



T.C.
GAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK
LİSANS
TEZİ

5-LİPOKSİJENAZ AKTİVE EDİCİ PROTEİN
(FLAP) İNHİBİTÖRLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ
ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

SERKAN LEVENT

FARMASÖTİK KİMYA
ANABİLİM DALI

MAYIS 2014



**5-LİPOKSİJENAZ AKTİVE EDİCİ PROTEİN (FLAP) İNHİBİTÖRLERİNİN
GELİŞTİRİLMESİ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

Serkan LEVENT

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MAYIS 2014

Serkan LEVENT tarafından hazırlanan "5-LİPOKSİJENAZ AKTİVE EDİCİ PROTEİN (FLAP) İNHİBİTÖRLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Kimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Erden BANOĞLU

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

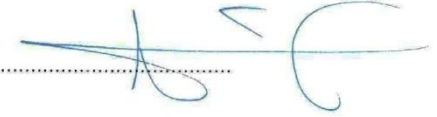
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.....



Başkan: Prof. Dr. Fatma GÜMÜŞ

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.....



Üye: Prof. Dr. Zeynep ATEŞ ALAGÖZ

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.....



Tez Savunma Tarihi: 22/05/2014

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Prof. Dr. Mustafa KEREM

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dökümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



Serkan LEVENT

22/05/2014

5-LİPOKSİJENAZ AKTİVE EDİCİ PROTEİN (FLAP) İNHİBİTÖRLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

(Yüksek Lisans Tezi)

Serkan LEVENT

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mayıs 2014

ÖZET

Lökotrienler (LT) birçok hastalıkta rol oynayan lipit mediyatörlerdir. FLAP bu mediyatörlerin biyosentezinde substrat araşidonik asitin (AA) 5-lipoksijenaza (5-LO) transferinde köprü görevi yapan yardımcı proteindir. Bu sebeple, FLAP inhibisyonu ile LT biyosentezinin engellenmesi LT'lerin sebep olduğu hastalıkların tedavisi için önemli bir terapötik hedef haline almıştır. Bu amaçla araştırma grubumuz tarafından keşfedilen FLAP inhibitörü benzimidazol türevi öncü bileşiğin (BRP-7) beşinci konumunda farklı süstitüentler taşıyan yirmi iki farklı türevi tasarlanarak sentezlenmiştir. Bununla beraber rasemat halinde bulunan öncü bileşik, kiral HPLC yöntemi ile enantiyomerlerine ayrılarak minimum %95'lik ee saflığında elde edilmiştir. Spektral ve elementel analizlerle yapıları kanıtlanan bu enantiyomerlerin insan polimorfonükleer lökosit (PMNL) hücrelerinde LT biyosentezi inhibitör etkileri araştırılmıştır. Sentezlenen yirmi iki final bileşinin LT biyosentez inhibitör etkileri incelendiğinde 2-(((2-(1-(4-izobütilfenil)etil)-1-(2-klorobenzil)-1*H*-benzimidazol-5-il)oksi)metil)benzonitril (**6f**) LT biyosentezini 0,12 µM IC₅₀ değeriyle inhibe ederek en aktif bileşik olarak belirlenmiştir. Bunun yanında **6j**, **6p**, **6u**, **6v** ve **6y** kodlu bileşikler 0,12-0,23 µM aralığında IC₅₀ değerleriyle öncü bileşik BRP-7'den daha güçlü aktiviteye sahip bulunmuştur. Polimer temelli kiral sabit faz (KSF) kromatografi yöntemiyle ayrılan enantiyomerlerin LT biyosentezi inhibitör etkileri incelendiğinde herbir enantiyomerin ve rasematın IC₅₀ değerleri (*R*)-, (*S*)-enantiyomerleri ve rasemat için sırasıyla 0,18 µM, 0,26 µM ve 0,31 µM olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak, benzimidazolün birinci konumundaki azot üzerinde bulunan benzil grubunun ikinci konumunda yer alan klor ve triflorometil grupları arasında aktivite açısından büyük bir fark olmadığı görülmekle beraber benzimidazolün beşinci konumu için nispeten küçük hacimli, hidrojen bağı veya polar etkileşimler yapabilecek grupların aktivite için daha uygun olduğu söylenebilir.

Bilim Kodu : 1019
Anahtar Kelimeler : FLAP, 5-LO, Lökotrien, Benzimidazol, Kiral ayırım
Sayfa Adedi : 113
Danışman : Prof. Dr. Erden BANOĞLU

STUDIES ON THE DEVELOPMENT OF 5-LIPOXYGENASE ACTIVATING PROTEIN (FLAP) INHIBITORS

(M. Sc. Thesis)

Serkan LEVENT

GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

May 2014

ABSTRACT

Leukotrienes (LT) are lipid mediators having significant roles on various diseases. FLAP has a crucial role on the biosynthesis of these mediators by acting as a bridge protein for efficient transfer of the substrate arachidonic acid (AA) to 5-lipoxygenase (5-LO). Therefore, inhibition of FLAP has become a substantial target for treatment of LT-based disorders. Based on the benzimidazole derivative lead structure (BRP-7) previously discovered by our research group, twenty-two final compounds having different substituents at C(5) position of the benzimidazole ring were designed and synthesized. Moreover, racemic lead compound BRP-7 was separated into its enantiomers with a minimum 95% enantiomeric excess by using polymer-based chiral stationary phase (CSP) on HPLC. Structures of all compounds were elucidated by spectral techniques and elemental analysis, and their inhibitory effects on LT biosynthesis in human polymorphonuclear leucocyte (PMNL) cells were investigated. Among them, 2-(((1-(2-chlorobenzyl)-2-(1-(4-isobutylphenyl)ethyl)-1H-benzimidazol-5-yl)oxy)methyl) benzonitrile (**6f**) is found to be the most active derivative with the IC_{50} value of 0,12 μ M. Additionally, compounds **6j**, **6p**, **6u**, **6v** and **6y** demonstrated higher activity on inhibition of LT biosynthesis than the lead compound BRP-7 (IC_{50} values of 0,12-0,23 μ M). Meanwhile, the effects of individual enantiomers of the lead compound on LT biosynthesis were also investigated. IC_{50} values for (*R*)- and (*S*)-enantiomers were found to be 0,18 μ M and 0,26 μ M, respectively, while the IC_{50} value for racemate was 0,31 μ M. In conclusion, we did not observe any drastic difference between 2-trifluoromethyl and 2-chloride substituted benzyl groups on N(1) position of the benzimidazole ring in terms of the biological activity. However, the presence of relatively small groups with possible hydrogen bonding and polar interactions at C(5) of the benzimidazole ring has contributed significantly to the observed biological activity.

Science code : 1019

Key words : FLAP, 5-LO, Leukotriene, Benzimidazole, Enantioseparation

Page number : 113

Supervisor : Prof. Dr. Erden BANOĞLU

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bölüm içinde ve dışında her türlü imkan ve desteği veren tez danışmanım Prof. Dr. Erden Banoğlu'na, kiral ayırım çalışmaları esnasında imkanlarını ve desteklerini esirgemeyen Perugia üniversitesinden Prof. Dr. Benedetto Natalini ve ekibine, aktivite çalışmalarını gerçekleştiren Jena üniversitesinden Prof. Dr. Oliver Werz ve ekibine, analiz çalışmalarını gerçekleştiren Ankara Üniversitesi'nden Prof. Dr. Hakan Göker'e, katalitik hidrojenasyon deneylerinde yardımını esirgemeyen Ankara üniversitesinden Doç. Dr. Mehmet Alp'e, moleküler modelleme çalışmalarını gerçekleştiren Abdurrahman Olğaç'a, yüksek lisans eğitimimi gerçekleştirebilmem için gerekli ortamı sağlayan Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nın değerli başkanına ve mensuplarına, anabilim dalımızda yüksek lisans eğitimine başlamama vesile olan sevgili arkadaşım Erşan Çelikoğlu'na, tez yazımında bilgi ve tecrübesiyle yanımda olan Doç. Dr. Gökçen Eren'e ve son olarak bu tezin her sayfasında büyük emeği olan Doç. Dr. Burcu Çalışkan'a teşekkürü borç bilirim. Ayrıca bu tez çalışmasında verdiği desteklerden ötürü Türkiye Bilimler Akademisi'ne teşekkür ederim.

Daha yaşanabilir bir dünyaya...

Serkan LEVENT

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. 5-Lipoksijenaz Yolağı	5
2.2. LT'lerin Biyolojik Etkileri	6
2.3. LT Reseptörleri	7
2.4 5-LO Enzimi	7
2.5. MAPEG Süper Ailesi	8
2.6. 5-LO Aktive Edici Protein (FLAP)	9
2.7. Antilökotrien İlaçlar	10
2.7.1. 5-LO inhibitörleri	10
2.7.2. FLAP inhibitörleri	28
2.7.3. LT reseptör antagonistleri	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM	35
3.1. Kimyasal Çalışmalar	35
3.1.1. Gereçler	35
3.1.2. Benzimidazol türevlerinin genel sentez yöntemi-1	35
3.1.3. Benzimidazol türevlerinin genel sentez yöntemi-2	35
3.1.4. Katalitik hidrojenasyon	36
3.2. Analitik Çalışmalar	36
3.2.1. Erime noktası tayini	36
3.2.2. İnce tabaka kromatografisi (İTK) ile yapılan kontroller	36
3.2.3. Flash kromatografi	36
3.2.4. Elementel analizler	37
3.2.5. ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektrumları	37
3.2.6. HRMS spektrumları	37
3.2.7. Kiral ayırım	37
3.3. Moleküler Modelleme Çalışmaları	38
3.4. Biyolojik Çalışmalar	38
4. BULGULAR	39
4.1. Kimyasal Bulgular	39
4.1.1. 4-Metoksi-2-nitro- <i>N</i> -(2-(triflorometil)benzil)anilin (Bileşik 1a)	39
4.1.2. 4-Metoksi-2-nitro- <i>N</i> -(2-klorobenzil)anilin (Bileşik 1b)	39
4.1.3. 4-Metoksi- <i>N</i> ¹ -(2-(triflorometil)benzil)benzen-1,2-diamin (Bileşik 2a)	40
4.1.4. <i>N</i> ¹ -(2-Klorobenzil)-4-metoksibenzen-1,2-diamin (Bileşik 2b)	40
4.1.5. 2-(4-İzobütilfenil)- <i>N</i> -(5-metoksi-2-((2-(triflorometil)benzil)amino)fenil)propanamid (Bileşik 3a)	41
4.1.6. 2-(4-İzobütilfenil)- <i>N</i> -(5-metoksi-2-((2-klorobenzil)amino)fenil)propanamid (Bileşik 3b)	42

4.1.7. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-metoksi-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol (Bileşik 4a).....	43
4.1.8. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-metoksi-1-(2-klorobenzil)-1H-benzimidazol (Bileşik 4b).....	44
4.1.9. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol -5-ol (Bileşik 5a).....	45
4.1.10. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-1-(2-klorobenzil)-1H-benzimidazol -5-ol (Bileşik 5b).....	46
4.1.11. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-((4-metilbenzil)oksi)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol (Bileşik 6a).....	47
4.1.12. 5-((3-Florobenzil)oksi)-2-(1-(4-izobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol (Bileşik 6b).....	48
4.1.13. 5-((4-Bromobenzil)oksi)-2-(1-(4-izobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol (Bileşik 6c).....	49
4.1.14. 5-((2-Klorobenzil)oksi)-2-(1-(4-izobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol (Bileşik 6d).....	50
4.1.15. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-((4-metoksibenzil)oksi)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol HCl tuzu (Bileşik 6e).....	51
4.1.16. 2-(((1-(2-Klorobenzil)-2-(1-(4-izobütilfenil)etil)-1H-benzimidazol -5-il)oksi)metil)benzonitril HCl tuzu (Bileşik 6f).....	52
4.1.17. 5-((4-(ter-Bütil)benzil)oksi)-2-(1-(4-izobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol (Bileşik 6g).....	53
4.1.18. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-((2-metilbenzil)oksi)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol HCl tuzu (Bileşik 6h).....	54
4.1.19. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-5-((3-(triflorometil)benzil)oksi)-1H-benzimidazol HCl tuzu (Bileşik 6i).....	55
4.1.20. 5-(Alliloksi)-2-(1-(4-izobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol (Bileşik 6j).....	56
4.1.21. 4-(((2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol -5-il)oksi)metil)benzonitril HCl tuzu (Bileşik 6k).....	57
4.1.22. 5-Bütoksi-2-(1-(4-izobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol HCl tuzu (Bileşik 6l).....	58
4.1.23. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-((4-(triflorometoksi)benzil)oksi)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol HCl tuzu (Bileşik 6m).....	59
4.1.24. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-((3-metilbut-2-en-1-il)oksi)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol HCl tuzu (Bileşik 6n).....	60
4.1.25. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-5-((2-(triflorometil)benzil)oksi)-1H-benzimidazol HCl tuzu (Bileşik 6o).....	61
4.1.26. Metil 2-((2-(1-(4-izobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol-5-il)oksi)asetat HCl tuzu (Bileşik 6p).....	62
4.1.27. 2-(((2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol-5-il)oksi)metil)benzonitril HCl tuzu (Bileşik 6r).....	63
4.1.28. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-(pent-2-in-1-iloksi)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol HCl tuzu (Bileşik 6s).....	64
4.1.29. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-((3-metilbenzil)oksi)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol HCl tuzu (Bileşik 6t).....	65
4.1.30. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-(piridin-2-ilmetoksi)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol HCl tuzu (Bileşik 6u).....	66
4.1.31. 2-(((1-(2-klorobenzil)-2-(1-(4-izobütilfenil)etil)-1H-benzimidazol -5-il)oksi)asetik asit (Bileşik 6v).....	67

4.1.32. 2-((1-(2-klorobenzil)-2-(1-(4-izobutilfenil)etil)-1H-benzimidazol -5-il)oksi)-2-metilpropanoik asit (Bileşik 6y).....	68
4.2. Biyolojik Bulgular	69
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	73
5.1. Kiral Ayırım.....	73
5.2. Sentez Çalışmaları	78
5.3. Aktivite Çalışmaları	82
5.4. Moleküler Modelleme Çalışmaları	83
KAYNAKLAR	87
ÖZGEÇMİŞ	99

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. Tez kapsamında sentezlenen bileşikler	3
Çizelge 4.1. Bileşiklerin % 5-LO inhibisyon değerleri.....	69
Çizelge 4.2. IC ₅₀ tablosu.....	70
Çizelge 5.1. Taranan KSF'ler ve elde edilen parametreler.	74
Çizelge 5.2. Mobil faz çalışması ve elde edilen parametreler.....	75

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. 5-LO yolağı	6
Şekil 2.2. 5-LO kristal yapısı	8
Şekil 4.1. 6f, 6j, 6p, 6u, 6v ve 6y kodlu bileşiklerin IC ₅₀ grafikleri	71
Şekil 5.1. Preparatif kromatogram.	75
Şekil 5.2. Flash kromatografi yöntemi ile saflaştırılan enantiyomerlerin akiral HPLC yöntemi ile elde edilen kromatogramları.	76
Şekil 5.3. Elde edilen enantiyomerlerin kiral HPLC yöntemi ile elde edilen enantiyosafliğına ait kromatogramları.	76
Şekil 5.4. (R), (S) ve rasemat BRP 7'nin IC ₅₀ grafiği	77
Şekil 5.5. BRP-7'nin türevlendirme şeması	78
Şekil 5.6. Sentez şeması	79
Şekil 5.7. Bileşik 6v ve 6y sentez şeması	80

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 5.1. Bileşik 5b'nin ^1H -NMR spektrumu.....	81
Resim 5.2. Bileşik 5b'nin ^{13}C -NMR spektrumu	82
Resim 5.3. Bileşiklerin (6f, 6j, 6k, 6u, 6p, 6v, 6y) FLAP aktif yöresinde olası bağlanma modu	84

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simge	Açıklama
Å	Angstrom
Hz	Hertz
Δ	Kimyasal kayma
Ppm	Milyonda bir birim
μM	Mikromolar
K	Kapasite faktörü
A	Seçimlilik faktörü
R _s	Rezolüsyon
Kısaltma	Açıklama
AA	Araşidonik asit
BLT	B lökotrien reseptörü
COX	Siklooksijenaz
cPLA ₂	Sitoplazmik fosfolipaz A ₂
CysLT	Sisteinil lökotrien reseptörü
DIEA	Diizopropiletilamin
DMAP	Dimetilaminopiridin
EDC	<i>N</i> -(3-dimetilaminopropil)- <i>N</i> '-etilkarbodiimid hidroklorür
ESI	Elektrospray iyonizasyon
FLAP	5-LO aktive edici protein
HPETE	Hidroperoksieikosatetraenoik asit
HPLC	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
HRMS	Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektroskopisi
IC ₅₀	% 50 inhibisyon için gerekli inhibitör konsantrasyonu
KSF	Kiral sabit faz
LO	Lipoksijenaz
LT	Lökotrien
mPGES	Mikrozomal veya membran bağlı PGE sentaz
NSAE	Nonsteroidal antiinflamatuvar
PMNL	Polimorfonükleer lökosit
TXA ₂	Tromboksan A ₂

1.GİRİŞ

Enflamasyonda rol oynayan lökotrienlerin (LT) biyosentezi 5-lipoksijenaz (5-LO) yolağı ile gerçekleşmektedir. Siklooksijenaz (COX) inhibitörlerinin ve nonsteroidal antiinflamatuar (NSAE) ilaçların kardiyovasküler, gastrointestinal veya böbrek üzerindeki istenmeyen yan etkilere sahip olması nedeniyle 5-LO yolağı daha önemli bir hedef haline gelmiştir [1].

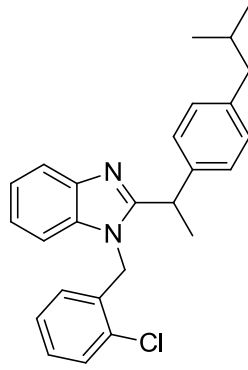
Lökotrienler (LT), birçok hastalıkta proenflamatuar etkiye sebep olan lipid mediyatörlerdir. Örneğin, sisteinil lökotrienler (LTC_4 , LTD_4 ve LTE_4) bronkokonstriktör etkileri nedeniyle astımda rol oynar. Ayrıca, LTB_4 'ün lökositler için kemotaktik bir ajan olduğu ve buna ek olarak enflamatuar barsak hastalıklarında, romatoid artrit ve sedef hastalığında anahtar bileşen olduğu bilinmektedir [2]. Bunun yanında, düz kas kasılmaları, damar geçirgenliğinde artış, lökositlerin enflamasyon bölgesine göçü ve enflamasyon oluşmasında da LT'lerin etkisi olduğu bildirilmiştir [3, 4]. Ayrıca LT'lerin ateroskleroz ve belirli kanser tiplerinin patolojisinde önemli rol aldığı bildirilmiştir [5, 6].

Araşidonik asitten (AA) LT'lerin sentezinde ilk basamak, 5-LO'nun 5-LO aktive edici proteine (FLAP) bağlanarak AA'yı 5-hidroperoksieikosatetraenoik asite (HPETE) oksidasyonu şeklinde gerçekleşmektedir. Bu mekanizmanın aydınlatılmasıyla LT biyosentezini önlemek için FLAP inhibisyonu araştırmacılar için önemli bir hedef haline gelmiştir. FLAP inhibisyonu ile astım ve alerjik hastalıkların yanı sıra kardiyovasküler rahatsızlıklara karşı da etkin bir çözüm üretilebileceği düşünülmektedir. Ancak FLAP ile yapılan çalışmaların sınırlı sayıda olması nedeniyle FLAP üzerinde inhibitör etkiye sahip yeni bileşiklere olan ihtiyaç devam etmektedir.

Bu bilgiler ışığında grubumuz tarafından moleküler modelleme teknikleri kullanılarak, insan nötrofillerinde LTB_4 biyosentezini inhibe ederken ($IC_{50}= 0,31 \mu M$), saflaştırılmış 5-LO üzerinde inhibisyon etki göstermeyen öncü molekül BRP-7'ye ulaşılmıştır. 5-LO'yu inhibe etmezken, LTB_4 biyosentezi inhibisyonuna sahip olması, bileşiğimizin doğrudan FLAP'ı inhibe ettiğini düşündürmüştü ve yapılan farmakolojik mekanizma çalışmaları sonucunda BRP-7

bileşinin FLAP inhibisyonu sonucu LTB₄ biyosentezini engellediği belirlenmiştir [7].

Bu tez kapsamında FLAP inhibitörü benzimidazol türevi öncü bileşinin (BRP-7) beşinci konumunda farklı sübstitüentler taşıyan yirmi iki farklı türevinin sentezlenmesi amaçlanmıştır (Çizelge 1.1). Ayrıca BRP-7'nin enantiyomerlerinin ayrılması ile elde edilen enantiyomerlerin aktiviteye olan etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.



BRP-7

Çizelge 1.1. Tez kapsamında sentezlenen bileşikler

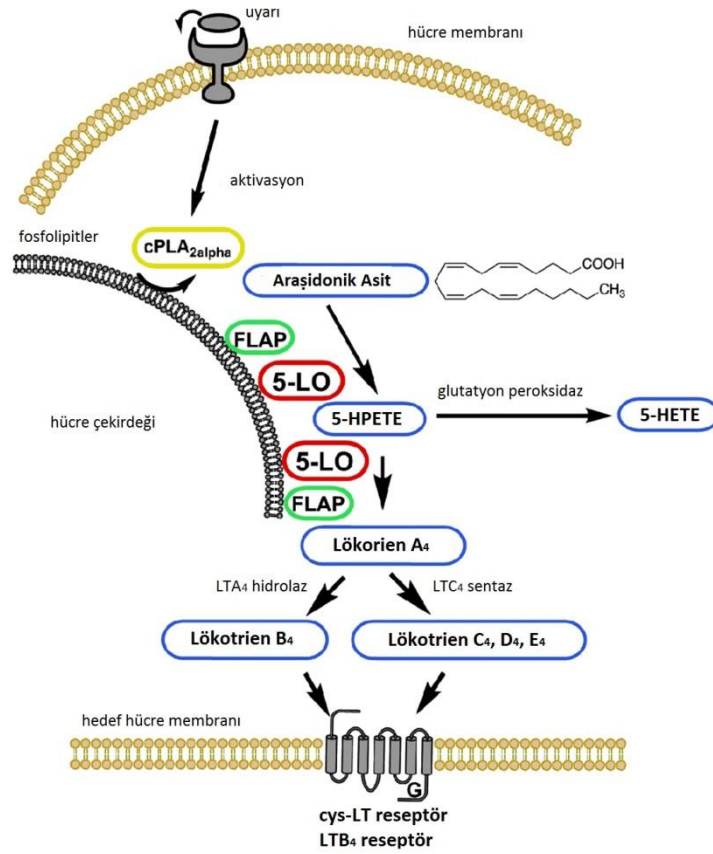
Bileşik	R ₁	R ₂	Bileşik	R ₁	R ₂
6a		CF ₃	6b		CF ₃
6c		CF ₃	6d		CF ₃
6e		CF ₃	6f		Cl
6g		CF ₃	6h		CF ₃
6i		CF ₃	6j		CF ₃
6k		CF ₃	6l		CF ₃
6m		CF ₃	6n		CF ₃
6o		CF ₃	6p		CF ₃
6r		CF ₃	6s		CF ₃
6t		CF ₃	6u		CF ₃
6v		Cl	6y		Cl

2. GENEL BİLGİLER

2.1. 5-Lipoksijenaz Yolağı

Lipoksijenazlar, (Z,Z)-1,4-pentadien yapısı taşıyan çoklu doymamış yağ asitlerine, stereo ve regiospesifik oksijen katılmasını katalizleyerek, hidroperoksi türevleri oluşturan dioksijenazlardır. Bitki ve hayvanların yanı sıra mantar ve bakterilerde de bulunurlar. Lipoksijenazlar, her molekül için “hem” yapısında olmayan, 2+ (aktif) ve 3+ (inaktif) değerlikleri arasında gidip gelen, demir atomuna gerek duyarlar. Demir atomunun görevinin, hidrojen ayrılımlında ve peroksit oluşumunda elektron alıp verme olduğu kabul edilmektedir [8, 9]. Memelilerde temel olarak dört lipoksijenaz izoformu (5-LO, 8-LO, 12-LO ve 15-LO) bulunmaktadır. Bu enzimler, AA'nın beşinci, sekizinci, onikinci ve onbeşinci konumlarına oksijen katarak sırasıyla 5-, 8-, 12- ve 15-HPETE oluştururlar [10].

5-LO enzimi fosfolipaz A₂'nin (PLA₂) aktivasyonu ile membrandan salınan AA'yı 5-HPETE'ye dönüştürerek LT biyosentezini başlatır ve sonrasında 5-HPETE'den dayanıksız epoksit türevi lökotrien A₄ (LTA₄) oluşumunu sağlayarak görevini tamamlamış olur. Ardından LTA₄, LTA₄ hidrolaz ve LTC₄ sentaz ile sırasıyla LTB₄ ve LTC₄'e dönüştürülür. Oluşan LTC₄ γ-glutamilttransferaz ile LTD₄'e metabolize olur. Oluşan bu yeni LT, dipeptitaz enzimi ile LTE₄'e dönüşür. LTC₄, LTD₄ ve LTE₄, yapılarında sisteinil grubu taşıdıkları için sisteinil lökotrienler (CysLT) olarak adlandırılırlar [1].



Şekil 2.1. 5-LO yolağı [11]

2.2. LT'lerin Biyolojik Etkileri

Lökotrienler, başta astım olmak üzere romatoid artrit, enflamatuvar barsak hastalığı, psöriazis, alerjik rinit gibi çeşitli enflamatuvar ve alerjik reaksiyonlarda rol oynayan, bunun yanında ateroskleroz ve çeşitli kanser türleriyle de ilişkilendirilen lipid mediyatörlerdir.

LTB₄ nötrofil, makrofaj ve eizonofiller için etkili bir kemotaktik ajandır. Lökositlerin enflamasyon bölgesine göçüne sebep olur. Ayrıca, nötrofillerin aktivasyonu ile salınan enzimler ve süperoksit oluşumu nötrofillerin degranülasyonuna neden olur. Lökositlerin damar endoteline yapışmalarını ve doku içine sızmalarını artırır. Bunların yanında, makrofajlardan ve lenfositlerden proenflamatuvar sitokinlerin salınımını artırarak, immün reaksiyonlarda önemli rol oynar [1, 4, 12].

Sisteinil LT'ler ise düz kas kasılmalarını, mukus salgılanmasını, plazma ekstrasvazasyonunu, vazokonstriksiyonu, eozinofil toplanmasını ve fibrosit proliferasyonunu indüklerler [13]. Damar geçirgenliğinde azaltıcı etkiye ve bronkokonstriksiyona neden olurlar [14]. Sisteinil LT'lerin astım reaksiyonlarında ve immün cevapların düzenlenmesinde önemli rol oynadıkları da bilinmektedir [13].

2.3. LT Reseptörleri

Lökotrienler, hidroksiasit LT (LTB_4) ve sisteinil LT'ler (LTC_4 , LTD_4 , LTE_4) olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. LT reseptörleri ise temel olarak LT sınıflarına olan afinitesine göre B lökotrien reseptör (BLT) ve sisteinil LT reseptörleri olmak üzere iki sınıfa ayrılır.

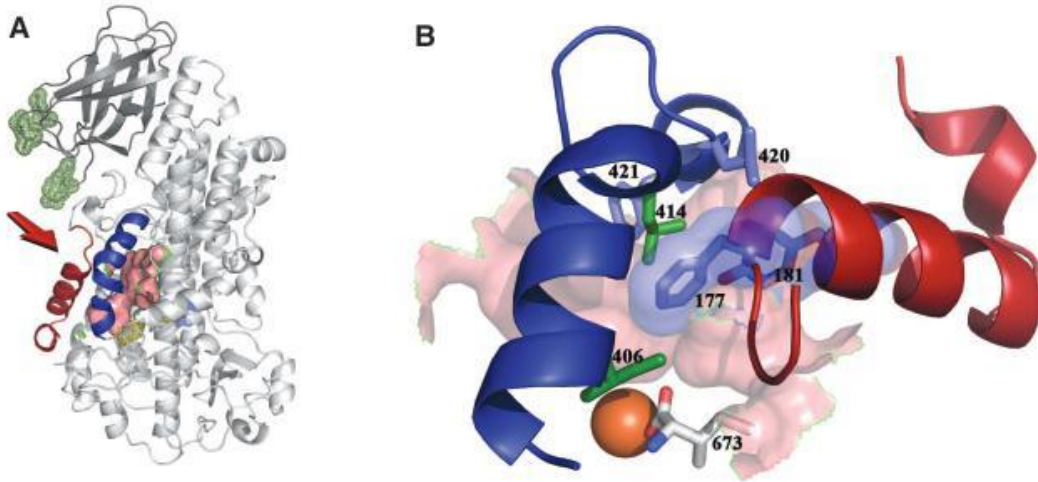
BLT kendi içinde iki alt grup olarak sınıflandırılmaktadır. B lökotrien reseptör 1 (BLT_1), LTB_4 için yüksek afinite göstererek kemoatraktant ve proenflamatuvar etkiye aracılık eder. B lökotrien reseptör 2 (BLT_2), LTB_4 için daha düşük afiniteye sahiptir ve diğer LO ürünlerine de bağlanır. Ancak BLT_2 reseptörlerinin fizyolojik fonksiyonları hakkında yeterli bilgi mevcut değildir [15].

CysLT reseptörleri BLT reseptörleri gibi iki alt grupta incelenmektedir. Sisteinil lökotrien reseptör 1 ($CysLT_1$) bronş daralması, mukus sekresyonu ve ödem oluşumuna aracılık eder. Selektif $CysLT_1$ antagonistleri astım tedavisi için kullanılmaktadır. Sisteinil lökotrien reseptör 2 ($CysLT_2$) bronş daralmasına katkıda bulunmaz ancak enflamasyon, damar geçirgenliğinin artışına ve doku fibrozuna eşlik eder [4].

2.4 5-LO Enzimi

5-LO enziminin esas olarak lökositlerde bulunduğu bilinmektedir [5]. B hücreleri, monosit, nötrofil, eozinofil ve mast hücreleri gibi miyeloid ve lenfoid hücrelerde de 5-LO eksprese edilir [16]. Memelilerde 672 veya 673 amino asit içeren 5-LO enzimlerinin amino asit dizilimi birbirinden oldukça farklıdır. Ancak bu farklılığa rağmen, enzimler iki farklı birimden oluşan ve aynı katlanmış yapıyı

paylaşırlar. Bunlar küçük N-terminali β -sandviç bölgesi ve daha geniş C-terminal katalitik bölgedir [17]. Katalitik C-terminal bölgesi esas olarak sarmal yapıdadır ve demir içerir. Enzim aktivasyonunun gerçekleşmesi için inaktif durumdaki Fe^{2+} iyonunun aktif formu olan Fe^{3+} durumuna geçmesi gerekmektedir [18].



Şekil 2.2. 5-LO kristal yapısı¹

5-LO aktivitesinin düzenlenmesi oldukça karmaşıktır. Yeterli hücre stimülasyonu sonrasında hücre içi Ca^{2+} iyon konsantrasyonunun artışı ve mitojen ile aktive edilmiş protein kinazlar (MAPK) tarafından gerçekleştirilen fosforilasyonlar sonucu 5-LO aktive olarak nükleer membrana transfer olur. Membran fosfolipitlerinden sitozolik cPLA₂ tarafından sentezlenen AA, köprü görevi yapan membran bağlı FLAP aracılığı ile, 5-LO enzime taşınır ve LT biyosentezi gerçekleşir. Bunlara ek olarak Mg^{2+} , ATP, gliseritler veya fosfolipitler, lipitidroperoksitler gibi faktörler de 5-LO aktivitesini stimüle edebilirler [19].

2.5. MAPEG Süper Ailesi

Membran bağlı glutasyon ve eikozanoid metabolizmasında rol alan protein (MAPEG) ailesi iki katlı lipid katmanında lipofilik substratlar üzerine etki ettiği bilinen integral membran enzim ailesinden oluşur [20, 21]. MAPEG ailesi üyeleri, oksidatif strese karşı koruyucu olarak ksenobiyotik detoksifikasyonunun ve

¹ N-terminal β -sandviç bölgesi gri, katalitik bölge açık gri, belirgin kavisli heliks mavi, heliks α 2 kırmızı ve demir turuncu renk ile gösterilmiştir.

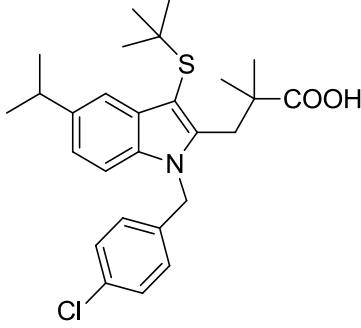
ayrıca AA kaynaklı mediyatörlerin oluşumunda rol oynayan enzimlerdir [22-24]. Tanımlanmış MAPEG ailesi üyelerinin çoğu glutatyon transferaz veya glutatyon-bağlı peroksidaz reaksiyonlarını katalizler.

Veritabanı ve genom taraması sonucunda toplamda 136 proteinin MAPEG süper ailesine ait olduğu tespit edilmiştir. Bu proteinler, prokaryot ve ökaryotlarda bulunurken arkebakterilerde bulunmamaktadır. Ökaryottaki proteinler beşinin enzimatik aktivite gösterdiği bilinen altı tane MAPEG süper aile üyesi başlığı altında toplanabilir [20]. Bu ailenin ilk üç üyesi AA kaynaklı mediyatör ürünleri oluşturan lökotrien C₄ sentaz (LTC₄S), mikrozomal prostaglandin E sentaz 1 (mPGES-1) ve FLAP'tır. LTC₄S astım hastalığına sebep olan CysLT'lerin oluşumunu katalizler [24, 25]. AA'nın siklooksijenaz (COX) yolağından oluşan mPGES-1 enflamasyon, ateş ve ağrıya sebep olan prostaglandinlerin sentezlenmesine neden olan mediyatördür. Enzimatik aktiviteden yoksun olan MAPEG üyesi FLAP, 5-LO'yu aktive eder ve AA'in 5-LO'a transferini sağlar [26]. Diğer MAPEG üyeleri mikrozomal glutatyon S-transferaz (mGST) 1-3'tür. mGST₁ oksidatif stres ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda rol oynar [27, 28]. mGST₂ ve mGST₃'ün *in vivo* fonksiyonları daha tam olarak anlaşılamamıştır.

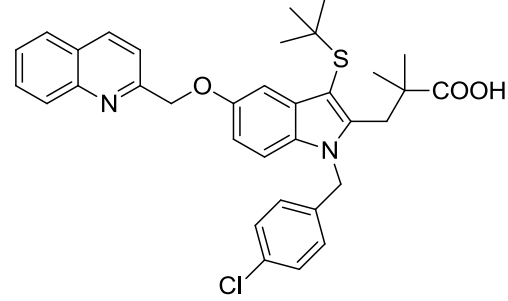
2.6. 5-LO Aktive Edici Protein (FLAP)

MAPEG süper aile üyesi olan FLAP, bu ailenin diğer üyelerinden farklı olarak glutatyonla bağlanmayan ve enzimatik aktivite göstermeyen integral membran proteindir. FLAP, Merck araştırmacıları tarafından MK-886 (1) kodlu bileşiğin etki mekanizması çalışmaları esnasında keşfedilmiştir. FLAP'ı bloke ederek 5-LO ile etkileşiminin önüne geçer [29-31]. FLAP, hem AA için hem de 5-LO için membran bağlanma noktası görevini yerine getirir [29]. FLAP'ın 5-LO'yu nasıl aktive ettiği tam olarak anlaşılamasa da, aralarında fiziksel bir etkileşim olduğu fikri hakimdir [32]. FLAP'ın LT ürünleri üzerindeki rolünü ve inhibitörlerin FLAP'ın fonksiyonlarını nasıl düzenlediğini anlamak için FLAP'ın iki LT biyosentez inhibitörüyle yaptığı kompleksin yapısı X-ışını kristallografisi ile aydınlatılmıştır. FLAP'nin MK-591 (quiflapon, 2) ve iyotlu analogu ile yaptığı kompleksin kristal yapısı 4,0 Å ve 4,2 Å çözünürlükte açıklanmıştır [33]. Bu sonuçlara göre inhibitör, FLAP'ın membrana gömülü aktif bölgesine bağlanmak suretiyle AA ile olan

etkileşimini engelleyerek ve 5-LO'ya transferini durdurarak LT biyosentezini inhibe etmektedir.



MK-886 (1)



MK-591 (2)

2.7. Antilökotrien İlaçlar

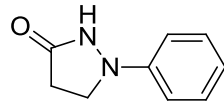
Araştırmacılar LT biyosentezini inhibe ederek doğrudan LT oluşumunu önleyen enzim inhibitörleri veya oluşan LT'lerin reseptöre bağlanmasını engelleyen reseptör antagonistleri üzerinde çalışmaktadır. İnhibitörler LT biyosentezi inhibisyonunu, doğrudan 5-LO enziminin aktif bölgesine veya FLAP'a bağlanarak gerçekleştirmektedir. Bu sayede, LTB₄ ve CysLT'lerin sentezinin inhibisyonu tek seferde gerçekleşmektedir. Reseptör antagonistleri ise belirli reseptörlere özgüdür ve bu şekilde seçicilik sağlanmış olmaktadır. Antilökotrien ilaçlar 5-LO inhibitörleri, FLAP inhibitörleri ve LT reseptör antagonistleri olmak üzere üç başlık altında incelenebilir.

2.7.1. 5-LO inhibitörleri

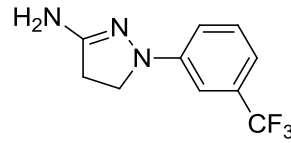
LT biyosentezini engellemek için oluşturulan stratejiler arasında önemli yer tutan direkt 5-LO inhibitörlerini kendi içinde redoks aktif bileşikler, demir ligand inhibitörleri ve redoks aktif olmayan bileşikler olmak üzere üç başlık altında inceleyebilmek mümkündür [34-37].

Redoks aktif inhibitörler, demir atomunu (2+) değerliğinde tutarak katalitik döngüye katılmasını engeller ve böylelikle LT inhibisyonunu gerçekleştirmiş olurlar. Bu sınıf inhibitörler *in vitro* olarak 5-LO ürün oluşumunu

inhibe etmekte oldukça başarılı olmalarına rağmen oral kullanım açısından uygun bulunmamıştır. Bunun yanında, diğer biyolojik redoks sistemleri ile etkileşimleri ve reaktif radikal ürünler oluşturabildikleri için ciddi yan etkilere sahiptirler [13]. Fenidon (3) ve BW-755C (4) kodlu bileşikler bu sınıfa örnek olarak gösterilebilir. Bu bileşikler bahsi geçen yan etkilerin yanı sıra 5-LO'ya karşı zayıf selektivite göstermektedir [38].

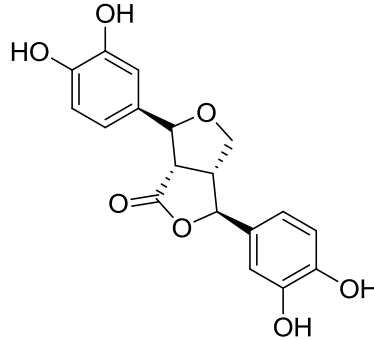


Fenidon (3)



BW-755C (4)

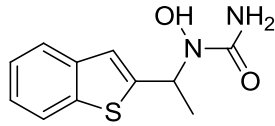
Bu sınıfın diğer bir üyesi polifenolik (+)-3,4,3',4'-tetrahidroksi-9,7' α -epoksilignan-7 α ,9'-laktonda (5) bulunan orto-difenolik yapı aktiviteden sorumlu tutulmaktadır. Bununla beraber bu bileşik AA yolağında 5-LO, 15-LO, COX-1/2'yi de kapsayan birçok enzimi düşük mikromolar konsantrasyonlarda inhibe etmektedir [39].



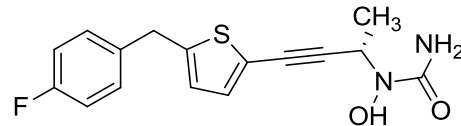
(5)

N-hidroksiüre türevi olan demir ligand inhibitörleri, demir iyonunu ferröz formunda stabilize ederek veya merkezi demir atomuyla kelat yaparak 5-LO aktivitesini önlerler. Bu bileşikler, enzim aktif bölgesinde bulunan demir atomu ile kelat yapabilecek güçlü ligand gruplarıdır. Bu gruptan akut ve kronik solunum yolları fonksiyonlarındaki bozuklukların tedavisinde kullanılmak üzere, (\pm)-[1-(1-benzo[b]-tiyofen-2-il)etil]-1-hidroksiüre (zileuton, 6) 1996 yılında piyasaya sürülen ilk ve tek 5-LO inhibitörüdür [40]. Ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklar için

Faz II klinik çalışmalarını tamamlamış olan atreleutonun (7), bronkospazm hayvan modellerinde yarı ömrü onaltı saattir ve zileutondan beş kat daha aktif olduğu bulunmuştur [41, 42]. Ayrıca astımlı hastalarda egzersiz sonucu oluşan bronkokonstriksiyonda etkilidir [43].

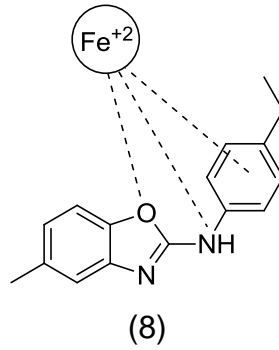


Zileuton (6)



Atreleuton (7)

Astım tedavisi için yeni bileşiklerin bulunması amacıyla benzokzasol türevi bileşikler sentezlenmiş ve bu bileşiklerin demirle kelat yapma afinitesi üzerinde çalışılmıştır. Ortaya çıkan sonuçlara göre aromatik halkadaki sübstitüentlerin konumları 5-LO inhibisyonunu doğrudan etkilemektedir. Orto-konumunda etil sübstitüenti ile IC_{50} değeri 5,66 μM iken sübstitüent para konumuna kaydırıldığında 5-LO IC_{50} değeri 0,12 μM olan daha etkili bir bileşiğe (8) ulaşıldığı görülmüştür [44].

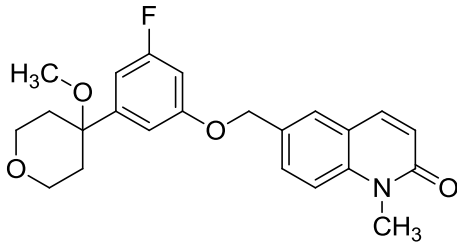


(8)

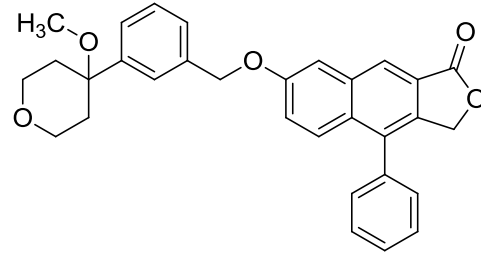
İlk iki sınıf inhibitörlerin yan etkilere ve biyoyararlanım problemlerine sahip olması üçüncü bir sınıf olan redoks aktif olmayan 5-LO inhibitörlerinin geliştirilmesine olan ihtiyacı artırmıştır [45]. Bu sınıftaki inhibitörler, AA ile yarışmalı olarak 5-LO'nun aktif bölgesine bağlanır ve inhibisyonu gerçekleştirir [13].

Bu alanda son yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde, oral aktif 5-LO enzim inhibitörü ZD-2138 (9) kodlu bileşik çeşitli *ex vivo* ve *in vitro* deneylerde yüksek aktivite göstermesine rağmen, kronik enflamasyon bölgesinde aynı etkiyi gösterememiştir [46, 47]. Bunun üzerine, biyoyararlanımı artırmak için küçük

modifikasyonlarla insan polimorfonükleer lökosit (PMNL) hücresinde 1,5 nM IC₅₀ değerine sahip L-697,198 (10) kodlu bileşik keşfedilmiştir [48].

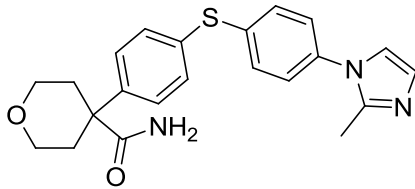


ZD-2138 (9)

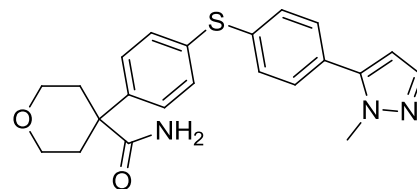


L-697,198 (10)

Pfizer grubu, L-697,198 bileşiğinin dihidrokinolinon, metoksi ve eter gruplarını sırasıyla imidazolifenil, karboksamit ve tiyoeter gruplarıyla yer değiştirerek insan tam kanında IC₅₀ değeri 230 nM olan CJ-13,610 (11) bileşiğini geliştirmişlerdir [49]. Aynı grup CJ-13,610 üzerinde faz I çalışmaları yapmış ve bu bileşiğin geliştirilmesi sonucunda PF-4191834 (12) kodlu bileşiğe ulaşmıştır. PF-4191834'ün astım tedavisinde faz II çalışmaları tamamlanmıştır [50, 51].

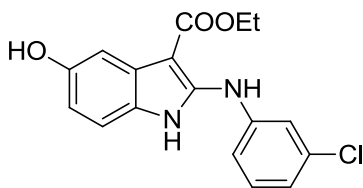
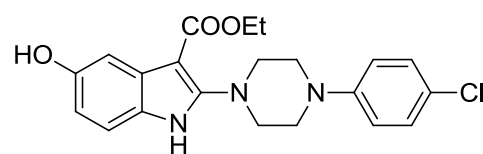


CJ-13,610 (11)

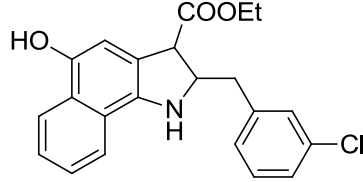


PF-4191834 (12)

Landwehr ve ekibi tarafından geliştirilen 2-amino-5-hidroksiindol türevleri (13, 14), insan rekombinant 5-LO ve insan PMNL hücrelerinde güçlü 5-LO inhibitör etki göstermiştir. Bu inhibisyondan 5-hidroksiindol grubunun ikinci konumundaki aril/ariletilamino veya arilpiperazin-1-il gruplarının sorumlu olduğu belirtilmiştir. Ayrıca 5-hidroksiindol ana iskeletinin antioksidan etkiye sahip olduğu ve 5-LO enzimine bağlanma gücünü artırdığı bildirilmiştir [52].

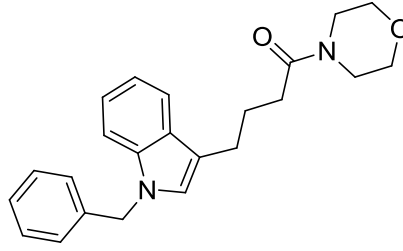
(13) IC₅₀=0,3 µM(14) IC₅₀=2,3 µM

Aynı grubun süre gelen çalışmalarında bulunan 15 kodlu bileşik rekombinant 5-LO ve insan nötrofillerinde sırasıyla 0,086 μM ve 0,23 μM 'lık IC_{50} değerleri ile inhibitör etki göstermiştir [53].

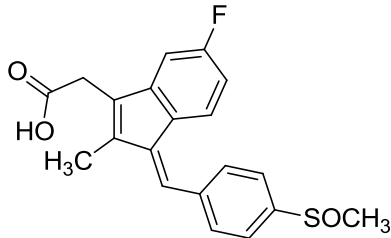


(15)

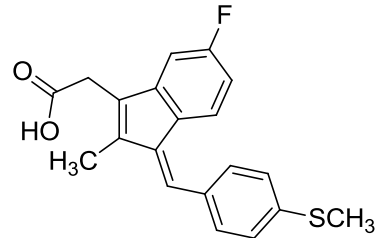
Bir diğer indol türevi çalışmasını Zheng ve ekibi gerçekleştirmiş olup, sıçan peritoneal lökositleri üzerinde 0,85 μM IC_{50} değerine sahip bileşik olan 4-(1-benzil-1*H*-indol-3-il)-1-morfolinobütan-1-on (16) molekülünü geliştirmişlerdir [54].

(16) $\text{IC}_{50}=0,85 \mu\text{M}$

Steinbrink ve arkadaşları nonselektif COX inhibitörü sulindakın (17) aktif metaboliti olan sulindak sülfid (18) üzerinde çalışmışlar ve bu bileşiğin PMNL hücrelerde 9 μM ve tam kanda 18,7 μM 'lık IC_{50} değerleri ile 5-LO'yu inhibe ettiğini belirtmişlerdir [55].

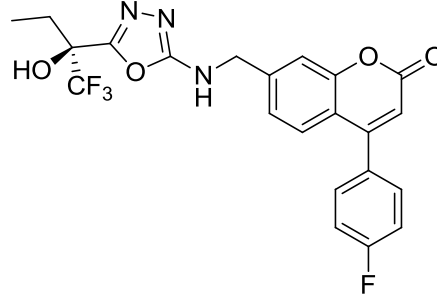


Sulindak (17)



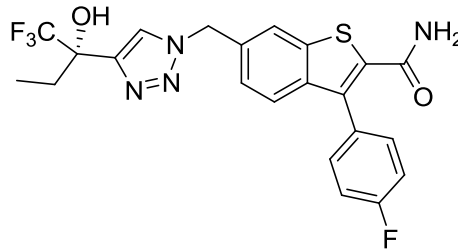
Sulindak sülfid (18)

Merck grubunun gerçekleştirdiği araştırmalar sonucunda, kromenon türevi selektif 5-LO inhibitörü setileutona (MK-0633, 19) ulaşılmıştır. Setileutonun 12-LO, 15-LO ve FLAP'a karşı aktivite göstermediği, 5-LO'yu 3,9 nM'lık IC₅₀ değeri ile inhibe ettiği, ayrıca (*R*) izomerinin daha az aktif olduğu bildirilmiştir [56].



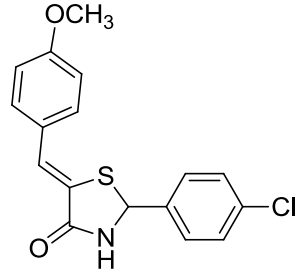
Setileuton (19)

Merck grubunun bir diğer araştırmasında selektif 5-LO inhibitörü benzotiyofen türevi MK-5286 (20) geliştirilmiştir. MK-5286'nın 12-LO, 15-LO ve FLAP'a karşı aktivite göstermezken, insan tam kanında 5-LO'yu 21 nM IC₅₀ değeri ile inhibe ettiği, ayrıca MK-5286'nın (*R*) izomerinin sekiz kat daha az aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir [57].



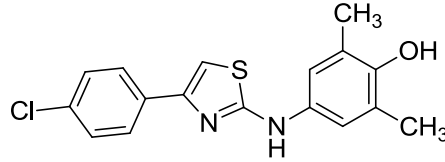
MK-5286 (20)

Hoffman ve arkadaşları sanal tarama ile buldukları tiyazolinon yapısını öncü bileşik olarak alıp yapı etki ilişkisi çalışması yürütmüş ve bu çalışmalar sonucunda *in vivo* ve *in vitro* ortamlarda sırasıyla 0,28 μ M ve 0,09 μ M'lık IC₅₀ değerine sahip bileşiğe ulaşılmıştır (21). Ayrıca ikinci konumdaki fenil grubu alifatik siklik amin veya azot taşıyan zincirle değiştirildiğinde aktivitenin kaybolduğu ve beşinci konumdaki benziliden kısmına değişik sübtitüsyonların aktiviteye herhangi bir katkı getirmediği bildirilmiştir [14, 58].



(21)
In vivo IC₅₀=0,28 µM
In vitro IC₅₀=0,09 µM

Suh ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği çalışmada, bazı tiyazol türevleri ile *in vitro* ve *in vivo* deneyler gerçekleştirmişler ve sonuçlara göre bazılarının doğrudan 5-LO inhibisyonu gösterdiği bildirilmiştir. Ortaya çıkan yapı etki ilişkileri sonuçlarına göre *N*-aril kısmının ikinci ve dördüncü konumlarına hidroksil veya amin gruplarının inhibisyon için gerekli olduğu, 4-aril kısmının ise farklı süstitüsyonlara açık olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda IC₅₀ değeri 25 nM olan tiyazol türevi bileşik (22) bulunmuştur [59].

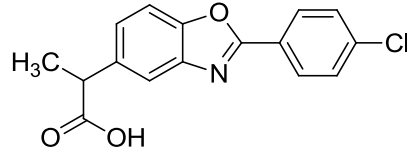


(22) IC₅₀=25 nM

COX/5-LO dual inhibitörleri

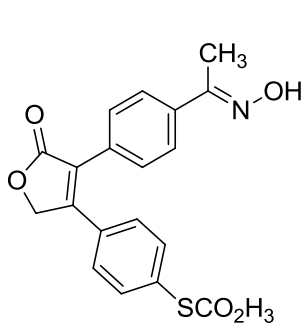
Klasik NSAE ilaçlar ve selektif COX-2 inhibitörler etkilerini enflamasyon durumunda prostaglandin üretimini azaltarak göstermektedirler. LT'lerin enflamatuvar özellikleri göz önüne alındığında COX/5-LO enzimatik yolların her ikisini inhibe eden bileşiklerin daha iyi antienflamatuvar etkinliğe sahip olacağı ayrıca LT'lerin gastrointestinal mukozadaki yan etkileri nedeniyle dual inhibisyonun gastrointestinal güvenilirliği artıracığı düşünülmüştür [60-63]. Bu iki avantajın yanında COX-1, COX-2 ve 5-LO enzimlerinin birlikte inhibisyonunun, platelet Tromboksan A₂ (TXA₂) oluşumunu, vasküler enflamasyonu ve lökositlerin enflamatuvar özelliklerini önlemesi sonucu kardiyoprotektif etki sağlayabileceği de düşünülmektedir [64]. Tüm bunlar göz önüne alındığında dual inhibisyon umut verici bir hedef konumundadır. Bu hedefe ilk adım otuz yıl önce COX/5-LO inhibitör etkili bileşik olan benoksaprofen (23) piyasaya sürülerek atılmıştır. Klasik

NSAE ilaçlarla kıyaslandığında daha iyi gastrointestinal güvenilirliğe sahip olduğu görülen bileşik hepatotoksik etkisi ve ışığa duyarlılığa bağlı yan etkileri nedeniyle piyasadan çekilmiştir [65].



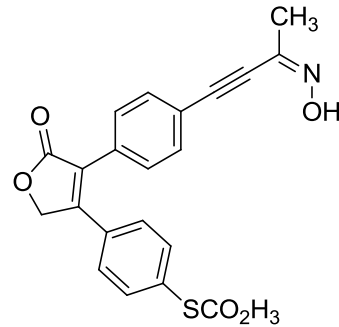
Benoksaprofen (23)

Selektif COX-2 inhibitörü olan rofekoksibe 5-LO inhibitörlerinde bulunan oksim veya *N*-hidroksiüre grupları eklenerek geliştirilen bileşiklerin (24, 25) *in vitro* ve *in vivo* deneylerde enzim inhibisyonu ve antienflamatuvar analjezik etkileri test edilmiş ve çıkan sonuçlara göre COX-2/5-LO dual aktivite gösterdikleri bildirilmiştir [66].



(24)

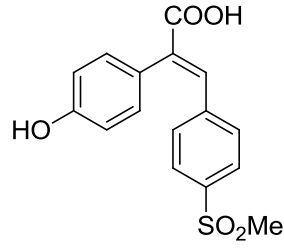
COX-2 : IC₅₀ 1,4 µM
5-LO : IC₅₀=0,28 µM



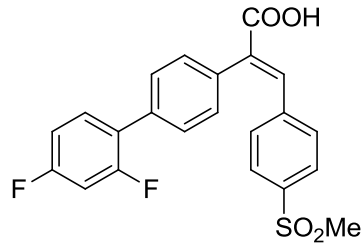
(25)

COX-2 : IC₅₀=2,7 µM
5-LO : IC₅₀=0,30 µM

Moreau ve arkadaşları karboksil grubu taşıyan asiklik rofekoksib analoglarını sentezlemiş (26, 27) ve *in vitro*, *in vivo* deneylerde enzim inhibisyonu ve antienflamatuvar analjezik etkilerini göstermişlerdir [67].

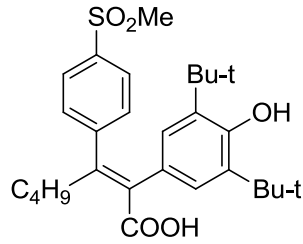


(26)
COX-2 : IC₅₀=5,3 µM
5-LO : IC₅₀=0,56 µM



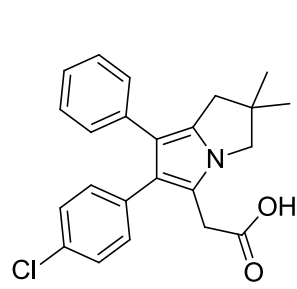
(27)
COX-2 : IC₅₀=0,32 µM
5-LO : IC₅₀=3,1 µM

Moreau ve arkadaşları tarafından yürütülmüş bir diğer çalışmada COX-2 selektif inhibitör etkiye sahip (*Z*)-olefin yapısına di-ter-bütilfenol farmakoforu yerleştirerek her iki enzimde de düşük seviyede IC₅₀ değerine sahip bileşik (28) elde edilmiştir [68].

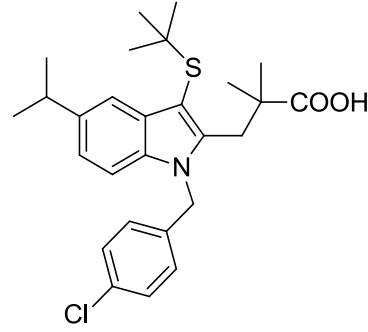


(28)
COX-2 : IC₅₀=0,36 µM
5-LO : IC₅₀=0,30 µM

Laufer ve ekibi tarafından geliştirilen diarilpirazol yapısındaki likofelon mikromolar ve daha düşük düzeyde etki gösteren COX/5-LO dual inhibisyon etkiye sahip bir ilaçtır [69, 70]. Ayrıca bu ilaç FLAP, COX-1 ve mPGES-1 enzimlerini de inhibe etmektedir. FLAP/mPGES-1 inhibitörü olan MK-886'ya (1) yapısal olarak oldukça benzer olması bu durumu destekler niteliktedir [71-73]. Likofelon konusunda ortaya konulan sonuçlar, NSAİ ilaçlara göre daha yüksek gastrik toleransa sahip ve sağlıklı gönüllülerde daha az ülsere neden olduğunu göstermiştir [74].



Likofelon (29)

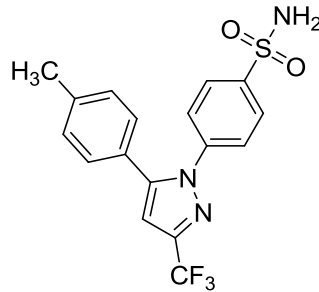


MK-886 (1)

COX-2 : $IC_{50}=0,16 \mu M$

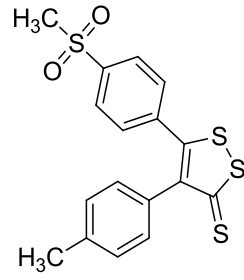
5-LO : $IC_{50}=0,23 \mu M$

Selektif COX-2 inhibitörü olan selekoksibin (30) 5-LO'yu inhibe ettiği kanıtlanmış ve COX/5-LO dual inhibitörü olarak kategorize edilmiştir. Selekoksib insan nötrofillerinde ($IC_{50}=8 \mu M$), insan tam kan deneyinde ($IC_{50}=27,3 \mu M$) ve saf insan 5-LO deneyinde ($IC_{50}=23-25 \mu M$), 5-LO'yu doğrudan inhibe ederek etki göstermiştir. Bununla beraber, diğer COX-2 inhibitörleri olan refokoksib ve diklofenak 5-LO inhibisyonunda etkisiz bulunmuştur [75, 76].



Selekoksib (30)

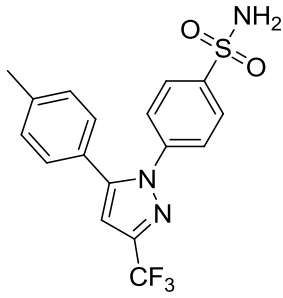
Selekoksibe yapısal olarak benzer diaril-ditiyolan türevlerinin (31) dual inhibitör potansiyeli araştırılmış ve COX/5-LO dual inhibitör etki gösterdiği kanıtlanmıştır [77].



(31)

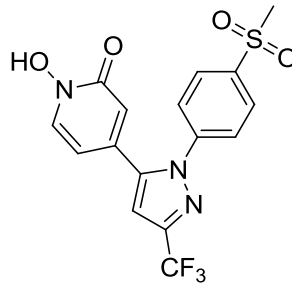
COX-1 : IC₅₀=7 µM
 COX-2 : IC₅₀=9 µM
 5-LO : IC₅₀=9 µM

Aktif bölgede demirle kelat yapma özelliği olan hidroksamik asit mimetikleri *N*-hidroksipiridin-2(*H*)-on (32) veya *N*-diflorometil-1,2-dihidropiridin-2-on (33) yeni farmakoforlar olarak belirlenerek aktiviteleri araştırılmıştır. Sonuç olarak dual COX/5-LO etkili, IC₅₀ değeri ve oral antienflamatuvar aktiviteleri selekoksib ile kıyaslanabilir inhibitörler geliştirilmiştir [78-80].



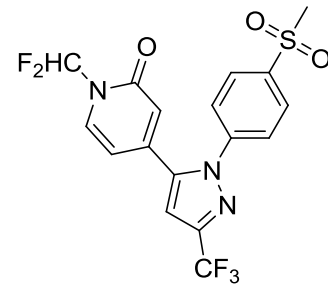
Selekoksib (30)

COX-1 : IC₅₀=7,7 µM
 COX-2 : IC₅₀=0,12 µM



(32)

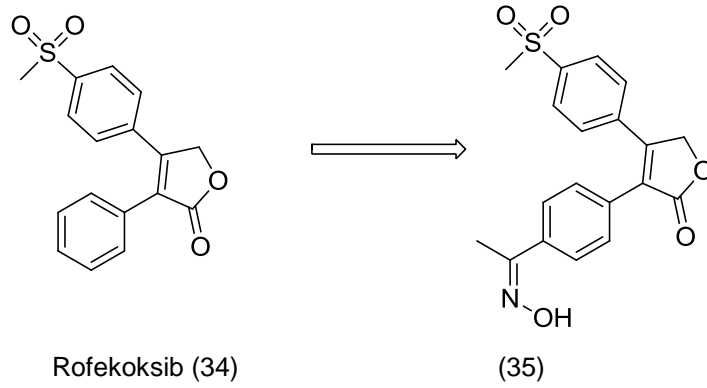
COX-1 : IC₅₀=13,2 µM
 COX-2 : IC₅₀=7,5 µM
 5-LO : IC₅₀=0,35 µM



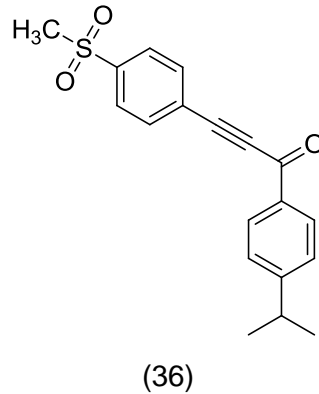
(33)

COX-1 : IC₅₀=7,8 µM
 COX-2 : IC₅₀=1,82 µM
 5-LO : IC₅₀=4,4 µM

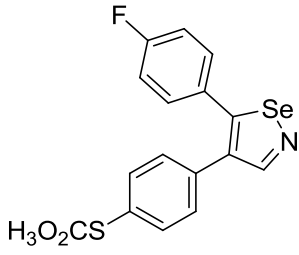
Başka bir çalışmada yeni rofekoksib (34) türevleri COX/5-LO inhibitörü olarak sentezlenmiştir. Furanon halkasının üçüncü konumunda bulunan fenil grubunun para konumuna oksim yapısı eklenerek COX-2 ve 5-LO enzimlerine karşı sırasıyla 1,4 µM ve 0,28 µM IC₅₀ değerlerine sahip yeni bir bileşik (35) geliştirilmiştir [66].



Dual etkili bileşikler elde etmek amacıyla tasarlanan 1,3-diaril-2-propinon yapısı taşıyan bileşikler (36) için etkilili sonuçlara ulaşılmıştır. (COX-1 $IC_{50}=9,2 \mu M$; COX-2 $IC_{50}=0,32 \mu M$; 5-LO $IC_{50}=0,32 \mu M$; 15-LO $IC_{50}=0,36 \mu M$). ED_{50} değeri ($ED_{50}=35 \text{ mg/kg}$) selekoksible kıyaslandığında, sonuçlar selekoksibin daha etkili antienflamatuvar etkiye sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır (Selekoksib $ED_{50}=10,8 \text{ mg/kg}$) [81].

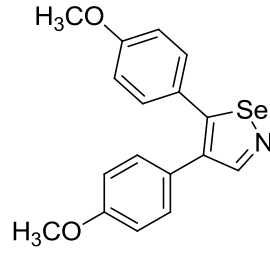


Scholz ve arkadaşları antioksidan etkili ebselenin (37) karakteristik yapısı ile diaril heterosiklik halka grubunu birleştirmiş ve dual inhibisyona sahip 4,5-diarilizoselenazol türevlerini (38, 39) geliştirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada geliştirilen türevleri selekoksib ve likofelonla kıyaslamışlardır. Bu bileşiklerden metoksi grubu taşıyan türev selekoksibe göre daha zayıf COX-2 aktivitesi gösterirken COX-1 aktivitesi selekoksibe göre daha güçlüdür. 5-LO aktivitesi likofelon ile kıyaslandığında ise daha düşük inhibisyon değeri elde edildiği bildirmiştir. Flor ve sülfonilmetil grubu taşıyan türevinin ise COX-2 ve 5-LO inhibitör etkisinin yanında zayıf hidroksil radikali süpürücü etkisinden de bahsedilmiştir [82].



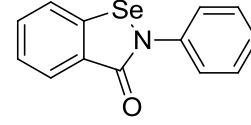
(38)

COX-1 : % inhibisyon=38
 COX-2 : IC₅₀=0,6 µM
 5-LO : % inhibisyon=60



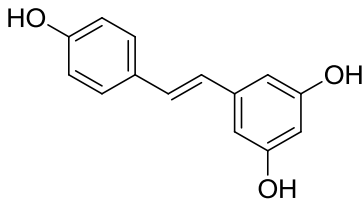
(39)

COX-1 : IC₅₀=0,006 µM
 COX-2 : IC₅₀=8 µM
 5-LO : % inhibisyon=58

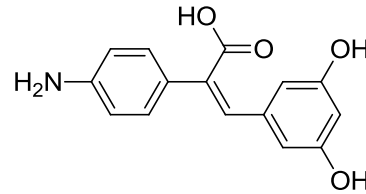
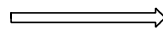


Ebselen (37)

Xu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada benzer strateji kullanılarak resveratrol (40) ve propanoik asit yapıları birleştirilmiş ve 2-(4-aminofenil)-3-(3,5-dihidroksifenil)propanoik asit (41) geliştirilmiştir. Bu bileşik COX (COX-1 IC₅₀=2,2 µM, COX-2 IC₅₀=1,8 µM) ve 5-LO (IC₅₀=0,28 µM) enzimlerini dual olarak inhibe ederken ayrıca akciğer epitelyal permeabilitesinin arttığı akciğer enflamasyonunda bu enzimlerin oluşumunu azaltmıştır. Bu bileşik artmış gastrik koruma profiliyle birlikte *in vivo* antienflamatuvar ve analjezik etki göstermiştir [83].

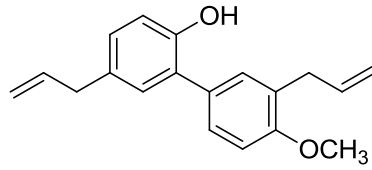


Resveratrol (40)



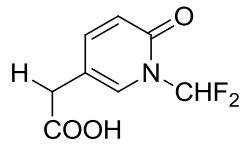
(41)

Farelerde akciğer zarı enflamasyon modelinde yapılan çalışmalarda antienflamatuvar etki gösterdiği tespit edilen honokiolun bir hidroksil grubunun metoksi ile değiştirilerek elde edilen metilhonokiolun (42) COX-1/2 ve 5-LO inhibisyonu gösterdiği kanıtlanmıştır. Bunun yanında yapı etki ilişkisi çözümlenerek bifenil yapısında yer alan metoksi ve hidroksil gruplarının ve apolar yan zincirlerin orta uzunlukta olma gerekliliğinin COX inhibisyonu açısından önemi vurgulanmıştır [84].



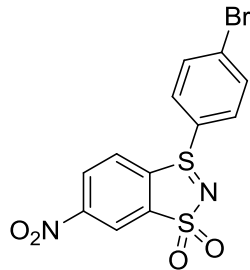
Metilhonokiol (42)
 COX-1 : IC₅₀=0,1 µM
 COX-2 : IC₅₀=0,06 µM
 5-LO : IC₅₀=1,5 µM

Knaus ve ekibinin gerçekleştirdiği çalışmada, *N*-diflorometil-1,2-dihidropiridin-2-on halka sistemi asetik asit ve propanoik asitle kaynaştırılarak COX-2/5-LO dual inhibisyon aktivitesi gösteren bir türev (43) elde etmişlerdir [85].

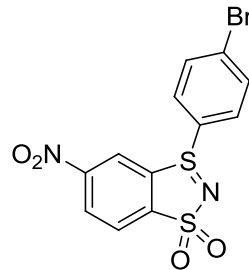


(43)
 COX-1 : IC₅₀=7,9 µM
 COX-2 : IC₅₀=1,3 µM
 5-LO : IC₅₀=0,46 µM

Chiung-Hua Huang ve ekibi tarafından benzo[1.3.2]ditiyazolyum yilür yapısı temel alınarak COX/LO dual inhibisyonu yapan iki yeni bileşiğe (44, 45) ulaşılmış ve bileşiklerin fare makrofajlarında COX-1, COX-2 ve 5-LO enzimlerine karşı IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır [86].



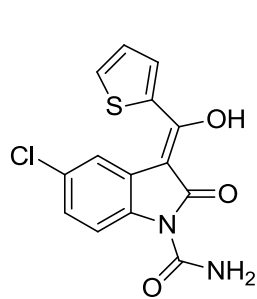
(44)
 COX-1 : IC₅₀=2,1 µM
 COX-2 : IC₅₀=4,4 µM
 5-LO : IC₅₀=1,22 µM



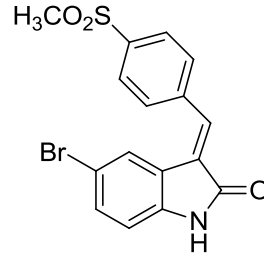
(45)
 COX-1 : IC₅₀=1,5 µM
 COX-2 : IC₅₀=18,1 µM
 5-LO : IC₅₀=0,47 µM

Dual COX/LO inhibitörü tenidap (46), romatoid artrit tedavisinde kullanılmış ancak yapısında bulunan tiyofen grubunun oksidatif metabolizasyonu sonucu böbrek ve karaciğerde toksisiteye sebep olduğu anlaşılarak kısa süre içinde piyasadan çekilmiştir. Bunun üzerine tiyofen halkası değiştirilerek düşük mikromolar düzeyde 5-LO ve COX-1/2 inhibitör etkiye sahip, güçlü antienflamatuvar ve analjezik aktivitesinin yanında iyi gastrik toleransa sahip (*E*)-3-

[4-(amino/metilsülfonil)fenil]metilenindolin-2-on türevi bileşik (47) sentezlenmiştir [87].



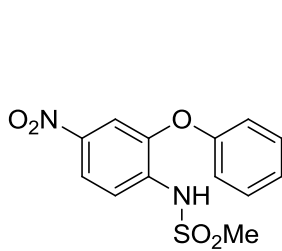
Tenidap (46)



(47)

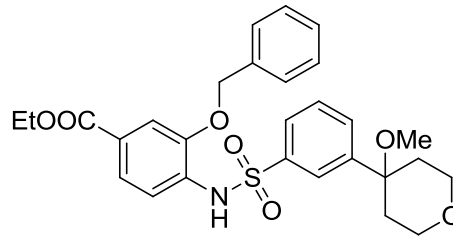
COX-1 : IC₅₀=0,11 µM
COX-2 : IC₅₀=0,10 µM
5-LO : IC₅₀=0,56 µM

5-LO inhibisyonunda etkili olduğu bilinen 4-metoksitetrahidropiran, yapısının selektif COX-2 inhibitörü bir bileşik (48) ile kombinasyonu sonucu elde edilen türevin (49) dual COX/5-LO inhibitör aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir [88].



Nimesulid (48)

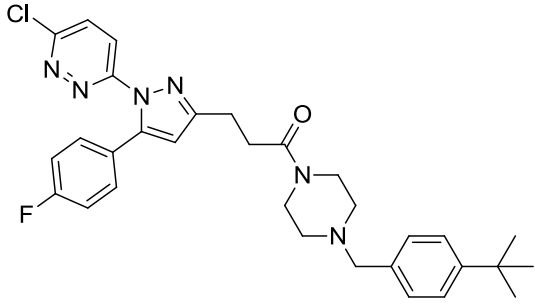
COX-1 : IC₅₀=6,2 µM
COX-2 : IC₅₀=0,4 µM
5-LO : IC₅₀ > 10 µM



(49)

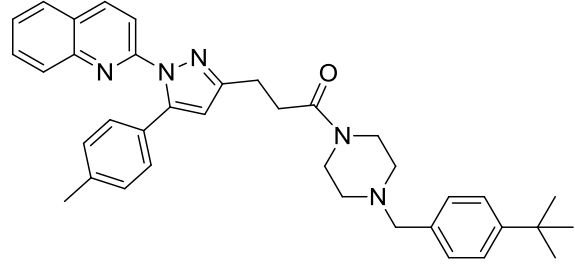
COX-1 : IC₅₀=11,6 µM
COX-2 : IC₅₀=0,97 µM
5-LO : IC₅₀=0,87 µM

1,5-Diarilpirazol-3-propanoik asit iskeleti taşıyan amit ve ester türevleri de LT biyosentezini etkili bir biçimde önlemektedirler. Kloropiridazin yapısı daha lipofilik özellikteki fenil veya kinolin halkalarıyla yer değiştirildiğinde, elde edilen bileşiklerin (50, 51) LT biyosentezi inhibisyonu yanında etkili COX-1 inhibitör aktivitesi de gösterdiği bildirilmiştir [89].



(50)

COX-1 : $IC_{50} > 10 \mu M$
5-LO : $IC_{50} = 3,5 \mu M$



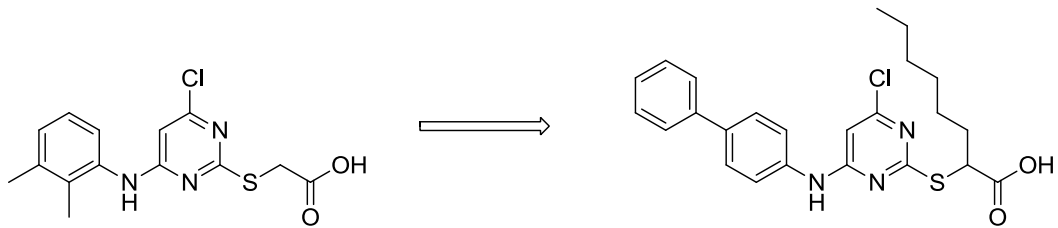
(51)

COX-1 : $IC_{50} = 0,041 \mu M$
5-LO : $IC_{50} = 1,6 \mu M$

mPGES-1 ve 5-LO Dual İnhibitörleri

Doğrudan COX inhibisyonunun gastrointestinal ve kardiyovasküler yan etkilere sebep olduğunun anlaşılmasıyla, COX yolağında spesifik olarak mPGES-1'i inhibe etmenin daha uygun olabileceği düşünülmüş ve mPGES-1/5-LO dual inhibitörleri geliştirme çalışmalarına başlanmıştır [90].

Piriniksik asitin (52) alfa karbonuna alkil sübstitüsyonu ve dimetilbenzen grubunun bifenil grubu ile yer değiştirilmesi sonucu etkili mPGES-1 ve 5-LO aktivitesi gösteren bileşik (53) elde edilmiştir. Bu bileşik COX-1 ve COX-2'yi inhibe etmeden mPGES-1 ve 5-LO inhibisyonu gerçekleştirmiştir [91].

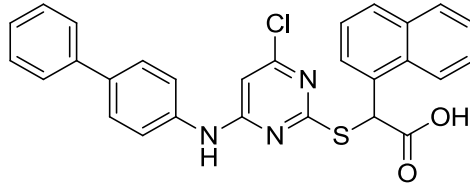


Piriniksik asit (52)

(53)

5-LO : $IC_{50} = 1,1 \mu M$
mPGES-1 : $IC_{50} = 1,3 \mu M$

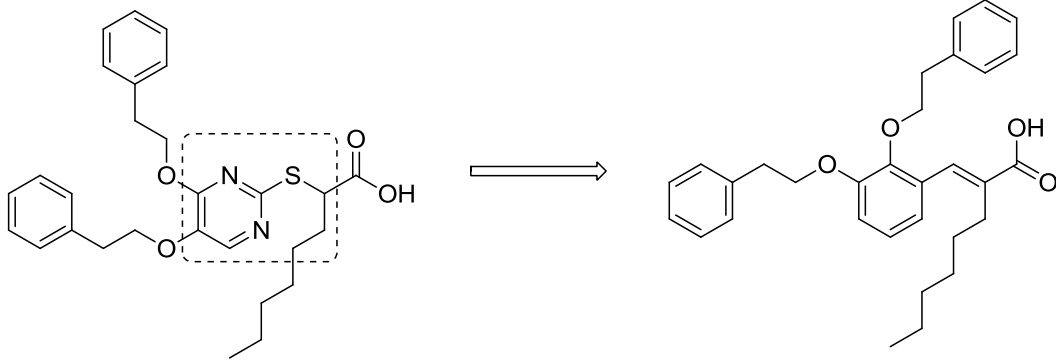
Aynı yapı üzerinde gerçekleştirilen yapı-aktivite ilişkileri çalışmaları sonucunda piriniksik asit türevlerine çeşitli alifatik veya aromatik lipofilik yapılarının eklenmesine karar verilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda ulaşılan bileşik (54), güçlü mPGES-1 ve 5-LO inhibisyonu göstermiştir [92].



(54)

5-LO : IC₅₀=0,1 µMmPGES-1 : IC₅₀=0,94 µM

Aynı araştırma grubu tarafından, 2-[(4,6-difenoksipirimidin-2-il)tiyo]hekzanoik asit yapısı temel alınarak gerçekleştirilen yapı-aktivite ilişkisi çalışmaları sonucunda tiyoeter grubu taşıyan pirimidin halkasında (55) modifikasyonlara gidilmiştir. Elde edilen yeni türevler (56) mPGES-1 ve 5-LO inhibisyonu göstermiştir [36].



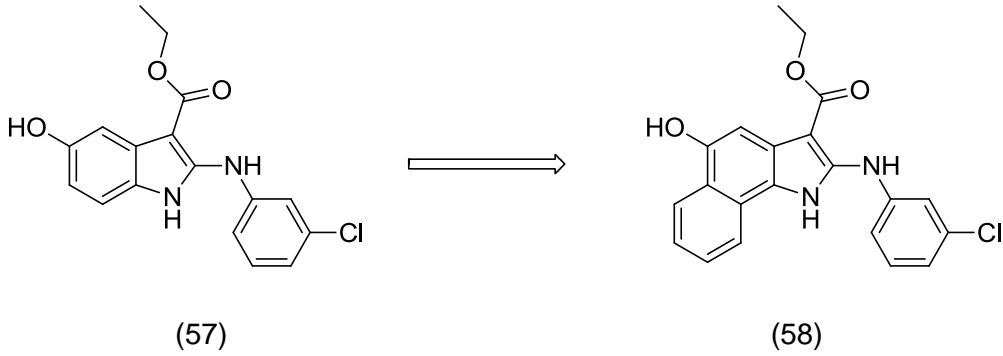
(55)

5-LO : IC₅₀=0,6 µMmPGES-1 : IC₅₀=1,2 µM

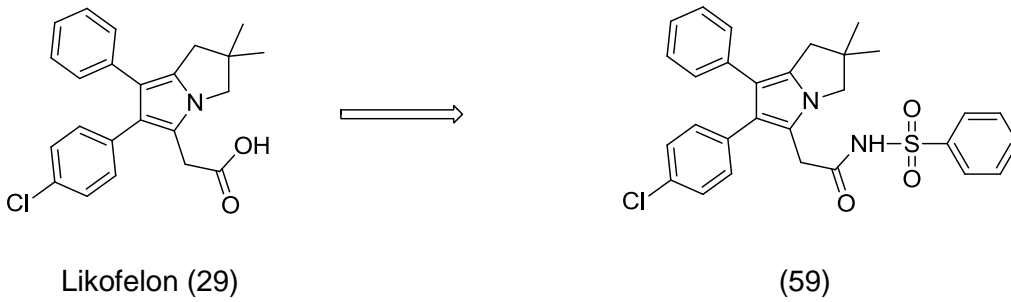
(56)

5-LO : IC₅₀=0,8 µMmPGES-1 : IC₅₀=1,1 µM

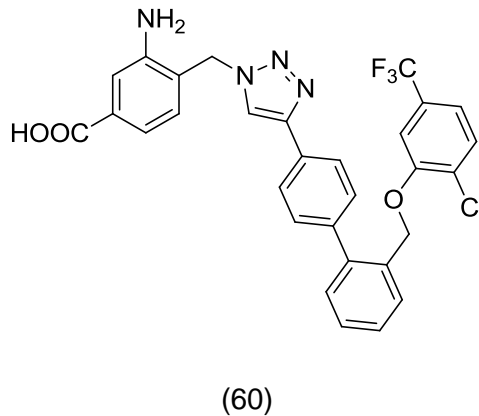
İndol-3-karboksilat türevleri (57) ile gerçekleştirilen başka bir çalışmada indol ana iskeleti benzo[g]indol yapısına (58) dönüştürülerek yeni türevlere ulaşılmıştır [52]. Bu modifikasyon sonucu elde edilen Benzo[g]indol-3-karboksilat yapısındaki bileşiğin insan nötrofillerinde 5-LO ürünlerinin ve izole insan 5-LO enzim inhibisyonu için IC₅₀ değerleri sırasıyla 0,23 ve 0,086 µM'dır. Bu bileşik ayrıca insan tam kanında 5-LO ürün oluşumunu (IC₅₀=0,83-1,6 µM) ve insan mPGES-1'i inhibe etmektedir (IC₅₀=0,6 µM).



Likofelonun (29) yapısında bulunan karboksilik asit grubunun sülfonimit grubuna dönüştürülmesi (59) ile COX inhibitör aktivitesinde azalma ve dual mPGES-1/5-LO inhibisyonu gösterdiği bildirilmiştir. (mPGES-1 $IC_{50}=4,5 \mu M$, 5-LO $IC_{50}=0,25 \mu M$) [93].

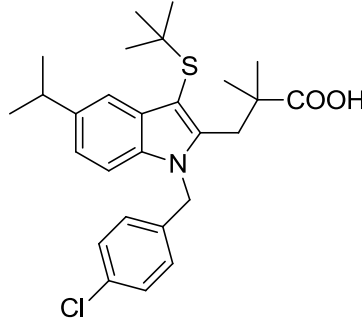


Chini ve arkadaşları, triazol türevleri (60) üzerinde yaptıkları çalışmalar sonucunda, izole mPGES-1 ve 5-LO enzimleri için sırasıyla $0,68 \mu M$ ve $0,9 \mu M$ IC_{50} değerlerine sahip bileşiğe ulaşmışlardır [94].



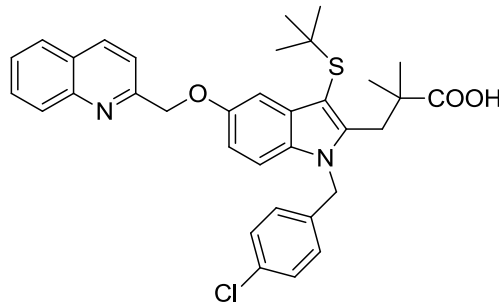
2.7.2. FLAP inhibitörleri

FLAP inhibitörleri, 5-LO ile FLAP etkileşimini engelleyerek LT biyosentezini inhibe ederler. Bu nedenle FLAP inhibitörleri, dolaylı 5-LO inhibitörleri olarak da adlandırılabilir. LT biyosentezi için gerekli olduğunun anlaşılması sonucu FLAP önemli bir hedef haline gelmiştir. FLAP, 5-LO veya fosfolipazla etkileşmeden LT biyosentezini inhibe eden indol sınıfı MK-886'nın geliştirilmesi sürecinde keşfedilmiştir [95]. MK-886'nın (1) etki mekanizmasının aydınlatılması amacıyla yapılan çalışmalarda 5-LO ile etkileşip AA'nın 5-LO'a transferini sağlayan integral membran proteini olan FLAP keşfedilmiştir [96, 97].



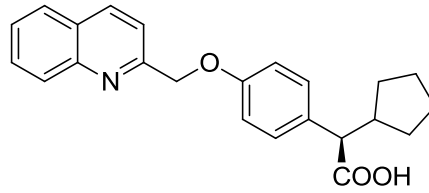
MK-886 (1)

Ferguson ve ekibi tarafından yapılan çalışmada, insan FLAP:MK-591 kompleksinin üç boyutlu yapısı X-ışını kristallografisi yöntemi kullanılarak aydınlatılmış, MK591'in (2) FLAP ile etkileşiminde anahtar bölgelerin kinolin, tersiyer bütül ve benzil grupları olduğu bildirilmiştir. MK-591'in yapısındaki kinolin grubu daha hacimli bir grupla yer değiştirildiğinde FLAP inhibitör etkisinin azaldığı bildirilmiştir. Aktivitedeki bu azalışın sebebi kinolinin bağlanma bölgesinin hacimsel olarak sınırlı bir alana sahip olması ile açıklanmıştır [33, 98].



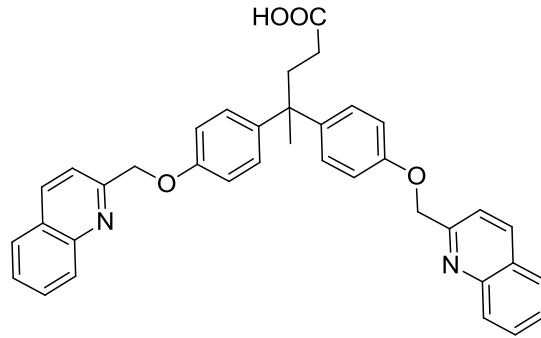
MK-591 (2)

Bayer grubu tarafından geliştirilen FLAP inhibitörü veliflapon (DG 031/BAY X1005, 61) kinolin grubu taşıyan kiral merkeze sahip bir bileşiktir [99]. LT biyosentez inhibitörü olarak (*R*)-enantiyomeri (*S*)-enantiyomerinden daha etkili olarak bulunmuştur. (*R*)-enantiyomerindeki siklopentil grubu ile MK-591'in klorobenzil grubu ve karboksilik asit grupları FLAP aktif bölgesindeki oryantasyonları aynıdır [98]. Bu bileşik miyokardiyal enfarktüs için faz III klinik çalışmalara geçmiş ancak çalışmalar askıya alınmıştır [50].



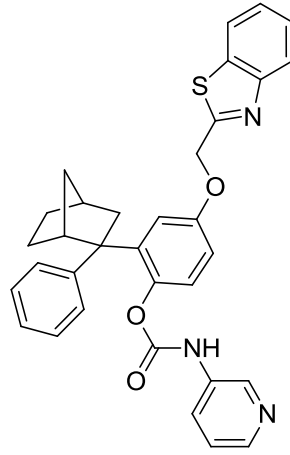
Veliflapon (61)

Abbott grubu 2-kinolilmetoksifenil analogları (MK-591, veliflapon) üzerinde yaptıkları optimizasyon çalışmaları sonucunda simetrik yapıya sahip ABT-080'ne (62) ulaşmıştır. Elde edilen bu FLAP inhibitörünün karboksilik asit grubu FLAP aktif bölgesinde MK-591'in karboksilik asit grubuyla aynı şekilde yönelmiştir [98, 100].



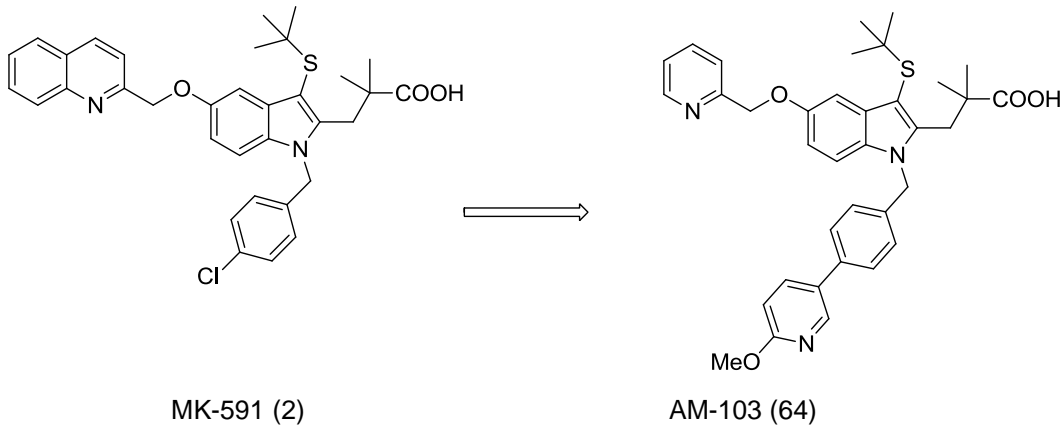
ABT-080 (62)

Merck Frosst grubunun 2,2-bisarilbisikloheptan türevleri ile yaptıkları çalışmada, 2,2-bisarilbisikloheptan-5-benzotiyazolimetoksi-2-piridinil karbamat bileşiğinin (63) güçlü FLAP inhibitör etki gösterdiği bildirilmiştir ($IC_{50}=2,8$ nM) [101].

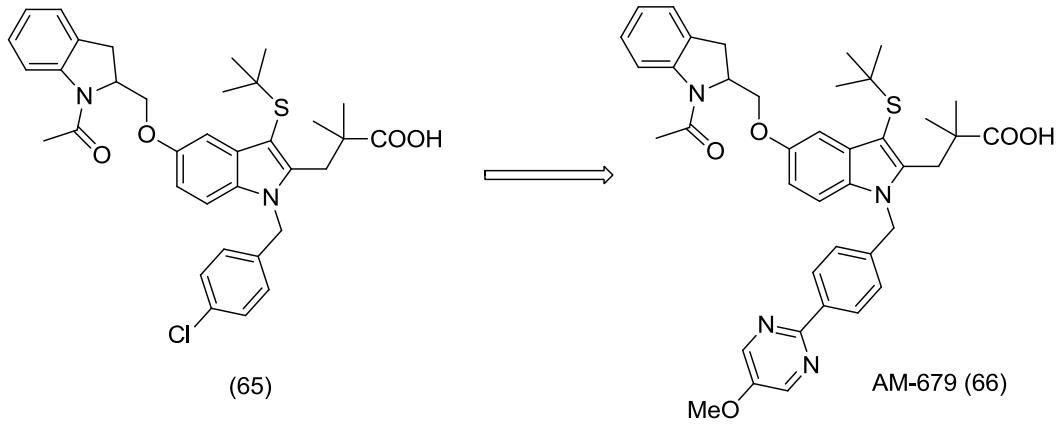


(63)

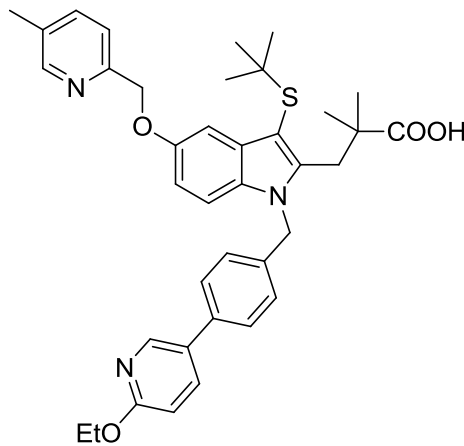
Astım tedavisinde faz II klinik çalışmalara alınan MK-591'in (2) makülopapüler döküntülere neden olduğu belirlenmiştir [102]. Günde iki doz kullanılan ilacı sodyum tuzu olarak elde etme zorluğunun yanında CYP3A4 ve CYP2C9'u inhibe etmesi dezavantaj olarak değerlendirilmiştir. Bunun üzerine günlük tek doz kullanılabilir, çözünürlük problemi olmayan, FLAP'a karşı selektif olan ve daha düşük IC_{50} değerine sahip bileşik geliştirmek için çalışmalara başlanmıştır [103]. MK-886'nın makülopapüler döküntüye neden olmadığı için, bu yan etkinin kinolin grubu kaynaklı olduğuna karar verilmiş ve MK-591 yapısındaki kinolin halkası piridinle yer değiştirilmiştir. Buna ek olarak, geliştirilmiş CYP profili ve daha iyi çözünürlük için moleküle heterosiklik grupların getirilmesine karar verilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda, astım tedavisinde faz II aşamasına alınan AM-103'e (64) ulaşılmıştır. Bu bileşiğin FLAP inhibisyonu için IC_{50} değeri 4,2 nM'dır ve insan tam kan deneyinde LTB_4 oluşumunu $IC_{50}=349$ nM değeri ile inhibe etmektedir. Ayrıca beş ana CYP izoformuna karşı inhibisyon göstermemektedir [104].



Amira grubu, FLAP inhibitörlerine yoğunlaşarak mevcut bileşiklerin zayıf yönlerini iyileştirmek ve daha iyi farmakokinetik parametrelere sahip bileşikler elde etmek için FLAP'a bağlanmada önemli rol oynayan kinolin grubu yerine alisiklik grupların getirilmesine karar vermiştir. Daha sonra CYP inhibisyon aktivitesini azaltmak için klorobenzil substitüenti heteroaromatik biariller ile değiştirilmiştir ve böylece AM-679'un gelişim süreci tamamlanmıştır. İnsan tam kan deneyinde LTB₄ oluşumu inhibisyonu için IC₅₀ değeri 53 nM'dır. MK-591'e göre CYP inhibitör aktivitesi azaldığı ve *in vivo* modellerde etkili LT biyosentez inhibisyonu gösterdiği bildirilmiştir [105].

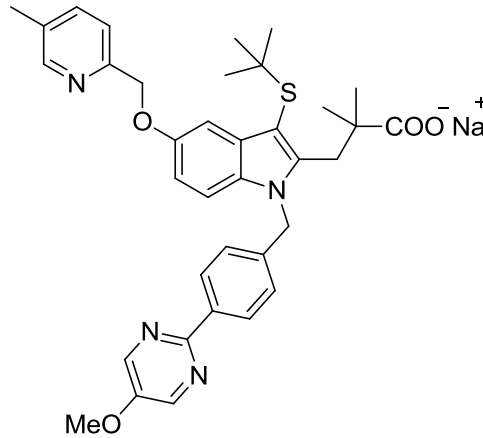


Amira grubunun geliştirdiği bir diğer oral etkili selektif FLAP inhibitörü AM-803'tür (67). Bu bileşiğin sıçan ve fare deneklerinde akut enflamasyon tedavisi için *in vivo* farmakolojik özellikleri incelenmiştir. AM-803 oral uygulandığında (1 mg/kg) LTB₄ biyosentezini 12 saat içinde % 90'dan daha fazla inhibe etmiştir ve FLAP inhibisyonu için IC₅₀ değeri 7 nM olarak hesaplanmıştır [106].



AM-803 (67)

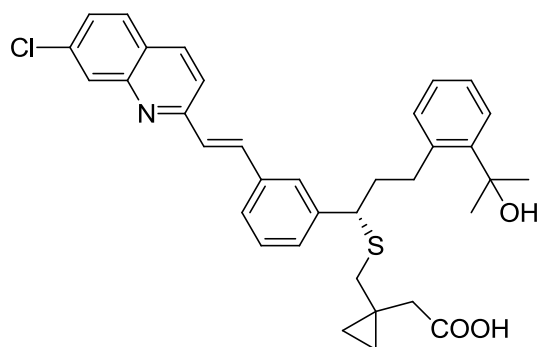
Araştırmalar sonucunda, psöriazis, atopik dermatit, ürtiker gibi deri hastalıklarında LT ürünlerinde anormal artış olduğu gözlenmiştir. Bunun üzerine LTB_4 ve CysLT₁'lerin insanda dermal uygulama sonucu kızarıklık ve kabarma meydana getirdiği görülmüştür. Bu gözlemler, deri hastalıklarında LT'lerin patolojik açıdan önemli bir rolü olduğunu işaret etmektedir [107, 108]. Atopik dermatit tedavisinde zileuton (5-LO inhibitörü) ve montelukast (CysLT₁ antagonisti) faydalı etkiler göstermiştir. Bu sonuçların ardından Amira grubu dermal hastalıkların tedavisinde topikal olarak kullanılabilecek FLAP inhibitörü geliştirmeye başlamış ve sonuçta AM-643 (68) elde edilmiştir. Bu bileşik yüksek konsantrasyonlarda COX-1 ve COX-2 enzimlerini inhibe etmezken, CYP450 inhibisyonu da minimumdur. Ayrıca AM-643'ün diğer FLAP inhibitörlerinden farkı sodyum tuzunun yüksek çözünürlüğüdür ve FLAP inhibisyonu için IC₅₀ değeri 2 nM'dır [109].



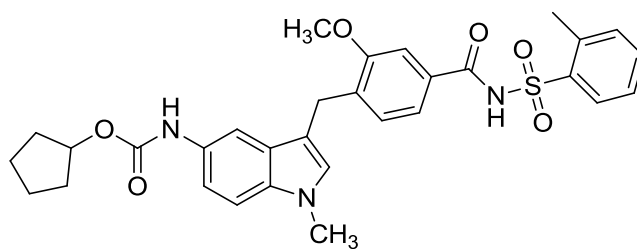
AM-643 (68)

2.7.3. LT reseptör antagonistleri

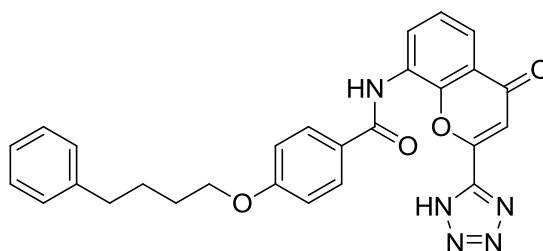
Sisteinil reseptör antagonistleri spesifik olarak CysLT₁ reseptörünü bloke ederler. Çok çeşitli antilökotrien molekül üzerinde çalışılmakla birlikte bugüne kadar sisteinil LT reseptör antagonisti olarak montelukast (69), zafirlukast (70) ve pranlukast (71) astım tedavisi için kullanıma sunulmuştur [110].



Montelukast (69)



Zafirlukast (70)



Pranlukast (71)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kimyasal Çalışmalar

3.1.1. Gereçler

Çalışmada kullanılan çözücüler analitik safliktadır. 4-(Dimetilamino)piridin (DMAP), diizopropiletilamin (DIEA), N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilkarbodiimid hidroklorür (EDC), sodyum sülfat, asetik asit, hidrojen bromür (% 48), 4-metilbenzil bromür, 3-florobenzil bromür, 4-bromobenzil bromür, 2-klorobenzil bromür, 4-metoksibenzil bromür, 4-(t-butil)benzil bromür, 2-metilbenzil bromür, 4-triflorometilbenzil bromür, allil bromür, 4-triflorometoksibenzil bromür, 3,3-dimetilallil bromür, 2-triflorometilbenzil bromür, 1-bromopent-3-in, 3-metilbenzil bromür, 2-kloroetilpiridin hidroklorür, etil α -bromoizobütirat Sigma-Aldrich (Almanya), asetik asit, sodyum bikarbonat, sodyum hidroksit, trietilamin, bütül bromür Merck (Almanya), α -bromo-o-tolunitril, α -bromo-p-tolunitril, metil bromoasetat Across (Belçika)'dan temin edilmiştir.

3.1.2. Benzimidazol türevlerinin genel sentez yöntemi-1

Uygun benzimidazol türevi (0,30 mmol) asetonitril içerisinde çözülüp uygun benzil halojenür türevi (0,45 mmol) ve K_2CO_3 (0,51 mmol) ilave edildi. Reaksiyon karışımı 5 saat geri çeviren soğutucu altında kaynatıldı. Sürenin sonunda reaksiyon içeriği süzülüp çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı.

3.1.3. Benzimidazol türevlerinin genel sentez yöntemi-2

Uygun benzimidazol türevi (0,30 mmol) asetonitril içerisinde çözülüp uygun benzil halojenür türevi (0,45 mmol), K_2CO_3 (0,51 mmol) ve KI (0,09 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı bir gün boyunca geri çeviren soğutucu altında kaynatıldı. Sürenin sonunda reaksiyon içeriği süzülüp çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı.

3.1.4. Katalitik hidrojenasyon

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi bünyesinde bulunan Parr marka hidrojenasyon cihazı ve katalitik miktarda Pd/C kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2. Analitik Çalışmalar

3.2.1. Erime noktası tayini

Bileşiklerin erime noktaları, Schmelzpunkt SMP-II dijital erime noktası cihazı ile tayin edildi ve değerler düzeltilmeden verildi.

3.2.2. İnce tabaka kromatografisi (İTK) ile yapılan kontroller

Kimyasal sentez çalışmalarında ve bileşiklerin saflık kontrollerinde Silikajel 60 F₂₅₄ (Merck) hazır alüminyum plaklar kullanıldı. Çözücü sistemi olarak hekzan:etil asetat (60:40) veya diklorometan:metanol (90:10) kullanıldı. Lekelerin belirlenmesinde UV ışığından (254 ve 366 nm), dragendorf, ninhidrin ve demir (III) klorür belirteçlerinden yararlanıldı.

3.2.3. Flash kromatografi

Sentezlenen bileşiklerin saflaştırma işlemleri UV dedektörlü Teledyne ISCO Combiflash® Otomatik Flash Kromatografi Sistemi ile yapıldı. Sabit faz olarak hazır RediSep® silika kolonları (12 g, 24 g, 40 g) ve Grace Reveleris silika kolonları (12 g, 40 g), hareketli faz olarak diklorometan:metanol ve hekzan:etil asetat gradient çözücü sistemleri kullanıldı. Bileşiklerin saflıkları İTK ve UPLC/MS-TOF analizleri ile kontrol edildi.

3.2.4. Elementel analizler

Sentezlenen bileşiklerin elementel analizleri (C, H, N, S) Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarında CHNS-932 (LECO) Elementel Analiz Cihazı kullanılarak yapıldı.

3.2.5. ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları

Sentezlenen bileşiklerin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları, CDCl₃ içindeki çözeltileri ile Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarında tetrametisilan iç standartı ile Varian Mercury 400 High Performance Digital FT-NMR Spektrometresinde ¹H-NMR için 400 MHz, ¹³C-NMR için 100 MHz frekansta alınıp kayma değerleri (δ) ppm skalasında değerlendirildi. Eşleşme sabitleri ise Hz (Hertz) olarak verildi.

3.2.6. HRMS spektrumları

Sentezlenen bileşiklerin HRMS spektrumları metanol içerisindeki çözeltilerinden pozitif iyon (ESI+) ve negatif iyon (ESI-) elektrosprey iyonizasyon teknikleri ile Waters LCT Premier XE UPLC/MS-TOF sistemi ile MassLynx 4.1 yazılımı kullanılarak alındı.

3.2.7. Kiral ayırım

Öncü bileşik olan BRP-7'nin enantiyomerlerine ayrılma işlemi Lux Amylose-2 (250x4,6 mm I.D., 5 mm) Phenomenex (Torrance, CA, USA) kiral HPLC kolonu kullanılarak, PU-980 Intelligent HPLC pompası, UV dedektör, Rheodyne 7725i (Rheodyne Inc., Cotati, CA, USA) enjektör donanımlarının bulunduğu Jasco (Easton, USA) HPLC cihazı yardımıyla gerçekleştirildi. Enantiyomerlerin kimyasal ve enantiyosafılığı akiral ve kiral HPLC analizleri ile kontrol edildi.

3.3. Moleküler Modelleme Çalışmaları

Tez çalışması kapsamında sentezlenen bileşiklerden **6f**, **6j**, **6k**, **6p**, **6u**, **6v** ve **6y**'nin FLAP aktif bölgesindeki bağlanma modlarının belirlenmesi için yapı temelli prosedür uygulanarak FLAP kristal yapısı (PDB Kodu: 2Q7M [33]) üzerinde doklama çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Kristal yapısı öncelikle Schrödinger Suite 2013'te yer alan Protein Preparation Wizard² protokolünden geçirilerek kuvvet alanı (forcefield) parametizasyonu sağlanmış, bağ uzunlukları düzenlenmiştir. Sonrasında doklama yapılacak bileşikler LigPrep2.5² modülü ile doklama için hazırlanmıştır. Uygun bağlanma pozunun yakalanması için ekstra konformasyonel taramaya ihtiyaç duyulmuştur. Bunun için Macromodel 9.9² kullanılmıştır. Glide.5.8² ile grid oluşturulmuş ve yine aynı modül kullanılarak single precision (SP) ile doklama işlemi gerçekleştirilmiştir. Bağlantı modları PyMOL 1.7² ile görüntülenmiştir.

3.4. Biyolojik Çalışmalar

Sentezlenen bileşiklerin biyolojik aktivite çalışmaları Almanya Jena Üniversitesi'nde insan PMNL hücreleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

İnsan PMNL hücreleri taze olarak lökosit konsantrelerinden elde edilmiştir. Sağlıklı donörlerden alınan venöz kan santrifüjlenerek (4000 g, 20 dk, 20 °C) lökosit konsantreleri hazırlanmıştır. PMNL'ler dekstran sedimentasyon yöntemi ile taze olarak elde edilmiştir. PMNL'ler (5×10^6 hücre/ml, > % 97 saflıkta) PBS ve 1 mg/ml glukoz tamponunda süspansiyon edilerek 5-LO ürün oluşumunun tayini için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemi ile aktivite deneylerinde kullanılmıştır.

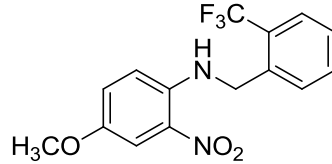
5-LO ürün oluşumunu (LTB₄ ve trans izomerleri, 5-HPETE) inhibe edici etkileri 0,1 µM, 1 µM, ve 10 µM konsantrasyonda taranmış ve bu taramada anlamlı derecede inhibisyon gösteren bileşikler için tekrar farklı konsantrasyonlarda IC₅₀ değerleri tayin edilmiştir.

² Schrödinger, LLC., 2013, New York, NY

4. BULGULAR

4.1. Kimyasal Bulgular

4.1.1. 4-Metoksi-2-nitro-*N*-(2-(triflorometil)benzil)anilin (Bileşik 1a)

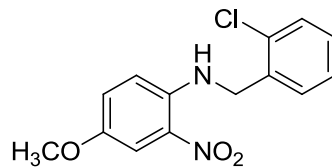


2-Nitro-p-anisid (7,14 mmol) dimetilformamit (3 ml) içerisinde argon atmosferi altında çözüldü. DIEA (21,41 mmol) ilave edilerek yarım saat karıştırıldı. Porsiyonlar halinde 2-triflorometilbenzil bromür (10,70 mmol) ilave edildi. Reaksiyon 5 saat boyunca geri çeviren soğutucu altında 90 °C'de ısıtıldı. Reaksiyon karışımı buzlu suya (500 ml) döküldü, çökelek vakumda süzüldü ve kurutuldu. Ürün petrol eteri ile yıkanarak süzüldü ve kurutuldu (Verim: % 97).

Erime Noktası: 95,6-96,3 °C

C₁₅H₁₃N₂O₃F₃ için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 327,0957; bulunan: 327,0948

4.1.2. 4-Metoksi-2-nitro-*N*-(2-klorobenzil)anilin (Bileşik1b)

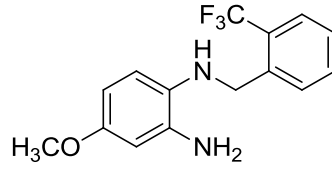


2-Nitro-p-anisid (7.14 mmol) dimetilformamit (3 ml) içerisinde argon atmosferi altında çözüldü. DIEA (21,41 mmol) ilave edilerek yarım saat karıştırıldı. Porsiyonlar halinde 2-klorobenzil bromür (10,70 mmol) ilave edildi. Reaksiyon 5 saat boyunca geri çeviren soğutucu altında 90 °C'de ısıtıldı. Reaksiyon karışımı buzlu suya (500 ml) döküldü, çökelek vakumda süzüldü ve kurutuldu. Ürün petrol eteri ile yıkanarak süzüldü ve kurutuldu (Verim: % 95).

Erime Noktası: 92,6-93,3 °C

C₁₄H₁₃N₂O₃Cl için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 293,0693; bulunan: 293,0692

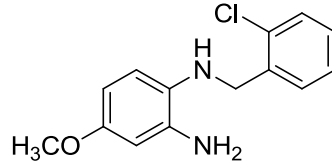
4.1.3. 4-Metoksi-*N*¹-(2-(triflorometil)benzil)benzen-1,2-diamin (Bileşik 2a)



4-metoksi-2-nitro-*N*-(2-(triflorometil)benzil)anilin (Bileşik 1a) (5,2 mmol), etanolle çözülüp katalitik miktarda Pd/C eklenerek katalitik hidrojenasyon yapıldı. Elde edilen çözelti selit yardımıyla süzüldükten sonra etanol vakum altında uzaklaştırıldı. Kalan artık suya alınıp EtOAc (2x150 ml) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na₂SO₄ ile kurutulup vakumda uçuruldu. Elde edilen ürün hekzan:etil asetat (40:60) solvan sistemi kullanılarak flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı (Verim % 77).

C₁₅H₁₅N₂OF₃ için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 297,1215; bulunan: 297,1210

4.1.4. *N*¹-(2-Klorobenzil)-4-metoksibenzen-1,2-diamin (Bileşik 2b)

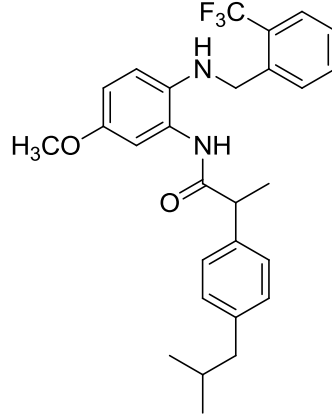


2-Klorobenzil-4-metoksi-2-nitroanilin (Bileşik 1b) (7,158 mmol) etanol (35 ml) içerisinde çözüldü. Üzerine SnCl₂.2H₂O (30,42 mmol) ilave edilip geri çeviren soğutucu altında 5 saat kaynatıldı. Reaksiyon ortamı doymuş NaHCO₃ (400 ml) çözeltisine döküldü ve etil asetatla (100 ml x 4) ekstre edildi. Organik faz Na₂SO₄ ile kurutuldu, süzüldü ve vakum altında çözücü uzaklaştırıldı (Verim: % 52,7).

Erime Noktası: 147,8-148,5 °C

C₁₄H₁₅N₂OCl için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 263,0951; bulunan: 263,0942

4.1.5. 2-(4-İzobütilfenil)-N-(5-metoksi-2-((2-(triflorometil)benzil)amino)fenil)propanamid (Bileşik 3a)

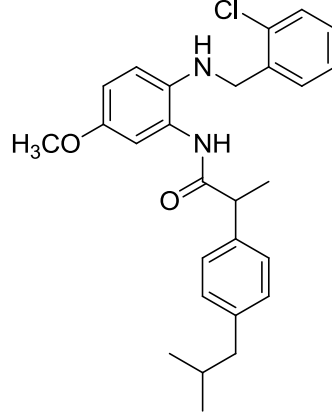


İbuprofen (3,34 mmol) argon atmosferinde diklorometan içerisinde çözüldükten sonra reaksiyon karışımına DMAP (0,67 mmol), EDC (3,67 mmol) ve 4-metoksi-*N*¹-(2-(triflorometil)benzil)benzen-1,2-diamin (Bileşik **2a**) (3,67 mmol) ilave edilip gece boyu oda sıcaklığında karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon ortamına diklorometan eklenerek NaHCO₃ (2x100 ml) ve su (2x100 ml) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz sodyum sülfat ile kurutup çözücü alçak basınç altında uzaklaştırıldı. Elde edilen ham ürün Hekzan:EtOAc (60:40) solvan sistemi kullanılarak flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı (Verim % 85,6).

Erime Noktası: 158,0-158,8 °C

C₂₈H₃₁N₂O₂F₃ için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 485,2416; bulunan: 485,2412

4.1.6. 2-(4-İzobütilfenil)-N-(5-metoksi-2-((2-klorobenzil)amino)fenil)propanamid (Bileşik 3b)

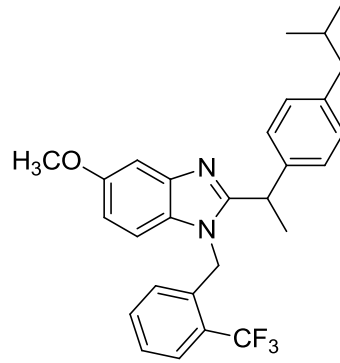


İbuprofen (3,34 mmol) argon atmosferinde diklorometan içerisinde çözüldükten sonra reaksiyon karışımına DMAP (0,67 mmol), EDC (3,67 mmol) ve 4-metoksi-*N*¹-(2-klorobenzil)benzen-1,2-diamin (Bileşik 2b) ilave edilip (3,67 mmol) gece boyu oda sıcaklığında karıştırıldı. Daha sonra doygun NaHCO₃ çözeltisi (2x100 ml) ve su (2x100 ml) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz sodyum sülfat ile kurutulup çözücü alçak basınç altında uzaklaştırıldı. Elde edilen ürün Hekzan:EtOAc (60:40) solvan sistemi kullanılarak flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı (Verim % 63,2).

Erime Noktası: 125,2-125,8 °C

C₂₇H₃₁N₂O₂Cl için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 451,2152; bulunan: 451,2160

4.1.7. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-metoksi-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol (Bileşik 4a)



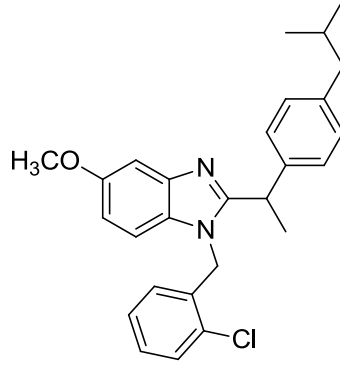
2-(4-İzobütilfenil)-*N*-(5-metoksi-2-((2-(triflorometil)benzil)amino)fenil)propanamid (Bileşik 3a) (2,68 mmol) AcOH (30 ml) ile çözülüp argon atmosferinde 55 °C'de 2 gün boyunca karıştırıldı. AcOH düşük basınç altında uzaklaştırıldı, diklorometan eklenip önce NaHCO₃ (2x150 ml) ile sonra su (2x150 ml) ile ekstre edildi. Na₂SO₄ ile kurutulup solvan alçak basınçta uçurulduktan sonra Hekzan:EtOAc (60:40) ile otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı (Verim % 78,8).

¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 0.82 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 0.83 (3H, d, *J*=6,8 Hz), 1.69-1.76 (1H, m), 2.11 (3H, d, *J*=7.2 Hz), 2.34 (2H, d, *J*=7.2 Hz), 3.91 (3H, s), 4.48 (1H, q, *J*=7.2 Hz), 5.56 (2H, s), 6.08 (1H, d, *J*=7.8 Hz), 6.98-7.05 (4H, m), 7,17-7.21 (3H,m) 7.38 (1H, d, *J*=8.0 Hz), 7.73-7.76 (2H, m)

¹³C-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 20.40, 22.21, 22.24, 30.01, 38.03, 44.72, 44.79, 56.27, 97.96, 111.63, 117.90, 124.01 (q, ¹*J*_{C-F}=273 Hz), 125.61, 125.88, 126.72 (q, ³*J*_{C-F}=5.3 Hz), 126.80 (q, ²*J*_{C-F}=32 Hz), 127.06, 128.63, 130.26, 130.67, 132.69, 132.74, 134.94, 142.03, 154.32, 159.23

C₂₈H₃₀N₂O_F₃ için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 467,2310; bulunan: 467,2307

4.1.8. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-metoksi-1-(2-klorobenzil)-1H-benzimidazol (Bileşik 4b)



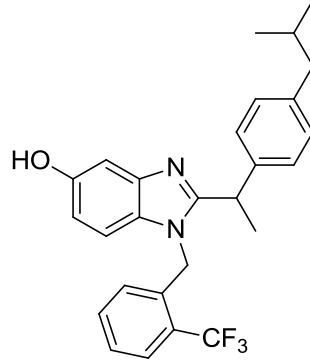
2-(4-İzobütilfenil)-N-(5-metoksi-2-((2-klorobenzil)amino)fenil)

propanamid (Bileşik **3b**) (2,68 mmol) AcOH (30 ml) içerisinde çözülüp argon atmosferinde 1 gün boyunca kaynatıldı. AcOH düşük basınç altında uzaklaştırılıp kalan artık diklorometan içerisine alındı. Organik faz önce NaHCO₃ (2x150 ml) ile sonra su (2x150 ml) ile ekstre edildikten sonra NaSO₄ ile kurutulup düşük basınçta uçuruldu. Ham ürün Hekzan:EtOAc (60:40) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı (Verim % 67,0).

¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 0.83 (6H, d, *J*=6.8 Hz), 1.74 (1H, m), 1.83 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 2.35 (2H, d, *J*=6.8 Hz), 3.87 (3H, s), 4.13 (1H, q, *J*=8.8 Hz), 5.18 (1H, d, *J*=18 Hz), 5.23 (1H, d, *J*=18 Hz), 6.17 (1H, d, *J*=8.0 Hz), 6.82-7.15 (8H, m), 7.35 (1H, m), 7.38 (1H, d, *J*=2.4 Hz)

C₂₇H₃₀ClN₂O için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 433.2047; bulunan: 433.2049

4.1.9. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1*H*-benzimidazol -5-ol (Bileşik 5a)



2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-metoksi-1-(2-(triflorometil)benzil)-1*H*-benzimidazol (Bileşik 4a) (1,34 mmol) % 48'lik HBr (9,8 ml) ve AcOH (4 ml) karışımı içerisinde geri çeviren soğutucu altında 12 saat kaynatıldı. Deney ortamı suya alınıp diklorometan ile ekstre edildi, Na₂SO₄ ile kurutulup alçak basınçta çözücü uzaklaştırıldıktan sonra diklorometan:MeOH (95:5) solvan sistemiyle otomatik flash kromatografi yöntemi kullanılarak saflaştırıldı (Verim % 98,0).

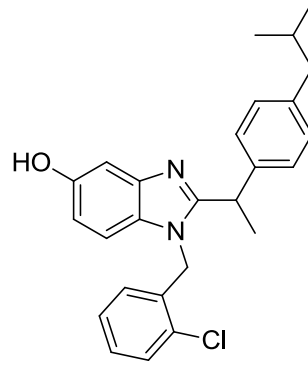
Erime Noktası: 130,4-131,2 °C

¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 0.80 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 0.81 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 1.72 (1H, m,), 1.80 (3H, d, *J*=7.2 Hz), 2.32 (2H, d, *J*=7.2 Hz), 4.13 (1H, q, *J*=7.2 Hz), 5.32 (1H, d, *J*=18 Hz), 5.38 (1H, d, *J*=18 Hz), 6.23 (1H, d, *J*=7.6 Hz), 6.79-6.85 (2H, m), 6.91 (2H, d, *J*=8.0 Hz), 7.05 (2H, d, *J*=8.0 Hz), 7.15 (1H, t, *J*=7.6 Hz), 7.26 (1H, t, *J*=7.6 Hz), 7.45 (1H, d, *J*=2.0 Hz), 7.65 (1H, d, *J*=7.6 Hz)

¹³C-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 21.57, 22.27, 22.32, 30.05, 38.54, 44.36, 44.88, 105.22, 109.63, 113.02, 124.32 (¹*J*_{C-F}=272 Hz), 125.93 (³*J*_{C-F}=6.1 Hz), 126.46, 126,78 (²*J*_{C-F}=30.5 Hz), 126.98, 127.30, 129.48, 129.64, 132.34, 134.16, 139.29, 140.30, 142.70, 152.98, 157.57

C₂₇H₂₈N₂OF₃ için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 453,2154; bulunan: 453,2148

**4.1.10. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-1-(2-klorobenzil)-1*H*-benzimidazol -5-ol
(Bileşik 5b)**



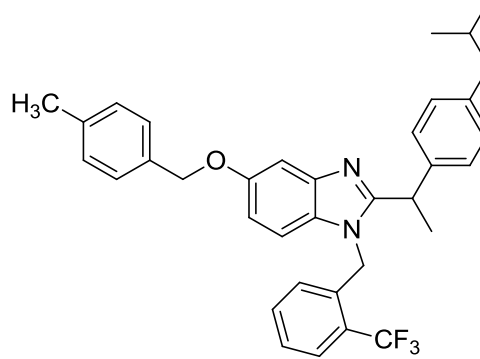
2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-metoksi-1-(2-klorobenzil)-1*H*-benzimidazol (Bileşik **4b**) (1,34 mmol) % 48'lik HBr (9,8 ml) ve AcOH (4 ml) karışımı içerisinde geri çeviren soğutucu altında 12 saat kaynatıldı. Deney ortamı suya alınıp diklorometan ile ekstre edildi, Na₂SO₄ ile kurutulup alçak basınçta çözücü uzaklaştırıldıktan sonra diklorometan:MeOH (95:5) solvan sistemiyle otomatik flash kromatografi yöntemi kullanılarak saflaştırıldı (Verim % 60,3).

Erime Noktası: 213,0-213.4 °C

¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 0.82 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 0.83 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 1.74 (1H, m), 1.80 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 2.23 (2H, d, *J*=6.8 Hz), 4.13 (1H, m), 5.19 (2H, m), 6.20 (1H, dd, *J*=7.6 Hz ve 1.2 Hz), 6.79 (1H, dd, *J*=8.8 Hz ve 2.4 Hz), 6.89-6.95 (4H, m), 7.08 (2H, d, *J*=8.0 Hz), 7.13 (1H, dt, *J*=7.6 Hz ve 1.2 Hz), 7.36 (1H, dd, *J*=7.6 Hz ve 1.2 Hz), 7.39 (1H, d, *J*=2.4 Hz).

C₂₆H₂₈ClN₂O için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 419,1890; bulunan: 419,1878

4.1.11. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-((4-metilbenzil)oksi)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1*H*-benzimidazol (Bileşik 6a)



Bileşik **5a** ve 4-metilbenzil bromürden hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre sentezlendi. Hekzan:EtOAc (80:20) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı. Soğutulmuş metanol ile muamele edilerek katı ürün elde edildi (Verim % 60,0).

Erime Noktası: 137,6-138,3 °C

¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 0.83 (3H, d, *J*=6.4 Hz), 0,83 (3H, d, *J*=6,4 Hz), 1.70-1.81 (4H, m), 2.33-2.36 (5H, m), 4.15 (1H, q, *J*= 6.8 Hz), 5.09 (2H, s), 5.32 (1H, d, *J*=18.4 Hz), 5.39 (1H, d, *J*=18.4 Hz), 6.19 (1H, d, *J*= 7.6 Hz), 6.88-6.93 (4H, m), 7.05 (2H, d, *J*=8.0 Hz), 7.13 (1H, t, *J*=7.6 Hz), 7.18-7.20 (3H, m), 7.36 (2H, d, *J*=7.6 Hz), 7.48 (1H, s), 7.65 (1H, d, *J*=7.6 Hz)

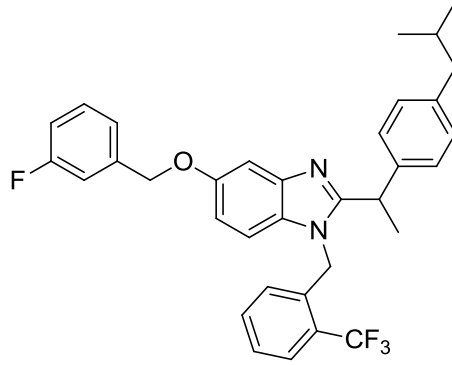
C₃₅H₃₅F₃N₂O için

Elementel analiz Hesaplanan % C: 75.52 % H: 6.34 % N: 5.03

Bulunan % C: 75.80 % H: 6.08 % N: 5.12

C₃₅H₃₆F₃N₂O için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 557.2780; bulunan: 557.2798

4.1.12. 5-((3-Florobenzil)oksi)-2-(1-(4-izobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1*H*-benzimidazol (Bileşik 6b)



Bileşik **5a** ve 3-florobenzil bromürden hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre elde edildi. Diklorometan:MeOH (96:4) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı soğutulmuş izopropanol ile muamele edilerek katı ürün elde edildi (Verim % 92,5).

Erime Noktası: 84,3-84,7 °C

¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 0.81 (3H, d, *J*=6.4 Hz), 0.82 (3H, d, *J*=6.4 Hz), 1.67-1.82 (4H, m), 2.32 (2H, d, *J*=7.2 Hz), 4.12 (1H, q, *J*=6.8 Hz), 5.12 (2H, s), 5.33 (1H, d, *J*=18.0 Hz), 5.39 (1H, d, *J*=18.0 Hz), 6.18 (1H, d, *J*= 8.0 Hz) 6.89-7.36 (12H, m), 7.45 (1H, s), 7.64 (1H, d, *J*=7.6 Hz)

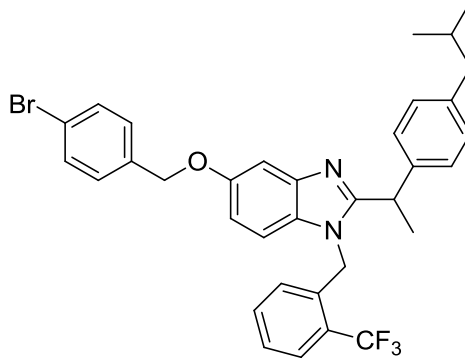
C₃₄H₃₂F₄N₂O.0,5C₃H₇OH için

Elementel analiz Hesaplanan % C: 72.19 % H: 6.14 % N: 4.74

Bulunan % C: 72.32 % H: 5.86 % N: 5.03

C₃₄H₃₃F₄N₂O için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 561,2529; bulunan: 561,2526

4.1.13. 5-((4-Bromobenzil)oksi)-2-(1-(4-izobutilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1*H*-benzimidazol (Bileşik 6c)



Bileşik **5a** ve 4-bromobenzil bromürden hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre sentezlendi. Hekzan:EtOAc solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı. Hekzan:EtOAc karışımı ile muamele edilerek katı ürün elde edildi (Verim % 72,8).

Erime Noktası: 143,8-144,5 °C

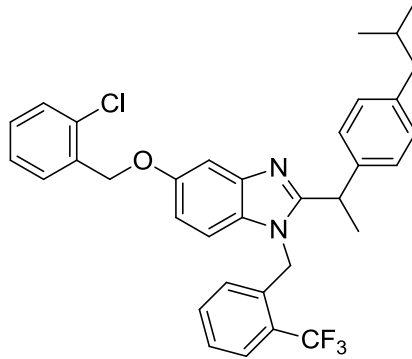
¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 0.82 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 0.83 (3H, d, *J*=6.8), 1.70-1.81 (4H, m), 2.34 (2H, d, *J*=6.8 Hz), 4.11 (1H, q, *J*=7.2 Hz), 5.08 (2H, s), 5.33 (1H, d, *J*=18.0 Hz), 5.39 (1H, d, *J*=18.0 Hz), 6.19 (1H, d, *J*= 7.6 Hz), 6.87-6.93 (4H, m), 7.05 (2H, d, *J*=8.4 Hz), 7.13 (1H, t, *J*=7.6 Hz), 7.25-7.35 (4H, m), 7.43 (1H, d, *J*=2.0 Hz), 7.51 (1H, d, *J*=8.4 Hz), 7.65 (1H, d, *J*=7.6 Hz)

C₃₄H₃₂BrF₃N₂O için

Elementel analiz	Hesaplanan	% C: 65.70	% H: 5.19	% N: 4.51
	Bulunan	% C: 65.94	% H: 5.10	% N: 4.68

C₃₄H₃₃BrF₃N₂O için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 621,1728; bulunan: 621,1727

4.1.14. 5-((2-Klorobenzil)oksi)-2-(1-(4-izobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1*H*-benzimidazol (Bileşik 6d)



Bileşik **5a** ve 2-klorobenzil bromürden hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre sentezlendi. Hekzan:EtOAc (80:20) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı. Soğutulmuş etanol ile muamele edilerek katı ürün elde edildi (Verim % 85,0).

Erime Noktası: 99,2-100,2 °C

¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 0.81 (3H, d, *J*=6.4 Hz), 0.82 (3H, d, *J*= 6.4 Hz), 1.69-1.81 (4H, m), 2.32 (2H, d, *J*=6.8 Hz), 4.11 (1H, yayvan s), 5.23 (2H, s), 5.34 (1H, d, *J*=18.8 Hz), 5.40 (1H, d, *J*=18.8 Hz), 6.19 (1H, d, *J*= 7.6 Hz), 6.91-6.93 (4H, m), 7.05 (2H, d, *J*=7.6 Hz), 7.13 (1H, t, *J*=7.6 Hz), 7.25-7.30 (3H, m), 7.39-7.41 (1H, m), 7.49 (1H, s), 7.57-7.60 (1H, m), 7.65 (1H, d, *J*=7.6 Hz)

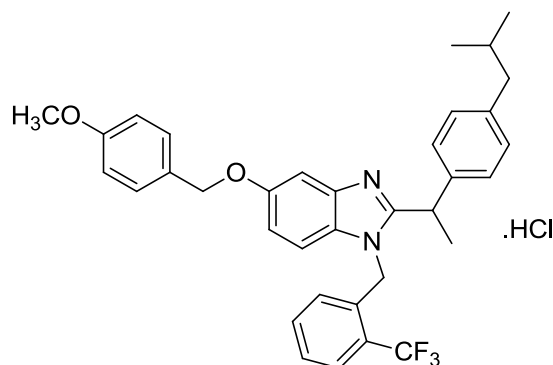
C₃₄H₃₂ClF₃N₂O için

Elementel analiz Hesaplanan % C: 70.76 % H: 5.59 % N: 4.85

Bulunan % C: 71.09 % H: 5.72 % N: 5.00

C₃₄H₃₃ClF₃N₂O için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 577,2234; bulunan: 577,2236

4.1.15. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-((4-metoksibenzil)oksi)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol HCl tuzu (Bileşik 6e)



Bileşik **5a** ve 4-metoksibenzil bromürden hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre sentezlendi. Hekzan:EtOAc (60:40) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı. Elde edilen yağlı ürün HCl tuzuna geçilerek katılaştırıldı (Verim % 67,0).

Erime Noktası: 231,3-232,1 °C

¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 0.82 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 0.83 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 1.62-1.76 (4H, m), 2.35 (2H, d, *J*=7.2 Hz), 3.84 (3H, s), 4.48 (1H, yayvan s), 5.15 (2H, s), 5.57 (2H, s), 6.10 (1H, d, *J*= 6.8 Hz), 6.88-7.41 (12H, m), 7.74 (1H, d, *J*=8.0 Hz), 7.91 (1H, s)

¹³C-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 20.47, 22.21, 22.25, 30.01, 38.08, 44.79, 55.31, 70.79, 99.21, 111.71, 112.99, 113.95, 118.24, 119.88, 124.00 (q, ¹*J*_{C-F}=272 Hz), 125.65, 126.11, 126.70 (q, ³*J*_{C-F}=6.1 Hz), 127.07, 127.11, (q, ²*J*_{C-F}=31.7 Hz), 128.62, 129.75, 130.27, 130.66, 132.75, 134.96, 137.40, 142.04, 154.45, 158.15, 159.84

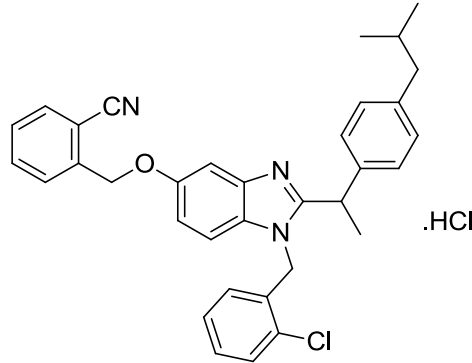
C₃₅H₃₅F₃N₂O₂.HCl için

Elementel analiz Hesaplanan % C: 69.01 %H: 5.96 % N: 4.60

Bulunan % C: 69.08 %H: 5.72 % N: 4.62

C₃₅H₃₆F₃N₂O₂ için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 573,2729; bulunan: 573,2725

4.1.16. 2-(((1-(2-Klorobenzil)-2-(1-(4-izobütilfenil)etil)-1*H*-benzimidazol -5-il)oksi)metil)benzonitril HCl tuzu (Bileşik 6f)



Bileşik **5b** ve α -bromo-*o*-tolunitrilden hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre sentezlendi. Hekzan:EtOAc (60:40) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı. Elde edilen yağlı ürün HCl tuzuna geçilerek katılaştırıldı (Verim % 61,5).

Erime Noktası: 179,0-180,0 °C

$^1\text{H-NMR}$ spektrumu (CDCl_3) δ : 0.84 (6H, d, $J=6.4$ Hz), 1.71-1.80 (1H, m), 2.12 (3H, s), 2.37 (2H, d, $J=7.2$ Hz), 4.50 (1H, s), 5.31 (2H, s), 5.42 (2H, s), 6.20 (1H, d, $J=7.6$ Hz), 7.00-7.05 (3H, m), 7.14 (2H, s), 7.22-7.26 (3H, m), 7.43-7.50 (2H, m), 7.66-7.75 (3H, m), 7.97 (1H, s)

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumu (CDCl_3) δ : 20.56, 22.38, 22.31, 30.06, 38.19, 44.83, 46.02, 69.22, 99.95, 112.11, 112.39, 117.15, 117.61, 126.54, 127.10, 127.67, 129.07, 129.80, 130.02, 130.11, 130.31, 132.19, 133.15, 133.37, 135.16, 139.18, 142.03, 154.60, 157.58

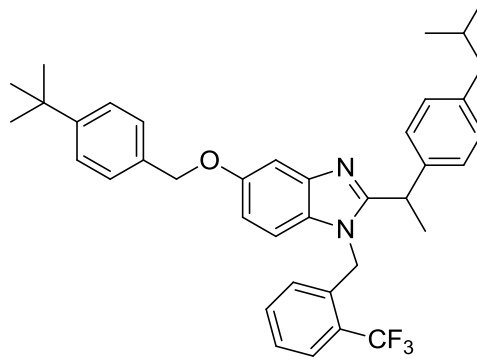
$\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{ClN}_3\text{O} \cdot 1,5\text{HCl}$ için

Elementel analiz Hesaplanan % C: 69.36 % H: 5.73 % N: 7.14

Bulunan % C: 69.12 % H: 6.02 % N: 7.02

$\text{C}_{34}\text{H}_{33}\text{ClN}_3\text{O}$ için; HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]$ hesaplanan: 534,2312; bulunan: 534,2311

4.1.17. 5-((4-(ter-Bütil)benzil)oksi)-2-(1-(4-izobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1*H*-benzimidazol (Bileşik 6g)



Bileşik **5a** ve 4-(*t*-bütil)benzil bromürden hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre sentezlendi. Diklorometan:MeOH (96:4) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı. EtOH-su karışımı ile muamele edilerek katı ürün elde edildi (Verim % 49,8).

Erime Noktası: 72,4-73,6 °C

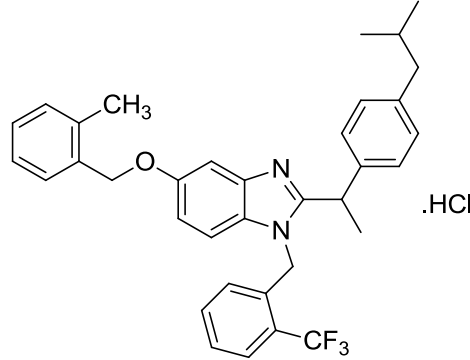
¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 0.79 (3H, d, *J*=6.4 Hz), 0.81 (3H, d, *J*=6.4 Hz), 1.31 (9H, s), 1.68-1.81 (4H, m), 2.31 (2H, d, *J*=6.4 Hz), 4.11 (1H, yayvan s), 5.08 (2H, s), 5.32 (1H, d, *J*=18.0 Hz), 5.39 (1H, d, *J*=18.0 Hz), 6.17 (1H, d, *J*= 8.4 Hz) 6.90-6.91 (4H, m), 7.04 (2H, d, *J*=7.6 Hz), 7.11 (1H, t, *J*=7.4 Hz) 7.24-7.39 (5H, m), 7.49 (1H, s), 7.63 (1H, d, *J*=7.6 Hz)

C₃₈H₄₁F₃N₂O için

Elementel analiz	Hesaplanan	% C: 76.24	% H: 6.90	% N: 4.68
	Bulunan	% C: 75.98	% H: 6.82	% N: 4.93

C₃₈H₄₂F₃N₂O için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 599,3249; bulunan: 599,3248

4.1.18. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-((2-metilbenzil)oksi)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1*H*-benzimidazol HCl tuzu (Bileşik 6h)



Bileşik **5a** ve 2-metilbenzil bromürden hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre sentezlendi. Hekzan:EtOAc (80:20) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı. Elde edilen yağlı ürün HCl tuzuna geçilerek katılaştırıldı (Verim % 71,6).

Erime Noktası: 143,3-144,4 °C

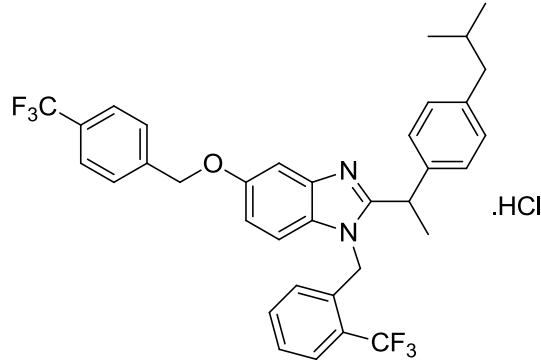
¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 0.82 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 0.83 (3H, d, *J*=6,8 Hz), 1.70-1.82 (4H, m), 2.33 (2H, d, *J*=6.8 Hz), 2.39 (3H, s), 4.12 (1H, q, *J*=6.8 Hz), 5.11 (2H, s), 5.33 (1H, d, *J*=17.6 Hz), 5.40 (1H, d, *J*=17.6 Hz), 6.21 (1H, d, *J*= 8.0 Hz), 6.92-6.94 (4H, m), 7.06 (2H, d, *J*=8.0 Hz), 7.14 (1H, t, *J*=7.2 Hz), 7.21-7.29 (4H, m), 7.45-7.47 (1H, m), 7.52 (1H, s), 7.66 (1H, d, *J*=7.2 Hz)

C₃₅H₃₅F₃N₂O.HCl için

Elementel analiz	Hesaplanan	% C: 70.87	% H: 6.12	% N: 4.72
	Bulunan	% C: 70.94	% H: 6.25	% N: 4.80

C₃₅H₃₆F₃N₂O için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 557,2780; bulunan: 557,2779

4.1.19. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-5-((3-(triflorometil)benzil)oksi)-1*H*-benzimidazol HCl tuzu (Bileşik 6i)



Bileşik **5a** ve 4-triflorometilbenzil bromürden hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre sentezlendi. Hekzan:EtOAc (60:40) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı. Elde edilen yağlı ürün HCl tuzuna geçilerek katılaştırıldı (Verim % 70,8).

Erime Noktası: 98,0-99,0 °C

¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 0.82 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 0.83 (3H, d, *J*_b=3.2 Hz), 1.72-1.76 (1H, m), 2.12 (3H, s), 2.36 (2H, d, *J*=7.2 Hz), 4.45 (1H, s), 5.24 (2H, s), 5.57 (2H, s), 6.10 (1H, d, *J*= 2.8 Hz), 7.00-7.21 (7H, m), 7.39 (1H, t, *J*=7.4 Hz), 7.59-7.76 (5H, m), 7.92 (1H, s)

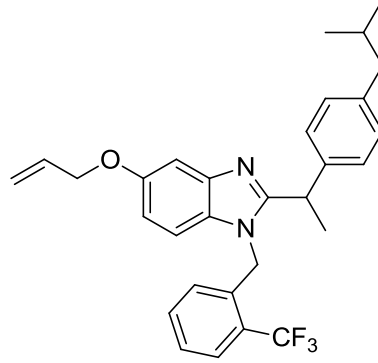
C₃₅H₃₂F₆N₂O.1,3HCl için

Elementel analiz Hesaplanan % C: 63.88 % H: 5.10 % N: 4.26

Bulunan % C: 63.64 % H: 5.23 % N: 4.26

C₃₅H₃₃F₆N₂O için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 611,2497; bulunan: 611,2517

4.1.20. 5-(Alliloksi)-2-(1-(4-izobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol (Bileşik 6j)



Bileşik **5a** ve allil bromürden hareketle genel sentez yöntemi 2'ye göre sentezlendi. Hekzan:EtOAc (70:30) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı. Aseton-petrol eteri karışımı ile muamele edilerek katı ürün elde edildi (Verim % 51,1).

Erime Noktası: 93,5-94,5 °C

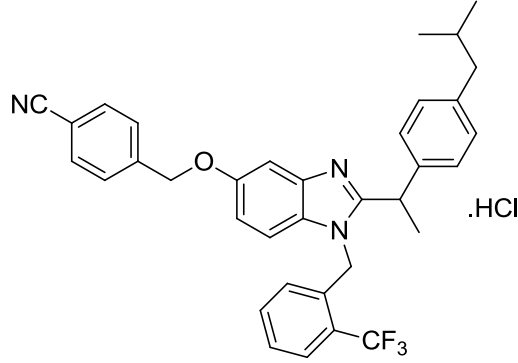
¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 0.81 (3H, d, *J*=6.4 Hz), 0.83 (3H, d, *J*=6,4 Hz), 1.70-1.82 (4H, m), 2.34 (2H, d, *J*=7.6 Hz), 4.11 (1H, q, *J*=7.2 Hz), 4.60 (2H, d, *J*=7.6 Hz), 5.29-5.48 (4H, m), 6.06-6.16 (1H, m), 6.20 (1H, d, *J*= 8.0 Hz), 6.84-6.93 (4H, m), 7.05 (2H, d, *J*=8.4 Hz), 7.13 (1H, t, *J*=7.8 Hz), 7.25-7.28 (1H, m), 7.42 (1H, d, *J*=2.4 Hz), 7.65 (1H, d, *J*=7.6 Hz)

C₃₀H₃₁F₃N₂O için

Elementel analiz	Hesaplanan	% C: 73.15	% H: 6.34	% N: 5.69
	Bulunan	% C: 73.26	% H: 6.59	% N: 5.54

C₃₀H₃₂F₃N₂O için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 493,2467; bulunan: 493,2474

4.1.21. 4-(((2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1*H*-benzimidazol-5-il)oksi)metil)benzonitril HCl tuzu (Bileşik 6k)



Bileşik **5a** ve α -bromo-p-tolunitrilden hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre sentezlendi. Hekzan:EtOAc (60:40) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı. Elde edilen yağlı ürün HCl tuzuna geçilerek katılaştırıldı (Verim % 78,5).

Erime Noktası: 107,2-108,1 °C

$^1\text{H-NMR}$ spektrumu (CDCl_3) δ : 0.82 (3H, d, $J=6.8$ Hz), 0.83 (3H, d, $J=6.8$ Hz), 1.71-1.76 (1H, m), 2.13 (3H, s), 2.36 (2H, d, $J=7.6$ Hz), 4.54 (1H, s), 5.26 (2H, s), 5.58 (2H, s), 6.09 (1H, d, $J=5.2$ Hz), 7.00-7.20 (7H, m), 7.40 (1H, t, $J=7.6$ Hz), 7.60-7.78 (5H, m), 7.97 (1H, s)

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumu (CDCl_3) δ : 20.69, 22.21, 22.25, 30.02, 38.19, 44.79, 69.96, 99.39, 111.92, 112.05, 117.94, 118.60, 123.99 (q, $^1J_{\text{C-F}}=272$ Hz), 125.71, 126.55, 126.76 (q, $^3J_{\text{C-F}}=5.3$ Hz), 127.13, 127.16 (q, $^2J_{\text{C-F}}=30.3$ Hz), 127.89, 128.65, 130.29, 130.68, 132.51, 132.75, 135.05, 141.33, 142.09, 154.82, 157.47

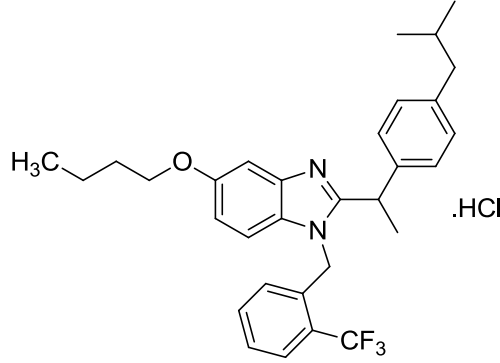
$\text{C}_{35}\text{H}_{32}\text{F}_3\text{N}_3\text{O} \cdot 1,5\text{HCl}$ için

Elementel analiz Hesaplanan % C: 67.54 % H: 5.42 % N: 6.75

Bulunan % C: 67.49 % H: 5.61 % N: 6.90

$\text{C}_{35}\text{H}_{33}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}$ için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 568,2576; bulunan: 568,2579

4.1.22. 5-Bütoksi-2-(1-(4-izobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol HCl tuzu (Bileşik 6I)



Bileşik **5a** ve 1-bromobütandan hareketle genel sentez yöntemi 2'ye göre sentezlendi. Hekzan:EtOAc (60:40) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı. Elde edilen yağlı ürün HCl tuzuna geçilerek katılaştırıldı (Verim % 69,4).

Erime Noktası: 109,0-110,0 °C

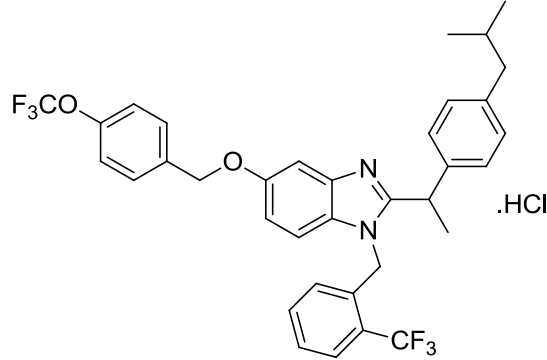
¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 0.82 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 0.83 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 0.98 (3H, t, *J*= 7.2 Hz) 1.47-1.82 (5H, m), 2.12 (3H, yayvan s), 2.36 (2H, d, *J*=7.6 Hz), 4.07 (2H, t, *J*=6.8 Hz), 4.46 (1H, s), 5.56 (2H, s), 6.10 (1H, s), 7.00-7.03 (4H, m), 7.20-7.40 (4H, m), 7.74-7.77 (2H, m)

C₃₁H₃₅F₃N₂O.1,25HCl için

Elementel analiz	Hesaplanan	% C: 67.18	% H: 6.59	% N: 5.05
	Bulunan	% C: 67.04	% H: 6.54	% N: 5.18

C₃₁H₃₆F₃N₂O için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 507,2780; bulunan: 507,2778

4.1.23. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-((4-(triflorometoksi)benzil)oksi)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol HCl tuzu (Bileşik 6m)



Bileşik **5a** ve 4-triflorometoksibenzil bromürden hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre sentezlendi. Hekzan:EtOAc (60:40) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı. Elde edilen yağlı ürün HCl tuzuna geçilerek katılaştırıldı (Verim % 79,6).

Erime Noktası: 171,0-172,0 °C

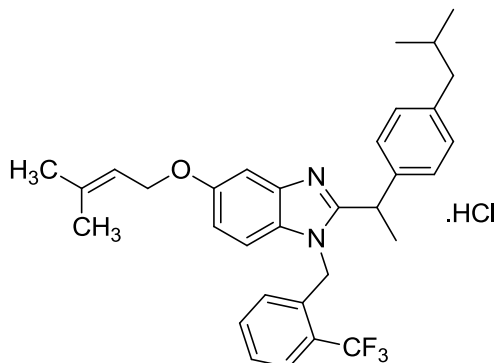
¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ ppm: 0.82 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 0.84 (3H, d, *J*=3.2 Hz), 1.62-1.78 (1H, m), 2.14 (3H, s), 2.36 (2H, d, *J*=7.2 Hz), 4.47 (1H, s), 5.17 (2H, s), 5.58 (2H, s), 6.10 (1H, s), 7.00-7.12 (4H, m), 7.20-7.27 (5H, m) 7.40 (1H, m), 7.51 (2H, d, *J*=8.4 Hz), 7.75 (1H, d, *J*=8.0 Hz), 7.93 (1H, s)

C₃₅H₃₂F₆N₂O₂·1,2HCl.H₂O için

Elementel analiz	Hesaplanan	% C: 61.07	% H: 5.15	% N: 4.07
	Bulunan	% C: 61.11	% H: 5.34	% N: 4.34

C₃₅H₃₃F₆N₂O₂ için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 627,2446; bulunan: 627,2468

4.1.24. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-((3-metilbut-2-en-1-il)oksi)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1*H*-benzimidazol HCl tuzu (Bileşik 6n)



Bileşik **5a** ve 3,3-dimetilallil bromürden hareketle genel sentez yöntemi 2'ye göre sentezlendi. Hekzan:EtOAc (60:40) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı. Elde edilen yağlı ürün HCl tuzuna geçilerek katılaştırıldı (Verim % 68,6).

Erime Noktası: 159,0-160,0 °C

¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 0.76-0.79 (6H, m), 1.65-1.81 (10H, m), 2.31 (2H, d, *J*=6.8 Hz), 4.64 (2H, d, *J*=6.4 Hz), 4.78 (1H, s), 5.44-5.47 (1H, m), 5.69-5.87 (2H, m), 6.20 (1H, d, *J*=7.8 Hz), 6.96 (2H, d, *J*=8.0 Hz), 6.97-7.24 (4H, m) 7.34-7.42 (3H, m), 7.76 (1H, d, *J*=7.2 Hz)

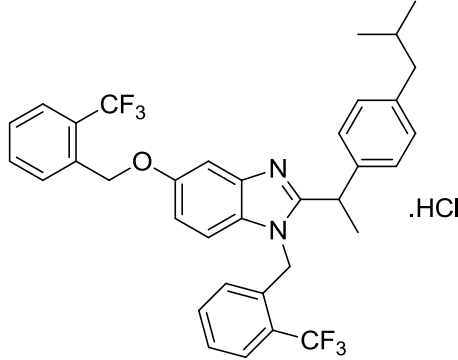
¹³C-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 18.33, 20.45, 22.21, 22.25, 25.86, 30.01, 38.05, 44.79, 65.89, 98.62, 111.60, 118.38, 118.49, 124.02 (q, ¹*J*_{C-F}=272 Hz), 125.66, 125.79, 126.69 (q, ³*J*_{C-F}=5.3 Hz), 127.08, 127.10, (q, ²*J*_{C-F}=31.3 Hz), 128.59, 130.25, 130.71, 132.74, 134.99, 139.55, 141.99, 154.26, 158.43

C₃₂H₃₅F₃N₂O.HCl için

Elementel analiz	Hesaplanan	% C: 68.99	% H: 6.51	% N: 5.02
	Bulunan	% C: 68.76	% H: 6.52	% N: 5.20

C₃₂H₃₆F₃N₂O için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 521,2780; bulunan: 521,2775

4.1.25. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-5-((2-(triflorometil)benzil)oksi)-1*H*-benzimidazol HCl tuzu (Bileşik 6o)



Bileşik **5a** ve 2-triflorometilbenzil bromürden hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre sentezlendi. Hekzan:EtOAc (60:40) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı. Elde edilen yağlı ürün HCl tuzuna geçilerek katılaştırıldı (Verim % 73,5).

Erime Noktası: 127,0-128,0 °C

¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ ppm: 0.82 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 0.84 (3H, d, *J*=2.4 Hz), 1.72-1.76 (1H, m), 2.13 (3H, s), 2.36 (2H, d, *J*=7.2 Hz), 4.50 (1H, s), 5.31 (2H, s), 5.57 (2H, s), 6.11 (1H, d, *J*=7.2 Hz), 7.00-7.32 (4H, m), 7.21-7.23 (3H, m), 7.37-7.50 (2H, m), 7.61 (1H, t, *J*=7.2 Hz), 7.69-7.76 (3H, m), 7.93 (1H, s)

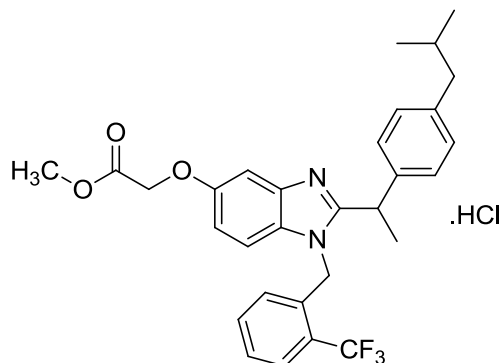
C₃₅H₃₂F₆N₂O.2HCl.1,5H₂O için

Elementel analiz Hesaplanan % C: 59.15 % H: 5.24 % N: 3.94

Bulunan % C: 58.93 % H: 4.80 % N: 4.20

C₃₅H₃₃F₆N₂O için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 611,2497; bulunan: 611,2498

4.1.26. Metil 2-((2-(1-(4-izobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol-5-il)oksi)asetat HCl tuzu (Bileşik 6p)



Bileşik **5a** ve metil bromoasetattan hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre sentezlendi. Hekzan:EtOAc (60:40) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı. Elde edilen yağlı ürün HCl tuzuna geçilerek katılaştırıldı (Verim % 83,1).

Erime Noktası: 158,0-159,0 °C

¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 0.82 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 0.83 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 1.72-1.76 (1H, m), 2.12 (3H, d, *J*=7.2 Hz), 2.36 (2H, d, *J*=7.2 Hz), 3.85 (3H, s), 4.49 (1H, d, *J*=7.6 Hz), 4.78 (2H, s), 5.57 (2H, s), 6.10 (1H, d, *J*=8.0 Hz), 7.00-7.24 (7H, m), 7.40 (1H, t, *J*=8.0 Hz), 7.73-7.76 (2H, m)

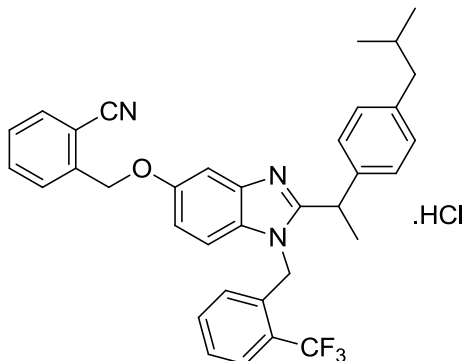
C₃₀H₃₁F₃N₂O₃·1,4HCl için

Elementel analiz Hesaplanan % C: 62.59 % H: 5.67 % N: 4.86

Bulunan % C: 62.59 % H: 5.12 % N: 5.12

C₃₀H₃₂F₃N₂O₃ için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 525,2365; bulunan: 525,2363

4.1.27. 2-(((2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1*H*-benzimidazol-5-il)oksi)metil)benzonitril HCl tuzu (Bileşik 6r)



Bileşik **5a** ve α -bromo-*o*-tolunitrilden hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre sentezlendi. Hekzan:EtOAc (60:40) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı. Elde edilen yağlı ürün HCl tuzuna geçilerek katılaştırıldı (Verim % 84,3).

Erime Noktası: 150,3-150,7 °C

¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ : 0.82 (3H, d, $J=6.8$ Hz), 0.83 (3H, d, $J=6.8$ Hz), 1.72-1.76 (1H, m), 2.14 (3H, s), 2.36 (2H, d, $J=7.6$ Hz), 4.49 (1H, s), 5.33 (2H, s), 5.58 (2H, s), 6.12 (1H, s), 7.00-7.22 (7H, m), 7.40-7.50 (2H, m), 7.67-7.76 (4H, m), 7.80 (1H, s)

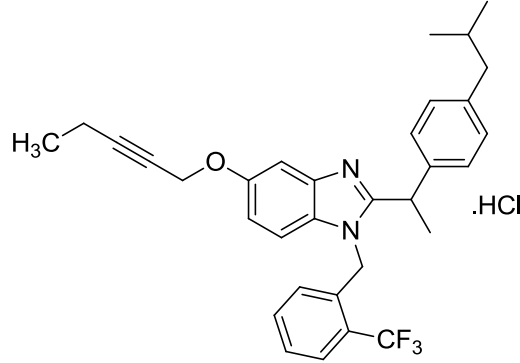
¹³C-NMR spektrumu (CDCl₃) δ : 20.65, 22.22, 22.25, 30.02, 38.20, 44.79, 44.92, 69.37, 100.12, 111.98, 112.45, 117.10, 117.84, 124.01 (q, $^1J_{C-F}=272$ Hz), 125.80, 126.70 (q, $^3J_{C-F}=5.3$ Hz), 127.11, (q, $^2J_{C-F}=31.2$ Hz), 127.12, 128.65, 129.08, 129.86, 130.30, 130.61, 132.85, 133.15, 133.36, 134.94, 139.14, 142.07, 154.83, 157.75

C₃₅H₃₂F₃N₃O.1,5HCl için

Elementel analiz	Hesaplanan	% C: 67.54	% H: 5.42	% N: 6.75
	Bulunan	% C: 67.43	% H: 5.48	% N: 6.93

C₃₅H₃₃F₃N₃O için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 568,2576; bulunan: 568,2573

4.1.28. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-(pent-2-in-1-iloksi)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1H-benzimidazol HCl tuzu (Bileşik 6s)



Bileşik **5a** ve 1-bromopent-3-inden hareketle genel sentez yöntemi 2'ye göre sentezlendi. Hekzan:EtOAc (60:40) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntem ile saflaştırıldı. Elde edilen yağlı ürün HCl tuzuna geçilerek katılaştırıldı (Verim % 76,7).

Erime Noktası: 118,0-119,0 °C

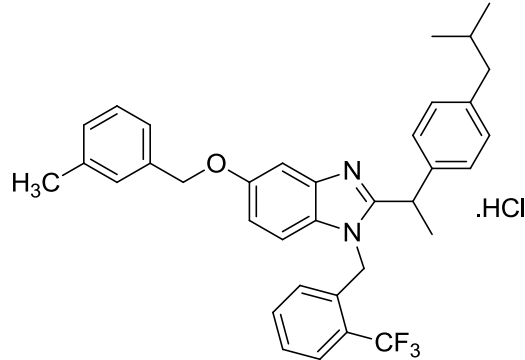
¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 0.84 (6H, d, *J*=6.4 Hz), 1.18 (3H, t, *J*= 7.4 Hz) 1.62-1.77 (1H, m), 2.15 (3H, yayvan s), 2.28 (2H, q, *J*=7.0 Hz), 2.37 (2H, d, *J*=7.0 Hz), 4.55 (1H, s), 4.80 (2H, s), 5.58 (2H, s), 6.13 (1H, s), 7.04-7.41 (8H, m), 7.75 (1H, d, *J*=7.6 Hz), 7.85 (1H, s)

C₃₂H₃₃F₃N₂O.1,5HCl için

Elementel analiz	Hesaplanan	% C: 67.03	% H: 6.06	% N: 4.88
	Bulunan	% C: 67.07	% H: 6.25	% N: 5.06

C₃₂H₃₄F₃N₂O için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 519,2623; bulunan: 519,2632

4.1.29. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-((3-metilbenzil)oksi)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1*H*-benzimidazol HCl tuzu (Bileşik 6t)



Bileşik **5a** ve 3-metilbenzil bromürden hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre sentezlendi. Hekzan:EtOAc (80:20) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı. Elde edilen yağlı ürün HCl tuzuna geçilerek katılaştırıldı (Verim % 54,0).

Erime Noktası: 129,6-130,7 °C

¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 0.81 (3H, d, *J*=7.2 Hz), 0.82 (3H, d, *J*=7.2 Hz), 1.68-1.81 (4H, m), 2.33-2.37 (5H, m), 4.11 (1H, q, *J*=6.8 Hz), 5.09 (2H, s), 5.32 (1H, d, *J*=18.0 Hz), 5.39 (1H, d, *J*=18.0 Hz), 6.20 (1H, d, *J*=7.6 Hz), 6.91-6.93 (4H, m), 7.04-7.14 (4H, m), 7.24-7.29 (4H, m), 7.48 (1H, s), 7.65 (1H, d, *J*=7.6 Hz)

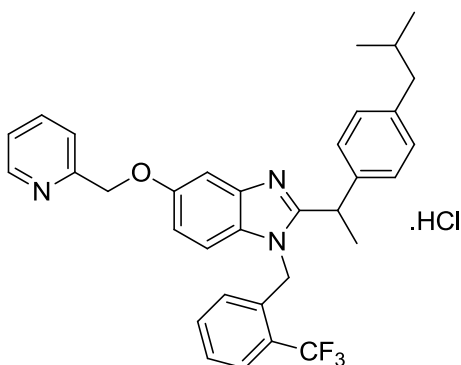
C₃₅H₃₅F₃N₂O.1,5HCl için

Elementel analiz Hesaplanan % C: 68.76 % H: 6.02 % N: 4.58

Bulunan % C: 68.25 % H: 6.15 % N: 4.72

C₃₅H₃₆F₃N₂O için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 557,2780; bulunan: 557,2777

4.1.30. 2-(1-(4-İzobütilfenil)etil)-5-(piridin-2-iletoksi)-1-(2-(triflorometil)benzil)-1*H*-benzimidazol HCl tuzu (Bileşik 6u)



Bileşik **5a** ve 2-klorometilpiridininin HCl tuzundan hareketle genel sentez yöntemi 2'ye göre sentezlendi. Hekzan:EtOAc (60:40) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı. Elde edilen yağlı ürün HCl tuzuna geçilerek katılaştırıldı (Verim % 57,5).

Erime Noktası: 135,0-136,0 °C

¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 0.81 (3H, d, *J*=6.4 Hz), 0.83 (3H, d, *J*=6.4 Hz), 1.71-1.75 (1H, m), 2.12 (3H, d, *J*=7.2 Hz), 2.35 (2H, d, *J*=6.8 Hz), 4.49 (1H, q, *J*=6.8 Hz), 5.60 (2H, s), 5.72 (2H, s), 6.11 (1H, d, *J*=7.6 Hz), 7.00-7.23 (6H, m), 7.39 (1H, t, *J*=8.0 Hz), 7.54 (1H, d, *J*=7.2 Hz), 7.75 (1H, d, *J*=8.0 Hz), 7.89 (1H, t, *J*=6.8 Hz), 8.03 (1H, s), 8.18 (1H, d, *J*=6.8 Hz), 8.47 (1H, t, *J*=7.2), 8.88 (1H, d, *J*=5.2 Hz)

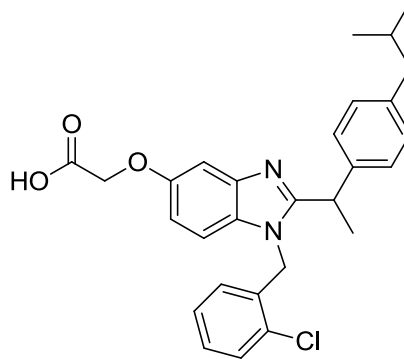
¹³C-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 20.48, 22.20, 22.24, 29.99, 38.16, 44.76, 45.15, 66.63, 100.78, 112.49, 117.75, 123.99 (q, ¹*J*_{C-F}=275 Hz), 125.37, 125.79, 125.91, 126.67 (q, ³*J*_{C-F}=6.0 Hz), 127.05, 127.09 (q, ²*J*_{C-F}=30.5 Hz), 127.15, 128.63, 130.28, 130.39, 131.82, 132.75, 134.86, 142.07, 142.28, 145.28, 151.67, 155.33, 156.54

C₃₃H₃₂F₃N₃O.2HCl.1,5H₂O için

Elementel analiz	Hesaplanan	% C: 61.58	% H: 5.79	% N: 6.53
	Bulunan	% C: 61.30	% H: 5.97	% N: 6.64

C₃₃H₃₃F₃N₃O için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 544,2576; bulunan: 544,2570

4.1.31. 2-((1-(2-klorobenzil)-2-(1-(4-izobutilfenil)etil)-1H-benzimidazol -5-il)oksi)asetik asit (Bileşik 6v)



Bileşik **5b** ve metil bromoasetattan hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre **6v** bileşiğinin metil esteri elde edildi. Hekzan:EtOAc (60:40) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı. Elde edilen ester (0,25 mmol) tetrahidrofur-an su içerisinde lityum hidroksit (0,75 mmol) varlığında 70 °C 3 saat ısıtılarak hidroliz edildi. Reaksiyon ortamı su içine döküldükten sonra asitlendirildi. Çöken ürün süzülerek alındı, metanol ile kristallendirildi (Verim % 79,8)

Erime Noktası: 183,9-184,5 °C

¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 0.82 (3H, d, *J*=6.4 Hz), 0.83 (3H, d, *J*=6.4 Hz), 1.70-1.80 (1H, m), 1.86 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 2.33 (2H, d, *J*=7.2 Hz), 4.24 (1H, q, *J*=6.8 Hz), 4.86 (2H, s), 5.25 (2H, s), 6.10 (1H, d, *J*=8.0 Hz), 6.94-7.14 (8H, m), 7.40 (1H, d, *J*=8.0 Hz), 7.45 (1H, s)

¹³C-NMR spektrumu (CDCl₃) δ: 20.94, 22.31, 22.34, 30.05, 38.62, 44.89, 44.97, 65.99, 99.90, 110.76, 115.57, 126.76, 127.08, 127.29, 128.77, 128.99, 129.48, 129.77, 131.87, 132.02, 138.01, 140.77, 155.88, 156.32, 171.79

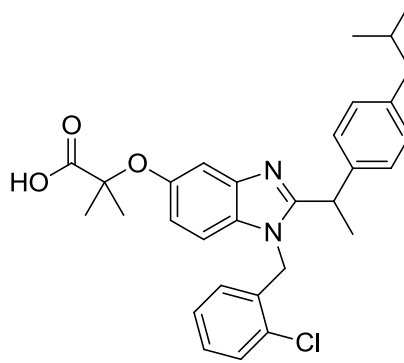
C₂₈H₂₉ClN₂O₃·0,75CH₃OH için

Elementel analiz Hesaplanan % C: 68.92 % H: 6.44 % N: 5.59

Bulunan % C: 68.87 % H: 6.31 % N: 5.93

C₂₈H₃₀ClN₂O₃ için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 477,1945; bulunan: 477,1929

4.1.32. 2-((1-(2-klorobenzil)-2-(1-(4-izobutilfenil)etil)-1H-benzimidazol -5-il)oksi)-2-metilpropanoik asit (Bileşik 6y)



Bileşik **5b** ve etil α -bromoisobutirattan hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre **6y** bileşiğinin metil esteri elde edildi. Hekzan:EtOAc (60:40) solvan sistemi kullanılarak otomatik flash kromatografi yöntemi ile saflaştırıldı. Elde edilen ester (0,25 mmol) tetrahidrofuran-su içerisinde lityum hidroksit (0,75 mmol) varlığında 70 °C 3 saat ısıtılarak hidroliz edildi. Reaksiyon ortamı su içine döküldükten sonra asitlendirildi. Çöken ürün süzülerek alındı, metanol ile kristallendirildi (Verim % 86,2).

Erime Noktası: 203,1-203,5 °C

¹H-NMR spektrumu (CDCl₃) δ : 0.82 (3H, d, $J=6.8$ Hz), 0.83 (3H, d, $J=6.8$ Hz), 1.73-1.81 (10H, m), 2.34 (2H, d, $J=6.8$ Hz), 4.24 (1H, q, $J=6.8$ Hz), 5.21 (2H, s), 6.10 (1H, d, $J=8.0$ Hz), 6.91-6.98 (5H, m), 7.08-7.16 (3H, m), 7.35 (1H, d, $J=8.0$ Hz), 7.67 (1H, d, $J=2.4$ Hz)

¹³C-NMR spektrumu (CDCl₃) δ : 21.05, 22.33, 22.37, 25.44, 25.54, 30.07, 38.65, 44.65, 44.91, 79.14, 106.09, 109.84, 117.38, 126.84, 127.07, 127.21, 128,75, 129.36, 129.45, 129.62, 131.82, 132.67, 138.80, 140.43, 140.46, 152.37, 156.67, 177.02

C₃₀H₃₃ClN₂O₃ için

Elementel analiz	Hesaplanan	% C: 71.34	% H: 6.56	% N: 5.55
	Bulunan	% C: 71.02	% H: 6.56	% N: 5.66

C₃₀H₃₄ClN₂O₃ için; HRMS (m/z) [M+H] hesaplanan: 505,2258; bulunan: 505,2253

4.2. Biyolojik Bulgular

Bileşiklerin insan PMNL hücreleri üzerinde LT biyosentezi inhibisyonunu belirlemek için 0,1 μ M, 1 μ M ve 10 μ M konsantrasyonlarda tarama gerçekleştirilmiş ve bu tarama konsantrasyonlarda yüksek inhibisyon gösteren altı bileşiğin IC₅₀ değerleri farklı konsantrasyonlarda tekrar test edilerek SigmaPlot 11 programı kullanılarak hesaplanmıştır. Referans olarak öncü bileşik olan 0,31 μ M IC₅₀ değerine sahip BRP-7 ve MK-886 kullanılmıştır.

Çizelge 4.1. Bileşiklerin % 5-LO inhibisyon değerleri³

#	R ₁	R ₂	%5-LO oluşumu		
			0,1 μ M	1 μ M	10 μ M
6a		CF ₃	t.e	92,64 ± 6,30	90,51 ± 14,94
6b		CF ₃	t.e	91,98 ± 9,79	85,87 ± 8,25
6c		CF ₃	t.e	108,05 ± 10,88	94,38 ± 9,60
6d		CF ₃	t.e	92,18 ± 15,72	92,22 ± 15,49
6e		CF ₃	t.e	81,58 ± 2,91	80,13 ± 7,47
6f		Cl	53,87 ± 15,87	39,87 ± 14,51	15,60 ± 6,85
6g		CF ₃	t.e	94,88 ± 16,84	93,97 ± 9,52
6h		CF ₃	t.e	97,13 ± 13,73	89,71 ± 4,51
6i		CF ₃	t.e	91,71 ± 9,64	94,31 ± 14,13

³ Bileşiklerin 0,1, 1 ve 10 μ M tarama konsantrasyonlarında, 2,5 μ M Ca⁺² ionophore A23187 ile aktive edilmiş PMNL hücrelerinde % 5-LO ürün oluşumu değerleri (ortalama ± S.E., n=3). %100 kontrol değeri (%0.3 DMSO, taşıyıcı), her 10⁶ nötrofil için 44 ng 5-LO ürün oluşumuna denk gelmektedir. t.e= test edilmemiştir.

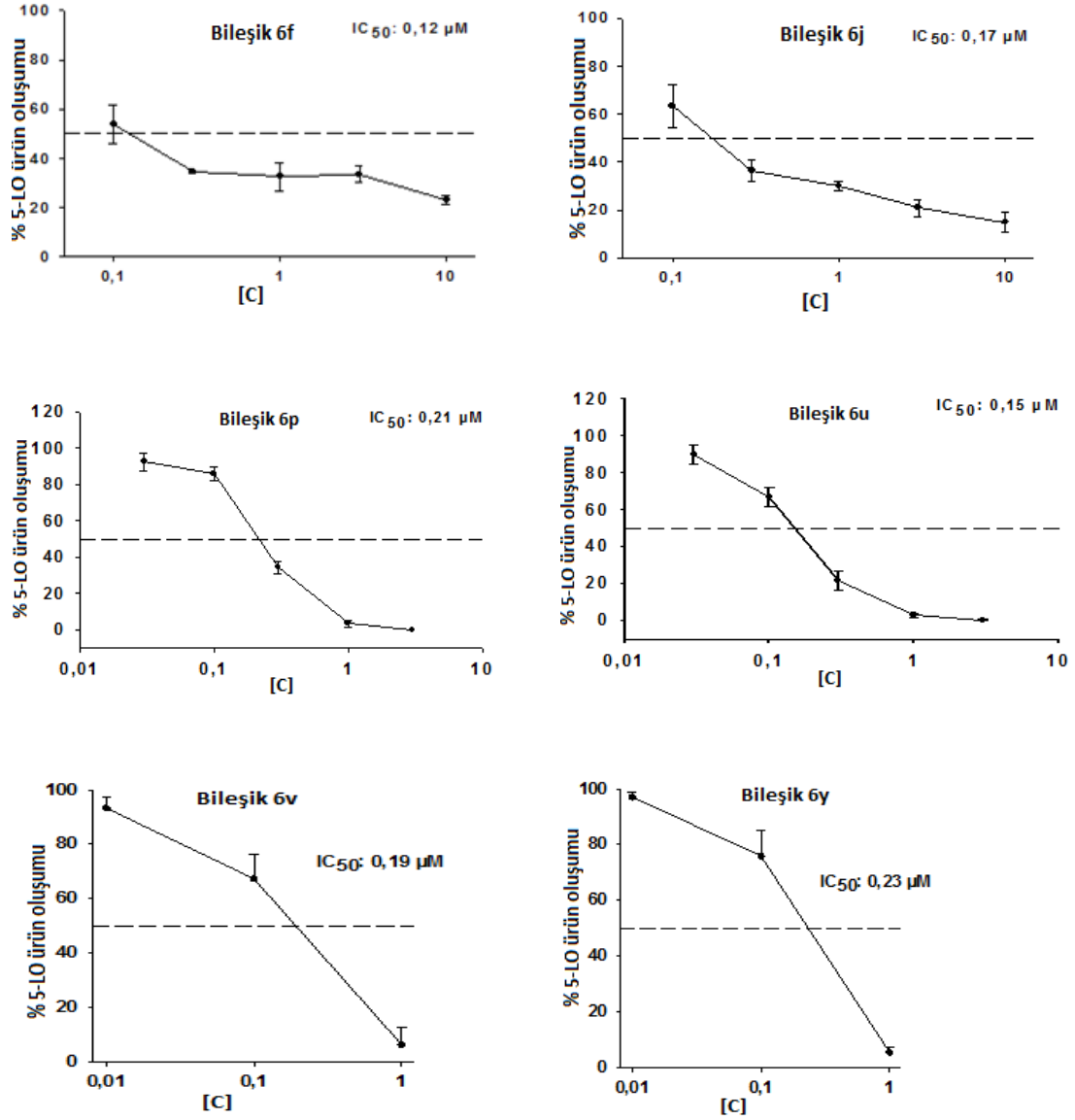
Çizelge 4.1. devamı

#	R ₁	R ₂	%5-LO oluşumu		
			0,1 µM	1 µM	10 µM
6j		CF ₃	63,35 ± 15,77	7,46 ± 2,43	0,55 ± 0,48
6k		CF ₃	81,57 ± 11,95	71,08 ± 17,60	t.e
6l		CF ₃	78,90 ± 6,46	58,08 ± 24,28	t.e
6m		CF ₃	94,87 ± 8,58	99,86 ± 6,47	t.e
6n		CF ₃	82,14 ± 8,84	60,17 ± 9,25	t.e
6o		CF ₃	97,90 ± 9,12	90,90 ± 8,31	t.e
6p		CF ₃	70,68 ± 20,19	1,93 ± 1,69	t.e
6r		CF ₃	85,25 ± 17,91	65,24 ± 19,36	t.e
6s		CF ₃	82,70 ± 4,96	55,64 ± 19,74	t.e
6t		CF ₃	99,22 ± 10,35	98,16 ± 2,94	t.e
6u		CF ₃	85,95 ± 6,88	0,00 ± 0,00	t.e
6v		Cl	67,32 ± 15,69	6,38 ± 11,05	t.e
6y		Cl	75,94 ± 16,14	5,47 ± 3,41	t.e
MK-886			t.e	2,7 ± 1,2	t.e

Çizelge 4.2. IC₅₀ tablosu⁴

Bileşik	IC ₅₀ µM
6f	0,12 ± 0,04
6j	0,17 ± 0,01
6p	0,21 ± 0,03
6u	0,15 ± 0,03
6v	0,17 ± 0,05
6y	0,23 ± 0,07

⁴ IC₅₀ değerleri, 2,5 µM Ca⁺² ionophore A23187 ile aktive edilmiş PMNL hücrelerinden elde edilen değerlerle SigmaPlot 11 yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır (ortalama ± S.E., n=3-6)



Şekil 4.1. 6f, 6j, 6p, 6u, 6v ve 6y kodlu bileşiklerin IC_{50} grafikleri

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez kapsamında BRP-7 öncü bileşiğinden hareketle ($IC_{50} = 0.31 \mu M$) daha potent yeni FLAP inhibitörleri geliştirilmesi amacıyla yürütülen çalışmada öncelikle rasemik olarak LT biyosentezi inhibitör etkisi bilinen BRP-7'nin enantiyomerlerine ayrılması ve inhibitör aktivitelerinin incelenmesi ve elde edilen sonuçlar doğrultusunda ileri yapı-etki çalışmalara devam edilmesi planlanmıştır.

5.1. Kiral Ayrım

Kiralite ilaç endüstrisi için oldukça önemli bir kavramdır ve pek çok ilacın kiral aktif içeriği bulunmaktadır. Bu ilaçların önemli kısmı enantiyosaf olarak tıbbın hizmetine sunulmuştur. Enantiyomerlerin aynı hedefi farklı oranlarda etkileyebildikleri veya farklı hedeflere de yönelebildikleri bilinmektedir [111].

Bu bilgilerin ışığında çalışmamızın öncü bileşiği olan rasemik BRP-7'nin enantiyomerlerinin aktiviteye olan katkılarını görmek amacıyla saf enantiyomerlerin elde edilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla “kimyasal yaklaşım” veya “rasemik yaklaşım” yöntemleri izlenebilir. Kimyasal yaklaşımda her bir enantiyomer için ayrı sentez yöntemi ve bu yöntemlerde kullanılmak üzere asimetric sentezlerde kullanılan yardımcı reajanlara ihtiyaç vardır. Bu yöntemin enantiyomerlere yüksek miktarlarda ihtiyaç duyulduğunda kullanılması daha uygundur. Rasemik yaklaşım ise diğer yaklaşıma kıyasla daha basit ve mali açıdan daha uygun bir sentez yöntemi ile elde edilen rasematın uygun bir kiral sabit faz (KSF) kullanılarak kromatografik yöntemle ayrılması işlemidir. Bu yöntem enantiyomerlere az miktarlarda ihtiyaç duyulduğunda daha işlevli olmaktadır [112]. Amaçlarımıza uygun olması nedeniyle ikinci strateji benimsenmiştir.

İlk olarak doğru KSF'yi belirleyebilmek için kolon taraması gerçekleştirilmiştir. Amiloz tris(5-kloro-2-metilfenilkarbamat)'tan oluşan Lux Amylose-2 (KSF 1), selüloz tris(3-kloro-4-metilfenilkarbamat)'tan oluşan Lux Cellulose-2 (KSF 2) ve selüloz tris(4-kloro-3-metilfenilkarbamat)'tan oluşan Sepapak-4 (KSF 3) kolonları n-hekzan/EtOH/DEA-80/20/0.2 (v/v/v) mobil fazı kullanılarak 1,0 mL/min akış hızında 25 °C kolon sıcaklığında 254 nm dalga

boyunda test edilmiş ve en iyi ayrımı 1,61 resolüsyon faktörü ile KSF 1'in verdiği görülmüştür.

Çizelge 5.1. Taranan KSF'ler ve elde edilen parametreler.

KSF	Seçilmiş kromatografik parametreler			
	k_S	k_R	α	R_s
1	0,45	1,17	2,60	1,61
2	5,97	5,97	1,00	-
3	2,42	2,71	1,12	0,40

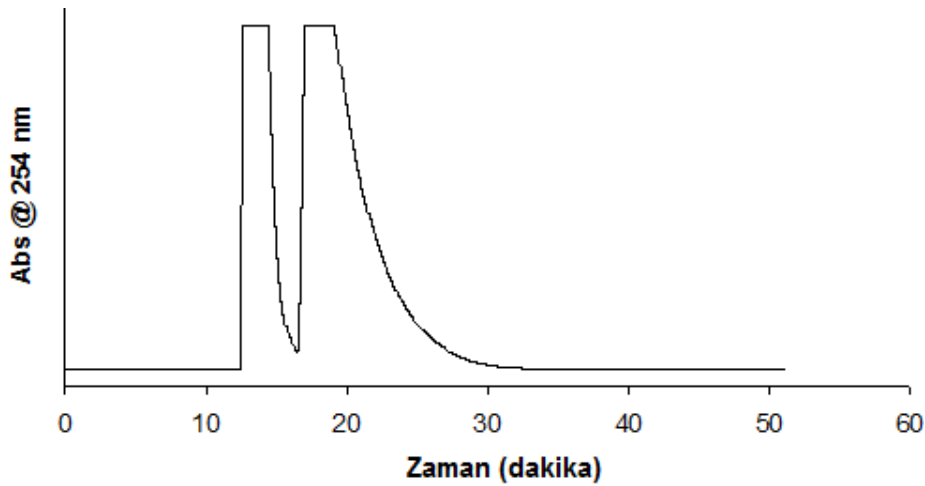
*(Mobil faz: n-hexane/EtOH/DEA-80/20/0.2 (v/v/v))

Uygun kolonun belirlenmesinin ardından mobil faz optimizasyonuna geçilmiştir. Kolon taraması esnasındaki rezolüsyon değeri analitik ölçek için oldukça iyi olsa da preparatif ölçek için geliştirilmesi gerekmiştir. Geliştirme çalışmalarına mobil fazdaki etanol miktarı azaltılarak başlanmıştır. Bu sayede, numunemizle yarışan etanol miktarını uygun seviyeye çekip, numunemizin kiral kavite içindeki fonksiyonel gruplarla etkileşimini optimize etmek amaçlanmıştır. Bu doğrultuda etanol miktarı % 20'den kademeli olarak % 10'a indirilmiştir ve buna karşılık R_s değerinin 1,61'den 1,94'e çıktığı gözlenmiştir. Rezolüsyonu daha artırmak için mobil faza bazik katkı maddesi eklenmeye karar verilmiştir. Bu tarz katkı maddeleri kolonda bulunan serbest silanolleri maskeleyerek bu grupların numuneyle etkileşimini ortadan kaldırarak muhtemel kuyruklanmayı yok etmekte ve böylelikle çözünürlüğü artırmış olmaktadır. Bu amaçla öncelikle mobil faza % 0,5 dietilamin (DEA) eklenmiş ardından bu oran % 0,1'e ve son olarak % 0,2'ye çıkarılmıştır. Bu işlemlerle R_s değeri 2,10'a kadar ulaşmıştır. Son bir optimizasyonla etanol miktarı % 1'e çekilerek optimum mobil faza 2,39'luk R_s değeri ile ulaşılmıştır.

Çizelge 5.2. Mobil faz çalışması ve elde edilen parametreler

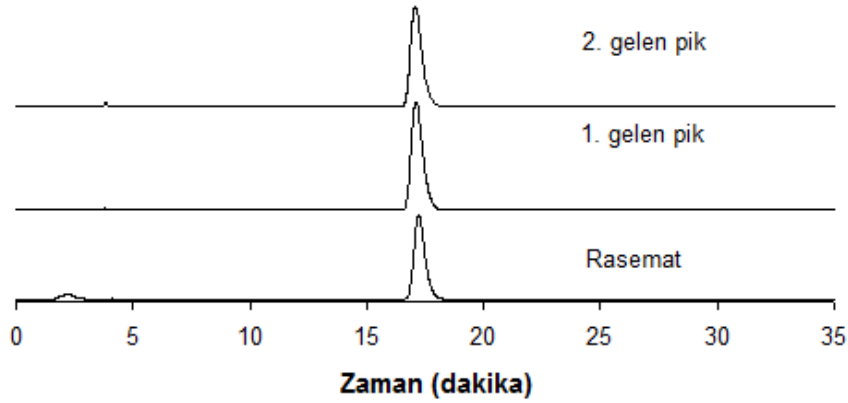
Mobil Faz İçeriği	Bazık katkı maddesi	Seçilmiş kromatografik parametreler			
		k_1	k_2	α	Rs
n-Hekzan/EtOH-80/20)(v/v)	-	0,45	1,17	2,60	1,61
n-Hekzan/EtOH-85/15)(v/v)	-	0,58	1,49	2,60	1,72
n-Hekzan/EtOH-90/10)(v/v)	-	0,78	2,03	2,60	1,94
n-Hekzan/EtOH-90/10)(v/v)	DEA %0,05	0,84	2,21	2,60	1,98
n-Hekzan/EtOH-90/10)(v/v)	DEA %0,1	0,81	2,13	2,60	1,98
n-Hekzan/EtOH-90/10)(v/v)	DEA %0,2	0,83	2,26	2,70	2,10
n-Hekzan/EtOH-(99/1)(v/v)	DEA %0,2	3,39	6,17	1,80	2,39

Mobil faz optimizasyonunun ardından enantiyomerlerin ayrı ayrı toplanılmasına başlanmıştır. Ardışık yapılan dört enjeksiyonda kolona ortalama 5 mg/ml madde yüklenerek rasemat ayrılmaya başlanmıştır. Sonuç olarak, toplamda her bir enantiyomerden yaklaşık 20'şer mg toplanmıştır.



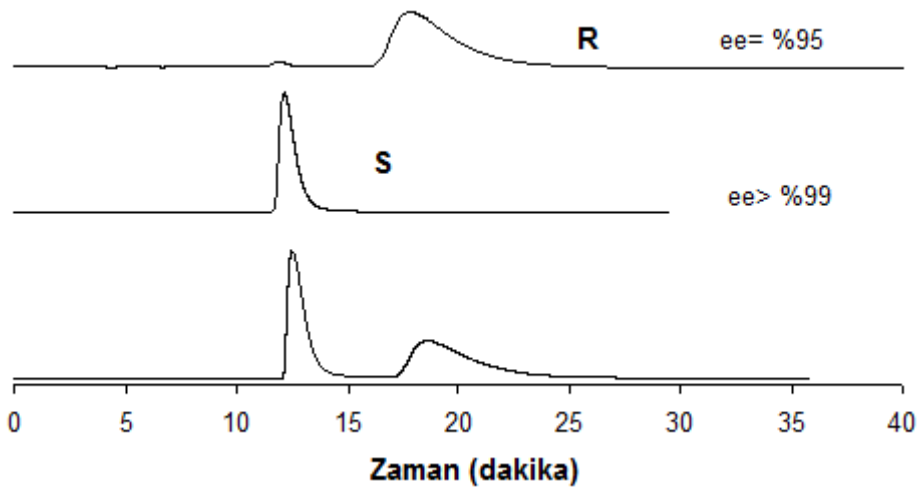
Şekil 5.1. Preparatif kromatogram.

Ayrılma işlemi tamamlandıktan sonra enantiyomerler olası DEA kalıntısına karşı flash kromatografi tekniği ile n-hekzan/EtOAc solvan sistemi kullanılarak temizlenmiştir. Elde edilen enantiyomerlerin kimyasal saflığı Grace Smart RP-18 kolon kullanılarak H₂O/MeCN-35/65 (v/v) solvan sistemi ile 1.0 ml/min akış hızında kontrol edilerek herhangi bir kirlilik olmadığı tespit edilmiştir.



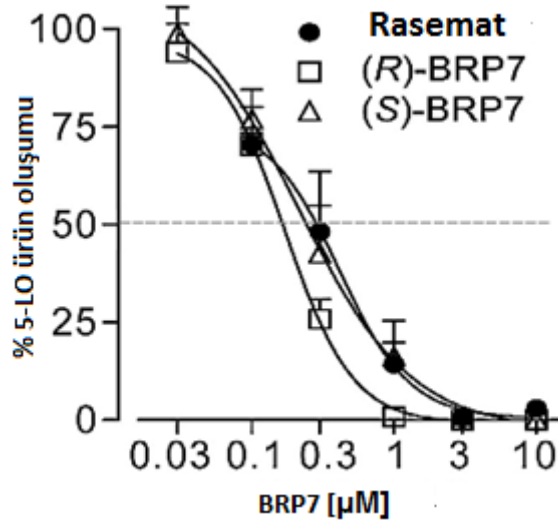
Şekil 5.2. Flash kromatografi yöntemi ile saflaştırılan enantiyomerlerin akiral HPLC yöntemi ile elde edilen kromatogramları.

Kimyasal saflık kontrol edildikten sonra ayırma işlemi sırasında kullanılan kolon ve şartlarda enantiyosafliğa bakılıp enantiyomerik fazlalık değeri (ee) hesaplanmıştır. İlk gelen enantiyomerin içinde ikinci pikin yer almadığı görülmüş ve ee'si $> \% 99$ olarak bildirilmiştir. İkinci enantiyomerde ise ilkinden $\% 2,5$ 'lik bir artığın olduğu görülmüş ve ee $\% 95$ olarak bildirilmiştir. Böylelikle her iki enantiyomerde biyolojik aktivite için yeteri saflıkta elde edilmiştir. Ardından *R* ve *S* tayini için *S*-ibuprofenden başlanarak sentezlenen enantiyomerik fazlalık değeri $\% 75$ olan standartla karşılaştırılmış ve ilk gelen pikin *S* ikinci gelen pikin ise *R* enantiyomeri olduğuna karar verilmiştir.



Şekil 5.3. Elde edilen enantiyomerlerin kiral HPLC yöntemi ile elde edilen enantiyosafliğına ait kromatogramları.

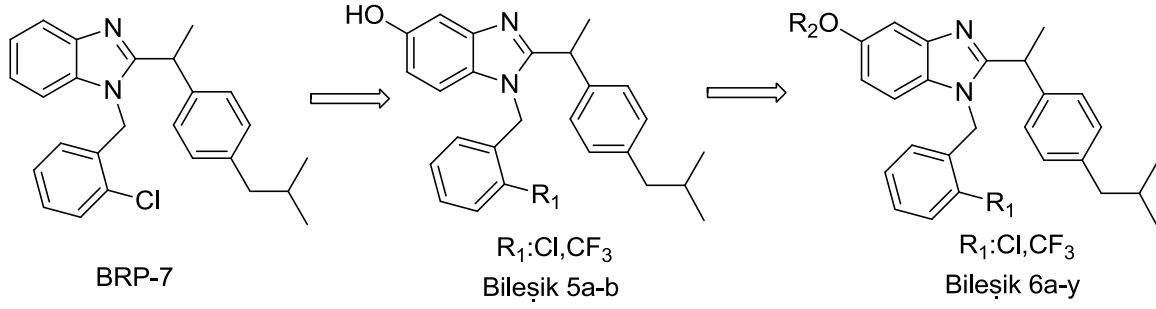
Elde edilen enantiyomerlerin insan PMNL hücrelerinde LT biyosentezi inhibitör etkileri incelenmiştir. Bu incelemede (*R*)- ve (*S*)-enantiyomerlerin ve rasematın IC₅₀ değerleri sırasıyla 0.18 µM, 0.26 µM ve rasemat 0.31 µM olarak hesaplanmıştır [113]. Sonuçlardan da görüleceği üzere enantiyomerler arasında önemli bir inhibisyon farkı gözlemlenmemiştir.



Şekil 5.4. (*R*), (*S*) ve rasemat BRP 7'nin IC₅₀ grafiği

Önceki çalışmalarımızda elde ettiğimiz sonuçlarda BRP-7 bileşiğinde (IC₅₀=0.31 µM) benzimidazol halkasının beşinci konumunda hidroksil, metoksi veya piridinimetoksi taşıyan türevlerde aktivitenin yükseldiği görülmüştür (IC₅₀ değerleri sırasıyla 0.19, 0.12, 0.18 µM). Ayrıca benzimidazol halkasının birinci konumunda klorobenzil yerine triflorometilbenzil grubu taşıyan bileşikte IC₅₀ değeri 0.25 µM olarak bulunmuştur [7].

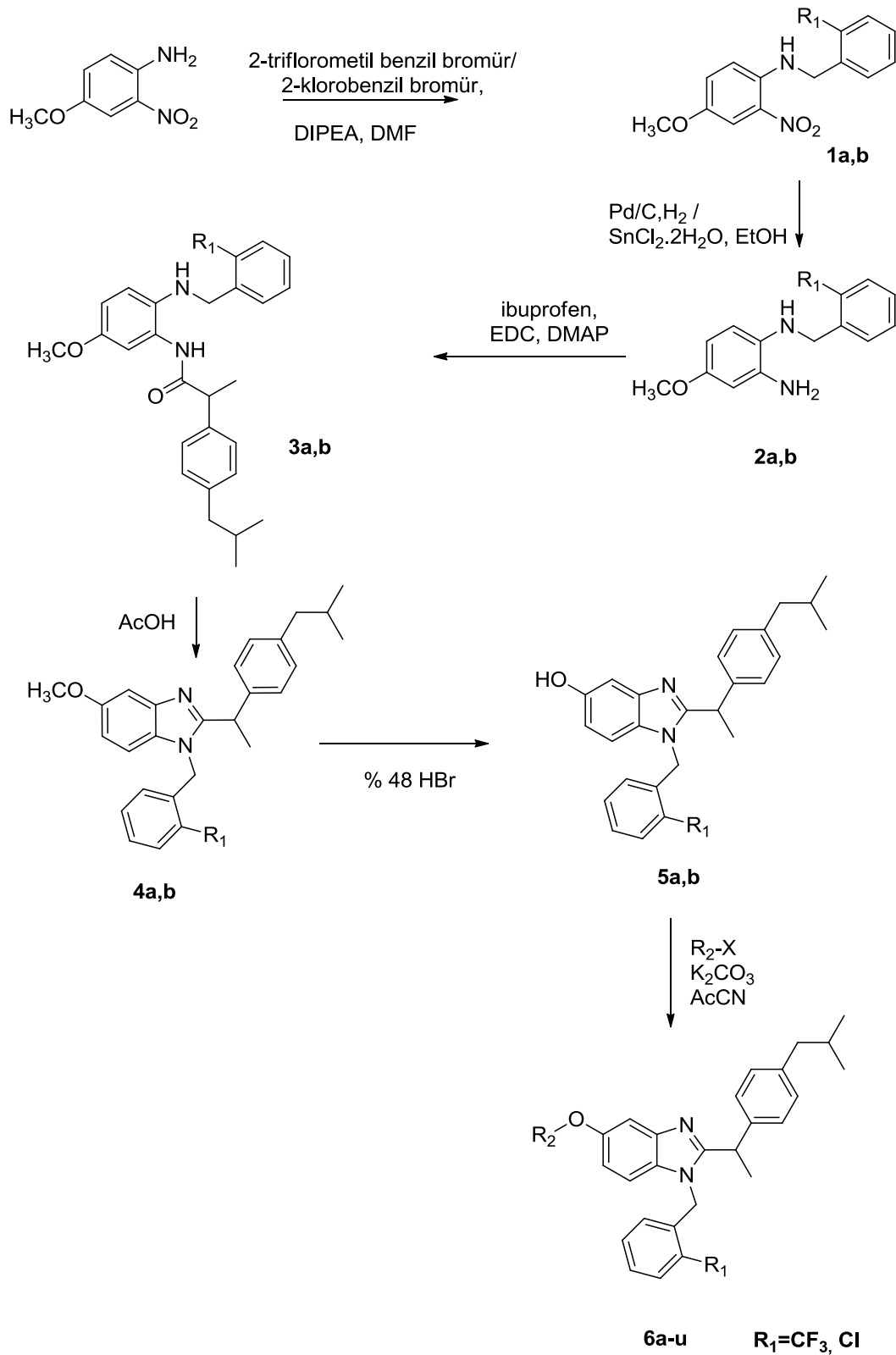
Bu bilgiler ışığı altında, öncelikle benzimidazol N(1) üzerinde 2-triflorometilbenzil ve beşinci konumu üzerinde hidroksil grubu taşıyan Bileşik **5b** elde edilmiştir. Bu bileşik üzerinde türevlendirme yapılarak ondokuz farklı yeni bileşik sentezlenmiştir. Ayrıca N(1) üzerinde 2-klorobenzil kalıntısı taşıyan BRP-7 türevi üç adet final bileşik hazırlanmıştır. Tüm sonuç bileşiklerin insan PMNL hücreleri kullanılarak LT biyosentez inhibitör etkileri test edilmiştir.



Şekil 5.5. BRP-7'nin türevlendirme şeması

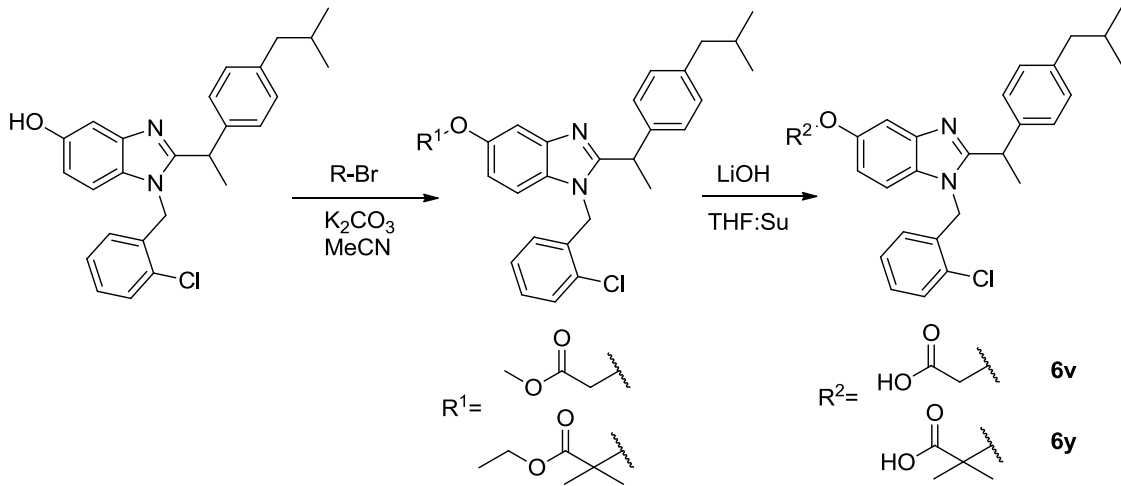
5.2. Sentez Çalışmaları

Tez kapsamında planlanan bileşiklerin sentezinde ilk basamakta, 2-nitro-4-metoksianilin'in 2-triflorometilbenzilbromür veya 2-klorobenzilbromür ile dimetilformamid içinde yer değiştirme reaksiyonu yapılmıştır (**1a-b**). Bileşik **1b** nitro grubu kalay klorür ile redüklenerek amin türevi (**2b**) elde edilmiş, Bileşik **1a** nitro grubu katalitik hidrojenasyon yöntemi ile redüklenerek amin türevi (**2a**) elde edilmiştir. Elde edilen bu amin türevleri, EDC varlığında ibuprofen ile tepkimeye sokularak amit türevleri elde edilmiştir (**3a-b**). Amit türevlerinin asetik asit içinde ısıtılması sonucu halka kapanması ile benzimidazol türevlerine ulaşılmıştır (**4a-b**). Benzimidazol halkasının beşinci konumunda yer alan metoksi grubunun HBr ile hidrolizi sonucu hidroksil türevleri sentezlenmiştir (**5a-b**). Elde edilen bileşikler beşinci konumundaki hidroksil grubu üzerinden uygun alkil halojenürlerle tepkimeye sokulmuş ve yirmi adet yeni final ürün sentezlenmiştir (**6a-u**). (Şekil 4)



Şekil 5.6. Sentez şeması

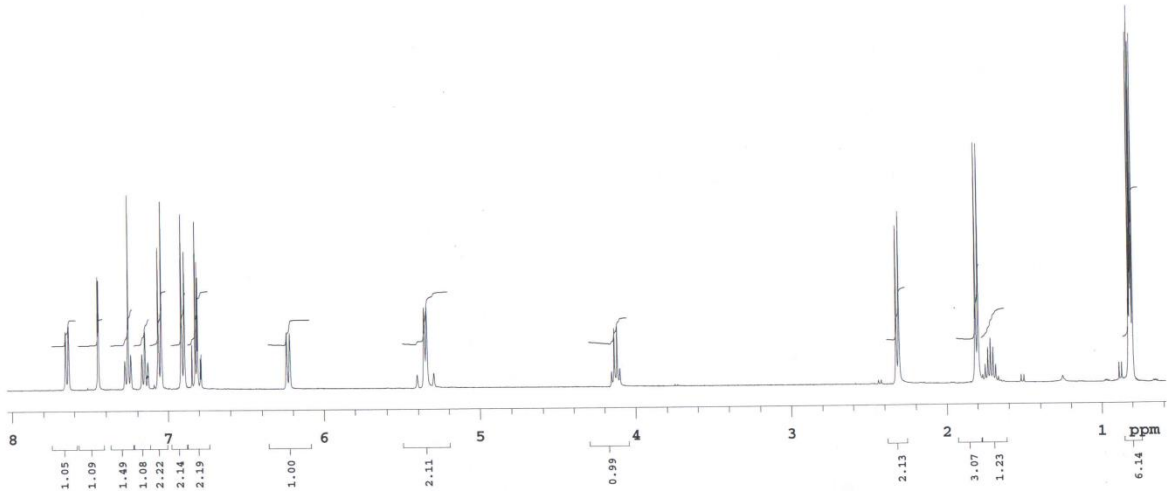
Bileşik **6v** ve **6y**'nin sentezinde ilk basamakta Bileşik **5a** sırasıya metil bromoasetat ve etil α -bromoizobütirat ile reaksiyona sokularak **6v** ve **6y**'nin ester türevleri hazırlanmıştır. Ester türevlerinin lityum hidroksit varlığında tetrahidrofuran:su içerisinde hidrolizi sonucu asit türevleri elde edilmiştir. Bu sentez çalışmaları sonucunda oniki tanesi ara ürün olmak üzere toplam otuz dört adet yeni bileşik elde edilmiştir.



Şekil 5.7. Bileşik **6v** ve **6y** sentez şeması

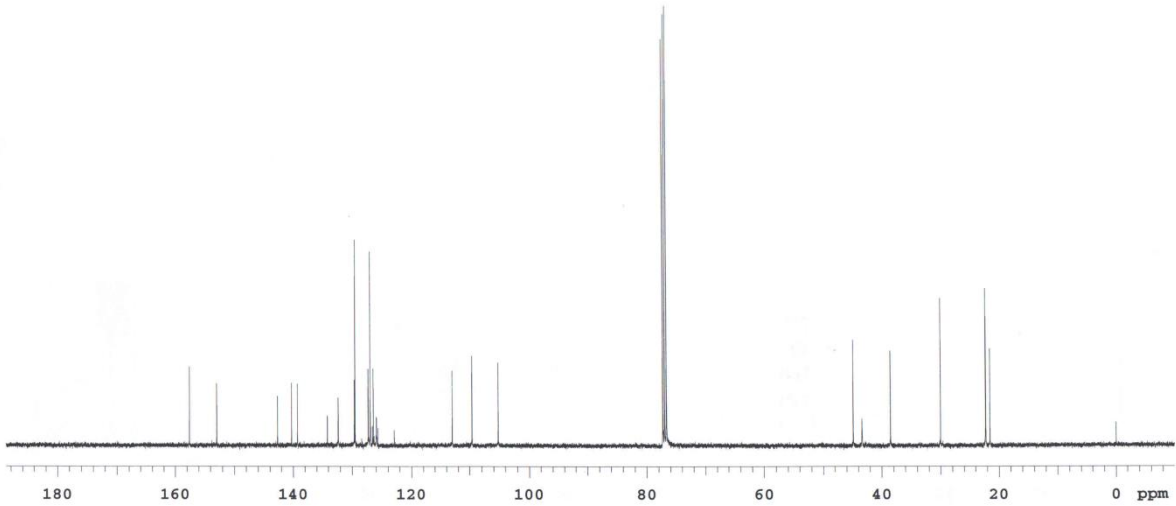
Sentezlenen maddelerin yapılarının aydınlatılması için elementel analiz verilerinden, HRMS, 1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumlarından faydalanılmıştır. Bileşik **5b**'nin $CDCl_3$ içinde alınan 1H -NMR spektrumunda izobütil grubuna ait metil gruplarının protonları 0.80 ve 0.81 ppm'de 6.8 Hz eşleşme sabiti ile gözlenmiştir. İzobütil grubunun metin karbonundaki proton multipler olarak 1.72 ppm'de, metilen protonları ise 2.32 ppm'de dublet olarak ($J=7.2$ Hz) gözlenmiştir. Benzimidazolün ikinci konumuna bağlı kiral merkezde yer alan proton 4.13 ppm'de kuartet olarak ($J=7.2$ Hz) gözlenirken kiral merkeze bağlı metil protonları 1.80 ppm'de dublet olarak ($J=7.2$ Hz) gözlenmiştir. Benzimidazolün birinci konumunda yer alan benzil grubunun metilen protonları ise AB kuartet olarak 5.32 ve 5.38 ppm'de ($J=18$ Hz) gözlenmiştir. İzobütil grubunun bağlı olduğu fenil halkasının 2,2' ve 3,3' protonları 7.05 ve 6.91 ppm'de 7.8 Hz'lik eşleşme sabiti ile dublet olarak sinyal vermiştir. Triflorometil grubunun bağlı olduğu fenil halkasının üçüncü ve altıncı konumundaki protonlar sırası ile 7.65 ve 6.23 ppm'de dublet ($J=7.6$ Hz), dördüncü ve beşinci konumundaki protonlar ise 7.26 ve 7.15 ppm'de triplet ($J=7.6$

Hz) olarak gözlenmiştir. Benzimidazolün dördüncü konumundaki proton 7.45 ppm'de 2.0 Hz eşleşme sabiti ile dublet, yedinci konumundaki proton 6.83 ppm'de 8.8 Hz eşleşme sabiti ile dublet ve altıncı konumundaki proton 6.80 ppm'de 8.8 ve 2.0 Hz eşleşme sabitleri ile dubletin dubleti olarak sinyal vermiştir.



Resim 5.1. Bileşik 5b'nin ^1H -NMR spektrumu

Bileşik **5b**'nin CDCl_3 içinde alınan ^{13}C -NMR spektrumunda, asimetric karbona bağlı metil grubu 21.57, izobütilin metil gruplarına ait pikler 22.27 ve 22.32, izobütilin metin karbonu 30.05, asimetric karbon 38.54, azota bağlı metilen karbonu 43.36, izobütilin metilen karbonu 44.88 ppm'de sinyal vermektedir. Aromatik karbonlara ait pikler 105-158 ppm aralığında gözlenmektedir. Triflorometil karbonuna ait sinyal karbon-flor eşleşmesi sonucunda 124.32 ppm'de eşleşme sabiti 272 Hz olarak sinyal vermektedir. Triflorometil grubunun bağlı olduğu aromatik karbon 126.78 ppm'de ($J=30.5$ Hz), triflorometil benzilin üçüncü konumundaki aromatik karbon ise 125.93 ppm'de ($J=6.1$ Hz) karbon-flor eşleşmesi nedeniyle kuartet olarak sinyal vermektedir.



Resim 5.2. Bileşik 5b'nin ^{13}C -NMR spektrumu

5.3. Aktivite Çalışmaları

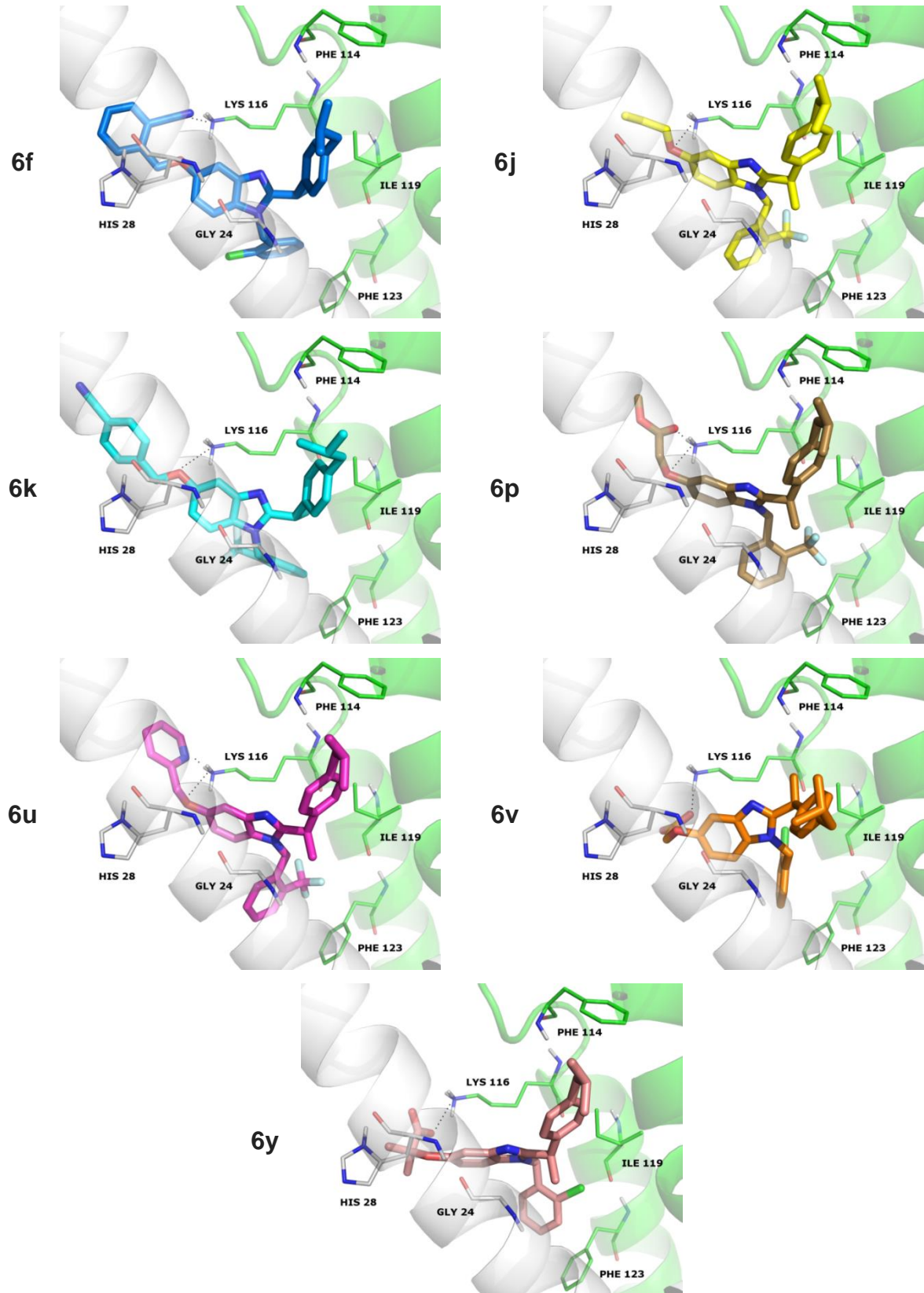
Yapılan sentez çalışmaları sonrasında elde edilen ürünlerin insan PMNL'de LT biyosentezi inhibitörü etkilerinin taranması 10 μM , 1 μM ve 0.1 μM konsantrasyonlarda gerçekleştirilmiş, bu tarama sonrasında yüksek aktivite gösteren **6f**, **6j**, **6p**, **6u**, **6v** ve **6y** kodlu bileşiklerin IC_{50} değerleri ayrıca hesaplanmıştır. Sonuçlara göre en yüksek oranda aktivite gösteren, benzimidazolün birinci konumunda 2-klorobenzil grubu ve beşinci konumda 2-siyanobenzil grubu taşıyan 0.12 μM IC_{50} değerine sahip **6f** kodlu bileşiktir. Bunun dışında benzimidazolün birinci konumunda 2-triflorometilbenzil olan türevlerden beşinci konumunda alliloksi bulunan bileşik **6j**'nin IC_{50} değeri 0.17 μM , metil asetat bulunan bileşik **6p**'nin IC_{50} değeri 0.21 μM , 2-piridinilmetoksi bulunan bileşik **6u**'nun IC_{50} değeri ise 0.15 μM 'dır. Birinci konumda 2-klorobenzil grubu, beşinci konumunda ise asetik asit ve dimetilasetik asit kalıntısı taşıyan iki bileşiğin (**6v**, **6y**) IC_{50} değerleri ise sırasıyla 0.19 μM ve 0.23 μM olarak saptanmıştır. Bu bileşikler başlangıç maddemiz BRP-7'den 2-3 kat daha aktiftir.

BRP-7'nin birinci konumundaki benzil üzerindeki klor triflorometille değiştirildiğinde IC_{50} değeri 0.31 μM 'den 0.25 μM 'ye düşmektedir. Ayrıca, beşinci konumda 2-piridinilmetoksi taşıyan türevde klor triflorometille (Bileşik **6u**) değiştirildiğinde IC_{50} değeri 0.19'dan 0.15 μM 'a düşmüştür. Ancak beşinci

konumda 2-siyanobenziloksi grubu olan türevlerde klor taşıyan türev **6f**, triflorometil taşıyan türev **6r**'den daha aktiftir (Çizelge 4.1).

5.4. Moleküler Modelleme Çalışmaları

Bileşiklerin olası etkileşimlerini belirlemek için FLAP'a ait (PDB Kodu: 2Q7M [33]) kristal yapısı üzerinde doklama çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Glide 5.8 (Schrodinger Inc.) programı ile gerçekleştirilen doklama tekniği uygulanmış ve GlideScore SP ile en olası pozlar (Resim 5.3) üretilmiştir. Genel olarak serideki tüm bileşiklere bakıldığında benzimidazol çekirdeği Lys116 ile katyon- π , benzimidazol çekirdeğinde birinci konuma bağlı o-substitüe-benzil türevleri Phe123 ile π - π , ikinci konuma bağlanan gruplar hidrofobik kavitedeki amino asitlerle van der Waals etkileşimleri yapmaktadır. Phe114 ve Tyr112 π - π etkileşimleri ile bu bölgeye yerleşmeyi sağlamaktadır. Lys116 ile yapılacak hidrojen bağları ve tuz köprüleri aktiviteye olumlu katkı sağlamaktadır. Örneğin şekilde görülebileceği üzere **6f** kodlu bileşikteki nitril grubunun Lys116 ile yaptığı hidrojen bağının **6k**'de bulunmaması ve bu grubun aktif bölgenin biraz dışına taşınması aktivitedeki değişikliği açıklamaktadır. Yine seride yer alan diğer bileşiklerin yaptıkları hidrojen bağlarının aktiviteye olumlu katkı sağladığı görülmüştür.



Resim 5.3. Bileşiklerin (6f, 6j, 6k, 6u, 6p, 6v, 6y) FLAP aktif yoresinde olası bağlanma modu

Moleküler modelleme çalışmalarından da anlaşılacağı üzere N(1)-benzil grubunun ikinci konumundaki süstitüentlerin benzil halkasının oryantasyonunu etkilediği ve π - π etkileşimine olanak sağladığı düşünülmektedir. Bu sonuçlar ve daha önceki çalışmalarımızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre N(1)-benzil grubunun ikinci konumundaki küçük değişikliklerin aktiviteyi çok değiştirmedeği ancak benzil grubu üzerinde ikinci konumda bir süstitüent olması gerektiği anlaşılmaktadır. Moleküler modelleme çalışmaları sonucu belirlenen bir diğer önemli etkileşim ise benzimidazol halkasının beşinci konumunda yer alan süstitüentlerin aktif bölgedeki membran açıklığında yer alan lizin amino asiti ile hidrojen bağı veya tuz köprüsü gibi etkileşimler olup aktiviteye olumlu katkı sağladıkları düşünülmektedir. Bu amaçla karboksil grubu taşıyan **6v** ve **6y** bileşikler sentezlenerek lizin ile tuz köprüsü yapması amaçlanmıştır. Bu bileşiklerin IC_{50} değerleri 0.19 ve 0.23 μ M olarak hesaplanmış ve bu bileşikler öncü bileşik BRP-7'den daha aktif bulunmuştur. Bu bileşiklerin ortak özelliklerine baktığımızda beşinci konumda nispeten küçük hacimli, hidrojen bağı veya polar etkileşimler yapabilecek süstitüsyonların aktiviteye önemli katkı sağladığı sonucu çıkarılmaktadır. Böylece moleküler modelleme çalışmaları ile aktif bileşiklerin FLAP aktif bölgesiyle olası etkileşimleri incelenmiş daha ileri araştırmalar için ipuçları elde edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Charlier, C. and Michaux, C., (2003). Dual inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) and 5-lipoxygenase (5-LOX) as a new strategy to provide safer non-steroidal anti-inflammatory drugs. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 38(7-8), 645-659.
2. Hutchinson, J. H., Riendeau, D., Brideau, C., Chan, C., Delorme, D., Denis, D., Falguyret, J. P., Fortin, R., Guay, J., Hamel, P. and et al., (1993). Substituted thiopyrano[2,3,4-c,d]indoles as potent, selective, and orally active inhibitors of 5-lipoxygenase. Synthesis and biological evaluation of L-691,816. *Journal of Medicinal Chemistry*, 36(19), 2771-2787.
3. Nakamura, C., Kawasaki, N., Miyataka, H., Jayachandran, E., Kim, I. H., Kirk, K. L., Taguchi, T., Takeuchi, Y., Hori, H. and Satoh, T., (2002). Synthesis and biological activities of fluorinated chalcone derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 10(3), 699-706.
4. Peters-Golden, M. and Henderson, W. R., Jr., (2007). Leukotrienes. *The New England Journal of Medicine*, 357(18), 1841-1854.
5. Radmark, O., Werz, O., Steinhilber, D. and Samuelsson, B., (2007). 5-Lipoxygenase: regulation of expression and enzyme activity. *Trends in Biochemical Sciences*, 32(7), 332-341.
6. Werz, O. and Steinhilber, D., (2006). Therapeutic options for 5-lipoxygenase inhibitors. *Pharmacology and Therapeutics*, 112(3), 701-718.
7. Banoglu, E., Caliskan, B., Luderer, S., Eren, G., Ozkan, Y., Altenhofen, W., Weinigel, C., Barz, D., Gerstmeier, J., Pergola, C. and Werz, O., (2012). Identification of novel benzimidazole derivatives as inhibitors of leukotriene biosynthesis by virtual screening targeting 5-lipoxygenase-activating protein (FLAP). *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20(12), 3728-3741.
8. Brash, A. R., (1999). Lipoxygenases: occurrence, functions, catalysis, and acquisition of substrate. *Journal of Biological Chemistry*, 274(34), 23679-23682.
9. Kuhn, H., (2000). Structural basis for the positional specificity of lipoxygenases. *Prostaglandins Other Lipid Mediators*, 62(3), 255-270.
10. Schwarz, K., Walther, M., Anton, M., Gerth, C., Feussner, I. and Kuhn, H., (2001). Structural basis for lipoxygenase specificity. Conversion of the human leukocyte 5-lipoxygenase to a 15-lipoxygenating enzyme species by site-directed mutagenesis. *Journal of Biological Chemistry*, 276(1), 773-779.
11. Steinhilber, D., Fischer, A. S., Metzner, J., Steinbrink, S. D., Roos, J., Ruthardt, M. and Maier, T. J., (2010). 5-lipoxygenase: underappreciated role

- of a pro-inflammatory enzyme in tumorigenesis. *Frontiers in Pharmacology*, 1, 143-150.
12. Pommery, N., Massingham, R. and Henichart, J. P., (2006). 5-Lipoxygenase inhibitors - patent and literature activity during 2001-2004. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 16(1), 13-26.
 13. Pergola, C. and Werz, O., (2010). 5-Lipoxygenase inhibitors: a review of recent developments and patents. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 20(3), 355-375.
 14. Hofmann, B., Barzen, S., Rodl, C. B., Kiehl, A., Borig, J., Zivkovic, A., Stark, H., Schneider, G. and Steinhilber, D., (2011). A class of 5-benzylidene-2-phenylthiazolinones with high potency as direct 5-lipoxygenase inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 54(6), 1943-1947.
 15. Tager, A. M. and Luster, A. D., (2003). BLT1 and BLT2: the leukotriene B(4) receptors. *Prostaglandins, Leukotrienes & Essential Fatty Acids*, 69(2-3), 123-134.
 16. Boudreau, L. H., Maillet, J., LeBlanc, L. M., Jean-Francois, J., Touaibia, M., Flamand, N. and Surette, M. E., (2012). Caffeic acid phenethyl ester and its amide analogue are potent inhibitors of leukotriene biosynthesis in human polymorphonuclear leukocytes. *PLoS One*, 7(2), e31833.
 17. Charlier, C., Henichart, J. P., Durant, F. and Wouters, J., (2006). Structural insights into human 5-lipoxygenase inhibition: combined ligand-based and target-based approach. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(1), 186-195.
 18. Radmark, O. and Samuelsson, B., (2007). 5-lipoxygenase: regulation and possible involvement in atherosclerosis. *Prostaglandins Other Lipid Mediators*, 83(3), 162-174.
 19. Feisst, C., Pergola, C., Rakonjac, M., Rossi, A., Koeberle, A., Dodt, G., Hoffmann, M., Hoernig, C., Fischer, L., Steinhilber, D., Franke, L., Schneider, G., Radmark, O., Sautebin, L. and Werz, O., (2009). Hyperforin is a novel type of 5-lipoxygenase inhibitor with high efficacy in vivo. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66(16), 2759-2771.
 20. Bresell, A., Weinander, R., Lundqvist, G., Raza, H., Shimoji, M., Sun, T. H., Balk, L., Wiklund, R., Eriksson, J., Jansson, C., Persson, B., Jakobsson, P. J. and Morgenstern, R., (2005). Bioinformatic and enzymatic characterization of the MAPEG superfamily. *FEBS Journal*, 272(7), 1688-1703.
 21. Hebert, H. and Jegerschold, C., (2007). The structure of membrane associated proteins in eicosanoid and glutathione metabolism as determined by electron crystallography. *Current Opinion in Structural Biology*, 17(4), 396-404.

22. Samuelsson, B., Morgenstern, R. and Jakobsson, P. J., (2007). Membrane prostaglandin E synthase-1: a novel therapeutic target. *Pharmacological Reviews*, 59(3), 207-224.
23. Jakobsson, P. J., Morgenstern, R., Mancini, J., Ford-Hutchinson, A. and Persson, B., (2000). Membrane-associated proteins in eicosanoid and glutathione metabolism (MAPEG). A widespread protein superfamily. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 161(2 Pt 2), S20-4.
24. Lam, B. K. and Austen, K. F., (2002). Leukotriene C4 synthase: a pivotal enzyme in cellular biosynthesis of the cysteinyl leukotrienes. *Prostaglandins Other Lipid Mediators*, 68-69, 511-520.
25. Bisgaard, H., (2001). Leukotriene modifiers in pediatric asthma management. *Pediatrics*, 107(2), 381-390.
26. Byrum, R. S., Goulet, J. L., Griffiths, R. J. and Koller, B. H., (1997). Role of the 5-lipoxygenase-activating protein (FLAP) in murine acute inflammatory responses. *Journal of Experimental Medicine*, 185(6), 1065-1075.
27. Johansson, K., Ahlen, K., Rinaldi, R., Sahlander, K., Siritantikorn, A. and Morgenstern, R., (2007). Microsomal glutathione transferase 1 in anticancer drug resistance. *Carcinogenesis*, 28(2), 465-470.
28. Siritantikorn, A., Johansson, K., Ahlen, K., Rinaldi, R., Suthiphongchai, T., Wilairat, P. and Morgenstern, R., (2007). Protection of cells from oxidative stress by microsomal glutathione transferase 1. *Biochemical Biophysical Research Communications*, 355(2), 592-596.
29. Mancini, J. A., Abramovitz, M., Cox, M. E., Wong, E., Charleson, S., Perrier, H., Wang, Z., Prasit, P. and Vickers, P. J., (1993). 5-lipoxygenase-activating protein is an arachidonate binding protein. *Febs Letters*, 318(3), 277-281.
30. Young, R. N., Gillard, J. W., Hutchinson, J. H., Leger, S. and Prasit, P., (1993). Discovery of inhibitors of the 5-lipoxygenase activating protein (flap). *Journal of Lipid Mediators*, 6(1-3), 233-238.
31. Rouzer, C. A., Ford-Hutchinson, A. W., Morton, H. E. and Gillard, J. W., (1990). MK886, a potent and specific leukotriene biosynthesis inhibitor blocks and reverses the membrane association of 5-lipoxygenase in ionophore-challenged leukocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 265(3), 1436-1442.
32. Plante, H., Picard, S., Mancini, J. and Borgeat, P., (2006). 5-Lipoxygenase-activating protein homodimer in human neutrophils: evidence for a role in leukotriene biosynthesis. *Biochemical Journal*, 393(Pt 1), 211-218.
33. Ferguson, A. D., McKeever, B. M., Xu, S., Wisniewski, D., Miller, D. K., Yamin, T. T., Spencer, R. H., Chu, L., Ujjainwalla, F., Cunningham, B. R.,

- Evans, J. F. and Becker, J. W., (2007). Crystal structure of inhibitor-bound human 5-lipoxygenase-activating protein. *Science*, 317(5837), 510-512.
34. Greiner, C., Hornig, C., Rossi, A., Pergola, C., Zettl, H., Schubert-Zsilavecz, M., Steinhilber, D., Sautebin, L. and Werz, O., (2011). 2-(4-(Biphenyl-4-ylamino)-6-chloropyrimidin-2-ylthio)octanoic acid (HZ52)--a novel type of 5-lipoxygenase inhibitor with favourable molecular pharmacology and efficacy in vivo. *British Journal of Pharmacology*, 164(2b), 781-793.
 35. Ishii, K., Zaitso, M., Yonemitsu, N., Kan, Y., Hamasaki, Y. and Matsuo, M., (2009). 5-lipoxygenase pathway promotes cell proliferation in human glioma cell lines. *Clinical Neuropathology*, 28(6), 445-452.
 36. Hieke, M., Greiner, C., Thieme, T. M., Schubert-Zsilavecz, M., Werz, O. and Zettl, H., (2011). A novel class of dual mPGES-1/5-LO inhibitors based on the alpha-naphthyl pirinixic acid scaffold. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21(5), 1329-1333.
 37. Hornig, M., Markoutsas, S., Hafner, A. K., George, S., Wisniewska, J. M., Rodl, C. B., Hofmann, B., Maier, T., Karas, M., Werz, O. and Steinhilber, D., (2012). Inhibition of 5-lipoxygenase by U73122 is due to covalent binding to cysteine 416. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1821(2), 279-286.
 38. McMillan, R. M. and Walker, E. R., (1992). Designing therapeutically effective 5-lipoxygenase inhibitors. *Trends in Pharmacological Sciences*, 13(8), 323-330.
 39. International.,(2008) T. N. Lipoxygenase and cyclooxygenase inhibition.
 40. Funk, C. D., (2005). Leukotriene modifiers as potential therapeutics for cardiovascular disease. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4(8), 664-672.
 41. Brooks, C. D., Stewart, A. O., Basha, A., Bhatia, P., Ratajczyk, J. D., Martin, J. G., Craig, R. A., Kolasa, T., Bouska, J. B., Lanni, C. and et al., (1995). (R)-(+)-N-[3-[5-[(4-fluorophenyl)methyl]-2-thienyl]-1-methyl-2-propynyl]-N-hydroxyurea (ABT-761), a second-generation 5-lipoxygenase inhibitor. *Journal of Medicinal Chemistry*, 38(24), 4768-4775.
 42. Back, M., (2009). Inhibitors of the 5-lipoxygenase pathway in atherosclerosis. *Current Pharmaceutical Design*, 15(27), 3116-3132.
 43. Lehnigk, B., Rabe, K. F., Dent, G., Herst, R. S., Carpentier, P. J. and Magnussen, H., (1998). Effects of a 5-lipoxygenase inhibitor, ABT-761, on exercise-induced bronchoconstriction and urinary LTE₄ in asthmatic patients. *European Respiratory Journal*, 11(3), 617-623.
 44. Song, H., Oh, S. R., Lee, H. K., Han, G., Kim, J. H., Chang, H. W., Doh, K. E., Rhee, H. K. and Choo, H. Y., (2010). Synthesis and evaluation of benzoxazole derivatives as 5-lipoxygenase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 18(21), 7580-7585.

45. Steinhilber, D., (1999). 5-Lipoxygenase: a target for antiinflammatory drugs revisited. *Current Medicinal Chemistry*, 6(1), 71-85.
46. Crawley, G. C., Dowell, R. I., Edwards, P. N., Foster, S. J., McMillan, R. M., Walker, E. R., Waterson, D., Bird, T. G., Bruneau, P. and Giroaeau, J. M., (1992). Methoxytetrahydropyrans. A new series of selective and orally potent 5-lipoxygenase inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 35(14), 2600-2609.
47. Kusner, E. J., Buckner, C. K., Dea, D. M., DeHaas, C. J., Marks, R. L. and Krell, R. D., (1994). The 5-lipoxygenase inhibitors ZD2138 and ZM230487 are potent and selective inhibitors of several antigen-induced guinea-pig pulmonary responses. *European Journal of Pharmacology*, 257(3), 285-292.
48. Ducharme, Y., Brideau, C., Dube, D., Chan, C. C., Falguyret, J. P., Gillard, J. W., Guay, J., Hutchinson, J. H., McFarlane, C. S., Riendeau, D. and et al., (1994). Naphthalenic lignan lactones as selective, nonredox 5-lipoxygenase inhibitors. Synthesis and biological activity of (methoxyalkyl)thiazole and methoxytetrahydropyran hybrids. *Journal of Medicinal Chemistry*, 37(4), 512-518.
49. Mano, T., Stevens, R. W., Ando, K., Kawai, M., Kawamura, K., Nakao, K., Okumura, Y., Okumura, T., Sakakibara, M., Miyamoto, K. and Tamura, T., (2005). Optimization of imidazole 5-lipoxygenase inhibitors and selection and synthesis of a development candidate. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin (Tokyo)*, 53(8), 965-973.
50. Steinhilber, D. and Hofmann, B., (2014). Recent Advances in the Search for Novel 5-Lipoxygenase Inhibitors. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 114(1), 70-77.
51. Masferrer, J. L., Zweifel, B. S., Hardy, M., Anderson, G. D., Dufield, D., Cortes-Burgos, L., Pufahl, R. A. and Graneto, M., (2010). Pharmacology of PF-4191834, a Novel, Selective Non-Redox 5-Lipoxygenase Inhibitor Effective in Inflammation and Pain. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 334(1), 294-301.
52. Landwehr, J., George, S., Karg, E. M., Poeckel, D., Steinhilber, D., Troschuetz, R. and Werz, O., (2006). Design and synthesis of novel 2-amino-5-hydroxyindole derivatives that inhibit human 5-lipoxygenase. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(14), 4327-4332.
53. Karg, E. M., Luderer, S., Pergola, C., Buhning, U., Rossi, A., Northoff, H., Sautebin, L., Troschutz, R. and Werz, O., (2009). Structural optimization and biological evaluation of 2-substituted 5-hydroxyindole-3-carboxylates as potent inhibitors of human 5-lipoxygenase. *Journal of Medicinal Chemistry*, 52(11), 3474-3483.
54. Zheng, M., Ye, D., Deng, Y., Qiu, S., Luo, X., Chen, K., Liu, H. and Jiang, H., (2007). Indole derivatives as potent inhibitors of 5-lipoxygenase: design,

- synthesis, biological evaluation, and molecular modeling. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 17(9), 2414-2420.
55. Steinbrink, S. D., Pergola, C., Buhring, U., George, S., Metzner, J., Fischer, A. S., Hafner, A. K., Wisniewska, J. M., Geisslinger, G., Werz, O., Steinhilber, D. and Maier, T. J., (2010). Sulindac sulfide suppresses 5-lipoxygenase at clinically relevant concentrations. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67(5), 797-806.
 56. Ducharme, Y., Blouin, M., Brideau, C., Chateauneuf, A., Gareau, Y., Grimm, E. L., Juteau, H., Laliberte, S., MacKay, B., Masse, F., Ouellet, M., Salem, M., Styhler, A. and Friesen, R. W., (2010). The Discovery of Setileuton, a Potent and Selective 5-Lipoxygenase Inhibitor. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 1(4), 170-174.
 57. Li, L. H., Berthelette, C., Chateauneuf, A., Ouellet, M., Sturino, C. F. and Wang, Z. Y., (2010). Potent and selective 5-LO inhibitor bearing benzothiophene pharmacophore: Discovery of MK-5286. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20(24), 7440-7443.
 58. Hofmann, B., Franke, L., Proschak, E., Tanrikulu, Y., Schneider, P., Steinhilber, D. and Schneider, G., (2008). Scaffold-hopping cascade yields potent inhibitors of 5-lipoxygenase. *ChemMedChem*, 3(10), 1535-1538.
 59. Suh, J., Yum, E. K., Cheon, H. G. and Cho, Y. S., (2012). Synthesis and biological evaluation of N-aryl-4-aryl-1,3-thiazole-2-amine derivatives as direct 5-lipoxygenase inhibitors. *Chemical Biology & Drug Design*, 80(1), 89-98.
 60. Bertolini, A., Ottani, A. and Sandrini, M., (2001). Dual acting anti-inflammatory drugs: a reappraisal. *Pharmacological Research*, 44(6), 437-450.
 61. Celotti, F. and Laufer, S., (2001). Anti-inflammatory drugs: new multitarget compounds to face an old problem. The dual inhibition concept. *Pharmacological Research*, 43(5), 429-436.
 62. Martel-Pelletier, J., Lajeunesse, D., Reboul, P. and Pelletier, J. P., (2003). Therapeutic role of dual inhibitors of 5-LOX and COX, selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Annals of Rheumatic Diseases*, 62(6), 501-509.
 63. Fiorucci, S., Meli, R., Bucci, M. and Cirino, G., (2001). Dual inhibitors of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase. A new avenue in anti-inflammatory therapy? *Biochemical Pharmacology*, 62(11), 1433-1438.
 64. de Gaetano, G., Donati, M. B. and Cerletti, C., (2003). Prevention of thrombosis and vascular inflammation: benefits and limitations of selective or combined COX-1, COX-2 and 5-LOX inhibitors. *Trends in Pharmacological Sciences*, 24(5), 245-252.

65. Albrecht, W., Unger, A., Nussler, A. K. and Laufer, S., (2008). In vitro metabolism of 2-[6-(4-Chlorophenyl)-2,2-dimethyl-7-phenyl-2,3-dihydro-1H-pyrrolizin-5-yl] acetic acid (licofelone, ML3000), an inhibitor of cyclooxygenase-1 and-2 and 5-lipoxygenase. *Drug Metabolism and Disposition*, 36(5), 894-903.
66. Chen, Q. H., Rao, P. N. and Knaus, E. E., (2006). Synthesis and biological evaluation of a novel class of rofecoxib analogues as dual inhibitors of cyclooxygenases (COXs) and lipoxygenases (LOXs). *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14(23), 7898-7909.
67. Moreau, A., Chen, Q. H., Rao, P. N. P. and Knaus, E. E., (2006). Design, synthesis, and biological evaluation of (E)-3-(4-methanesulfonylphenyl)-2-(aryl)acrylic acids as dual inhibitors of cyclooxygenases and lipoxygenases. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14(23), 7716-7727.
68. Moreau, A., Rao, P. N. P. and Knaus, E. E., (2006). Synthesis and biological evaluation of acyclic triaryl (Z)-olefins possessing a 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl pharmacophore: Dual inhibitors of cyclooxygenases and lipoxygenases. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14(15), 5340-5350.
69. Laufer, S., Tries, S., Augustin, J. and Dannhardt, G., (1994). Pharmacological profile of a new pyrrolizine derivative inhibiting the enzymes cyclo-oxygenase and 5-lipoxygenase. *Arzneimittelforschung*, 44(5), 629-636.
70. Tries, S., Neupert, W. and Laufer, S., (2002). The mechanism of action of the new antiinflammatory compound ML3000: inhibition of 5-LOX and COX-1/2. *Inflammation Research*, 51(3), 135-143.
71. Fischer, L., Hornig, M., Pergola, C., Meindl, N., Franke, L., Tanrikulu, Y., Dodt, G., Schneider, G., Steinhilber, D. and Werz, O., (2007). The molecular mechanism of the inhibition by licofelone of the biosynthesis of 5-lipoxygenase products. *British Journal of Pharmacology*, 152(4), 471-480.
72. Koeberle, A., Siemoneit, U., Buhning, U., Northoff, H., Laufer, S., Albrecht, W. and Werz, O., (2008). Licofelone suppresses prostaglandin E2 formation by interference with the inducible microsomal prostaglandin E2 synthase-1. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 326(3), 975-982.
73. Koeberle, A., Siemoneit, U., Northoff, H., Hofmann, B., Schneider, G. and Werz, O., (2009). MK-886, an inhibitor of the 5-lipoxygenase-activating protein, inhibits cyclooxygenase-1 activity and suppresses platelet aggregation. *European Journal of Pharmacology*, 608(1-3), 84-90.
74. Kulkarni, S. K. and Singh, V. P., (2008). Licofelone: the answer to unmet needs in osteoarthritis therapy? *Current Rheumatology Reports*, 10(1), 43-48.
75. Sud'ina, G. F., Pushkareva, M. A., Shephard, P. and Klein, T., (2008). Cyclooxygenase (COX) and 5-lipoxygenase (5-LOX) selectivity of COX

- inhibitors. *Prostaglandins, Leukotrienes & Essential Fatty Acids*, 78(2), 99-108.
76. Maier, T. J., Tausch, L., Hoernig, M., Coste, O., Schmidt, R., Angioni, C., Metzner, J., Groesch, S., Pergola, C., Steinhilber, D., Werz, O. and Geisslinger, G., (2008). Celecoxib inhibits 5-lipoxygenase. *Biochemical Pharmacology*, 76(7), 862-872.
 77. Scholz, M., Ulbrich, H. K., Soehnlein, O., Lindbom, L., Mattern, A. and Dannhardt, G., (2009). Diaryl-dithiolanes and -isothiazoles: COX-1/COX-2 and 5-LOX-inhibitory, *OH scavenging and anti-adhesive activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17(2), 558-568.
 78. Chowdhury, M. A., Abdellatif, K. R., Dong, Y., Das, D., Suresh, M. R. and Knaus, E. E., (2008). Synthesis of celecoxib analogs that possess a N-hydroxypyrid-2(1H)one 5-lipoxygenase pharmacophore: biological evaluation as dual inhibitors of cyclooxygenases and 5-lipoxygenase with anti-inflammatory activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18(23), 6138-6141.
 79. Chowdhury, M. A., Chen, H., Abdellatif, K. R., Dong, Y., Petruk, K. C. and Knaus, E. E., (2008). Synthesis and biological evaluation of 1-(benzenesulfonamido)-2-[5-(N-hydroxypyridin-2(1H)-one)]acetylene regioisomers: a novel class of 5-lipoxygenase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18(14), 4195-4198.
 80. Chowdhury, M. A., Abdellatif, K. R., Dong, Y., Das, D., Suresh, M. R. and Knaus, E. E., (2009). Synthesis of celecoxib analogues possessing a N-difluoromethyl-1,2-dihydropyrid-2-one 5-lipoxygenase pharmacophore: biological evaluation as dual inhibitors of cyclooxygenases and 5-lipoxygenase with anti-inflammatory activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 52(6), 1525-1529.
 81. Rao, P. N., Chen, Q. H. and Knaus, E. E., (2006). Synthesis and structure-activity relationship studies of 1,3-diarylprop-2-yn-1-ones: dual inhibitors of cyclooxygenases and lipoxygenases. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(5), 1668-1683.
 82. Scholz, M., Ulbrich, H. K. and Dannhardt, G., (2008). Investigations concerning the COX/5-LOX inhibiting and hydroxyl radical scavenging potencies of novel 4,5-diaryl isoselenazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 43(6), 1152-1159.
 83. Xu, G. L., Liu, F., Ao, G. Z., He, S. Y., Ju, M., Zhao, Y. and Xue, T., (2009). Anti-inflammatory effects and gastrointestinal safety of NNU-hdpa, a novel dual COX/5-LOX inhibitor. *European Journal of Pharmacology*, 611(1-3), 100-106.
 84. Schuhly, W., Hufner, A., Pferschy-Wenzig, E. M., Prettnner, E., Adams, M., Bodensieck, A., Kunert, O., Oluwemimo, A., Haslinger, E. and Bauer, R.,

- (2009). Design and synthesis of ten biphenyl-neolignan derivatives and their in vitro inhibitory potency against cyclooxygenase-1/2 activity and 5-lipoxygenase-mediated LTB₄-formation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17(13), 4459-4465.
85. Yu, G., Rao, P. N. P., Chowdhury, M. A., Abdellatif, K. R. A., Dong, Y., Das, D., Velazquez, C. A., Suresh, M. R. and Knaus, E. E., (2010). Synthesis and biological evaluation of N-difluoromethyl-1,2-dihydropyrid-2-one acetic acid regioisomers: Dual Inhibitors of cyclooxygenases and 5-lipoxygenase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20(7), 2168-2173.
86. Chen, C. S., Tan, C. M., Huang, C. H., Chang, L. C., Wang, J. P., Cheng, F. C. and Chern, J. W., (2010). Discovery of 3-(4-bromophenyl)-6-nitrobenzo[1.3.2]dithiazolium ylide 1,1-dioxide as a novel dual cyclooxygenase/5-lipoxygenase inhibitor that also inhibits tumor necrosis factor-alpha production. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 18(2), 597-604.
87. Lai, Y. S., Ma, L., Huang, W. X., Yu, X., Zhang, Y. H., Ji, H. and Tian, J. D., (2010). Synthesis and biological evaluation of 3-[4-(amino/methylsulfonyl)phenyl]methylene-indolin-2-one derivatives as novel COX-1/2 and 5-LOX inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20(24), 7349-7353.
88. Li, Y., Chen, S. H., Ou, T. M., Tan, J. H., Li, D., Gu, L. Q. and Huang, Z. S., (2011). Syntheses and characterization of nimesulide derivatives for dual enzyme inhibitors of both cyclooxygenase-1/2 and 5-lipoxygenase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19(6), 2074-2083.
89. Caliskan, B., Luderer, S., Ozkan, Y., Werz, O. and Banoglu, E., (2011). Pyrazol-3-propanoic acid derivatives as novel inhibitors of leukotriene biosynthesis in human neutrophils. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46(10), 5021-5033.
90. Koeberle, A. and Werz, O., (2009). Inhibitors of the microsomal prostaglandin E(2) synthase-1 as alternative to non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)--a critical review. *Current Medicinal Chemistry*, 16(32), 4274-4296.
91. Werz, O., Greiner, C., Koeberle, A., Hoernig, C., George, S., Popescu, L., Syha, I., Schubert-Zsilavecz, M. and Steinhilber, D., (2008). Novel and potent inhibitors of 5-lipoxygenase product synthesis based on the structure of pirinixic acid. *Journal of Medicinal Chemistry*, 51(17), 5449-5453.
92. Koeberle, A., Zettl, H., Greiner, C., Wurglics, M., Schubert-Zsilavecz, M. and Werz, O., (2008). Pirinixic acid derivatives as novel dual inhibitors of microsomal prostaglandin E2 synthase-1 and 5-lipoxygenase. *Journal of Medicinal Chemistry*, 51(24), 8068-8076.
93. Liedtke, A. J., Keck, P. R., Lehmann, F., Koeberle, A., Werz, O. and Laufer, S. A., (2009). Arylpyrrolizines as inhibitors of microsomal prostaglandin E2 synthase-1 (mPGES-1) or as dual inhibitors of mPGES-1 and 5-lipoxygenase (5-LOX). *Journal of Medicinal Chemistry*, 52(15), 4968-4972.

94. Chini, M. G., De Simone, R., Bruno, I., Riccio, R., Dehm, F., Weinigel, C., Barz, D., Werz, O. and Bifulco, G., (2012). Design and synthesis of a second series of triazole-based compounds as potent dual mPGES-1 and 5-lipoxygenase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 54, 311-323.
95. Gillard, J., Ford-Hutchinson, A. W., Chan, C., Charleson, S., Denis, D., Foster, A., Fortin, R., Leger, S., McFarlane, C. S., Morton, H. and et al., (1989). L-663,536 (MK-886) (3-[1-(4-chlorobenzyl)-3-t-butyl-thio-5-isopropylindol-2-yl]-2,2 - dimethylpropanoic acid), a novel, orally active leukotriene biosynthesis inhibitor. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 67(5), 456-464.
96. Woods, J. W., Evans, J. F., Ethier, D., Scott, S., Vickers, P. J., Hearn, L., Heibein, J. A., Charleson, S. and Singer, II, (1993). 5-lipoxygenase and 5-lipoxygenase-activating protein are localized in the nuclear envelope of activated human leukocytes. *Journal of Experimental Medicine*, 178(6), 1935-1946.
97. Folco, G. and Murphy, R. C., (2006). Eicosanoid transcellular biosynthesis: from cell-cell interactions to in vivo tissue responses. *Pharmacological Reviews*, 58(3), 375-388.
98. Evans, J. F., Ferguson, A. D., Mosley, R. T. and Hutchinson, J. H., (2008). What's all the FLAP about?: 5-lipoxygenase-activating protein inhibitors for inflammatory diseases. *Trends in Pharmacological Sciences*, 29(2), 72-78.
99. Muller-Peddinghaus, R., Kohlsdorfer, C., Theisen-Popp, P., Fruchtmann, R., Perzborn, E., Beckermann, B., Buhner, K., Ahr, H. J. and Mohrs, K. H., (1993). BAY X1005, a new inhibitor of leukotriene synthesis: in vivo inflammation pharmacology and pharmacokinetics. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 267(1), 51-57.
100. Kolasa, T., Gunn, D. E., Bhatia, P., Basha, A., Craig, R. A., Stewart, A. O., Bouska, J. B., Harris, R. R., Hulkower, K. I., Malo, P. E., Bell, R. L., Carter, G. W. and Brooks, C. D., (2000). Symmetrical bis(heteroaryl-methoxyphenyl)alkylcarboxylic acids as inhibitors of leukotriene biosynthesis. *Journal of Medicinal Chemistry*, 43(17), 3322-3334.
101. Macdonald, D., Brideau, C., Chan, C. C., Falguyret, J. P., Frenette, R., Guay, J., Hutchinson, J. H., Perrier, H., Prasit, P., Riendeau, D., Tagari, P., Therien, M., Young, R. N. and Girard, Y., (2008). Substituted 2,2-bisaryl-bicycloheptanes as novel and potent inhibitors of 5-lipoxygenase activating protein. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18(6), 2023-2027.
102. Uematsu, T., Kanamaru, M., Kosuge, K., Hara, K., Uchiyama, N., Takenaga, N., Tanaka, W., Friedman, B. S. and Nakashima, M., (1995). Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of a novel leukotriene biosynthesis inhibitor, MK-0591, in healthy volunteers. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 40(1), 59-66.

103. Nicoll-Griffith, D. A., Chauret, N., Yergey, J. A., Trimble, L. A., Favreau, L., Zamboni, R., Grossman, S. J., Drey, J. and Herold, E., (1993). Characterization of verlukast metabolites arising from an epoxide intermediate produced with hepatic microsomes from beta-naphthoflavone-treated rodents (P-4501A1). *Drug Metab Dispos*, 21(5), 861-867.
104. Hutchinson, J. H., Li, Y., Arruda, J. M., Baccei, C., Bain, G., Chapman, C., Correa, L., Darlington, J., King, C. D., Lee, C., Lorrain, D., Prodanovich, P., Rong, H., Santini, A., Stock, N., Prasit, P. and Evans, J. F., (2009). 5-lipoxygenase-activating protein inhibitors: development of 3-[3-tert-butylsulfanyl-1-[4-(6-methoxy-pyridin-3-yl)-benzyl]-5-(pyridin-2-ylmethoxy)-1H-indol-2-yl]-2,2-dimethyl-propionic acid (AM103). *Journal of Medicinal Chemistry*, 52(19), 5803-5815.
105. Stock, N., Baccei, C., Bain, G., Broadhead, A., Chapman, C., Darlington, J., King, C., Lee, C., Li, Y., Lorrain, D. S., Prodanovich, P., Rong, H., Santini, A., Zunic, J., Evans, J. F., Hutchinson, J. H. and Prasit, P., (2010). 5-Lipoxygenase-activating protein inhibitors. Part 2: 3-{5-((S)-1-Acetyl-2,3-dihydro-1H-indol-2-ylmethoxy)-3-tert-butylsulfanyl-1-[4-(5-methoxy-pyrimidin-2-yl)-benzyl]-1H-indol-2-yl}-2,2-dimethyl-propionic acid (AM679)--a potent FLAP inhibitor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20(1), 213-217.
106. Lorrain, D. S., Bain, G., Correa, L. D., Chapman, C., Broadhead, A. R., Santini, A. M., Prodanovich, P. P., Darlington, J. V., Stock, N. S., Zunic, J., King, C. D., Lee, C., Baccei, C. S., Stearns, B., Roppe, J., Hutchinson, J. H., Prasit, P. and Evans, J. F., (2010). Pharmacology of AM803, a novel selective five-lipoxygenase-activating protein (FLAP) inhibitor in rodent models of acute inflammation. *European Journal of Pharmacology*, 640(1-3), 211-218.
107. Soter, N. A., Lewis, R. A., Corey, E. J. and Austen, K. F., (1983). Local effects of synthetic leukotrienes (LTC₄, LTD₄, LTE₄, and LTB₄) in human skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 80(2), 115-119.
108. Camp, R., Jones, R. R., Brain, S., Woollard, P. and Greaves, M., (1984). Production of intraepidermal microabscesses by topical application of leukotriene B₄. *Journal of Investigative Dermatology*, 82(2), 202-204.
109. Stock, N., Baccei, C., Bain, G., Chapman, C., Correa, L., Darlington, J., King, C., Lee, C., Lorrain, D. S., Prodanovich, P., Santini, A., Schaab, K., Evans, J. F., Hutchinson, J. H. and Prasit, P., (2010). 5-Lipoxygenase-activating protein inhibitors. Part 3: 3-{3-tert-Butylsulfanyl-1-[4-(5-methoxy-pyrimidin-2-yl)-benzyl]-5-(5-methyl-pyridin-2-ylmethoxy)-1H-indol-2-yl]-2,2-dimethyl-propionic acid (AM643)-A potent FLAP inhibitor suitable for topical administration. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20(15), 4598-4601.
110. Ozer, F., Yosunkaya, S., (2005). *Genel Tıp Dergisi*, 15(2), 91-99.
111. Rouhi, A. M., (2004). Chiral chemistry. *Chemical & Engineering News*, 82(24), 47-62.

112. Francotte, E. R., (2001). Enantioselective chromatography as a powerful alternative for the preparation of drug enantiomers. *Journal of Chromatography A*, 906(1-2), 379-397.
113. Sardella, R., Levent, S., Ianni, F., Caliskan, B., Gerstmeier, J., Pergola, C., Werz, O., Banoglu, E. and Natalini, B., (2014). Chromatographic separation and biological evaluation of benzimidazole derivative enantiomers as inhibitors of leukotriene biosynthesis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 89, 88-92.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı Serkan LEVENT

Doğum yeri, tarihi Borçka, 1986

Telefon 0 (554) 516 25 64

e-posta srknlvnt@gmail.com



Yüksek Lisans Gazi Üniversitesi
Farmasötik Kimya (2014)

Lisans Orta Doğu Teknik Üniversitesi
Kimya bölümü (2011)

Yabancı Dil İngilizce

Yayınlar Roccoaldo Sardella, **Serkan Levent**, Federica Ianni, Burcu Çalışkan, Jana Gerstmeier, Carlo Pergola, Oliver Werz, Erden Banoglu, Benedetto Natalini “Chromatographic separation and biological evaluation of benzimidazole derivative enantiomers as inhibitors of leukotriene biosynthesis” Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Volume 89, 2014, Pages 88-92

Serkan Levent, Burcu Çalışkan, Murat Çiftçi, Yeşim Özkan, İdil Yenicesu, Hüseyin Ünver, Erden Banoglu “Pyrazole derivatives as inhibitors of arachidonic acid-induced platelet aggregation” European Journal of Medicinal Chemistry, Volume 64, 2013, Pages 42-53



GAZİ GECEKTİR..

