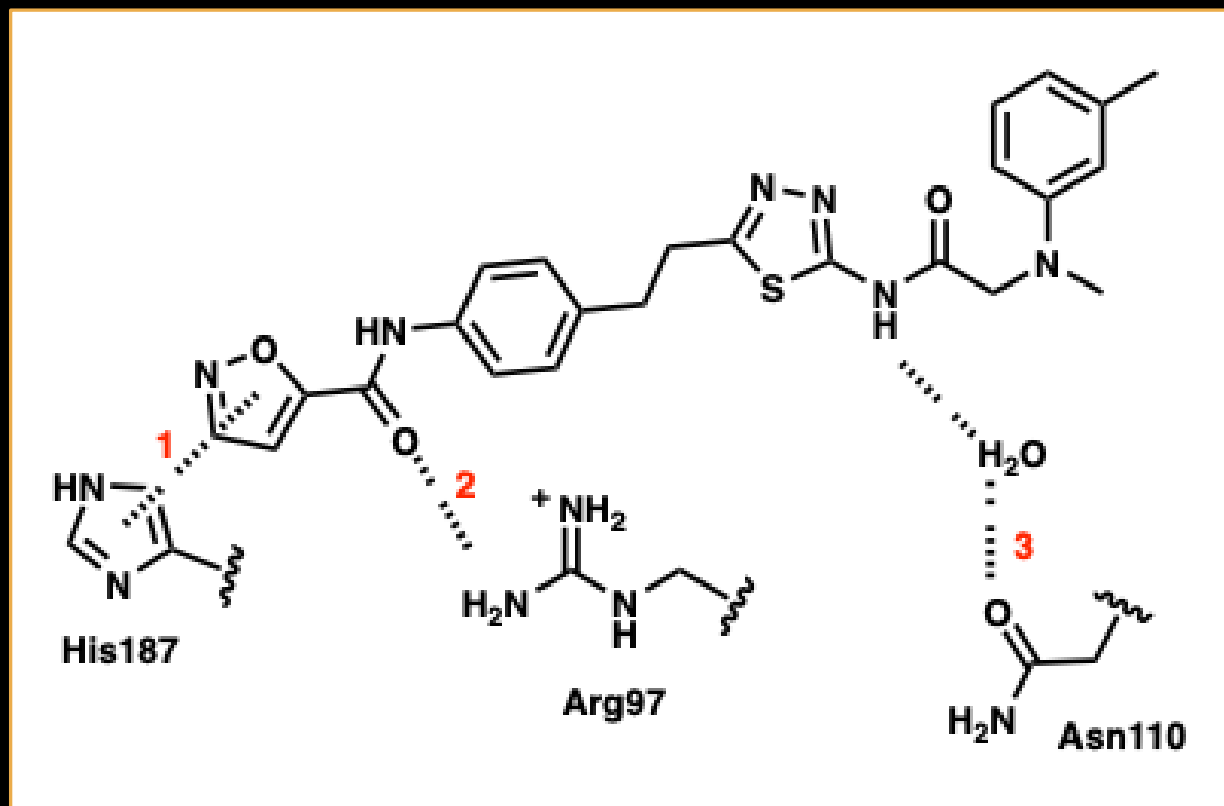
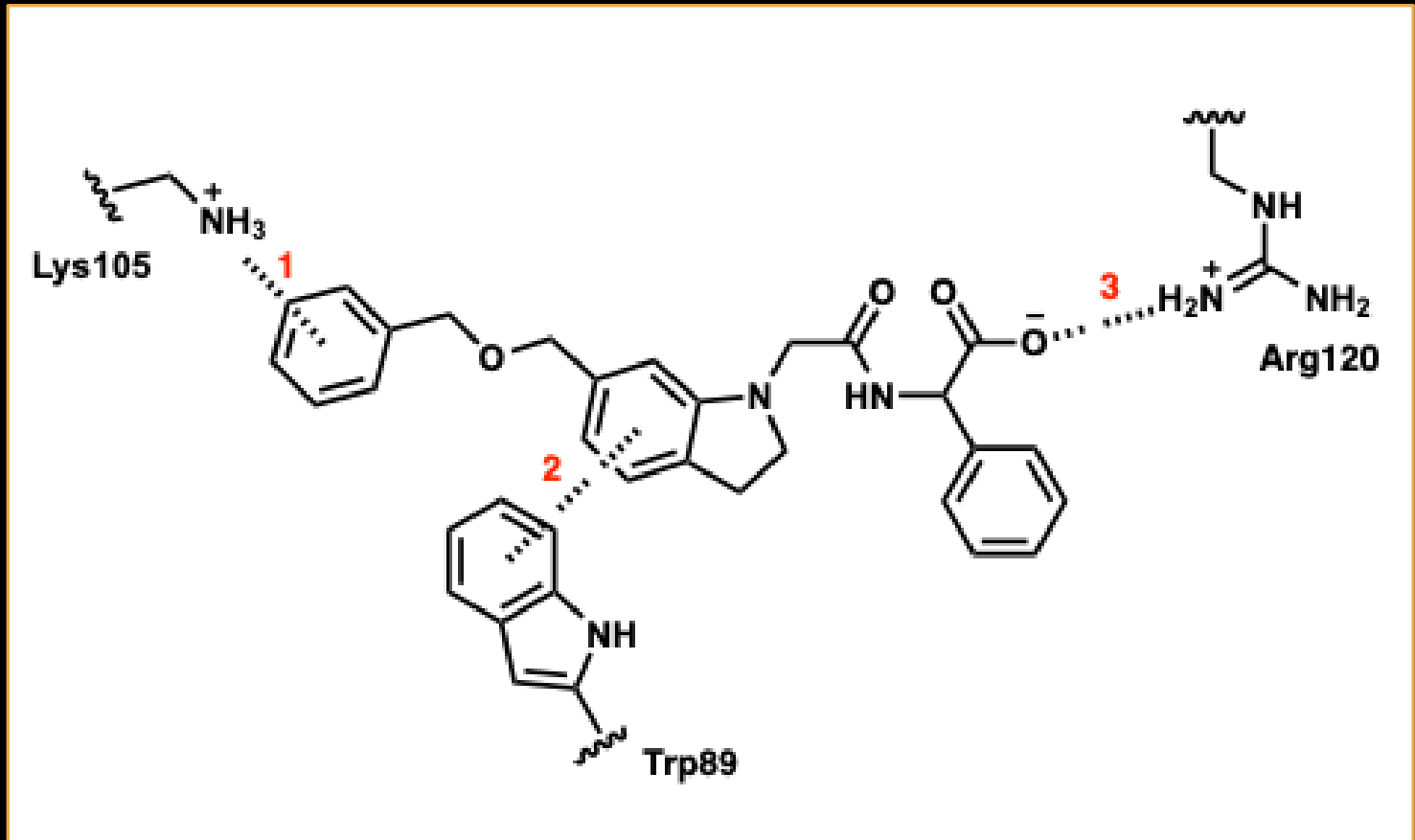


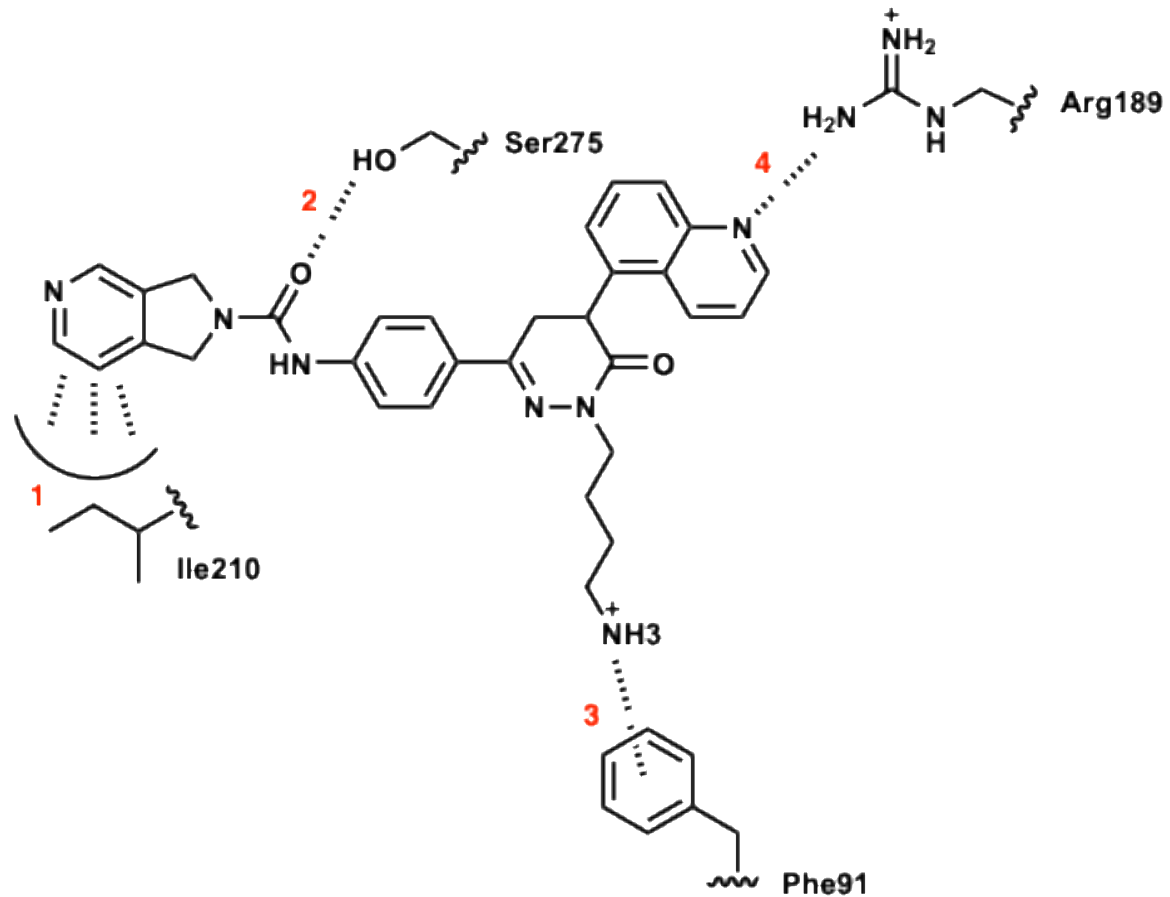
1, 2 ve 3 numaralı etkileşimlerin neler olduğunu söyleyiniz.



1, 2 ve 3 numaralı etkileşimlerin neler olduğunu söyleyiniz.



1, 2, 3 ve 4 numaralı etkileşimlerin neler olduğunu söyleyiniz.



- 
- Arjinin
 - Glutamik asit
 - Histidin
 - Fenilalanin
 - Lösin
 - Tirozin
 - Serin
 - Asparajin
 - Triptofan

Aminoasitlerinin kimyasal yapılarını çiziniz.

TWENTY-ONE PROTEINOGENIC α -AMINO ACIDS

Side chain charge
at physiological
pH 7.4

pK_a values shown
italicized

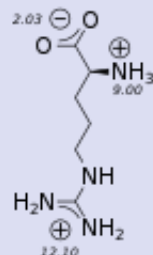
⊕ Positive
⊖ Negative

A. Amino Acids with Electrically Charged Side Chains

Positive

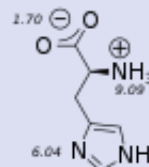
Arginine

Arg R



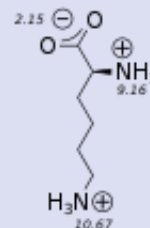
Histidine

His H



Lysine

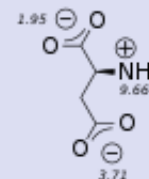
Lys K



Negative

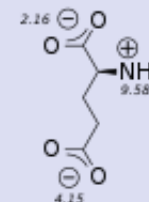
Aspartic Acid

Asp D



Glutamic Acid

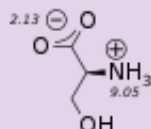
Glu E



B. Amino Acids with Polar Uncharged Side Chains

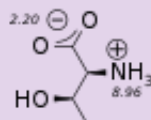
Serine

Ser S



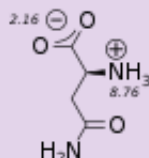
Threonine

Thr T



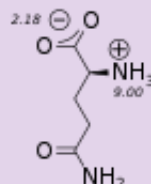
Asparagine

Asn N



Glutamine

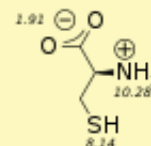
Gln Q



C. Special Cases

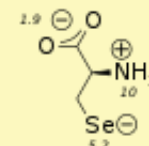
Cysteine

Cys C



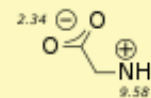
Selenocysteine

Sec U



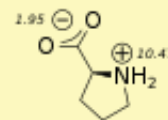
Glycine

Gly G



Proline

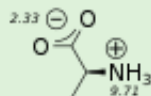
Pro P



D. Amino Acids with Hydrophobic Side Chains

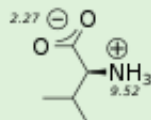
Alanine

Ala A



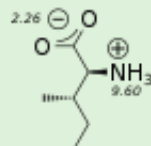
Valine

Val V



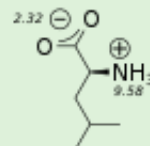
Isoleucine

Ile I



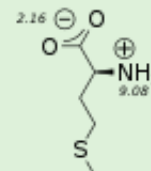
Leucine

Leu L



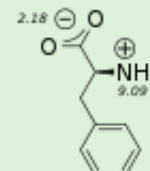
Methionine

Met M



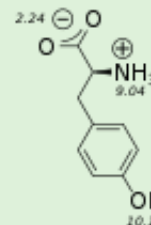
Phenylalanine

Phe F



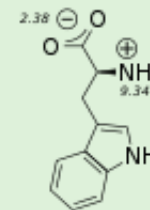
Tyrosine

Tyr Y

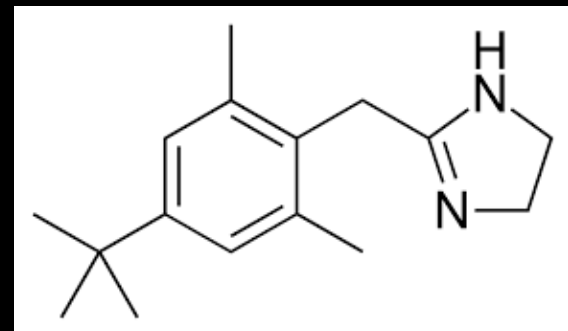
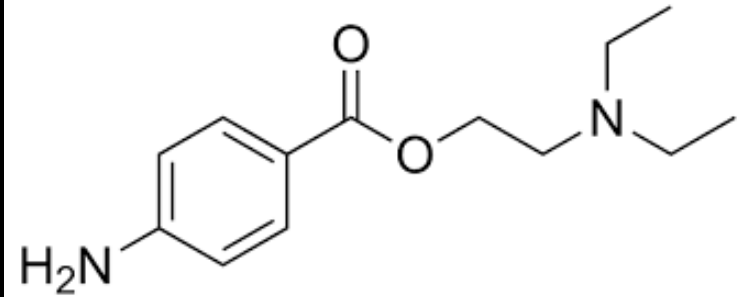
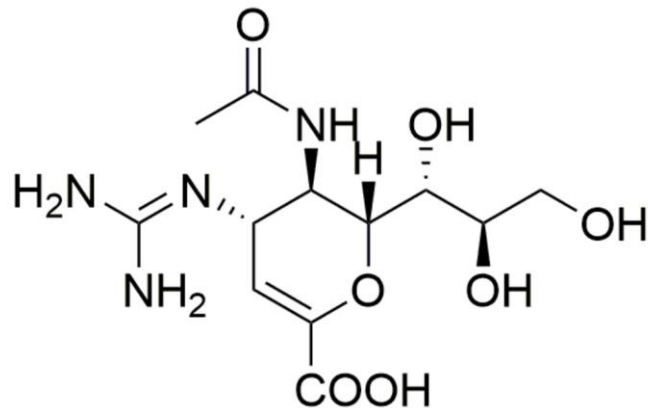
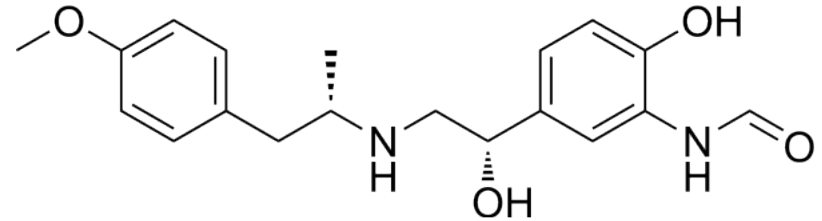
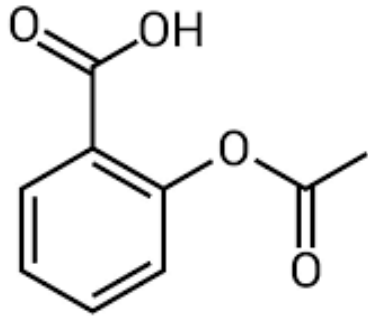


Tryptophan

Trp W



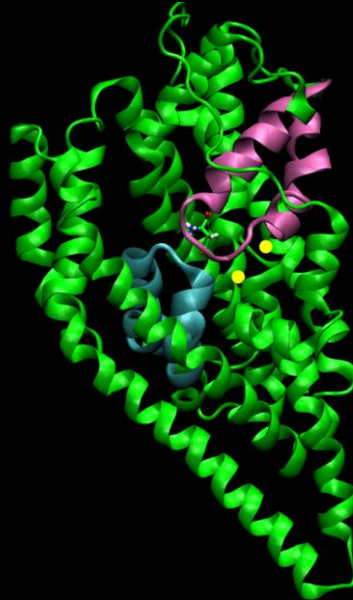
Aşağıda verilen ilaç moleküllerinin fizyolojik pH'daki iyonizasyon durumlarını belirtiniz.



Yapı-temelli İlaç Tasarımında Kullanılan Teknikler

Moleküler Dinamik

- ✓ Moleküler dinamik simülasyonları kimyasal bileşiklerin ortam koşullarına bağlı olarak (sıcaklık, solvanlar, iyonlar, membran, basınç, sıcaklık vb.) atomlarda meydana gelen dinamik olayların belirlenen zaman aralığı içerisinde incelenmesini sağlayan bir simülasyon tekniğidir.

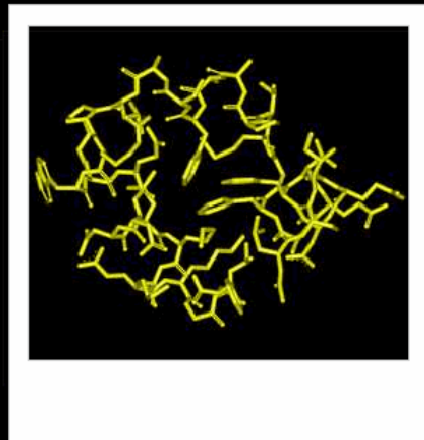


Yapı-temelli İlaç Tasarımında Kullanılan Teknikler

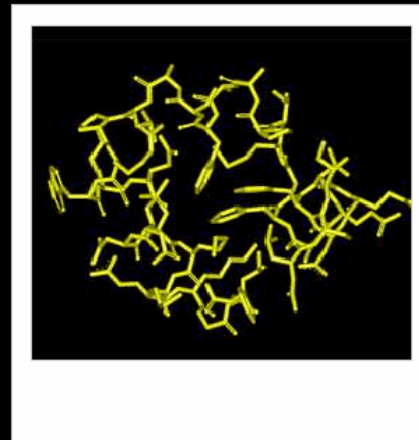
Moleküler Dinamik

- ✓ Docking sonucu elde edilen en iyi bağlanma modu, moleküler dinamik (MD) simülasyonları ile test edilebilir.
- ✓ Bir proteinin aktif bölgesi, ligand bağlandığında yeniden şekilleniyorsa, moleküler docking bunu doğrudan gösteremez, ancak MD simülasyonları ile analiz edilebilir.

Static View



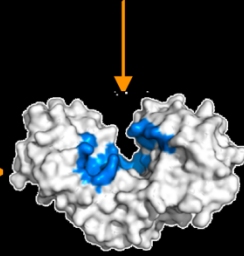
Real View



Yapı-temelli İlaç Tasarımı

Hedef proteinin belirlenmesi

X-ray kristalografisi
Homoloji modelleme



Aktif bölgenin belirlenmesi

Hedef üzerinde etkili olduğu bilinen ligandın bilgisi

Kullanılıyor

Kullanılmıyor

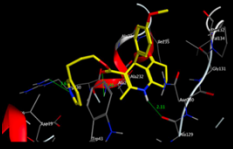
Protein-ligand etkileşimlerinin
İncelenmesi (Docking,
Moleküler Dinamik)

Aktif bölgenin
incelenmesi

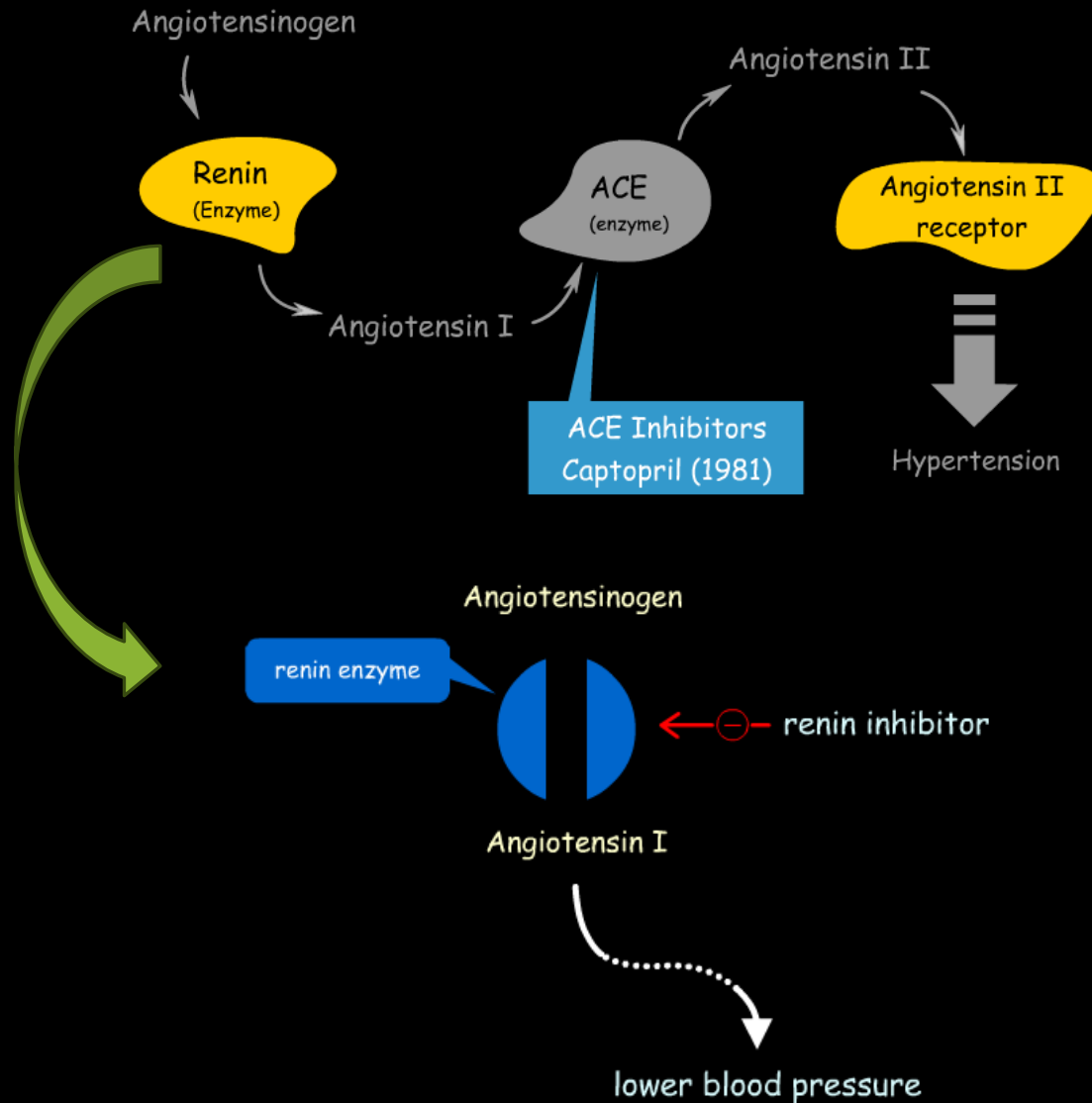
Yeni moleküllerin
çeşitli yöntemlerle
tasarımı

Yeni moleküllerin çeşitli
yöntemlerle tasarımı
(De-novo Tasarım)

Tasarlanan moleküllerin
protein-ligand etkileşimlerinin
İncelenmesi (Docking,
Moleküler Dinamik)

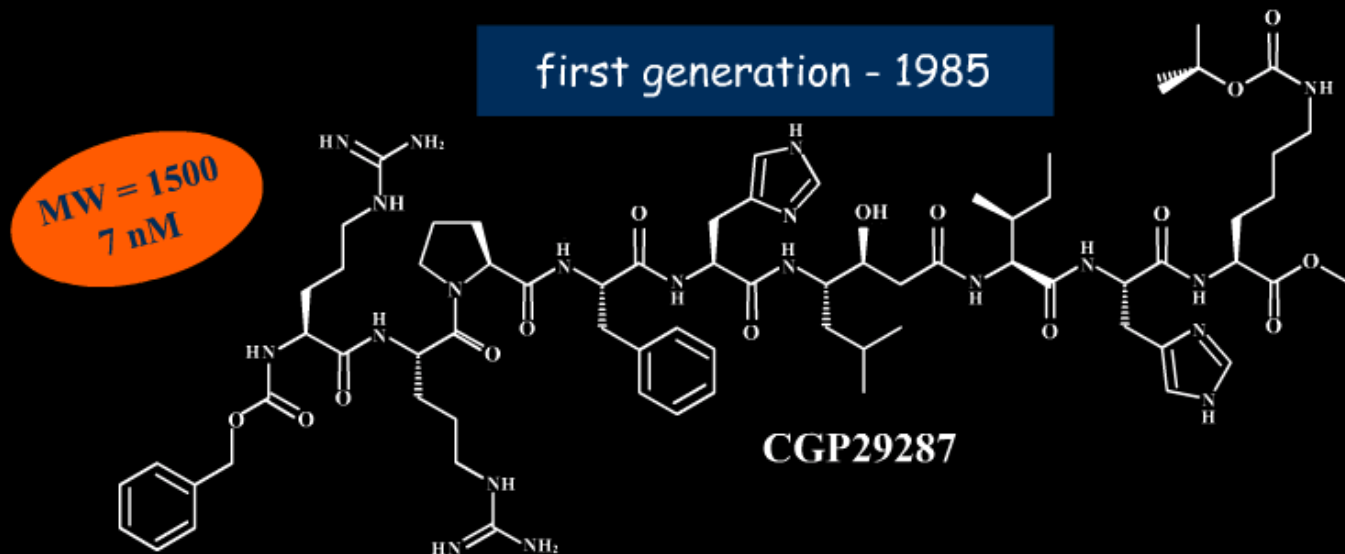


Vaka Çalışması: Renin İnhibitörü Aliskiren'in Keşfi



Vaka Çalışması: Renin İnhibitörü Aliskiren'in Keşfi

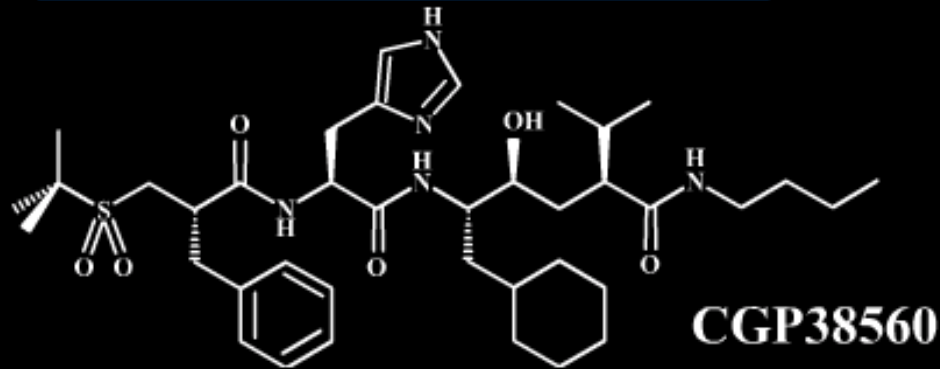
- 1980'lerde ilaç şirketleri, renin inhibitörleri tasarlamak için doğal substratı olan anjiyotensinojenin geçiş durumu sırasında aldığı şekli taklit eden analoglar tasarlamayı amaçlamıştır.
- 1985 yılında Novartis tarafından **birinci nesil anjiyotensinojen analogu** Renin inhibitörü **CGP29287** keşfedilmiş, fakat yüksek moleküler ağırlığı (1500 Dalton) nedeniyle çalışmaları ilerlemedi.



- ✓ **İkinci nesil** Renin inhibitörlerinin geliştirilmesi çalışmalarında, birinci nesil inhibitörlerin hem **moleküler ağırlığını düşürmeye** hem de **peptidik karakterini azaltmaya** odaklanılmıştır.
- ✓ Bu amaçla 1986 yılında Novartis tarafından geliştirilen **CGP38560**'ın biyolojik aktivitesinin yüksek olmasına rağmen, **linik çalışmaları** sırasında **düşük oral emilime** ve **safraya** yoluyla hızlı atılıma sahip olduğu belirlenmiştir.

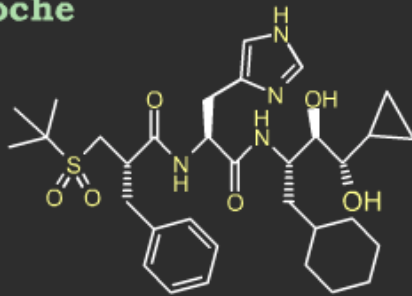
second generation - 1986

MW = 800
1 nM



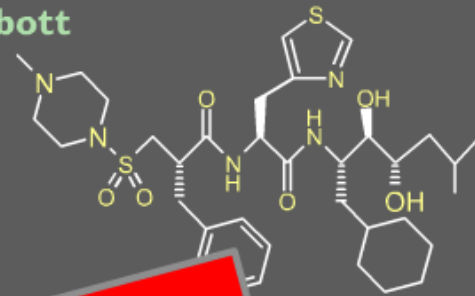
- ✓ Bu çalışmaya paralel olarak birçok ilaç şirketi aynı yaklaşımı denemiş, ancak benzer nedenlerden dolayı çalışmalarını sonlandırmak zorunda kalmıştır.

Roche



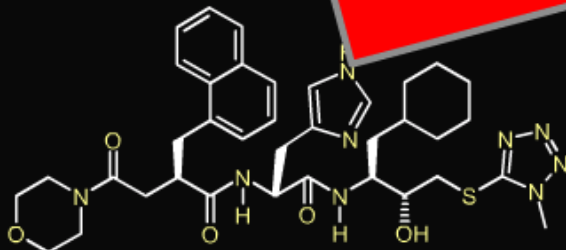
Remikiren (1.0 nM)

Abbott



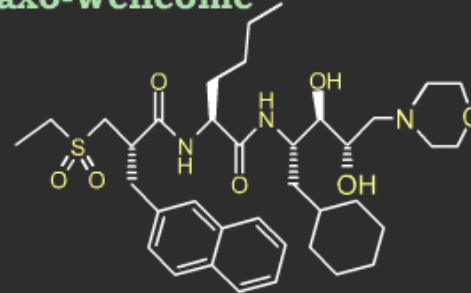
2517 (1.1 nM)

Yamanouchi



YM-21095 (0.5 nM)

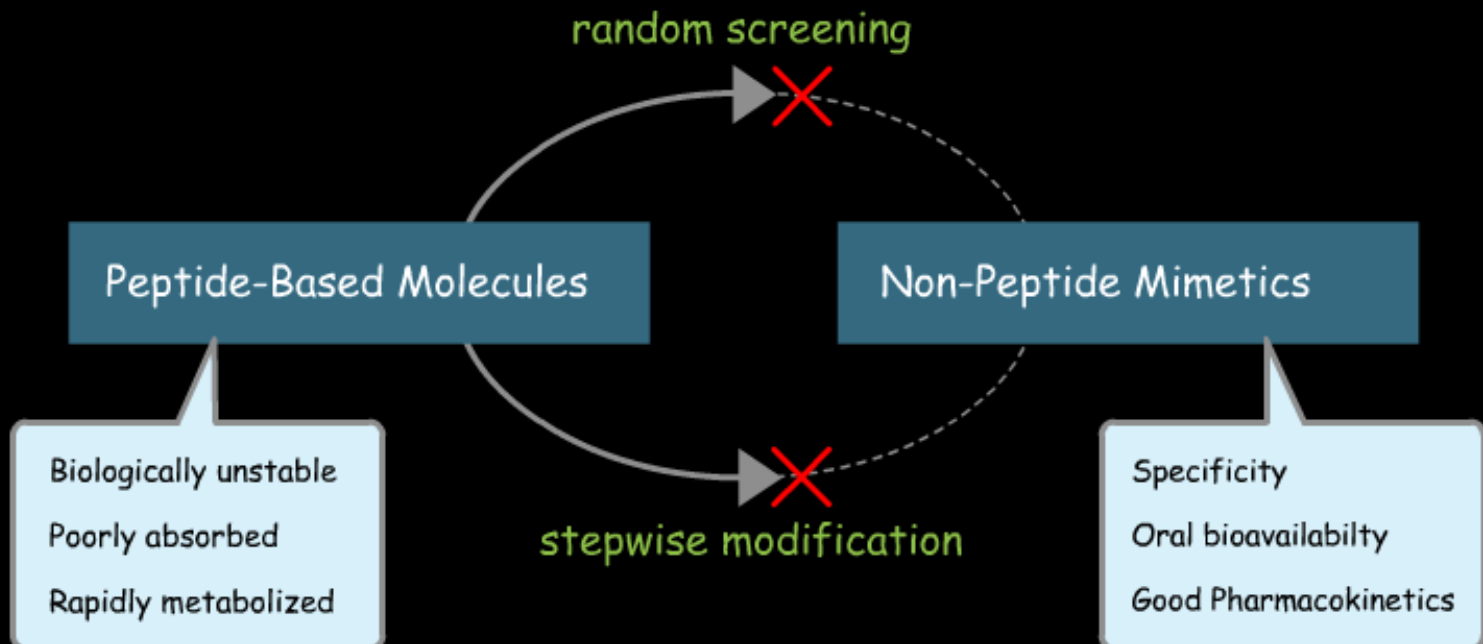
Maxo-Wellcome



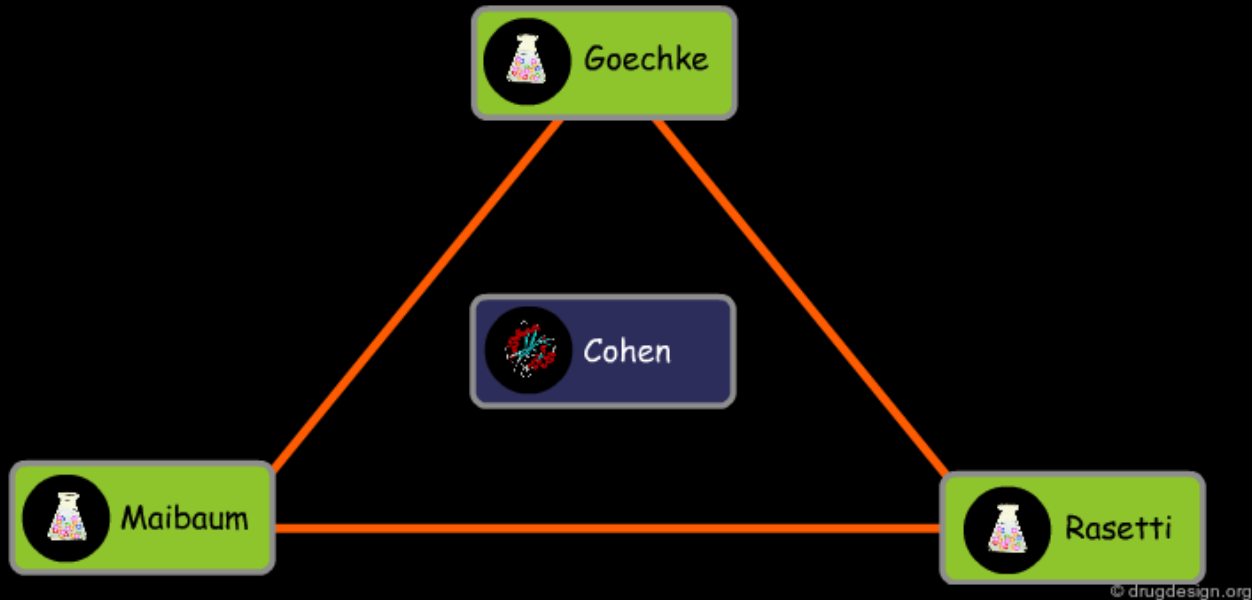
BW-175 (3.3 nM)

clinical trials stopped !

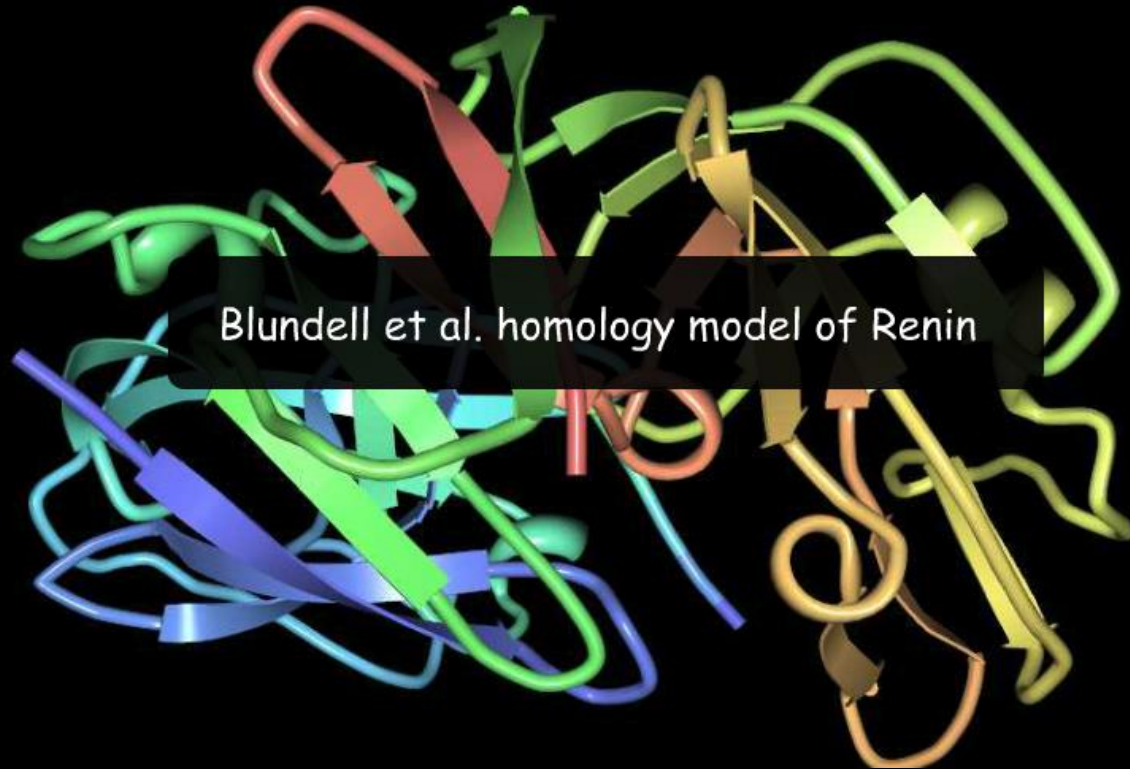
- ✓ Novartis'teki araştırmacılar, peptid yapısındaki moleküller üzerinde yapılan değişiklikler sonucu peptidik karakteri azaltma çabalarının başarılı bir ilaç adayı üretmeyeceğini fark ederek, tamamen farklı, peptidik yapıda olmayan bir molekül keşfetmeyi amaçlamışlardır.
- ✓ Bunun üzerine, rastgele tarama (random screening) yaklaşımı kullanılmış, fakat etkili bir bileşiğe ulaşamamıştır.



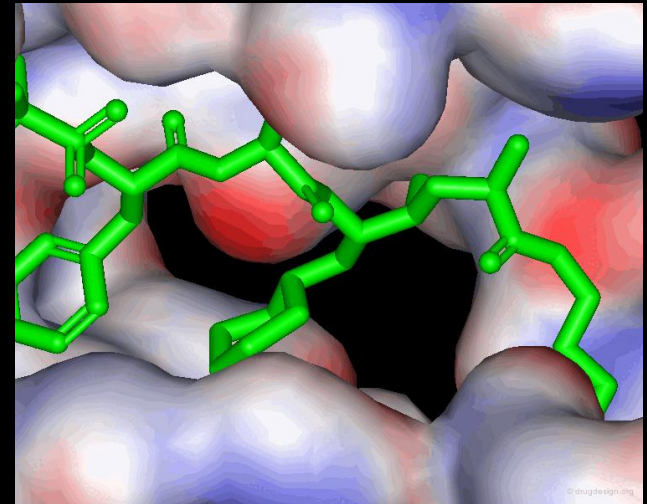
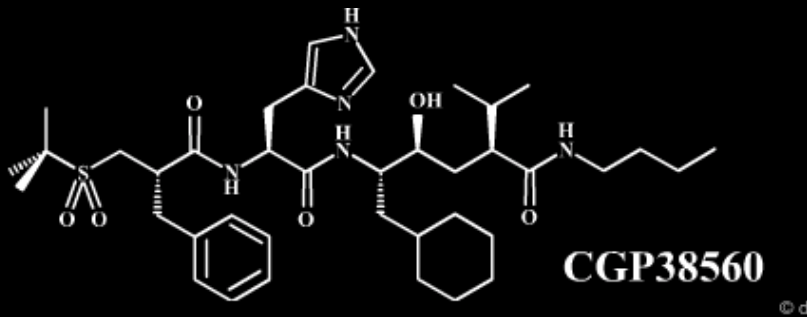
- ✓ Novartis firması peptit yapısında olmayan etkili bileşiklere ulaşabilmek amacıyla çalışmalara **bilgisayar temelli stratejileri entegre etmiştir.**
- ✓ 1988 yılında, modelleme uzmanı **Cohen**, üç medisinal kimyacı **Goeschke, Rasetti ve Maibau** rasyonel ilaç tasarımı yaklaşımını **kullanarak** bu sorunu çözmeye yönelik çalışmalara başlamıştır.



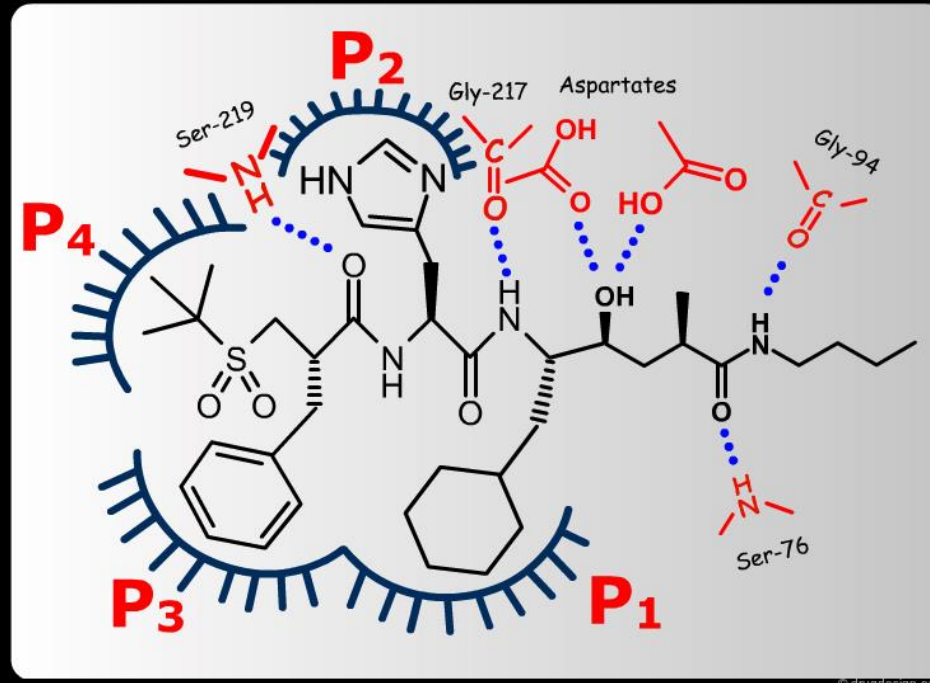
- ✓ Renin'in X-ray kristal yapısı mevcut olmadığından, ekibin ilk önceliklerinden biri **hedefin 3D modelini elde etmek** olmuştur. Bu amaçla, ekip **Blundell ve ekibi tarafından daha önce geliştirilen ve penicillopepsin temel alınarak oluşturulan homoloji model** kullanmıştır.



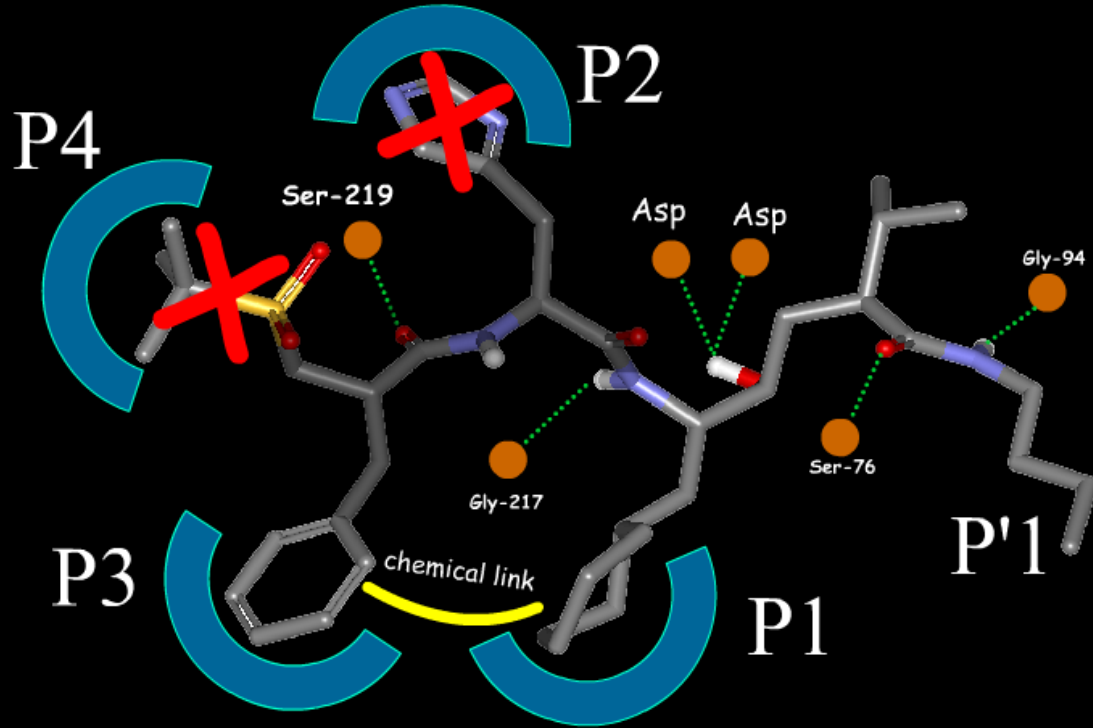
- ✓ CGP38560'nin renin homoloji modeli ile yapılan moleküler docking çalışmaları neticesinde olası biyoaktif konformasyonu belirlenmiştir.



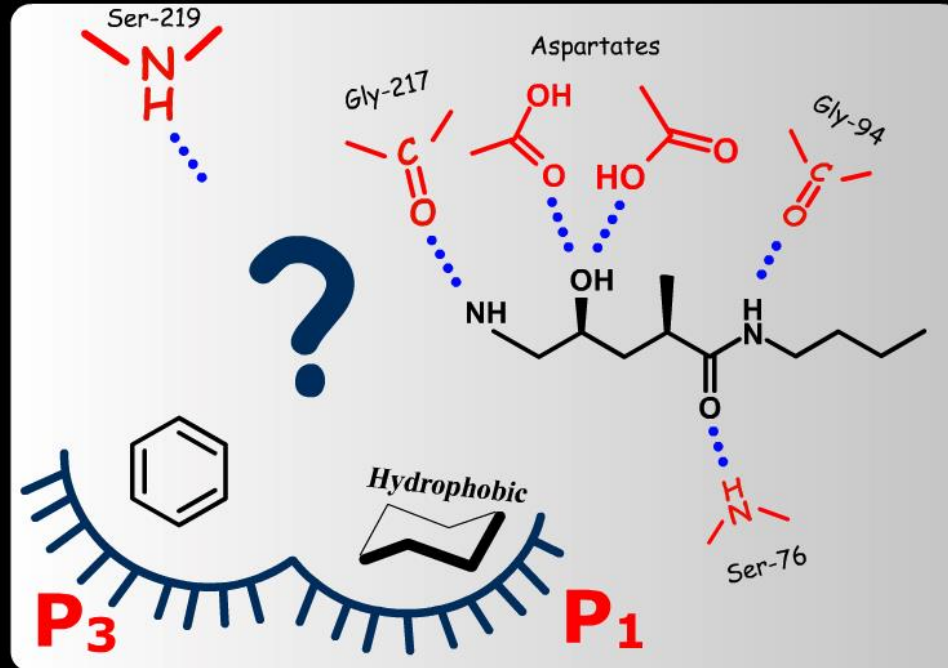
- ✓ Belirlenen olası konformasyonda CGP38560'nin renin enzimi aktif bölgesinde **P₁, P₂, P₃ ve P₄** alt ceplerine bağlanarak enzimle altı hidrojen bağı oluşturduğu belirlenmiştir..
- ✓ Yapılan hesaplamalar sonucunda ise, **P₁ ve P₃** bölgelerinin bağlanmaya **P₂ ve P₄'e** kıyasla daha fazla katkıda bulunduğu belirlenmiştir.



- ✓ Ekip, CGP38560'ın peptidik karakterini azaltmak için **P2** ve **P4** cebine yerleşen kısımların çıkarılması, ancak Ser219 ile hidrojen bağının mutlaka korunması gerektiği sonucuna varmıştır.



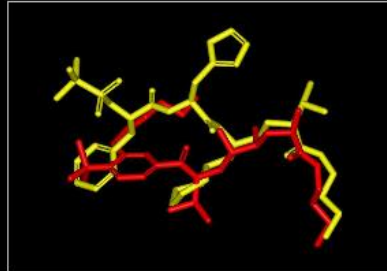
- ✓ Hem P₁ ve P₃ cebine yerleşen grupları bağlayabilecek hem de Ser219 amino asiti ile hidrojen bağı oluşturabilecek uygun bir iskelet (scaffold) bulmak amacıyla üç farklı ekip, kimyasal olarak sentezlenebilir ve uygulanabilir iskeletleri araştırmaya başlamıştır. Bu süreçte, yüzlerce potansiyel iskelet tasarlanarak modelleme ekibinin değerlendirmesine sunulmuştur.



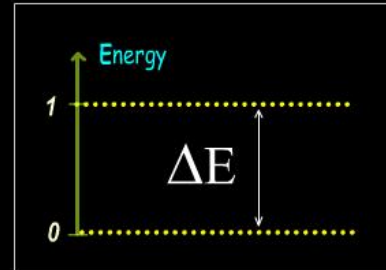
Modelleme ekibi ise, iyi bir aday molekül için kriterler belirleyerek değerlendirmeleri bu kriterlere göre yapmıştır;

- 1) Referans peptidin (CGP38560) öngörülen biyoaktif konformasyonu ile iyi bir örtüşme sağlamalıdır.
- 2) Aday molekülün istenen konformasyonunun enerjisi uygun olmalıdır
- 3) Moleküler docking çalışmaları sonucunda, altı hidrojen bağı dahil olmak üzere, hedef proteinle istenilen etkileşimleri sağlamalıdır.

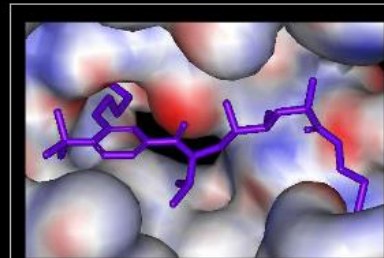
Good overlap with CGP38560



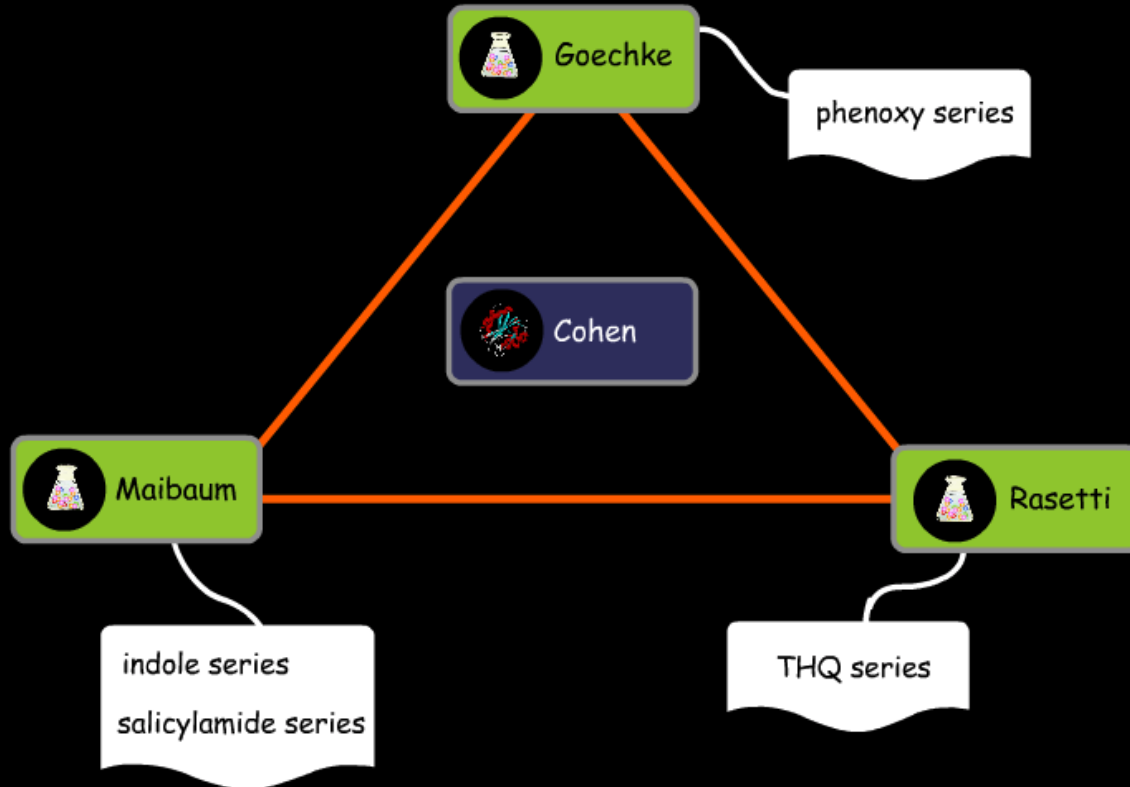
Low energy



Favorable interactions

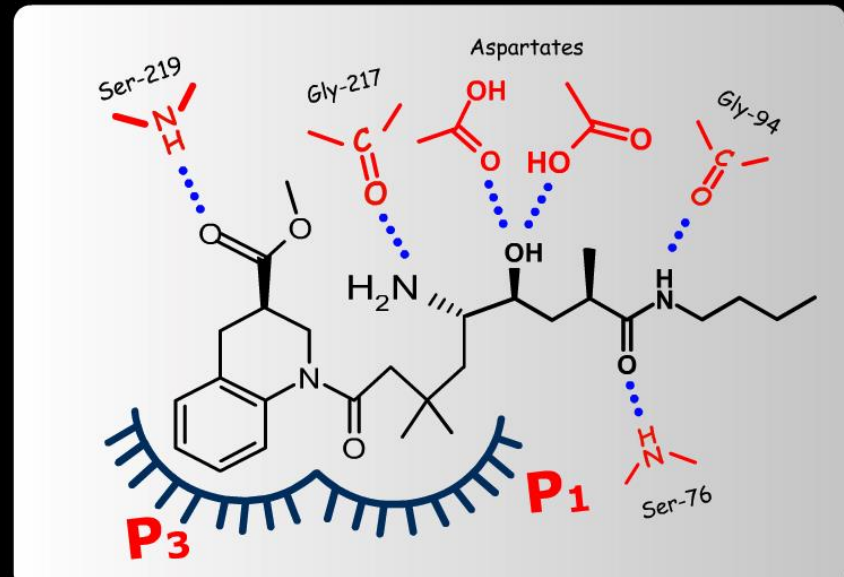
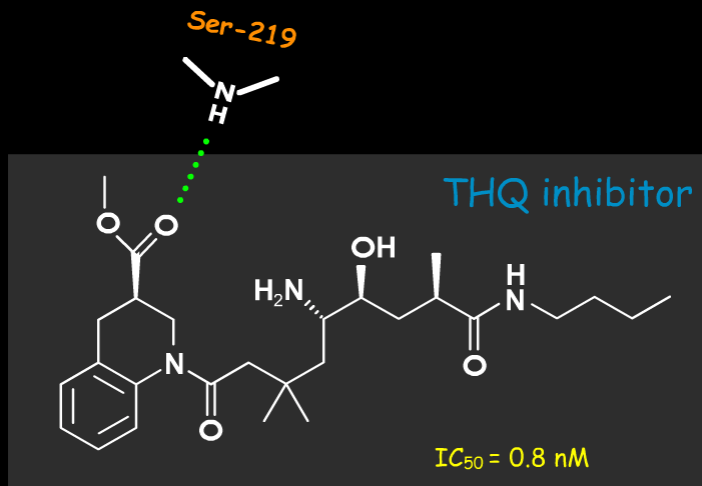


- ✓ Değerlendirme sonucunda, Tetrahidrokinolin serisi, Fenoksi serisi, İndol serisi ve Salisilamid serisi olmak üzere dört farklı iskelet ileri çalışmalar için seçilmiştir.



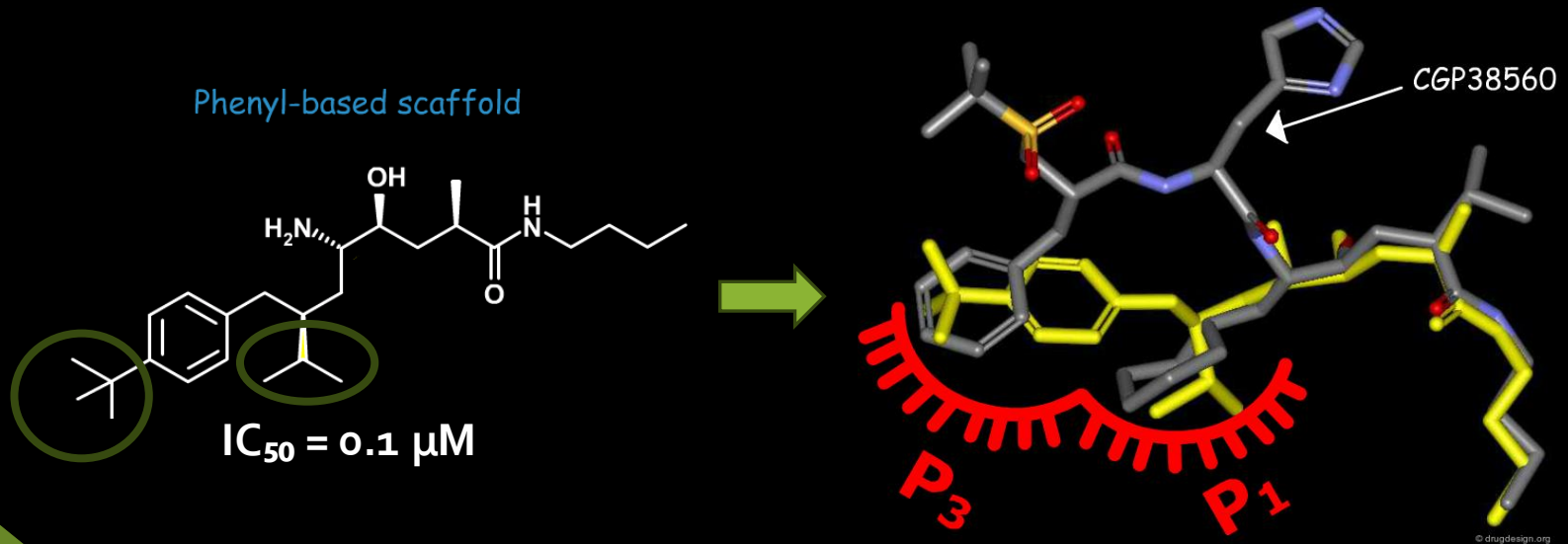
Tetrahidrokinolin Serisi

- ✓ İlk büyük ilerleme, **Rasetti ekibi** tarafından geliştirilen **tetrahidrokinolin iskeleti** ile elde edilerek, **optimizasyon yapılmadan bile nanomolar aralıkta aktivite gösteren bileşiğe** ulaşılmıştır.



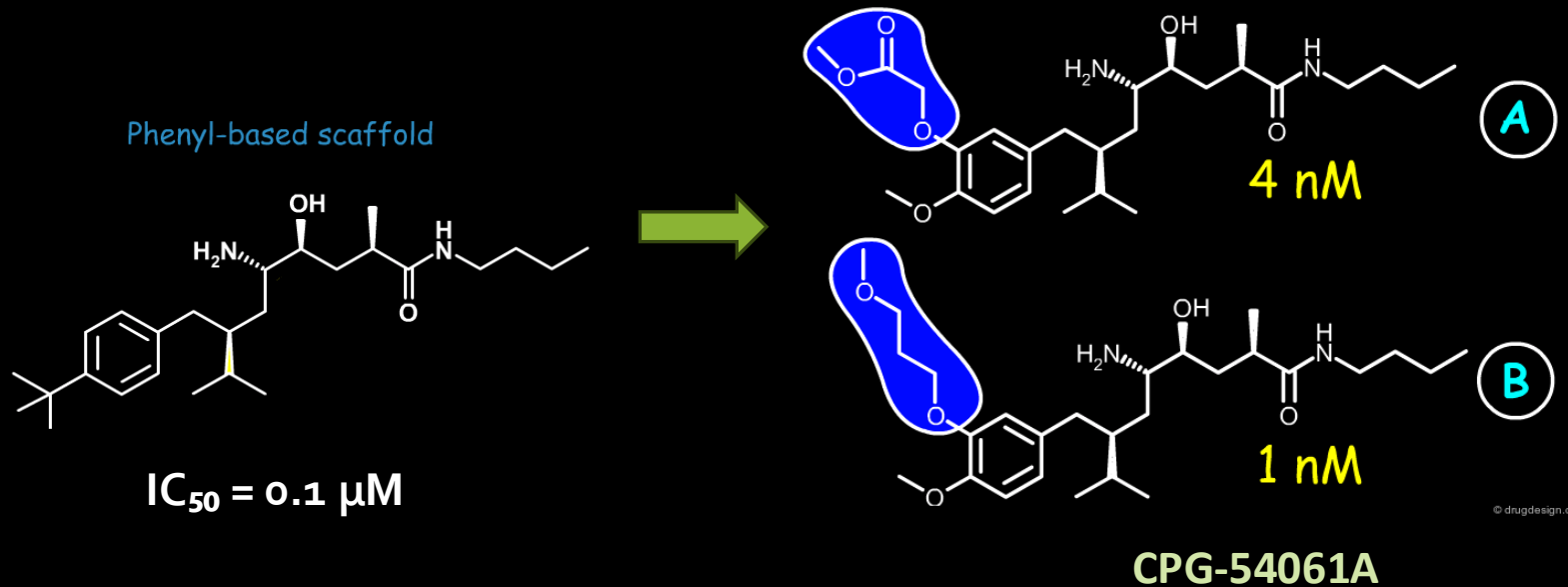
Fenoksi Serisi

- ✓ Goeschke'nin ekibi ise, fenil halkası içeren bileşikler üzerinde çalışmıştır. Bu serinin analizleri sırasında fenil halkasının **CGP38560**'taki fenil grubu ile iyi bir hizalanma göstermediğini belirlenmiş ve molekülü uzatmak ve **P₃** cebini doldurmak için para-konumuna bir tert-bütil grubu eklemiştir.
- ✓ **P₁** bölgesine ise sikloheksanı taklit edebilecek izopropil grubu getirilmiştir.



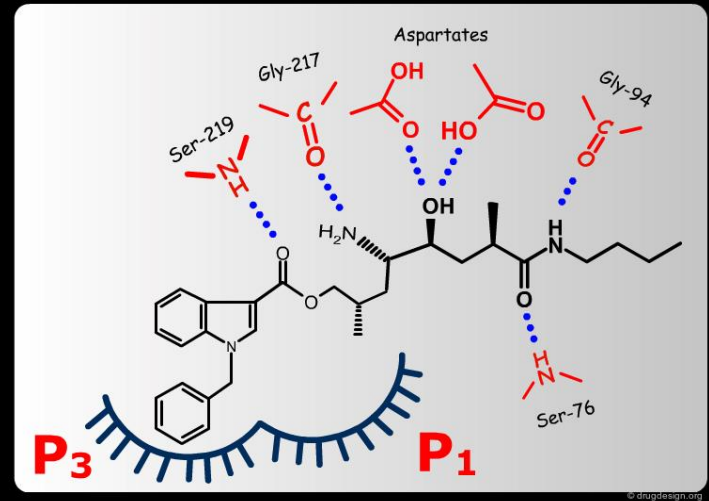
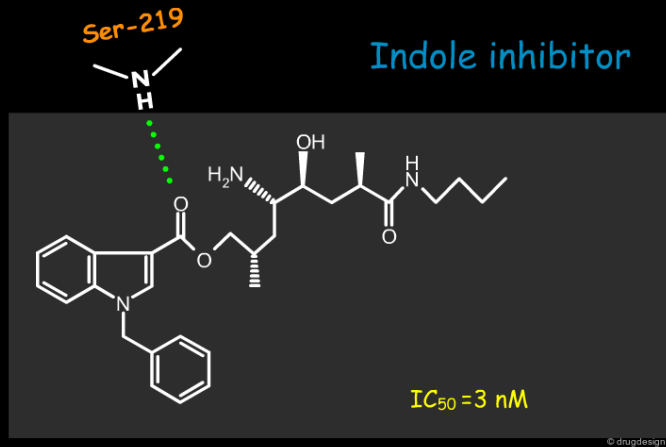
Fenoksi Serisi

- ✓ Daha sonra tert-bütil grubu, yerine sentez açısından daha kolay olan metoksi grubu ile değiştirilmiş.
- ✓ Ser219 ile hidrojen bağı oluşturması amacıyla fenil halkasının 3. konumuna farklı gruplar eklenerek nanomolar seviyede aktivite gösterebilen bileşiklere ulaşılmıştır.

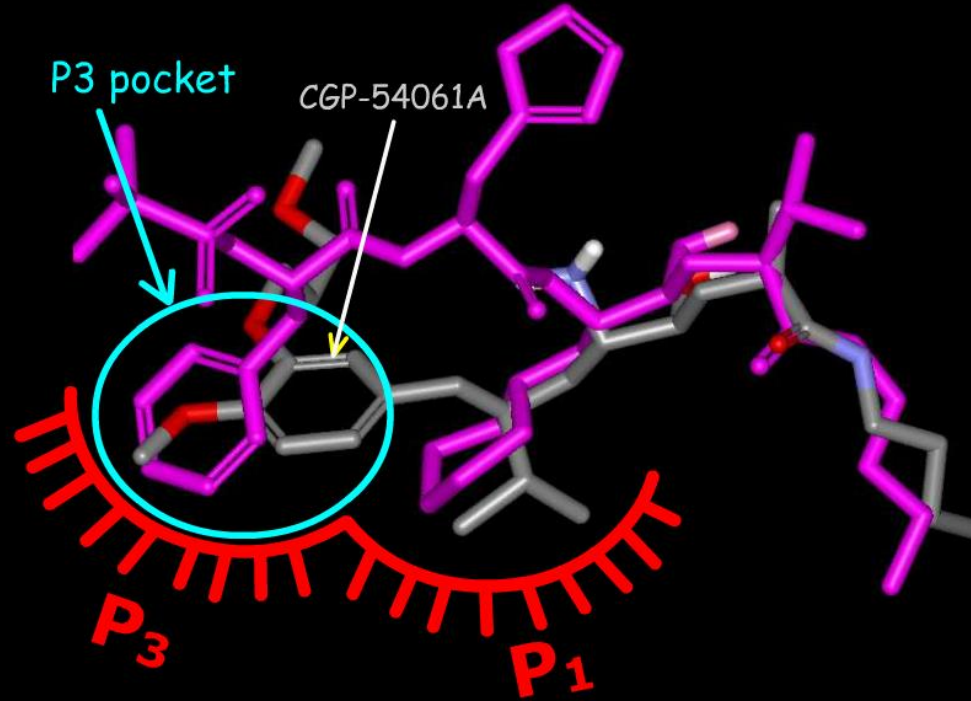


İndol Serisi

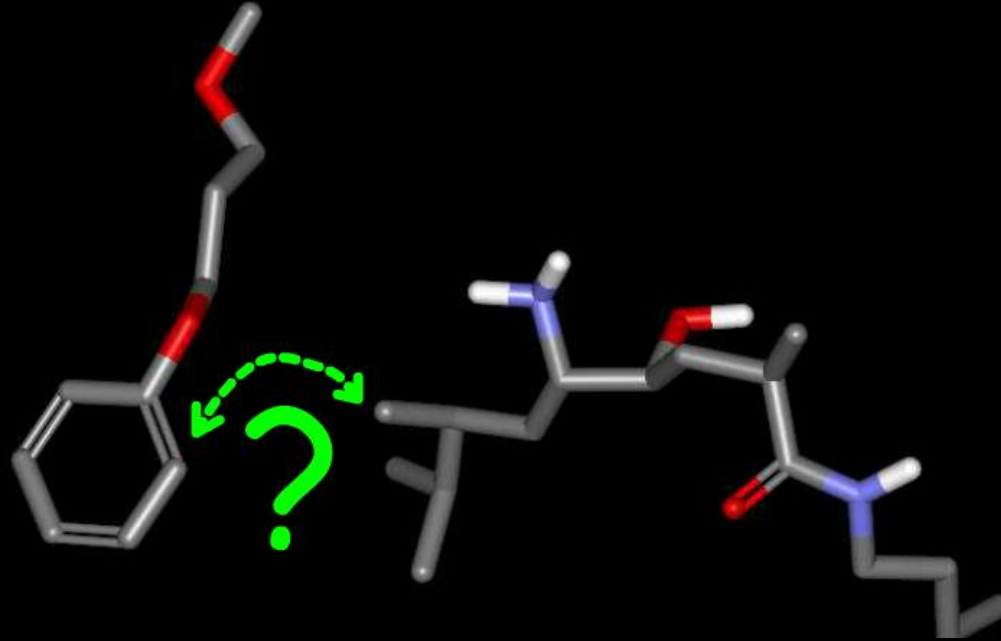
- ✓ Maibaum ve ekibi, indol içeren bileşikler üzerinde çalışmıştır.
- ✓ İndol halkası taşıyan bileşik 3 nM IC_{50} değeri ile yüksek biyolojik aktivite göstermiştir.



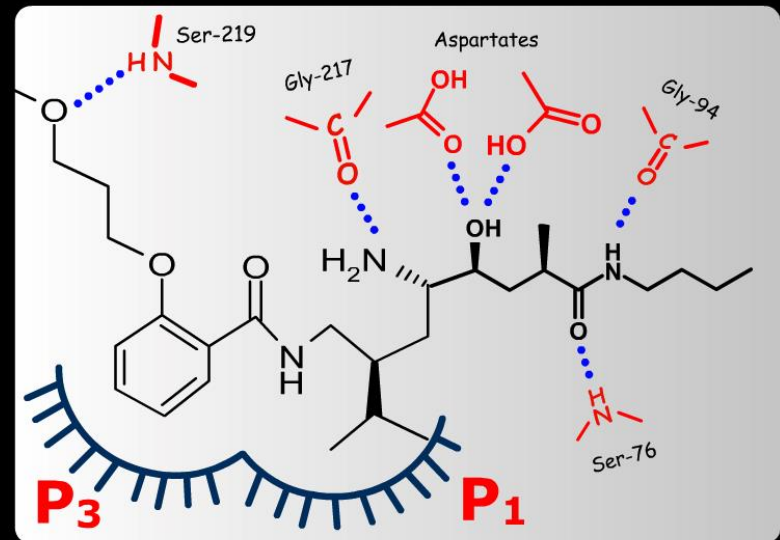
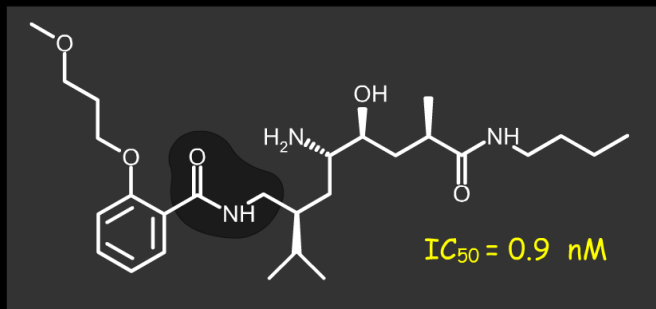
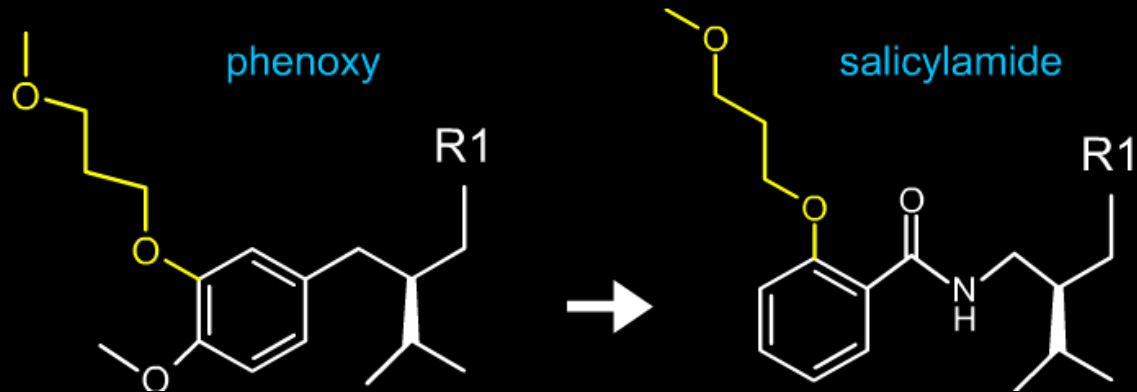
- ✓ Üç farklı seriye ait bileşiklerin keşfedilmesinin ardından, bu bileşiklerin renin ile olan X-ışını kristal yapıları belirlenmiştir.
- ✓ Bu analizler, fenoksi türevi bileşiğin fenil halkasının, modelleme tahminlerinde öngörüldüğü gibi, **CGP38560**'taki fenil halkası ile zayıf bir örtüşme sağladığını göstermiştir. (Docking sonuçları ile uyumlu)



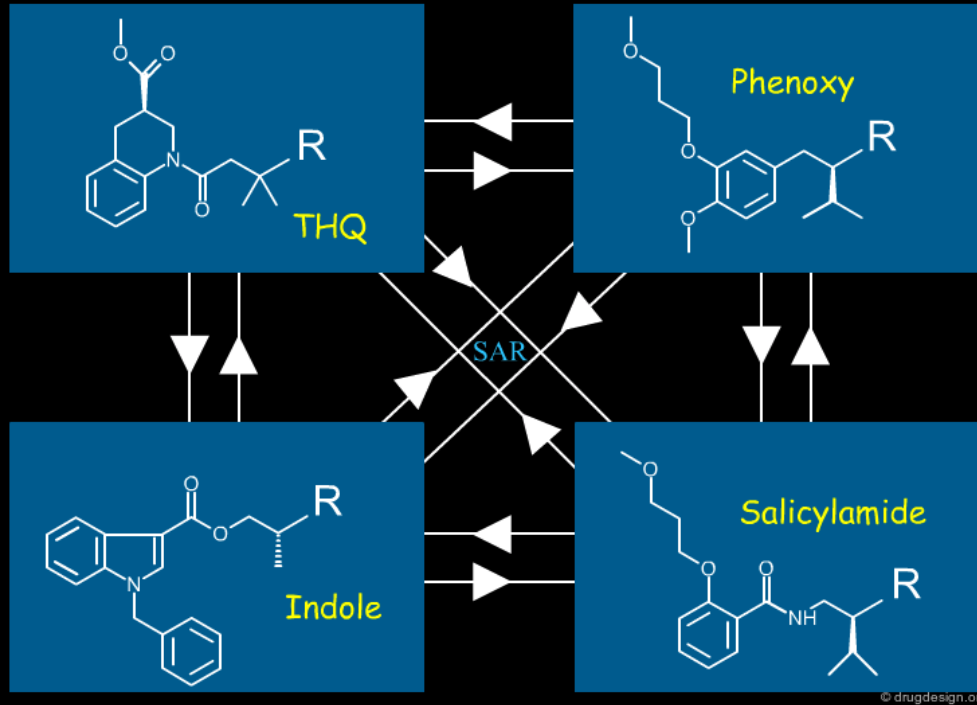
- ✓ Bu bulgulardan yola çıkılarak molekülün bağlanmasını optimize etmek ve biyolojik aktivitesini artırmak amacıyla fenoksi iskeletinin, fenil halkasını en uygun konuma yerleştirecek şekilde nasıl değiştirilebileceğini araştırmışlardır.



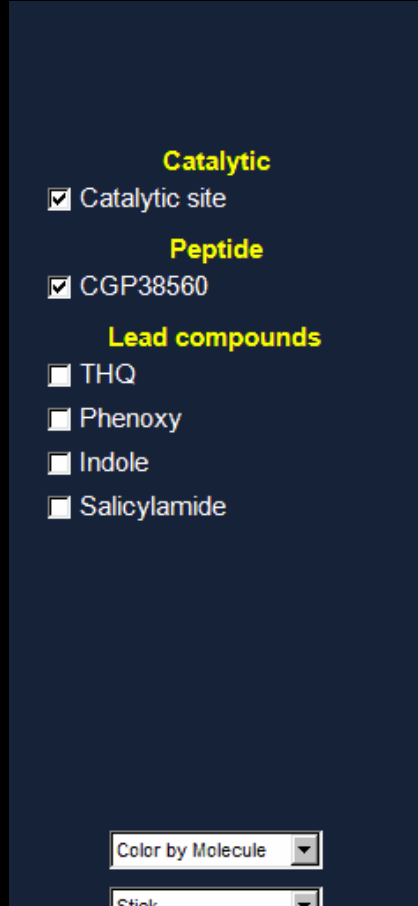
- ✓ Karboksiamidometilen (CO-NH-CH₂) ile fenil halkası diğer bölgeler ile bağlanarak, dördüncü bir inhibitör serisi olan salisilamid serisine ulaşılmıştır.



- ✓ Dört iskelet yapısal olarak birbiriyle ilişkili olmasa da, 3D modelleme stratejisi sayesinde bir seride elde edilen yapı-aktivite ilişkisi (SAR) bulguları başarılı bir şekilde diğer serilere uygulanabilmektedir.
- ✓ Bu yaklaşım, tasarım süreci boyunca geniş ölçüde kullanılarak farklı serilerin optimizasyonunu hızlandırmış ve biyolojik aktivitenin artırılmasına katkı sağlamıştır.

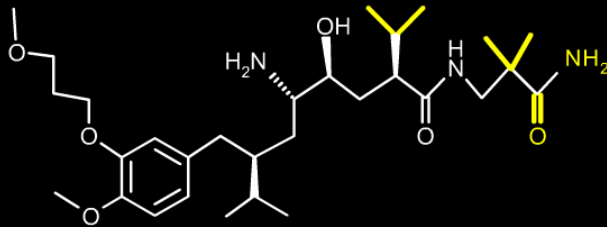


3 yıllık yoğun çalışmaların ardından ekip, düşük nanomolar aralıkta aktivite gösteren yapısal olarak farklı dört lider bileşiği keşfetmeyi başarmıştır.



- ✓ Daha sonra optimizasyon çalışması ile bu dört serinin toplamda 1400'den fazla analogu sentezlenmiştir. Fenoksi serisine ait analoglardan biri, en iyi fizikokimyasal ve farmakokinetik özelliklere sahip olduğu için daha ileri çalışmalar için seçilmiştir.
- ✓ Bu bileşik daha sonra "Aliskiren" olarak adlandırılmıştır. 1999 yılında klinik denemelere girdi ve 2007 yılında FDA tarafından onaylanmıştır.

Aliskirenin keşfi ise, yapı-temelli ilaç tasarımının (SBDD) modern ilaç keşfindeki başarısını gösteren önemli bir örnek olarak kabul edilmektedir.

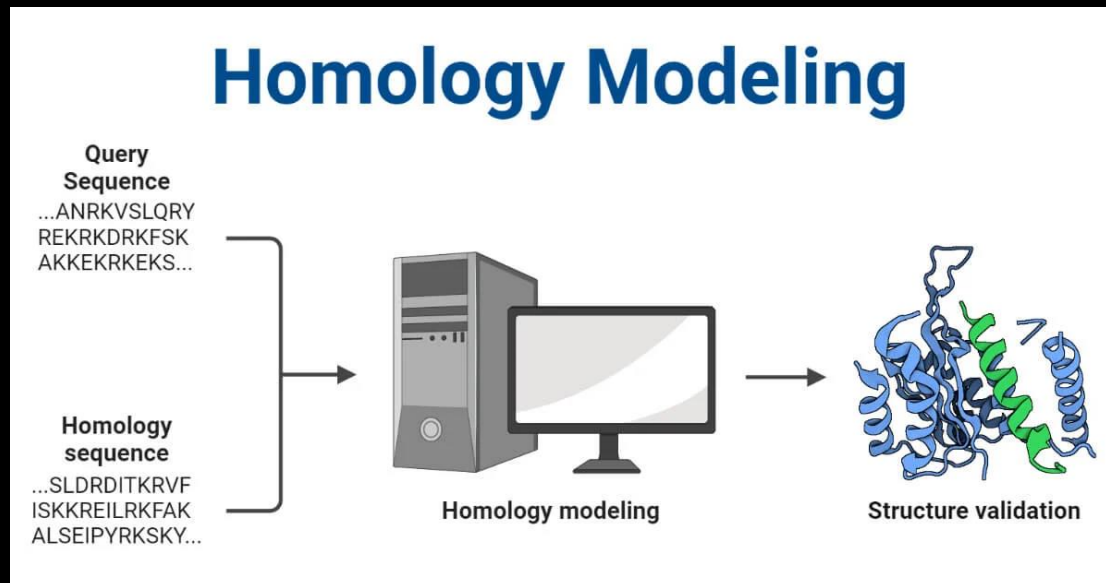


■ initial lead $IC_{50} = 1 \text{ nM}$
■ Aliskiren $IC_{50} = 0.6 \text{ nM}$



Homoloji Modelleme

- Homoloji modelleme yani protein yapı tahmini, yapısı çözülmemiş proteinler için uygun modeller geliştirmeyi amaçlar. Yapı tahmininin en başarılı tipi olan homoloji modellenmesi, modellenecek proteine dizin benzerliği olan "şablon" bir yapıya dayanır. Mevcut şablon yapılar modellenecek proteine uzaktan ilişkili olduğu durumlarda güvenilir modeller üretmek zordur.



Homoloji Modelleme

Homoloji modelleme tekniğinin 5 aşaması vardır:

1. Uygun şablon yapının veya yapılarının belirlenmesi
2. Çoklu dizi hizalaması (sequence alignment)
3. Homoloji modelin oluşturulması
4. Modelin analiz edilmesi ve kalite kontrolü
5. Modelin geliştirilip düzeltilmesi

HOMOLOGY MODELLING CONCEPT

