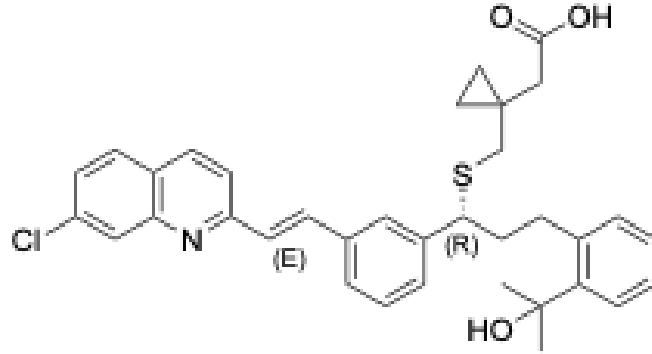


# FARMASÖTİK KİMYA IV UYGULAMA DERSİ

## İLAÇ KEŞFİNDE BAŞARI ÖRNEKLERİ

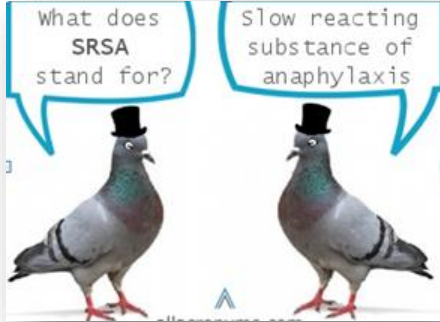
### MONTELUKASTIN KEŞFİ



2025-2026

## Lökotrienlerin Tarihsel Keşfi

- ✓ İlk olarak **1938 yılında** Feldberg ve Kellaway, kobra zehri enjekte edilen köpek ve maymunlarda stabil olmayan slow-reacting **substance (SRS)** adını verdikleri bir molekülün varlığından söz etmişlerdir.
- ✓ Brockelhurst 1960'larda immünolojik olarak duyarlılaştırılmış kobay akciğerlerinden Kellaway'in çalışma sonucuna benzer **slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A)** olduğunu düşündüğü bir bileşik izole eder.



Düz kaslarda, ileum ve vasdeferans kanalında histaminin aksine YAVAŞ ve GÜÇLÜ kasılma



## SRS-A Yapı Aydınlatma

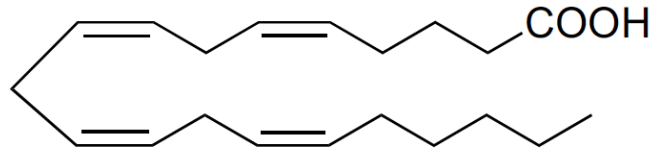
- ✓ SRS-A o dönemin teknolojik şartlarında izole edilip, saflaştırılıp yapısı aydınlatılacak kadar dış ortam koşullarına dayanıklı değildi. İlgili dokularda da çok az miktarda üretiliyordu.
- ✓ 40 yıl sonra teknolojinin gelişimiyle HPLC ile saflaştırması sonucunda UV spektroskopisi analizi sonucunda **SRS-A' da konjuge trien** yapısının var olduğu keşfedilmiştir.



**Konjuge trien yapısı**

## SRS-A Yapı Aydınlatma

- ✓ Paralel çalışmalar da nötrofillerin, araşidonik asidi çeşitli metabolitlere dönüştürdüğünü ve bu metabolitlerden **birinde dihidroksi grubu ile karakteristik konjuge trien** içeren bir yapının olduğunu göstermiştir.



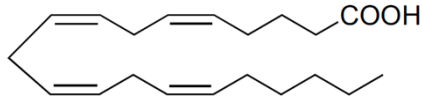
**Araşidonik asit**



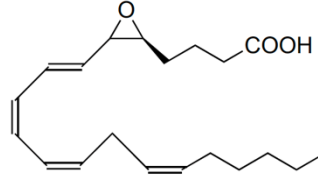
**Dihidroksi grubu ile karakteristik konjuge trien içeren bir yapı ??**

## SRS-A Yapı Aydınlatma

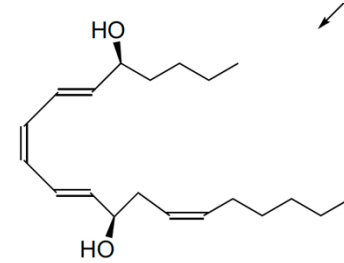
- ✓ Samuelsson **bir epoksit ara ürünü** ile bu dihidroksi grubu ile karakteristik trien yapının (SRS-A) oluştuğunu ileri sürmüştür.



**Araşidonik asit**



**Epoksit ara ürün**

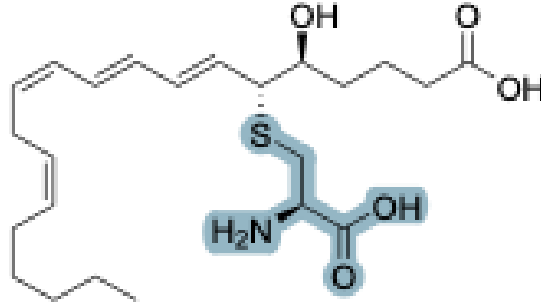
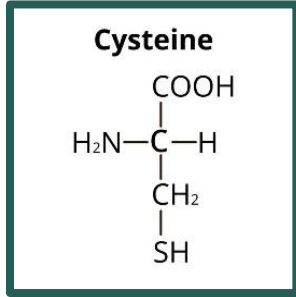


**Dihidroksi grubu taşıyan  
konjuge trien yapısı**

- ✓ Samuelsson ve ekibi 1979 yılında SRS-A yapısını, radyoaktif işaretli biyoprekürsor ile kısmi sentezler ve yapısı **kısmen aydınlatılır**.

## SRS-A Yapı Aydınlatma

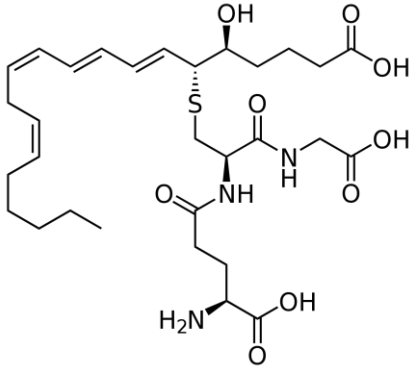
- ✓ SRS-A'nın arşidonik asitten türeyen 20 karbonlu, **konjuge trien yapısı taşıyan, sistein grubu taşıyan** yapıya sahip olduğu belirlenir. Samuelsson ve ekibi bu bileşiğe **lökotrien (LT)** adını vermiştir.



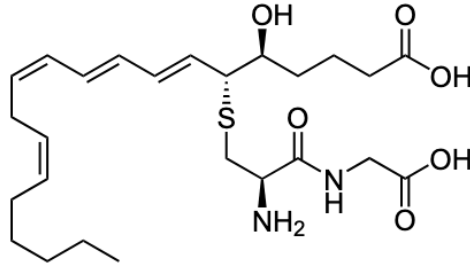
# SRS-A Yapı Aydınlatma

- ✓ Daha sonra Merck Frosst Montreal'in SRS yapısını tamamen aydınlatmıştır.
- ✓ Bu yapının 3 molekülün karışımından (**LTC4, LTD4 ve LTE4**) meydana geldiği anlaşılmıştır.

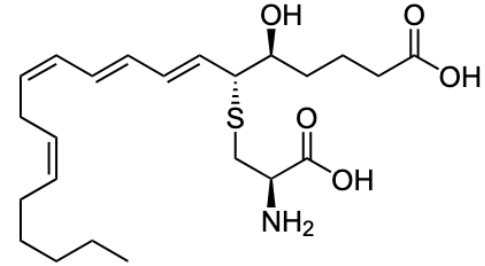
Lökotrien C4 (LTC4)

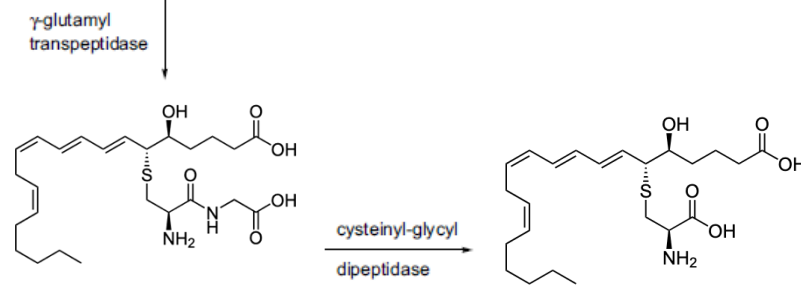
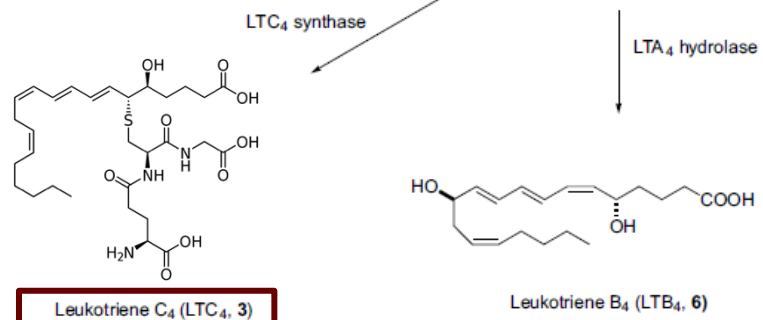
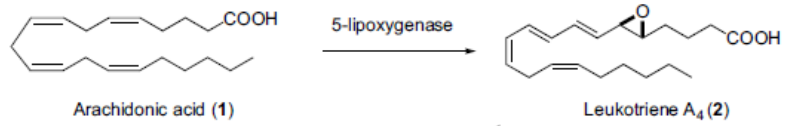


Lökotrien D4 (LTD4)



Lökotrien E4 (LTE4)





- ✓ Lökotrienlerin yapısının aydınlatılması ile *in vivo* insan ve hayvan modellerinde lökotrienlerin etkilerinin araştırılmasına imkan vermiştir.

### **Lökotrienlerin;**

- Düz kaslarda kontraksiyon
- Akciğer geçirgenliğinde artış ve ödem
- Havayolu mukus salgısında artış
- Düz kas hipertrofisi
- Artmış eosinofil ve nötrofil etkinliği

**Lökotrien yapılarının keşfedildiği dönemde astım tedavisi için sınırlı ilaç kullanımı vardı.**

- 1) Nonspesifik bronkodilatör **TEOFİLİN**
- 2) Beta reseptör agonisti **SALBUTAMOL**
- 3) Kortikosteroidler **DEKSAMETAZON**
- 4) Çocuklarda mast hücresi stabilizörü **sodyumkromoglikonat** kullanımı ön planda



- **Non-spesifik bronkodilatörlerin** kullanımına bağlı gelişen taşikardi
- **Beta reseptör agonistlerinin** karaciğer, deri ve böbreklerde çeşitli yan etkiler oluşturması
- **Kortikosteroidlerin** adrenal fonksiyonu baskılayarak hormonal dengesizliklere yol açabilmesi
- **Sodyum kromoglikatin** özellikle çocuklarda büyüme üzerinde olumsuz etkiler göstermesi



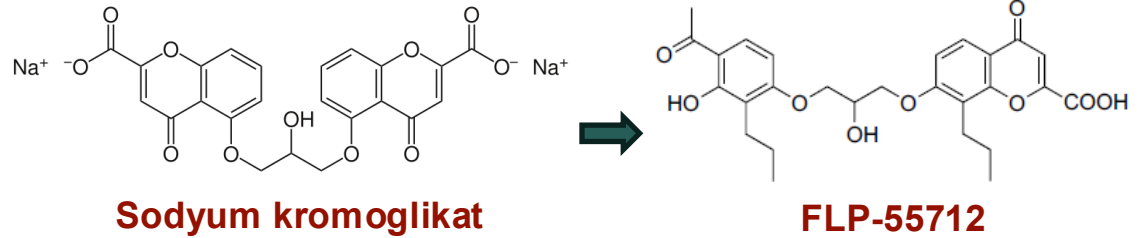
**Yan etkisi az, her yaş kullanımına uygun molekül  
arayışına neden olmuştur!**



## Molekül Geliştirme Stratejileri

- **5-lipooksijenaz (5-LO) inhibitörlerinin** karaciğer enzimlerinde artış gibi yan etkilere neden olması nedeniyle kullanımı sınırlı kalmıştır.
- Lökotrienlere içinde en potent etkili olan **Lökotrien 4 (LTD4)**'ün ve **5-lipooksijenaz aktive edici proteinin (FLAP)** inhibisyonu alternatif bir tedavi stratejisi olmuştur.

### LTD4 İnhibitörü Birinci kuşak antagonistler

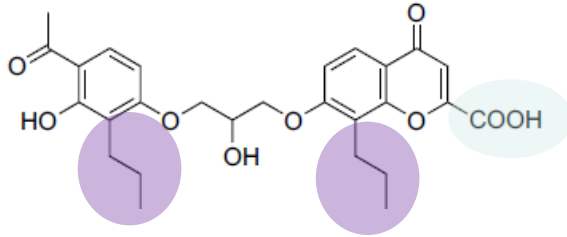


- **FPL-55712**, mast hücre stabilizörü disodyum kromoglikatın daha güçlü analoglarını belirleme amacıyla yürütülen bir tarama çalışması sırasında tesadüfen keşfedilmiştir.
- Lökotrien D4 reseptörlerinin yapısının aydınlatılmasından sonra **FPL-55712'nin** aslında LTD4 reseptör antagonisti olduğu belirlenmiştir.

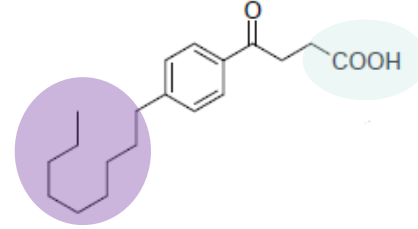




## LTD4 İnhibitörü birinci kuşak antagonistler



**FLP-55712**

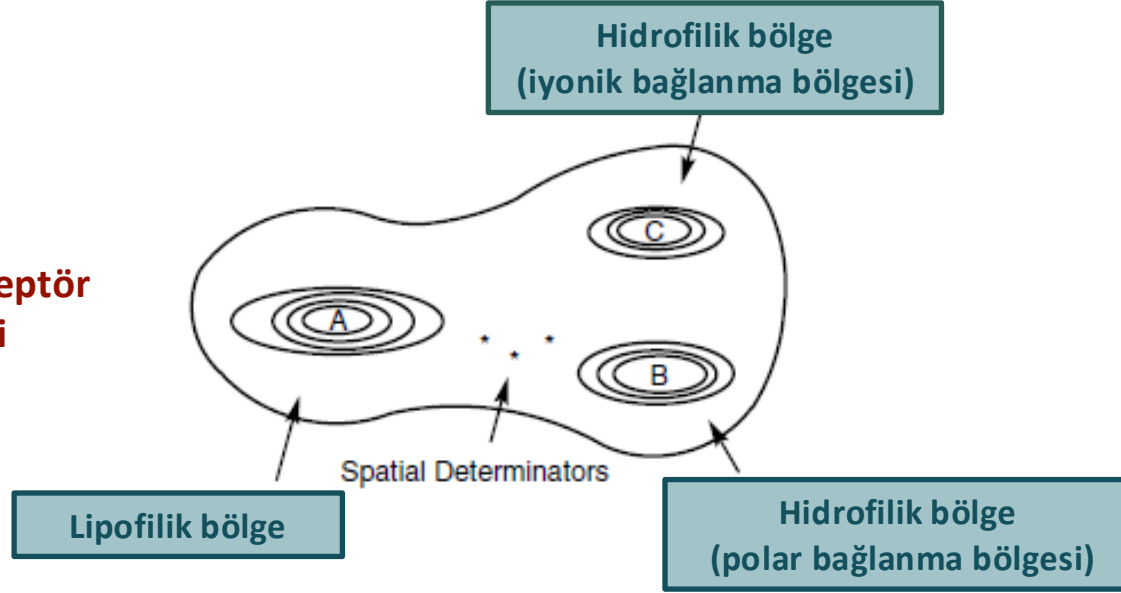


**4-[4-nonylphenyl]-4-oxo-butanoik asit**

- LTD4 inhibitörü olduğu bilinen her iki bileşikte de fizyolojik pH'da iyonize olabilen **karboksilik asit fonksiyonel grubu** mevcut. Aktif bölgede **asidik grupların bağlanabileceği hidrofilik bir bölge** var!
- LTD4 inhibitörü olduğu bilinen her iki bileşik **hidrofobik alkil zincirleri** taşımaktadır. Aktif bölgede alkil gruplarının bağlanabileceği **hidrofobik bir bölge** var!!



**Varsayımsal LTD4 reseptör  
bağlanma modeli**

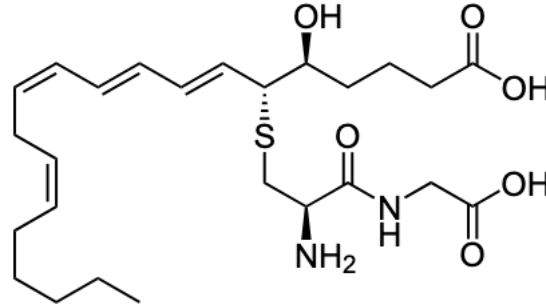


**Burada dikkat edilmesi gereken nokta:**  
LTD4'ün esnek bir molekül olması nedeniyle  
bu varsayımsal model LTD4 için eksik bir model teşkil ediyordu.



# İLK KUŞAK BİLEŞİKLER İÇİN YAPI-AKTİVİTE BULGULARI

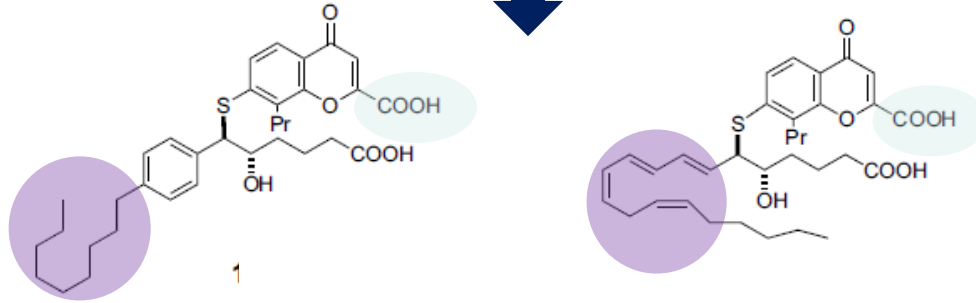
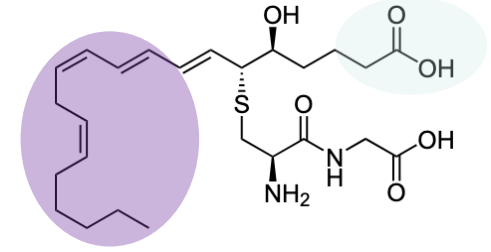
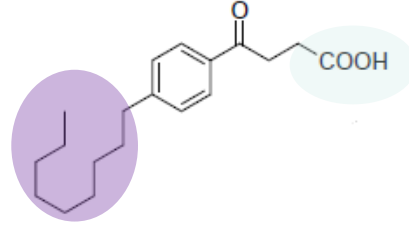
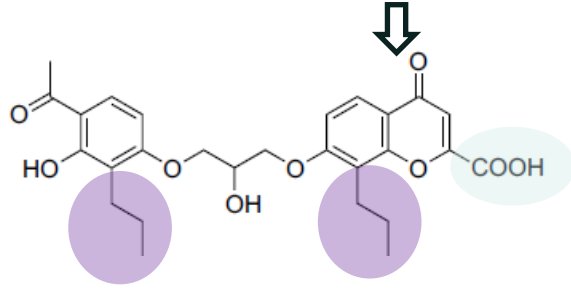
- En az 1 adet asidik fonksiyonel grup varlığı
- 2. bir polar grup gerekli, asidik ya da nonasidik olabilir.
- LTD4'e benzer yan zincir taşımalı
- Stereokimyası benzer olmalı



LTD4



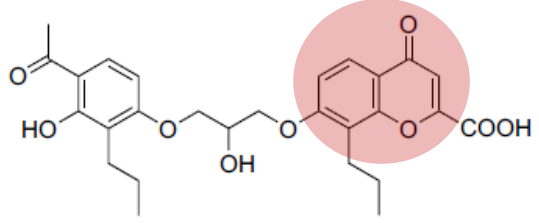
Kromon halkası



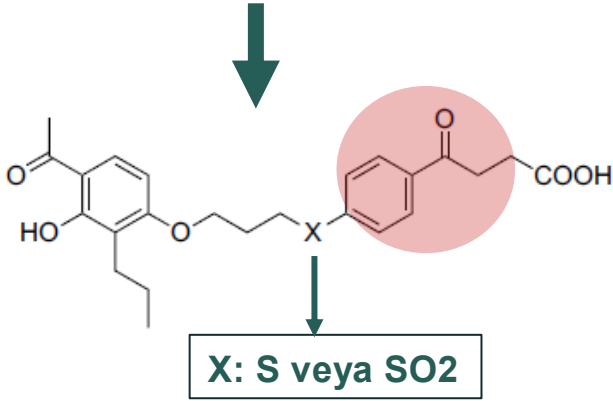
LTD4 ve bilinen antagonist bileşiklerden hareketle yeni bileşikler tasarlanmıştır







**FLP-55712**



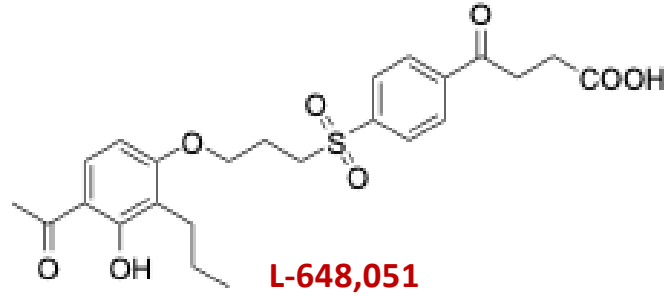
**X: S veya SO<sub>2</sub>**

## **Kroman halkası metabolik stabilite açısından problem yaratıyor!**

Aynı bağlanma modunu uzaysal olarak taklit edebilecek şekilde bir modifikasyon!

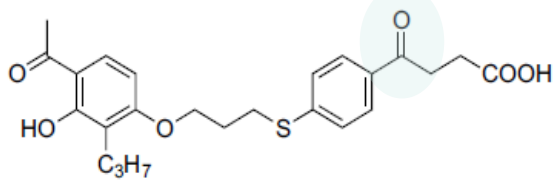
Kroman halkası **4-okso-4-fenilbütanoik asit** grubu ile değiştirilmiştir.

Ayrıca oksijen yerine **kükürt** veya **sülfon** taşıyan türevler tasarlanmıştır. *In vitro* ve *in vivo* çalışmalarda her iki bileşiğin de etki gösterebildiği, fakat ileri metabolizasyon çalışmalarında **kükürt** taşıyan yapının vücutta kolayca redüklendiği ve beta oksidasyona **uğradığı gözlenmiştir.**



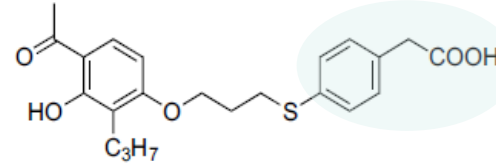
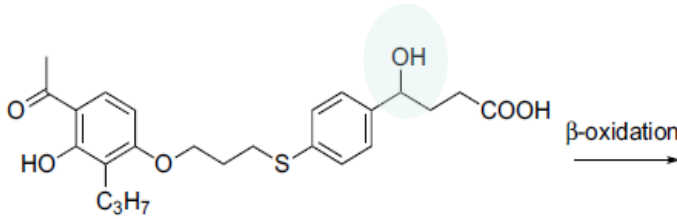
**Sülfon taşıyan türevde (L-648,051) böyle bir sorun gözlenmemiş**

1986'da güvenlik açısından dezavantajının bulunmadığı kabul edilmiş ve klinik çalışmalar için onay almıştır. Uygulama sonucu vücutta kısmen LTD4 inhibisyonu gözlenmiştir. Fakat antijen tarafından indüklenmiş bronkokonstriksiyonda zayıf etki!!!

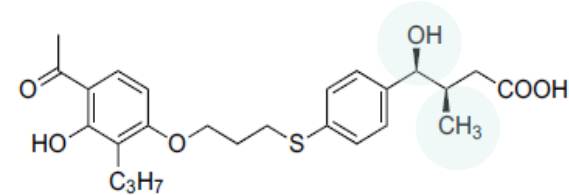


Kükürt atomu taşıyan türevin hızlı bir şekilde redüklenmesi ve sonrasında  $\beta$ -oksidasyonu yoluyla **fenilasetik asit türevi** bileşik oluşmaktadır

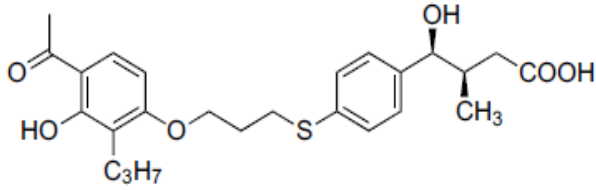
reductase



Bu doğrultuda kükürt taşıyan türevden hareketle metabolik problemi aşmak amacıyla yeni analoglar sentezlenmiştir. Tasarlanan bileşikler *in vivo* metabolik stabilite ile oral emilim açısından değerlendirilmiş ve metabolik stabilitesi yüksek L-649,923 kodlu bileşiğe ulaşılmıştır.



**L-649,923**



**L-649,923**

**L-649,923**, ilk olarak 1985 yılında insanlar üzerinde test edilmiş, hem LTD<sub>4</sub> kaynaklı hem de antijen kaynaklı bronkokonstriksiyonu engelleme kapasitesi açısından incelenmiştir.

**L-649,923** metabolik stabilite açısından iyi olmasına rağmen, yüksek dozlarda sıçanlarda hepatomegali (karaciğer ağırlığında artış) ve karaciğer enzimlerinin artışına neden olduğu tespit edilmiştir.

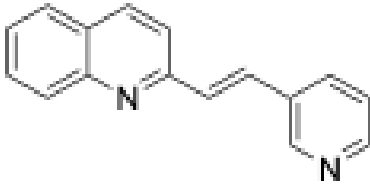
1000 mg oral dozda **antijen tarafından indüklenmiş bronkokonstriksiyonda etkili** olmasına rağmen, lökotrienlere karşı erken yanıtta az etkili, **geç yanıtta etkisiz** kalmıştır. Sonuç olarak, klinik etkinlik yetersiz bulunmuş, geliştirme durdurulmuş ve astımda LTD<sub>4</sub> konsepti sorgulanmaya başlanmıştır.



## MK-571'in keşfi

L-648,051 ve L-649,923'ün optimizasyonu ile paralel olarak **Merck'in geniş bileşik koleksiyonunun taranması** çalışmaları yürütülmüştür.

- Haftada 20-100 bileşik seçilerek ve bileşiklerin LTD4 reseptörlerine olan etkileri test edilmiştir.
- LTD4'e benzer uzun alkil zinciri, konjuge  $\pi$  elektron sistemi ve polar gruplar taşıyan bileşikler seçiliyordu.
- Yıllar içinde 10,000 den fazla bileşik test edilmiştir

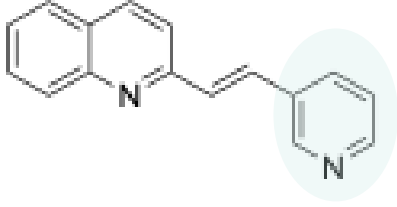


**2-(2-(3-piridil)-etenil)kinolin**  
(Hit Bileşik)

**LTD4 üzerinde IC<sub>50</sub> değeri 6  $\mu$ M ile etkinlik göstermiş** ve “astımlı sıçan” modelinde oral uygulamada etkinlik göstermiştir.

**Fakat L-649,923'ten daha az aktif!!**

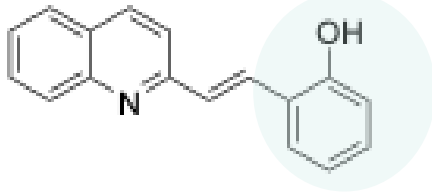
## MK-571'in keşfi



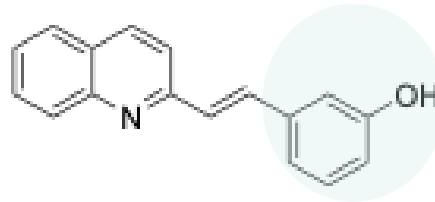
2-(2-(3-piridil)-etenil)kinolin

Yapısal olarak, bu bileşiğin LTD<sub>4</sub> reseptöründeki trien sistemini tanıyan düz lipofilik cebe uyabileceği ve uygun konumlandırılmış karboksilik asit veya H-bağ akseptörü taşıyan grup ile etki potansiyelinin artırılabilceği öngörülmüştür.

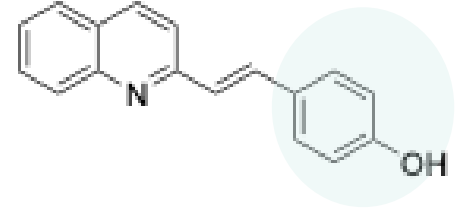
2-hidroksifenil



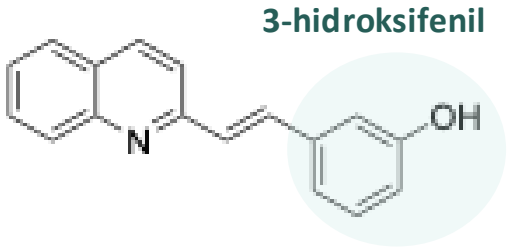
3-hidroksifenil



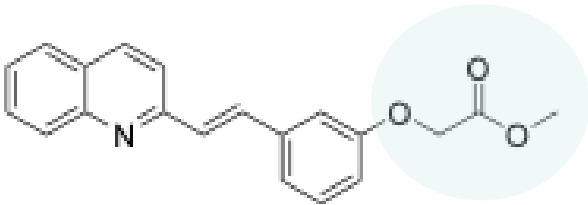
4-hidroksifenil



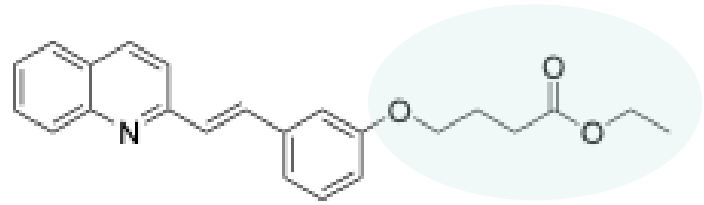
Piridin yerine fenol analogları tasarlanmış ve **3-hidroksifenil analogunun** diğer türevlere göre daha aktif olduğu görülmüştür (IC<sub>50</sub>=0.56 µM).



LD4 reseptörlerinde yüksek aktivite göstermesine rağmen, *in vivo* testlerde **daha az potent** bulunmuş ve oral uygulanan sıçanların kan örneklerinde serbest ilacın çok az bulunduğu, çoğunlukla **O-glukuronid** formu tespit edilmiştir.



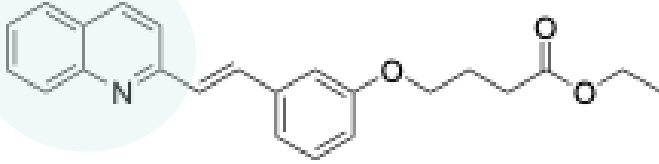
$IC_{50} = 1 \mu M$



$IC_{50} = 0.58 \mu M$

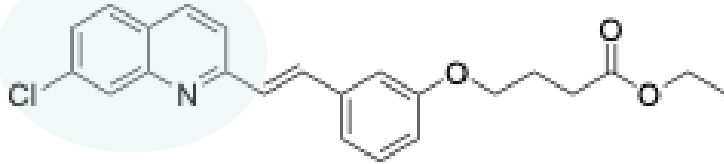
**Fenol grubu üzerinden hazırlanan ester türevlerinin** ise hem *in vitro* hem de *in vivo* sıçan modelinde oldukça potent olduğu bulunmuştur. Ancak, alınan kan örneklerinde, ilaçların kendisi bulunmamış; bunun yerine karşılık gelen asitler tespit edilmiştir.





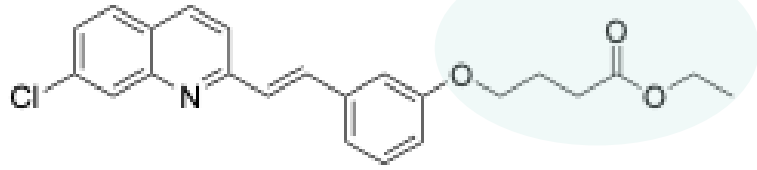
$IC_{50}=0.58 \mu M$

Aktif bölgede kinolinin 5, 6 veya 7 pozisyonuna yapılacak **lipofilik substitüsyonlar** için hala bir alan olduğu görülmüştür. Bu tür substitüsyonların, kinolin üzerindeki potansiyel oksidatif metabolizmayı azaltabileceği de öngörülmüş; çeşitli **süstitüe kinolin ve 1,4-kinazolin analogları** hazırlanmıştır.



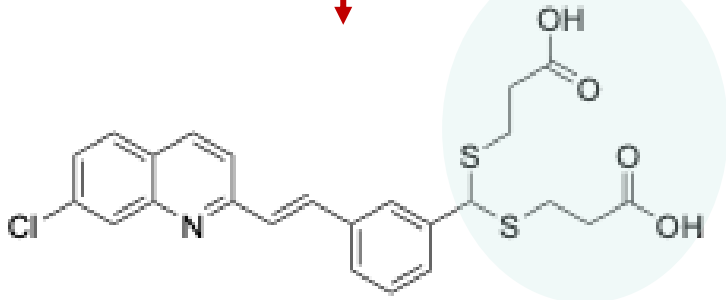
$IC_{50}=39 \text{ nM}$

7. konuma klor atomunun getirilmesiyle daha yüksek aktivite sağlanmış!



$IC_{50}=39$  nM

LTD<sub>4</sub>'ün kükürt atomu taşıyan iki polar zincir içermesi nedeniyle yapıya ikinci bir asidik zincir eklenmiştir.

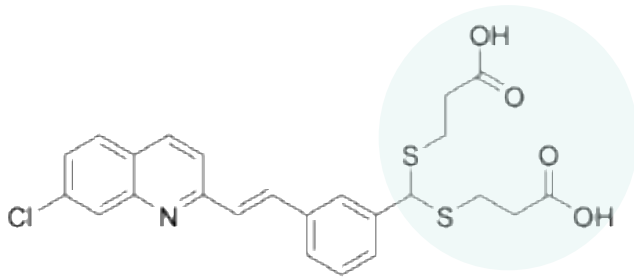


$IC_{50}=3$  nM

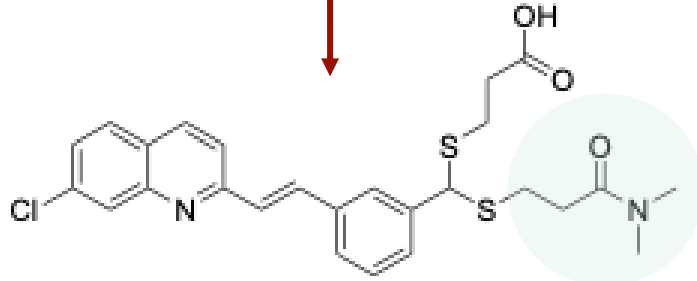
*In vitro* aktivitede artış sağlanmış, sıçan ve maymunlarda iyi farmakokinetik özelliklere sahip olmasına rağmen, sincap maymunu modelinde LTD<sub>4</sub> kaynaklı bronkokonstriksiyonda oral etkinliği beklendiği kadar yüksek olmamıştır.

**Yüksek derecede plazma proteinlerine bağlanıyor!!**





$IC_{50}=3 \text{ nM}$



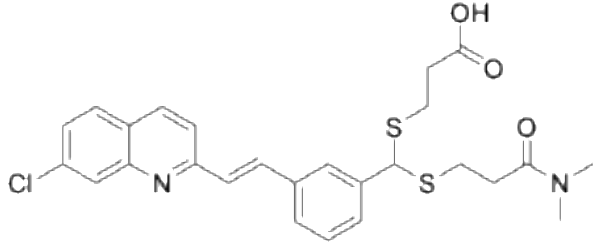
**L-660,711; MK-571**

$IC_{50}=0.8 \text{ nM}$

Plazma proteinlerine daha az bağlanabilecek analoglar tasarlanmıştır.

Karboksilik asit grubunun biri **amit** ile değiştirilmiştir. Bu sayede plazma proteinlerine bağlanma oranı azalmıştır.

**Oral biyoyararlanım artmıştır.**

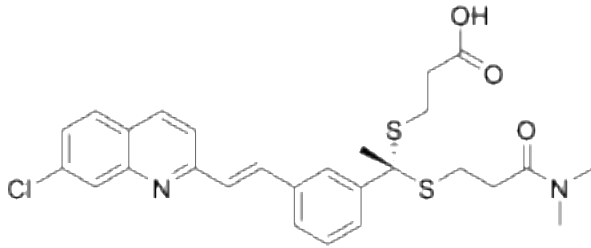


**MK-571**

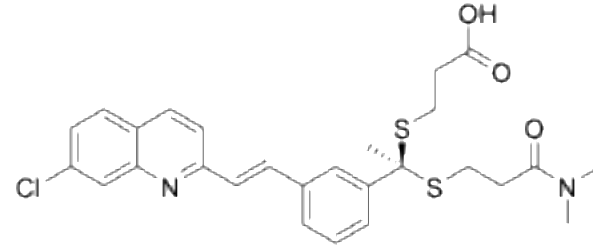
Erken ve geç cevaplı bronkonstriksiyonda etkili  
İndüklenmiş hiperreaktivitede etkinlik

**Yüksek dozda fare karaciğerlerinde yara oluşumu  
gözlenmiş, neden??**

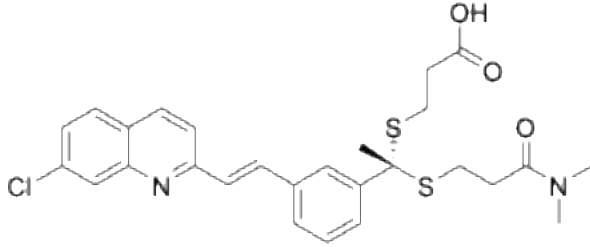
MK-571 bir enantiomerik karışım, bu karışımı saflaştırıp enantiomerlerin ayrı ayrı karaciğer üzerindeki etkisi incelenmiştir.



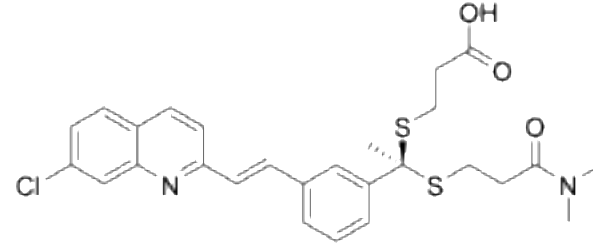
**L-660,018 (S-enantiyomer)**



**L-660,019 (R-enantiyomer)**



**L-660,018 (S-enantiyomer)**

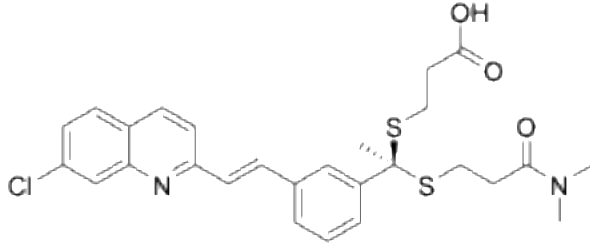


**L-660,019 (R-enantiyomer)**

## **MK-0679**

Farelerde **S-enantiomer (L-668,018)**, MK-571'de gözlenene benzer şekilde karaciğer ağırlığında artış ve peroksizomal enzim aktivitelerinde yükselme meydana getirmiştir; buna karşın **R-enantiomer (MK-0679)** için bu etkiler gözlenmemiştir.

## MK-0679/Verlukast



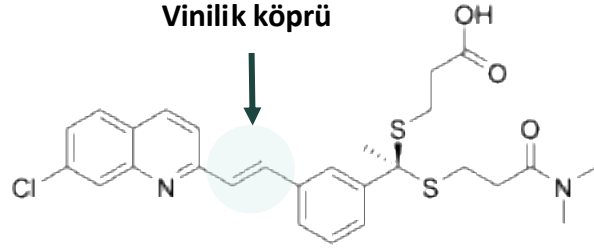
L-660,019 (R-enantiyomer)

MK-0679

- Günde 2 kez 250 mg Faz II hastalarında başarılı
- Fakat hastaların %3'ünde serum transaminaz seviyelerinde artış gözlenmiş!
- Güvenlik testlerini ve daha sonra 1 yıl boyunca farelerde artan dozlardaki uygulamayı başarıyla geçen bu molekülün hasta insanlarda bu duruma yol açması tasarım ekibini düşündürmüştür.



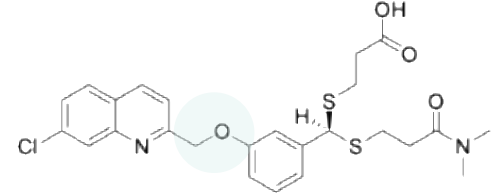
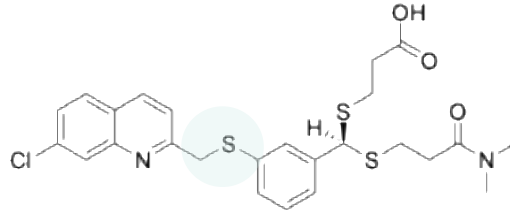
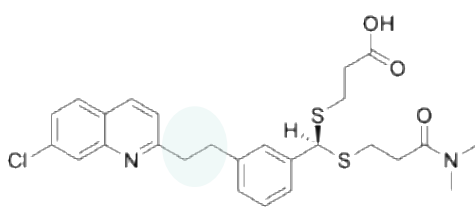
## MK-0679/Verlukast



L-660,019 (R-enantiyomer)

MK-0679

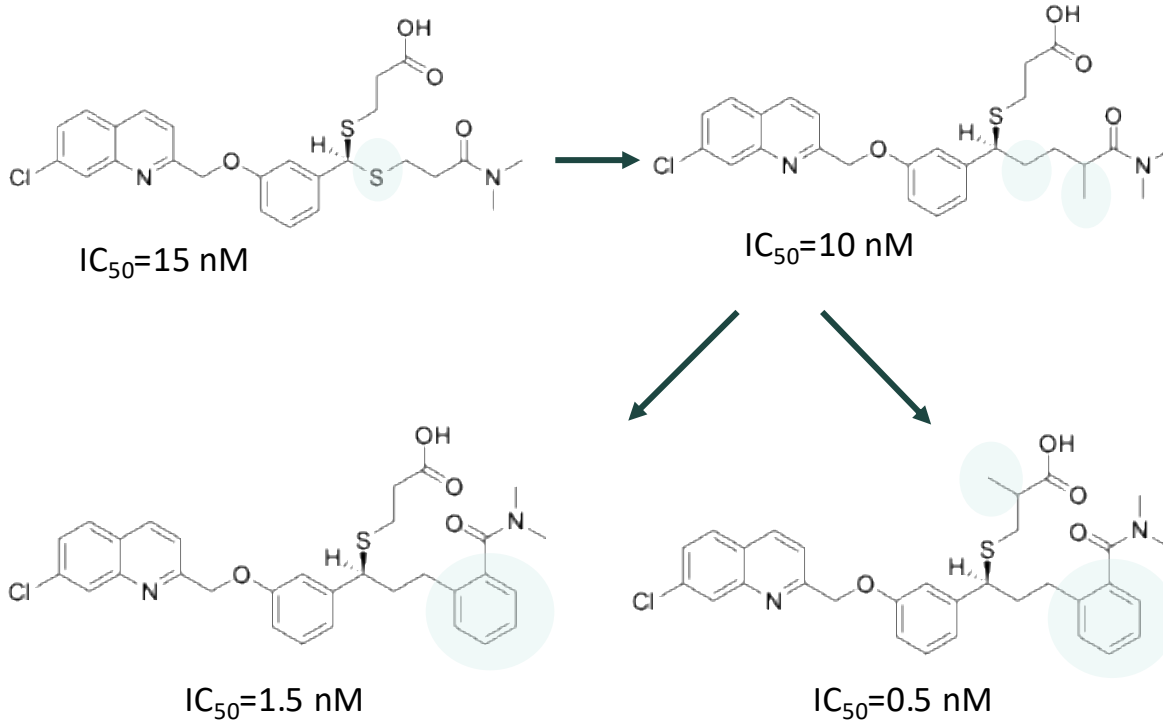
Farmakolojik etkide vinilik köprünün etkisini incelemek amacıyla çalışmalara devam edilmiştir. Amaç MK-0679'da karşılaşılan sorunları çözmek!



Vinil grup yerine satüre grupların getirilmesi **aktivitenin düşmesine** neden olmuştur!



## MK-0476 / Montelukast



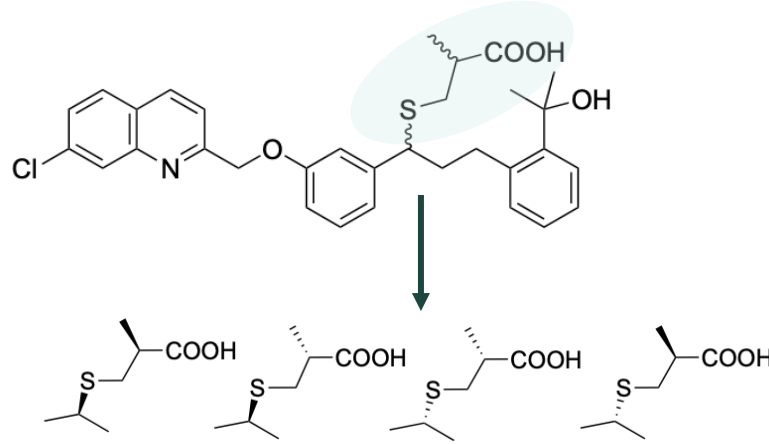
Oksijen köprüsü taşıyan bileşik üzerinde **bir kükürt atomu yerine metilen** getirilmiş ve **karbon zinciri üzerinde alkil sübtütasyonu** yapılmıştır.  
**Aktivitede artış gözlenmiştir.**

Karbon zincirine fenil köprüsünün eklenmesiyle aktivite artmıştır! Fakat MK-0679 a göre yarılanma ömrü daha kısa!!



## MK-0476 / Montelukast

Yapı-aktivite  
çalışmaları sonucunda  
optimum aktivite  
sağlana bileşik!

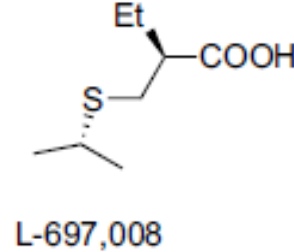
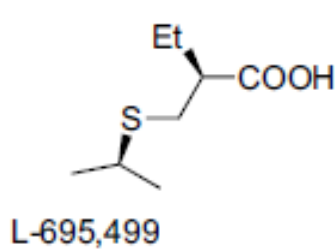
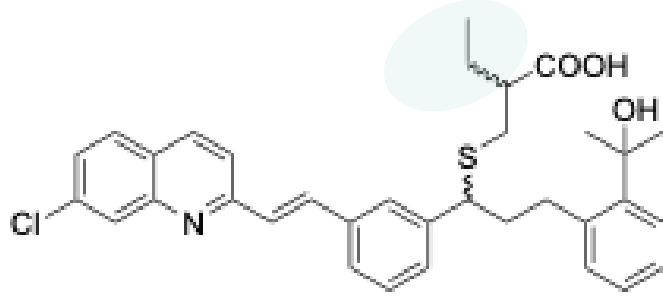


Bu bileşiğin **4 diastereomeri** bulunmaktadır. Her bir diastereomerin ayrı ayrı etki profili ve farmakokinetik özellikleri incelendiğinde, verlukast'tan daha iyi bir sonuç elde edilememiştir.



## MK-0476 / Montelukast

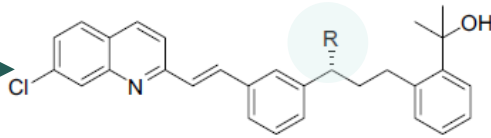
Metil yerine etil grubunun getirildiği türevin diastereomerleri izole edilmiştir



Bu çalışmalarda özellikle **S-tiyoeater (L-695,499)** ve **R-tiyoeater (L-697,008)** izomer çifti içerisinde **R-tiyoeater türevi** daha iyi aktivite göstermiştir.



R-tiyoeter türevleri



LWI: Liver weight increase  
PEI: Peroxysomal enzyme induction

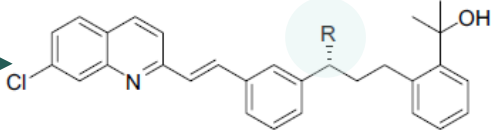
Thioalkanoic acid chain	LTD4 binding GP IC <sub>50</sub> (nM)	LWI <sup>a</sup>	PEI <sup>b</sup>
<p><b>L-697,008</b></p>	0.1	+63%	+608%
	0.6	+9%	+188%
	0.3	+11%	+24%
	0.4	+12%	+109%
	0.4	+27%	+673%
	0.3	+10%	+91%

Karaciğer enzim seviyelerinde yükselme ve ağırlık artışı

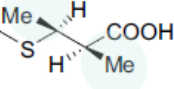
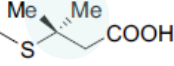
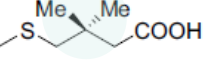
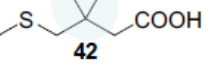
Karaciğer enzim seviyelerinde yükselme diğer türevlerde de devam ediyor



R-tiyoeter türevleri



LWI: Liver weight increase  
PEI: Peroxysomal enzyme induction

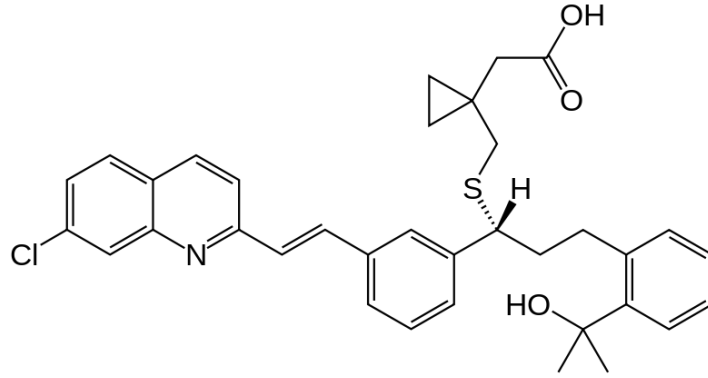
Thioalkanoic acid chain	LTD4 binding GP IC <sub>50</sub> (nM)	LWI <sup>a</sup>	PEI <sup>b</sup>
	2.3	+32%	+393%
	0.7	+3%	-10%
	0.3	+2%	+25%
 42	0.5	0%	+16%
MK-571 (28)	1.5	+38%	+318%
verlukast (29)	3.1	0%	+65%

Montelukast

- LTD4'e bağlanma yüksek
- Karaciğer ağırlığında değişiklik yok
- Peroksizomal enziminin induksiyonu düşük



# MK-0476 / Montelukast



- Merck Fross'ta o zamana kadarki en iyi *in vitro*, *in vivo* profil
- Squirrel monkeyde 0.001mg/kg, uygulamadan 4 saat sonra etkin şekilde inhibisyon
- MK-571 ve MK-0679'dan **10 kat daha güçlü**
- Hem *in vitro* ve hem de *in vivo* olarak insan, koyun, kobay ve maymun dokularında mükemmel etki

