

Antiinflamatuvar Tedavide Yeni Bir Yaklaşım: Siklooksijenaz ve 5-Lipooksijenazın Dual İnhibitörleri

Received : 03.06.2010

Revised : 12.08.2010

Accepted : 19.08.2010

Umut Salgın Gökşen, Nesrin Gökhan Kelekçi⁰

1. Giriş

Non-steroidal antiinflamatuvar (NSAİ) ilaçlar antiinflamatuvar, anti-piretik ve analjezik etkilerinden dolayı artrit, romatizma gibi çeşitli inflamasyonlu hastalıkların tedavisinde en çok tercih edilen ilaçlardır. Ancak bu ilaçların gastrointestinal sistem (GİS) ve böbrekler üzerindeki yan etkileri NSAİ ilaçların kullanılışlarını sınırlandırır. NSAİ ilaçların oluşturduğu bu yan etkiler araştırmacıları, eikozanoitlerin biyoaktivasyonunu sağlayan araşidonik asit (AA) yolağının başlamasında anahtar rol oynayan siklooksijenaz-2 (COX-2) ve 5-lipooksijenaz (5-LOX) enzimlerinin dual inhibisyonu üzerinde yeni çalışmalar yapmaya yöneltmiştir¹.

Bu alanda ilaç geliştirmenin ana hedefi dual inhibisyonu sağlayan, yan etkileri minimuma indirilmiş antiinflamatuvar etkili yeni bileşiklerin tasarlanıp geliştirilmesidir.

Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya ABD, 06100 Sıhhiye-Ankara

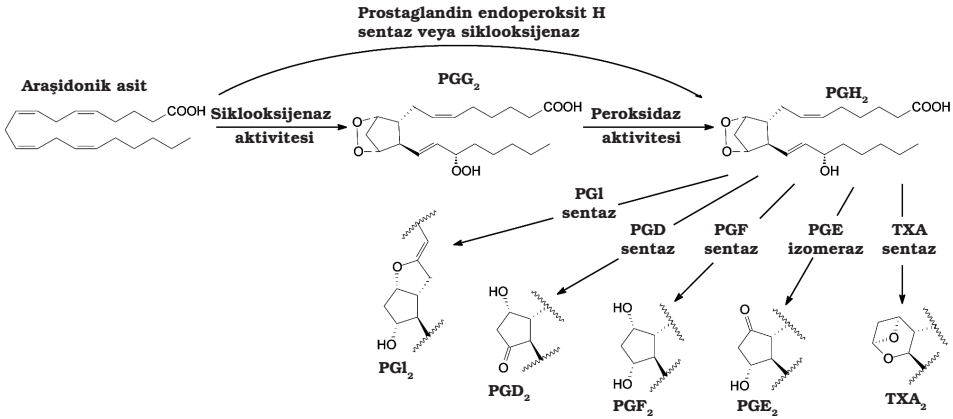
⁰ Corresponding author : Prof.Dr.Nesrin Gökhan-Kelekçi
Tel: 0 312 3053017, e-mail: onesrin@hacettepe.edu.tr

2. Siklooksijenaz (COX) Yolağı

Araşidonik asit, hücre membranı fosfolipidlerinin hidrolizi sonucunda serbest hale geçen polidoymamış yağ asitidir. Çeşitli faktörlerin etkisiyle aktive olan fosfolipaz A₂ membran fosfolipitlerini hidroliz ederek araşidonik asitin salınımını sağlar. Araşidonik asit siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimleri ile sırasıyla prostanoitleri ve lökotrienleri (LT) meydana getirir.

2.1. Prostanoitlerin Biyokimyası

Araşidonik asitten prostanoitlerin oluşma reaksiyonu iki basamakta gerçekleşir. Birinci basamakta prostaglandin endoperoksit H sentaz enzimi aracılığıyla araşidonik asitten prostaglandin (PG) endoperoksit PGG₂ oluşur. Daha sonra PGG₂, peroksidaz etkisiyle PGH₂'ye dönüşür. İkinci basamakta ise kararsız olan PGH₂ spesifik dokularda spesifik enzimlerle prostanoitlere dönüşürken, trombositlerde tromboksan sentaz enzimi tarafından tromboksanlara (TXA₂, TXB₂) dönüşür (şekil 1)².



Şekil 1
Siklooksijenaz yolağı

2.2. Prostanoitlerin Biyolojik Etkileri

Prostanoitler otokrin ve parakrin fonksiyonlarına sahip olmalarından dolayı lokal hormonlar gibi düşünülürler. Hücrede ilk olarak bir prostanoit biçimlenir, hücreden çıkar ve G-proteini reseptör kompleksiyle etkileşerek ya ana hücrede ya da yakınındaki komşu hücrelerde ikinci mesajcı düzeyini düzenler³.

Prostanoitlerin dokularda dağılımı hücreyel enzimatik maddelere bağlı olmasına rağmen fizyolojik ve patolojik yanıtları çok geniş bir aralığı etkiler⁴.

Prostasiklin (PGI₂) özellikle damar endotelinde bulunur. Araşidonik asitten PGI₂ oluşumu esas olarak COX-2 enzimi tarafından katalize edilir. PGI₂ trombositlerin agregasyonunu ve adhezyonunu önler. Ayrıca kardiyovasküler sistemde çok güçlü bir vazodilatör etkiye sahiptir. Aynı şekilde PGD₂ ve PGE₂ de vazodilatör etkilidir⁵.

Araşidonik asitten Tromboksan A₂ (TXA₂) oluşumu esas olarak COX-1 enzimi tarafından katalize edilir. TXA₂ direkt etkisiyle trombositleri aktive ederek onların agregasyonuna ve adezyonuna neden olur. TXA₂ PGI₂'nin aksine vazokonstriktör etkiye sahiptir. TXA₂ bronşlarda bronko-konstriktör etki gösterirken, PGI₂ ve PGE₂ bronkodilatör etkilidir. PGE₂, PGF₂ ve özellikle PGI₂ GİS'de bikarbonat sekresyonunu ve kan akımını düzenler. Bunlar asit sekresyonunu azaltarak gastrik mukozanın korunmasını sağlar⁵. TXA₂ damar permeabilitesini artırarak ödeme neden olur. PGE₂ ve PGI₂ ise böbreklerde TXA₂'dan farklı olarak renal kan akımını ve idrar atılımını (diürez) artırır⁶.

Prostanoitler aynı zamanda doku hasarında ve inflamasyonda vücudun cevap vermesine aracılık ederler. PGE₂ ve PGI₂ histamin veya bradikinin gibi otokoidler ile sinerji oluşturarak kuvvetli vazodilatör etki gösterir. İnflamasyonlu bölgelerde sinerjistik etkileriyle kılcal damarlardaki kan akışını artırarak inflamasyona katkıda bulunup, damar permeabilitesini artırırlar. Aynı zamanda duyuşal liflerdeki periferel uçları duyarlılaştırarak hiperaljezi oluştururlar. PGE₂ nöronları da etkiler ve sistemik yanıtlarıyla ateş, yorgunluk ve ağrıda aşırı duyarlılığa neden olur⁷.

2.3- Siklooksijenazın İki İzofomu

NSAİ ilaçlar son yüzyılda çok kullanılmalarına rağmen 1971 yılında COX enziminin yapısı teşhis edilene kadar etki mekanizmaları tam olarak bilinmeyen ilaçlar olmuşlardır. 1990'a kadar siklooksijenazın tek tipinin olduğu düşünölmüş, takiben hızla ilerleyen çalışmalar ve moleküler biyoloji tekniklerinin bu alanda yaygın olarak kullanılmasıyla siklooksijenazın konstitütif ve indüklenebilir tip olmak üzere iki tipinin olduğu ortaya çıkmıştır. Konstitütif siklooksijenaza COX-1, indüklenebilir siklooksijenaza ise COX-2 adı verilmiştir. COX-1 ve COX-2 aynı reaksiyonları katalizlese de farklı yapı ve fonksiyonlara sahiptir⁸.

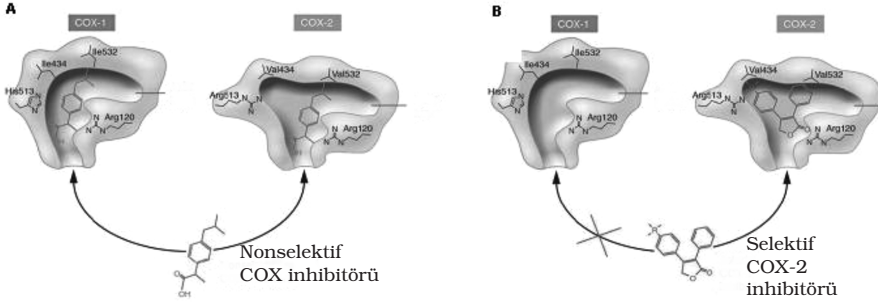
2.3.1. COX-1 ve COX-2'nin Biyolojik Fonksiyonları

COX-1 daha çok dokularda koruyucu etki gösterip, böbrek ve GİS'de platelet agregasyonu ve homeostazis gibi fizyolojik koruyucu fonksiyonların düzenlenmesinde etkiliyken, COX-2 enzimi bunların zıttı etki yapar. COX-2 izoformu sağlıklı insanlarda neredeyse görülmez. Sitokinler, büyüme faktörleri, tümör nekroz ajanlar, bakteriyel endotoksin gibi pro-inflamatuvar stimulanlar inflamasyonlu hücrelerdeki yanıtlarıyla süratle COX-2'nin ekspresyonuna neden olurlar. COX-2 ürünü PG'ler inflamatuvar reaksiyonlarda major rol oynar ve kızarıklık, ateş, şişlik, ağrı ve fonksiyon kaybı gibi karakteristik inflamatuvar semptomlardan sorumludurlar⁹. Kolorektal ve göğüs kanseri gibi bazı kanser türlerinde de COX-2'nin indüklendiği ve oluşturduğu PG'lerle hücre apoptozunu engelleyerek kanser hücresi proliferasyonunu teşvik ettikleri görülmüştür. Ayrıca, Alzheimer ve Parkinson hastalarının beyinlerindeki plaklarda da COX-2'nin indüklendiği saptanmıştır¹⁰.

2.3.2- COX'ların Enzimatik Yapıları

Pek çok türde COX-1 ve COX-2'nin primer yapıları bilinmektedir. Olgun memelilerde COX-1 ve COX-2 sırasıyla 576 ve 587 amino asitten oluşur. Bu iki izoform birbirine benzemesine rağmen, COX'lar endoplazmik retikulumun laminal yüzeyinde, COX-2 ise çoğunlukla çekirdeğin membranında lokalize olmuştur¹¹. Bu iki enzimin üç boyutlu yapıları X-ışınlarıyla belirlenmiştir^{12,13}.

Benzer enzimler olmalarına rağmen COX-2 enziminin aktif bölgesi COX-1'den %20 daha büyüktür ve biraz daha farklıdır. Bunlar, çoğunlukla amino asit diziliminde iki amino asit değişiminin neden olduğu yapı ve şekil farklılıklarıdır⁸. COX-1'de 523. konumunda izoleusin (Ile) bulunurken COX-2'de bu, valin ile yer değiştirmiştir. Ayrıca Ile-434'ün COX-2'de valin/Ile değişimi ve komşusundaki Phe-518 amino asiti, COX-2 enziminin aktif bölgesinde fark edilebilir bir hacim artırmak suretiyle ana kanalda küçük bir hidrofilik cep oluşturur. Phe-518 amino asiti bu cep için fazla alan oluşmasına ve bu cebe daha fazla bileşiğin ulaşmasına katkıda bulunur. COX-1'in 513. konumunda bulunan histamin yerine COX-2'de polar kısımlarla etkileşebilen arjinin ilaç etkileşim bölgesinin şeklini değiştirmemekle beraber kimyasal ortamı oldukça değiştirdiği bildirilmiştir (şekil 2)¹⁴.



Şekil 2

COX-1 ve COX-2'nin substrat bağlayıcı kanalları arasındaki yapısal farklılıkların şematik gösterimi. COX-2'de Val 434, Arg 513 ve Val 523 amino asitleri ikincil bir cep oluşturur. COX-1'de bu durum söz konusu değildir. (A) Non-selektif inhibitörler her iki izoformun substrat bağlayıcı kanallarına ulaşırken, (B) COX-1'deki daha hacimli His 513, Ile 434 ve Ile 532 amino asitleri selektif COX-2 inhibitörlerinin büyük yan cebe ulaşmasını engeller¹⁵.

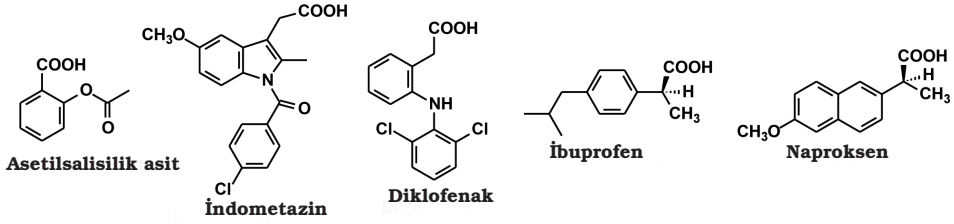
2.4. Non-Steroidall Antiinflatuvar İlaçlar

NSAİ ilaçlarda hedef COX enzimleridir. Bu inhibitörler COX enziminin aktif bölgesiyle etkileşmek için araşidonik asit ile yarışırılar⁴. Bu ilaçlar iki sınıfta incelenir:

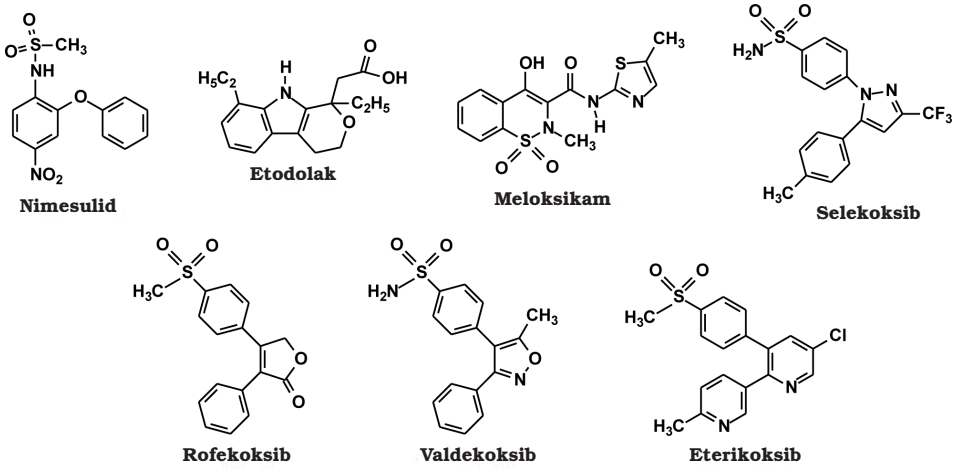
1. Klasik spesifik NSAİ ilaçlar ve
2. Selektif COX-2 inhibitörleri.

Aspirin ilk kez 1899'da romatizmal hastalıklarda kullanılmış, 1960-1980 yılları arasında da ibuprofen, indometazin, diklofenak ve naproksen gibi diğer birçok antiinflatuvar ilaç geliştirilmiş ve piyasaya sürülmüştür (şekil 3). Geniş bir kimyasal çeşitliliğe rağmen bunların tamamı COX'un aktif bölgesinin altındaki Arg-120 ile bir iyon çifti oluşturan bir karboksilat fonksiyonuna (araşidonik asit ile benzerlik gösterir) sahiptirler¹⁶. Bu ilaçların terapotik etkilerinin yanında, Gİ lezyon oluşturma ve renal toksisite özellikleri de benzerdir. Klasik NSAİ ilaçlar COX-1 inhibisyonu ile mide ve böbreklerdeki fizyolojik PG'lerin biyosentezini inhibe ederek Gİ iritasyona sebep olurken, COX-2 inhibisyonu yoluyla da hasarlı dokuda proinflatuvar PG'lerin üretimini düşürüp antiinflatuvar etki yaparlar.

Yapılan araştırmalarda selektif COX-2 inhibitörlerinin klasik NSAİ ilaçlar kadar kuvvetli analjezik ve antiinflatuvar etki sağladığı, daha az Gİ yan etkilere neden olduğu gözlenmiştir. Nimesulit, meloksikam ve etodolak güvenlik profilleri iyileştirilen ve COX-2 izoformunu inhibe edebilen ilk NSAİ ilaçlardır (şekil 4)¹⁷.



Şekil 3
Klasik NSAİ İlaçlar



Şekil 4
Selektif COX-2 İnhibitörleri

Bu bileşiklerin ana yapılarında, klasik NSAİ ilaçlarda karakteristlik olan karboksilat grubu yoktur. Onun yerine yapılarında COX-2'nin aktif bölgesinin hidrofilik yan cebindeki Arg-513 ile etkileşebilen sülfon veya sülfonamid grupları taşırlar⁶. Bu bileşiklerin çoğu COX-2'nin yapısı çözüldükten sonra yapıldığından selektif inhibitörlerin rasyonel tasarımı kristalografik veriler kullanılmıştır. Şimdiye kadar selekoksisib ve rofekoksib inflamasyonun tedavisi için piyasaya çıkmışken, valdekoksib ve eterokoksib gibi diğer bileşikler klinik çalışmalarda değerlendirilmektedir (şekil 4)¹⁸⁻²⁰. Deneysel ve klinik çalışmalar; antiinflamatuvar etkili maddeler olan selektif COX-2 inhibitörlerinin klasik NSAİ ilaçlar ile kıyaslandığında GI toksisitelerinin daha düşük olduğunu göstermiştir²⁰.

Bu bileşikler aynı zamanda bazı hastalıkların tedavisinde özellikle COX-2'nin karıştığı bazı kanser tipleri ve Alzheimer hastalığında yeni terapötik hedefler olmuşlardır.

2.5. Selektif COX-2 İnhibitörleri

Gastrik mukozanın bütünlüğünden ve renal fonksiyondan sorumlu PG'ler sadece COX-1 yoluyla üretilirken, inflamatuvar yanıtla neden olan PG'ler ise sadece COX-2 yoluyla üretilir. COX-2 böbrekler üzerinde iyileştirici etki göstermesi yanında, hem doğal hem de patofizyolojik (karaciğer sirozu, renal yetmezlik ve konjestif kalp yetmezliği) koşullarda renal fonksiyonun (perfüzyon, su kullanımında, renin yapımında) önemli bir bölümünün düzenlenmesinde rol oynar. Bu hastalarda NSAİ ilaçlar ve/veya selektif COX-2 inhibitörü kullanılması vazodilatör PG'lerin sentezini azaltacağından renal iskemik risk artar²¹.

Selektif COX-2 inhibitörü ilaçlar, mukoza hasarına bağlı Gİ yan etkiler oluşturmaları açısından genel olarak güvenilir ilaçlardır. Ancak COX-2 indüksiyonu ve bu enzim aracılığıyla oluşan 'yararlı' prostaglandinlerin olaya karıştığı peptik ülser iyileşmesi, *Helicobacter pylori* gastriti ve inflamatuvar kolon hastalığı gibi Gİ patolojiler ve böbreğin hemodinamik ve su-tuz itrahi ile ilgili işlevleri üzerinde bu grup ilaçlar da klasik NSAİ ilaçlar gibi olumsuz etki yapabilirler⁵.

Selektif COX-2 inhibitörleri vücutta doğal PGI₂/TXA₂ oranını bozarak ciddi kardiyovasküler yan etkilere neden olurlar. Trombosit agregasyon ve adhezyonunu önleyen PGI₂'nin sentezi COX-2 enzimi tarafından katalizlendiği için selektif COX-2 inhibitörlerinin trombotik etki potansiyelleri vardır. Ayrıca selektif COX-2 inhibitörlerinin protrombotik bir prostanoit olan ve TX'nun sentezinde rol oynayan COX-1'e dokunmamaları bu ilaçların trombotik etkinliklerinin artmasına neden olurlar. Bu olaylar selektif COX-2 inhibitörlerinin kardiyovasküler sistem üzerindeki yan etkilerini açıklar. Bu yan etkiler; ölümle sonuçlanabilen tromboembolik olaylar, hipertansiyon, Mİ ve trombotik inme olarak sayılabilir⁵. Rofekoksibin piyasadan çekilmesi bu yan etkilerden dolayıdır. Sonuçta selektif COX-2 inhibitörlerinin tamamen güvenilir olmadıkları görülmüş ve yeni, daha güvenilir antiinflamatuvar bileşik bulma gayretleri önemini korumaya devam etmiştir.

3. Lipooksijenaz (5-LOX) Yolağı

5-LOX bitki ve hayvanlarda bulunan bir lipit peroksidaz enzimidir. Bu dioksijenazlar, hidroperoksit türevlerinin üretimi için 1,4-*cis,cis*-pentadien yapısını içeren çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu

katalizler. Bu enzim, katalitik döngü sırasında Fe^{+2} (inaktif formu) ve Fe^{+3} (aktif formu) arasında gidip gelen non-heme demir atomuna ihtiyaç duyar²². Her ne kadar LOX reaksiyonunun ayrıntılı mekanizması hala tartışılıyor olsa da, bunun temel doğası hakkında genel olarak bir fikir birliği vardır. Bu mekanizma üç ardışık reaksiyondan meydana gelmektedir. Bunlar:

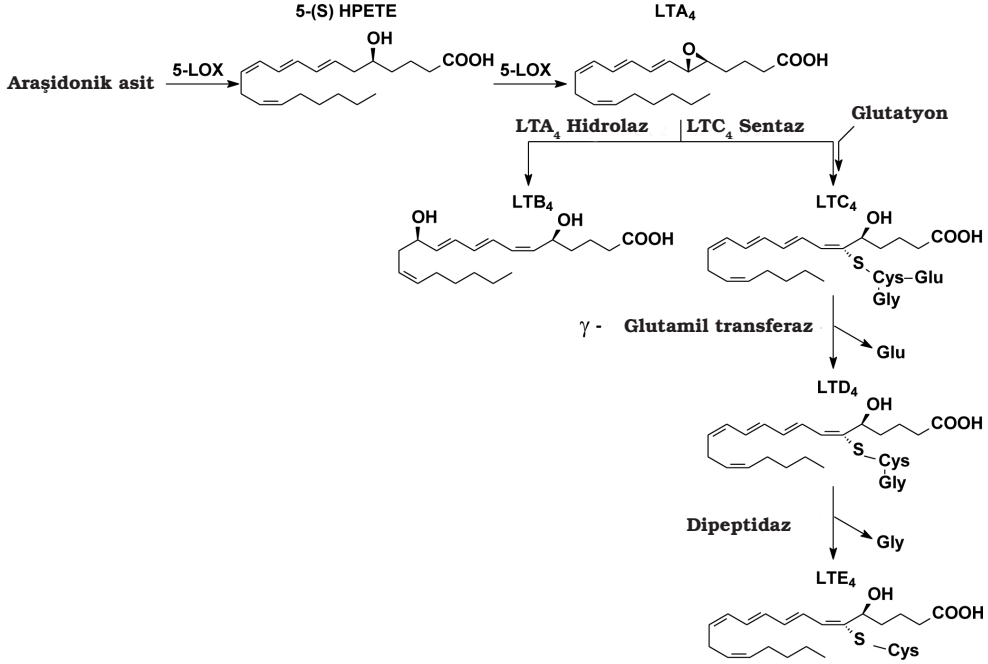
1. Çift allelik metilen grubundan stereo-selektif hidrojen ayrılması,
2. Temelinden yeniden düzenlenme ve
3. Moleküler oksijenin stereo-spesifik eklenmesi ve hidroperoksi radikalinin karşılık gelen anyona redüksiyonudur²³.

Şimdiye kadar insanda üç major izoenzim bulunmuştur. Bunlar araşidonik asit oksidasyonunun konumlarına göre sınıflandırılan 5-LOX, 12-LOX ve 15-LOX'dur. Bunlar araşidonik asitin sırasıyla C-5, C-12 ve C-15 konumlarına moleküler oksijeni bağlayarak sırasıyla 5- hidroperoksieikozatetraenoik asit (HPETE), 12-HPETE ve 15-HPETE oluştururlar²³.

12- ve 15-LOX'un biyolojik rolü hakkındaki bilgi sınırlı olduğundan üzerinde daha fazla araştırma yapılmaya ihtiyaç duyulmaktadır. 5-LOX ise tam tersine üzerinde ciddi olarak çalışılmış ve biyolojik olarak en önemli LOX olarak kabul edilmiştir. 5-LOX enzimi, araşidonik asidin ikinci major yolağında kuvvetli proinflamatuvar mediyatörlerin (lökotrienler) sentezlenmesinde rol oynar.

3.1. Lökotrienlerin Biyosentezi

Lökotrien terimi, bu bileşiğin kaynağının lökosit hücreleri olması ve bu bileşiklerin karakteristik yapılarının trien olmasından kaynaklanır²⁴. 5-LOX, lökotrienlerin biyosentezinin ilk iki basamağını katalizler. İlki araşidonik asitin C-5 konumunun oksidasyonu ile 5-HPETE oluşmasını, ikincisi dehidratasyon sonucu hidroperoksit yapısında LTA_4 oluşumuna öncülük eder. Stabil olmayan bu epoksit ya LTA_4 hidrolaz tarafından enzimatik hidrolize uğrayarak dihidroksi asit LTB_4 'e dönüşür ya da LTC_4 sentaz tarafından glutatyon ile konjuge olarak LTC_4 'ü oluşturur. Bu son bileşik (LTC_4) bir γ -glutamil transferaz enzimi tarafından bir glutatyon elimine ederek LTD_4 'e dönüşür. Son basamakta ise LTD_4 spesifik bir dipeptidaz enzimi tarafından glisinin uzaklaştırılmasıyla LTE_4 'e metabolize olur. LTC_4 , LTD_4 ve LTE_4 bileşikleri sisteinil veya peptido lökotrienler olarak da bilinir (şekil 5)⁵.



Şekil 5
Lipooksijenaz yolağı

Prostanoitlerin aksine LT'ler çoğunlukla inflamasyon hücreleri tarafından üretilir. Bununla birlikte 5-LOX spesifik olarak myeloid hücrelerinde üretilirken, LTA₄ hidrolaz ve LTC₄ sentaz vücutta geniş ölçüde dağılmıştır. LTA₄ hidrolaz özellikle bağırsaklar, dalak, akciğer, böbrek ve eritrositlerde fazlaca bulunur. LTC₄ sentaz ise mast hücrelerinde, bazofillerde, eozinofillerde, endotel hücrelerinde ve trombositlerde üretilir²⁵. Bu iki enzimin geniş dağılımı, transellüler metabolizmanın gerçekleşmesine olanak verir. LTA₄ ekstrasellüler boşlukta olduğu zaman daha ileri metabolizasyon yapabilecek enzimler içeren (LTA₄ hidrolaz ve LTC₄ sentaz) başka bir hücreye gönderilebilir. Örneğin polimorfonükleer lökositler (PMN) tarafından üretilen LTA₄, eritrositlerde LTB₄'e dönüştürülebilir. Bu farklı hücre tipleri arasındaki enzimatik etkileşmeler LT'lerin biyosentezini ve bu nedenle onların patofizyolojik etkilerini artırır²⁶.

3.2. Lökotrienlerin Biyolojik Etkileri

Lökotrienler parakrin hormonlardır ve G protein-bağlı reseptörlerin arabuluculuk ettiği geniş bir biyolojik aktivite spektrumuna sahiptirler²⁷.

LTB₄ nötrofil, makrofaj ve eozinofil gibi inflamatuvar hücreleri için kuvvetli bir kemotaktik ajandır. İnflamasyonlu bölgelere doğru lökosit göçüne neden olur. Nötrofillerin harekete geçirilmesiyle, özellikle süperoksit radikallerini oluşturarak enzim salınımı ile ortak degranülasyona neden olurlar. Aynı zamanda nötrofillerin vasküler endotelde adezyonunu artırır ve onların dokulardan infiltrasyonunu yükseltirler. Sonuçta makrofaj ve lenfositlerden proinflamatuvar sitokinlerin salınımını sağlayarak immün reaksiyonlarda önemli bir rol oynarlar²⁸.

Anaflaksinın yavaş reaksiyon veren maddeleri olarak bilinen ve biyolojik bir karışımdan oluşan sisteinil LT'ler (LTC₄, LTD₄ ve LTE₄);

- Hızlı gelişen aşırı duyarlılık reaksiyonlarının patofizyolojisinde rol oynamakta,
- Düz kaslarda kuvvetli konstriktör etkide (histaminden 100-1000 kat daha kuvvetlidir), özellikle hava yollarında şiddetli bronkokonstriksiyonun başlamasını aktive etmekte,
- Mukus sekresyonunu stimule etmekte ve bronşiyal düz kas hücrelerinin çoğalmasında önemli bir rol oynamakta,
- Mikrovasküler sistemde, endotel hücrelerini kasarak vasküler permeabilityi arttırmakta ve plazmanın hücre dışına çıkarak ödem oluşmasına neden olmakta,
- Ayrıca eozinofiller için kemotaktik özellik sağlamaktadırlar.

Sonuçta deneklerde sisteinil LT'lerin duyuşal liflerle etkileşebileceği gösterilmiş, taşıkininlerin salınımının arttığı ve onların duyarlılığında değişmelere neden olduğu tespit edilmiştir.

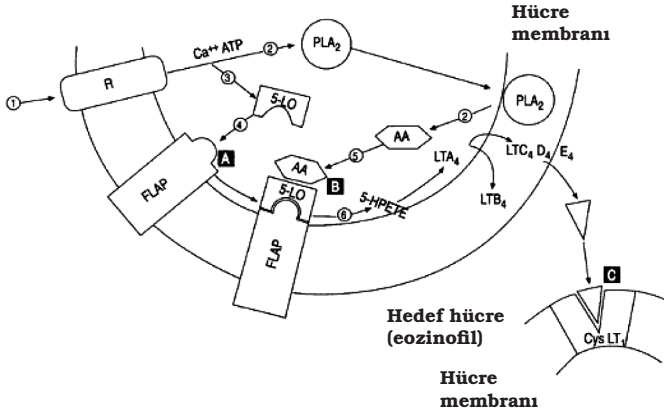
Bu kuvvetli biyolojik aktiviteleri itibariyle LT'lerin neden olduğu romatoid artrit, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, ülseratif kolit, astım, psoriasis ve alerjik rinit gibi çok sayıdaki inflamatuvar hastalık ve alerjik rahatsızlıkların araştırılması sayesinde bu önemli mediyatörlerin tanınmaları sağlanmıştır²⁶.

3.3. 5-LOX'ların Moleküler Biyoloji ve Düzenlenmesi

5-LOX çeşitli memeli türlerinde karakteristiktir. Yaklaşık 673 amino asit içeren 75-80 kDa ağırlığında monomerik bir proteindir²⁹. 5-LOX'un üç boyutlu yapısı henüz tam olarak açıklanmamışken, soya fasulyesindeki LOX-1 ve LOX-3'ün yapısı ve tavşan 15-LOX'unun yapısı aydınlatılmıştır³⁰⁻³². Kristalografik verilere dayanarak farklı LOX enzimlerinin

ortak, baştan başa bir kıvrım şeklinde iki farklı ünite içerdiği bilinmektedir. Küçük bir N-terminal bölgesi, insan pankreatik lipazının C-terminal bölgesine benzerliğine göre lipitler ile etkileşir. İkinci ünite ise uzun bir C-terminal katalitik bölgesidir. Çoğunlukla katalitik non-heme demir atomu ile birlikte enzimin aktif bölgesini oluşturur ve α -heliks yapısının meydana geldiği kısımdır³³.

İstirahat halindeki hücrelerde 5-LOX sitozolde, bazı hücre tiplerinde ise çekirdekte lokalize olur³⁴. Diğer izoformlardan farklı olarak 5-LOX kalsiyum ve ATP tarafından aktive olur (şekil 6). İki kalsiyum iyonu irreversibl olarak N-terminal bölgesine bağlanır. Kalsiyum varlığında ATP lipit hidroperoksitler ve fosfatidilkolin tarafından uyarılır. Hücre aktive olur ve intrasellüler kalsiyum miktarı artar artmaz 5-LOX hücresel lokalizasyonuna bakmadan çekirdek membranına translokasyon yapar. Sonra 18 kDa ağırlığında 5-LOX aktive eden protein olarak bilinen küçük bir membran proteini (FLAP) ile etkileşir. Etki mekanizmaları halen belirsiz olmakla birlikte, bu protein araşidonik asiti 5-LOX'e transfer eder. Enzimle FLAP arasındaki bu etkileşme hücresel LT biyosentezi için önemlidir³⁵.



Şekil 6

Hücresel LT'lerin biyosentezi için 5-LOX ve FLAP'ın düzenlenmesi ve sisteinil LT'lerin etkisini inhibe etmek için önerilen mekanizmalar. İnflamatuvar uyarıcıları, reseptör aracılı kalsiyum iyonlarının hücre içine akın etmesine öncülük eder, sitozolik PLA₂ ve 5-LOX sitozolden hücre membranına doğru yer değiştirir ve hücre membranında 5-LOX'u FLAP'a bağlayarak kararlı bir kompleks yapar. AA 5-LOX tarafından 5-HPETE'ye dönüştürülür ve daha sonra 5-LOX etkisiyle LTA₄'e dönüşür. İlaç için üç aktif bölge örneklendirilmiştir. (A) FLAP inhibitörleri 5-LOX'un FLAP'e bağlanmasını inhibe eder. (B) 5-LOX inhibitörleri 5-LOX'un aktivitesini inhibe eder. (C) Sisteinil LT reseptör antagonisleri, sisteinil LT'lerin diğer hücre üzerindeki etkilerini inhibe eder. R: Reseptör, PLA₂: Fosfolipaz A₂, AA: Araşidonik asit³⁶

3.4. Lökotrien Biyosentezinin İnhibisyonu

Kuvvetli proinflamatuvar özellikteki LTB_4 ve sisteinil LT'ler astım, alerjik ve inflamatuvar rahatsızlıklar gibi çeşitli hastalıklara neden olurlar. Etki mekanizmaları ve karakteristik özellikleri dikkate alındığında, 5-LOX yolağını inhibe eden farklı stratejiler geliştirilmiştir^{37,38}. Bunlar:

1. 5-LOX inhibisyonu
2. FLAP inhibisyonu
3. LT reseptörlerinin antagonizması.

1) 5-LOX İnhibitörleri

5-LOX yolağının özelliklerine ve mekanizmasına bakılınca, bunu inhibe etmek için farklı stratejiler geliştirilmiştir. Direkt yaklaşımlar:

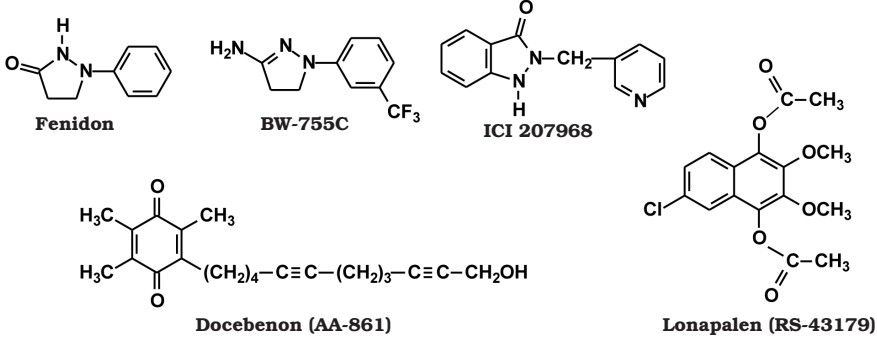
a. Antioksidanlar veya redoks inhibitörleri: 5-LOX'un redoks siklusuna müdahale eder,

b. Demir şelat ajanları ve

c. Non-redoks kompetitif inhibitörleri: Enzimin aktif bölgesine bağlanmak için araşidonik asit ile yarışırlar (kompetitif antagonist).

a) Antioksidanlar veya redoks inhibitörleri: Antioksidanlar genellikle fenol ve kinon gibi küçük lipofilik aromatik moleküllerdir. Bu sınıfın prototipleri; pirazolin türevi **Fenidon** ve **BW-755C**'dir (şekil 7). Bu bileşiklerde aktivite için lipofilite önemli bir özelliktir. Güçlü inhibitörler olmalarına karşın, 5-LOX'a zayıf selektivitelerinden dolayı birçok yan etki gösterirler. Grubun diğer üyeleri olan indazolinon türevlerinden **ICI 207968** güçlü *in vivo* etkisi ($ED_{50} = 3$ mg/kg) ile 5-LOX'a yüksek selektiviteyle bağlanır. Ayrıca diğer biyolojik redoks sistemlerini de kolayca engeller, çoğunlukla methemoglobinemi oluşturur ve genotoksositeye neden olurlar. Bu yüzden bu sınıf ilaçlar **Docebenon** ve **Lonapalen** dışında pek geliştirilmemiştir (şekil 7). Bu bileşiklerin topikal olarak psoriasis ve artritte klinik etkinliği gösterilmiştir³⁹⁻⁴³.

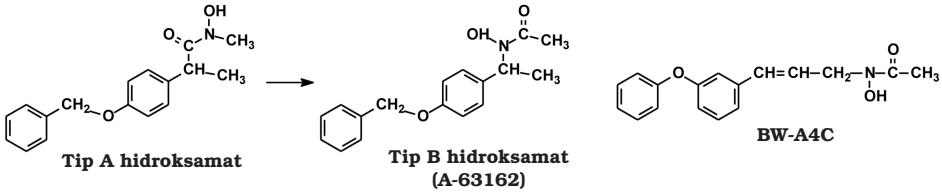
b) Demir şelat ajanları: Demir şelat inhibitörlerinin rasyonel tasarımında, yaygın olarak hidrokсамik asit, kuvvetli metal-ligant grupları ve N-hidroksiüre türevleri kullanılmıştır. Bunlar 5-LOX'un aktif yoresindeki demir ile şelat yaparak etki gösterirler⁴⁴. Birçok hidrokсамat türevi *in vitro* güçlü 5-LOX inhibitör etki gösterirken, bu bileşiklerin *in*



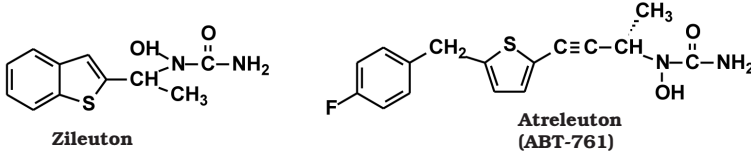
Şekil 7

5-LOX inhibitörü redoks bileşikleri

in vivo deneylerinden elde edilen sonuçlar üzücüdür. Hidroksamat farmakoforunun, *in vivo* hızlı bir şekilde inaktif karboksilata hidrolizi bu grup ilaçların geliştirilmesini kısıtlamıştır. Hidroksilamindeki lipofilik arilalkil grubuna sübtitüsyonları kapsayan modifikasyonlar, *in vivo* aktivitesi artmış asetilhidroksamat **A-63162** ve **BW-A4C** ile sonuçlanmıştır⁴⁵.



Hidroksamik asit yapısı taşıyan **BW-A4C** selektif 5-LOX inhibitörüdür, fakat çabuk inaktive olması ve toksik nitrikoksit radikalleri oluşturması yüzünden yeni alternatif ligand grupların aranmasına sebep olmuştur. Bu hidrolitik açıdan dayanıklı N-hidroksiüre türevidir **zileutonun** (Zyflo) bulunmasını sağlamıştır (şekil 8)⁴⁴. **Zileuton** bronşial astım tedavisinde piyasaya sürülen ilk 5-LOX inhibitörü ilaçtır. Ancak bileşiğin hepatik toksisite ve ilaç etkileşimlerini içeren çeşitli yan etkileri olduğu gösterilmiştir. İleri çalışmalar **atreleuton** gibi daha iyi farmakokinetik özelliklere sahip bileşikler vermiştir (atreleuton klinik faz III aşamasına girmiştir) (şekil 8)⁴⁶.

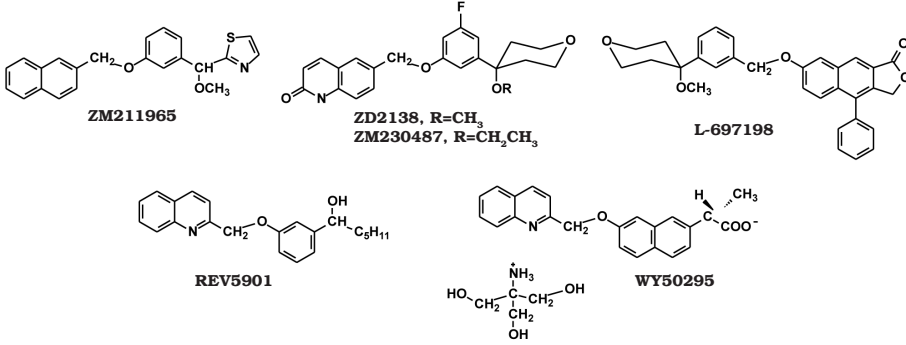


Şekil 8

5-LOX inhibitörü demir-şelat inhibitörleri

c) Redoks olmayan bileşikler: Redoks ve demir-şelat inhibitörlerinin tasarımında belirtilen toksisite ve çeşitli zorluklar dikkate alındığında, 5-LOX inhibitörlerinin aktif yörelerine yönlendirilmiş bileşiklerin araştırılması, yeni bir yaklaşım olarak düşünülmüştür. Redoks olmayan bileşikler, araşidonik aside karşı yarışarak enzim ile enantiospesifik etkileşime girerek 5-LOX'u inhibe etmektedirler⁴³. Metoksialkiltiazol ve metoksitetrahidropiran türevleri güçlü 5-LOX inhibitörleri olarak tanımlanmışlardır. Metoksialkiltiazol türevi **ZM211965**, güçlü bir 5-LOX inhibitörüdür ve siklooksijenazları inhibe etmez. Fakat suda çözünlülüklerinin az ve yarı ömürlerinin kısa olması sebebiyle bu bileşikler *in vivo* olarak orta derecede etkilidirler. Yapı optimizasyon çalışmaları, oral yoldan etkili **ZD2138** ve onun etil türevi olan **ZM230487**'nin bulunmasıyla sonuçlanmıştır. Bunlar **ZM211965**'ten 10 kat daha güçlüdürler. Metoksialkiltiazol ve metoksitetrahidropiranın hibrid molekülleri ve naftalenik lignan laktonları, **L-697198**, güçlü redoks olmayan 5-LOX inhibitörleri ile sonuçlanmıştır⁴⁴. Bu sınıfın diğer daha az güçlü 5-LOX inhibitörleri **REV5901** ve **WY50295**'tir (şekil 9)⁴². Bununla birlikte, bu grup bileşikler kalıcı farmakokinetik problemleri yüzünden ve diğer sınıf FLAP inhibitörlerinin tasarımının daha kolay olması nedeniyle daha fazla geliştirilmemiştir⁴³.

5-LOX inhibitörlerinin LTB_4 sentezine ilaveten sisteinil LT'lerin sentezini de önlemeleri ilave avantajlarıdır³⁶. Bazı 5-LOX inhibitörlerinin, hafif-orta dereceli astım hastalarında, hava yolu fonksiyonunu iyileştirdiği, astım semptomlarını ve astım tedavisine gereksinimi azalttığı gösterilmiştir. Fakat, bu bileşikler çok yüksek dozlarda bile kronik inflamasyon bölgelerinde LT sentezini kuvvetlice inhibe etmede yetersiz kalmaktadırlar⁴².



Şekil 9

Redoks olmayan kompetitif 5-LOX İnhibitörleri

2) FLAP İnhibitörleri

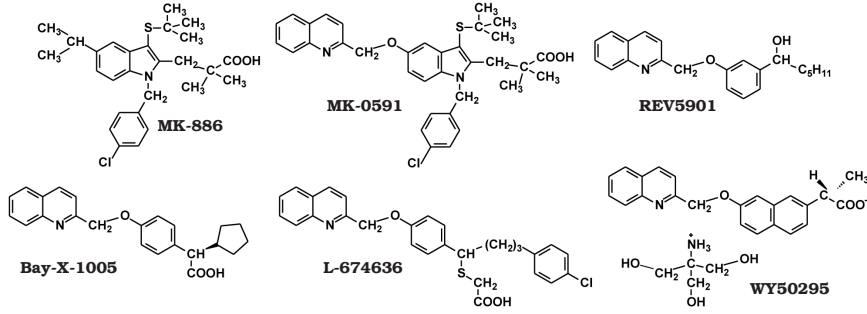
FLAP inhibitörleri olarak bilinen indirekt inhibitörler, 5-LOX'un FLAP proteini ile etkileşmesini önleyerek LT biyosentezini inhibe ederler. FLAP'ın, LT'lerin *in vivo* biyosentezi için gerekli olduğu bulunduktan sonra, anti-LT modeli için alternatif olduğu gösterilmiştir⁴⁷. **MK-886** LT biyosentezinin inhibisyonu için bildirilen ilk bileşiktir⁴³. İndol yapılarına ilaveten kinolinler ve bunların hibrit türevlerinin de FLAP'a bağlandığı ve LT biyosentezini inhibe ettikleri bulunmuştur. İndol/kinolin hibrit türevi olan **MK-0591**'in, FLAP üzerinde **MK-886**'nın bağlandığı yere bağlandığı bulunmuştur⁴⁴.

REV5901, **L-674636**, **WY50295** ve **Bay-X-1005** bu serideki diğer bileşiklerdendir⁴⁵. **MK-0591** ve **Bay-X-1005** gibi FLAP ile etkileşebilen bazı bileşikler, astım için klinik deneme aşamasında değerlendirilmektedir (şekil 10)^{43,48}.

3) Lökotrien Reseptör Antagonistleri

LT reseptörlerinin antagonizması, spesifik sisteinil LT reseptör antagonistlerinin kullanımı ve sisteinil LT'lerin etkilerinin blokajı ile başarılıdır (şekil 6, C yolağı)³⁶.

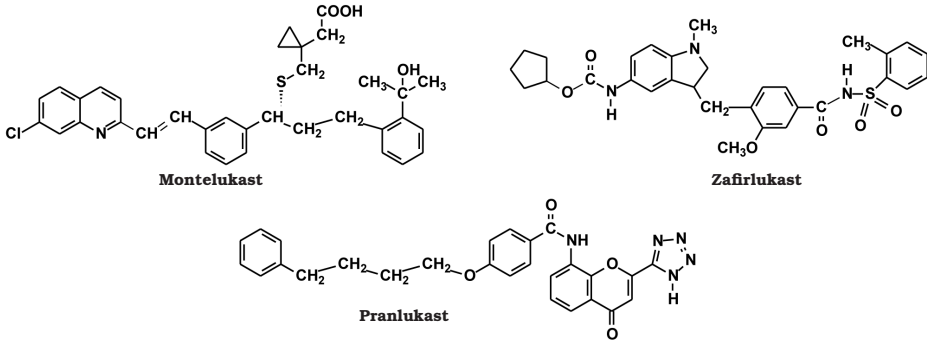
LT biyosentez inhibitörlerinden ilaç geliştirebilmek için yoğun çabalar sarfedilmişse de, sadece bir bileşik piyasaya (zileuton) çıkmıştır.



Şekil 10

FLAP İnhibitörleri

LT reseptör antagonistlerinin dizaynı ise çok daha verimli olmuş ve üç bileşik tedaviye girmiştir. Bu antagonistler, **montelukast** (Notta, Singulair, Onceair, Zespira ve Montelukast), **zafirlukast** (Carrox, Accolate, Accoleit ve Vanticon) ve **pranlukast**'tır (şekil 11)⁴⁹.



Şekil 11

Sistenil-LT Reseptör Antagonistleri

Tüm bu bileşikler astım tedavisinde etkili olsa bile, diğer inflamatuvar hastalıklarda tek başlarına kullanımları yetersiz olmuştur. Bu sebeple 5-LOX'un ve COX-2'nin dual inhibisyonunun umut verici bir yaklaşım olduğu düşünülmektedir⁵⁰.

4. Dual COX/5-LOX İnhibitörleri

4.1. Farmakolojik ve Terapotik Etkileri

Dual COX/5-LOX inhibitörü ilaçların proinflamatuvar özellikteki LT'lerin ve prostanoitlerin biyosentezini eşit şekilde bloke etmeleri, antiinflamatuvar profildeki artışın yanında NSAİ ilaçların ve COX-2 inhibitörlerinin yol açtığı yan etkilerde de azalmayı sağlar. NSAİ ilaçların yaptığı COX inhibisyonunun, vazodilatör ve GİS koruyuculuğundan sorumlu PG'lerin sentezini azaltması 5-LOX yolağı tarafından AA metabolizmasının hızlanmasına neden olur. Bu da LT oluşumunu, inflamasyonun ve NSAİ ilaçların oluşturduğu istenmeyen etkileri artırır⁵¹.

Bir taraftan 5-LOX tarafından üretilen LT'ler ve özellikle LTB₄, inflamasyonlu bölgelerde lökositleri toplayarak inflamasyonun gelişmesine ve uzamasına neden olurken, diğer taraftan sisteinil LT'ler duyarlı hastalarda astım gibi alerjik ve aşırı duyarlılık reaksiyonları oluşturabilmektedir. Dahası LT'ler NSAİ ilaçların en önemli yan etkileri olan Gİ hasarının gelişimini artırır. LTC₄ vazokonstriktör etkisiyle mukozal kan akımını azaltır ve dolayısıyla gastrik mukozanın duyarlılığını artırır. LTB₄ mukoza boyunca lökosit infiltrasyonunu indükleyerek hasarı artırır. Bu durum doku nekrozlarına yol açan proteaz ve serbest radikalleri serbestleştirir. Bundan dolayı dual inhibitörlerden artmış antiinflamatuvar potansiyel ve azalmış Gİ hasar veya alerjik reaksiyon beklenebilir^{43,52-54}.

Ayrıca COX-2 ve 5-LOX enzimlerinin pankreas, akciğer, kolorektal ve prostat gibi çeşitli kanser tiplerinin gelişmesinde ve ilerlemesinde etkili olduğu anlaşıldığından, dual inhibitörlerin kullanılmasının bu ölümcül hastalıkların profilaktik tedavisinde de yeni perspektifler açabileceği bildirilmiştir⁵⁰.

Günümüzde literatürlerde dual COX/5-LOX inhibitörlerinin çeşitli kimyasal sınıflamaları bildirilmiştir^{42,55,56}.

1) Modifiye NSAİ İlaçlar: İndometazin türevleri, Fenamat türevleri, Selekoksisib türevleri

2) Di-*tert*-bütilfenoller: Darbufelone, S-2474, Tebufelone, DHDMBF, PGV-20229, vs.

3) Pirazol türevleri: FPL-62064, Tepoksalin, ER-34122, Fenidon, BW-755C

4) Tiyofen türevleri: RWJ-63556, L-652,343

5) Prolizin türevleri: Likofelon

6) Hidrazon türevleri: CBS-1108

7) Diarilprop-2-in-1-on türevleri

4.2. Kimyasal Yapıları

Çeşitli kimyasal gruplara ait dual COX/5-LOX inhibitörlerinin sadece bir kısmının selektif COX-2 inhibisyonuna sahip olduğu, öte yandan her iki COX'un inhibisyonunun yüksek antiinflamatuvar etkinin yanında COX-1'in inhibisyonundan dolayı Gİ ve renal toksisiteye yol açtığı, buna karşın 5-LOX inhibisyonunun lökotrienlerin yaptığı proinflamasyonu ve Gİ zararı önlediği anlaşılmıştır⁵⁵.

4.2.1. Modifiye NSAİ İlaçlar

4.2.1.1. İndometazin Türevleri

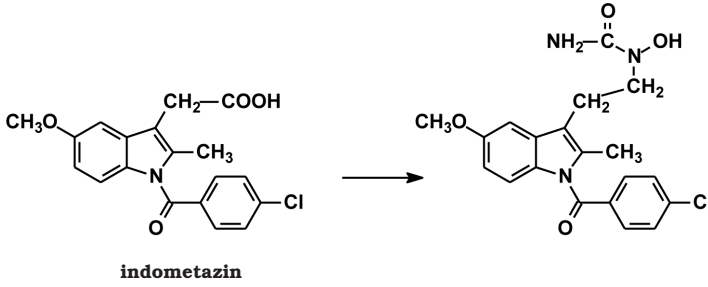
Dengeli ve kuvvetli dual inhibitör bulma gayretleri içinde yapılan çalışmalar klasik NSAİ ilaçlar ve selektif COX-2 inhibitörleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu esasa göre dizayn edilen bileşikler 5-LOX ve COX'a karşı dual inhibitör etki göstermiştir^{43,55}.

Örneğin klasik bir NSAİ ilaç olan indometazindeki karboksilik asit grubu N-hidroksiüre ile yer değiştirerek 5-LOX'un non-hemedeki demir ile şelat oluşturabilmesi sağlanmıştır. Bu değişiklik ile oluşturulan türevler sadece 5-LOX inhibisyonu yapmamakta, aynı zamanda COX-2 izoforunu da inhibe etmektedirler (şekil 12)⁴⁶.

İndometazinin modifikasyonu ve bilinen bir 5-LOX inhibitörü olan **ZD2138**'in kondenzasyonu ile oluşturulan N-aroil-tetrahidro- γ -karbolinler ise, prostat kanserinin proliferasyonunu inhibe etmek için geliştirilmiştir (şekil 13). Zira son zamanlarda, prostat kanserinin ilerlemesi 5-LOX ve COX enzimlerinin fazla salgılanması ile ilişkilendirilmiştir. Bu bileşiklerin aktivitelerinin, NSAİ ilaçların antikanser aktivitesi ile ilişkili olduğu ve belki de indometazin yapısına benzerliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir⁵⁷.

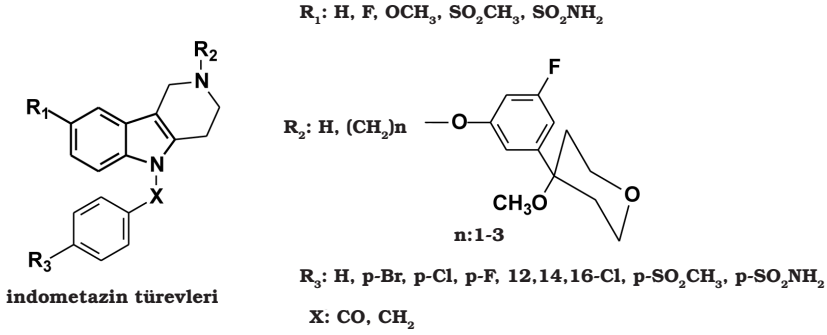
4.2.1.2. Fenamat Türevleri

Karboksilik asit grubunun tetrazol gibi biyoizosteriyle yer değişimi ile oluşturulan fenamatların ilk olarak COX'u ve bir ölçüde 5-LOX'u inhibe ettiği bulunmuştur. Daha sonra flufenamik asit gibi bazı fenamatların, karboksilik asit kısmının 1,3,4-oksadiazol-2-tyon



Şekil 12

İndometazin türevleri



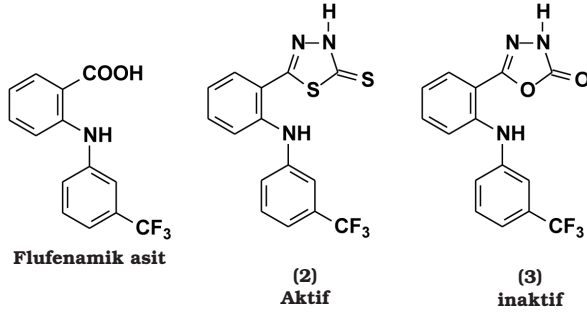
Şekil 13

Yeni dual 5-LOX/COX inhibitörleri

ve 1,3,4-tiyadiazol-2-tiyon (**2**) gibi asidik heterosikliklerle yer değiştirmesi bunların güçlü dual COX/5-LOX inhibitörlerine dönüşmesini sağlamıştır (şekil 14). Takiben asit gruplarının karbonil fonksiyonu içeren 1,3,4-oksadiazol-2-on (**3**) ve 1,3,4-tiyadiazol-2-on ile süstitüsyonu inaktif bileşikler vermiştir (şekil 14). Yapılan incelemelerde tiyon grubunun 5-LOX inhibisyonunda önemli bir rol oynadığı tespit edilmiştir^{55,58}.

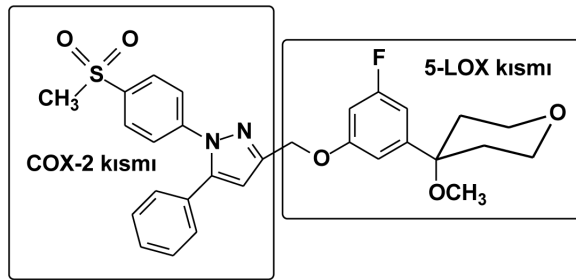
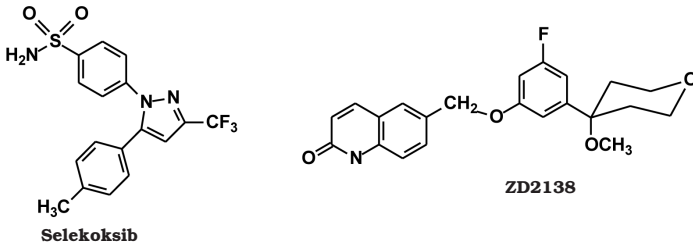
4.2.1.3. Selekoksisib türevleri:

COX-2 ve 5-LOX yapısal karakterlerinin birleştirilmesi, güçlü ve selektif bir COX-2/5-LOX inhibitörünü ortaya çıkarmıştır. **ALIOX 18**, klasik trisiklik sülfonamid parçasının (selekoksisib benzeri) ve **ZD-2138**'in 4-metoksitetrahidropiran süstitüentinin birleşmesiyle oluşturulmuştur (şekil 15). Redoks ve demir ligand bağlama özelliklerinden yoksundur⁵⁹.



Şekil 14

Fenamat türevleri



ALIOX 18

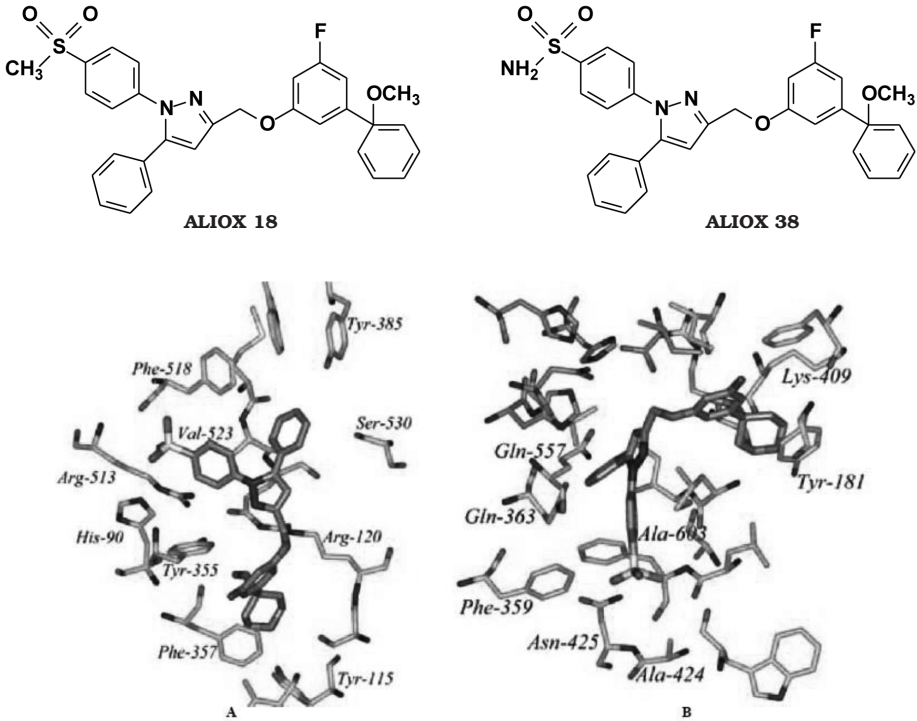
Şekil 15

Kuvvetli COX-2/5-LOX inhibitörünün farmakofor grupları

İki diarilpirazol türevinin (*ALIOX 18* ve *ALIOX 38*) bağlanma biçiminin moleküler modelleme çalışmaları, moleküllerdeki polar kısımların (metansülfonil ve aminosülfonil grupları) COX-2'nin bağlanma kısmı Tyr-385 ve Ser-530'a yakın bulunduğunu ve 5-LOX'un aktif kısmı Asn-425 ile hidrojen bağı kurduğunu göstermiştir (şekil 16)³⁸.

Yapısında aminosülfonil grubu taşıyan diarilpirazol sınıfı bazı örnek moleküllerin insan prostat kanser hücrelerine karşı optimum etkiye sahip olduğu bulunmuştur. *ALIOX 38*'in, yeni güçlü antikanser sınıfı ilaç tasarlamada öncü bileşik olarak düşünülebileceği bildirilmiştir³⁸.

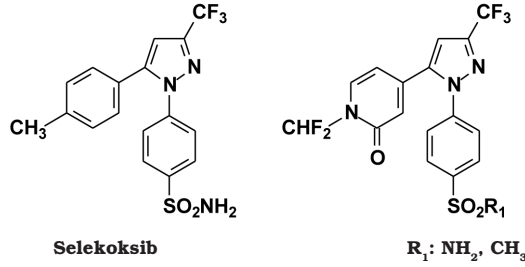
N-Hidroksi-1,2-dihidropiridin-2-on siklik hidroksamik asit grubu, demir atomu ile güçlü şelat oluşturabilen bir gruptur. *N*-Difluorometil-1,2-dihidropiridin-2-on grubunun da 5-LOX enzimindeki demir ile şelat yapabileceği fikrinden hareketle, selekoksibdeki tolil halkasının



Şekil 16

(A) *ALIOX 18*'in COX-2 aktif yöresine dockingi. (B) *ALIOX 18*'in 5-LOX aktif yöresine dockingi.

N-difluorometil-1,2-dihidropiridin-2-on ile yer değiştirmesi sonucu güçlü antiinflamatuvar etkili yeni dual COX/5-LOX inhibitörleri elde edilmiştir (Şekil 17)^{60,61}.



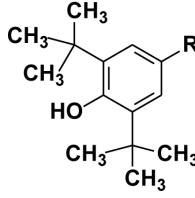
Şekil 17

N-difluorometil-1,2-dihidropiridin-2-on farmakoforu taşıyan dual COX/5-LOX inhibitörleri

4.2.2. Di-*tert*-bütilfenoller

Yeni dual COX/5-LOX inhibitörlerini tespit etmek için di-*tert*-bütilfenol türevleri ayrıntılı olarak incelenmiştir. Dördüncü konumdan süstitüe 2,6-di-*tert*-butil-1-hidroksibenzen çekirdeği dual aktivite için optimal yapıdır. Dördüncü konumdaki süstitüentler 5 veya 6 üyeli heterosiklik veya düz zincirli yapılardır. Bu bileşiklere antioksidan özellik sağlayan fenol çekirdeği bileşiklerin antiinflamatuvar etkisinden ve düşük ülserojenik gücünden sorumludur. Bu bileşiklerin terapötik indekslerinin klasik NSAİ ilaçlardan daha yüksek olduğu gösterilmiştir (antiinflamatuvar etkinliklerinin Gİ güvenlikprofiline oranı)^{43,55}.

Di-*tert*-bütilfenollerin büyük bir kısmının sentezi yapılmış ve farmakolojik olarak değerlendirilmiştir. İncelenen en karakteristik di-*tert*-bütilfenol yapıları şekil 19'da gösterilmiştir. **R-830** bileşiği, *in vitro* deneylerde PGE₂ ve LTB₄'ü inhibe ederek antiinflamatuvar etki göstermiştir. Ayrıca antioksidan özellikleri kanıtlanmıştır. **KME-4** ise antiinflamatuar etkinin yanında analjezik etki gösterir. **E-5110** bileşiği, *in vivo* deneylerde akut antiinflamatuvar cevap oluşturur ve kronik inflamasyonda indometazine benzer bir aktivite gösterirken, indometazin ve piroksikam kadar ülserojenik değildir. **CI-986** kolin tuzu formunda 5-LOX

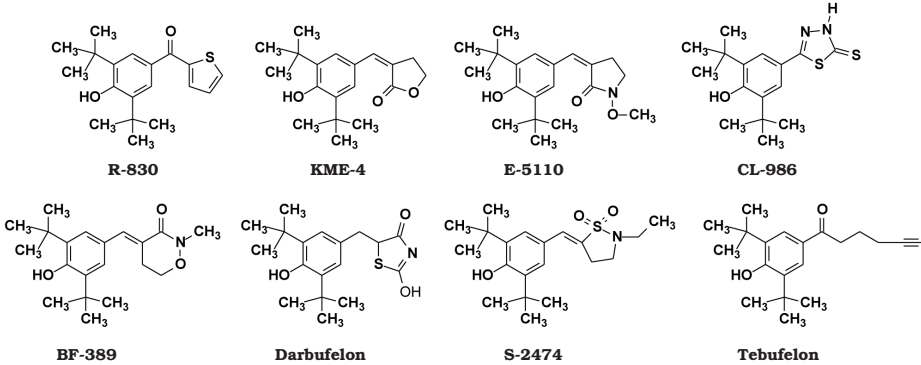


Şekil 18

Di-*tert*-bütilfenollerin genel yapısı

ve COX inhibisyonu yaparken, oral 200 mg/kg dozda bile gastrik ülser neden olmamaktadır. **BF-389**, bilgisayar destekli yapı değerlendirme programı yardımıyla tasarlanmış ve sentezlenmiştir. *In vitro* deneylerde güçlü COX inhibitörü olduğu ve LTB₄ üretimini inhibe ettiği gösterilmiş ve ülser yol açması naproksene kıyasla daha güvenli bulunmuştur. Antiromatizmal bileşik olarak da çeşitli hayvan modellerinde değerlendirilmektedir⁵⁵.

Selektif COX-2/5-LOX inhibitörü **darbufelon** ve **S-2474** antiinflamatuar etkilerinin yanında sitokin düzenleyici aktivite de gösterir ve artrit tedavisi için klinik denemeler aşamasındadır⁶². Darbufelonun oral 200 mg/kg dozda uygulandığında bile gastrik ülserasyona neden olmadığı saptanmıştır. γ -Sultam sübstitüenti taşıyan **S-2474** bileşiğinin ise LTB₄ ve PGE₂ sentezini inhibe ederek antiinflamatuar etki gösterdiği ve indometazine oranla daha düşük ülser insidansı gösterdiği bulunmuştur⁵⁵.

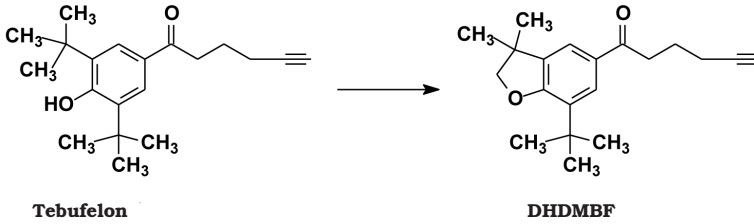


Şekil 19

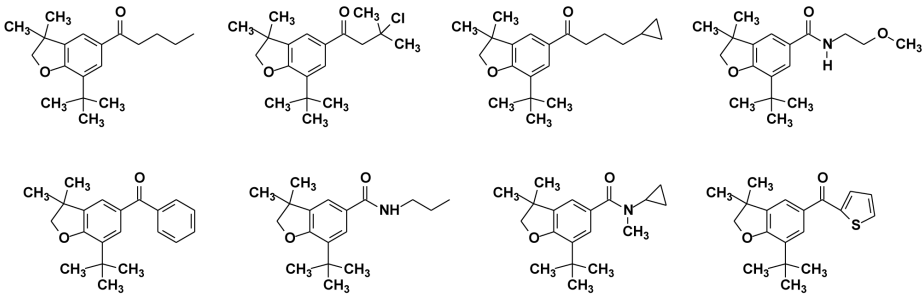
Di-*tert*-bütilfenol sınıfı dual COX/5-LOX inhibitörleri

Tebufelon kuvvetli bir dual COX/5-LOX inhibitörüdür. Ancak bazı deneklerde yapılan çalışmalarda üç haftadan daha uzun tekrarlanan uygulamalarda çeşitli karaciğer enzimlerini yükselttiği veya karaciğer toksisitesini işaret eden belirtiler oluşturduğu bulunmuştur⁵⁵.

Tebufelon'un metabolitleri arasında dihidrodimetilbenzofuran (DHDMBF) özellikle ilginçtir (şekil 20). Antioksidan özellikteki fenol çekirdeği taşımamasına rağmen, sıçan karagenin pençe ödemi testinde tebufelona eşit antiinflamatur aktivite göstermiştir. Yapılan daha ileri çalışmalar, tebufelonun aksine DHDMBF'in hem 5-LOX hem de COX-2 enzimlerini selektif olarak inhibe ettiğini göstermiştir. Bu metabolitin 5. pozisyonu üzerinde yapılan çalışmalar bir seri dihidrodimetilbenzofuran molekülüyle sonuçlanmıştır (şekil 21). Tebufelon ve DHDMBF karaciğer enzimlerini inhibe ederek karaciğer toksisitesine neden olurken, DHDMBF türevleri karaciğer toksisitesi göstermez. Tebufelon ve DHDMBF'in hepatic toksisitesi bu iki bileşiğin 5. konumdaki sübstituentlerinin terminal



Şekil 20
Tebufelonun metabolizma yolu

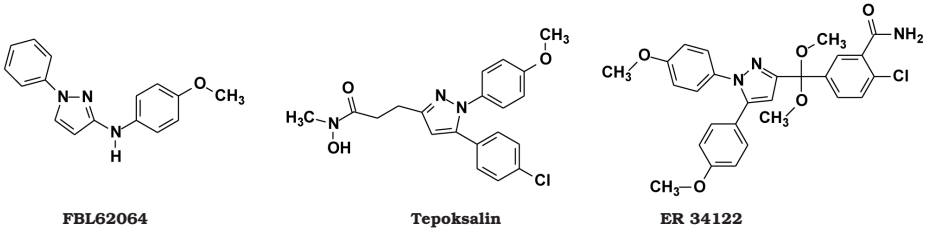


Şekil 21
5. pozisyonunda değişiklik yapılan DHDMBF türevleri

kısımındaki doymamışlığına bağlanmıştır. Çalışılan türevler arasında **PGV-20229** ile gösterilen dual etkili model bileşiğin analjezik etkinliğinin yüksek, gastrik güvenliğinin ise mükemmel olduğu bildirilmiştir^{55,63,64}.

4.2.3. Pirazol Türevleri

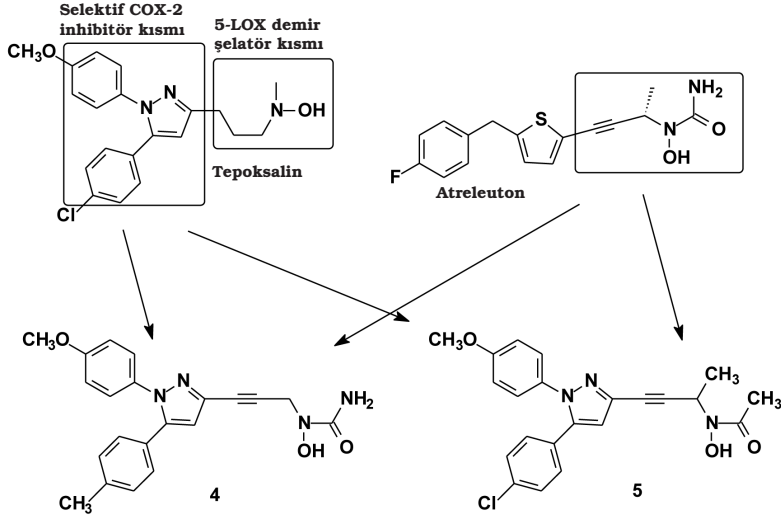
Pirazol türevlerinin büyük bir kısmı dual inhibitör olarak sentezlenmiş, ancak serideki bazı bileşikler dual COX/5-LOX inhibitörü özelliği göstermişlerdir (şekil 22). **FPL-62064**, hayvan modellerinin büyük bir kısmında antiinflamatuvar özellik göstermiştir. **Tepoksalin**'in TXB₂ ve LTB₄ inhibisyonuyla antiinflamatuvar ve analjezik etki göstererek kuvvetli bir dual inhibitör olduğu deneklerde tespit edilmiştir. Ayrıca IL-6 ve α -1 antikemotripsin sentezini inhibe etmesi gibi diğer özellikleri de yakın



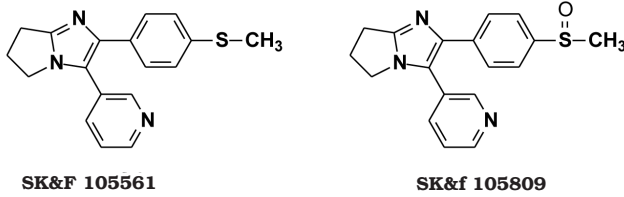
Şekil 22
Pirazol türevleri

zamanda keşfedilmiştir. Tepoksalin selektif COX-2 inhibitörlerinin trisiklik yapısına sahip ve 5-LOX'un non-heme demir atomuyla şelat yapabilecek hidroksamik asit taşıyan bir pirazol bileşiğidir. Hidroksamat fonksiyonunun metabolik stabilitesini arttırmak için tepoksalinin 5-LOX demir şelatör kısmında modifikasyonlar yapılarak atreleutona benzeyen güçlü dual etkili iki kimyasal hibrit bileşiğine (**4**, **5**) ulaşılmıştır (şekil 23). Fakat iki bileşik de 5-LOX inhibitör etki süresini düzeltememiştir. Diğer bir türev olan **ER-34122**'nin ise *in vitro* insan PMN lökositlerinde LTB₄ sentezini ve insan sinovial hücre kültüründe PGE₂ sentezini inhibe ettiği gözlemlenmiştir^{43,55}.

SmithKline Beecham tarafından tasarlanıp sentezlenen ve piridinil taşıyan pirolimidazol bileşiklerinin dual inhibisyon yanında IL-1 sentezini de kuvvetli bir şekilde inhibe ederek antiinflamatuvar etki gösterdiği bulunmuştur (şekil 24). **SK&F 105561** ve ön-ilacı olan **SK&F 105809** bu serideki en aktif bileşiklerdir^{65,66}.

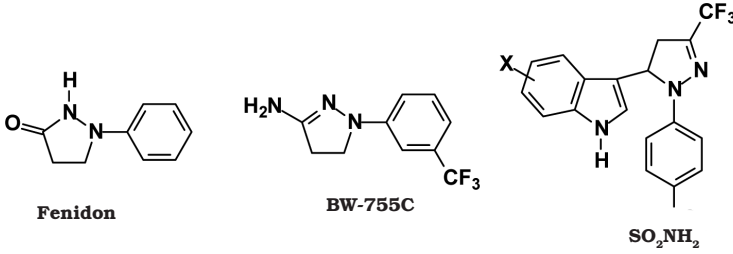


Şekil 23
Tepoksalin ve türevlerinin yapıları



Şekil 24
Piridinil pirolimidazol türevleri

Pirazolin türevlerinde ana bileşikler **fenidon** ve **BW-755C**'dir. Antioksidan özellikteki bu bileşiklerin 5-LOX inhibisyonunun selektif olmadığı aynı zamanda COX'un her iki izoformunu da inhibe ettiği bulunmuştur (şekil 25)⁵⁵. 5-(3-İndolil)-1-(4-sülfamilfenil)-3-trifluorometil pirazolin türevlerinin de COX-2 ve 5-LOX enzimlerini inhibe ettiği, pirazolin halkasının pirazole dönüştüğü durumlarda ise aktivitenin tamamen kaybolduğu bildirilmiştir⁶⁷.



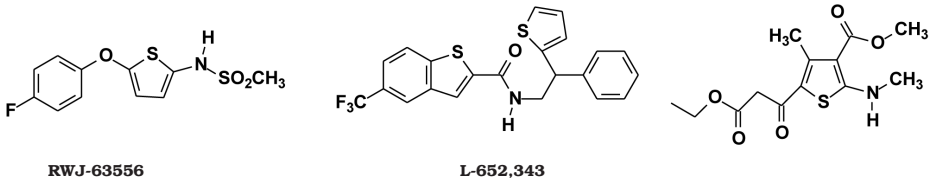
Şekil 25
Pirazolin türevleri

4.2.4. Tiyofen Türevleri

Yapısal olarak selektif COX-2 inhibitörlerinden nimesulide benzeyen **RWJ-63556** bu grubun öncü bileşiği ve oral olarak etkili güçlü bir COX-2/5-LOX inhibitörüdür (şekil 26). Bu bileşiğin güçlü bir şekilde 5-LOX enzimini ($IC_{50} = 0.13 \mu M$) inhibe ettiği, ayrıca COX-1 enzimine ($IC_{50} > 10 \mu M$) oranla COX-2 enzimini ($IC_{50} = 1.86 \mu M$) daha güçlü bir şekilde inhibe ettiği bulunmuştur⁶⁸.

Tiyofen türevi diğer bir bileşik olan **L-652,343**'ün ise *in vitro* COX ve 5-LOX enzimlerini inhibe ettiği ve *in vivo* akut ve kronik inflamasyonda etkili olduğu hayvan modellerinde gösterilmiştir⁶⁹.

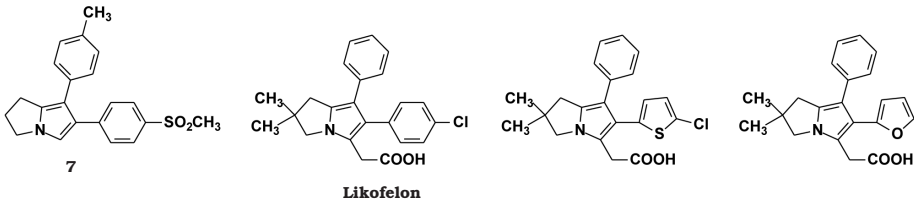
Dual COX/5-LOX inhibitörü geliştirmek için tasarlanan tetrasübstitüe tiyofen türevlerinde yapılan yapı-aktivite çalışmalarında ise, tiyofen halkasının 5 numaralı konumunda 3-alkoksi-3-oksopropanoil zinciri, 2 numaralı konumunda metilamino grubu ve 3 numaralı konumda ester grubunun bulunduğu türevlerin umut verici farmakoforlar olduğu bildirilmiştir (şekil 26)⁵⁶.



Şekil 26
Tiyofen türevleri

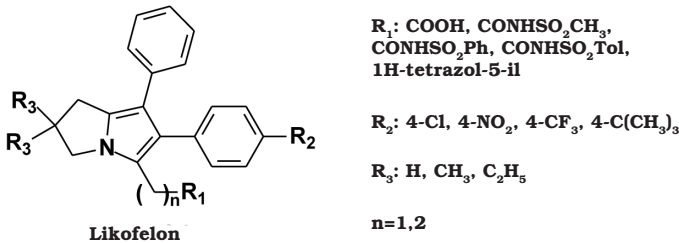
4.2.5. Prolizin Türevleri

Birkaç prolizin türevinin dual COX/5-LOX inhibitör etkinliğe sahip olduğu bulunmuştur (şekil 27). **Bileşik 7** ve diğer prolizin türevlerinin de COX-2'e daha yüksek selektivite göstermekle birlikte, COX-1/COX-2 ve 5-LOX inhibitörlerinin yapısal karakteristiklerini taşıdığı bildirilmiştir. Çoğu bileşiğin aksine ne antioksidan ne de demir şelat özelliği olan **Likofelon**'un osteoartrit tedavisi için faz III klinik testlerine girdiği bildirilmiştir. Bu bileşiğin bazı hayvan modellerinde antiinflamatuvar, analjezik ve antiastmatik etki gösterdiği, 5-LOX ve tercihen COX-1'i inhibe etmesine rağmen GI hasara neden olmadığı ve bunun nedeninin henüz aydınlatılmadığı bildirilmiştir⁷⁰⁻⁷³.



Şekil 27
Prolizin türevleri

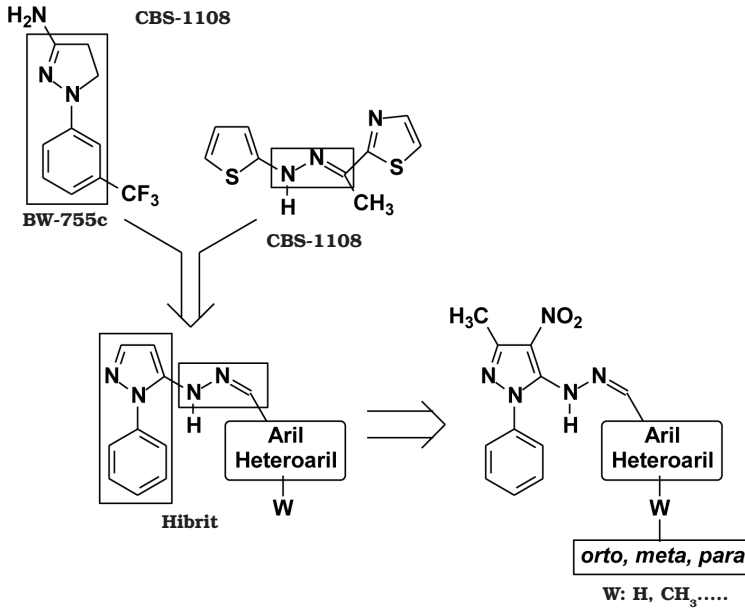
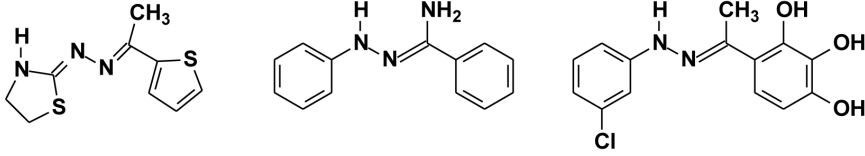
Likofelon öncü bileşik seçilerek yapılan yapı-aktivite çalışmalarında, asit grubu üzerinde durulmuş ve alkil zinciri bir karbon uzatıldığında elde edilen propiyonik asit türevlerinin asetik asit türevlerine kıyasla etkinliğinin çok değişmediği görülmüştür. Serbest asit grubu yerine sübstitüe sülfonimidler getirildiğinde ise etkinlikte önemli bir artış olduğu görülmüştür (Şekil 28)⁷⁴.



Şekil 28
Likofelon türevleri

4.2.6. Hidrazon Türevleri:

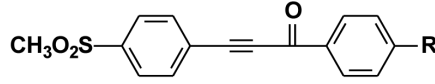
Dual COX/5-LOX inhibitörü olarak birçok hidrazon türevi bileşik tanımlanmıştır. Bunlara örnekler aşağıdaki şekilde gösterilmiştir^{55,75}.



Şekil 29
Hidrazon türevi dual inhibitörlere örnekler

4.2.7. Diarilprop-2-in-1-on Türevleri:

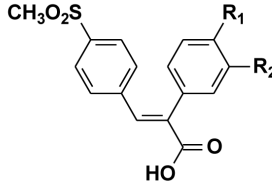
Değişik elektronik ve sterik özellikte R süstitüenti taşıyan birçok di-arilpropinon türevi bileşik sentezlenmiştir. Üç numaralı konumdaki fenil halkasında *para*-sülfonilmetil süstitüsyonunun COX-2 selektifliği için gerekli olduğu, R süstitüentinin *i*-propil veya siyano grubu olduğunda en yüksek dual COX-2/5-LOX inhibitörü aktivitenin elde edildiği bildirilmiştir (Şekil 30). Alkil, $-CF_3$, $-OCH_3$, $-OH$ gibi diğer süstitüsyonlar her iki enzimde birden önemli bir inhibisyona yol açmamıştır. Her iki fenil halkasında da *para*-sülfonilmetil süstitüsyonu olduğunda ise, hem COX hem LOX inhibitör aktivitenin tamamen kaybolduğu bildirilmiştir^{76,77}.



Şekil 30

1,3-Difenilprop-2-in-1-on'ların genel yapısı

Propen grubu taşıyan basit aromatik bileşiklerin de dual COX/5-LOX inhibitör aktivite gösterebileceği bildirilmiştir. Mesela, 1-furan-2-il-3-piridin-2-il-propenon bileşiğinin COX-2 için $IC_{50} = 1.89$, 5-LOX inhibisyonu için $0.37 \mu M$ 'dir. Ayrıca *para*-metansülfonilfenil (COX-2) ve sübtitüe fenil/bifenil (5-LOX) farmakoforu taşıyan akrilik asit türevleri de tasarlanmıştır (Şekil 31). R_1 ve R_2 için farklı sübtitüentler bir araya getirilmesine rağmen, COX-2 ve 5-LOX'un birlikte inhibisyonu başarılammıştır. R_1 'in fluor, hidroksil veya asetamid olduğu bileşikler güçlü LOX inhibisyonu ($IC_{50} = 0.1-1.3 \mu M$), zayıf-orta şiddetli COX inhibisyonu yapmıştır. Diğer taraftan R_1 veya R_2 'ye daha büyük sübtitüe bifenil grupları getirildiğinde güçlü selektif COX-2 inhibisyonu gözlenmiştir^{56,78}.



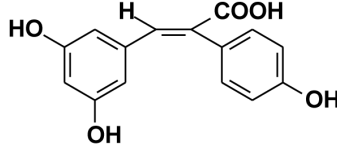
Şekil 31

Akrilik asit türevlerinin temel yapısı

Dual COX/5-LOX inhibitör etki göstermesi beklenen, yeni α -sübtitüe-3,5-dihidroksifenil propenoik asit öncü bileşik seçilerek geliştirilen bileşiklerde bazı aktif moleküllere ulaşılmıştır. Bunlardan NNU-hdpa COX-2 selektif ve güçlü 5-LOX inhibisyonu etki göstermiştir (COX-1, COX-2 ve 5-LOX için sırasıyla $IC_{50} = 3.1, 0.36$ ve $0.5 \mu M$ 'dir) (Şekil 32)⁷⁹.

5. Sonuç

NSAİ ilaçlar yaygın olarak artrit gibi inflamasyonlu hastalıkların tedavisinde kullanılırlar. Bununla beraber kronik kullanımları özellikle GİS ve böbreklerde yaptıkları yan etkilerden dolayı sınırlanmıştır. Selektif



Şekil 32
NNU-hdpa

COX-2 inhibitörleri; NSAİ ilaçların COX-1'in inhibisyonuyla neden olduğu yan etkileri azaltmak için geliştirilmiş ve piyasaya sürülmüştür. Ancak son bulgular COX-2'nin bazı fizyolojik olaylarda önemli bir rol oynadığına işaret ederken, selektif COX-2 inhibitör teorisi hakkındaki soruları da çoğaltmıştır. Ayrıca COX inhibisyonu 5-LOX yolağının aktivasyonunu arttırmakta, bu da çeşitli yan etkiler oluşturmaktadır.

Yapılan çalışmalarda COX ve 5-LOX enzimlerini aynı anda inhibe edebilecek çeşitli yapısal özelliklere sahip dual inhibitörler tasarlanmış ve bazıları prelinik (klinik öncesi) ya da klinik çalışmalara alınmıştır. Bunlar hem LT hem de prostanoitlerin biyosentezini inhibe ederek kuvvetli antiinflatuvar etki göstermişlerdir.

Bu bileşiklerin hiçbiri henüz pazara çıkmamışsa da, GI toksisitelerinin yok denecek kadar az olmasından dolayı klasik NSAİ ilaçlar ve bir ölçüde de selektif COX-2 inhibitörlerine alternatif, değerli, güçlü terapötik etkili temsilcilerden olmuşlardır.

Bu bileşiklerin tamamı COX-2'nin selektif inhibisyonunu yapmaz. Likofelon ve S-2474 gibi bileşiklerin klinik çalışmalarından gelecek bilgiler COX'un iki izoformunun inhibisyonu ve buna ek olarak 5-LOX yolağının blokajının ortak ve dengeli olacağı hakkında bilgi verecektir.

Özet

Dual Siklooksijenaz-2/5-Lipooksijenaz (COX-2/5-LOX) inhibitörleri, araşidonik asitin iki major yolağı olan COX-2 ve 5-LOX yolaklarını inhibe eder. Bu iki yolağın blokajı ile inflamasyona neden olan prostanoit ve lökotrienlerin biyosentezi inhibe edilir. Klasik NSAİ ilaçların neden olduğu gastrointestinal (GI) sistemdeki yan etkiler bu bileşiklerde ya

bulunmamakta ya da minimuma indirilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucu COX ve 5-LOX enzimlerini aynı anda inhibe edebilecek çeşitli yapısal özelliklere sahip dual inhibitörler tasarlanmış ve bazıları prelinik (klinik öncesi) ya da klinik çalışmalara alınmıştır. Bunlar hem LT hem de prostanoitlerin biyosentezini inhibe ederek kuvvetli antiinflamatuvar etki göstermişlerdir. COX ve 5-LOX inhibitörlerinin kombinasyonu hem iki sınıf ilacın tek başına kullanılışlarından daha etkili olacak, aynı zamanda her iki enzimin tek bir ilaçla inhibisyonu ile güçlü dozlamadan ve ilaç etkileşimlerinden kaçınılmış olunacaktır. Bu nedenle dual COX-2/5-LOX inhibitörleri, inflamatuvar hastalıkların tedavisinde klasik NSAİ ilaçlara ve selektif COX-2 inhibitörlerine önemli bir alternatif sağlar.

Anahtar kelimeler: NSAİ, COX, 5-LOX, COX/5-LOX'un dual inhibitörleri.

Summary

A New Avenue in Anti-Inflammatory Therapy: Dual Inhibitors of Cyclooxygenase and 5-Lipoxygenase.

Dual inhibitors are drugs able to block both the COX (Cyclooxygenase) and the 5-LOX (5-Lipoxygenase) metabolic pathways. The biosynthesis of prostanoits and leukotriens giving rise to inflammation is inhibited by the blockage of the these two pathways. Dual inhibitors appear to be almost exempt from gastric toxicity, which is the most troublesome side effect of nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs). Various chemical families of dual COX/5-LOX inhibitors have been designed and some of them are currently undergoing preclinical or clinical development. The antiinflammatory effect of the combined COX/5-LOX inhibitors is higher than their individual antiinflammatory effects. Also it is forebared from drug interactions and potent dosing by dual inhibition. Dual COX/5-LOX inhibitors constitute a valuable alternative to classical NSAIDs and selective COX-2 inhibitors for the treatment of inflammatory diseases.

Keywords: NSAİ, COX, 5-LOX, Dual inhibitors of COX/5-LOX

KAYNAKLAR

1. Bertolini, A., Ottani, A., Sandrini, M. : Dual Acting Antiinflammatory Drugs: A Reappraisal, *Pharmacological Research*, 44 (6), 437 (2001).
2. Marnett, L.J., Rowlinson, S.W., Goodwin, D.C., Kalgutkar, A.S., Lanzo, C.A. : Arachidonic Acid Oxygenation by COX-1 and COX-2: Mechanisms of Catalysis and Inhibition, *Journal of Biological Chemistry*, 274 (33), 22903 (1999).
3. Smith, W.L., Marnett, L.J.: Prostaglandin Endoperoxide Synthase: Structure and Catalysis, *Biochimica Biophysica Acta*, 1083 (1), 1 (1991).
4. Griswold, D.E., Adams, J.L.: Constitutive Cyclooxygenase (COX-1) and Inducible Cyclooxygenase (COX-2): Rationale for Selective Inhibition and Progress to Date, *Medicinal Research Reviews*, 16 (2), 181 (1996).
5. Kayaalp, S.O., Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Ankara, Hacettepe-Taş Yayınları (2005), 11.
6. Vane, J.R., Bakhle, Y.S., Botting, R.M.: Cyclooxygenase-1 and -2, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 38, 97 (1998).
7. Samad, T.A., Sapirstein, A., Woolf, C.J.: Prostanoids and Pain: Unraveling Mechanisms and Revealing Therapeutic Targets, *Trends in Molecular Medicine*, 8 (8), 390 (2002).
8. Fu, J.Y., Masferrer, J.L., Seibert, K., Raz, A., Needleman, P.: The Induction and Suppression of Prostaglandin H-2 Synthase (Cyclooxygenase) in Human Monocytes, *Journal of Biological Chemistry*, 265 (28), 16737 (1990).
9. Smith, W.L., Garavito, R.M., DeWitt, D.L. : Prostaglandin Endoperoxide H Synthases (Cyclooxygenases) -1 and -2, *Journal of Biological Chemistry*, 271 (52), 33157 (1996).
10. Hoffmann, C.: COX-2 in Brain and Spinal Cord-Implications for Therapeutic Use, *Current Medicinal Chemistry*, 7 (11), 1113 (2000).
11. Morita, I., Schindler, M., Regier, M.K., Otto, J.C., Hori, T., DeWitt, D.L., Smith, W.L. : Different Intracellular Locations for Prostaglandin Endoperoxide H Synthase-1 and -2, *Journal of Biological Chemistry*, 270 (18), 10902 (1995).
12. Picot, D., Loll P.J., Garavito, R.M.: The X-ray Crystal Structure of the Membrane Protein Prostaglandin H₂ Synthase-1, *Nature*, 367, 243 (1994).
13. Luong, C., Miller, A., Barnett, J., Chow, J., Ramesha, C., Browner, M.F.: Flexibility of the NSAID Binding Site in the Structure of Human Cyclooxygenase-2, *Nature Structural & Molecular Biology*, 3, 927 (1996).
14. Kurumbail, R.G., Stevens, A.M., Gierse, J.G., McDonald, J.J., Stegeman, R.A., Pak J.Y. ve Diğerleri.: Structural Basis for Selective Inhibition of Cyclooxygenase-2 by Antiinflammatory Agents, *Nature*, 384 (6610), 644 (1996).
15. Grosser, T., Fries, S., FitzGerald, G.A.: Biological Basis for the Cardiovascular Consequences of COX-2 Inhibition: Therapeutic Challenges and Opportunities, *The Journal of Clinical Investigation*, 116 (1), 4 (2006).
16. Dannhardt, G., Kiefer, W.: Cyclooxygenase Inhibitors Current Status and Future Prospects, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 36 (2), 109 (2001).
17. Goldenberg, M.M.: Celecoxib, a Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitor for the Treatment of Rheumatoid Arthritis and Osteoarthritis, *Clinical Therapeutics*, 21 (9), 1497 (1999).
18. Bayly, C.I., Black, W.C., Leger, S., Ouimet, N., Ouellet, M., Percival, M.D.: Structure-Based Design of COX-2 Selectivity into Flurbiprofen, *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 9 (3), 307 (1999).
19. Dannhardt, G., Laufer, S.: Structural Approaches to Explain the Selectivity of COX-2 Inhibitors: Is There a Common Pharmacophore?, *Current Medicinal Chemistry*, 7 (11), 1101 (2000).

20. Marnett, L.J.: Recent Developments in Cyclooxygenase Inhibition, Prostaglandins Other Lipid Mediators, 68-69, 153 (2002).
21. Gambaro, G.: Strategies to Safely Interfere with Prostanoid Activity while Avoiding Adverse Renal Effects: Could COX-2 and COX-LOX Dual Inhibition be the Answer?, Nephrology Dialysis Transplantation, 17 (7), 1159 (2002).
22. Prigge, S.T., Boyington, J.C., Faig, M., Doctor, K.S., Gaffney, B.J., Amzel, L.M. : Structure and Mechanism of Lipoxygenases, Biochimie, 79 (11), 629 (1997).
23. Kuhn, H.: Structural Basis for the Positional Specificity of Lipoxygenase, Prostaglandins & Other Lipid Mediators, 62 (3), 255 (2000).
24. Samuelsson, B.: Leukotriene: Mediators of Immediate Hypersensitivity Reactions and Inflammation, Science, 220 (4597), 568 (1983).
25. Tornhamre, S., Sjolinder, M., Lindberg, A., Ericsson, İ., Nasman-Glaser, B., Griffiths, W.J. ve Diğerleri.: Demonstration of Leukotriene C₄ Synthase in Plateles and Species Distribution of the Enzyme Activity, European Journal of Biochemistry, 251 (1), 227 (1998).
26. Lewis, R.A., Austen, K.F., Soberman, R.J. : Leukotrienes and other Products of the 5-Lipoxygenase Pathway. Biochemistry and Relation to Pathobiology in Human Diseases, New England Journal Medicinal, 323 (10), 645 (1990).
27. Haeggstrom, J.Z., Wetterholm, A. : Enzymes and Receptors in the Leukotriene Cascade, Cellular and Molecular Life Science, 59 (5), 742 (2002).
28. Samuelsson, B., Dahlen, S.E., Lindgren, J.A., Rouzer, C.A., Serhan, C.N. : Leukotriene and Lipoxins: Structures, Biosynthesis and Biological Effects, Science, 237 (4819), 1171 (1987).
29. Radmark, O.: Arachidonate 5-Lipoxygenase, Journal of Lipid Mediators and Cell Signalling, 12 (2), 171 (1995).
30. Boyington, J.C., Gaffney, B.J., Amzel, L.M.: The Three-Dimensional Structure of an Arachidonic Acid 15-Lipoxygenase, Science, 260 (5113), 1482 (1993).
31. Skrzypczak-Jankun, E., Amzel, L.M., Kroa, B.A., Funk, M.O. Jr. : Structure of Soybean Lipoxygenase L3 and a Comparison With Its L1 Isoenzyme, Proteins, 29 (1), 15 (1997).
32. Gillmor, S.A., Villaseñor, A., Fletterick, R., Sigal, E., Browner, M.F.: The Structure of Mammalian 15-Lipoxygenase Reveals Similarity to the Lipases and the Determinants of Substrate Specificity, Nature Structural & Molecular Biology, 4 (12) 1003 (1997).
33. Borngaber, S., Browner, M., Gillmor, S., Gerth, C., Anton, M., Fletterick, R. ve Diğerleri.: Shape and Specificity Mammalian 15-Lipoxygenase Active Site: The Functional Interplay of Sequence Determinants for the Reaction Specificity, Journal of Biological Chemistry, 274 (52), 37345 (1999).
34. Chen, X.S., Funk, C.D.: The N-terminal "β-Barrel" Domain of 5-Lipoxygenase is Essential for Nuclear Membrane Translocation, Journal of Biological Chemistry, 276 (1), 811 (2001).
35. Dixon, R.A., Diehl, R.E., Opas, E., Rands, E., Vickers, P.J., Evans, J.F. ve Diğerleri.: Requirement of A 5-Lipoxygenase-Activating Protein for Leukotriene Synthesis, Nature, 343 (6255), 282 (1990).
36. Chung, K.F.: Leukotriene Receptor Antagonists and Biosynthesis Inhibitors: Potential Breakthrough in Asthma Therapy, European Respiratory Journal, 8, 1203 (1995).
37. McMillan, R.M., Walker, E.R.: Designing Therapeutically Effective 5-Lipoxygenase Inhibitors, Trends in Pharmacological Sciences, 13 (8), 323 (1992).
38. Goossens, L., Pommery, N., Hénichart, J.P. : COX-2/5-LOX Dual Acting Anti-Inflammatory Drugs in Cancer Chemotherapy, Current Topics in Medicinal Chemistry, 7, 283 (2007).

39. Young, R.N. : Inhibitors of 5-Lipoxygenase: A Therapeutic Potential yet to be Fully Realized?, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 34, 671 (1999).
40. McMillan, R.M., Walker, E.R.: Designing Therapeutically Effective 5-Lipoxygenase Inhibitors, *Trends in Pharmacological Sciences*, 13 (8), 323 (1992).
41. Hammond, M.L., Kopka, İ.E., Zambias, R.A., Caldwell, C.G., Boger, J., Baker, F. ve Diğerleri. : 2,3- Dihydro-5-benzofuranols as Antioxidant-based Inhibitors of Leukotriene Biosynthesis, *Journal of Medicinal Chemistry*, 32 (5), 1006 (1989).
42. Leone, S., Ottani, A., Bertolini, A.: Dual Acting Anti-Inflammatory Drugs, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 7, 265 (2007).
43. Charlier, C., Michaux, C.: 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, 645 (2003).
44. Werz, O.: 5-Lipoxygenase: Cellular Biology and Molecular Pharmacology, *Current Drug Targets - Inflammation & Allergy*, 1, 23 (2002).
45. Brooks, C.D.W., Summers, J.B. : Summers Modulators of Leukotriene Biosynthesis and Receptor Activation, *Journal of Medicinal Chemistry*, 39 (14), 2629 (1996).
46. Kolasa, T., Brooks, C.D.W., Rodrigues, K.E., Summers, J.B., Dellaria, J.F., Hulkower, K.İ. ve Diğerleri.: Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs as Scaffolds for the Design of 5-Lipoxygenase Inhibitors, *Journal of Medicinal Chemistry*, 40 (5), 819 (1997).
47. Pontiki, E., Hadjipavlou-Litina, D. : Lipoxygenase Inhibitors: A Comparative QSAR Study Review and Evaluation of New QSARs, *Medicinal Research Reviews*, 28 (1), 39 (2006).
48. Buccellati, C., Fumagalli, F., Viappiani, S., Folco, G.: Leukotriene Modifiers: Novel Therapeutic Opportunities in Asthma, *Farmaco*, 57 (3), 235 (2002).
49. Diamant, Z., Bel, E.H., Dekhuijzen, P.N.: Anti-Leukotriene Therapy in Asthma, *Netherlands Journal of Medicinal*, 53 (4), 176 (1998).
50. Ding, X.Z., Hennig, R., Adrian, T.E.: Lipoxygenase and Cyclooxygenase Metabolism: New Insights in Treatment and Chemoprevention of Pancreatic Cancer, *Molecular Cancer*, 2 (1), 10 (2003).
51. Gilroy, D.W., Tomlinson, A., Willoughby, D.W.: Differential Effects of Inhibitors of Cyclooxygenase (Cyclooxygenase-1 and Cyclooxygenase-2) in Acute Inflammation, *European Journal Pharmacology*, 355 (2), 211 (1998).
52. Fiorucci, S., Meli, R., Bucci, M., Cirino, G.: Dual Inhibitors of Cyclooxygenase and 5-Lipoxygenase. A New Avenue in Anti-inflammatory Therapy?, *Biochemical Pharmacology*, 62 (11), 1433 (2001).
53. Drazen, J.M., Israel, E., O'Byrne, P.M.: Treatment of Asthma with Drugs Modifying the Leukotriene Pathway, *The New England Journal of Medicine*, 340 (3), 197 (1999).
54. Parente, L.: Pros and Cons of Selective Inhibition of Cyclooxygenase-2 Versus Dual Lipoxygenase/Cyclooxygenase Inhibition: Is Two Better than One? *The Journal of Rheumatology*, 28 (11), 2375 (2001).
55. Leval, X.D., Julemont, F., Dearge, J., Pirotte, B., Dogne, J.M. New Trends in Dual 5-LOX/COX Inhibition, *Current Medicinal Chemistry*, 9, 941 (2002).
56. Abdel-Tawab, M., Zettl, H. Schubert-Zsilavec, M.: Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: A Critical Review on Current Concepts Applied to Reduce Gastrointestinal Toxicity, *Current Medicinal Chemistry*, 16, 2042 (2009).
57. Bridoux, A., Millet, R., Pommery, J., Pommery, N., Henichart J.P.: Synthesis and Biological Activity of N-Aroyl-tetrahydro- γ -carbolines, *Bioorganic Medicinal Chemistry*, 18, 3910 (2010).

58. Boschelli, D.H., Connor, D.T., Hoefle, M., Bornemeier, D.A., Dyer, R.D.: Conversion of NSAIDs into Balanced Inhibitors of Cyclooxygenase and 5-Lipoxygenase. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 2 (1), 69 (1992).
59. Barbey, S., Goossens, L., Tavernier, T., Cornet, J., Choismel, V. ve Diğerleri.: Synthesis and Activity of a New Methoxytetrahydropyran Derivative as Dual Cyclooxygenase-2/5-Lipoxygenase Inhibitor, *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 12 (5), 779 (2002).
60. Chowdhury, M.A., Abdellatif, K.R.A., Dong, Y., Rahman, M., Das, D., Suresh, M.R., Knaus, E.E.: Synthesis of 1-(Methanesulfonyl- and Aminosulfonylphenyl)acetylenes that Possess a 2-(N-Difluoromethyl-1,2-dihydropyridin-2-one) Pharmacophore: Evaluation as Dual Inhibitors of Cyclooxygenases and 5-Lipoxygenase with Anti-inflammatory Activity, *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 19, 584 (2009).
61. Chowdhury, M.A., Abdellatif, K.R.A., Dong, Y., Das, D., Suresh, M.R., Knaus, E.E.: Synthesis of Celecoxib Analogues Possessing a N-Difluoromethyl-1,2-dihydropyridin-2-one 5-Lipoxygenase Pharmacophore: Biological Evaluation as Dual Inhibitors of Cyclooxygenases and 5-Lipoxygenase with Anti-Inflammatory Activity, *Journal of Medicinal Chemistry*, 52, 1525 (2009).
62. Steele, V.E., Holmes, C.A., Hawk, E.T., Kopelovich, L., Lubet, R.A. ve Diğerleri.: Lipoxygenase Inhibitors as Potential Cancer Chemopreventives, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 8 (5), 467 (1999).
63. Janusz, J.M., Young, M.A., Ridgeway, J.M., Scherz, M.W. ve Diğerleri.: New Cyclooxygenase-2/5-Lipoxygenase Inhibitors. 1. 7-*tert*-butyl-2,3-dihydro-3,3-dimethylbenzofuran Derivatives as Gastrointestinal Safe Antiinflammatory and Analgesic Agents: Discovery and Variation for the 5-Keto Substituent, *Journal Medicinal Chemistry*, 41 (7), 1112 (1998).
64. Zheng, M., Zhang, Z., Zhu, W., Liu, H., Luo, X., Chen, K., Jiang, H.: Essential Structural Profile of a Dual Functional Inhibitor Against Cyclooxygenase-2 (COX-2) and 5-Lipoxygenase (5-LOX): Molecular Docking and 3D-QSAR Analyses on DHDMBF Analogues, *Bioorganic Medicinal Chemistry*, 14, 3428 (2006).
65. Marshall, P.J., Griswold, D.E., Breton, J., Webb, E.F., Hillegass, L.M. ve Diğerleri.: Pharmacology of the Pyrroloimidazole, SK&F 105809--I. Inhibition of Inflammatory Cytokine Production and of 5-Lipoxygenase- and Cyclooxygenase-Mediated Metabolism of Arachidonic Acid, *Biochemical Pharmacology*, 42, 813 (1991).
66. Olivera, D.L., Esser, K.M., Lee, J.C., Greig, R.G., Badger, A.M.: Beneficial Effects of SK&F 105809, a Novel Cytokine-Suppressive Agent, in Murine Models of Endotoxin Shock, *Circulatory Shock*, 37, 301 (1992).
67. Reddy, M.V.R., Billa, V.K., Pallela, V.R., Mallireddigari, M.R., Boominathan, R., Gabriel, J.L., Reddy, E.P. : Design, Synthesis, and Biological Evaluation of 1-(4-Sulfamylphenyl)-3-trifluoromethyl-5-indolyl Pyrazolines as Cyclooxygenase-2 (COX-2) and Lipoxygenase (LOX) Inhibitors, *Bioorganic Medicinal Chemistry*, 16, 3907, (2008).
68. Kirchner, T., Argentieri, D.C., Barbone, A.G., Singer, M., Steber, M. ve Diğerleri. : Evaluation of the Antiinflammatory Activity of a Dual Cyclooxygenase-2 Selective/5-Lipoxygenase Inhibitor, RWJ 63556, in a Canine Model of Inflammation, *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 282, 1094 (1997).
69. Bailey, P.J., Dallob, A.L., Allison, D.L., Anderson, R.L. ve Diğerleri.: Pharmacology of the dual inhibitor of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase 3-hydroxy-5-trifluoromethyl-N-(2-(2-thienyl)-2-phenyl-ethenyl)-benzo(b)thiophene-2-carboxamide. *Arzneimittelforschung*, 38, 372 (1988).
70. Laufer, S.A., Augustin, J., Dannhardt, G., Kiefer, W.: (6,7-Diaryldihydropyrrolizin-5-yl) aceticAcids, a Novel Class of Potent Dual Inhibitors of Both Cyclooxygenase and 5-Lipoxygenase, *Journal of Medicinal Chemistry*, 37 (12), 1894 (1994).

71. Rotondo, S., Dell'Elba, G., Krauze-Brzosko, K., Manarini, S., Martelli, N ve Diğerleri.: Licofelone, a Dual Lipoxygenase-Cyclooxygenase Inhibitor, Downregulates Polymorphonuclear Leukocyte and Platelet Function, *European Journal of Pharmacology*, 453 (1), 131 (2002).
72. Ulbrich, H., Fiebich, B., Dannhardt, G.: Cyclooxygenase-1/2 (COX-1/COX-2) and 5-Lipoxygenase (5-LOX) Inhibitors of the 6,7-Diaryl-2,3-1H-dihydropyrrolizine Ttype, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 37, 953 (2002).
73. Gaur, K., Kori, M.L., Tyagi, L.K., Singh, V., Nema, R.K., Tripathi, P., Sharma, C.S.: Licofelone-Novel Analgesic and Anti-Inflammatory Agent for Osteoarthritis: An Overview, *Journal of Young Pharmacists*, 1 (1), 67 (2009).
74. Liedtke, A.J., Keck, P.R.W.E.F., Lehmann, F., Koeberle, A., Werz, O., Laufer, S.A.: 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, 4968 (2009).
75. Fraga, C.A.M., Barreiro, E.J.: Medicinal Chemistry of N-Acylhydrazones: New Lead-Compounds of Analgesic, Antiinflammatory and Antithrombotic Drugs, *Current Medicinal Chemistry*, 13, 167 (2006).
76. Rao, P.N.P., Chen, Q.H., Knaus, E.E.: Synthesis and Biological Evaluation of 1,3-Diphenylprop-2-yn-1-ones as Dual Inhibitors of Cyclooxygenases and Lipoxygenases, *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 15, 4842 (2005).
77. Rao, P.N.P., Chen, Q.H., Knaus, E.E.: 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, 1668 (2006).
78. Moreau, A., Chen, Q.H., Rao, P.N.P., Knaus, E.E.: 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, 7716 (2006).
79. Xu, G.L., Liu, F., Ao, G.Z., He, S.Y., Ju, M., Zhao, Y., Ting Xue: Anti-Inflammatory Effects and Gastrointestinal Safety of NNU-hdpa, a Novel Dual COX/5-LOX Inhibitor, *European Journal of Pharmacology*, 611, 100 (2009).

