat)	MMP-1, -2, -7, -9, -14	Faz II–III	~1999–2005	Kas-iskelet sistemi toksisitesi nedeniyle geliştirme süreci durdurulmuştur
Tanomastat	Karboksilat temelli	MMP-2, -9	Faz I–III	~1998–2002	Yumurtalık ve pankreas kanserinde etkisizlik nedeniyle durdurulmuştur
Metastat	Tetrasiklin türevi	MMP-2, MMP-9	Faz I–II	~1999–2006	Güvenli bulunmuştur ancak düşük etkinlik göstermiştir
Neovastat	Doğal inhibitör	MMP-2, -9, -12 ve VEGF	Faz I–III	~1999–2003	Faz çalışmalarında anlamlı bir fayda gösterilememiştir
Andecaliximab	Monoklonal antikor	Selektif MMP-9	Faz I–II	~2014–2019	İyi tolere edilmiştir; ancak ileri çalışmalara geçilmemiştir

*Tabloda yer alan preklinik veriler; *in vitro* enzim inhibisyon testleri (jelatinaz zimografisi, floresan tabanlı aktivite testleri), hücre temelli invazyon ve migrasyon modelleri ile *in vivo* tümör ksenograft çalışmalarından elde edilmiştir. Klinik faz ve geliştirme durumuna ilişkin bilgiler, clinicaltrials.gov veri tabanında yer alan çalışmalardan derlenmiştir

MMP'lerin spesifik alt tipleri ile patolojik olaylardaki fonksiyonlarına ilişkin bilgilere ulaşıldıkça,

seçici inhibitörlerin geliştirilmesi ihtiyacı da artmıştır. X-ışını kristalografisi ve NMR spektroskopisi yoluyla elde edilen enzim/inhibitör kompleks verileri, MMP ailesindeki yapısal benzerlik ve farklılıkların detaylı şekilde anlaşılmasını mümkün kılarak seçici inhibitör keşfine katkı vermiştir. Çalışmalarda bir araya getirilen bilgilerle katalitik merkezin proksimalindeki S1' cebinin hedeflenmesi, MMP'ler arasında seçicilik sağlamak için geçerli bir yaklaşım olduğunu kanıtlamıştır [102]. MMP-2 ve MMP-9 arasındaki S1' cep derinliği ile iskeletlerin bu cebe yerleşim biçimlerini gösteren bir karşılaştırma görsel Şekil 20'de gösterilmiştir. Öte yandan çinko şelatörü olarak yaygın olarak kullanılan hidroksamik asit yapısının karboksilik asitler gibi daha zayıf şelatörlerle değiştirilmesi, metal şelasyonunun afinite üzerindeki etkisini azaltmış ve daha seçici olan inhibitörlerle sonuçlanmıştır.



Şekil 20. MMP-2 ve MMP-9 bağlanma bölgelerindeki S1' cep derinliğinin karşılaştırılması: (a) ve (b)'de sırasıyla MMP-2 (PDB ID: 1HOV) ve MMP-9 (PDB ID: 4WZV) kristallerinin moleküler yüzeyleri vurgulanarak kimyasal iskeletleri yeşil renk ile temsil edilen (c) ve (d)'de verilen ligandların bu cebe yerleşimleri gösterilmiştir; çinko(II) iyonu mor küre ile temsil edilmiştir

Bu incelemede genel olarak tartışılan yeni nesil MMP inhibitörleri, yüksek spesifiklikte etkili inhibitörler geliştirmede karşılaşılan ana zorlukların üstesinden gelmek için son yıllarda kaydedilen ilerlemeleri göstermektedir. Yenilikçi protein mühendisliğinin ilaç keşfi gelişmelerine entegrasyonu ile üretilen yeni nesil MMP inhibitörleri, fizyolojik ve patolojik doku proteolizine bağlı karmaşık mekanizmaların ortaya çıkarılması için yeni fırsatlar sunacaktır. Tüm gelişmelerle birlikte bir MMP inhibitörünün FDA onayı alması ve çok sayıda MMP inhibitörünün klinik deneylere girmesi, etkili ve seçici bir MMP inhibitörünün geliştirilmesi için umutların sürdüğünü göstermektedir.

YAZAR KATKILARI

Kavram: O.B.D.; Tasarım: Z.A.; Denetim: O.B.D.; Kaynaklar: Z.A., O.B.D.; Malzemeler: - ; Veri Toplama ve/veya İşleme: - ; Analiz ve/veya Yorumlama: - ; Literatür Taraması: Z.A.; Makalenin Yazılması: Z.A., O.B.D.; Kritik İnceleme: O.B.D.; Diğer: -

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar bu makale için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

1. Cui, N., Hu, M., Khalil, R.A. (2017). Chapter One - Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. Eds: Khalil R.A. Progress in Molecular Biology and Translational Science, Elsevier Academic Press Inc, California, 1-73.
2. Klein, T., Bischoff, R. (2010). Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteases. *Amino Acids*, 41(2), 271-290. [\[CrossRef\]](#)
3. Trabocchi, A., Lenci, E. (2024). Matrix Metalloproteases. Eds: Supuran, C.T., Donald, W.A. Metalloenzymes, Academic Press, Amsterdam, 197-206.
4. Maskos, K. (2005). Crystal structures of MMPs in complex with physiological and pharmacological inhibitors. *Biochimie*, 87, 249-263. [\[CrossRef\]](#)
5. Amalinei, C., Căruntu, I.D., Giuscă, S.E., Balan, R.A. (2017). Complex Mechanisms of Matrix Metalloproteinases Involvement in Endometrial Physiology and Pathology-An Update. Eds: Chakraborti, S., Chakraborti, T., Dhalla, N. Proteases in Human Diseases, Springer, Singapore, 41-67.
6. Schechter, I., Berger, A. (1967). On the size of the active site in proteases. I. Papain. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 27(2), 157-162. [\[CrossRef\]](#)
7. Bode, W., Reinemer, P., Huber, R., et al. (1994). The X-ray crystal structure of the catalytic domain of human neutrophil collagenase inhibited by a substrate analogue reveals the essentials for catalysis and specificity. *The European Molecular Biology Organization Journal*, 13(6), 1263-1269. [\[CrossRef\]](#)
8. Fischer, T., Senn, N., Riedl, R. (2019). Design and structural evolution of matrix metalloproteinase inhibitors. *Chemistry – A European Journal*, 25(34), 7960-7980. [\[CrossRef\]](#)
9. Visse, R., Nagase, H. (2003). Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases. *Circulation Research*, 92(8), 827-839. [\[CrossRef\]](#)
10. Kwan, J.A., Schulze, C.J., Wang, W., et al. (2004). Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) is present in the nucleus of cardiac myocytes and is capable of cleaving poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) *in vitro*. *The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 18(6), 690-692. [\[CrossRef\]](#)
11. Murphy, G., Nagase, H. (2008). Progress in matrix metalloproteinase research. *Molecular Aspects of Medicine*, 29(5), 290-308. [\[CrossRef\]](#)
12. Das, S., Amin, S.A., Jha, T. (2021). Inhibitors of gelatinases (MMP-2 and MMP-9) for the management of hematological malignancies. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 223, 113623. [\[CrossRef\]](#)
13. Van Wart, H.E., Birkedal-Hansen, H. (1990). The cysteine switch: A principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metalloproteinase gene family. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(14), 5578-5582. [\[CrossRef\]](#)
14. Gimeno, A., Beltrán-Debón, R., Mulero, M., et al. (2020). Understanding the variability of the S1' pocket to improve matrix metalloproteinase inhibitor selectivity profiles. *Drug Discovery Today*, 25(1), 38-57. [\[CrossRef\]](#)
15. Daniele, A., Abbate, I., Oakley, C., et al. (2016). Clinical and prognostic role of matrix metalloproteinase-2, -9 and their inhibitors in breast cancer and liver diseases: A review. *The International Journal Of Biochemistry and Cell Biology*, 77, 91-101. [\[CrossRef\]](#)
16. Patel, S., Sadhu, P., Kumari, M., et al. (2023). A review on anticancer agents: Conventional drugs and novel target specific inhibitors. *Oriental Journal of Chemistry*, 39(3), 657-669. [\[CrossRef\]](#)
17. Fields, G.B. (2019). The rebirth of matrix metalloproteinase inhibitors: Moving beyond the dogma. *Cells*, 8(9), 984. [\[CrossRef\]](#)
18. Mondal, S., Adhikari, N., Banerjee, S., et al. (2020). Corrigendum to “matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and its inhibitors in cancer: A minireview. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 205, 112260. [\[CrossRef\]](#)
19. Fields, G.B. (2019). Mechanisms of action of novel drugs targeting angiogenesis-promoting matrix metalloproteinases. *Frontiers in Immunology*, 10(6), 442290. [\[CrossRef\]](#)
20. Almutairi, S., Kalloush, H.M., Manoon, N.A., et al. (2023). Matrix metalloproteinases inhibitors in cancer treatment: An updated review (2013-2023). *Molecules*, 28(14), 5567. [\[CrossRef\]](#)
21. Mustafa, S., Koran, S., AlOmair, L. (2022). Insights into the role of matrix metalloproteinases in cancer and its various therapeutic aspects: A Review. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 9, 896099. [\[CrossRef\]](#)
22. Willenbrock, F., Murphy, G., Phillips, I.R., et al. (1995). The second zinc atom in the matrix metalloproteinase catalytic domain is absent in the full-length enzymes: A possible role for the C-terminal domain. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 358(2), 189-192. [\[CrossRef\]](#)

23. Higashi, S., Miyazaki, K. (2008). Identification of amino acid residues of the matrix metalloproteinase-2 essential for its selective inhibition by β -Amyloid precursor protein-derived inhibitor. *Journal of Biological Chemistry*, 283(15), 10068-10078. [\[CrossRef\]](#)
24. Agrawal, A., Romero-Perez, D., Jacobsen, J.A., et al. (2008). Zinc-binding groups modulate selective inhibition of MMPs. *ChemMedChem*, 3(5), 812-820. [\[CrossRef\]](#)
25. Jacobsen, J.A., Major Jourden, J.L., Miller, M.T., et al. (2010). To bind zinc or not to bind zinc: An examination of innovative approaches to improved metalloproteinase inhibition. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1803(1), 72-94. [\[CrossRef\]](#)
26. Verma, R.P. (2012). Hydroxamic Acids as Matrix Metalloproteinase Inhibitors. Eds: Gupta, S. *Matrix Metalloproteinase Inhibitors. Experientia Supplementum*, 103, Springer, Basel, 137-176.
27. Thompson, E.W., Reich, R., Martin, G.R., Albini, A. (1988). Factors Regulation Basement Membrane Invasion by Tumor Cells. Eds: Lippman, M.E., Dickson, R.B. *Breast Cancer: Cellular and Molecular Biology. Cancer Treatment and Research*, 40, Springer, Boston, MA, 239-249. [\[CrossRef\]](#)
28. Jobin, P.G., Butler, G.S., Overall, C.M. (2017). New intracellular activities of matrix metalloproteinases shine in the moonlight. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1864(11), 2043-2055. [\[CrossRef\]](#)
29. Igarashi, N., Kubota, T., Otani, Y., et al. (1999). Preventive effect of matrix metalloproteinase inhibitor, r-94138, in combination with mitomycin c or cisplatin on peritoneal dissemination of human gastric cancer cell line tmk-1 in nude mice. *Japanese Journal of Cancer Research*, 90(1), 116-121. [\[CrossRef\]](#)
30. Conradi, R.A., Hilgers, A.R., Ho, N.F.H., et al. (1991). The influence of peptide structure on transport across Caco-2 cells. *Pharmaceutical Research*, 08(12), 1453-1460. [\[CrossRef\]](#)
31. Aureli, L., Gioia, M., Cerbara, I., et al. (2008). Structural bases for substrate and inhibitor recognition by matrix metalloproteinases. *Current Medicinal Chemistry*, 15(22), 2192-2222. [\[CrossRef\]](#)
32. Brown, P.D. (1998). Matrix metalloproteinase inhibitors. *Breast Cancer Research and Treatment*, 52(1-3), 125-136. [\[CrossRef\]](#)
33. Moroy, G., Denhez, C., El Mourabit, H., et al. (2007). Simultaneous presence of unsaturation and long alkyl chain at P'1 of Ilomastat confers selectivity for gelatinase A (MMP-2) over gelatinase B (MMP-9) inhibition as shown by molecular modelling studies. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 15(14), 4753-4766. [\[CrossRef\]](#)
34. Levin, J.I., Du, M.T., DiJoseph, J.F., et al. (2001). The discovery of anthranilic acid-based MMP inhibitors. Part 1: SAR of the 3-position. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 11(2), 235-238. [\[CrossRef\]](#)
35. Macpherson, L.J. (1997). ChemInform abstract: Discovery of CGS 27023A, a non-peptidic, potent, and orally active stromelysin inhibitor that blocks cartilage degradation in rabbits. *ChemInform*, 28(48). [\[CrossRef\]](#)
36. Jain, P., Saravanan, C., Singh, S.K. (2013). Sulphonamides: Deserving class as MMP inhibitors? *European Journal of Medicinal Chemistry*, 60, 89-100. [\[CrossRef\]](#)
37. Wagner, S., Faust, A., Breyholz, H.J., et al. (2011). The MMP inhibitor (R)-2-(N-benzyl-4-(2-[18F] fluoroethoxy) phenylsulphonamido)-N-hydroxy-3-methylbutanamide: Improved precursor synthesis and fully automated radiosynthesis. *Applied Radiation and Isotopes*, 69(6), 862-868. [\[CrossRef\]](#)
38. Baidya, S.K., Amin, S.A., Jha, T. (2021). Outline of gelatinase inhibitors as anti-cancer agents: A patent mini-review for 2010-present. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 213, 113044. [\[CrossRef\]](#)
39. Hande, K.R., Collier, M., Paradiso, L., et al. (2004). Phase I and pharmacokinetic study of prinomastat, a matrix metalloprotease inhibitor. *Clinical Cancer Research*, 10(3), 909-915. [\[CrossRef\]](#)
40. Hugenberg, V., Behrends, M., Wagner, S., et al. (2018). Synthesis, radiosynthesis, *in vitro* and first *in vivo* evaluation of a new matrix metalloproteinase inhibitor based on γ -fluorinated α -sulfonylamino hydroxamic acid. *EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry*, 3, 10. [\[CrossRef\]](#)
41. Zapico, J.M., Puckowska, A., Filipiak, K., et al. (2015). Design and synthesis of potent hydroxamate inhibitors with increased selectivity within the gelatinase family. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 13(1), 142-156. [\[CrossRef\]](#)
42. Nuti, E., Cantelmo, A.R., Gallo, C., et al. (2015). N-O-isopropyl sulfonamido-based hydroxamates as matrix metalloproteinase inhibitors: Hit selection and *in vivo* antiangiogenic activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58(18), 7224-7240. [\[CrossRef\]](#)
43. Sjøli, S., Nuti, E., Camodeca, C., et al. (2016). Synthesis, experimental evaluation and molecular modelling of hydroxamate derivatives as zinc metalloproteinase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 108, 141-153. [\[CrossRef\]](#)
44. Barta, E., Becker, T.P., Bedell, D.J., et al. (2000). Synthesis and activity of selective MMP inhibitors with an aryl backbone. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 10(24), 2815-2817. [\[CrossRef\]](#)

45. Bolelli, E., Bolelli T. (2020). Pharmacophore modeling studies on known MMP-9 enzyme inhibitors to identify the important common features. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 44(2), 204-210. [\[CrossRef\]](#)
46. Muri, E., Nieto, M., Sindelar, R., et al. (2012). Hydroxamic acids as pharmacological agents. *Current Medicinal Chemistry*, 9(17), 1631-1653. [\[CrossRef\]](#)
47. Cerofolini, L., Fragai, M., Luchinat, C. (2019). Mechanism and inhibition of matrix metalloproteinases. *Current Medicinal Chemistry*, 26(15), 2609-2633. [\[CrossRef\]](#)
48. Hu, J., Van den Steen, P.E., Sang, Q.X.A., et al. (2007). Matrix metalloproteinase inhibitors as therapy for inflammatory and vascular diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*, 6(6), 480-498. [\[CrossRef\]](#)
49. Mehner, C., Hockla, A., Miller, E., et al. (2014). Tumor cell-produced matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) drives malignant progression and metastasis of basal-like triple negative breast cancer. *Oncotarget*, 5(9), 2736-2749. [\[CrossRef\]](#)
50. Baxter, A.D., Bird, J., Bhogal, R., et al. (1997) A novel series of matrix metalloproteinase inhibitors for the treatment of inflammatory disorders. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 7(7), 897-902. [\[CrossRef\]](#)
51. Whittaker, M., Floyd, C.D., Brown, P., et al. (1999). Design and therapeutic application of matrix metalloproteinase inhibitors. *Chemical Reviews*, 99(9), 2735-2776. [\[CrossRef\]](#)
52. Georgiadis, D., Yiotakis, A. (2008). Specific targeting of metzincin family members with small-molecule inhibitors: Progress toward a multifarious challenge. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 16(19), 8781-8794. [\[CrossRef\]](#)
53. Fray, M.J., Dickinson, R.P., Huggins, J.P., et al. (2003). A potent, selective inhibitor of matrix metalloproteinase-3 for the topical treatment of chronic dermal ulcers. *Journal of Medicinal Chemistry*, 46(16), 3514-3525. [\[CrossRef\]](#)
54. Nozaki, S., Sissons, S., Chien, D.S., et al. (2003). Activity of biphenyl matrix metalloproteinase inhibitor BAY 12-9566 in a human breast cancer orthotopic model. *Clinical and Experimental Metastasis*, 20(5), 407-412. [\[CrossRef\]](#)
55. Adhikari, N., Halder, A.K., Mallick, S., et al. (2016). Robust design of some selective matrix metalloproteinase-2 inhibitors over matrix metalloproteinase-9 through *in silico*/fragment-based lead identification and de novo lead modification: Syntheses and biological assays. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 24(18), 4291-4309. [\[CrossRef\]](#)
56. Reiter, L.A., (1999). Cheminform abstract: Inhibition of MMP-1 and MMP-13 with phosphinic acids that exploit binding in the S2 pocket. *ChemInform*, 30(19). [\[CrossRef\]](#)
57. Pochetti, G., Gavuzzo, E., Campestre, C., et al. (2006). Structural insight into the stereoselective inhibition of MMP-8 by enantiomeric sulfonamide phosphonates. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(3), 923-931. [\[CrossRef\]](#)
58. Arun, M.Z., Reel, B., Sala-Newby, G.B., et al. (2016). Zoledronate upregulates MMP-9 and -13 in rat vascular smooth muscle cells by inducing oxidative stress. *Drug Design, Development and Therapy*, 10, 1453-1460. [\[CrossRef\]](#)
59. Cheng M., De B., Pikul S., et al. (2000). Design and synthesis of piperazine-based matrix metalloproteinase inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 43(3), 369-80. [\[CrossRef\]](#)
60. Grams, F., Brandstetter, H., Dalò, S., et al. (2001). Pyrimidine-2,4,6-triones: A new effective and selective class of matrix metalloproteinase inhibitors. *Biological Chemistry*, 382(8), 1277-1285. [\[CrossRef\]](#)
61. Breyholz, H.J., Schäfers, M., Wagner, S., et al. (2005). C-5-disubstituted barbiturates as potential molecular probes for noninvasive matrix metalloproteinase imaging. *Journal of Medicinal Chemistry*, 48(9), 3400-3409. [\[CrossRef\]](#)
62. Wang, J., Medina, C., Radomski, M.W., et al. (2011). N-substituted homopiperazine barbiturates as gelatinase inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 19(16), 4985-4999. [\[CrossRef\]](#)
63. Ayoup, M.S., Fouad, M.A., Abdel-Hamid, H., et al. (2020). Battle tactics against MMP-9; discovery of novel non-hydroxamate MMP-9 inhibitors endowed with PI3K/AKT signaling attenuation and caspase 3/7 activation via Ugi bis-amide synthesis. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 186, 111875. [\[CrossRef\]](#)
64. Acharya, M.R., Venitz, J., Figg, W.D., et al. (2004). Chemically modified tetracyclines as inhibitors of matrix metalloproteinases. *Drug Resistance Updates*, 7(3), 195-208. [\[CrossRef\]](#)
65. Hanemaaijer, R., van Lent N., Sorsa T., Salo T., Kontinen Y.T., Lindeman J. (2001). Inhibition of Matrix Metalloproteinases (MMPs) by Tetracyclines. Eds: Nelson, M., Hillen, W., Greenwald, R.A. *Tetracyclines in Biology, Chemistry and Medicine*, Birkhäuser, Basel, 267-281.
66. Fisher, J.F., Mobashery, S. (2010). Mechanism-based profiling of MMPs. *Methods in Molecular Biology*, 622, 471. [\[CrossRef\]](#)

67. Ikejiri, M., Bernardo, M.M., Bonfil, R.D., et al. (2005). Potent mechanism-based inhibitors for matrix metalloproteinases. *Journal of Biological Chemistry*, 280(40), 33992-34002. [\[CrossRef\]](#)
68. Forbes, C., Shi, Q., Fisher, J.F., et al. (2009). Active site ring-opening of a thiirane moiety and picomolar inhibition of gelatinases. *Chemical Biology and Drug Design*, 74(6), 527-534. [\[CrossRef\]](#)
69. Gooyit, M., Suckow, M.A., Schroeder, V.A., et al. (2012). Selective gelatinase inhibitor neuroprotective agents cross the blood-brain barrier. *ACS Chemical Neuroscience*, 3(10), 730-736. [\[CrossRef\]](#)
70. Dufour, A., Sampson, N.S., Li, J., et al. (2011). Small-molecule anticancer compounds selectively target the hemopexin domain of matrix metalloproteinase-9. *Cancer Research*, 71(14), 4977-4988. [\[CrossRef\]](#)
71. Engel, C.K., Pirard, B., Schimanski, S., et al. (2005). Structural basis for the highly selective inhibition of MMP-13. *Chemistry and Biology*, 12(2), 181-189. [\[CrossRef\]](#)
72. Nguyen, Y.T., Kim, N., Lee, H.J. (2023). Metal complexes as promising matrix metalloproteinases regulators. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2), 1258. [\[CrossRef\]](#)
73. Palermo, G., Magistrato, A., Riedel, T., et al. (2015). Fighting cancer with transition metal complexes: From naked DNA to protein and chromatin targeting strategies. *ChemMedChem*, 11(12), 1199-1210. [\[CrossRef\]](#)
74. Stefano, E., Muscella, A., Benedetti, M., et al. (2022). Antitumor and antimigration effects of a new Pt compound on neuroblastoma cells. *Biochemical Pharmacology*, 202, 115124. [\[CrossRef\]](#)
75. Merlino, A. (2016). Interactions between proteins and Ru compounds of medicinal interest: A structural perspective. *Coordination Chemistry Reviews*, 326, 111-134. [\[CrossRef\]](#)
76. Mazuryk, O., Suzenet, F., Kieda, C., et al. (2015). The biological effect of the nitroimidazole derivative of a polypyridyl ruthenium complex on cancer and endothelial cells. *Metallomics*, 7(3), 553-566. [\[CrossRef\]](#)
77. Elie, B.T., Fernández-Gallardo, J., Curado, N., et al. (2019). Bimetallic titanocene-gold phosphane complexes inhibit invasion, metastasis, and angiogenesis-associated signaling molecules in renal cancer. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 161, 310-322. [\[CrossRef\]](#)
78. Wang, J., Chen, D., Li, B., et al. (2016). Fe-MIL-101 exhibits selective cytotoxicity and inhibition of angiogenesis in ovarian cancer cells via downregulation of MMP. *Scientific Reports*, 6(1), 1-13. [\[CrossRef\]](#)
79. Ruiz, M.C., Perelmutter, K., Levín, P., et al. (2022). Antiproliferative activity of two copper (II) complexes on colorectal cancer cell models: Impact on ROS production, apoptosis induction and NF- κ B inhibition. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 169, 106092. [\[CrossRef\]](#)
80. Li, K., Tay, F.R., Yiu, C.K.Y. (2020). The past, present and future perspectives of matrix metalloproteinase inhibitors. *Pharmacology and Therapeutics*, 207, 107465. [\[CrossRef\]](#)
81. Sela-Passwell, N., Rosenblum, G., Shoham, T., et al. (2010). Structural and functional bases for allosteric control of MMP activities: Can it pave the path for selective inhibition? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1803(1), 29-38. [\[CrossRef\]](#)
82. Scannevin, R.H., Alexander, R., Haarlander, T.M., et al. (2017). Discovery of a highly selective chemical inhibitor of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) that allosterically inhibits zymogen activation. *The Journal of Biological Chemistry*, 292(43), 17963-17974. [\[CrossRef\]](#)
83. Fray, M.J., Dickinson, R.P. (2001). Discovery of potent and selective succinyl hydroxamate inhibitors of matrix metalloprotease-3 (stromelysin-1). *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 11(4), 571-574. [\[CrossRef\]](#)
84. Chen, Y., Cohen, S.M. (2015). Investigating the selectivity of metalloenzyme inhibitors in the presence of competing metalloproteins. *ChemMedChem*, 10(10), 1733-1738. [\[CrossRef\]](#)
85. Chakrabarti, A., Oehme, I., Witt, O., et al. (2015). HDAC8: A multifaceted target for therapeutic interventions. *Trends in Pharmacological Sciences*, 36(7), 481-492. [\[CrossRef\]](#)
86. Amin, S.A., Adhikari, N., Jha, T. (2017). Is dual inhibition of metalloenzymes HDAC-8 and MMP-2 a potential pharmacological target to combat hematological malignancies? *Pharmacological Research*, 122, 8-19. [\[CrossRef\]](#)
87. Cheng, X.C., Wang, R.L., Dong, Z.K., et al. (2012). Design, synthesis and evaluation of novel metalloproteinase inhibitors based on L-tyrosine scaffold. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 20(19), 5738-5744. [\[CrossRef\]](#)
88. Halder, A.K., Mallick, S., Shikha, D., et al. (2015). Design of dual MMP-2/HDAC-8 inhibitors by pharmacophore mapping, molecular docking, synthesis and biological activity. *RSC Advances*, 5, (88), 72373-72386. [\[CrossRef\]](#)
89. Wang, L., Li, X., Zhang, S., et al. (2012). Natural products as a gold mine for selective matrix metalloproteinases inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 20(13), 4164-4171. [\[CrossRef\]](#)
90. Mukherjee, P.K., Maity, N., Nema, N.K., Sarkar, B.K. (2013) Natural Matrix Metalloproteinase Inhibitors: Leads from Herbal Resources. Eds: Rahman, A. *Studies in Natural Products Chemistry*, Elsevier, Amsterdam, 91-113.

91. Li, W., Saji, S., Sato, F., et al. (2013). Potential clinical applications of matrix metalloproteinase inhibitors and their future prospects. *The International Journal of Biological Markers*, 28(2), 117-130. [\[CrossRef\]](#)
92. Naponelli, V., Piscazzi, A., Mangieri, D. (2025). Cellular and molecular mechanisms modulated by genistein in cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(3), 1114. [\[CrossRef\]](#)
93. Kasravi, M., Yaghoobi, A., Tayebi, T., et al. (2024). MMP inhibition as a novel strategy for extracellular matrix preservation during whole liver decellularization. *Biomaterials Advances*, 156, 213710. [\[CrossRef\]](#)
94. Devy, L., Dransfield, D.T. (2011). New strategies for the next generation of matrix-metalloproteinase inhibitors: Selectively targeting membrane-anchored MMPs with therapeutic antibodies. *Biochemistry Research International*, 2011, 1-11. [\[CrossRef\]](#)
95. Fischer, T., Riedl, R. (2019). Inhibitory antibodies designed for matrix metalloproteinase modulation. *Molecules*, 24(12), 2265. [\[CrossRef\]](#)
96. Marshall, D.C., Lyman, S.K., McCauley, S., et al. (2015). Selective allosteric inhibition of MMP9 is efficacious in preclinical models of ulcerative colitis and colorectal cancer. *PLOS ONE*, 10(5), e0127063. [\[CrossRef\]](#)
97. Allen, J.L., Hames, R.A., Mastroianni, N.M., et al. (2022). Evaluation of the matrix metalloproteinase 9 (MMP9) inhibitor Andecaliximab as an anti-invasive therapeutic in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncology*, 132, 106008. [\[CrossRef\]](#)
98. Brew, K., Nagase, H. (2010). The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): An ancient family with structural and functional diversity. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1803(1), 55. [\[CrossRef\]](#)
99. Grossman, M., Tworowski, D., Dym, O., et al. (2010). The intrinsic protein flexibility of endogenous protease inhibitor TMP-1 controls its binding interface and affects its function. *Biochemistry*, 49(29), 6184-6192. [\[CrossRef\]](#)
100. Liu, J., Khalil, R.A. (2017). Matrix metalloproteinase inhibitors as investigational and therapeutic tools in unrestrained tissue remodeling and pathological disorders. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 148, 355-420. [\[CrossRef\]](#)
101. Fingleton, B. (2008). MMPs as therapeutic targets-Still a viable option? *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 19(1), 61-68. [\[CrossRef\]](#)
102. Rangasamy, L., Di Geronimo, B., Ortín, I., et al. (2019). Molecular imaging probes based on matrix metalloproteinase inhibitors (MMPIs). *Molecules*, 24(16), 2982. [\[CrossRef\]](#)