

## PEPTİT YAPILI İLAÇLARIN RASYONEL TASARIMINA YÖNELİK YENİ GELİŞMELER

RECENT ADVANCES TOWARDS THE RATIONAL DESIGN OF PEPTIDE DRUGS

Akgül YEŞİLADA<sup>1</sup> Fügen ÖZKANLI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, Department of Basic Pharmaceutical Sciences

<sup>2</sup>Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry

06100 Ankara-TURKEY

### ÖZET

*Bu derlemede, regülatör peptitlerin tanımı ve organizmadaki fizyolojik rollerinden kısaca bahsedilerek, peptitlerden ilaç geliştirilmesinde karşılaşılan problemlerden, bunların giderilmesine yönelik çalışmalardan ve peptidomimetikler ve peptit yapılı ilaçların rasyonel tasarımından bahsedilmiştir.*

**Anahtar Kelimeler:** Peptitler, endojen peptitler, peptidomimetikler, ana yapı modifikasyonları

### ABSTRACT

In this review, after a short introduction to definition and physiological roles of regulatory peptides, problems faced during the development of peptide drugs, studies directed to solve these problems and rational design of peptide drugs with special emphasis on peptidomimetics are mentioned.

**Key Words:** Peptides, endojen peptides, peptidomimetics, back-bone modifications

### GİRİŞ

Geçtiğimiz on-onbeş yıl içinde, hastalıkların teşhisi ve tedavisinde önemli gelişmeler olmuştur. Endojen peptitlerin ve proteinlerin hayati olayların düzenlenmesinde oynadıkları rolün öneminin anlaşılması bu gelişmelere ivme kazandıran önemli bir aşamadır. Doğal peptitlerin ilaç olarak kullanılması 1960'lı yılların başlarına kadar uzanmaktadır. Oksitosin, lis-vasopressin, kortikotropin, pentagastrin gibi hormonların sentezi ve piyasaya sürülmesi ile yaşanan bu dönemi , yetmişli yıllarda bir çok laboratuvarın kapanmasına neden olan durgun bir dönem takip etmiştir. Bunun nedenleri doğal peptitlerin dayanıksız olmaları nedeniyle etki sürelerinin kısa olması,

etkilerinin spesifik olmaması, oral biyoyararlanımlarının düşük olmasıdır. Bu dezavantajlar, peptitlerin tedavi amaçlı kullanımlarının kısıtlı olduğunu ve ilaç olma potansiyeli bakımından gelecek vaat etmediklerini düşündürmüştür. Seksenli yıllarda ise bu ilaçlara karşı ilgi yeniden artmış ve araştırmalar bu yönde yoğunlaşmıştır. Biyomedikal alandaki araştırmaların peptit ve proteinler üzerinde yoğunlaşmasını teşvik eden nedenleri aşağıdaki gibi sıralamak mümkündür :

1. Analitik yöntemlerin gelişmesi ile yeni hormon ve nöropeptitlerin keşfi mümkün olmuştur.
2. Katı faz ve klasik solüsyon faz tekniklerinin gelişmesi sonucunda sentetik oligopeptitler elde edilebilmiştir.
3. Moleküler biyoloji ve genetik mühendisliği günümüze dek sentez veya izolasyon yoluyla elde edilemeyen bir çok polipeptitin üretimine olanak sağlamıştır (1).

Tüm bu gelişmeler sonucu, biyokimyasal olayların açıklanmasına yönelik araştırmalarda yeni ilaç geliştirme çalışmalarına da yansıyan önemli adımlar atılmıştır. Peptitlerin ilaç olarak kullanılmasını kısıtlayan dezavantajların giderimine yönelik olarak başlayan çalışmalar, aynı zamanda farmasötik alanda yeni ilaç geliştirme stratejilerinin belirlenmesine de öncülük etmiştir (2-4).

Bu derlemede regülör peptitlerin tanımı ve organizmadaki fizyolojik rollerine kısaca değinilerek, peptitlerin ilaç kullanımını kısıtlayan dezavantajlardan, bunların giderilmesine yönelik çalışmalardan ve geliştirilen yeni öncü ilaç bulma stratejilerinden bahsedilecektir.

### **Endojen Peptitler**

Memeli sistemindeki rolleri yönünden peptitleri, peptit hormonları (endojen peptitler) ve nörotransmitterler (nöropeptitler) olarak iki grupta düşünmek mümkündür.

Peptit hormonlarının, nöronlar tarafından kimyasal iletimde kullanıldıkları eskiden beri bilinmektedir. Hipotalamus nöronları tarafından salgılanan regülör hormonlar veya salıverici faktörler, adenohipofizden hormon salgısını kontrol ederler. Bunlar arasında tirotropin salıverici hormon (TRH), luteinize edici hormon salıverici hormon (LH-RH), büyüme hormonu salıverici-inkübe edici hormon (GH-RH) sayılabilir. Diğer taraftan 1975 yılında Hughes ve arkadaşları tarafından opioid peptitlerin keşfi sonucu, nöronlar tarafından kullanılan kimyasal iletim ajanlarının sadece küçük moleküllü (amino asitler, 5-HT, kateşolaminler) bileşiklerden ibaret olmadığı, bir çok peptidin sinir sisteminde nöronal yollarda bulunduğu, bazılarının dopamin ve 5-HT ile birlikte depolandıkları gösterilmiş, organizmada nörotransmitter rolü oynayan bu bileşikler nöropeptitler adını almıştır (5,6).

Nöropeptitler, gerek santral sinir sisteminde gerekse periferde yer alırlar. Organizmadaki sentezleri, metabolizmaları, degradasyon ve yapı-aktivite ilişkileri tam olarak bilinmemektedir. Kolesistokinin (7), bombesin ve tacikininler (8), nörotensin (9) bu grup bileşiklere örnek olarak verilebilir. Peptit yapılı ilaçlar, gerek regülatör hormonların gerekse nöropeptitlerin analoglarını, agonist veya süperagonistlerini, antagonistlerini, bunların biyosentezinde rol oynayan enzimlerin inhibitörlerini, ayrıca antibiyotikleri kapsar.

### **Peptitlerin İlaç Olarak Kullanımını Kısıtlayan Dezavantajlar**

Peptitlerden ilaç geliştirilmesinde, ilacın, farmakolojik açıdan beklenen etkiyi sağlarken aynı zamanda biyoyararlanımının da iyi olması istenir. Ancak peptitlerin ilaç olarak kullanımında karşılaşılan en büyük sorun biyoyararlanımdır. Bu sorun peptitlerin kendine özgü yapısal özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Bunlar;

- Ortamdaki yüksek kararsızlık,
- Plazmadan hızlı eliminasyon,
- Membranlar arasındaki transportun zayıf olmasıdır.

Eğer bir peptidik ilaç proteolize uğramadan, karaciğer ve böbreği geçebiliyorsa, sistemik sirkülasyona girecek ve vücutta dağılacaktır. Peptit ilk olarak hızlı bir şekilde, kalp, akciğer, böbrekler ve beyin gibi dokulara ve ardından yavaş yavaş yağ, deri ve kas dokularına dağılır. İstenen farmakolojik etkinin sağlanması için, peptidik ajanın hedef reseptörlerde yeterli bir konsantrasyonda bulunması gerekir. Ancak, kanda ve çeşitli dokularda bulunan, çok sayıda peptidaz, peptitler için problem oluşturur. Bu peptidazlar, peptit zincirindeki amit bağlarını enzimatik olarak parçalayarak vücuttaki peptitlerin degradasyonuna neden olurlar. Peptitlerden ilaç geliştirilmesiyle uğraşan araştırmacıların en önemli sorunlarından biri bu proteolitik degradasyonu önlemektir (10).

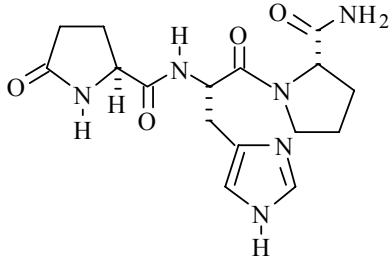
### **METABOLİZMA VE İTRAH**

**Bağırsak Absorbsiyonları:** Bağırsağın ana fonksiyonu bilindiği gibi yiyeceklerin ve özellikle de proteinin sindirilmesi ve absorpsiyonudur (11). Burada peptit, parçalayıcı enzimlerle karşı karşıya gelir (12). Bağırsak lümeni içinde, pankreatik endopeptidazlar (özellikle de tripsin, elastas ve kimotripsin), eksopeptidazlar (karboksipeptidaz A ve B) yardımıyla amino asitler ve 2-6 amino asit uzunluğunda peptitler üretilmektedir. Daha sonra özel taşıma sistemleri bunları enterosit sitoplazmaya taşır (13,14). Her ne kadar tetrapeptit taşınmasına rastlanmışsa da (15), büyük yan zincirli dipeptit ve tripeptitler ve doğal L-konfigürasyonlar tercih edilmektedir. Peptitlerin taşınması amino asitlerden daha hızlı olmasına rağmen; aminotripeptidaz, aminodipeptidaz ve prodipeptidaz gibi peptidazlarla

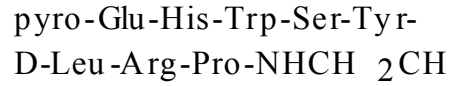
etkileşim sonucunda nispeten az sayıda peptit bozulmamış olarak portal kana girer. Bu şartlar altında, parçalanmamış peptidin efektif olarak absorpsiyonu kural değil istisna kabul edilebilir (16).

Diğer taraftan amit bağıını oluşturan bazı amino asitler amit bağıını peptidazlara karşı dirençli hale getirir. Glisin-Glisin'deki Glisin, Prolin-Prolin veya Glisin-Prolin'deki Prolin, Sarkosin-Glisin veya Glisin-Sarkosin'deki Sarkosin (N-Metil Glisin) gibi az bulunan amino asitler ve Karnosin'deki Alanin gibi amino asitler bunlara örnektir.

Oral yolla absorblanan, biyolojik olarak aktif peptit örnekleri ise nadir bulunur. Tirotropin Salıveren Hormon (TRH) ve bir hormon analogu olan Leuprolid (17,18) bunun örnekleridir. Bu bileşikler sıçanlara ve insanlara oral yolla verildiğinde biyolojik aktivite göstermektedirler.

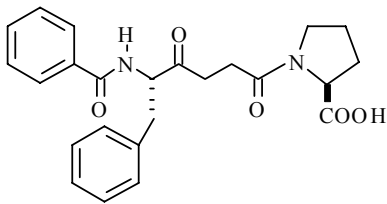


TRH

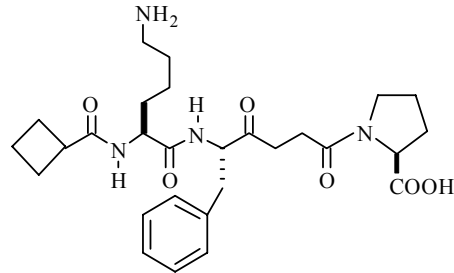


Leuprolid

**Safra İtrahi:** Peptit türevi maddelerin safra ile hızlı atılması araştırmacılar için büyük problem olmuştur. Örneğin; ACE'nin peptit yapısındaki inhibitörleri kardiovasküler tedavide kullanılırlar ve bu bileşikler yapısal özelliklerine bağlı olarak değişik seviyelerde safra yoluyla atılırlar. Bir ketometil tripeptit olan Keto ACE, ACE'yi *in vitro* olarak inhibe eder ancak *in vivo* etkili değildir (19). Keto ACE hipertansif sıçanlarda zayıf antihipertansif aktivite gösterir ve kandaki yarı ömrü kısadır. Bunun da nedeni,



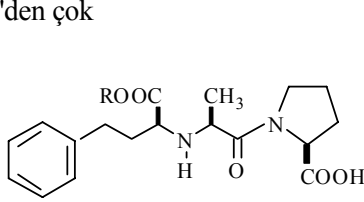
Keto ACE



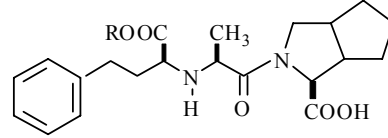
Pentapeptid Analogu

değişmemiş ilacın safra yoluyla hızla atılmasıdır. Keto ACE'nin pentapeptit analoguna modifikasyonu ile *in vitro* aktivite 10 kat artmış, ancak *in vivo* aktivitede belirgin bir değişiklik olmamıştır. Pentapeptit analogunda yapılan metabolizma çalışmaları, bu bileşiğin Keto ACE'den daha iyi absorbe edildiğini fakat hala safra ve idrarla hızla atıldığını göstermiştir (20).

Ancak N-karboksialkil dipeptit ACE inhibitörleri *in vivo* antihipertansif etki gösterirler. Enalapril ve Ramapril, N-karboksialkil dipeptitlerin örnekleridir. Bu bileşiklerin molekül ağırlığı Keto ACE'den çok



(R: Et), Enalapril



(R: Et), Ramapril

farklı olmamasına rağmen farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptirler ve bu da onların safra ile atılmasında daha iyi sonuçlar alınmasını sağlar (21).

Bu örnekler; peptitlerin ya da peptit kaynaklı maddelerin hepatik atılımlarının iyi anlaşılmasını göstermektedir. Molekül ağırlığı, lipofilite, çözünürlük gibi fiziksel özelliklerin karaciğer tarafından tanınmada önemli rol oynadıkları bilinmektedir. Oysa fizikokimyasal özelliklerin hepatik hücre geri alımı (uptake) üzerindeki etkileri iyice tanımlanamamıştır. Bu etkenler, biyolojik olarak aktif ve hızlı hepatik eliminasyona dirençli bileşiklerin tasarlanmasında kısıtlayıcı rol oynar. Peptitlerin karaciğer geri alımı (uptake) için, yapı-etki ilişkilerini açıklamaya yönelik araştırmalar, peptitlerin terapötik açıdan etkili ilaçlar olarak geliştirilmesinde büyük ölçüde yarar sağlayacaktır.

**Renal Metabolizma ve İtira:** Bağırsak hücreleri ve proksimal tübül hücreleri peptidik maddeleri hidroliz edebilen parçalayıcı enzimleri içerirler. Proksimal tübülden geçerken enzimatik kararlılık ve uygun lipofilite sağlanırsa, bileşik proteolize uğramadan reabsorbe olabilir. Daha sonra bileşik sistemik sirkülasyona tekrar girer ve büyük bir ihtimalle karaciğerde metabolize edilir. Eğer proteolitik stabilite sağlanır ancak lipofilite yetersiz kalırsa, peptit nefrondan geçişini sürdürecektir ve yüksek miktarda idrarla atılacaktır. Sonuç olarak, peptidik bileşiğin böbrekte kalması ve sirkülasyona tekrar girmesi lipofilitesinin ayarlanması ile mümkün olacaktır (22).

### Dezavantajların Giderilmesine Yönelik Çalışmalar

Peptitlerden ilaç geliştirilmesiyle uğraşan araştırmacıların en önemli sorunlarından biri istenmeyen proteolitik degradasyonun önlenmesidir. Bu konuda yapılan çalışmalar incelendiğinde,

iki farklı yaklaşım dikkati çekmektedir. Bunlar; peptitlerin proteazlardan korunması ve proteolitik stabilitenin artırılmasıdır. Ayrıca, peptitlerin absorpsiyonunu kolaylaştıracak farklı ilaç alma yolları geliştirilmesi de problemin çözümüne katkıda bulunacak bir alternatiftir. Bu amaçla; nasal, aşı, rektal, bukkal, oküler, pulmoner, transdermal ve cerrahi implantlar gibi yollar denenmiş ancak, bunların sonucunda da genellikle penetrasyon kolaylaştırıcıların kullanımının gerekli olduğu görülmüştür (23-25).

Bu konuda yapılan çalışmalardan bir diğeri de peptit taşıyıcılarının ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanımını kapsar. Peptit taşıyıcıları, bir dizi peptidomimetiğe ilaveten dipeptitler ve tripeptitlerin hücre içine alınmasına aracılık eden plazma membran proteinleridir. Bu taşıyıcılar başlıca ince bağırsak, akciğer ve böbreğin epitel hücrelerinin fırça tipi membranlarında görünürler ve substratların absorblanmasına, dağılmasına ve eliminasyonuna katkıda bulunurlar. Memelilerde her ikisi de benzer topolojiye sahip iki peptit taşıyıcı (PEPT 1 ve PEPT 2) tanımlanmıştır. Peptit taşıyıcıları yalnızca beslenmede değil, ilaç etken maddesini taşımakta da önemli bir role sahiptirler. Zira, bu peptitlerin substrat bağlayıcı bölgeleri farklı büyüklük, yük ve hidrofobisiteye sahip molekülleri bağlayabilme özelliğini gösterirler. Bunlar,  $\beta$ -laktam ve ACE inhibitörleri gibi peptidomimetikler ve bunun yanı sıra değişik yapı ve kimyasal özellikteki bileşikler de taşırlar. Peptit taşıyıcılarının ince bağırsak, akciğer gibi dokularda yüksek konsantrasyonda bulunmaları ve yüksek taşıma kapasiteleri nedeniyle, ilaçların taşınmasında kullanılabilecekleri ileri sürülmüştür. Son yıllarda yüzlerce bileşik üzerinde yapılan yapı fonksiyon analizleri sonucu; peptit taşıyıcılarına etkili bir şekilde bağlanmayı sağlayan substrat özellikleri belirlenmiştir. Bunun da gelecekte peptit taşıyıcıları tarafından taşınmaya uygun yeni terapötik ajanların rasyonel tasarımına olanak sağlayacağı düşünülmektedir (26-30).

### **Peptitlerin Proteazlardan Korunması, Proteolitik Stabilitenin Artırılması ve Yeni Tasarım Stratejileri**

Peptitlerde proteolitik degradasyonun önlenmesinde amit bağı odak noktasını oluşturur. Tüm amit bağları, proteolitik parçalanmaya dayanıksız değildir. Bir amit bağına enzimatik saldırıya maruz kalma riski, bulunduğu çevreye ve etrafındaki amino asit yan zincirlerine bağlıdır. Peptidazların peptit substratını tanıyabilmeleri için yük taşıyan bir gruba ihtiyaçları vardır. Örneğin, aminopeptidazlar serbest bir amino grubuna ihtiyaç duyarlar. N-Açılasyon ya da N-alkilasyon genellikle bu enzimin etkisini bloke etmeye yeterlidir.

Peptit yapısında ilaç geliştirilmesinde genel strateji, peptitlerdeki ayrılma noktalarının tanımlanması ve degradasyon yapıcı enzimlerin karakterize edilmesi üzerine kurulmuştur. Bu bilgiye dayanarak araştırmacı, peptidin yapısını, hedef biyoreseptöre karşı afinitesini koruyarak, peptidaz

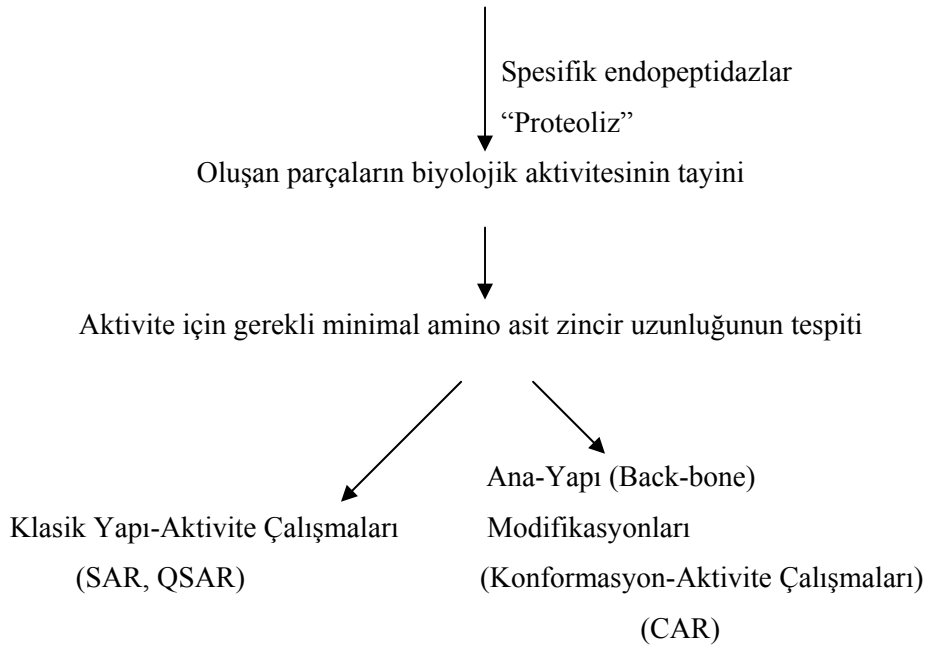
tarafından tanınmasını azaltacak ya da elimine edecek biçimde modifiye etmelidir. Peptitlerde enzimlere karşı dayanıklılığı sağlarken, biyolojik aktiviteyi korumak zordur. Yapı-etki çalışmaları, proteolitik stabiliteyi araştıran yapısal modifikasyon çalışmalarıyla paralel yürütülmelidir. Bu paralel çalışma stratejisi, çeşitli değişkenlerin aynı anda değerlendirilmesini sağlar ve proteolitik degradasyona karşı stabilize edilmiş bir bileşiğin etkisinin yeniden optimize edilmesini gerektirmeyebilir (10, 31).

Belirli biyokimyasal ve farmakolojik fonksiyonlara sahip peptitlerin kimyasal modifikasyonu ile elde edilecek yeni moleküller rasyonel ilaç tasarımında ve bu sınıf ilaçların dezavantajlarının giderilmesinde yardımcı olacak, aynı zamanda da yapı-aktivite ilişkilerine ışık tutacaktır.

Bilindiği gibi nöropeptitler ve peptit hormonları, daha büyük prekürsör moleküllerden, spesifik enzimlerin etkisi ile açığa çıkmakta ve özgün reseptörler ile etkileşerek aktivite göstermektedirler. Çok kısa olan peptitler dışındakilerde, doğal amino asit zincirinin tümü biyolojik aktivite için gerekli değildir. Bu kısımlar, sıvı içindeki biyolojik aktif konformasyonu koruma ve aktif yöreye taşıma esnasında peptidin korunması için gereklidir. Aktivite için gerekli minimum zincir uzunluğunun tespiti, kimyasal modifikasyonların tasarlanmasında hareket noktası olabilir.

Biyolojik aktif bir peptitten hareketle yeni ilaçlar geliştirmeye yönelik girişimler aşağıdaki şemada gösterilen basamakları kapsar (Şema 1) (32,33).

Bilinen peptit yapılı biyoaktif bir hormonun, nörotransmitterin, antibiyotiğin veya enzim inhibitörünün doğal amino asit sıralamasının tespiti



**Şema 1:** Biyolojik aktif bir peptitten hareketle yeni ilaç geliştirme aşamaları

### **Klasik Yapı-Aktivite Çalışmaları**

Aktiviteyi koruyan minimal zincir uzunluğunun tespitinden sonra, daha güçlü etki sağlayan analogların hazırlanmasında birinci basamak, yapıdaki amino asitlerin doğal veya doğal olmayan amino asitlerle yer değiştirmesidir (3,32). Primer yapıda yapılacak ufak değişikliklerin bile biyolojik aktiviteyi tamamen ortadan kaldırmaya bile gözlendiğinden, ilk yapılacak süstitüsyonlar dar bir limit içinde düşünülür. Bu süstitüsyonlar, aynı zamanda peptidin ana yapısına (back-bone) bağlı yan zincirlerdeki modifikasyonları da beraberinde getirir ve süstitüsyonlar Rudinger'e göre aşağıdaki kurallara uygun olarak yapılır (34):

- a) Rijid peptitlerde (örneğin; siklik veya cross-linked) uygulanacak modifikasyonlar konformasyon bütünlüğünü korumalıdır. Örneğin, oksitosin analoglarında kükürt atomlarının metilen gruplarıyla yer değiştirmesi biyolojik aktiviteyi değiştirmez.
- b) Düz ve esnek peptit zincirlerinde ise reseptöre bağlanan kısımda izosterik, biyoaktif bölgede ise izofonksiyonel süstitüsyonlar yapılmalıdır. Böyle ufak değişikliklerin, başlangıç bileşiğinin özelliklerini çok fazla değiştirmeyeceği görüşü yanlıştır. Örneğin, anjiotensin II'de, C-terminal fenilalanin grubu, izosterik, izofonksiyonel ve izohidrofobik, N-metilfenilalanin veya izolösin ile yer değiştirdiğinde antagoniste dönüşür (35).

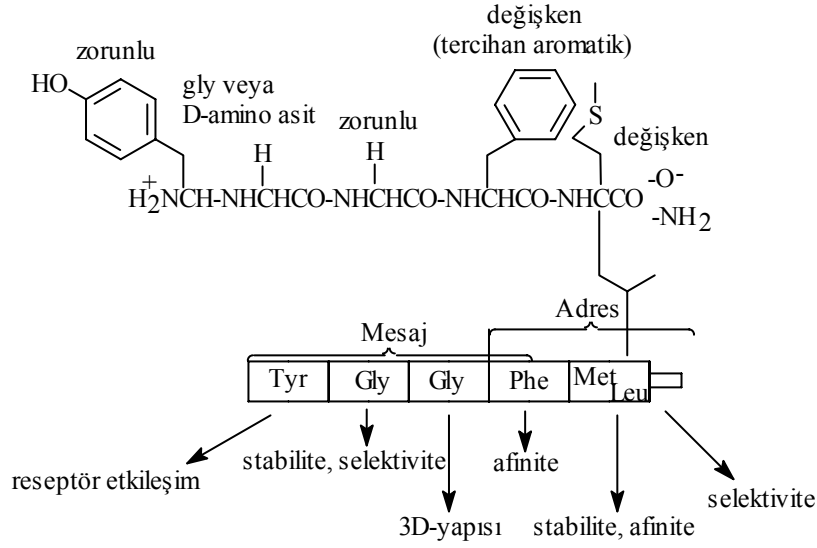
Bu ön çalışmalar sonucunda sentez edilen analogların aktivite tayinleri, hangi yan zincirlerin aktivite için zorunlu olduğunu hangilerinin ise kontrollü modülasyon amacıyla değiştirilebileceğini ortaya koyar. Böylece örneğin, tek bir yan zincir sistematik olarak değiştirilmek ve molekülün diğer kısımları sabit tutulmak suretiyle, ikinci bir seri bileşik sentez edilebilir. Örneğin; LH-RH'nın 6. pozisyonu (36) enkefalinlerde 1. pozisyon (37). Bu safhadaki süstitüsyonlar herhangi bir yan zinciri kapsar ve alkilasyon, açılasyon, halka içine alma, zincir uzatma gibi modifikasyonları içerir.

Doğal olmayan sentetik amino asitlerin kullanılması ile, yapıya hidrofobik, elektron çekici veya sterik engel yaratacak büyük gruplar ilave etmek mümkün olabilir.

Bu çalışmalar sonucu ortaya konulan kriterler, yeni analogların tasarımında kullanılır. Bu amaçla en çok göz önüne alınan özellikler aromatiklik, yüklerin varlığı, yan zincir uzunluğu, dallanma ve diğer sterik özellikler, kelat yapma ve yük transfer potansiyelleridir.


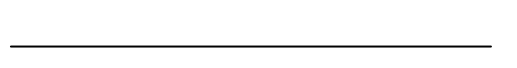
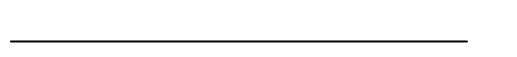
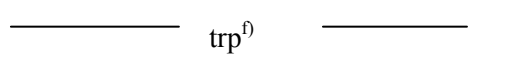

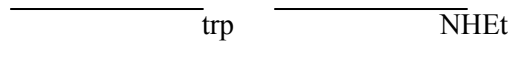
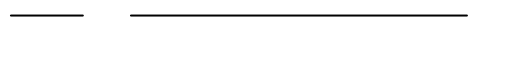

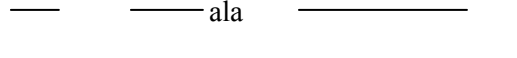
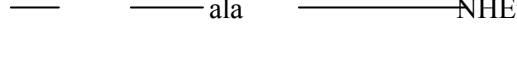
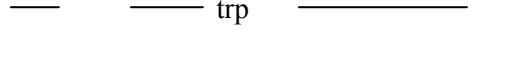
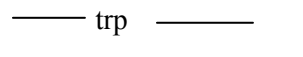

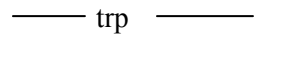
Sonuçta, biyolojik aktivite ile süstitüsyonlar arasındaki kalitatif ilişkiyi (SAR) ortaya koyan, peptit haritaları oluşturulabilir.





**Şema 2:** Peptit haritaları (32)

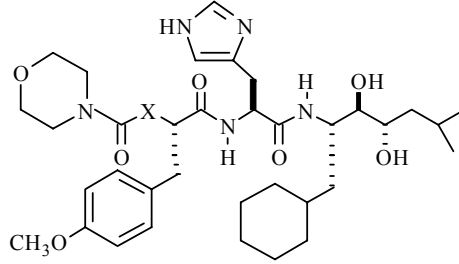
Bu şekilde hazırlanan örnekler; LH-RH süper agonist ve antagonistlerin geliştirilmesi, deltakefalin, selektif oksitosin-vazopresin agonistlerinin sentezidir. LH-RH'nın amino asit dizininin tayin edilmesini takiben tam biyolojik aktivitenin sağlanabilmesi için dekapeptit amidin amino asit zincirinin tamamının gerekli olduğu anlaşılmıştır. C-Terminal amidin, N-terminal proglutamik asidin veya peptit zincirinde bir amino asidin uzaklaştırılması ile aktivite kaybolmaktadır. Diğer taraftan C-terminal amidin N-etilasyonu ve 5 numaralı glisin amino asidinin triptofan ile değiştirilmesi moleküle agonist özellik kazandırmıştır. Her iki modifikasyonun aynı anda yapılması ise süperagonist etkili bir bileşik elde edilmesine yol açmıştır. Benzer şekilde N-terminal proglutamik asidin; alanin, fenil alanin, naftil alanin, triptofan ve homoarjinin gibi amino asitlerle değiştirilmesi sonucu antagonist etkili bileşikler elde edilmiştir.

|  | Potens <sup>a)</sup>    |
|--|-------------------------|
| Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH <sub>2</sub>  | 1                       |
| Agonistler   |                         |
|                   | 0                       |
|                   | 0                       |
|                   | 5                       |
|                   | 0                       |
|                   | 35                      |
| Süperagonist   |                         |
|                  | 140                     |
| Agonistler   | doz/sıçan <sup>b)</sup> |
|                 | <sup>c)</sup>           |
|                 | 150 mg                  |
|                 | 60                      |
|                 | 60 <sup>d)</sup>        |
|                 | 2                       |
| Ac-phe-phe-trp  | 62µg                    |
| Cl              |                         |
| Ac-nal-phe-trp  | 1 <sup>e)</sup>         |

<sup>a</sup> Relatif potens (LHRH=1); <sup>b</sup> Ovülasyonun % 100 engellenmesinde bir sıçan için gerekli doz; <sup>c</sup> Bilinmeyen doz, zayıf inhibitör; <sup>d</sup> Sübstitüsyonların eklenmediği durum; <sup>e</sup> nal,naftilalanin; harg, homoarjinin; <sup>f</sup> Amino asit kısaltmalarındaki küçük harfler D-konfigürasyonunu gösterir.

**Şema 3:** LHRH'nın agonist ve süper agonistlerinin gelişmesi (32)

Enzimlere dayanıklı peptitlerin geliştirilmesinde araştırmacıların yaklaşımlarını gösteren örneklerden biri, antihipertansif ajan olarak kullanılan renin inhibitörü peptitlerin tasarımıdır (38). Sistematik bir yapı-aktivite çalışması sonucunda Bileşik 1'in güçlü bir renin inhibitörü olduğu gösterilmiştir. Bileşik 1,



X: NH (Bileşik 1) ; X: CH<sub>2</sub> (Bileşik 2) ; X: O (Bileşik 3)

enzimatik kararlılığı araştırmak için standart enzimler dizisi ve doku homojenatları ile inkube edildiğinde, pankreatik bir enzim olan kimotripsin'in fenil alanin ve histidin amino asitleri arasındaki amit bağıнын kopmasına neden olduğu bulunmuştur. Kimotripsin'in gastrointestinal sistemdeki varlığı bilindiğine göre, molekülün oral absorpsiyonunun iyi olabilmesi için bu enzime karşı kararlı olması gerekmektedir. Bu aşamada işın odak noktası, Bileşik 1 üzerindeki yapısal değişiklikle, bileşiğın renine karşı afinitesi korunurken, kimotripsin tarafından tanınmasının önlenmesidir. 1 no'lu bileşikteki NH' in metilen (Bileşik 2) ya da bir oksijenle (Bileşik 3) değiştirilmesi, bileşiğın renin inhibitör aktivitesini koruduğunu gösterirken, kimotripsin'e karşı kararlılığını artırdığını ortaya koymuştur. İlaç geliştirmede, yalnız bir sorunun başarı ile çözülmesi her zaman terapötik açıdan başarılı bir ajanın ortaya çıkacağı anlamına gelmez. Gerek Bileşik 2 gerekse Bileşik 3 fareler ve maymunlar üzerinde iyi bir oral biyoyararlanım göstermemiştir. Buradaki problem düşük absorpsiyona ve hızlı safra itrahına bağlanmıştır. Bu nedenle ilaç geliştirmede, peptitler için proteolitik degradasyon temel sınırlayıcı bir faktör olmasına rağmen bir takım rasyonel strateji değişiklikleriyle bunun üstesinden gelinebilir ancak, taşınabilirlik ve itrah problem olmaya devam etmektedir (38).

Peptit tasarımını rasyonalize etme çabalarından birisi de kantitatif yapı-aktivite (QSAR) çalışmalarıdır. Bu metodolojinin uygulanmasında yararlanılan temel düşünce, ana yapısı modifiye edilmemiş peptitlerde biyoaktif konformasyonu, amino asit yan zincirlerinin fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesidir. Bu amaçla bir çok araştırıcı doğal olan ve olmayan pek çok amino asiti yan zincirlerine ait sterik, elektronik (39) ve hidrofobik özellikleri tanımlayan parametreler yönünden değerlendirmişler ve interkorelasyon analizlerini yapmışlardır. Bu çalışmalar sonunda

araştırmacılar bu parametrelerin, peptit ve proteinlerin bilgisayar analizleri, biyoaktif peptitlerin QSAR çalışmaları ve peptit konformasyonlarının öngörülmesinde kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir (39-42). Bilgisayar teknikleri ayrıca reseptör bağlanma QSAR modelleri ve ADME çalışmalarında da uygulanmıştır (43-45).

### Ana Yapı (Back-bone) Modifikasyonları

Bir peptidin üç boyutlu yapısını, öncelikle peptidin amit bağlarından oluşan iskeleti, ikinci olarak da amino asit yan zincirlerinin etkileşimi tayin eder. Ana yapıdaki asimetrik  $\alpha$  karbon atomu, major stereokimyasal birim olup, yan zincir kısımlarının konumlarını belirler. Peptit iskeletini oluşturan elemanlardan herhangi birinin süstitüsüyonu veya modifikasyonu amacıyla yapılan çalışmalar ve elde edilen sonuçlar Tablo 1’ de özetlenmiştir.

**Tablo1:** Ana Yapı Modifikasyonları (32)

| MODİFİKASYON              | MODİFİKASYON ETKİLERİ   | ÖRNEKLER   |
|---------------------------|---|--|
| N-Metilasyon              | Hidrojen bağının kaybı<br>Konformasyonel serbestliğin azalması<br>Rasemizasyon eğilimi<br><br>Cis-amit konfigürasyon eğilimi<br><br>Proteazlara rezistansın artması | Saralasin<br>N-MePhe <sup>8</sup> -anjiotensin II<br>[pGlu <sup>5</sup> ,N-MePhe <sup>8</sup> ,Sar <sup>9</sup> ]<br>madde P(5- 11)<br>[D-Ala <sup>2</sup> ,N-MePhe <sup>8</sup> ,Met(O)ol]<br>enkefalin |
| Ester<br>(Depsipeptit)    | Hidrojen bağının kaybı<br><br>Hemen hemen değişmeyen proteoliz  | Oksitosin analogları<br><br>[D-Ala <sup>2</sup> , $\psi$ (COO)]metenkefalin amid   |
| Ketometilen               | Peptit bağı rijiditesinin kaybı<br>Hidrojen bağ kapasitesinin retansiyonu<br>Proteazlara rezistansın artması  | ACE inhibitör  |
| $\alpha$ D-Konfigürasyonu | Proteazlara rezistansın artması<br><br>Peptit ana yapısının konformasyonunda lokal değişiklik veya Yan zincir orientasyonu  | [D-Ser <sup>2</sup> ]kortikotropin(1-24) ve $\alpha$ -MSH<br>[D-Trp <sup>8</sup> ]somatostatin<br>[D-Ala <sup>6</sup> ]LHRH  |
| Aminoisobütirik asit      | Kiralitenin kaybı<br>Konformasyonel serbestliğin kısıtlanması<br>Heliks formasyon eğilimi   | Bradikinin analogları,<br>[Aib <sup>7</sup> ]bradikinin<br>[Aib <sup>2</sup> ]metenkefalin amid<br>Alametisin F30  |

|  |  |  |
|--|--|--|
| A-Aza metilat                            | Kiralitenin kaybı  | [Azala <sup>2</sup> ]leukenkefalin   |
|  | D ve L arasında ara konfigürasyon  | [Azala <sup>6</sup> ]LHRH  |
| $\alpha$ - $\beta$ -Dehidroamino asitler | Z ve E izomer ihtimali<br>Kiral merkezin kaybı<br>Yan zincir orientasyonunun rijiditesi<br>Proteolize rezistansın artması                          | [ <sup>5</sup> Fenil]bradikinin<br>[ <sup>8</sup> Ala]saralasin  |
| Karbonil yerine Karba analogları         | Düzlemselliğin kaybolması<br>Yeni iyonize olabilen grup girmesi<br>Suda çözünürlüğün artması<br>Enzim rezistansının artması                        | Renin inhibitör oktapseudopeptit   |
| Hidroksietilen                           | Düzlemselliğin ve bazikliğin kaybı<br>Hidrofilisitenin kısmi retansiyonu   | Renin inhibitör oktapseudopeptit   |
| Tiyoamit                                 | İzosterik amit süstitüsüyonu   | Tioaspartam<br>[ $\Psi$ (CSNH) <sup>2-3</sup> ]leukenkefalin   |
| Olefinik çifte bağ                       | Düzlem ile benzerlik, rijit ve trans-süstitüe peptit bağları<br>Proteolize karşı koruma  | [ $\Psi$ (CH=CH) <sup>1-2</sup> ]leukenkefalin metilat<br>[ $\Psi$ (CH=CH) <sup>7-8</sup> ]madde P(6-11) |
| Retro-amit metenkefalin                  | Peptit bağı ile eşit olmayan yapı<br>Komşu amino asitlerin konfigürasyonun tersine çevrilmesi ile birleşme özelliği<br>Enzim rezistansının artması | [ $\Psi$ (NH-CO) <sup>3-4</sup> $\Psi$ (NH-CO) <sup>4-5</sup> D-Ala <sup>2</sup> ]leukenkefalin ve       |

$\Psi$ : Peptit bağının parantez içindeki grupla değişimi

$\wedge$ : Olefinik çifte bağ

Tablodan da görüleceği gibi bu amaçla yapılan değişiklikleri şu başlıklar altında toplamak mümkündür (3,46):

1. Peptit bağının diğer bağlarla değiştirilmesi
2.  $\alpha$ -Karbonunun konfigürasyonunun değiştirilmesi
3. N veya C-metilasyon

Bu modifikasyonlar, molekülün, bağ gerginliği, sterik hacim, sterokimyasal konfigürasyon, hidrofobisite veya proteolize karşı dayanıklılığın artması gibi parametrelerini değiştirir ve tek bir modifikasyon ile birden fazla parametrede değişiklik meydana gelir. Örneğin, N-metilasyon sadece konformasyonel hareketliliği kısıtlamaz, aynı zamanda bir hidrojen bağını da engeller. Dolayısıyla

bu iki faktörden hangisinin etkili olduğuna karar vermek güçleşir. Bir çözüm yolu, peptit bağı trans etilen bağı ile değiştirmek suretiyle peptidin geometrisini sabitleştirmek ve hidrofobisite, enzimatik parçalanmaya karşı dayanıklılık gibi diğer faktörleri değiştirmek veya alternatif olarak ana yapıdaki bağların esnekliğini arttıracak ketometilen, hidroksietilen, tiyoamit veya ester bağlarını peptit bağları yerine getirmektir. Başarılı ana yapı modifikasyonları sadece daha üstün özelliklere sahip analogların elde edilmesini değil aynı zamanda reseptörle etkileşimde rol oynayan konformasyonel özelliklerin belirlenmesinde de önemli bilgiler sağlar (47,48).

Son yıllarda peptit ilaçların tasarımı için, zincir uzunluğunda, yan zincirin yapısında veya peptit iskelesinde yapılacak değişikliklerin ötesinde yeni kavramlar ortaya konmuştur. Bunlar; lineer veya siklik peptitlerde konformasyonun kısıtlanması, peptitmimetiklerinin geliştirilmesi ve doğal bir model olmaksızın peptit yapılarının tasarımıdır (49).

### **Konformasyonun Kısıtlanması**

Bir peptidin biyolojik fonksiyonunun anlaşılmasında en önemli aşamalardan birisi aktif konformasyonun bilinmesidir. Konformasyon ile biyolojik aktivite arasındaki ilişkilerin (CAR), tayini için yapılan çalışmalarda en büyük zorluk çoğu peptidin konformasyon esnekliğine bağlı çok sayıda minimum enerji durumlarının bulunması ve bu konformasyonların çevresel faktörlerle değişmesidir.

NMR, CD/ORD, X-ışınları spektroskopisi gibi fizikokimyasal yöntemler yardımıyla, peptitlerin solüsyon içinde ve kristal haldeki konformasyonlarının tayini mümkündür. Burada önemli olan solüsyon içinde tespit edilen konformasyonların, peptidin membran reseptörleriyle etkileşen formuna uyup uymadığının ortaya konmasıdır. Bu problemin çözülmesinde yararlanılan yöntemlerden birisi, sentetik yoldan konformasyonun kısıtlanmasıdır. Rizo ve Gierasch (49) bu amaçla yapılacak kısıtlamaları; lokal ve global olmak üzere ikiye ayırmışlardır.

Tablo 1' de verilen ana yapı modifikasyonları lokal kısıtlamalara neden olurken, yan zincirin ana yapıya veya yan zincir ile başka bir yan zincire kovalan bağlarla bağlanması ise molekülün bütününe kapsayan global kısıtlamaları meydana getirir. Bu çalışmalar lineer peptitlerin siklize edilmesini, siklik peptitlerin konformasyonlarının daha ileri derecede kısıtlandırılmasını sağlar.

Hruby, (50,51) konformasyon kısıtlamalarının avantajlarını şu şekilde vermiştir:

- 1) Konformasyonel bütünlüğün artması
- 2) Agonist ve antagonist etkinin artması
- 3) Biyolojik aktivitenin uzaması

- 4) Enzimatik stabilitenin artması
- 5) Belirli bir reseptöre spesifikliğin artması

Bu çalışmalar ile elde edilen çeşitli analogların konformasyon analizleri yardımıyla gözlenen farklılıkların biyolojik aktivite ile ilişkilendirilmesi sonucu, yeni analogların hangi konformasyonda sentezlenmesi gerektiği konusunda bilgi edinilir.

Kieber-Emmons ve arkadaşları, (33) biyoaktif peptitler üzerindeki çalışmaları konformasyon analizi, moleküler veya kombinatoriyal kütüphane teknikleri ve biyoassay açısından incelemişlerdir. Bunun sonucunda, yüksek etkinlikte, selektif ve metabolik olarak kararlı analogların elde edilmesi için birçok biyoaktif peptidin yapısına, ana yapı modifikasyonları kısıtlandırılmış amino asitler ve halkalı yapıların biraraya getirilmesiyle oluşan analogların konformasyonel çalışmalar sonucunda bu peptitler için topokimyasal modeller oluşturulabildiğini ifade etmişlerdir. Bu peptidomimetiklerin biyoaktivite profilleri ana yapı ve yan zincir kısıtlamalarının biyoaktivite üzerindeki etkileri hakkında oldukça fazla bilgi sağladığını bildirmişlerdir.

Bu amaçla yapılan çalışmaların bir diğer örneği ise glikozillenmiş ve fosforillenmiş proteinlerdir. Bu tür proteinlerde glikozilleme ve fosforilleme değişken bölgelerin konformasyonunda küçük değişiklikler yapacak şekilde tasarlanabilir. Böylelikle *in vivo* toleransın artabileceği gösterilmiş ve bu amaçla yeni fosforilleme ve glikozilleme ajanları geliştirilmiştir (2).

21. Yüzyılda peptit olmayan peptidomimetiklerin geliştirilmesi amacıyla konformasyonel bütünleşmeyi hedefleyen çalışmalar daha çok önem kazanmıştır. Bilindiği gibi ligand bağlanması günümüzde başlıca iki şekilde rasyonelize edilmiştir. Emil Fischer'in (52) anahtar kilit modeli ve Koshland (53) tarafından 1958 de ortaya atılan indüklenmiş uyum modelidir. Son yıllarda ise reseptör konformasyonel bütünlüğünün stabilizasyonu yeni bir model olarak ortaya atılmıştır. Bu model makromoleküllerin, çok sayıda dengelenebilen çözültü konformasyonları olduğunu ve bunların standart istatistiksel dağılımlarla tanımlanan mekanik kanunlarla ifade edilebileceği varsayılmaktadır.

Ligand bağlanma işlemi bu dengeyi, doğal konformasyona ait istatistiksel dağılımdan reseptör bağlı konformasyon dengesine kaydırır. Yani ligandlar önceden var olan reseptör konformasyonunun bütününe bağlanır. Başarılı bağlanma tüm dinamik dengeyi bağlı-reseptör (receptor-binding) konformasyonunu stabilize edecek şekilde kaydırır. Bu yaklaşım modern konformasyon analizinin keşfi sonucu ortaya çıkmıştır. Fakat bilgisayar tekniklerinden kaynaklanan kısıtlamalar nedeniyle; günümüzde moleküler modelleme ve ilaç tasarımı çalışmalarında proteinler statik modeller olarak ele alınmaktadır. Bazı modelleme çalışmalarında protein ve ligand yan zincirlerinin konformasyonlarında veya hidrojen bağı etkileşimlerinde

meydana gelen büyük değişimler “soft lock and key” işlemi olarak tanımlanmıştır. Bu küçük değişimler inhibitor tasarımlarının modifiye edilmesinde kullanılmıştır. Ancak protein konformasyonlarında meydana gelen diğer önemli değişimler göz önüne alınmamıştır. Bursavich ve Rich (4) doğal veya enzim inhibitor kompleksleri için gözlenenin dışında yeni protein konformasyonlarının non-peptid enzim inhibitörlerinin tasarlanmasında kullanılabileceğini öne sürmüşler ve bu amaçla yeni peptidomimetik aspartik peptidaz inhibitörleri geliştirerek bu çalışmayı yeni non-peptid peptidomimetiklerin keşfi için kullanmışlardır.

### **Peptit Mimetikleri**

Peptit yapısının yukarıda bahsedilen modifikasyonlar yoluyla değiştirilmesi sonucu, doğal peptid yapıca benzemeyen, fakat biyolojik aktivitesini koruyan bileşikler elde edilir. “Psödopeptitler” veya “peptitmimetikleri” adı verilen bu bileşikler yapılarında değişik derecelerde peptid karakteri taşırlar. Ayrıca biyolojik aktif peptid ile aynı aktiviteyi taşıyan fakat peptid yapısı taşımayan bileşikler de bu gruba dahildir. Son yıllarda bu grup bileşikler peptidten türeyen *peptidomimetikler* ve *non-peptid peptidomimetikler* olarak gruplandırılmışlardır (4). Bunun ilk örneği enkefalin agonisti etki gösteren morfindir. Son yıllarda nöropeptidlere ilginin artmasının nedenlerinden birisi de Hughes ve arkadaşları (5) tarafından endojen opioit peptitler olan metiyonin ve lösin enkefalinin keşfedilmesidir. Endojen bir opioitin araştırılması sonucunda selektif agonistleri (morfin) ve antagonistleri (naloksan) olan spesifik opioit reseptörlerinin var olduğu bilgisine ulaşılmıştır. Opioit peptitlerin keşfi peptitlerin nörotransmitterler olabileceği görüşünü güçlendirmiştir. Bu gelişmeyi takiben selektivitesi artırılmış, bilinen yan etkileri (bağımlılık, tolerans, solunum depresyonu vb.) azaltılmış yeni opioit ligandlar üzerindeki çalışmalar devam etmiş ve doğal opioit peptitler olan enkefalin, dinorfin, endorfin, dermenkefalin ve dermorfin’in binlerce analogu sentezlenerek opioit reseptör ailesi işlevlerinin araştırılması için kullanılmıştır.

Bunun sonucunda, morfine yapıca benzeyen, yüksek seçiciliği olan yeni bileşikler literature kazandırılmıştır. Buna rağmen yeni bileşiklerin araştırılmasına devam edilmektedir. Çünkü 3 opioit reseptörün ( $\mu$ ,  $\delta$  ve  $\kappa$ ) alt tiplerinin sayısı ve varlığı henüz bilinmemektedir. Dolayısıyla bu reseptör alt tiplerine spesifik yeni ligandların bulunmasının bağlanma mekanizmalarının anlaşılmasına yardımcı olacağı düşünülmektedir.

Dooley ve Houghten (54) bu amaçla yeni opioit reseptör tayinlerinde kombinatoryal kütüphane tekniklerinin kullanımını araştırmış ve sonuçları derleme olarak sunmuşlardır.

İlk tanımlanmış olan opioit peptitler, opioit reseptörler için nörotransmitter ligandlar olarak kabul edilmektedir. Goodman ve arkadaşları (55), güçlü ve selektif biyolojik etkili

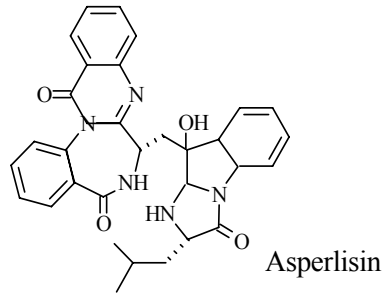


peptidomimetikler araştırmak amacıyla yeni guanidilasyon reaktifleri ve sentez yolları geliştirmişler ve bunları heterosiklik halkalı opioitlerin sentezinde kullanmışlardır. Günümüze kadar, gösterilen çabalara rağmen bağımlılığın mekanizması ve bağımlılık yapmayan opioitlerin geliştirilmesi hala gerçekteşmemiştir (56).

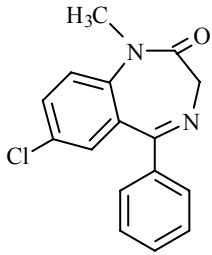
Peptidomimetizm yoluyla geliştirilen ve klinik kullanıma girmiş ilk peptitlerden türeyen peptidomimetik ilaç grubu ACE inhibitörleri olup, captopril ve enalapril bu çalışmaların başarılı örnekleridir (21).

Kolesistokinin antagonisti asperlisin ise bir diğeri örnektir. Kolesistokinin (CCK), pankreatik enzim sekresyonu, safra kesesi kontraktilesi ve sindirim sistemi motilesi regülatördür ve tipik olarak bağırsak ve beyinde oktapeptit (CCK-8) şeklinde bulunur.

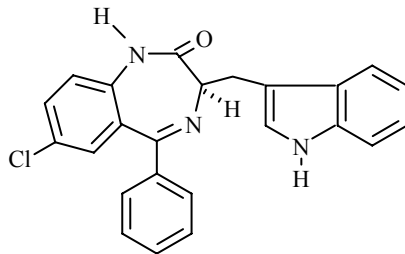
CCK antagonistleri için hazırlanan fermantasyon ortamlarının taranması ile asperlisin izole edilmiş ve bu da oral olarak etkili ve güçlü bir bileşimin sentezine öncülük etmiştir (57).



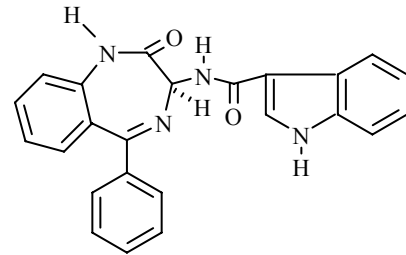
Asperlisin suda çözünürlüğünün az olması ve biyoyararlanımının düşük olması nedeniyle cazip bir öncü bileşik değildir. Asperlisin'in sağ tarafındaki kısım, CCK'nin karboksi terminalinde bulunan L-triptofan amino asiti ile benzerlik gösterirken sol taraftaki yapı ise Diazepam'da bulunan 1,4-benzodiazepin halkasını hatırlatır. Bütün bu bulgular sonucu araştırmacılar Bileşik 4 'de gösterilen yapıyı sentez etmişlerdir. Bu yapı Asperlisin'den basit olmasına rağmen pankreatik CCK reseptörlerine aynı Asperlisin kadar kuvvetli bağlanır. Asperlisin'den farklı olarak Bileşik 4 oral verildiğinde iyi absorblanır. Bu bileşik üzerindeki yapı-aktivite çalışmalarını sonucu amid yapısındaki Bileşik 5 bulunmuştur. Bu



Diazepam



Bileşik 4

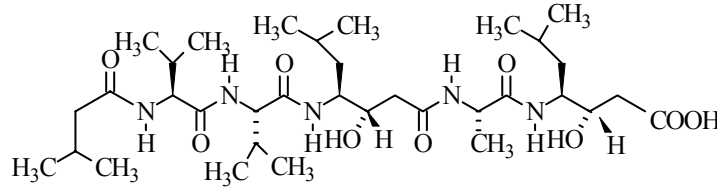


Bileşik 5

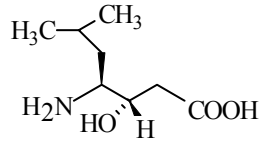
bileşiğin de CCK reseptörlerine CCK-8'e yakın bir kuvvette bağlandığı görülmüştür. Ayrıca amit yapısındaki bu bileşik CCK-8 tarafından indüklenen gastrik blokajı da antagonize eder (57). Noble ve arkadaşları da (58) kolesistokininin reseptörleri hakkında; yapıları, dağılımı ve fonksiyonlarını içeren bir derleme çalışması yapmışlardır.

Apostolopoulos ve arkadaşları (59) ise, peptitmimetiklerin kanser tedavisinde immunoterapi uygulamalarını ele alan bir çalışma yapmışlardır.

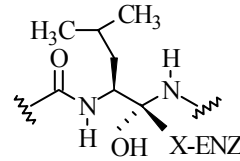
Bu konudaki bir başka örnek statindir. Statin, güçlü ve bilinen bir aspartik proteaz inhibitörü olan pepstatin peptidinin yapısında bulunan nadir görülen bir amino asittir ve peptit bağı hidrolizinde, geçiş durumundaki tetrahedral ara ürünün hidroksimetilen isosteridir (60).



Pepstatin



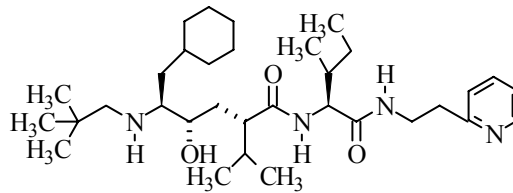
Statin



Hidroksimetilen İzosteri

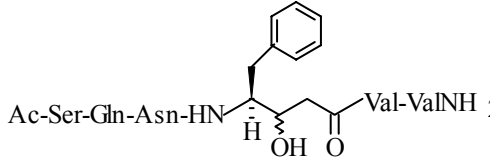
Bu yaklaşım sonucunda çok çeşitli statin türevleri sentezlenmiş ve çok sayıda peptidin yapısına katılarak yeni potansiyel proteaz inhibitörleri sentezlenmiş ve literatüre kazandırılmıştır (60).

Bu bileşiklerin diğer bir grubu ise HIV-1 proteaz inhibitörleridir. HIV proteazı homodimer olarak aktif aspartil proteazların en küçük elemanıdır. Recombinant HIV-1 proteazı *in vitro* olarak inhibe eden ve daha önemlisi HIV-1 replikasyonunu *in vivo* olarak inhibe eden U-81749 kodlu bir bileşiğin sentez ve aktivitesi ortaya çıkarılmıştır (60).

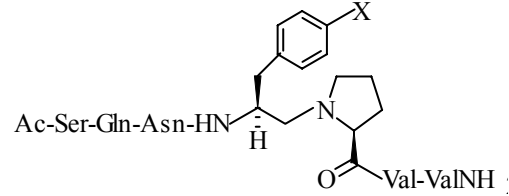


U-81749

Yapılan paralel bir çalışmada aynı grup hidroksimetilen içeren bir bileşik olan 6'yı, redüklenmiş amit yapısındaki Bileşik 7 ve 8'i sentezlemişler ve bunların HIV-1 proteaz inhibisyonunu ölçmüşlerdir.

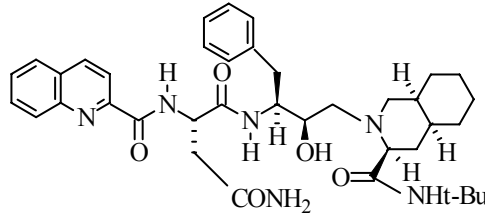


Bileşik 6



Bileşik 7 (X: OH), Bileşik 8 (X: H)

Bir başka çalışmada, phe-pro dizinine dayalı bir seri peptid türevi hazırlanmış, güçlü ve selektif bir HIV proteaz inhibitörü olan Bileşik 9 bulunmuştur. Bu madde HIV-1 proteaza karşı  $IC_{50} < 0.4$  nM ve HIV-2 proteaza karşı  $IC_{50} > 0.8$  nM oranına sahiptir (60,61).



Bileşik 9

Teorik olarak; herhangi bir ilaç kategorisindeki peptidomimetikler endojen peptid taşıma sistemlerini kullanabilmek üzere tasarlanabilirler. Ancak; taşıyıcılar, peptidazlar ve sonuçtaki biyolojik hedefler hakkında ayrıntılı bir bilgi yoksa, aktif olarak taşınan bir bileşiğin yapısının yalnızca rasyonel bir tasarı ile belirlenmesi olasılığı da düşük olur.

## SONUÇ

Peptitler ve proteinler organizmadaki hormon ve nörotransmitter rollerinden dolayı biyolojik sistemlerin vazgeçilmez bileşenleridir. Peptitler ve bunların analoglarının medisinal kimya alanında çeşitli patolojik durumlarda terapötik ajanlar olarak kullanılmaya girişimleri olmuştur. Ancak, etki sürelerinin kısa olması, etkilerinin spesifik olmaması ve oral biyoyararlanımlarının düşük olması

gibi dezavantajlarından dolayı peptitlerin ilaç olarak kullanımının kısıtlı olduğu görülmüştür. Bu dezavantajların giderilmesine yönelik çalışmalar incelendiğinde çalışmaların iki yönlü ilerlediği görülmüştür. Bunlardan biri, yeni tatbik yolları ve formülasyonların geliştirilmesine yönelik çalışmalar diğeri ise, medisinal kimya alanında, rasyonel ilaç tasarımındaki gelişmelerdir.

Rasyonel ilaç tasarımı teknoloji alanındaki son gelişmelerden yararlanarak ilaç geliştirme alanında önemli bir yer almıştır. Laboratuvar tekniklerinde NMR teknolojisi ile sentez tekniklerinin gelişmesi, genomiks, bilgisayar destekli kimya ve bilgisayar programları alanındaki gelişmeler rasyonel ilaç tasarımı yöntemlerinin gelişmesine katkıda bulunmuştur. Bu yaklaşımlar, terapötik alanda yeni gelişmelere neden olmuş, peptitler ve peptidomimetikler, konvansiyonel farmasötiklerle anlaşılamayan reseptör işlevlerinin anlaşılması ve ligand geliştirme alanında önemli bir bakış açısı getirmişlerdir.

Tüm bu gelişmelerin sonucunda peptidomimetikler, yeni bir ilaç grubu olarak ortaya çıkmıştır. Bunların klinikte kullanılan en çarpıcı örnekleri ACE inhibitörleri ve HIV proteaz inhibitörleridir. Peptidomimetik yaklaşım ile geliştirilen, kliniğe girmiş örneklerin olması çalışmaları teşvik etmekte ve literatürde bu alandaki çalışmalar devam etmektedir.

## KAYNAKLAR

1. **Fauchere, J.L.** “Towards The Rational Design of Peptide Drugs”, *Actual. Chim. Ther.*, **16**, 55-72 (1989).
2. **Williams, R.M.**, “Design and Synthesis of Biologically Active Peptide Mimics”, Williams, W.V., Weiner, D.B., (Eds.), *Biologically Active Peptides: Design, Synthesis and Utilization*, Technomic Publishing Co. Inc., Lancaster, 187 (1993).
3. **Gante, J.** “Peptidomimetics-Tailored Enzyme Inhibitors”, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **33**, 1699-1720 (1994).
4. **Bursavich, M.G., Rich, D.H.** “Designing Non-Peptide Peptidomimetics in The 21 st Century: Inhibitors Targeting Conformational Ensembles”, *J. Med.Chem.*, **45**, 541-558 (2002).
5. **Hughes, J., Smith, T.W., Kosterlitz, H.W., Fothergill, L.A., Morgen, B.A., Morris, H.R.** “Identification of Two Related Pentapeptide From the Brain With Potent Opiate Agonist Activity”, *Nature*, **258**, 577-579 (1975).
6. **Jordan, C.C.**, “Neurotransmitters, Drugs and Disease”, Webster, R.A., Jordan, C.C (Eds.), *Peptides*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 211, (1989).
7. **Jorpes, J.E., Mutt, V.** “Cholecystokinin and Pancreozymin: one single hormone?”, *Acta*

- Physiol Scand*, **66**, 196-202 (1966).
8. **Massari, V.J., Tizabi, Y., Park, C.H., Moody, T.W., Helke, C.J., O'Donohue, T.L.** "Distribution and Origin of Bombesin, Substance P and Somatostatin in Rat Spinal Cord.", *Peptides*, **4**, 673-681 (1983).
9. **Leeman, S.E., Carraway, R.E.** "Neurotensin: Discovery, Isolation, Characterization, Synthesis and Possible Physiological Roles.", *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **400**, 1-16 (1982).
10. **Humphrey, M.J., Ringrose, P.S.** "Peptides and Related Drugs: A Review of Their Absorption, Metabolism and Excretion", *Drug Metab. Rev.* **17**, 283-310 (1986).
11. **Alpers, D.H.**, "Digestion and Absorption of Carbohydrates and Proteins", Johnson, L.R. (Ed.), *Physiol. Gastroint. Tract*, Raven Press, New York, 1469 (1987).
12. **Agolev, A.M., Iezuitova, N.N., Smirnova, L.F.**, "Role of Digestive Enzymes in the Permeability of the Enterocyte", Csaky, T.Z., (Eds.), *Handbook of Experimental Pharmacology, vol.70/II: Pharmacology of Intestinal Permeation II*, Springer-Verlag, New York, 31 (1984).
13. **Esposito, G.**, "Intestinal Permeability of Water-Soluble Nonelectrolytes: Sugars, Amino Acids, Peptides", Csaky, T.Z. (Ed.), *Handbook of Experimental Pharmacology, vol 70/I: Pharmacology of Intestinal Permeation I*, Springer-Verlag, New York, p. 567 (1984).
14. **Silk, D.B.A.** "Peptide Transport", *Clin.Sci.* **60**, 607-615 (1981).
15. **Chung, Y.C., Silk, D.B.A., Kim, Y.S.** "Intestinal Transport of a Tetrapeptide, L-leucylglycylglycylglycine, in Rat Small Intestine in Vivo", *Clin. Sci.*, **57**, 1-11 (1979).
16. **Gardner, M.L.G.** "Intestinal Assimilation of Intact Peptides and Proteins from the Diet-A Neglected Field", *Biol.Rev.*, **59**, 289-331 (1984).
17. **Gonzales-Barcena, D., Kastin, A.J., Miller, M.C., Schalch, D.S., Coy, D.H., Schally, A.V., Escalante-Herrera, A.** "Stimulation of Luteinizing Hormone (LH) Release After Oral Administration of An Analogue of LH Releasing Hormone", *Lancet*, **2**, 1126-1127 (1975).
18. **Okada, H., Yamazaki, I., Ogawa, Y., Hirai, S., Yashiki, T., Mima, H.J.** "Vaginal Absorption of a Potent Luteinizing Hormone-Releasing Hormone Analog (Leuprolide) in Rats. I. Absorption by Various Routes and Absorption Enhancement", *J. Pharm. Sci.*, **71**, 1367-1371 (1982).
19. **Kessler, H., Loosli, H.R., Oschkinat, H.**, Peptides 1984, Almquist and Wiksell, Stockholm, Sweden, 65 (1984).
20. **Almquist, R.G., Jennings-White, C., Chao, W.R., Steeger, T., Wheeler, T., Rogers, J., Itoma, C.** "Synthesis and Biological Activity of Pentapeptide Analogues of the Potent

- Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor 5(S)-Benzamido-4-oxo-6-phenylhexanyl-L-proline”, *J. Med. Chem.*, **28**, 1062-1066 (1985).
21. **Attwood, M.R., Hassall, C.H., Kröhn,A., Lawton, G., Redshaw, S.** “The Design and Synthesis of the Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor Cilazapril and Related Bicyclic Compounds”, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **1**, 1011-1019 (1986).
22. **Carone, F.A., Peterson, P.R., Flouret, G.** “Renal Tubular Processing of Small Peptide Hormones” *J. Lab. Clin. Med.*, **100**, 1-14 (1982).
23. **Şenel, S., Kremer, M.J., Kaş, S., Wertz, P.W., Hincal, A.A., Squier, C.A.** “Enhancing Effect of Chitosan of Peptide Drug Delivery Across Buccal Mucosa”, *Biomaterials*, **21**, 2067-2071 (2000).
24. **Mackey, M., Phillips, J., Hartewell, J.** “Peptide Drug Delivery: Colonic and Rectal Absorbtion” , *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **28**, 253-273 (1997).
25. **Partidos, C.D., Beignon, A.S., Semetey, V., Briand, J.P., Muller, S.** “The Bare Skin and The Nose as Non-Invasive Routes for Administering Peptide Vaccines”, *Vaccine*, **19**, 2708-2715 (2001).
26. **Aliaga, I.R., Daniel, H.** “Mammalian Peptide Transporters as Targets for Drug Delivery”, *Trend. Pharmacol. Sci.*, **23**, 434-440 (2002).
27. **Fujita, T., Kishida, T., Wada, M.,Okada, N., Yamamoto, A., Leibach, F.H., Ganapathy, V.** “Functional Characterization of Brain Peptide Transporter in Rat Cerebral Cortex: Identification of the High-Affinity Type H<sup>+</sup>/Peptide Transporter PEPT2”, *Brain Res.*, **997**, 52-61 (2004).
28. **Brandsch, M., Knütter, I., Leibach, F.H.** “The Intestinal H<sup>+</sup>/Peptide Symporter PEPT1: Structure-Affinity Relationships”, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **21**, 53-60 (2004).
29. **Nielsen, C.U., Andersen, R., Brodin, B., Frokjaer, S., Steffansen, B.** “Model Prodrugs for the Intestinal Oligopeptide Transporter: Model Drug Release in Aqueous Solution and in Various Biological Media”, *J. Control. Release*, **73**, 21-30 (2001).
30. **Nielsen, C.U., Andersen, R., Brodin, B., Frokjaer, S., Taub, M.E., Steffansen, B.** “Dipeptide Model Prodrugs for the Intestinal Oligopeptide Transporter. Affinity for and Transport Via hPept1 in the Human Intestinal Caco-2 Cell Line”, *J. Control. Release*, **76**, 129-138 (2001).
31. **Roberts, D.C., Vellaccio, F.,** “Unusual Amino Acids in Peptide Synthesis”, Gross, E., Meienhofer, J., (Eds.), *The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology*, Academic

- Press, New York, vol 5, p. 6 (1983).
32. **Fauchere, J.L.**, "Elements for the Rational Design of Peptide Drugs", Testa, B. (Ed.), *Adv. Drug Res.*, cilt 15, Academic Press Inc., London, p. 29, (1986).
33. **Kieber-Emmons, T., Murali, R., Greene, M.I.** "Therapeutic Peptides and Peptidomimetics", *Curr. Opin. Biotech.*, **8**, 435-441 (1997).
34. **Rudinger, J.**, Drug Design, Academic Press Inc., London and Orlando sayfa 319, (1971).
35. **Pena, C., Stewart, J.M., Goodfriend, T.C.** "A New Class of Angiotensin Inhibitors: N-Methylphenylalanine Analogs", *Life Sci.*, **14**, 1331-1336 (1974).
36. **Coy, D.H., Mezo, I., Pedroza, E., Nekola, M.V., Vilchez, J., Piyachaturawat, P., Seprodi, J., Teplan, I.**, Peptides, Structure and Biological Function, Pierce Chemical Co., Rockford, USA, p. 775 (1979).
37. **Morley, J.S.** "Structure-Activity Relationships of Enkephalin-like Peptides", *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **20**, 81-110 (1980).
38. **Plattner, J.J., Marcotte, P.A., Kleinert, H.D., Stein, H.H., Greer, J., Bolis, G., fung, A.K.L., Bopp, B.A., Luly, J.R., sham, H.L., Kempf, D.J., Rosenberg, S.H., Dellaria, J.F., De, B., Merits, I., Perun, T.J.** "Renin Inhibitors Dipeptide Analogues of Angiotensinogen Utilizing a Structurally Modified Phenylalanine Residue to Impart Proteolytic Stability", *J. Med. Chem.*, **31**, 2277- 2288 (1988).
39. **Fauchere, J.L., Charton, M., Kier, L.B., Verloop, A., Pliska, V.** "Amino Acid Side Chain Parameters for Correlation Studies in Biology and Pharmacology", *Int. J. Peptide Protein Res.*, **32**, 269-278 (1988).
40. **Sotomatsu-Niwa, T., Ogino, A.** "Evaluation of the Hydrophobic Parameters of the Amino Acid Side Chains of Peptides and Their Application in QSAR and Conformational Studies", *J. Mol. Struct.*, **392**, 43-54 (1997).
41. **Churchwell, C.J., Rintoul, M.D., Martin, S., Visco, D.P., Kotu, A., Larson, R.S., Sillerud, L.O., Brown, D.C., Faulon, J.L.** "The Signature Molecular Descriptor 3. Inverse-Quantitative Structure-Activity Relationship of ICAM-1 Inhibitory Peptides", *J. Mol. Graphics Model.*, **22**, 263-273 (2004).
42. **Schullery, S.E., Rodgers, D.W., Tripathy, S., Jayamaha, D.E., Sanvordekar, M.D., Renganathan, K., Mousigian, C., Heyl, D.L.** "The Role of Backbone Conformation in Deltorphin II Binding: A QSAR Study of New Analogues Modified in the 5-, 6-Positions of the Address Domain", *Bioorg. Med. Chem.*, **9**, 2633-2642 (2001).

43. **Schullery, S.E., Mohammedshah, T., Makhlof, H., Marks, E.L., Wilenkin, B.S., Escobar, S., Mousigian, C., Heyl, D.L.** “Binding to  $\delta$  and  $\mu$  Opioid Receptors by Deltorphin I/II Analogues Modified at the Phe<sup>3</sup> and Asp<sup>4</sup>/Glu<sup>4</sup> Side Chains: A Report of 32 New Analogues and a QSAR Study”, *Bioorg. Med. Chem.*, **5**, 2221-2234 (1997).
44. **Brusic, V., Bucci, K., Schönbach, C., Petrovsky, N., Zeleznikow, J., Kazura, J.W.** “Efficient Discovery of Immune Response Targets by Cyclical Refinement of QSAR Models of Peptide Binding”, *J. Mol. Graphics Model.*, **19**, 405-411 (2001).
45. **Ano, R., Kimura, Y., Shima, M., Matsuno, R., Ueno, T., Akamatsu, M.** “Relationships Between Structure and High-Throughput Screening Permeability of Peptide Derivatives and Related Compounds With Artificial Membranes: Application to Prediction of Caco-2 Cell Permeability”, *Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 257-264 (2004).
46. **Spatola, A.F.** Chemistry and Biochemistry of Amino acids, Peptides and Proteins, Dekker, Vol. 7, New York, 267 (1983).
47. **Marshall, G.R., Humblet, C., van Opdenbosch, N., Zabrocki, J.**, Peptides, Synthesis, Structure, Function, Pierce Chemical Co., Rockford, USA, 669 (1981).
48. **Ahn, J.M., Boyle, N.A., MacDonald, M.T., Janda, K.D.**, “Peptidomimetics and Peptide Backbone Modifications”, *Mini Rev. Med. Chem.*, **2**, 463-473 (2002).
49. **Rizo, J., Gierasch, L.M.** “Constrained Peptides: Models of Bioactive Peptides and Protein Substructures”, *Annu. Rev. Biochem.*, **61**, 387-418 (1992).
50. **Hruby, V.J.** “Conformational Restrictions of Biologically Active Peptides Via Amino Acid Side Chain Groups”, *Life Sci.*, **31**, 189-199 (1982).
51. **Hruby, V.J., Mosberg, H.I., Fox, J.W., Tu, A.T.** “Conformational Comparisons of Oxytocin Agonists, Partial Agonists, and Antagonists Using Laser Raman and Circular Dichroism Spectroscopy. Examination of 1-penicillamine and Diastereoisomeric Analogues”, *J. Biol. Chem.*, **257**, 4916-4924 (1982).
52. **Fischer, E.**, “Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme”, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **27**, 2985-2991 (1894).
53. **Koshland, D.E.**, “Application of a Theory of Enzyme Specificity to Protein Synthesis”, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **44**, 98-105 (1958).
54. **Dooley, C.T., Houghten, R.A.** “New Opioid Peptides, Peptidomimetics and Heterocyclic Compounds From Combinatorial Libraries”, *Biopolymers (Pept. Sci.)*, **51**, 379-390 (1999).



55. **Goodman, M., Zapf, C., Rew, Y.**, “New Reagents, Reactions and Peptidomimetics for Drug Design”, *Biopolymers*, **60**, 229-245 (2001).
56. **Snyder, S.H., Pasternak, G.W.** “Historical Review: Opioid Receptors”, *Trend. Pharmacol. Sci.*, **24**, 198-205 (2003).
57. **Evans, B.E., Bock, M.G., Rittle, K.E., Dipardo, R.N., Whitter, W.L., Veber, D.F., Anderson, P.S., Freidinger, R.M.** “Design of Potent Orally Effective, Non-peptidal Antagonists of the Peptide Hormone Cholecystokinin”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 4918-4922 (1986).
58. **Noble, F., Wank, S.A., Crawley, J.N.** “International Union of Pharmacology. XXI. Structure, Distribution and Functions of Cholecystokinin Receptors”, *Pharm. Rev.*, **51**, 745-781 (1999).
59. **Apostolopoulos, V., Matsoukas, J., Plebanski, M., Mavromoust, T.**, “Applications of Peptide Mimetics in Cancer”, *Curr. Med. Chem.*, **9**, 411-420 (2002).
60. **Laszlo Otvos, J.R., Hollosi, M.**, “Development of Chemically Modified Peptides”, Williams, W.V., Weiner, D.B., (Eds.), *Biologically Active Peptides: Design, Synthesis and Utilization*, Technomic Publishing Co. Inc., Lancaster, 155 (1993).
61. **Mimoto, T., Terashima, K., Nojima, S., Takaku, H., Nakayama, M., Shintani, M., Yamaoka, T., Hayashi, H.** “Structure-Activity and Structure-Metabolism Relationships of HIV Protease Inhibitors Containing The 3-Hydroxy-2-methylbenzoylallophenylnorstatine Structure”, *Bioorg. Med.Chem.*, **12**, 281-293 (2004).

Received: 30.03.2004

Accepted: 10.10.2004