



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**BAZI YENİ BENZOTİYAZOL TÜREVİ BİLEŞİKLERİN
SENTEZLERİ, YAPI AYDINLATMALARI,
GST ENZİM İNHİBİTÖRÜ ETKİLERİ VE
ETKİ MEKANİZMASI DİNAMİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Kayhan BOLELLİ

**FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. İsmail YALÇIN**

2016- ANKARA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI YENİ BENZOTİYAZOL TÜREVİ BİLEŞİKLERİN
SENTEZLERİ, YAPI AYDINLATMALARI,
GST ENZİM İNHİBİTÖRÜ ETKİLERİ VE
ETKİ MEKANİZMASI DİNAMİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Kayhan BOLELLİ

**FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. İsmail YALÇIN**

2016- ANKARA

Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Bazı Yeni Benzotiyazol Türevi Bileşiklerin Sentezleri, Yapı Aydınlatmaları, GST Enzim İnhibitörü Etkileri ve Etki Mekanizması Dinamiklerinin İncelenmesi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

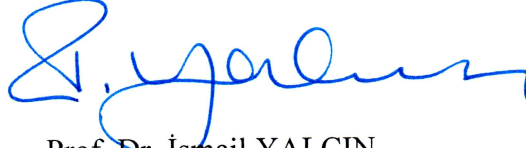
Öğrencinin Adı Soyadı: Kayhan BOLELLİ

Tarih: 14.06.2016

İmza:

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmasötik Kimya Anabilim Dalında
Kayhan BOLELLİ tarafından hazırlanan
“Bazı Yeni Benzotiyazol Türevi Bileşiklerin Sentezleri, Yapı Aydınlatmaları, GST
Enzim İnhibitörü Etkileri ve Etki Mekanizması Dinamiklerinin İncelenmesi” adlı tez
çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul
edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 14.06.2016



Prof. Dr. İsmail YALÇIN
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı



Prof. Dr. İlkay YILDIZ
Ankara Üniversitesi
Raportör



Prof. Dr. Seyhan ERSAN
Gazi Üniversitesi
Üye



Prof. Dr. Oya BOZDAĞ-DÜNDAR
Ankara Üniversitesi
Üye



Prof. Dr. Selma SARAÇ
Hacettepe Üniversitesi
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zafer KARAER
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	ix
Çizelgeler	xiii

1. GİRİŞ	1
1.1. Antikanser Direnç Mekanizmaları	1
1.1.1. Glutasyon S-Transferazlar (GST)	3
1.1.1.1. İnsan Glutasyon S-Transferaz pi1-1 Enzimi (hGST P1-1)	7
1.1.1.2. hGST P1-1 İnhibitörleri	9
1.1.1.2.1. Geri Dönüşsüz İnhibitörler	10
1.1.1.2.2. Glutasyon Yapısındaki İnhibitörler	14
1.1.1.2.3. TLK-S Konjugatları ve Peptid Olmayan Analoglar	16
1.1.1.2.4. Bivalan İnhibitörler	18
1.1.1.2.5. Ligandin Tip İnhibitörler	19
1.1.1.2.6. Doğal Kaynaklı GST İnhibitörü Bileşikler	20
1.1.1.2.7. Piridin Türevleri	26
1.1.1.2.8. Antimalaryal Bileşikler	26
1.1.1.2.9. Bazı Trisiklik Antidepresan Bileşikler	27
1.1.1.3. GST ile Aktive Edilen Ön İlaçlar	28
1.1.1.3.1. Nitrik Oksit Donörleri	28
1.1.1.3.2. Pürin Analogları	31
1.1.1.3.3. TLK-286 (TER 286, Telcyta®)	33
1.2. Antikanser Etkili Benzotiyazol Türevleri	35
1.3. Benzotiyazol Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri	43
1.4. Moleküler Modelleme Teknikleri	56
1.4.1. Ligand Tabanlı İlaç Tasarımı	58
1.4.1.1. Farmakofor Analizi	58
1.4.1.1.1. HipHop Yöntemi	58
1.4.2. Reseptör Tabanlı İlaç Tasarımı	60

1.4.2.1. Doking Yöntemi	60
1.4.2.1.1. CDocker Yöntemi	62
2. GEREÇ ve YÖNTEM	63
2.1. Gereç	63
2.1.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	63
2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	64
2.2. Yöntem	64
2.2.1. Elde Edilen Bileşiklerin Sentez ve Saflaştırma Yöntemleri	64
2.2.1.1. Elde Edilen 2-(4'-Süstitüe Benzamido/ <i>N'</i> -Benzhidrazido)-4/6-süstitüe Benzoizyazol Bileşiklerinin Sentezi, Reaksiyon Denklemi ve Saflaştırma Yöntemi	64
2.2.2. Elde Edilen Bileşiklerin Yapı Analiz Yöntemleri	66
2.2.2.1. Sentezlenen Bileşiklerin Elementel Analizleri	66
2.2.2.2. Sentezlenen Bileşiklerin Kütle Spektrel Analizleri	66
2.2.2.3. Sentezlenen Bileşiklerin ¹ H-NMR Spektrel Analizleri	67
2.2.2.4. Sentezlenen Bileşiklerin ¹³ C-NMR Spektrel Analizleri	67
2.2.3. Elde Edilen Bileşiklerin <i>in vitro</i> GST P1-1 Analizi	68
2.2.3.1. Rekombinant hGST P1-1'in Ekspresyonu ve Saflaştırılması	68
2.2.3.2. Elde Edilen Bileşiklerin GST P1-1 Enzimi Üzerindeki İnhibitör Etkilerinin Saptanması	69
2.2.4. Moleküler Modelleme Çalışmaları	70
2.2.4.1. Farmakofor Çalışması (HipHop Yöntemi)	70
2.2.4.2. Doking Çalışması (CDocker Yöntemi)	70
3. BULGULAR	73
3.1. Elde Edilen Bileşiklerin Sentez ve Analiz Bulguları	73
3.1.1. 2-Benzamidobenzoizyazol (1)	73
3.1.2. 2-(4'-Bromobenzamido)benzoizyazol (2)	76
3.1.3. 2-(4'-Metilbenzamido)benzoizyazol (3)	79
3.1.4. 2-(4'-Nitrobenzamido)benzoizyazol (4)	82
3.1.5. 2-(4'-Bromobenzamido)-4-metilbenzoizyazol (5)	85
3.1.6. 2-(4'-Nitrobenzamido)-4-metilbenzoizyazol (6)	88
3.1.7. 2-(4'-Bromobenzamido)-6-florobenzoizyazol (7)	91

3.1.8.	2-Benzamido-6-metilbenzotiyazol (8)	94
3.1.9.	2-(4'-Bromobenzamido)-6-metilbenzotiyazol (9)	97
3.1.10.	2-(4'-Metilbenzamido)-6-metilbenzotiyazol (10)	100
3.1.11.	2-(4'-Nitrobenzamido)-6-metilbenzotiyazol (11)	103
3.1.12.	2-(4'-Bromo- <i>N'</i> -benzhidrazido)benzotiyazol (12)	106
3.2.	Elde Edilen Bileşiklerin <i>in vitro</i> hGST P1-1 Enzim Aktiviteleri	109
3.3.	Moleküler Modelleme Çalışmaları	109
3.3.1.	Farmakofor Çalışması (HipHop Yöntemi)	109
3.3.2.	Doking Çalışması (CDocker Yöntemi)	113
4.	TARTIŞMA	115
5.	SONUÇ ve ÖNERİLER	121
	ÖZET	123
	SUMMARY	124
	RESUMEN	125
	KAYNAKLAR	126
	ÖZGEÇMİŞ	142

ÖNSÖZ

Günümüzde kanser, gelişmiş ülkelerin ölüm istatistiklerinde kalp-damar hastalıklarının ardından ikinci sırada yer alan ölümcül bir hastalıktır. Antikanser tedavide kullanılan ilaçların pahalı olması, toksik olması ve ilaçlara karşı çabuk direnç gelişmesi kullanımlarını kısıtlamaktadır. Bu çalışmada hGSTP1-1 inhibitörü etkiye sahip bir seri benzotiyazol türevi bileşik sentezlenmiş ve etkilerine bakılmıştır. Çalışma sonucunda kayda değer sonuçlara ulaşılmıştır.

Yaptığım çalışma boyunca, varlığıyla bana güç veren, beni her zaman düşünen anneme; hiçbir zaman unutmayacağım, en büyük yol göstericim olan babama; sadece tezimin hazırlanmasında ve tez çalışmalarım sırasında değil, tüm yaptığım hazırlıklar ve çalışmalar sırasında her an yanımda olan, destekleyen sevgili eşim Dr. Ecz. Tuğba ERTAN-BOLELLİ'ye; tezimin hazırlanmasında, çalışmalarım sırasında her konuda destek ve yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimleriyle bana her zaman yol gösteren, fikirleri ve düşünceleriyle beni aydınlatan, tez danışmanım sevgili hocam Sayın Prof. Dr. İsmail YALÇIN'a ve tez izleme komitesinde (TİK) yer alan Sayın Prof. Dr. Seyhan ERSAN ve Sayın Prof. Dr. İlkey YILDIZ'a sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimi hazırladığım sürede bana rahat bir çalışma ortamı sağlayan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Gülbin ÖZÇELİKAY'a; Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Hakan GÖKER'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım sırasında her zaman destek ve yardımlarını gördüğüm Sayın Prof. Dr. Esin AKI-YALÇIN, Uzm. Ecz. Serap YILMAZ ve Uzm. Ecz. Özüm ÖZTÜRK'e teşekkürlerimi sunarım.

Aletsel analiz çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Hakan GÖKER'e tekrar teşekkürlerimi sunarım. Elementel analiz çalışmaları sırasında yardımlarını aldığım Doç. Dr. Mehmet ALP'e teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman ilgi ve desteklerini gördüğüm A.Ü.E.F. Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi hocalarıma, Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma ve tüm Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Enzim çalışmalarının yapılmasında yardımcı olan Stockholm Üniversitesi Nörokimya A.D. Öğretim Üyesi Prof. Dr. Bengt MANNERVIK ve Dr. Bio. Yaman MUSDAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim boyunca verdiği destekten dolayı TÜBİTAK-BİDEB'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER ve KISALTMALAR

µg	Mikrogram
µM	Mikromolar
ADR	Adriamisin
ATRA	All- <i>trans</i> -retinoik asit, Tretinoin
BCNU	1,3-bis(2-Kloroetil)-1-nitrozüre
CDNB	1-Kloro-2,4-dinitrobenzen
COMC-6	Krotoniloksimetil-2-siklohekzenon
1,4-DHP	1,4-Dihidropiridin
1,4-DHIP	1,4-Dihidroindeno[1,2- <i>b</i>]piridin
DCCI	Disikloheksil karbodiimid
DCM	Diklorometan
DIPEA	Diisopropiletilamin
DMF	Dimetilformamit
DMSO	Dimetilsülfoksit
DMP	2,6-Dimetil-3,5-bis(mentiloksikarbonil)piridin
DMSO- <i>d</i> ₆	6 protonu, 6 döteryum ile değiştirilmiş dimetilsülfoksit
EA	Etakrinik asit
EGFR-TK	The Epidermal Growth Factor Receptor – Tirozin kinase
ESI	Elektrosprey İyonizasyonu
FU	Florourasil
γ-GT	γ-Glutamil-transpeptidaz
GSH	Glutasyon
GST	Glutasyon S-Transferaz
4-HC	4-Hidroksiperoxisiklofosfamidin
hGST P1-1	insan Glutation S-Transferase pi1-1 izozimi
HHDP	Heksahidroksidipenol polimerleri
HuCCT1	insan kolanjiyokarsinoma hücre hattı
IC ₅₀	%50 inhibisyon konsantrasyonu
JNK	c-Jun N-terminal kinaz
kb	kilo baz çifti
kDa	kilo Dalton (g/mol); proteinler için kullanılan kütle birimi
MAPEGs	Membraneassociated proteins in eicosanoid and glutathione metabolism
MAPK	Mitogen-activated Protein Kinase
MDR	Multidrug Resistance, Çoklu İlaç Direnci
MRP	Multidrug Resistance Protein; Çoklu İlaç Direnci Proteini
MP	Merkaptopürin
MW	Mikrodalga
NBDHEX	6-(7-Nitro-2,1,3-benzoksadiazol-4-iltiyo)heksanol
NMP	N-Metil pirrolidin
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
NSCLC	(Non-Small Cell Lung Carcinoma) Küçük hücreli olmayan akciğer kansinoması
PDB	Protein Data Bank; Protein Veri Bankası
PEG	Polietilenglikol
pKXHP1	GST ifadenme vektörü
PPA	Polifosforik asit
PPE	Polifosfat esteri
PPSE	Trimetilsililpolifosfat esteri
PSI	Pound per square inch (lb/in ²)
PTA	cis-3-(9H-Pürin-6-iltiyo)akrilik asit
RMSD	The Root-Mean-Square Deviation
SDS-PAGE	Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamit Jel Elektroferez
SPOS	Solid-Phase Organic Synthesis; Katı-faz organik sentezi
TEA	Trietilamin
TFA	Trifloroasetik asit
TER	Terrapin Teknolojileri bileşikleri
THF	Tetrahidrofur
TLK	Telik Şirketi bileşikleri
WHO	World Health Organisation, Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	GSH'un ksenobiyotiklerle GST katalizli reaksiyonu	5
Şekil 1.2.	Dimerik hGST P1-1 enziminin kristal yapısı (üstte) ve hidrofobik yüzey alanı görünümü (altta)	8
Şekil 1.3.	GS-EA kompleks oluşumu	10
Şekil 1.4.	Etakrinik asit ve türevleri	11
Şekil 1.5.	Oksadiazol ve tiyadiazol halkası taşıyan etakrinik asit türevi bileşikler	11
Şekil 1.6.	Nükleofilik aromatik süstitüsyon reaksiyonuyla GSH ile konjugat oluşumu	12
Şekil 1.7.	Nükleofilik adisyon reaksiyonuyla GSH ile konjugat oluşumu	12
Şekil 1.8.	Geri dönüşsüz inhibitör örnekleri	12
Şekil 1.9.	NBDHEX	13
Şekil 1.10.	Bileşik 18'in GSH ile verdiği reaksiyon	13
Şekil 1.11.	GSH analogu olan peptidomimetik bileşikler	14
Şekil 1.12.	γ -Glutamil-transpeptidaz enzimine daha dayanıklı olan bileşikler	15
Şekil 1.13.	Peptidomimetik GSH analogu bileşikler	15
Şekil 1.14.	7 (TER 117) ve 8 nolu TLK-S konjugatları	16
Şekil 1.15.	TLK 199 (TER 199)	17
Şekil 1.16.	<i>Bis</i> -Glutatyonil nitrofenil türevlerinin ana yapısı	18
Şekil 1.17.	<i>Bis</i> -Uniblu A bileşiğin ise ana yapısı	18
Şekil 1.18.	Ligandin tip inhibitörler	19
Şekil 1.19.	Östradiol türevi GSH konjugatları	20
Şekil 1.20.	Elajik asit	21
Şekil 1.21.	Kurkumin	21
Şekil 1.22.	GST inhibisyonu gösteren bazı flavanoid bileşikler	22
Şekil 1.23.	1,4-Benzokinin (a-f) ve 1,4-naftokinin (g, h) bileşikleri	23
Şekil 1.24.	Diospirin	23
Şekil 1.25.	Tannik asit	24
Şekil 1.26.	Öjenol ve türevleri	24
Şekil 1.27.	α -Tokoferol (Vitamin E)	25
Şekil 1.28.	Tokoferol türevleri	25
Şekil 1.29.	1,4-Dihidropiridin (1,4-DHP), 1,4-dihidroindeno[1,2-b]piridin (1,4-DHIP) ve 2,6-dimetil-3,5-bis(mentiloksikarbonil)piridin (DMP) ile mentil, bornil ve isobornil kökleri	26
Şekil 1.30.	Antimalaryal bileşikler	27
Şekil 1.31.	Dibenzsikloheptadien ve Dibenazepin türevleri	27
Şekil 1.32.	Diazeniumdiolatın NO salımı ve JS-K; PABA/NO bileşikleri	29
Şekil 1.33.	4-Aril-1,3,2-oksatiyazolilyum-5-olat (OZO) türevleri	30
Şekil 1.34.	PTA'nın GSH/GST katalizli aktivasyonu	31
Şekil 1.35.	S-(9H-Pürin-6-il)glutatyon ve 6-tiyoguanin	31
Şekil 1.36.	AVTG ve AVTP	32
Şekil 1.37.	Azatiyopürin ve NSC 348401	32
Şekil 1.38.	TLK 286 (TER 286)	33
Şekil 1.39.	TLK 286'nın GST P1-1 ile aktivasyon mekanizması	34
Şekil 1.40.	Benzotiyazol	35
Şekil 1.41.	Adenin	35
Şekil 1.42.	Guanin	35
Şekil 1.43.	2-(4-Amino-3-metilfenil) benzotiyazol	35
Şekil 1.44.	Florlanmış 2-(4-Amino-3-metilfenil) benzotiyazol türevi bileşikler	36
Şekil 1.45.	6-(2,6-Diklorobenzamido)-2-(siklopropilkarbonilamino) benzotiyazol	36
Şekil 1.46.	2-[4-Süstitüe fenil]-6-aminobenzotiyazol türevi bileşikler	36
Şekil 1.47.	N-(Benzotiyazol-2-il)-2-{5-[1-(süstitüefenoksi)etil]-1,3,4-oksadiazol-2-il-tiyo}asetamit türevi bileşikler	37
Şekil 1.48.	Amit ve üre taşıyan benzotiyazol türevi bileşikler	37

Şekil 1.49.	Benzotiyazol bağlı 2-tiyokso-4-tiyazolidinon türevi bileşikler	37
Şekil 1.50.	Benzotiyazol-2-sülfonamit türevi bileşikler	38
Şekil 1.51.	Dimer yapıdaki benzotiyazol türevi bileşikler	38
Şekil 1.52.	8-Kloro-3-siyano-4-imino-2-metiltiyo-4 <i>H</i> -pirimido[2,1- <i>b</i>][1,3]benzotiyazol	38
Şekil 1.53.	2-Asetil-3-(6-metoksibenzotiyazo)-2-ilamino-akrilonitril	38
Şekil 1.54.	Benzotiyazol bağlı heksahidro-s-triazin türevi bileşikler	39
Şekil 1.55.	Tiyadiazol taşıyan benzotiyazol türevi bileşikler	39
Şekil 1.56.	2-Aminobenzotiyazol türevleri	39
Şekil 1.57.	2-Fenilimidazo[2,1- <i>b</i>]benzotiyazol türevi bileşikler	40
Şekil 1.58.	<i>N'</i> -Formil-2-(5-nitrotiyofen-2-il)benzotiyazol-6-karbohidrazid	40
Şekil 1.59.	Benzotiyazol-2-tiyol türevi bileşikler	40
Şekil 1.60.	Benzotiyazolil-kumarin türevi bileşikler	40
Şekil 1.61.	2-[4-(2-Kloroasetamido)-3-siyanofenil]benzotiyazol	41
Şekil 1.62.	<i>bis</i> -Benzotiyazol türevi bileşikler	41
Şekil 1.63.	Sübstütie pirimido[2,1- <i>b</i>][1,3]benzotiyazol türevi bileşikler	41
Şekil 1.64.	Benzotiyazol bağlı pirazol türevi bileşikler	42
Şekil 1.65.	2-(4-Aminofenil)-6-floro- <i>N</i> -(sübstütie fenil) benzo[<i>d</i>]tiyazol-7-amin türevleri	42
Şekil 1.66.	3-Siyano-4,14-diimino-2-metiltiyo-10-nitropirimido[2,3- <i>b</i>]pirazolo[3,4- <i>e</i>]pirimido[2,3- <i>b</i>][1,3]benzotiyazol	42
Şekil 1.67.	Benzotiyazol-2-tiyol türevi bileşikler	43
Şekil 1.68.	Benzotiyazol içeren schiff bazlarından en etkili bileşik	43
Şekil 1.69.	2-Sübstütiebenzotiyazol türevlerinin sentezi	43
Şekil 1.70.	2-Benzilbenzotiyazol sentezi	44
Şekil 1.71.	2-Alkil / Aril benzotiyazol sentezi	44
Şekil 1.72.	2-Fenilbenzotiyazol sentezi	44
Şekil 1.73.	PPE	44
Şekil 1.74.	PPA	44
Şekil 1.75.	PPA, PPE veya PPSE ile 2-alkil / aril benzotiyazol sentezi	45
Şekil 1.76.	2-(<i>p</i> -Metilfenil) benzotiyazol sentezi	45
Şekil 1.77.	Bazı sübstütiebenzotiyazol türevi bileşiklerin sentezi	45
Şekil 1.78.	2-Sübstütiebenzotiyazol türevlerinin sentezi	46
Şekil 1.79.	Lawesson Reajanı	46
Şekil 1.80.	Katı Faz Sentez Yöntemi ile 2-(4-nitrofenil)benzotiyazol türevlerinin sentezi	46
Şekil 1.81.	2-(4-Metilfenil)benzotiyazol sentezi	46
Şekil 1.82.	2-(<i>p</i> -Metoksifenil)benzotiyazol sentezi	47
Şekil 1.83.	2-Aril benzotiyazol türevi bileşiklerin sentezi	47
Şekil 1.84.	2-Amino-6-nitrobenzotiyazol sentezi	47
Şekil 1.85.	2-(<i>p</i> -Sübstütie benzil)metilbenzotiyazol sentezi	48
Şekil 1.86.	Katı Faz Sentez Yöntemi ile 2-fenilbenzotiyazol sentezi	48
Şekil 1.87.	Katı Faz Sentez Yöntemi ile 2-metil/fenilbenzotiyazol sentezi	49
Şekil 1.88.	Katı Faz Sentez Yöntemi ile 2-sübstütie-5-karboksi/karbamido benzotiyazol sentezi	49
Şekil 1.89.	2-Amino-4-metilbenzotiyazol sentezi	49
Şekil 1.90.	PPSE	50
Şekil 1.91.	2-(4-Sübstütie fenoksi)metilbenzotiyazol sentezi	50
Şekil 1.92.	2-Amino-6-kloro-4-(trifluorometil)benzotiyazol sentezi	50
Şekil 1.93.	Mikrodalga kullanarak benzotiyazol halkası sentezi	50
Şekil 1.94.	2-(<i>p</i> -Nitrofenil)benzotiyazol sentezi	51
Şekil 1.95.	K ₂ CS ₂ OC ₂ H ₅ ile <i>bis</i> -benzotiyazol türevlerinin sentezi	51
Şekil 1.96.	KSCH ile <i>bis</i> -benzotiyazol türevlerinin sentezi	51
Şekil 1.97.	Katı Faz Sentez Yöntemi ile 2-metilbenzotiyazol türevi bileşiklerin sentezi	52
Şekil 1.98.	Bitienil-1,3-benzotiyazol türevi bileşiklerin sentezi	52
Şekil 1.99.	2-(4-Metoksimetilfenil)-6-karboksibenzotiyazol türevlerinin sentezi	52
Şekil 1.100.	Sıvı Faz Sentez Yöntemi ile 2-(4-metoksikarbonilfenil) benzotiyazol sentezi	53

Şekil 1.101.	Katı Faz Sentez Yöntemi ile 2-(2,5-disübstitüeoksazol-4-il) benzotiyazol sentezi	53
Şekil 1.102.	Tienilpirrolilbenzotiyazol türevlerinin sentezi	54
Şekil 1.103.	2-[4-(4-Sübstitüe-benzamido / fenilasetamido)fenil]-benzotiyazol türevi bileşiklerin sentezi	54
Şekil 1.104.	2-(4-Sübstitüe anilino)-5,6-dimetil/6-sübstitüe benzotiyazol türevlerinin sentezi	55
Şekil 1.105.	2-Tiyazolidinil benzotiyazol türevi bileşiklerin sentezi	55
Şekil 1.106.	2-(Sübstitüe fenil)benzotiyazol türevlerinin sentezi	55
Şekil 1.107.	Rasyonel ilaç etken madde tasarım yöntemleri	56
Şekil 1.108.	Moleküler modelleme teknikleri kullanılarak geliştirilmiş ilaç molekülleri	59
Şekil 1.109.	Elde edilen benzotiyazol türevi bileşikler	62
Şekil 2.1.	Elde edilen benzotiyazol türevi bileşiklerin elde edilış denklemleri	65
Şekil 2.2.	Etakrinik asit (EA) (referans ligand)	71
Şekil 2.3.	EA'nın Arg13 ile yaptığı hidrojen bağı ve Phe8, Val35 ve Tyr108 ile yaptığı hidrofobik etkileşimler	71
Şekil 2.4.	EA bağlanma yöresi	72
Şekil 3.1.	1 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu	74
Şekil 3.2.	1 Nolu Bileşiğin ¹ H-NMR Spektrumu	75
Şekil 3.3.	1 Nolu Bileşiğin ¹³ C-NMR Spektrumu	75
Şekil 3.4.	2 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu	77
Şekil 3.5.	2 Nolu Bileşiğin ¹ H-NMR Spektrumu	78
Şekil 3.6.	2 Nolu Bileşiğin ¹³ C-NMR Spektrumu	78
Şekil 3.7.	3 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu	80
Şekil 3.8.	3 Nolu Bileşiğin ¹ H-NMR Spektrumu	81
Şekil 3.9.	3 Nolu Bileşiğin ¹³ C-NMR Spektrumu	81
Şekil 3.10.	4 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu	83
Şekil 3.11.	4 Nolu Bileşiğin ¹ H-NMR Spektrumu	84
Şekil 3.12.	4 Nolu Bileşiğin ¹³ C-NMR Spektrumu	84
Şekil 3.13.	5 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu	86
Şekil 3.14.	5 Nolu Bileşiğin ¹ H-NMR Spektrumu	87
Şekil 3.15.	5 Nolu Bileşiğin ¹³ C-NMR Spektrumu	87
Şekil 3.16.	6 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu	89
Şekil 3.17.	6 Nolu Bileşiğin ¹ H-NMR Spektrumu	90
Şekil 3.18.	6 Nolu Bileşiğin ¹³ C-NMR Spektrumu	90
Şekil 3.19.	7 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu	92
Şekil 3.20.	7 Nolu Bileşiğin ¹ H-NMR Spektrumu	93
Şekil 3.21.	7 Nolu Bileşiğin ¹³ C-NMR Spektrumu	93
Şekil 3.22.	8 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu	95
Şekil 3.23.	8 Nolu Bileşiğin ¹ H-NMR Spektrumu	96
Şekil 3.24.	8 Nolu Bileşiğin ¹³ C-NMR Spektrumu	96
Şekil 3.25.	9 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu	98
Şekil 3.26.	9 Nolu Bileşiğin ¹ H-NMR Spektrumu	99
Şekil 3.27.	9 Nolu Bileşiğin ¹³ C-NMR Spektrumu	99
Şekil 3.28.	10 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu	101
Şekil 3.29.	10 Nolu Bileşiğin ¹ H-NMR Spektrumu	102
Şekil 3.30.	10 Nolu Bileşiğin ¹³ C-NMR Spektrumu	102
Şekil 3.31.	11 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu	104
Şekil 3.32.	11 Nolu Bileşiğin ¹ H-NMR Spektrumu	105
Şekil 3.33.	11 Nolu Bileşiğin ¹³ C-NMR Spektrumu	105
Şekil 3.34.	12 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu	107
Şekil 3.35.	12 Nolu Bileşiğin ¹ H-NMR Spektrumu	108
Şekil 3.36.	12 Nolu Bileşiğin ¹³ C-NMR Spektrumu	108
Şekil 3.37.	Tüm bileşiklerin üstüste çakışma görünümü	110
Şekil 3.38.	HipHop çalışması sonucu uygun bulunan hipotez (Hipotez 6) [Yeşil renk hidrojen bağı alıcı özelliği (HBA), mavi renk hidrofobik aromatik özelliği (HpAr) ve pembe renk ise hidrofobik özelliği gösterir]	110
Şekil 3.39.	Hipotezin farmakofor özellikleri arası Å cinsinden uzaklıkları ve açıları	

Şekil 3.40.	Test edilen bileşiklerin hipotez 6 ile farmakoforik yörelerinin gösterimi [Yeşil renk hidrojen bağı alıcı özelliği (HBA), mavi renk hidrofobik aromatik özelliği (HpAr) ve pembe renk ise hidrofobik özelliği gösterir]	110
Şekil 3.41.	Farmakofor analizi sonucu elde edilen hipotez 6 üzerinde test edilen tüm bileşiklerin gösterimi	111
Şekil 3.42.	2 Nolu Bileşik için: a. Yüzey Alanı Gösterimi, b. 4 Å çevresindeki aminoasit rezidüleri, c. Etkileştiği aminoasit rezidüleri	112
Şekil 3.43.	2GSS kodlu kristal yapı içindeki EA'in etkileştiği aminoasit rezidüleri	114
Şekil 4.1.	Elde edilen 2-(4'-bromo/metil/nitrobenzamido)-4/6-süstitüe benzotiyazol türevi bileşiklerin elde ediliş denklemleri	116
Şekil 4.2.	Elde edilen 2-(4'-bromo-N'-benzhidrazido)benzotiyazol türevi bileşiklerin elde ediliş denklemleri	116
Şekil 4.3.	Farmakofor analizi sonucu elde edilen hipotez 6 üzerinde test edilen tüm bileşiklerin gösterimi	118
Şekil 4.4.	a. 2 nolu bileşiğin doking pozu, b. 2GSS kodlu kristal yapı içindeki EA'in etkileştiği aminoasit rezidüleri	118



ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	Antikanser ilaçlara direnç gelişiminin olası mekanizmaları	2
Çizelge 2.1.	Elde edilen benzotiyazol türevi bileşikler	66
Çizelge 3.1.	Elde edilen bileşiklerin ve kullanılan referansın gözlenen <i>in vitro</i> hGST P1-1 enzim inhibitör etkileri ve IC ₅₀ değerleri (μM)	109
Çizelge 3.2.	HipHop farmakofor çalışmasında kullanılan ve elde edilen değerler	113
Çizelge 3.3.	En etkili 2 nolu bileşiğin bağlanma enerjisi ve 4 Å çevresinde etkileştiği aminoasit rezidüleri	113
Çizelge 4.1.	Elde edilen bileşiklerin ve kullanılan referansın gözlenen <i>in vitro</i> GST P1-1 enzim inhibitör etkileri ve IC ₅₀ değerleri (μM)	117

1. GİRİŞ

Günümüzde gelişmiş ülkelerin ölüm istatistiklerinde kalp-damar hastalıklarının ardından ikinci sırada yer alan kanser, hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması ve invazif özellik kazanarak metastaz yapması ile kendini gösteren ölümcül bir hastalıktır. Kanser nedeniyle dünyada ve ülkemizde ölüm oranları yükselmekle birlikte, tedavi maliyetleri de her geçen gün endişe verici şekilde artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre, 2012 yılında dünyada 14 milyon yeni kanser vakası görüldüğü ve kanser sebepli ölüm sayısı 8,2 milyon iken, 2030 yılında bu sayının 22 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir (WHO, 2012). Kanser tedavisi günümüzde üç tedavi şeklinin kombinasyonu olarak uygulanmaktadır. Bu tedavi şekilleri sırasıyla tümörlü doku veya organın uzaklaştırılmasını amaçlayan cerrahi, kanser hücrelerinin öldürülmesini amaçlayan kemoterapi ve radyoterapidir (Gate ve Tew, 2001; Tozkoparan ve Aytaç, 2007 ve Türker ve Kayaalp, 2002).

Antikanser ilaçların birçoğu sitotoksik etkileri sebebiyle malign hücrelerin büyüme ve çoğalmalarını önlerler ve onları apoptoz (programlı hücre ölümü)'a götürürler. Radikal bir tedavi, vücutta tek bir malign hücre kalmaksızın, tüm hücrelerin yok edilmesi ile mümkündür. Ancak bu durum, bazı istisnalar dışında, halihazırda varolan ilaçlarla sağlanamamaktadır. Bu ilaçlara karşı oluşan direnç gelişimi, yani tümör hücrelerinin ilaca azalmış hassasiyeti, terapötik etkinliği kısıtlayan önemli bir faktördür. Bazı kanser türlerinde, bu durum kendiliğinden gelişirken (primer veya doğal direnç), bazı türlerde kemoterapiden sonra da gelişebilmektedir (sekonder veya kazanılmış direnç) (Gate ve Tew, 2001).

1.1. Antikanser Direnç Mekanizmaları

Çoklu ilaç direnci (MDR); kanser hücrelerinde yapısal ve mekanistik olarak birbirleriyle ilgisiz olduğu görülen çeşitli antikanser ilaçlara eşzamanlı olarak direnç gelişimidir (Doyle ve Ross, 2003). Bu terim ilk kez antibiyotik dirençli enfeksiyonlarda, daha sonra kanser kemoterapisinde kullanılmıştır (Baguley, 2010).

Kemoterapi, kanser tedavisinde uygulanan en yaygın ve etkili yöntemdir. Ancak gerek tedavi süresince gerekse tedavi sonrasında olumlu yanıt alınamaması önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Kanser tedavisinde başarıya ulaşmak için genellikle kombine ilaç uygulamasına gidilmekte, ancak tedavi öncesi kişide var olan ya da sonradan kazanılmış ilaç direnci, kemoterapide başarıya ulaşmayı büyük ölçüde engellemektedir. İlaç dozları artırıldığı zaman ise hastalarda yan etkiler açığa çıkmakta ve tedavi giderek zorlaşmaktadır. İlaç direncini ortadan kaldırmak ve tedavinin etkinliğini artırmak için birçok çalışma yapılmaktadır (Aksoy, 2010).

MDR'nin gelişimi; kolon, böbrek ve meme kanserleri, lösemiler, multiple myeloma ve pediatrik kanserler dahil birçok kanserin kemoterapötik tedavisinde önemli bir engeldir. Dirençli tümörlerin; vinka alkaloidleri, antrasiklinler, epipodofilotoksinler ve taksanlar gibi, yapısal benzerlik içermeyen sitotoksik ilaçlara çapraz direnç gösterdiği bulunmuştur. MDR araştırması, *in vitro* ilaç direnci için seçilen hücre dizilerinin kullanılmasıyla büyük ölçüde desteklenmiştir (Sharom, 1997).

Kemoterapötik ajanlara karşı gözlenen direnç gelişimi nedeniyle, kanser hastalarının küratif tedavilerinin başarısızlığı sık sık rastlanan bir durumdur. Direnç gelişimi tek bir ilaca karşı değil; yapısı ve hücresel hedefi farklı olan ilaçlara da çapraz direnç olarak gelişebilmektedir (Özben, 2006). Antikanser ilaçlara karşı kanser hücrelerinin direnç geliştirmesinde çeşitli mekanizmalar mevcuttur (Çizelge 1.1.) (Tozkoparan ve Aytaç, 2007 ve Young ve ark., 2003).

Çizelge 1.1. Antikanser ilaçlara direnç gelişiminin olası mekanizmaları

Azalmış İlaç Birikimi	İlacın Etkinliğinin Değişimi	Hücre İçi İlaç Metabolizmasının Değişimi
- Hücre yüzeyinde ilacın spesifik olduğu reseptörlerin veya taşıyıcılarının kaybı - Membran lipidlerinde değişiklik - İlacın hücre dışına atılmasını sağlayan taşıyıcıların ve/veya çoklu ilaç direnci proteininin (MRP) aşırı ekspresyonu	- Hücresel hedeflerdeki değişiklikler - İlaçla oluşan hasarın iyileşmesinde artış veya tolerans gelişmesi - Apoptotik ve antiapoptotik genlerin ekspresyon düzeylerindeki değişim	- İlacın biyoaktivasyonunda azalma - Metabolik enzimlerin fazla salgılanması sonucu ilacın inaktivasyonunda artma - Hücresel ilaç detoksifikasyonunda artış (Hücre içi GSH ve GST konsantrasyonlarında artış)

Bu direnç mekanizmaları içerisinde yer alan glutatyon S-transferazların (GST) ilaç direnci üzerindeki rolünü ise iki şekilde açıklamak mümkündür:

- a. Enzimin ve ilaç direnci proteinlerinin ekspresyonlarındaki ortak artış,
- b. Enzimin sinyal iletimindeki rolü.

1.1.1. Glutatyon S-Transferazlar (GST)

Glutatyon transferazlar çok sayıda gen lokusundan sentezlenen dimerik yapıda enzimlerdir. Glutatyon transferazlar, geçmişten bu yana, kullanılan adıyla glutatyon S-transferazlar (GST), ekzojen ve endojen kaynaklı, elektrofilik bileşiklerin glutatyon (GSH) ile konjugasyonunu sağlayarak, genellikle daha kolay atılabilen ve daha az toksik metabolitlere dönüşümünü katalizleyen Faz II detoksifikasyon enzim ailesinin bir üyesidir (Armstrong, 1987).

Doğada glutatyon S-transferaz aktivitesi gösteren enzimler, mitokondriyal, mikrozomal ve sitozolik olmak üzere üç alt gruptan oluşmaktadır (Jakobsson ve ark., 1999 ve Mathew ve ark., 2006). Bu gruplardan, memelilerdeki sitozolik GST enzimleri, kimyasal özellikleri, immünolojik reaktiviteleri ve aminoasit diziliş benzerliklerine göre alfa (α), zeta (ζ), teta (θ), pi (π), mü (μ), sigma (σ) ve omega (ω) olarak 7 alt gruba ayrılırlar (Armstrong, 1997). GST enzimleri yapısal olarak birbirlerine belli bir açıyla konumlanmış homodimerik proteinler olup, herbir altbirimi yaklaşık olarak 24 ila 29 kDa moleküler ağırlığında ve yaklaşık olarak da 210 amino asit uzunluğundadır. Sınıflar arası dizi benzerliği % 30'un altında bile olsa, hepsi yapıca benzerdir ve benzer protein katlanmalarına sahiptirler. Enzim, korunumlu dizileri içeren GSH bağlama bölgesi (G bölgesi) ve farklı substratları bağlayabilen hidrofobik bölge (H bölgesi) olmak üzere iki bölge içermektedir (Raghunathan ve ark., 1994; Reinemer ve ark., 1991 ve Sinning ve ark., 1993). Herbir alt birimde de iki domain bulunmaktadır. Yaklaşık 80 rezidü uzunluktaki N-terminal domaininde α/β yapısal birimleri hakimdir. Bu domain tiyoredoksin bağlama bölgesi olarak da bilinen ve sistein amino asidini bağlama özelliği olan $\beta\alpha\beta\alpha\beta\alpha$ yapısal motifini içermektedir. Tüm GST sınıflarında bu domain dizileri GSH'ı spesifik olarak bağlamak için

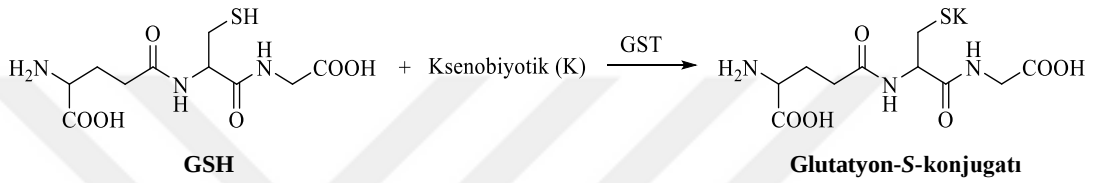
korunmuşlardır. C-terminal domain ise tamamen α -helikal yapılardan oluşmaktadır. Hidrofobik bağlanma bölgesi (H bölgesi) iki domain arasında olup, çoğu hidrofobik bileşik bu bölge ile etkileşmektedir (Armstrong, 1997 ve Oakley, 2011).

GST enzimleri üç ana fonksiyon gösterirler. Bunlardan ilki detoksifikasyondur. GST, organizmaya zarar veren pek çok ksenobiyotik ve endobiyotik detoksifikasyonunda işlev görmektedir (Strange ve ark., 2001). Detoksifikasyonda GST'ler konjugasyon ve indirgemeye dayalı reaksiyonlarda rol alırlar. GST'ler elektrofilik merkez içeren çok sayıda hidrofobik ksenobiyotik endojen bir tripeptit olan GSH (γ -L-glutamyl-L-sisteinilglisin) ile konjugasyonunu katalizlerler. İkinci ana fonksiyon bazı endojen ve ekzojen kaynaklı maddeleri katalitik olmayan yolla bağlayarak bunların hücre içinde taşınımını sağlamaktır. Bazı GST enzimleri substratı olmayan polisiklik aromatik hidrokarbonlar, deksametazon gibi birçok hidrofobik ksenobiyotik ve hemoglobin ve bilirubin gibi endojen maddeleri doğrudan bağlayabilmektedirler. Böylece bu endojen maddelerin iletiminde de rol almaktadırlar. GST'lerin üçüncü fonksiyonu ise, ksenobiyotiklerin organa özgü toksisitelerinin oluşumundaki rolleridir (Mannervik, 1985).

GST enzimlerinin temel görevlerinden biri hücreyi oksidatif stresin neden olduğu zararlara karşı korumaktır. Böylece ksenobiyotiklere karşı hücrenin en önemli savunma mekanizması oluşmaktadır. Ksenobiyotik metabolizmasında GSH'un rolü; Faz I enzimleri tarafından oluşturulan metabolitlerin GSH ile konjugasyona girmesi sonucunda hücre makromolekülleri (DNA, RNA, protein) ile bağlanmasını önleyerek hücre hasarını engellemektir. GSH eksikliğinde, ksenobiyotik metabolitleri, bir proteine bağlanarak onu değişikliğe uğrattırıp antijenik özelliğini değiştirebilir ve bir hapten yani tek başına antikor sentezini uyarmayan bir molekül gibi davranıp, antikorla birleşerek hücreyi hasara götürebilir (Board ve ark., 1990).

Bazı aromatik hidrokarbonlar (naftalin gibi), halojenli aromatik hidrokarbonlar, halojenli nitrobenzenlerin L-asetilsistein konjugatları (merkapturik asitler) şeklinde safra ile atılır. Bu konjugasyonda sistein, indirgenmiş GSH'dan gelmektedir. Tiyol grubu taşıyan bir tripeptid olan GSH elektrofilik karbon atomu içeren kimyasal

maddelerle tiyoeter bağı oluşturur. Bu tiyoeter bağı, karbon atomu ile GSH'nin sülfhidril grubu arasında oluşur. Bu şekilde aktif substrat (kimyasal madde), GST enzimlerinin katalizörlüğü ile gerçekleşir ve polar tiyoeter yapısında bir konjugat oluşur (Şekil 1.1.). Oluşan GSH türevleri enzimatik olarak sistein türevlerine dönüşür. Bu türevler de asetillenerek *N*-asetilsistein (merkapturik asitler) türevleri oluşur (Vural, 2005, s:71-74). Böylece organizma reaktif bileşiklere karşı korunur. GST enzimi, aynı zamanda pestisitlerin, çevresel kirleticilerin, oksidatif stres ürünlerinin ve kemoterapötik ilaçların detoksifikasyonunda da yer alır (Tuna, 2008).



Şekil 1.1. GSH'un ksenobiyotiklerle GST katalizli reaksiyonu

Bu fonksiyonlarının dışında GST enziminin bir başka fonksiyonu da özellikle kemoterapötik ilaçlara karşı direnç gelişmesine neden olmasıdır. Bu durum, klinikte çoklu ilaç direnci (MDR) olarak adlandırılmaktadır ve günümüzde kanser tedavisinde en büyük engeli oluşturmaktadır. Bu direnç gelişimi, ilaca karşı permeabilitenin değişmesi ve hücrede GSH ile GST enzim seviyelerinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir (Townsend ve Tew, 2003). Bu bilgilere ilave olarak son yıllarda yapılan çalışmalar, π ve μ sınıfı GST enzimlerinin, hücresel yaşam ve ölüm sinyal iletimine katılan mitojenle aktive edilmiş protein kinaz (MAP kinaz) yolağındaki düzenleyici rolünün de kemoterapötik ilaçlara direnç gelişmesinde etkili olduğunu göstermiştir (Adler ve ark., 1999). Bu nedenlerle kemoterapide, geleneksel kanser ilaçlarının (alkilleyici ajanlar) etkinliğinin düzenlenmesinde, GST enzim inhibitörlerinin kullanımının faydalı olabileceği düşüncesi doğmuştur. Bu amaçla, bu sistemi hedef alan çeşitli bileşikler geliştirilmiş ve hem deneysel olarak, hem de klinikte denenmiştir (Mahajan ve Atkins, 2005). Bunun dışında kemoterapötik bileşiklere karşı gelişen direncin ortadan kalkmasındaki yeni tedavi yaklaşımlarından bir diğeri de, tümör hücrelerinde artmış seviyelerde salgılandığı bildirilen GST enzimlerinden, özellikle GST P [π (pi)] izoziminden terapötik amaçla yararlanılmasıdır. Bu yaklaşım, tümör hücrelerinde

yüksek seviyelerde bulunan inaktif enzimler ile spesifik olarak toksinlerine dönüşen ön ilaçların uygulanması tekniğini içermektedir (Dang ve ark., 2005; Mahajan ve Atkins, 2005 ve Townsend ve Tew, 2003).

Kanserojenlerle ve kemoterapötik ajanlarla etkileşimlerinden dolayı, GST'ler kanserle mücadele açısından önem taşımaktadır. GST'ler antiastmatik ve antitümör ilaçların hedefi halindedir (Matshushita ve ark., 1998). GST enziminin memelilerin tümör hücrelerinde aşırı miktarda ekspresyonu bazı antikanser ilaçlara ve kimyasal karsinojenlere karşı direnç oluşmasına sebep olmaktadır. GST'ler tarafından detoksifiye edilen kemoterapötik ilaçlar şunlardır; adriamisin, 1,3-bis(2-kloroetil)-1-nitrozüre (BCNU), busulfan, karmustin, klorambusil, sispaltin, krotoniloksimetil-2-siklohekzenon (COMC-6), siklofosfamid, etakrinik asit (EA), melfalan, mitozantron ve tiyotepadır (Tuna, 2008).

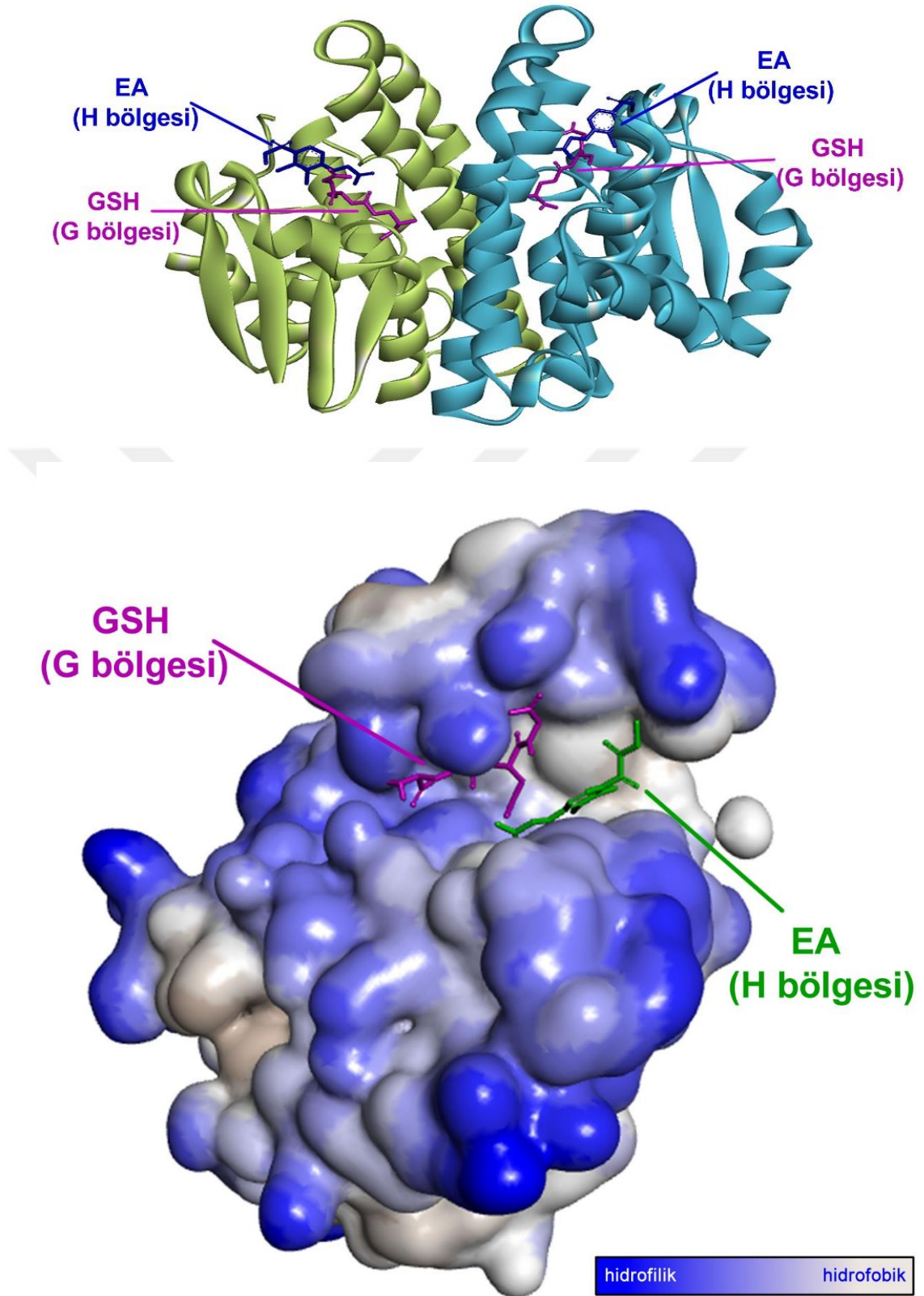
GST enzimleri, enzimin ve ilaç direnci proteinlerinin ekspresyonlarındaki artışla da ilaç direnci oluşturabilirler (Aksoy, 2010). GSH, hücre içinde en fazla bulunan ve tiyol grubu içeren bir tripeptiddir (Aksoy, 2002). Tümör hücresine antikanser ajanın girmesiyle birlikte hücre içinde GSH düzeyinde ve GST enziminin ekspresyonunda artış olmaktadır (Sau ve ark., 2010). Enzim, GSH'un ksenobiyotikler (antikanser ilaçlar) ile konjugasyonunu kataliz ederek çeşitli pompalar aracılığı ile dışarı atılmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, artan GST enzim etkinliği ile birlikte ilacın hücre içinde uzun süre kalması zorlaşmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, tümör hücrelerinde GSH'ın yüksek düzeylere ulaşmasının ve GST'nin aşırı ekspresyonunun MDR gelişimiyle paralel gittiği yönündedir. Meme, akciğer, kolon, pankreas kanserlerinde gelişen ilaç direncinin, hGST P1-1 ekspresyonu ile doğrudan ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Coles ve Ketterer, 1990; Fournier ve ark., 1992 ve Piccolomini ve ark., 1989).

1.1.1.1. İnsan Glutatyon S-Transferaz pi1-1 Enzimi (hGST P1-1)

Sitozolik GST enzimleri içinde ilk belirlenen yapı domuz pi sınıfı enzimi (pGSTP1-1) olmuştur. Bu izozim, sitozolik GST süper-ailesi üyelerinin gösterdiği özellikleri taşımaktadır ve diğer izozimlerde N-terminal tiyoredoksin benzeri bölge ($\beta\alpha\beta\alpha\beta\alpha$ topolojisi ile) ve α -helikslerden oluşmuş C-terminal bölge arasındaki farklılıkların karşılaştırılmasına olanak sunmaktadır (Reinemer, 1991). hGST pi sınıfı, yaklaşık 3 kb (kilo baz çifti) genişliğinde tekli bir gen tarafından kodlanan ve 11q13 kromozomunda yerleşmiştir (Cowell ve ark., 1988). hGST P1-1 genotipin, yumurtalık, testis, akciğer, böbrek, meme, kolon, pankreas ve lenfoma gibi tümörlerde aşırı ekspresyonu rapor edilmiştir (Federici ve ark., 2009 ve Tew, 1994).

Sitozolik GST enzimlerin her bir altünitesi, yaklaşık 25 kDa ağırlığında, 211 aminoasit ve iki farklı fonksiyonel aktif bölgeye sahip olan homodimerik proteinlerdir. Şekil 1.2.'de, G bölgesi içerisinde GSH (pembe), H bölgesi içerisinde ise EA (mavi) görülmektedir (PDB kodu: 2GSS veya 6GSS) (Oakley ve ark., 1997a ve 1997b). Bu iki farklı fonksiyonel bölge, fizyolojik substrat olan GSH'ü bağlayan hidrofilik G bölgesi ile yapısal olarak farklı elektrofilik substratları bağlayan hidrofobik H bölgesidir. GST izozimlerinin, özellikle H bölgesi aminoasit dizilişinin farklılık göstermesi, enzim ailesinin substrat çeşitliliğine neden olmaktadır (Armstrong, 1997).

Mutajen-aktive eden protein (MAP) kinaz yolağını protein-protein ilişkisi yoluyla düzenleyen hGST P1-1, apoptoz ve proliferasyonda rol alan ve MAP kinazlardan biri olan JNK-1'in endojen inhibitörü olarak davranmaktadır (Adler ve ark., 1999). JNK (c-Jun N-terminal kinaz) apoptoz yolağında anahtar enzim olarak görev yapmaktadır (Tozkoparan ve Aytaç, 2007). Stres altında olmayan hücrelerde oluşan hGST P1-1-JNK heterokompleksi sayesinde apoptotik sinyal baskı altında tutulmaktadır. Bununla beraber oksidatif stres altında bu karmaşık yapının birbirinden ayrılması ve hGST P1-1 oligomerizasyonu apoptoz indüklenmektedir (Aksoy, 2010). Bu nedenle pek çok antikanser bileşik, MAP-kinaz yollarını, özellikle p38 yollarını harekete geçirerek apoptoza sebep olmak üzere tasarlanmıştır (Tozkoparan ve Aytaç, 2007). Ayrıca söz konusu olan iki proteinin birbirinden ayrılması farklı



Şekil 1.2. Dimerik hGST P1-1 enziminin kristal yapısı (üstte) ve hidroforik yüzey alanı görünümü (altta)

mekanizmaları da beraberinde getirmekte ve ilaç tedavisi sırasında birçok tümör hücresinde artan GST ekspresyonu hücrenin akıbetini değiştirmektedir. Artan GST ile birlikte JNK üzerindeki baskının kalkması da zorlaşmaktadır (Aksoy, 2010). GST P artmış GSH ve GST seviyelerinin kemoterapide bu sistemle metabolize olan pek çok ilacın (adriamisin, klorambusil, melfalan ve nitrojen mustard gibi) metabolizmasını hızlandırarak, ilaca kazanılmış direnç gelişimi sebebiyle ilaçla hedeflenen etkiye ulaşamamasına neden olduğu görülmüştür (O'Brien ve Tew, 1996). Bu nedenle antineoplastik ajanların sitotoksik etkilerini artırmak ve antikanser ilaçlara hücrel direnci düzenlemek için spesifik GST inhibitörleri geliştirilmektedir (Aksoy, 2010). Ayrıca, hGST P1-1 enziminin, 13-*cis*-retinoik asitin, "Tretinoin" adıyla antikanser ilaç olarak kullanılan all-*trans*-retinoik asite (ATRA) izomerasyonunu katalizlediğini göstermiştir. Serbest GSH'un bu izomerasyonundan beri -ki bu izomerasyon rapor edilen GST enzimleri için çoğu izomerasyon reaksiyonundan farklıdır- genel olarak GSH'un gerekliliği ortaya çıkmıştır (Nagpal ve Chandraratna, 1996; Sheehan ve ark., 2001).

Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) İlaç Tarama Programı kapsamında yapılan taramada kullanılan 60 tümör hücre dizisinin hemen hemen hepsinde hGST P1-1'in dominant izozim olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, farklı kanser tiplerinde sitostatik ilaçlara karşı gelişen klinik direnç için önemli bir bulgu olarak kullanılmaktadır (Aksoy, 2010).

1.1.1.2. hGST P1-1 İnhibitörleri

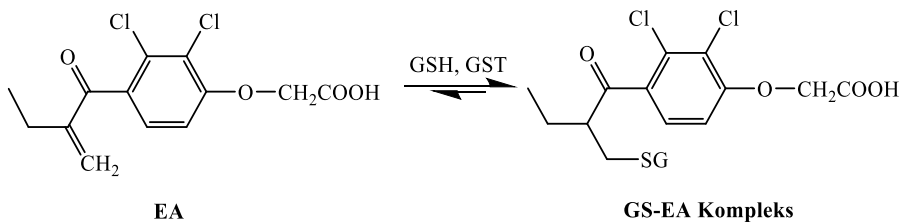
Enzim inhibisyonu, bir enzim veya enzim sisteminin *in vivo* veya *in vitro* olarak ekzojen bir substratı metabolize etme kapasitesinin azalması olarak tanımlanmaktadır ve enzim aktivitesini azaltan veya yok eden her mekanizma bir inhibisyon içermektedir. Bu nedenle enzim inhibitörü olan kimyasal maddeler, enzim biyosentezini azaltarak; enzim veya kofaktörlerini parçalayarak; enzim konformasyonunda allosterik değişimler yaparak veya enzimle ilgili doku fonksiyonunu bozarak etkilerini gösterirler (Vural, 2005, s:91).

GST inhibitörü bileşikler, GST enzimini geri dönüşsüz ve kompetitif inhibisyon yollarıyla inhibe etmektedirler. İntihar inhibitörü bileşikler, glutatyona kovalan bir şekilde bağlanarak geri dönüşsüz bir inhibisyona sebep olurlar. Kompetitif inhibitörler, glutatyon yapısında olan ve glutatyon yapısında olmayan inhibitörler olarak iki kategori altında incelenmektedir. Glutatyon temelli olan inhibitörler, anayapıları GSH olan ve bazı isosterik modifikasyonlarla türevlendirilmiş bileşiklerdir. Glutatyon temelli olmayan bileşikler ise, trisiklik antidepresanlar, *Streptomyces* sp.'den izole edilen polifenolik doğal ürünler, antimalaryal kinin ve kinidin türevi alkaloitler ile boya ve boya temelli antrakinon analogu bileşikleri içerir (Morales ve Laborde, 2007).

Bu bileşiklerin dışında, GST P1-1 enziminin katalitik fonksiyonunun inhibe edilmesinden başka, GST P1-1 enzimi ile parçalanarak aktive olan, yani antikanser etkiden sorumlu olan moleküllerin salınımını sağlayan ön ilaçlar da sentezlenmiştir. Bu ilaç grupları nitrik oksit donörü, pürin analogu ve TLK-286 gibi GSH benzeri bileşiklerdir (Morales ve Laborde, 2007 ve Tozkoparan ve Aytaç, 2007).

1.1.1.2.1. Geri Dönüşsüz İnhibitörler

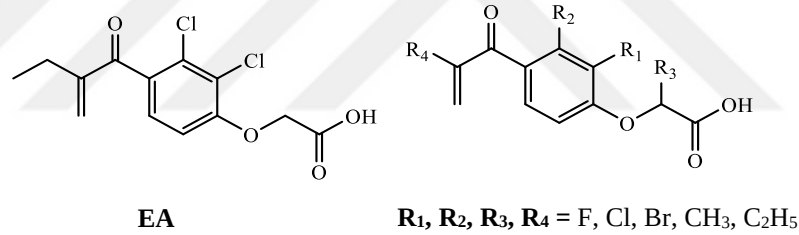
İntihar inhibitörü bileşikler glutatyona kovalan bir şekilde bağlanırlar. Böylece oluşan tiyoeter eklentileri enzimin aktif yöresinde stabilize olur. 1968 yılında diüretik olarak kullanıma sunulan EA, GST inhibitörü olarak incelenen ilk bileşiktir (Tew ve ark., 1988; Tozkoparan ve Aytaç, 2007 ve Wang ve ark., 2009). Bu bileşik, GSH'nin tiyol grubuna "Micheal eklemesi" konjugasyonu yoluyla bağlanıp (Şekil 1.3.), GSH'ı tüketmesinin yanı sıra, substrat bağlanma bölgesi (H bölgesi)'ne direkt olarak bağlanarak, GST A, M ve P'nin inhibe edilmesinden sorumludur (Chen ve ark., 2013; Mathew ve ark., 2006 ve Oakley ve ark., 1997c).



Şekil 1.3. GS-EA kompleks oluşumu

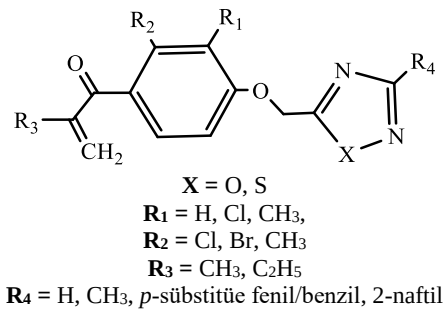
Ayrıca EA yüksek konsantrasyonlarda tümör hücresi büyümesini de inhibe eder, EA'nın GST P1-1'i inhibe etmesinin taşıdığı α,β -doymamış-karbonil grubundan kaynaklandığı tespit edilmiştir (Yang ve ark., 2010).

Fenil halkası üzerinde ikili sübstitüsyonlar yapılarak etakrinik asit türevleri elde edilmiş ve tümörlü hücre büyüme inhibisyon etkisi ile GST P1-1 inhibisyon etkisi korunmuştur (Şekil 1.4.). Bu bileşiklerin insan lösemi hücrelerinin lizatında (HL-60 hücreleri) GST P üzerine etkisi, EA referans alınarak incelenmiştir. EA'nın üç nolu konumundaki klor yerine flor, brom veya metil taşıyan türevlerinde de GST P1-1 enzim inhibitör etkisinin devam etmesi, bu konumun sübstitüsyonunun etki açısından önemli olduğunu düşündürmüştür (Zhao ve ark., 2005). Ayrıca EA bütıl esterı gibi çeşitli esterleri hazırlanmış ve bu türevlerde de hücre büyüme inhibitörü etki anlamlı olarak artış göstermiştir. Ancak bu esterler *in vivo* ortamda stabil değildir ve hemen EA'e metabolize olurlar. Bu da istenen etkiyi sağlamada sorun oluşturmaktadır (Yang ve ark., 2010).



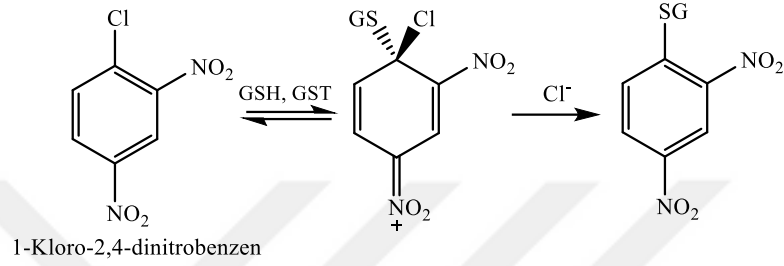
Şekil 1.4. Etakrinik asit ve türevleri

Bu bileşiklerden hareketle biyoizosterizm prensibine göre oksadiazol ve tiyadiazol halkası içeren özgün EA türevi bileşikler tasarlanmış ve sentezlenmiştir (Şekil 1.5.). Bu bileşiklerin HL-60 hücre lizatlarında GST P1-1 inhibe edici etkileri ve HL-60 hücrelerini koruduğu saptanmıştır (Li ve ark., 2012 ve Yang ve ark., 2010).

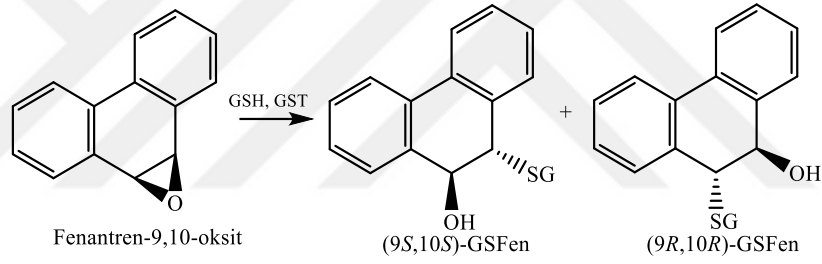


Şekil 1.5. Oksadiazol ve tiyadiazol halkası taşıyan etakrinik asit türevi bileşikler

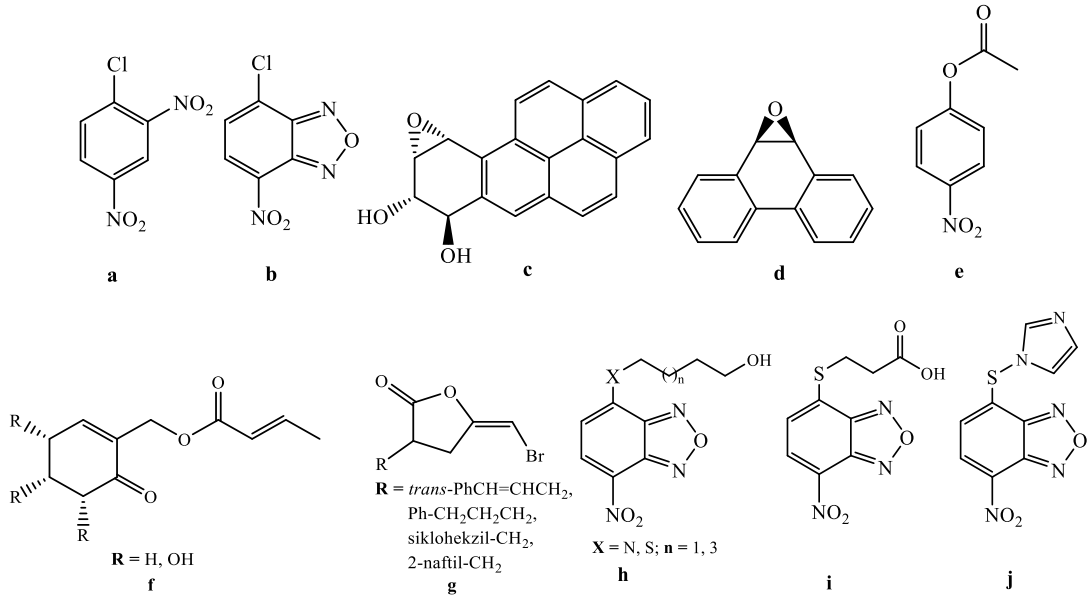
Michael eklemesi dışında nükleofilik aromatik sübstütüsyon (Şekil 1.6.), nükleofilik adisyon (Şekil 1.7.) reaksiyonları (Meisenheimer Kompleksi) ile de glutatyon ile konjugasyon oluşumu gözlenmektedir (Mathew ve ark., 2006). Bu reaksiyonlar ile etki gösteren intihar inhibitörlerine örnek olarak; 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB, a) aromatik sistemler (b), epoksitler (c ve d), esterler (e), sikloalkenonlar (f), haloenol laktonlar (g), 7-nitro-2,1,3-benzoksadiazol tiyoeterler (h, i ve j) verilebilir (Şekil 1.8.) (Morales ve Laborde, 2007).



Şekil 1.6. Nükleofilik aromatik sübstütüsyon reaksiyonuyla GSH ile konjugat oluşumu

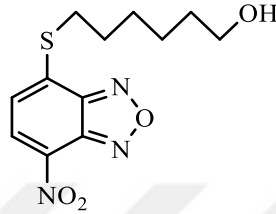


Şekil 1.7. Nükleofilik adisyon reaksiyonuyla GSH ile konjugat oluşumu



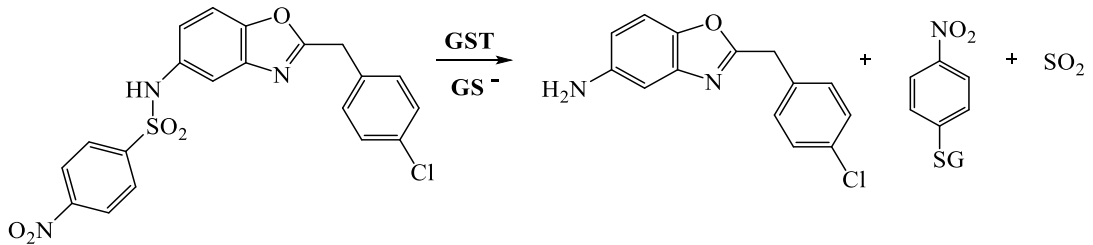
Şekil 1.8. Geri dönüşüz inhibitör örnekleri

Yapılan bir çalışmada, 6-[(7-nitro-2,1,3-benzoksadiazol-4-il)tiyo]heksanol (NBDHEX) (Şekil 1.9.) bileşiğinin özellikle GST P1-1 izoenzimine karşı etkili bir inhibitör olduğu bildirilmiştir (Ascione ve ark., 2009; Federici ve ark., 2009 ve Turella ve ark., 2006). GSH ile 4. konumdan konjugasyon yaparken, GST'e H bölgesinden bağlanarak inhibisyon yapmaktadır. Bu bileşik diğer NBD türevleri arasında GST P1-1'e karşı en düşük IC₅₀ değerine sahiptir (Federici ve ark., 2009; Mathew ve ark., 2006).



Şekil 1.9. NBDHEX

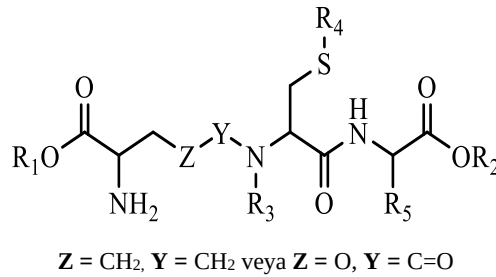
Ayrıca son yıllarda benzazol türevleri üzerinde yapılan çalışmalara göre test edilen bileşiklerin GST P1-1 enzimine karşı anlamlı inhibitör etki gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre, Bileşik 18 adı ile yayımlanan *N*-[2-(4-kloro-benzil)benzoksazol-5-il]-4-nitrobenzensülfonamit (Şekil 1.10.), test edilen bileşikler arasında en potent inhibitör olarak değerlendirilmiştir. Bu bileşiğin substrat olarak 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) (Şekil 1.8.a) kullanılan deney sistemi içinde yaklaşık olarak 10 µM IC₅₀ değeri ile GST P1-1'i inhibe ettiği ve referans ilaç olarak kullanılan EA ile eşdeğer düzeyde etki gösterdiği rapor edilmiştir (Musdal ve ark., 2012). Ayrıca mekanizma aydınlatma çalışmaları sonucunda da, bileşiğin GST P1-1 enzimine H bölgesinden bağlanarak GSH ile konjugasyon yaptığı ve sülfonamit grubunun hidrolizinin gerçekleştiği bildirilmiştir (Ertan-Bolelli ve ark., 2014).



Şekil 1.10. Bileşik 18'in GSH ile verdiği reaksiyon

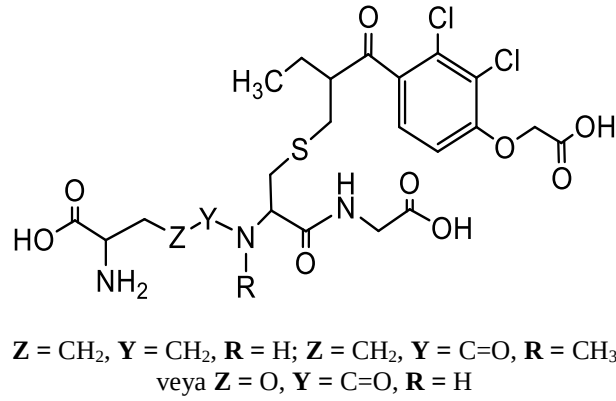
1.1.1.2.2. Glutasyon Yapısındaki İnhibitörler

GSH konjugatları, yaygın olarak *in vitro* ortamda iyi GST inhibitörü aktivitesi gösteren ilaçlardır (Burg ve ark., 2006). Ancak GSH konjugatlarının bilinen bir dezavantajı, konjugatların inhibitör etkisinin kaybıyla sonuçlanan peptidaz–aracılı bozulmalara karşı olan hassasiyetidir (Mathew ve ark., 2006). GSH konjugatlarındaki γ -glutamil-sistein peptid bağı, γ -glutamil-transpeptidaz (γ -GT) enzimine karşı hassastır ve bunun sonucunda γ -glutamil-transpeptidazlar tarafından hızlı bir şekilde degrade olurlar. Özellikle böbrekte yüksek aktiviteye sahip bu enzimatik bölünme GSH konjugatlarının *in vivo* olarak terapötik amaçlı kullanımına engel olur. Ancak, son zamanlarda bu nedenle peptidomimetik özellik gösteren γ -GT aracılı bozulmaya karşı stabil yeni bir GSH konjugatı analog serisi sentezlenmiştir (Burg ve ark., 2002). Bu seriden 2 çeşit bileşik grubunun (Şekil 1.11.) GST P1-1 inhibitörü olduğu gösterilmiştir (Burg ve Mulder, 2004). Bu tür inhibisyon, kansere karşı tedavide yararlı etkiler sağlamaktadır. Özellikle R₃'ün H, R₄'ün benzil ve R₅'in fenil olduğu bileşikler GST P1-1 için selektif ve γ GT aktivitesine karşı stabildir (Burg ve Mulder, 2004 ve Mathew ve ark., 2006).



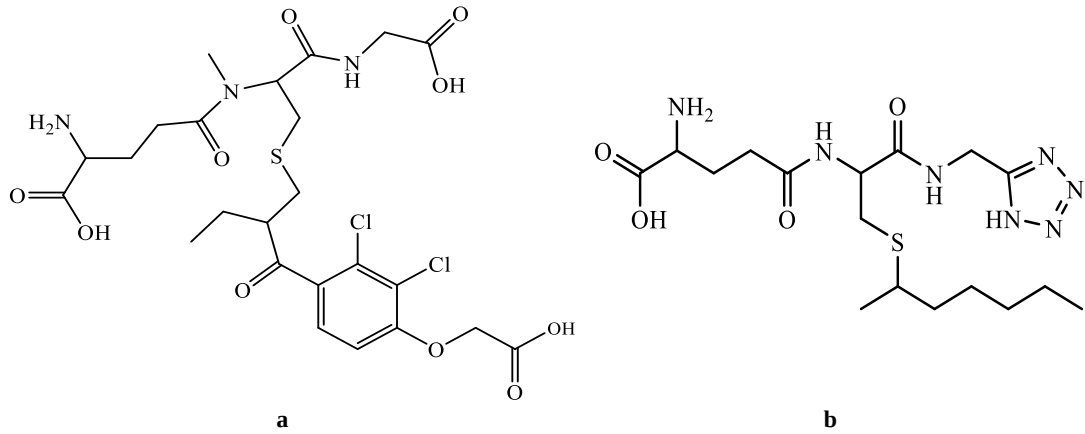
Şekil 1.11. GSH analogu olan peptidomimetik bileşikler

GS-R konjugatları ve onun analoglarının yapısında bulunan GSH tripeptidi klinik kullanımda bazı sorunlar ortaya çıkarmıştır. Özellikle yapının peptid kısmı biyolojik instabiliteye, peptidazlar tarafından degradasyona ve izoform non-selektiviteye öncülük etmektedir (Mahajan ve Atkins, 2005). Bu nedenle tripeptid yapısında modifikasyon yapılarak yeni GSH analoglarının sentezi gündeme gelmiştir. Yapılan bir çalışmada, molekülde yaptıkları modifikasyonlarla EA-GSH bileşiğine göre γ -glutamil transpeptidaz enzimine daha dayanıklı olan bileşikler geliştirilmiştir (Şekil 1.12.) (Burg ve ark., 2006).



Şekil 1.12. γ -Glutamil transpeptidaz enzimine daha dayanıklı olan bileşikler

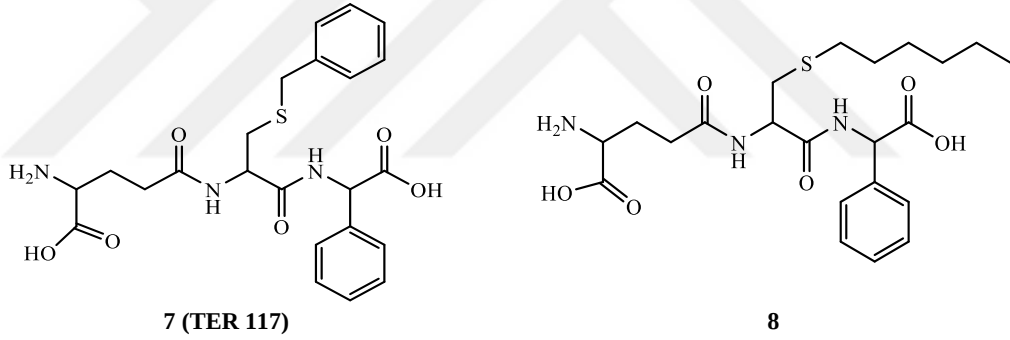
Şekil 1.12'deki bileşikler EA veya uzun zincirli alkil grupları gibi sülfidril grubu hidrofobik gruba bağlanmış ve GSH parçası modifiye edilmiş peptidomimetik GSH analoglarıdır. *N*-metillenmiş amit (Şekil 1.13.a) ve glisin isosteri tetrazol (Şekil 1.13.b) kullanımı, peptid bağını peptidazlar tarafından parçalanmaya karşı daha dirençli hale getirmektedir (Burg ve ark., 2002 ve Mathew ve ark., 2006). Bu bileşik ve analoglarının çoğu, insan ve sıçan GST enzimleri için potent bir inhibitör olarak bulunmuş olsa da bileşiklerde *in vitro* izozim seçiciliğinin sağlanamamış olması, araştırmacıları, bu grup üzerinde de GST P enzimini seçici olarak inhibe edilebilecek moleküler modifikasyonlar yapmaya yöneltmiştir (Mathew ve ark., 2006 ve Tozkoparan ve Aytaç, 2007).



Şekil 1.13. Peptidomimetik GSH analogu bileşikler

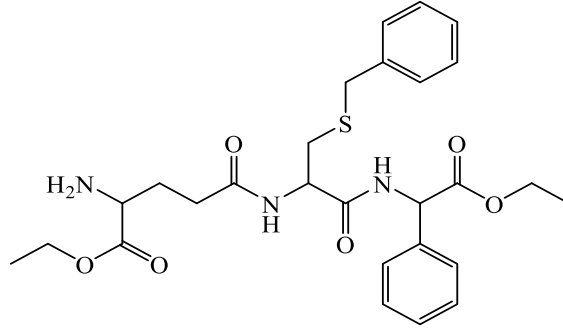
1.1.1.2.3. TLK-S Konjugatları ve Peptid Olmayan Analoglar

GST enziminin, GSH ve türevlerine kuvvetli ve seçici etki göstermesi, GSH benzeri peptidomimetik, enzim seçiciliği yüksek ve klinikte kullanılabilir bileşiklerin sentezinde önem arz etmiştir (Tozkoparan ve Aytaç, 2007). Telik Teknolojileri sülfürle fonksiyonelleştirilmiş sistein ve C-terminal glisinde çeşitlilikler taşıyan bir seri GSH analogu bileşik tasarlamıştır (Adang ve ark., 1990 ve Flatgaard ve ark., 1993). TLK adı ile nitelendirilen Telik bileşikleri, ‘TER’ adı ile nitelendirilen bileşiklere sahip Terrapin Teknolojileri’nden kazanılmıştır (Mahajan ve Atkins, 2005). İnsan GST enzimine karşı bu bileşiklerin taraması, bileşik 7 (TER-117) ve 8’in (Şekil 1.14.) yüksek selektivite göstermesi ile sonuçlanmıştır (P1-1 için 20 kat). Yapısal olarak bu bileşikler, sistein sülfürüne konjuge haldeki bir α -fenil-glisin rezidüsü ve bir benzil (TER 117) veya *n*-hekzil (8) grubundan oluşmaktadır (Mathew ve ark., 2006).



Şekil 1.14. 7 (TER 117) ve 8 nolu TLK-S konjugatları

TER 117 bileşiğinin dietil ester formu olan TLK 199 (Şekil 1.15.) (TER 199, Telintra™, Telik Inc.) bileşiğinin bir kemosenstizer olduğu ve birkaç antikanser ajanın toksisitesini artırdığı bulunmuştur. TER 117’in dietil esterinin geliştirilmesiyle, hücresel geri alımı kolaylaşmıştır (Mathew ve ark., 2006). Bileşiğin hücre içerisine girmesinden sonra, intrasellüler esterazlar tarafından hidroliz edilerek aktive edildiği ve aktif formda (TLK 117) GST P1-1’i inhibe ettiği, bu enzimin fazla salgılanmasını sağlayan pek çok hücre hattında da alkileyici ajanların etkinliğini artırdığı bildirilmiştir (Mahajan ve Atkins, 2005).



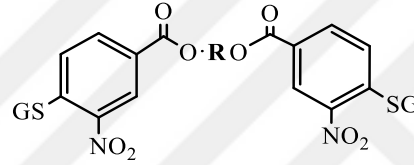
Şekil 1.15. TLK 199 (TER 199)

TLK 199'un N terminalindeki alkil esterin karbon zincirini uzatarak, yeni bir seri bileşik sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerden *O*¹-heksadesil- γ -glutamil-S-benzilsisteinil-*D*-fenilglisin etil esterinin, kemoterapötik ilaçlara dirençli insan kolanjiyokarsinoma hücre hatlarında (HuCCT1) yapılan sitotoksite deneylerinde, doza bağlı olarak adriamisin (ADR) ve 4-hidroksiperoxisiklofosfamidin (4-HC)'in IC₅₀ değerlerini azalttığı bildirilmiştir. Bu bileşik ile kombine tedavinin, bir ksenograft modelinde ADR veya 4-HC'in antitümör etkisini artırdığının gözlenmesi üzerine bileşiğin dirence karşı güçlü etkili, spesifik GST P1-1 inhibitörü olduğu bildirilmiştir. GST P1-1 inhibisyonu için ester kısmının hidrolize olması gerekliliği belirsiz olsa da bu amaçla yapılan çalışmalar, tahmin edilen ön ilacın farmakokinetik özelliklerini iyileştirmek için inhibitörün peptid kısmının değiştirilmesinin önemli ölçüde yararlanılacak bir olasılık olduğunu göstermektedir (Nakajima ve ark., 2003).

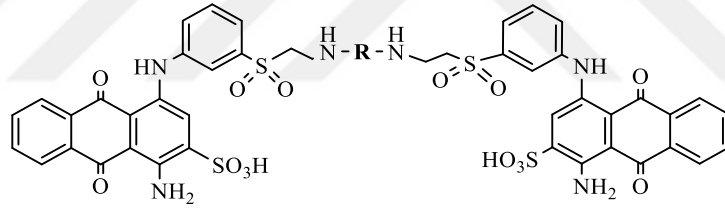
Yıllar önce peptid olmayan GST inhibitörlerinin peptidaz stabilitesini artırdığı keşfedilmiştir. Klotz ve arkadaşları, karbon-karbon tekli bağının veya amit bağı için izosterik çifte bağın süstitüsyonuyla bir seri peptid olmayan glutatyon analogu üretmişlerdir. Bu bileşiklerin GST enziminin az çok potent inhibitörü olduğu bulunmuş olup bu bileşikler sayesinde glutatyonun bağlanma bölgesi (G bölgesi) hakkında değerli bilgiler elde edilmiştir ve peptid olmayan analogların tasarlanması için iyi fikirler ortaya çıkarılmıştır (Klotz ve ark., 1998).

1.1.1.2.4. Bivalan İnhibitörler

Homodimerik GST enziminin kristal yapısında, iki monomer arasında çözücünün ulaşabildiği bir yarık olduğu belirlenmiştir (Tozkoparan ve Aytaç, 2007). Bivalan GST inhibitörlerini keşfetmek için enzimin kuarterner yapısından yararlanılmıştır (Mahajan ve Atkins, 2005). Bir grup araştırmacı tarafından, bağlayıcı gruplar değiştirilerek her bir GST monomerindeki aktif bölge ile etkileşebilecek, simetrik, bifonksiyonlu biri *bis*-glutatyon konjugatı (Şekil 1.16.), diğeri *bis*-Uniblue A bileşiği (Şekil 1.17.) yapısında iki grup bileşik sentezlenmiştir. Her iki seride de referansa karşı iki kat aktivite gözlemlendiği bildirilmiştir (Lyon ve ark., 2003).



Şekil 1.16. Bis-Glutatyonil nitrofenil türevlerinin ana yapısı



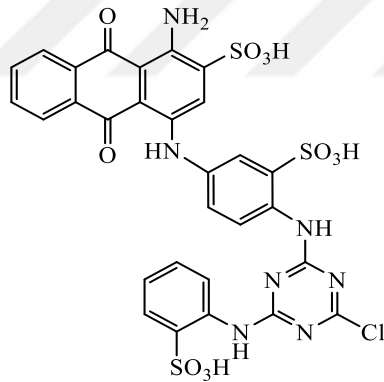
Şekil 1.17. Bis-Uniblue A bileşiğin ise ana yapısı

Bivalan inhibitör ilaçlar monovalan benzerleriyle karşılaştırıldığında, daha yüksek affiniteye sahiptirler ve hatta daha yüksek izoform aktivite gösterirler. Bivalan bileşikler yakın zamanda iyi birer ilaç adayı olamamışlar, ancak bivalanlığın potansiyel yararını gözler önüne sermişlerdir (Mathew ve ark., 2006). Daha sonraki çalışmalarda, bivalan bileşikler için seçicilik kaynağı olarak çok fazla yarık bölgesi keşfedilmiştir. GST inhibisyonunda, bu strateji halen daha devam ettirilmektedir (Mahajan ve Atkins, 2005).

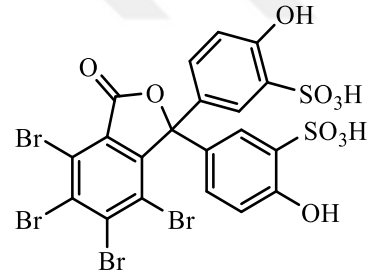
1.1.1.2.5. Ligandin Tip İnhibitörler

Tarihsel açıdan non-kompetitif kararlı kinetik davranış gösteren GST inhibitörleri, CDNB gibi H bölgesi substratlarına ilgisi yönünden, ilk önce “ligandin inhibitörü” veya “ligandin substratı” olarak tanımlanmıştır. Erken keşfedilen çoğu ligandin inhibitörü, anyonik fonksiyonel gruplar veya steroidler taşıyan hidrofobik düzlemsel aromatik bileşiklerdir. Bu bileşiklerin bağlanma sitokiyometrelerine dayanarak, ligandin tip inhibitörler alt birim arası yarığına bağlanır ve bazısının da enzimde bulunan yarık içinden katalitik H bölgesini kısmen de olsa işgal edilebileceği düşünülmüştür (Mahajan ve Atkins, 2005).

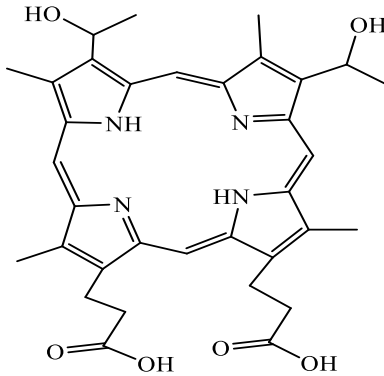
Ligandin tip inhibitörler Şekil 1.18’de gösterilmiştir. Sibakron mavi, GST inhibitör tanısı amaçlı olarak, bromosülfotaletin de GST’nin ligandin bağlanma bölgelerini incelemek için model bir bileşik olarak kullanılmaktadır (Mannervik ve Danielson, 1988).



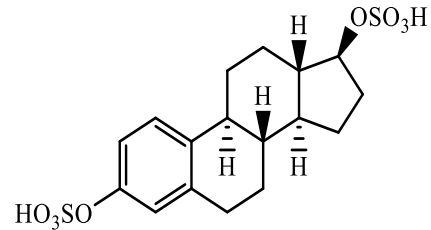
Sibakron Mavi



Bromosülfotaletin (BSP)



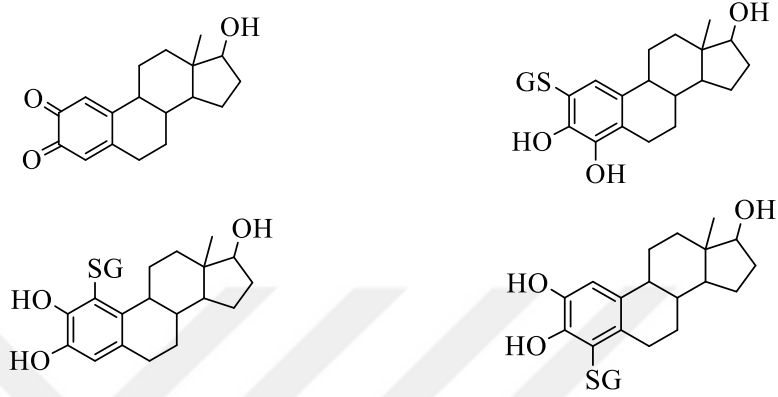
Hematoporfirin IX



β -Östradiol-3,17-disülfat

Şekil 1.18. Ligandin tip inhibitörler

β -Östradiol-3,17-sülfat, safra asiti ve sodyum taurokolat gibi bileşikler, GST inhibitörü olarak kullanılan ilk bileşikler arasında olmuşlardır. Bunun üzerine, bir östradiol türevi ve onun çeşitli GSH konjugatları (Şekil 1.19.) tarafından çeşitli insan GST sınıfı enzimleri inhibe edildiği rapor edilmiştir (Abel ve ark., 2004 ve Ata ve Udenigwe, 2008).

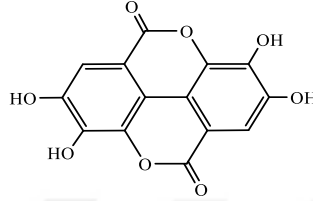


Şekil 1.19. Östradiol türevi GSH konjugatları

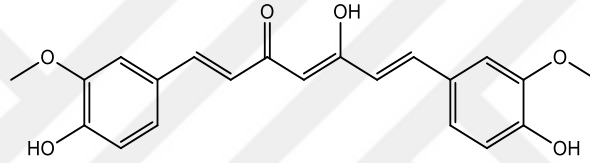
1.1.1.2.6. Doğal Kaynaklı GST İnhibitörü Bileşikler

Doğal ürünler eski çağlardan beri tıpta ilaç ve baharat olarak kullanılmaktadır ve bu bitkisel tedavilerin ve diyet ilavelerinin kullanımı gün geçtikçe artmaktadır (Cowan, 1999 ve Polasa ve ark., 2004). Diyet kimyasallarının ilaçları metabolize eden enzimleri etkilediği veya onları modüle ettiği gösterilmiştir. Bireylere yeniden güç kazandıran ve onları canlandıran bitkisel ürünler ile ksenobiyotikleri metabolize eden enzimlerin etkileşmesi sonrasında bu konuya olan dikkat artmıştır. Örnek olarak kan plateletlerinde GST enzimini inhibe ettiği gösterilen flavonoidler taşıyan St. John's Wort bitkisi (Zhou ve ark., 2003) gibi yaygın olarak kullanılan doğal bitkilerin CYP P450 enzimi ile etkileştiği bulunmuştur (Ghazali ve Waring, 1999). Bu özellik bazı yiyecek bileşenlerinin flavonoidler de dahil olmak üzere önemli farmakolojik ve toksikolojik sonuçlar oluşturabileceğini göstermiştir (Middleton ve ark., 2000). Son zamanlarda dikkat çeken bir konu da, benzer doğal içerikli önleyici kimyasal maddelerin karsinogenezin çoklu basamaklarını inhibe ettiği, tersine çevirdiği veya aksattığına yöneliktir (Surh, 1998). Özellikle diyetlerde ve tıbbi bitkilerde var olan fenolik maddelerin antikarsinojenik ve antimutajenik aktivitelere sahip olduğu rapor

edilmiştir (Koo ve ark., 2004). Bu çalışmada, besin maddelerimizin içerisinde bulunan polifenolik yapıdaki elajik asit (2,3,7,8-tetrahidroksi[1]benzopirano[5,4,3-*cde*][1]benzopiran-5,10-dion) (Şekil 1.20.) ve kurkuminin (1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion) (Şekil 1.21.), insan rekombinant GST P1-1 enzimini 0,04-5 µM aralığında değişen konsantrasyonlarda inhibe ettiği gösterilmiştir (Koo ve ark., 2004 ve Tozkoparan ve Aytaç, 2007).



Şekil 1.20. Elajik asit



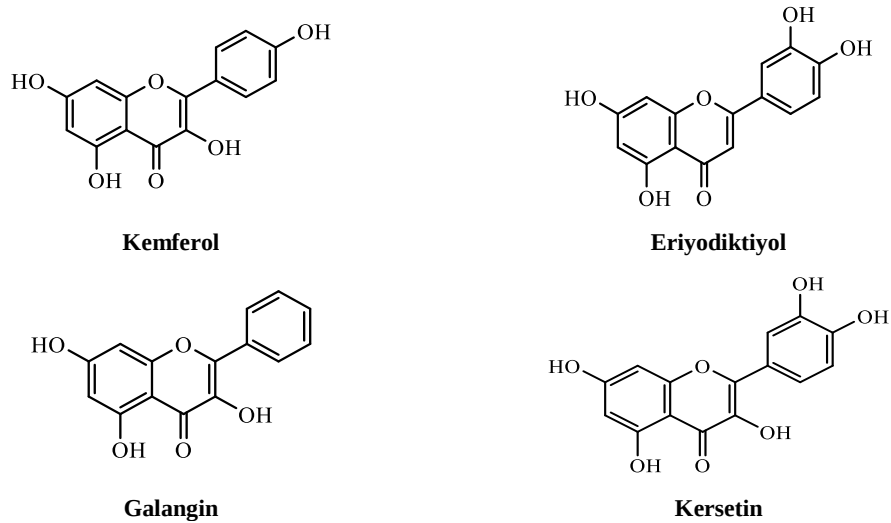
Şekil 1.21. Kurkumin

Elajik asit, birçok bitkinin salgı ürünü olan tannin yapısında bir bileşiktir. Gallik asit ve heksahidroksidipenol polimerleri (HHDP) ellajitannin olarak bilinen bileşiklerin glukoz merkezlerine bağlanmaktadır. Elajik asit, HHDP grubu tannin molekülü tarafından yarıldığında oluşan ve kendiliğinden yeniden düzenlenen bir üründür. Bu bileşik; cevizde, çilekte, narda, ahududu tohumlarında, pekan cevizi ve yaban mersininde bulunmaktadır (Whitley ve ark., 2003). Yüksek terapötik etkisinden dolayı bileşiğin farklı metabolik aktivitelerine dayanılarak elajik asit, halk arasında çok kullanılan bir bileşiktir (Hayeshi ve ark., 2007).

En çok kimyasal önleyici ajan olarak çalışılmış olan kurkumin, kanserin baskılanmasına, yavaşlatılmasına, ters çevrilmesine olanak sunan ve *Curcuma longa* L. adlı bitkiden ekstre edilen doğal bir bileşiktir (Duvoix ve ark., 2005 ve Mathew ve ark., 2006). Non-toksik antihemorajik bir bileşik olan elajik asit, çeşitli substratlarla yarışmalı olmayan konsantrasyona bağlı bir GST inhibisyonu göstermektedir (Ata ve Udenigwe, 2008). Ayrıca köpek eritrositlerinde GST aktivitesini inhibe ettiği de bildirilmiştir (Hayeshi ve ark., 2007).

CCl_4 ile indüklenmiş karaciğer hasarlarında GSH tüketilmesi üzerine önleyici veya terapötik bir ölçüm olarak hepatoprotektif etkilere sahip olduğu ileri sürülmekte ve bu anlamda klinik kullanımı önerilmektedir (Marotta ve ark., 2003). Kurkumin erkek farelerde ilacın metabolize ettiği enzimin -özellikle GST-; böbrek ve karaciğerdeki kinon redüktaz enzimi- Faz II aktivitesini indükler. Bununla birlikte bu ilacın etkisi konsantrasyona bağlı olarak görünür ve kurkumin düşük dozlarda GST'yi aktive ederken yüksek dozlarda GST aktivitesini sıçanlarda inhibe eder (Piper ve ark., 1998). Bu etken madde insan melanoma hücrelerinde güçlü bir GST inhibitörüdür ve GST P1-1'e daha selektiftir (Iersel ve ark., 1996).

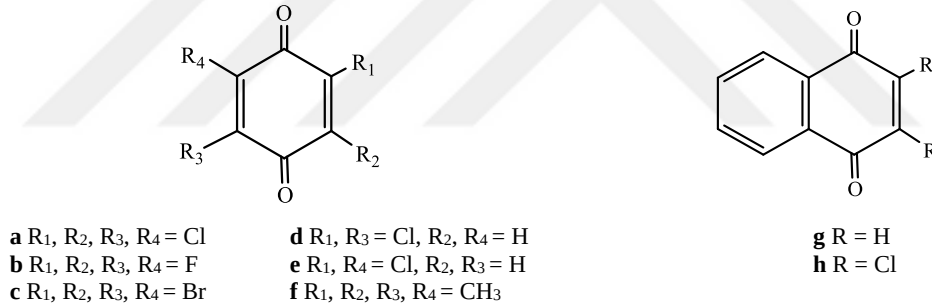
Bitkisel polifenolik bileşikler klasik ligandin tip bileşiklerin özelliklerini paylaşır. Potansiyel anyonik karakter taşıyan hidrofobik aromatik bileşikler olan bu inhibitörler, özellikle üzümde ve kırmızı şarapta yaygın ve bazı sebzelerde ve bazı çaylarda bulunur. Bu ve diğer diyet bileşenleri esas olarak potansiyel antikarsinojenik özellikleri ve farklı GST enzimlerini indükleme yetenekleri yüzünden oldukça çok dikkat çekmiştir (Mahajan ve Atkins, 2005; Mathew ve ark., 2006 ve Zhang ve ark., 2003). Kersetin (Şekil 1.22.) gibi bitkilerde bulunan doğal kaynaklı bu polifenoller, potansiyel antikarsinojenik özellikleri ve GST P1-1 başta olmak üzere bazı GST enzimlerini direkt olarak inhibe etmeleri ile bilinir. Toksik olmayan GST ve glutatyon-S-konjugatı dışı atım pompa inhibitörleri için yapılan bir araştırmada, flavanoidler gibi bitkisel polifenoller içeren çoğu doğal bileşenin bu anlamda umut vadettiğini göstermiştir (Mathew ve ark., 2006 ve van Zanden ve ark., 2003).



Şekil 1.22. GST inhibisyonu gösteren bazı flavanoid bileşikler

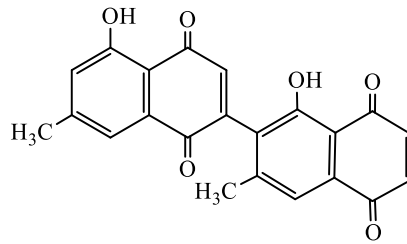
Galangin, kemferol, eriyodiktiyol ve kersetin gibi flavanoidlerin özellikle GST P1 geni eklenerek genetiği değiştirilmiş meme kanseri hücrelerinde (pMTG5) yapılan çalışmalarda GST P1-1 etkisini inhibe ettikleri bildirilmiştir. Bu flavanoidlerin içinde galanginin 25 μ M konsantrasyonda tüm hücrel GST P1-1 enzim etkisini inhibe ettiği gözlenmiştir (van Zanden ve ark., 2004). Galanginin 2 nolu konumundaki fenilin yerine 3,4-dihidroksifenil taşıyan kersetin ise önemli bir GST P1-1 inhibitörü bileşik olduğu bildirilmiştir (Kurata ve ark., 1992 ve Zhang ve Das, 1994). Kersetinin 100 μ M konsantrasyonu ile 1 saat; 25 μ M konsantrasyonu ile 2 saat inkübe edilmesi ile GST P1-1 enziminin etkisinin tamamen inhibe olduğu bildirilmiştir (van Zanden ve ark., 2003).

Bunların dışında bitkisel olarak 1,4-benzokinon (a-f) ve 1,4-naftokinon (g, h) bileşiklerinin (Şekil 1.23.) insan ve sıçan karaciğer GST izozimlerine karşı inhibisyon gösterdiği bildirilmiştir (Longo ve ark., 2000 ve Vos ve ark., 1989).



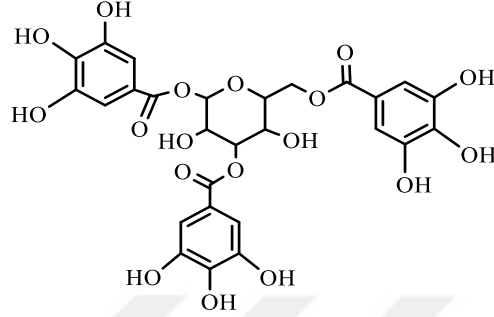
Şekil 1.23. 1,4-Benzokinon (a-f) ve 1,4-naftokinon (g, h) bileşikleri

Yapılan bir çalışmada, antikanser bir bileşik olan bisnaftokinon yapısındaki diospirin (Şekil 1.24) güçlü GST P1-1 inhibitörü aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Hayeshi ve ark., 2004).



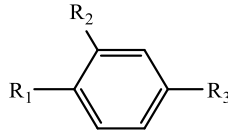
Şekil 1.24. Diospirin

Zhang ve arkadaşları tarafından (2003) kompleks polifenol yapısındaki tannik asitin (Şekil 1.25.) de elektrofilik bir substrat olan klorambusil kullanılarak yapılan deneyde insan kolon adenokarsinoma hücrelerinden saflaştırılan GST enzimine karşı inhibisyon gösterdiğini rapor edilmiştir.



Şekil 1.25. Tannik asit

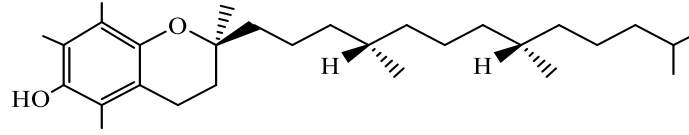
Karanfil yağının aktif bileşenleri olan antimitojenik tatlandırıcı ajan öjenol (Şekil 1.26.) ve türevleri ile oksidasyon ürünlerinin insan GST P1-1 ve izozimlerine karşı ılımlı inhibisyon gösterdiği bulunmuştur (Rompelberg ve ark., 1996). Bu bileşikler izole edildiğinde, bileşiklerin okside türevlerini üreten tirozinaz yapısı taşımayan GST sınıflarının hiçbirini inhibe etmediği gösterilmiştir. Sonuçta, öjenolün ve onun türevlerinin aktivitesinin, tirozinaz varlığında GSH eklentisi oluşturmasından dolayı olabileceği düşünülmüştür (Ata ve Udenigwe, 2008).



Öjenol $R_1 = -OH$, $R_2 = -OCH_3$, $R_3 = -CH_2CH=CH_2$
a $R_1 = R_2 = -OCH_3$, $R_3 = -CH_2CH=CH_2$
b $R_1 = R_2 = -OCH_3$, $R_3 = -CH=CHCH_3$

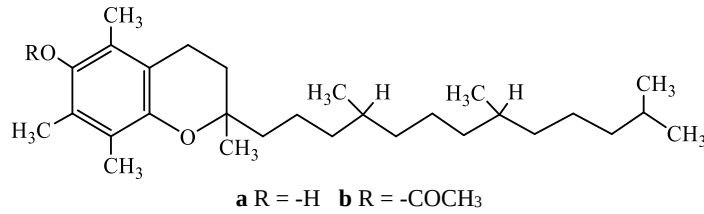
Şekil 1.26. Öjenol ve türevleri

Reaktif oksijen türlerinin ve çeşitli elektrofillerin kanserden solunum sistemi bozukluklarına kadar çok çeşitli sistem hastalıklarının etiyolojisinde rol aldığı bilinmektedir. İnsan vücudu, çok çeşitli mekanizmalarla bu bileşiklerin zararlı etkilerine karşı koymaktadır. GSH'a bağlı enzim sistemi vücudun antioksidan savunma sisteminde önemli bir grubu oluşturmaktadır. Yağda çözünen vitaminlerden biri olan α -tokoferol (Şekil 1.27.) ve tokotrienollerin karışımından oluşan E vitamini, bu sistemde rol oynayan bir bileşiktir (Tozkoparan ve Aytaç, 2007).



Şekil 1.27. α -Tokoferol

Beslenmede önemli bir bileşen olan ve son yıllarda antioksidan etkisi ile dikkati üzerine çeken E vitaminin, antioksidan sistemde rolü olan hGST enzimlerinin etkisine pozitif veya negatif etkileri olduğu bildirilen çalışmalar vardır (Tozkoparan ve Aytaç, 2007). Chen ve Shiau (1989), E vitamini ile muamelenin GST aktivitesinde bir artışa sebep olduğunu; Tampo ve Yonaha (1990) ise E vitaminin yokluğunun mikrozomlarda GST enziminin yapısında hasara sebep olduğunu bildirmişlerdir. Bu iki çalışmanın aksine; *R,R,R*- α -tokoferolün (Şekil 1.28.a), GST P1-1 aktivitesini non-kompetatif bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir (van Haften ve ark., 2003). Esterleştirilmiş tokoferollerin (Şekil 1.28.b) ve α -tokoferol kinonun da 10 μ M'dan daha düşük IC₅₀ değerlerde GST P1-1 etkisini inhibe ettiği bulunmuştur (van Haften ve ark., 2001). Bu bilgiler doğrultusunda, *R,R,R*- α -tokoferolün yeni GST enzim inhibitörlerinin geliştirilmesi için öncü bir bileşik olabileceği düşünülmektedir (Tozkoparan ve Aytaç, 2007).

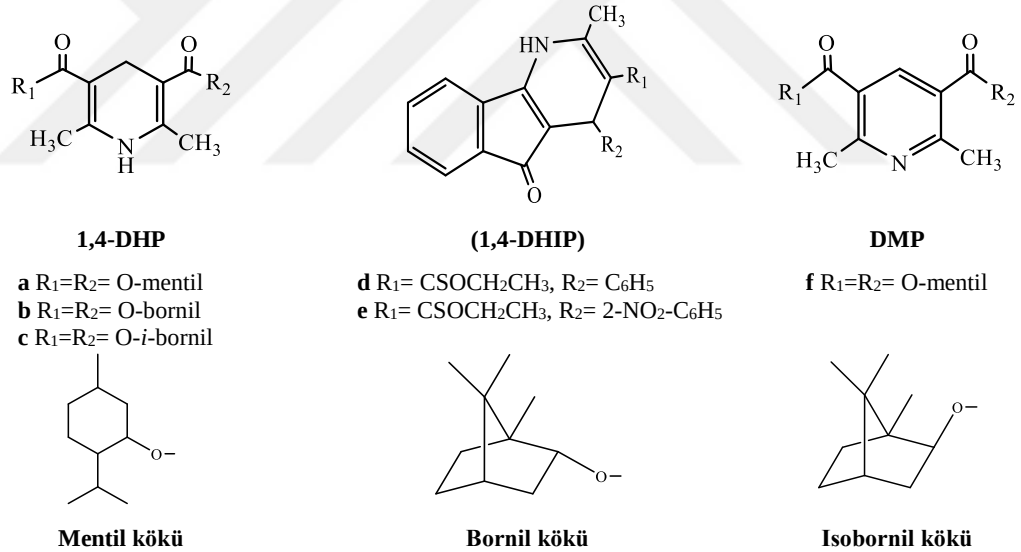


Şekil 1.28. Tokoferol türevleri

GSH konjugatları çok hidrofilik ve yüksek oranda yüklenmiş olduklarından lipofilik membranı geçip hücreye giremezler, ancak *RRR*- α -tokoferol bileşiği çok lipofilik olduğundan membranı aşip hücre içine geçebilmektedir. *RRR*- α -tokoferolün enzime bağlanması, enzimin konformasyonel değişimini indükler ve bu yolla enzim aktivitesi azaltılmış olur (Mathew ve ark., 2006).

1.1.1.2.7. Piridin Türevleri

Tirzite ve arkadaşları (1993) tarafından, antitümör ve radyoprotektif 1,4-dihidropiridin (1,4-DHP) türevleri (Şekil 1.29.a-c) ve 1,4-dihidroindeno[1,2-*b*]piridin (1,4-DHIP) türevlerinin (Şekil 1.29.d,e) türevlerinin ağır karaciğer GST enzimine karşı ılımlı bir *in vitro* inhibisyon yaptığı rapor edilmiştir. Bu rapora göre, büyük hidrofobik sübstitüentler taşıyan 5,6-sübstitüe-1,4-DHIP (d, e) türevleri 1,4-DHP türevlerine göre daha iyi bir GST inhibitör aktivite göstermektedir. Bu araştırmacılar, bununla birlikte, ne büyük lipofilik sübstitüentlerin ne de ana yapının bağımsız olarak fark edilebilir bir GST inhibisyonu yapmadıklarını bildirmişlerdir. Örneğin; 1,4-DHP (a) bileşiğinin GST inhibisyonu sadece DHP halkasına takılmış O-mentil grubu varlığında gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, 2,6-dimetil-3,5-*bis*(mentiloksikarbonil) piridin (DMP) bileşiği (Şekil 1.29.f), 4-DHP türevlerinin GST inhibisyonu ile benzer ama çok az daha düşük aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Tirzite ve ark., 1993).

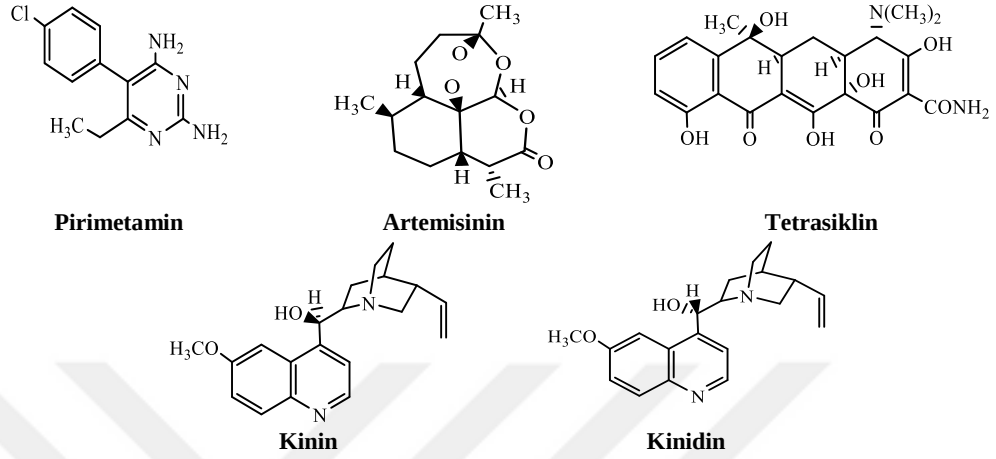


Şekil 1.29. 1,4-Dihidropiridin (1,4-DHP), 1,4-dihidroindeno[1,2-*b*]piridin (1,4-DHIP) ve 2,6-dimetil-3,5-*bis*(mentiloksikarbonil)piridin (DMP) ile mentil, bornil ve isobornil kökleri

1.1.1.2.8. Antimalaryal Bileşikler

Pirimetamin, artemisinin, kinin, kinidin ve tetrasiklin gibi bazı antimalaryal bileşiklerin (Şekil 1.30.) özellikle GST P1-1 izoenzimi olmak üzere çeşitli insan rekombinant GST enzimleri üzerinde inhibitör etki gösterdikleri bildirilmiştir

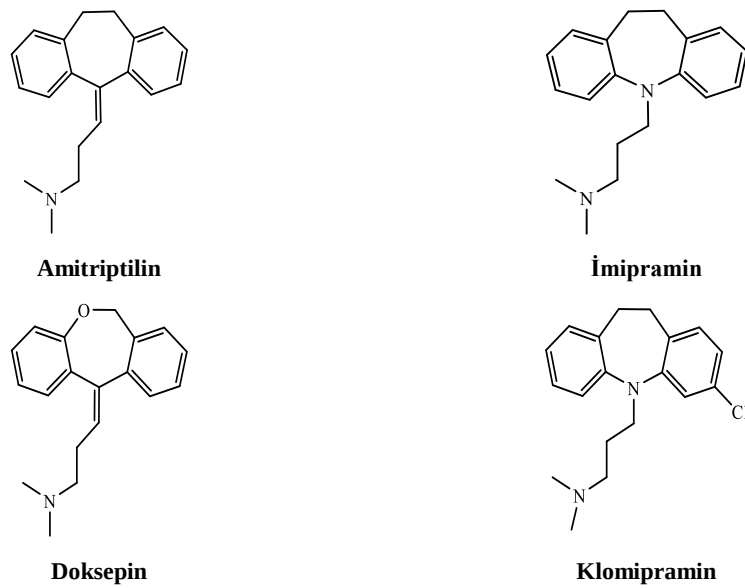
(Mukanganyama ve ark., 2002). Bu antimalaryal bileşiklerden kinin ve pirimetaminin bu grubun en potent bileşikler olduğu gösterilmiştir. Bu bileşikler, rasyonel inhibitör tasarımı için güçlü adaylar olarak değerlendirilmiştir (Tozkoparan ve Aytaç, 2007).



Şekil 1.30. Antimalaryal bileşikler

1.1.1.2.9. Bazı Trisiklik Antidepresan Bileşikler

İnsan beyinde mevcut bulunan ana GST izoformu olan GST P1-1 izozimi beyin farklı bölgelerinden izole edilmiş ve dibenzsikloheptadien ve dibenzazepin türevi bazı trisiklik antidepresanların (Şekil 1.31.) bu enzim üzerine etkileri *in vitro* ortamda araştırılmıştır (Anna ve ark., 2004).



Şekil 1.31. Dibenzsikloheptadien ve Dibenzazepin türevleri

Bu bileşiklerden, amitriptilin ve doksepinin (Dibenzsikloheptadien türevleri), bunun yanı sıra imipramin ve klomipraminin (Dibenzazepin türevleri) (Şekil 1,31.) beynin frontal ve pariyetal korteksi, hipokampus ve beyin sapındaki GST P aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir. GST P ve bu ilaçlarla oluşan etkileşim, ilaçların beyindeki uygunluğunu ve onların terapötik aktivitesinin etkinliğini azaltabilmektedir (Anna ve ark., 2004).

1.1.1.3. GST ile Aktive Edilen Ön İlaçlar

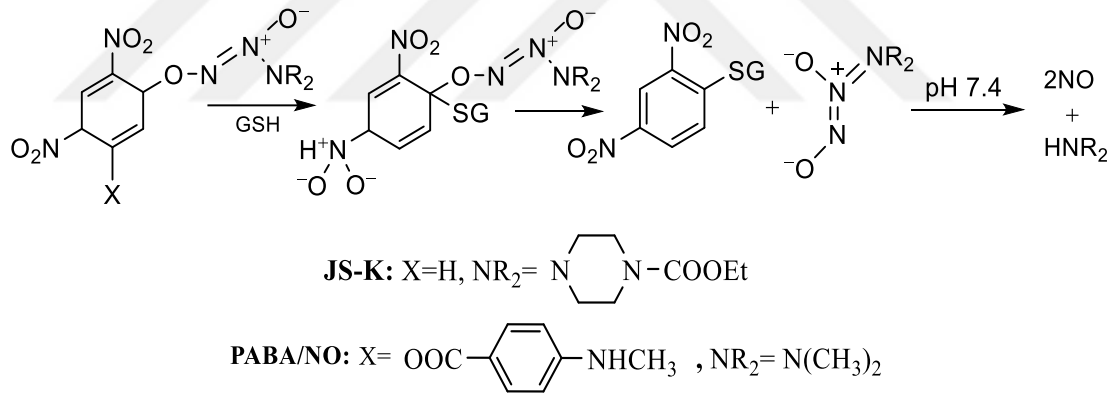
Kemoterapötik ilaçların sitotoksitelerini azaltabilmek için keşfedilen yeni yaklaşım, ön ilaç tasarımıdır. Kemoterapötik ilaçlarla tedavide, özellikle tümör hücrelerinde artmış seviyede salgılanan GST P enziminden kaynaklanan dezavantajı avantaja dönüştürmek amacıyla, kendisi inaktif olan ve tümör hücrelerinde artmış seviyedeki GST P ile spesifik olarak sitotoksik metabolitlerine dönüşen ön ilaçlar tasarlanmıştır. Bu durum, bileşiğin normal dokulara olan toksisitesini azaltırken, aktif bileşiğin tümör dokusuna artmış miktarda taşınmasını sağlar. Böylelikle, enzim seviyesi normal düzeyde bulunan hücreler, ilaçtan fazla etkilenmeyecektir (Townsend ve Tew, 2003 ve Tozkoparan ve Aytaç, 2007). GST enzimleri bu nedenle umut vaat eden birer hedef olmuşlardır.

1.1.1.3.1. Nitrik Oksit Donörleri

Bu bileşikler, GST enzimlerinin katalizlediği bir reaksiyonla GSH ile bağlanarak aktive edilen diazenyumdiolat nitrik oksit (NO) donörleridir (Şekil 1.32.) (Tozkoparan ve Aytaç, 2007). Grubun ilk örneği, nitrik okside hassas olduğu bilinen insan myeloid lösemi hücreleri (HL-60) ve prostat kanser (PPC1) ksenograftlarında kanser gelişimini baskıladığı bildirilen JS-K $[O^2-(2,4-dinitrofenil)-1-[(4-etoksikarbonil)piperazin-1-il]diazen-1-yum-1,2-diolat]$ bileşiğidir. (Findlay ve ark., 2004 ve Shami ve ark., 2003). JS-K bileşiği ile yapıdaki diazenyumdiolat, klorun yerine geçer ve sonra Meisenheimer kompleksine benzer oluşumlar meydana gelir (Şekil 1.32.). Özellikle bu reaksiyon CDNB ile olduğu gibi fizyolojik şartlarda non-enzimatik olarak

gerçekleşmektedir, ama GST enzimi bu reaksiyonu anlamlı bir şekilde katalizlenerek NO ürettiği bildirilmiştir (Findlay ve ark., 2004).

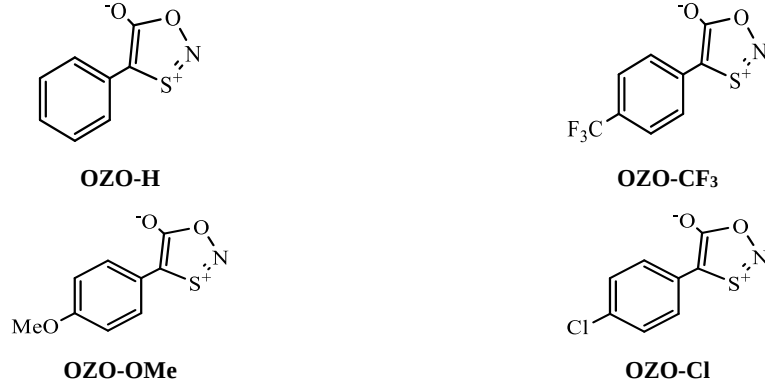
Sentezlenen ikinci bileşik, PABA/NO [O^2 -[2,4-dinitro-5-(*N*-metil-*N*-4-karboksifenilamino)fenil]-1-*N,N*-dimetilamino)diazen-1-yum-1,2-diolat] (Şekil 1.32.) molekülü GST P ile metabolize olarak NO üreten bir ön ilaçtır. Çalışmada, GST P geni taşımayan farenin embriyo fibroblast hücrelerinde (MEFs) yapılan deneylerde, GST P geni yokluğunun PABA/NO bileşiğine seçiciliği azalttığı gösterilmiştir. PABA/NO bileşiğinin sitotoksitesi, GST P ve/veya γ -glutamilsistein sentaz ve çoklu ilaç direnci geni ile genetiği değiştirilmiş farenin deri fibroblast hücrelerinde de (NIH3T3) denenmiş ve MRP-1'nin çok salgılandığı hücrelerde ilaca direç geliştiği gözlemlenmiştir. *In vitro* çalışmalarda, direncin PABA/NO bileşiğinin GST P ile aktive edilen metabolitinin GSH'a bağımlı bir şekilde MRP ile hücre dışına atılmasıyla ilişkili olduğu düşünülmüştür (Findlay ve ark., 2004).



Şekil 1.32. Diazeniumdiolatın NO salımı ve JS-K; PABA/NO bileşikleri

Bu bileşiklerden başka, 4-aril-1,3,2-oksatiyazolilyum-5-olat (OZO) (Şekil 1.33.) türevleri sentezlenmiştir. OZO bileşiği, *S*-nitrozotiyol NO donörü (RSNO) bileşik formunun maskelenmiş ve stabilize edilmiş halidir. Bu bileşik, asit katalizli hidroliz içinde ara ürün olan RSNO bileşiğine dönüşmektedir. Nitrik oksit salım derecesi benzen halkası üzerindeki *para* süstitüsyon ile uygun hale getirilir. Diğer NO donörlerinden farklı olarak OZO bileşiği, GST yokluğunda NO salımı için GSH ile etkileşmemektedir. Bununla birlikte, GST, *in vitro* ortamda OZO bileşiğinden NO salınımını tetiklemektedir. GST enziminin kataliz kapasitesi, GSH ve OZO'nun

reaksiyonunda birkaç dakika içerisinde tamamıyla kaybolmaktadır. Çalışmalar, OZO türevlerinin yeni bir GST inhibitörü bileşik grubu olduğunu göstermektedir (Cui ve ark., 2008).



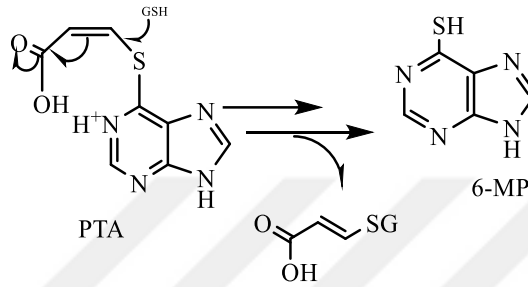
Şekil 1.33. 4-Aril-1,3,2-oksatiyazolilyum-5-olat (OZO) türevleri

OZO türevi bileşikler; OZO-H, OZO-CF₃, OZO-OMe ve OZO-Cl'dir. Bu türevler bileşik üzerindeki benzen halkasının *para* konumunda yapılan sübstitüsyonlarla elde edilmiştir. Bu türevlerden OZO-H'nin, GST P-JNK kompleksini ayırıp kanser hücrelerinde JNK/Jun yolağını aktive ederek GST inhibisyonu gösterdiği ortaya çıkarılmıştır. OZO bileşiklerinin sitotoksitesi, bu bileşiklerin GST inhibisyon seviyeleri ve JNK ve c-Jun aktivasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bu bileşikte benzen halkası üzerinde güçlü elektron alıcı veya güçlü elektron verici grupların sübstitüsyonu, bileşiğin GST üzerine inhibitör etkisini redükleyebilmektedir (Cui ve ark., 2008).

Dört OZO türevinden; bir alkil grubu içermeyen OZO-H türevi bu grubun en aktif bileşiğidir. (Şekil 1.33.) Ancak, OZO türevlerinin daha önce bulunan NO donörlerine göre daha çok sitotoksik etki gösterdiği ortaya çıkarılmıştır. Ek olarak GST inhibisyonun yapı-etki ilişkileri (SAR) çalışması, NO salınımının SAR çalışmasından farklı olmuştur ve bu da OZO'nun GST inhibisyonunun NO salınımı ile ilgili olmayabileceğini göstermiştir (Cui ve ark., 2008).

1.1.1.3.2. Pürin Analogları

Azatiyopürin yapısına benzeyen *cis*-3-(9*H*-pürin-6-iltiyo)akrilik asit (PTA) (Şekil 1.34.), GSH konjugasyonu ve sonraki aktivasyon metabolizması için gerekli bir antimetabolit olan antitümör ve immünosupresif özellik gösteren 6-merkaptopürin (6-MP)'in ön ilacıdır (Gunnarsdottir ve Elfarra, 1999).



Şekil 1.34. PTA'nın GSH/GST katalizli aktivasyonu

Artmış seviyelerde GST ve GSH salgılayan tümör hücrelerini hedefleyen bileşiğin, *in vitro* ortamda GSH ile bağlanarak S-(9*H*-pürin-6-il)glutasyonu (Şekil 1.35.) ve iki farklı mekanizma ile 6-MP'i oluşturduğu bildirilmiştir. PTA'dan GST enzimlerinin etkisi ile direkt olarak 6-MP oluşabildiği gibi (Şekil 1.34.); S-(9*H*-pürin-6-il)glutasyon da böbrekte seçici olarak 6-MP'e dönüşebilmektedir. PTA'ten *in vitro* ortamda ağırlıklı olarak S-(9*H*-pürin-6-il)glutasyonun oluşması ve bununda böbrekte 6-MP'e dönüşmesiyle, PTA'in böbreğe seçici bir ön ilaç olabileceğini düşünülmüştür (Gunnarsdottir ve Elfarra, 1999).



Şekil 1.35. S-(9H-Pürin-6-il)glutasyon ve 6-tiyoguanin

Ayrıca renal ve hepatik GST'ler, aktivasyonu *in vivo* ve *in vitro* ortamda yaklaşık 2 kat artırılırlar (Gunnarsdottir ve Elfarra, 1999). Bileşiğin fizyolojik pH'da iyonize olduğu, bu nedenle de GSH reaktivitesinin düşük olduğunun gözlemlenmesinden sonra, PTA'e yapısal olarak benzeyen, iyonize karboksil grubu yerine bütenon grubu

taşıyan, GSH ile bir katım-eliminasyon reaksiyonu sonucunda 6-tiyoguanin ve 6-MP'e dönüşerek etki göstermesi beklenen *trans*-6-(2-asetilviniltiyo)guanin (*trans*-AVTG) ve *cis*-6-(2-asetilviniltiyo)pürin (*cis*-AVTP) yapısında bileşikler (Şekil 1.36.) sentezlenmiştir (Gunnarsdottir ve ark., 2002; Gunnarsdottir ve Elfarra, 2004). Yapılan *in vitro* ve *in vivo* araştırmaların sonucunda, söz konusu bileşiklerin, temel tiyopürinlerin sitotoksitesini korurken, onlar gibi kemik iliği toksisitesi göstermedikleri, böylelikle de GSH/GST seviyeleri yüksek tümörlerde kuvvetli etkili kemoterapötikler olarak kullanılabilecekleri bildirilmiştir (Tozkoparan ve Aytaç, 2007).



Şekil 1.36. AVTG ve AVTP

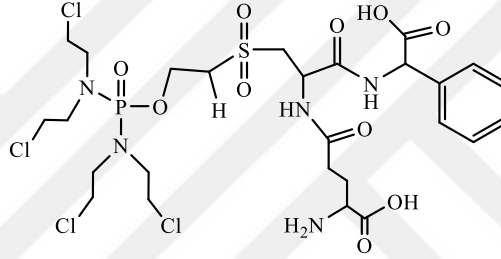
Azatiyopürin (Şekil 1.37.), 6-MP'in klinikte kullanılan ön ilacıdır. NSC 348401 (Şekil 1.37.), sitotoksik açıdan *cis*-AVTP'e benzeyen 6-MP'in heterosiklik tiyoguanin konjugatıdır. Bileşiğin *cis*-AVTP veya *trans*-AVTG gibi GSH ile reaksiyona girerek aktive edilen bir tiyopürin ön ilacı olup olmadığının bulunması için yapılan çalışmalar devam etmektedir (Gunnarsdottir ve Elfarra, 2004). Bununla birlikte, ileri zamanlardaki klinik uygulamalar, ana ilaç olan 6-MP'in sınırlı etkinliği ve oldukça dar spektrumlu etkisi nedeniyle sınırlandırılabilir (Townsend ve Tew, 2003).



Şekil 1.37. Azatiyopürin ve NSC 348401

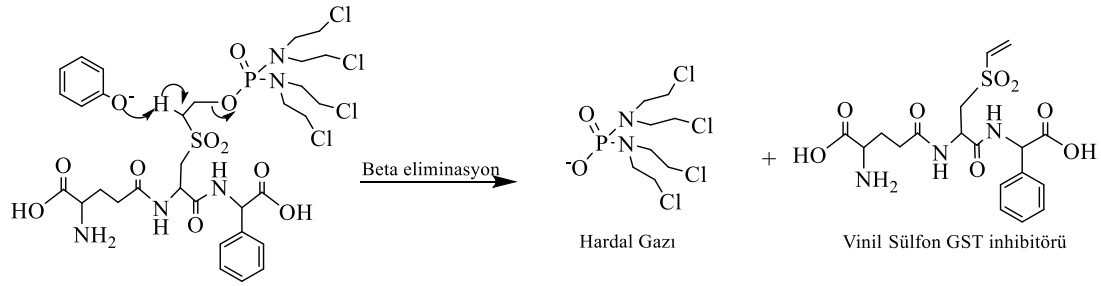
1.1.1.3.3. TLK-286 (TER 286, Telcyta®)

TLK 286 (Telcyta™, Telik, Inc; TER 286), modifiye edilmiş glutatyon analogudur (Şekil 1.38.). Yapısal olarak TLK 286, *L*- γ -glutamil-3-[[2-({bis[bis(2-kloroetil)amino] fosfinil}oksi)etil]sulfonil}-*L*-alanil-2-fenil-(2*R*)-glisin olup HCl tuzu şeklinde, GST P1-1 enzimini hedeflemek amacıyla tasarlanmıştır (Lyttle ve ark., 1994 ve Townsend ve Tew, 2003). Bu grupta sentezlenen diğer türevlerin, GST enzimlerinin iyi inhibitörleri olmalarına rağmen, kanser hücrelerinde etkili bulunmamış olmaları, MRP gibi spesifik taşıyıcı pompalar ile hücreden atılması ve hücre içerisinde yeterli konsantrasyona ulaşamaması ile ilişkilendirilmiştir (Tozkoparan ve Aytaç, 2007).



Şekil 1.38. TLK 286 (TER 286)

Taşıdığı γ -glutamil-*cis*-fenilglisin yapısı ile bu GSH analogu, enzime bağlı GS-vinil sülfon ve bir DNA alkilleyici ajan salınımına neden olan fosforamidatsülfonil parçası içerir (Morgan ve ark., 1998). Bileşik, fizyolojik ısı ve pH'da GST P1-1'in aktif bölgesinde yer alan Tyr7 aminoasidinin başlattığı, β -eliminasyon reaksiyonu ile, bir GSH analogu (GSH'ın vinil sülfon türevi) ve hücrel nükleofilleri alkilleyici özelliğe sahip hardal gazına (fosforodiamidat) parçalanır (Izbicka ve ark., 1997; Morgan ve ark., 1998 ve Townsend ve ark., 2002). (Şekil 1.39.) Bununla birlikte, TLK 286 DNA'ya bağlı protein kinazı inhibe ederek sitotoksik etkisini artırabilir. Ne enteresandır ki, DNA'ya bağlı kinazlar, aktive edilen ön ilaçlardan farklı olarak TLK286 ile etkileşme özelliği gösterirler (Townsend ve ark., 2002).



Şekil 1.39. TLK 286' nın GST P1-1 ile aktivasyon mekanizması

Bu ilacın hassasiyeti, hem hayvan modelleri hem de hücre kültürlerinde GST P1-1 ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bunun aksine, protein ve transkript düzeyinde GST P1-1'in baskılanması ile TLK 286'ya uzun zaman kronik olarak maruz kalındığında insan promiyelositik hücre hatlarında adaptif rezistans mekanizması geliştiği gözlemlenmiştir (Townsend ve Tew, 2003).

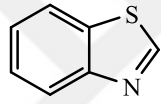
Ayrıca, GST P1/P2 eksik faredeki embriyo fibroblast hücrelerinin, onların normal benzerlerine göre TLK 286'ya daha az duyarlı olduğu belirlenmiştir (Henderson ve ark., 1998). Buna ek olarak, GST P'nin alıcı hücreye aktarımı, bu ilaca olan hassasiyeti artırmıştır (Rosario ve ark., 2000). GST P1-1'i yüksek seviyede eksprese olan tümörlerin, TLK 286'nın sitotoksik etkilerine daha hassas olacağı bu verilerle desteklenmektedir (Townsend ve Tew, 2003).

Faz II klinik deneylerinde platine dirençli küçük hücreli olmayan akciğer kanseri ile over kanserinde ve 5-FU, leukovorin, irinotekana dirençli kolon kanserinde, ilerlemiş metastatik meme kanserinde tek kullanımda yararı bildirilmiştir (Rosen ve ark., 2003; Townsend ve Tew, 2003 ve Zhao ve Wang, 2006). Platine dirençli küçük hücreli olmayan akciğer kanseri ve over kanserinde diğer ilaçlarla kombine kullanımı Faz I-IIa klinik denemelerindedir (Townsend ve Tew, 2003 ve Zhao ve Wang, 2006).

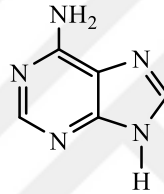
Bundan başka, bu sonuçlar ilk olarak ilaca dirençli küçük hücreli olmayan akciğer kanser tedavisinde TLK 286 ve Taxotere™ (Dosetaksel) kombine kullanımı, Faz III çalışmalarının formülasyonunu ve uygulanmasını desteklemiştir (Townsend ve Tew, 2003).

1.2. Antikanser Etkili Benzotiyazol Türevleri

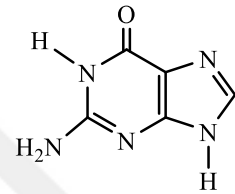
Benzotiyazol halka sistemi (Şekil 1.40.), nükleik asitlerin yapısını oluşturan pürin bazlarından adenin (Şekil 1.41.) ve guanin (Şekil 1.42.)'in halka eşdeğerleri olarak organizmadaki biyopolimerlerle kolay etkileşebilmesi bakımından önemli bir halka sistemi olarak değerlendirilmektedir. Son yıllarda antibakteriyel ve antifungal etki çalışmalarının yanısıra, güçlü antitümöral aktiviteye sahip benzotiyazol halkası taşıyan türevlerin belirlenmesi, bu halka sisteminin önemini artırmış ve çalışmalarımızı benzotiyazol bileşikleri üzerinde yoğunlaştırmamızın yerinde olacağını göstermiştir (Anand ve ark., 2006; Edwards; 2006; Li ve ark., 2005; Mortimer ve ark., 2006 ve Wang ve ark., 2006).



Şekil 1.40. Benzotiyazol

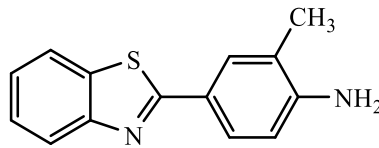


Şekil 1.41. Adenin



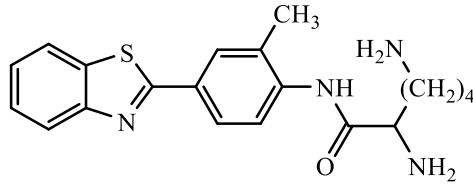
Şekil 1.42. Guanin

Loaiza-Pérez ve ark. (2002), 2-(4-amino-3-metilfenil)benzotiyazol bileşiğinin göğüs kanser hücresi üzerine etkisini çalışmışlar ve kayda değer antitumoral etki gözlemlemişlerdir (Şekil 1.43.).



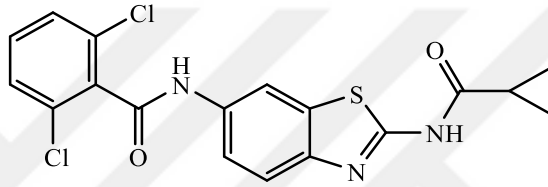
Şekil 1.43. 2-(4-Amino-3-metilfenil) benzotiyazol

Brantley ve ark. (2004), florlanmış 2-(4-amino-3-metilfenil)benzotiyazol türevi bileşikler sentezlemişler ve florlanmamış 2-(4-amino-3-metilfenil)benzotiyazole benzer kanser hücrelerine karşı potansiyel antiproliferatif etki gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 1.44.).



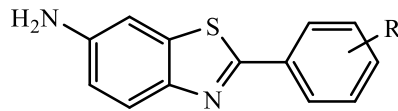
Şekil 1.44. Florlanmış 2-(4-Amino-3-metilfenil) benzotiyazol türevi bileşikler

Yoshida ve ark. (2005), yeni *N,N'*-disüstitüe-2,6-diaminobenzotiyazol türevi bileşik sentezlemişler ve 6-(2,6-diklorobenzamido)-2-(siklopropilkarbonilamino) benzotiyazol bileşiğinin, kanserli hücre büyümesi üzerine mükemmel *in vivo* inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 1.45.).



Şekil 1.45. 6-(2,6-Diklorobenzamido)-2-(siklopropilkarbonilamino)benzotiyazol

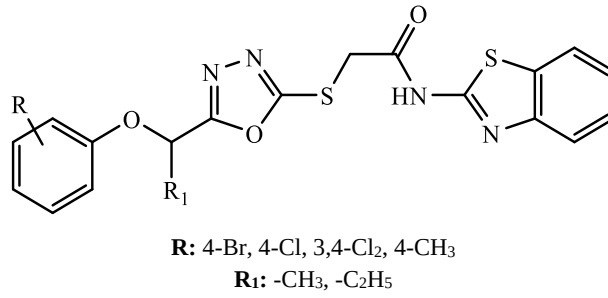
Racane ve ark. (2006), 2-[4-süstitüe fenil]-6-amino benzotiyazol türevi bileşikler sentezlemişler ve 2-amino ve 4-floro türevlerinde sevikal (HeLa), meme (MCF-7), kolon (CaCo-2), larinks (Hep-2) ve normal insan fibroblast (WI-38) hücre hatlarına karşı sitostatik etki bulunmuştur (Şekil 1.46.).



R = amino, dimetilamino, floro

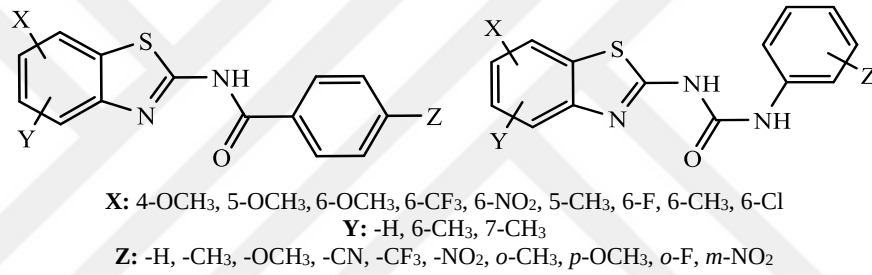
Şekil 1.46. 2-[4-Süstitüe fenil]-6-aminobenzotiyazol türevi bileşikler

Akhtar ve ark. (2008), 1,3,4-oksadiazol-2-tiyon aracılığıyla süstitüe fenollerden hareketle 5 basamakta sentezledikleri yeni benzotiyazol türevi bileşiklerin *in vitro* antitümöral etkilerini incelemişler ve 3-kloro ve 3,4-dikloro türevlerinin lösemi hücre hattı (CCRF-CEM) üzerinde güçlü etki gösterdiklerini belirlemişlerdir (Şekil 1.47.).



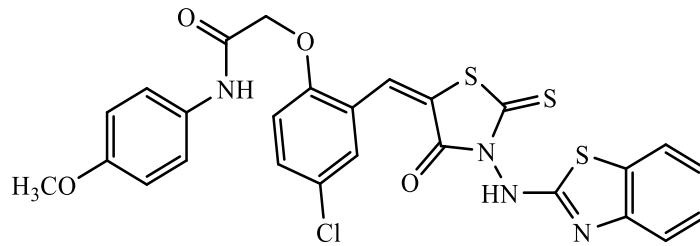
Şekil 1.47. *N*-(Benzotiyazol-2-il)-2-{5-[1-(süstitüe fenoksi)etil]-1,3,4-oksadiazol-2-il-tiyo}asetamit türevi bileşikler

Song ve ark. (2008), bir seri amit ve üre taşıyan benzotiyazol türevi bileşikler sentezlenmişler ve insan SK-Hep-1 (karaciğer), MDA-MB-231 (göğüs) ve NUGC-3 (mide) kanser hücre hatlarında güçlü antiproliferatif etki gözlemişlerdir (Şekil 1.48.).



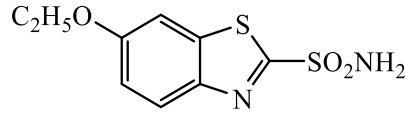
Şekil 1.48. Amit ve üre taşıyan benzotiyazol türevi bileşikler

Mosula ve ark. (2009), yeni benzotiyazol bağlı 2-tiyokso-4-tiyazolidinon türevi bileşikler sentezlemişler ve böbrek, küçük olmayan hücreli akciğer ve over kanser hücre hatları üzerinde *in vitro* antikanser etki gözlemlemişlerdir (Şekil 1.49.).



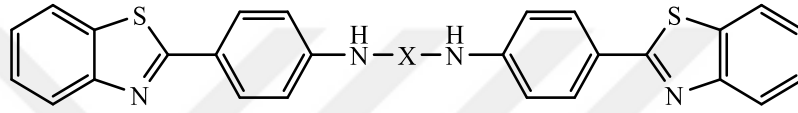
Şekil 1.49. Benzotiyazol bağlı 2-tiyokso-4-tiyazolidinon türevi bileşikler

Zhao ve ark. (2009), sülfonamit taşıyan bileşiklerin GST-katalizli hidrolizini incelemişler. Benzotiyazol-2-sülfonamit türevi bileşiklerin GST enzimi için iyi bir substrat olduğunu belirlemişlerdir (Şekil 1.50.).



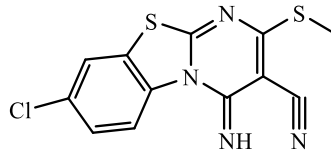
Şekil 1.50. Benzotiyazol-2-sülfonamit türevi bileşikler

Gupta ve ark. (2010), bir seri benzotiyazol türevi bileşik sentezlemişler ve bazı kanser hücre hatlarına karşı *in vitro* sitotoksik etkilerini test etmişlerdir. Biyolojik değerlendirme sonucu, dimer yapıların kanser hücre hatlarına karşı daha iyi etki gösterdiği gözlenmiştir (Şekil 1.51.).



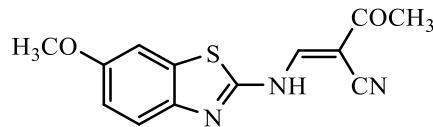
Şekil 1.51. Dimer yapıdaki benzotiyazol türevi bileşikler

Labhsetwar ve ark. (2010), 8-kloro-3-siyano-4-imino-2-metiltiyo-4*H*-pirimido [2,1-*b*][1,3]benzotiyazol ve 2-süstitüe türevlerini sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşikler, Amerika Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI)'nde 60 insan kanser hücre hattına karşı *in vitro* antikanser etkileri test edilmiş ve tüm bileşikler dikkate değer antikanser etki göstermiştir (Şekil 1.52.).



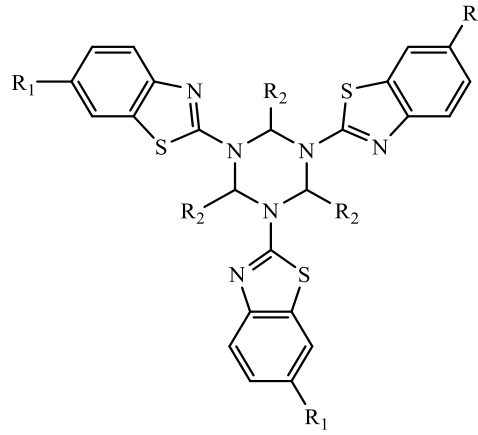
Şekil 1.52. 8-Kloro-3-siyano-4-imino-2-metiltiyo-4*H*-pirimido[2,1-*b*][1,3]benzotiyazol

Repický ve ark. (2010), 2-asetil-3-(6-metoksibenzotiyazo)-2-ilamino-akrilonitril bileşiğinin sitotoksik/antiproliferatif etkisini test etmişlerdir (Şekil 1.53.).



Şekil 1.53. 2-Asetil-3-(6-metoksibenzotiyazo)-2-ilamino-akrilonitril

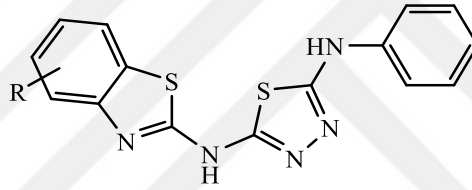
Pareek ve ark. (2011), benzotiyazol bağlı heksahidro-s-triazin türevi bileşikler sentezlemişler ve hepatik ve göğüs kanser hücre hatlarına karşı belirgin antiproliferatif etkilerini tanımlamışlardır (Şekil 1.54.).



R₁: -Cl, -Br, -CH₃, -OCH₃, -OC₂H₅, -NO₂; **R₂:** -H, -CH₃

Şekil 1.54. Benzotiyazol bağlı heksahidro-s-triazin türevi bileşikler

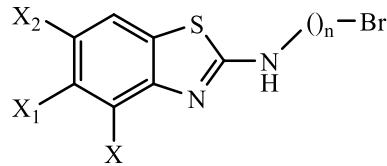
Sekar ve ark. (2011), tiyadiazol taşıyan benzotiyazol türevi bileşikler sentezlenmişler ve insan kronik miyeloid lösemili kanser hücre hatlarına karşı *in vitro* antikanser etki bulmuşlardır (Şekil 1.55.).



R: 4-F, 4-Cl, 4-Br, 4-OCH₃, 4-NO₂, 4,6-diNO₂

Şekil 1.55. Tiyadiazol taşıyan benzotiyazol türevi bileşikler

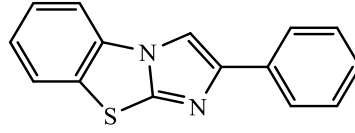
Gill ve Bedi (2012), 2-aminobenzotiyazol türevi bileşikler sentezlemiş ve 10, 50 ve 100 µM konsantrasyonlarda akciğer, prostat, lösemili ve kolon olarak dört farklı insan kanser hücre hattına karşı *in vitro* sitotoksik etkilerini incelemişlerdir (Şekil 1.56.).



X₂: -OCH₃, **X=X₁:** -H, **n:** 3
X₂: -F, **X=X₁:** -H, **n:** 3 ve **X:** -Cl, **X₁=X₂:** -H, **n:** 3

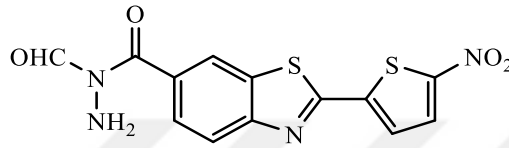
Şekil 1.56. 2-Aminobenzotiyazol türevleri

Furlan ve ark. (2012), 2-fenilimidazo[2,1-*b*]benzotiyazol türevi bileşiklerin kanser hücreleri üzerinde onkogenik moleküler işaretleyicilerine göre antitümöral etkilerini incelemişlerdir (Şekil 1.57.).



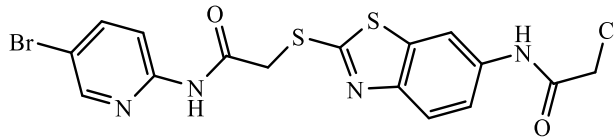
Şekil 1.57. 2-Fenilimidazo[2,1-*b*]benzotiyazol türevi bileşikler

Rodrigues ve ark. (2012), *N'*-formil-2-(5-nitrotiyofen-2-il)benzotiyazol-6-karbohidrazid bileşiğinin sitotoksik etkisini çalışmışlar ve insan göğüs kanser hücrelerinde potansiyel *in vitro* antineoplastik etki gözlemlemişlerdir (Şekil 1.58.).



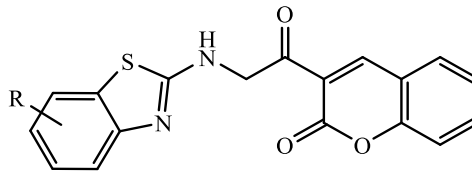
Şekil 1.58. *N'*-Formil-2-(5-nitrotiyofen-2-il)benzotiyazol-6-karbohidrazid

Shi ve ark. (2012), bir seri yeni benzotiyazol-2-tiyol türevi bileşikler sentezlemişler ve antitümöral etkilerini incelemişlerdir piridinil-2-amin bağlı türevlerinin SKRB-3 (göğüs), SW620 (kolon), A549 (akciğer) ve HepG2 (karaciğer) kanser hücre hattı üzerinde güçlü etki gösterdiklerini belirlemişlerdir (Şekil 1.59.).



Şekil 1.59. Benzotiyazol-2-tiyol türevi bileşikler

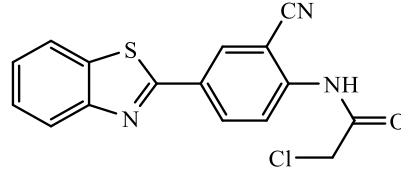
Bolakatti ve ark. (2013), yeni benzotiyazolil-kumarin türevi bir seri bileşik sentezlemişler ve Ehrlich Ascites Carcinoma'lı (EAC) fare ve iki insan kanser hücre hattına (MCF-7 ve HT29) karşı *in vitro* sitotoksik etki gösterdiklerini belirlemişlerdir (Şekil 1.60.).



R: 6-F, 6-Cl, 6-NO₂, 6-H, 6,7-dikloro, 6-F-7-Cl

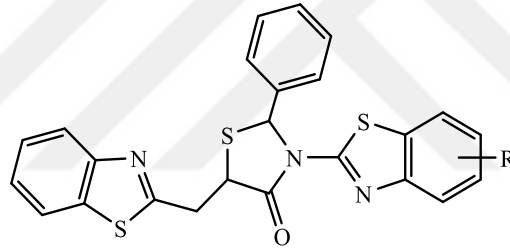
Şekil 1.60. Benzotiyazolil-kumarin türevi bileşikler

Kandeel ve ark. (2013), 2-[4-(2-kloroasetamido)-3-siyanofenil]benzotiyazol ve türevlerini sentezlemişler. 2-[4-(2-Kloroasetamido)-3-siyanofenil]benzotiyazol bileşiğinin, göğüs kanserine karşı en güçlü *in vitro* antitümoral etkiyi gösterdiğini belirlemişlerdir (Şekil 1.61.).



Şekil 1.61. 2-[4-(2-Kloroasetamido)-3-siyanofenil]benzotiyazol

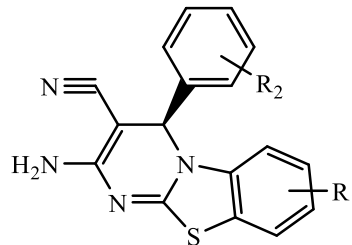
Seetaramswamy ve ark. (2013), bazı yeni *bis*-benzotiyazol türevi bileşikler sentezlemişler ve tüm bileşiklerin HeLa (boyun) hücre hattına karşı iyi *in vitro* antikanser etki gösterdiğini belirlemişlerdir (Şekil 1.62.).



R: 6-F, 6-Cl, 6-Br, 6-NO₂, 6-OCH₃, 4,6-diNO₂

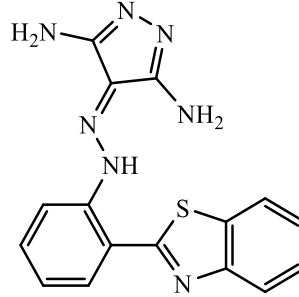
Şekil 1.62. *Bis*-Benzotiyazol türevi bileşikler

Yadav Mukesh ve ark. (2013), mikrodalga destekli sübstitüe pirimido[2,1-*b*][1,3]benzotiyazol türevi bileşikler sentezlemişler ve bu bileşiklerin belirgin antikanser etkileri olduğu tespit edilmiştir (Şekil 1.63.).



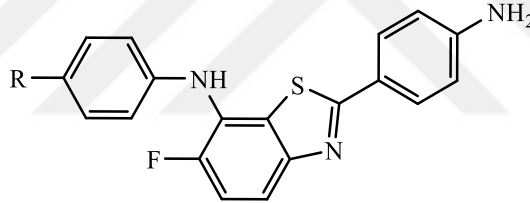
Şekil 1.63. Sübstitüe pirimido[2,1-*b*][1,3]benzotiyazol türevi bileşikler

Abdelgawad ve ark. (2014), yeni benzotiyazol bağılı pirazol türevi bileşikler sentezlemişler ve belirgin antitumor sitotoksikite bulmuşlardır (Şekil 1.64.).



Şekil 1.64. Benzotiyazol bağılı pirazol türevi bileşikler

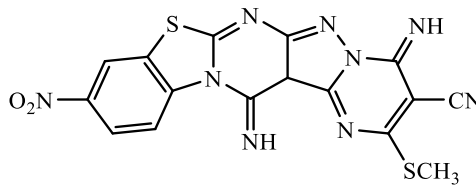
Bolakatti ve ark. (2014), 2-(4-aminofenil)-6-floro-*N*-(süstitüe fenil) benzo[*d*]tiyazol-7-amin türevi bileşikler sentezlemişler ve çeşitli insan kanser hücre hatları üzerine *in vitro* sitotoksik etkilerini taramışlardır. Bileşiklerin özellikle MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde belirgin antitümoral etkisi gözlenmiştir (Şekil 1.65.).



R: -F, -Cl, -Br, -H, -CH₃, 2,4-dimetil, 4-OCH₃

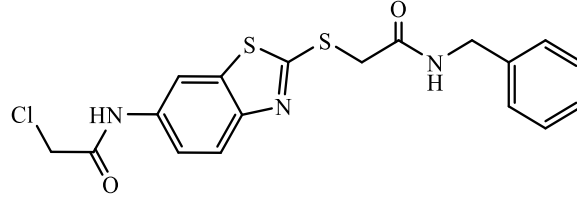
Şekil 1.65. 2-(4-Aminofenil)-6-floro-*N*-(süstitüe fenil)benzo[*d*]tiyazol-7-amin türevleri

Chidrawar ve ark. (2014), yeni 3-siyano-4,14-diimino-2-metiltiyo-10-nitropirimido[2,3-*b*]pirazolo[3,4-*e*]pirimido[2,3-*b*][1,3]benzotiyazol ve 2-süstitüe türevlerini sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşikler, lösemi, küçük hücreli dışı akciğer kanseri, melanoma, over kanseri, böbrek kanseri ve göğüs kanserine karşı dikkate değer antikanser etki göstermiştir (Şekil 1.66.).



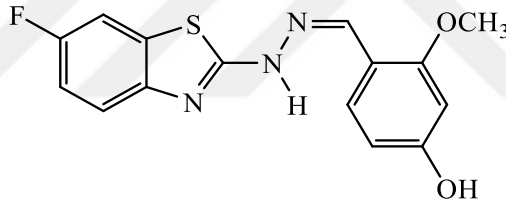
Şekil 1.66. 3-Siyano-4,14-diimino-2-metiltiyo-10-nitropirimido[2,3-*b*]pirazolo[3,4-*e*]pirimido[2,3-*b*][1,3] benzotiyazol

Peng ve ark. (2014), bilgisayar destekli ilaç tasarım ve *de novo* sentezi kullanarak bazı yeni benzotiyazol-2-tiyol türevi bileşikler sentezlemişler ve çeşitli insan kanser hücreleri üzerinde güçlü antiproliferatif etki gösterdiklerini belirlemişlerdir (Şekil 1.67.).



Şekil 1.67. Benzotiyazol-2-tiyol türevi bileşikler

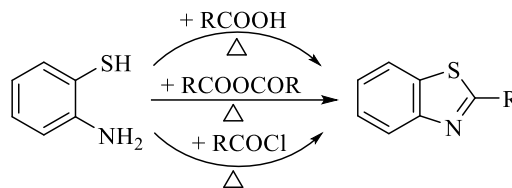
Gabr ve ark. (2016), bir seri yeni benzotiyazol içeren schiff bazları sentezlemişler ve serviks (Hela) ve böbrek fibroblast (COS-7) kanser hücre hatlarına karşı antitumoral etkisini taramışlar ve özellikle serviks kanserine dikkate değer etki gösteren bileşikler belirlemişlerdir. Her iki hücre hattına karşı en etkili olarak schiff bazında 4-hidroksi-2-metoksi fenil içeren bileşik bulunmuştur (Şekil 1.68.).



Şekil 1.68. Benzotiyazol içeren schiff bazlarından en etkili bileşik

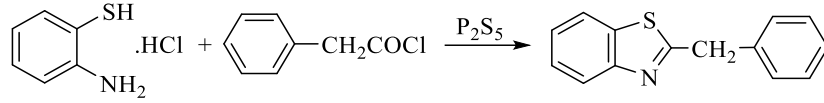
1.3. Benzotiyazol Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri

Hoffman (1879), uygun asitleri, asit klorürlerini ve asit anhidritlerini o-aminotiyofenolle birleştirmek suretiyle, 2-sübstitübenzotiyazol sentezini gerçekleştirmiştir (Şekil 1.69.).



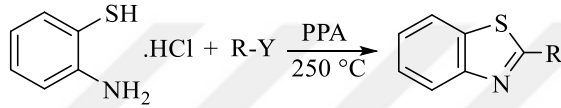
Şekil 1.69. 2-Sübstitübenzotiyazol türevlerinin sentezi

Hamer (1956), 2-benzilbenzotiyazolü, *o*-aminotiyofenol.HCl ve fenilasetil klorürü fosforpentasülür katalizörlüğünde ısıtmak suretiyle elde etmiştir (Şekil 1.70.).



Şekil 1.70. 2-Benzilbenzotiyazol sentezi

Hein ve ark. (1957), *o*-aminotiyofenol ile karboksilik asit, ester, amit ve siyano gruplarının PPA ile reaksiyonu sonucu 2-süstitüe benzotiyazol türevlerine ulaşmışlardır (Şekil 1.71.).

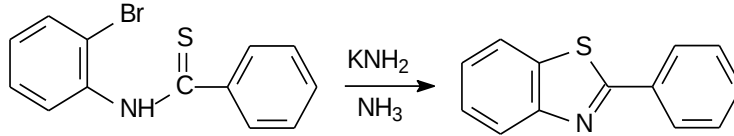


Y: -COOH; -COOR; CONH₂; -CN

R= -CH₃; -fenil; *m*-tolil; *o*-aminofenil; *o*-klorofenil; *o*-karboksifenil; 3,4-diklorofenil; *o*-hidroksifenil; 3-hidroksi-2-naftil; 2-piridil

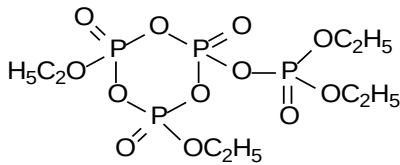
Şekil 1.71. 2-Alkil / Aril benzotiyazol sentezi

Hrutford ve Bunnett (1958), 2-fenilbenzotiyazolü, tiyobenz-*o*-bromoanilidi KNH₂ ve sıvı NH₃ ile muamele ederek %90 verimle hazırlamışlardır (Şekil 1.72.).

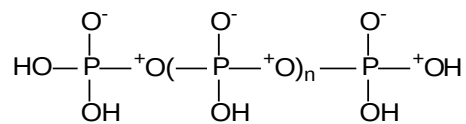


Şekil 1.72. 2-Fenilbenzotiyazol sentezi

İyi bir siklizasyon reajanı olan polifosfat esterleri (PPE) (Şekil 1.73.), 90 °C ve altındaki sıcaklıklardaki reaksiyonlarda PPA (Şekil 1.74.) yerine kullanılabilir (Kanaoka ve ark., 1970). PPE, Pollmann ve Schramm tarafından hazırlanmış bir siklizasyon reajanıdır. İyi bir çözücü olup, oksitleyici değildir (Pollmann ve Schramm, 1964).

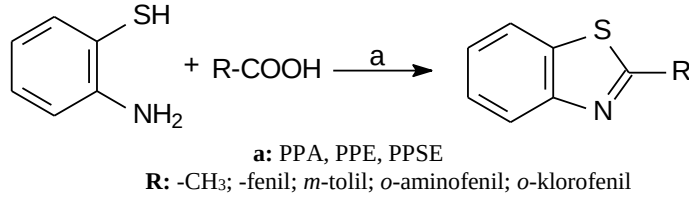


Şekil 1.73. PPE



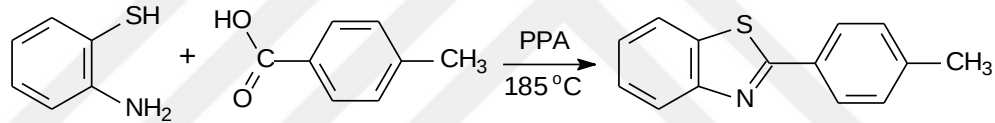
Şekil 1.74. PPA

Birçok araştırmacı 2-sübstitübenzotiyazol türevlerini, *o*-aminotiyofenol ile uygun asidini PPE katalizörlüğünde ısıtarak elde etmişlerdir (Şekil 1.75.) (Kanaoka ve ark., 1970 ve Wagner ve Eppner, 1980).



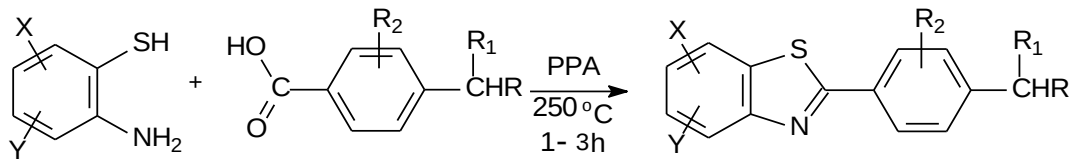
Şekil 1.75. PPA, PPE veya PPSE ile 2-alkil / aril benzotiyazol sentezi

Palmer ve ark. (1971), *p*-toluik asiti 100 °C'deki polifosforik asite ilave etmişler ve sonrasında oluşan karışıma da sıcaklık 185 °C'e çıkana kadar yavaş yavaş *o*-aminotiyofenol eklemiştir. İşlem sonucunda, 2-(*p*-metilfenil)benzotiyazol sentezlemiştir (Şekil 1.76.).



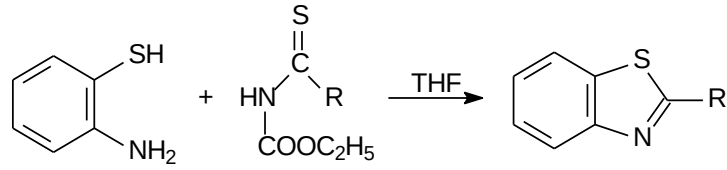
Şekil 1.76. 2-(*p*-Metilfenil) benzotiyazol sentezi

Conrad ve Plainfield (1974), bazı sübstitübenzotiyazol türevi bileşikleri, 3-(4,5,6)-mono/disübstitü *o*-aminotiyofenol ile 2(3)-floro-4-sübstitü / 4-sübstitü benzoik asit türevlerini PPA içerisinde muamele ederek elde etmişlerdir (Şekil 1.77.).



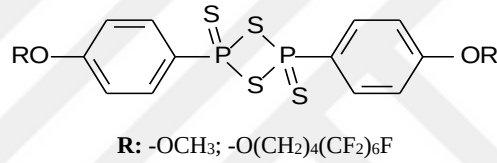
Şekil 1.77. Bazı sübstitübenzotiyazol türevi bileşiklerin sentezi

George ve Papadopoulos (1977), *N*-etoksikarboniltiyooamit bileşiği *o*-aminotiyofenol ile THF varlığında ısıtmak suretiyle 2-sübstitübenzotiyazol türevlerini elde etmişlerdir (Şekil 1.78.).

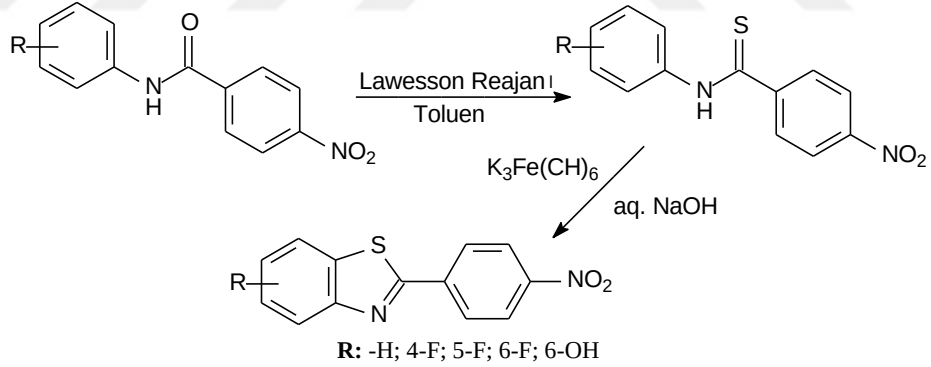


Şekil 1.78. 2-Süstitübenzotiyazol türevlerinin sentezi

Bazı araştırmacılar, benzamit türevlerinden tiyobenzamit türevlerine Lawesson reajanı (Şekil 1.79.) (Kaleta ve ark., 2006; Pedersen ve ark., 1978 ve Varma ve Kumar, 1999) yardımıyla geçmişler (Huang ve ark., 2006 ve Shi ve ark., 1996) ve bunu da, alkali potasyum ferrisiyanat ile muamele ederek, Jacobsen siklizasyon yöntemi kullanarak, 2-(4-nitrofenil)benzotiyazol türevi bileşik elde etmişlerdir (Şekil 1.80.) (Henricksen ve ark., 2007; Hutchinson ve ark., 2000; Hutchinson ve ark., 2001 ve Wang ve ark., 2006;).

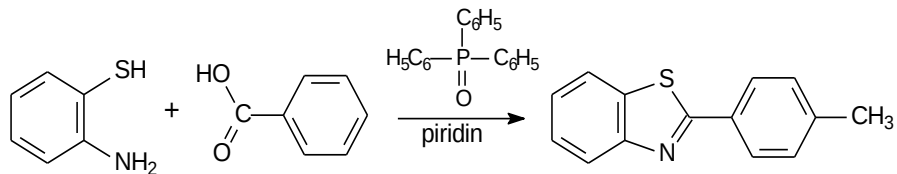


Şekil 1.79. Lawesson Reajanı



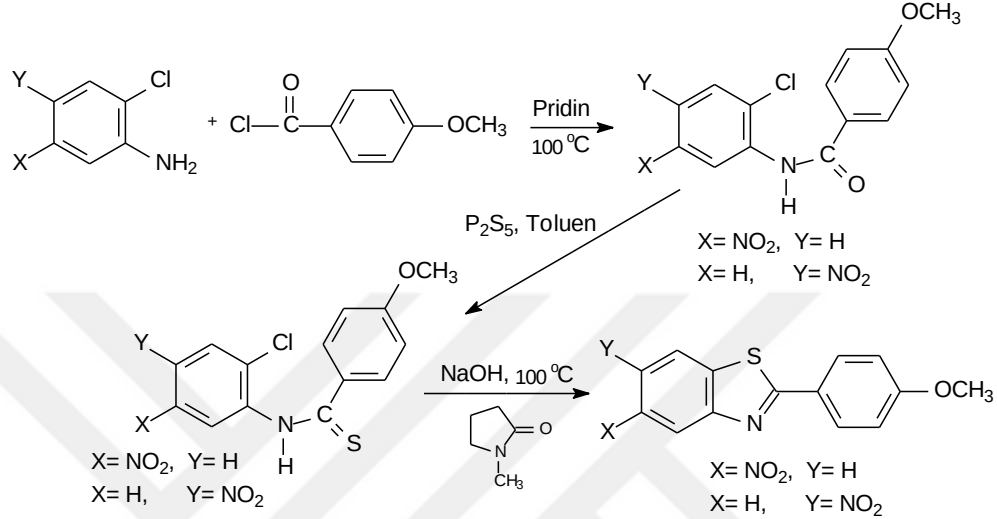
Şekil 1.80. Katı Faz Yöntemi ile 2-(4-nitrofenil)benzotiyazol türevlerinin sentezi

Rabilloud ve Sillon (1979), benzotiyazol yapılarını o-aminofenol, o-fenilendiamin ve o-aminotiyofenol ile benzoik asidi, trifenilfosfit ve piridin karışımında ısıtarak elde etmişlerdir (Şekil 1.81.).



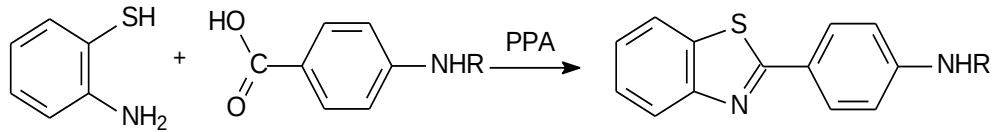
Şekil 1.81. 2-(4-Metülfenil)benzotiyazol sentezi

Kim ve ark. (1996), *o*-kloroanilin türevlerini *p*-metoksibenzoil klorür ile reaksiyona sokarak *p*-metoksibenzamit türevlerine, oradan da toluen varlığında, fosforpentasülfür ile *p*-metoksitiyobenzamit türevlerine geçmişler, oluşan ürünün 2-pirrolidinon ile ısıtılması sonucu siklizasyon gerçekleşmiş ve benzotiyazol yapılarını elde etmişlerdir (Şekil 1.82.).



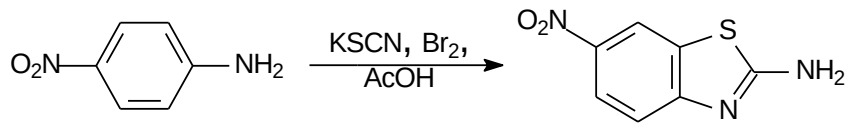
Şekil 1.82. 2-(*p*-Metoksifenil)benzotiyazol sentezi

Bazı araştırmacılar, 4-süstitübenzoik asit ile 2-aminotiyofenölü PPA varlığında reaksiyona sokarak 4-24 saat arasında değişen sürelerde ve 140 °C-220 °C sıcaklıkta, 2-aril benzotiyazol türevi bileşikler elde etmişlerdir (Şekil 1.83.) (Billeau ve ark., 2006; Henricksen ve ark., 2007; Kini ve ark., 2007; Mathis ve ark., 2002; Phoon ve ark., 2001 ve Shi ve ark., 1996).



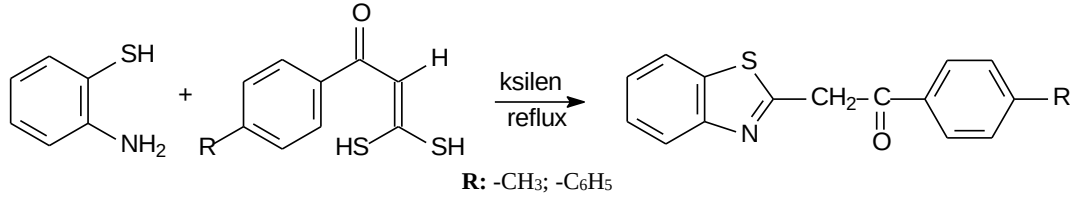
Şekil 1.83. 2-Aril benzotiyazol türevi bileşiklerin sentezi

Leng ve ark. (2001) ile Trapani ve ark. (1996 ve 2001), *p*-nitroanilinden hareketle, potasyum tiyosiyanat, brom ve asetik asitli ortamda 2-amino-6-nitrobenzotiyazol bileşiğini elde etmişlerdir (Şekil 1.84.).



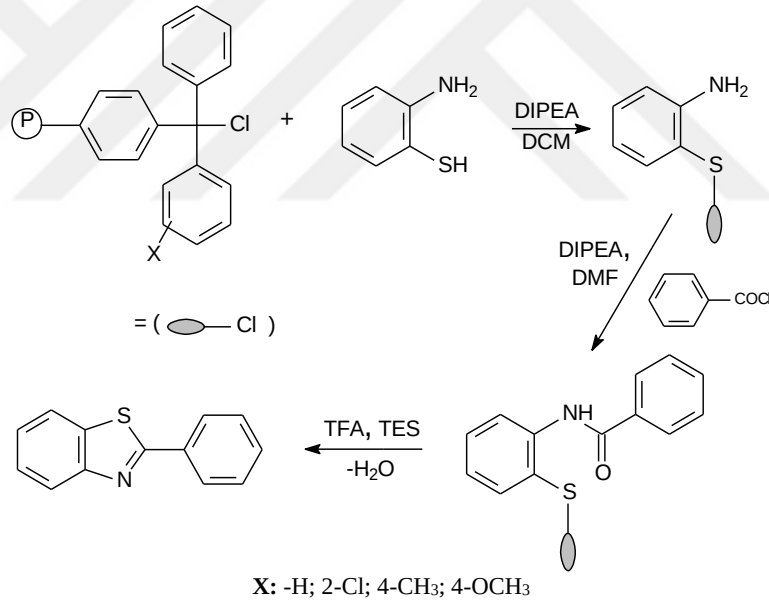
Şekil 1.84. 2-Amino-6-nitrobenzotiyazol sentezi

Zerzouf ve ark. (1999), *o*-aminotiyofenol ile *p*-süstitüe-(3,3-ditiyohidroksi-2-propenoi)benzenden, ksilen varlığında 2-(*p*-süstitübenzoil)metilbenzotiyazol sentezini gerçekleştirmişlerdir (Şekil 1.85.).



Şekil 1.85. 2-(*p*-Süstitüe benzoil)metilbenzotiyazol sentezi

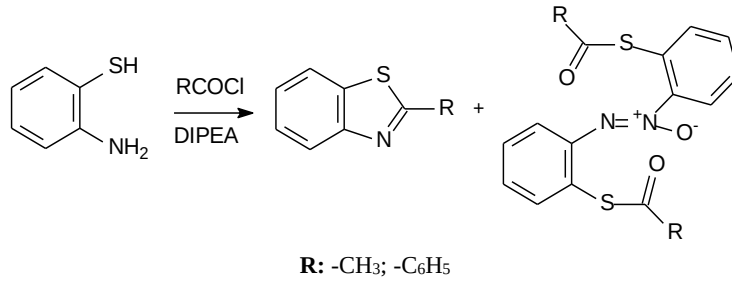
Mourtas ve ark. (2001) ile Choi ve ark. (2006), katı-faz sentez yöntemi kullanarak, tritil reçinesi⁽¹⁾ yardımıyla 2-fenilbenzotiyazol türevi bileşikler sentezlemişlerdir (Şekil 1.86.).



Şekil 1.86. Katı Faz Yöntemi ile 2-fenilbenzotiyazol sentezi

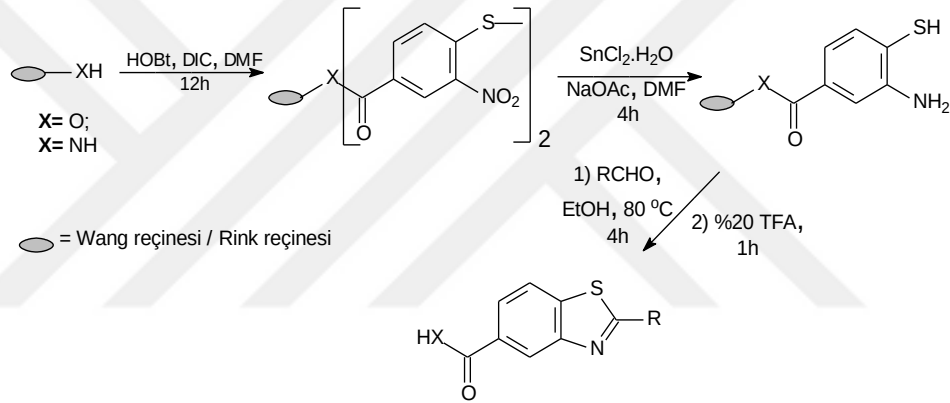
Mourtas ve ark. (2001), katı-faz sentez yöntemi (SPOS) kullanarak, eşit mollerde aldıkları benzoil ve asetilklorür ile dimetilformamit (DMF) içerisindeki diisopropiletilamin (DIPEA)'in reaksiyonu sonucu, 2-metil/fenilbenzotiyazol yapılarına geçmişlerdir (Şekil 1.87.).

⁽¹⁾ Trityl Resin; Erişim:[<http://glycopep.com/Webcat/Trityl/Trityl.html>], Erişim Tarihi: 26/01/2016.



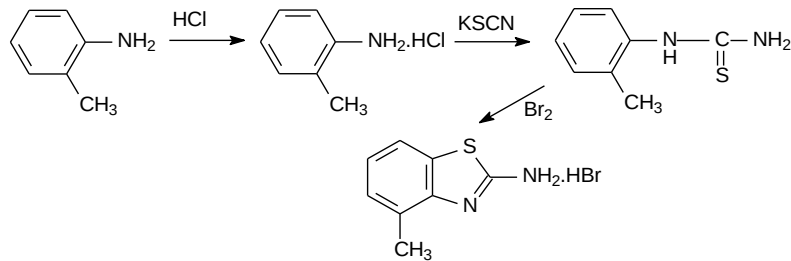
Şekil 1.87. Katı Faz Yöntemi ile 2-metil/fenilbenzotriazol sentezi

Lee ve ark. (2001), *bis*-(2-nitro-4-karboksifenil)disülfid yapısını Wang⁽²⁾ veya Rink amit⁽³⁾ Reçineleri'ne bağlayarak, nitro grubunu amin grubuna redüklemişlerdir. Daha sonra, halkanın kapatılmasıyla, trifloroasetik asit (TFA) ile reçinenin ayrılmasını sağlayarak 2-süstitüe-5-karboksi/karbamidobenzotriazol yapılarını elde etmişlerdir (Şekil 1.88.).



Şekil 1.88. Katı Faz Yöntemi ile 2-süstitüe-5-karboksi/karbamidobenzotriazol sentezi

Dong ve ark. (2002), *o*-metilanilinden hareketle, bazı 2-amino-4-metilbenzotriazolün hidrobromür tuzunu sentezlemişlerdir (Şekil 1.89.).

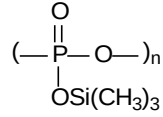


Şekil 1.89. 2-Amino-4-metilbenzotriazol sentezi

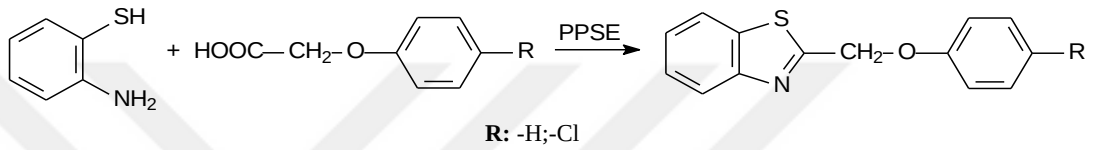
⁽²⁾ Wang Resin; Erişim:[<http://glycopep.com/Webcat/Wang/Wang.html/>], Erişim Tarihi: 26/01/2016.

⁽³⁾ Rink Amit Resin; Erişim:[<http://glycopep.com/Webcat/RinkAmide/RinkAmide.html/>], Erişim Tarihi: 26/01/2016.

Akbay ve ark. (2003), benzotiyazoller, uygun karboksilik asitler ile o-aminotiyofenöl PPSE (Şekil 1.90.) katalizörlüğünde ısıtarak elde etmişlerdir. Yıldız-Ören ve ark. (2004), 2-(4-süstitüe fenoksimetil)benzotiyazol eldesinde PPSE kullanmışlardır (Şekil 1.91.). PPSE'nin, PPA ve PPE'ye göre üstünlükleri, daha iyi su çekici olması ve daha yüksek verimle, daha saf ürün oluşmasını sağlamasıdır (Aizpurua ve Palomo, 1984).

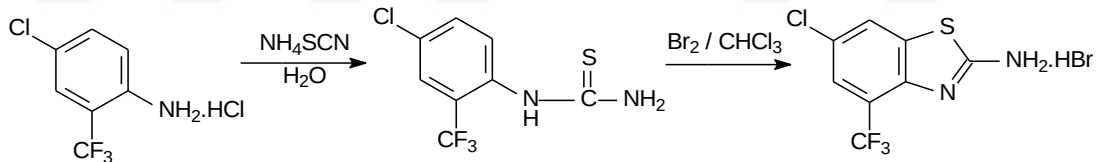


Şekil 1.90. PPSE



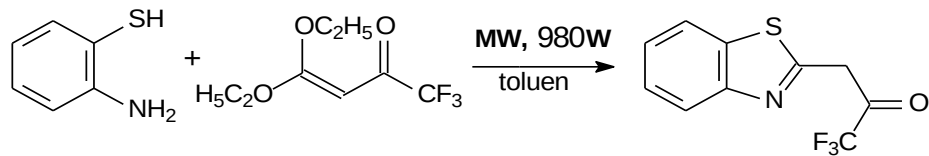
Şekil 1.91. 2-(4-Süstitüe fenoksi)metilbenzotiyazol sentezi

Thomas ve ark., 2-amino-6-kloro-4-(trifluorometil)benzotiyazol bileşiğini, tiyoüre yapısının, brom ile siklizasyonu sonucunda elde etmişlerdir (Şekil 1.92.) (Thomas ve ark., 2003).



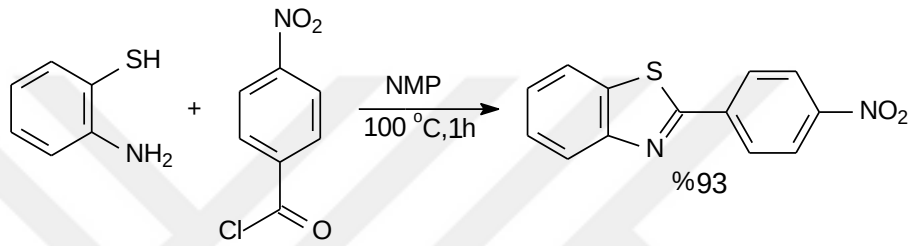
Şekil 1.92. 2-Amino-6-kloro-4-(trifluorometil)benzotiyazol sentezi

Son zamanlarda kullanımı giderek artan mikrodalga teknolojisi ile kısa sürede yüksek verimle sonuç ürünler elde edilebilmektedir. Katritzky ve Singh, o-süstitüe anilinlerden hareketle mikrodalga koşullarında çözücü olarak toluen kullanılarak, benzotiyazol yapılarını elde etmişlerdir. Mikrodalga yöntemi ile 11 dakikada, % 86-96 verimle ürün elde edilirken, diğer yöntemler ile 3,5 saat, %40-50 verimle elde edilmiştir (Şekil 1.93.) (Katritzky ve Singh, 2003).

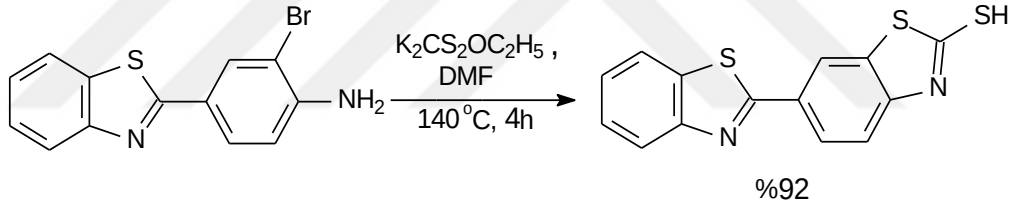


Şekil 1.93. Mikrodalga kullanarak benzotiyazol halkası sentezi

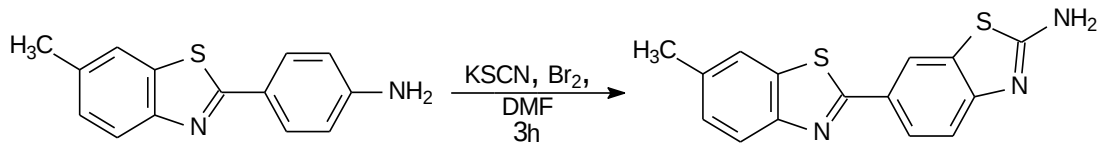
Karlsson ve ark. (2003 ve 2004), *o*-aminotiyofenol'ün çeşitli aromatik asit klorürleri ile *N*-metil pirrolidin (NMP) içerisinde muamele edilmesi sonucu, benzotiyazol türevlerini sentezlemişlerdir (Şekil 1.94.). Aynı araştırmacılar, 2-(4-amino-3-bromofenil) benzotiyazolü, dimetilformamit (DMF) varlığında, potasyum *O*-etil ditiyokarbonat ile muamele ederek *bis*-benzotiyazol türevine ulaşmışlardır (Şekil 1.95.). Diğer bir araştırmalarında da, dimetilformamit varlığında, 2-(4-aminofenil)-5-metilbenzotiyazolü, potasyum tiyosiyanat ile muamele ederek *bis*-benzotiyazol türevine ulaşmışlardır (Şekil 1.96.).



Şekil 1.94. 2-(*p*-Nitrofenil)benzotiyazol sentezi



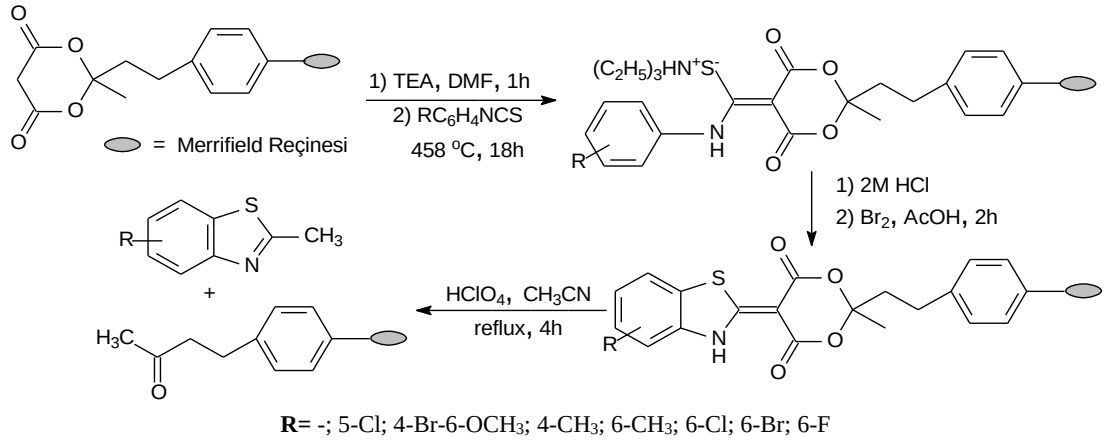
Şekil 1.95. K₂CS₂OC₂H₅ ile *bis*-benzotiyazol türevi bileşiklerin sentezi



Şekil 1.96. KSCN ile *bis*-benzotiyazol türevi bileşiklerin sentezi

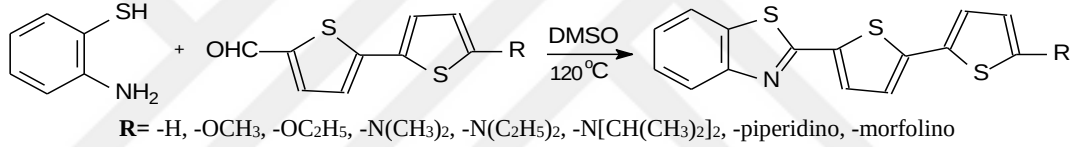
Huang ve Tank (2003), katı faz sentez yöntemi kullanarak aril izosiyanatlar ile Merrifield Reçinesi⁽⁴⁾ne bağlı siklik malonik esterlerin reaksiyonu ile, 2-metilbenzotiyazol türevi bileşikler sentezlemişlerdir (Şekil 1.97.).

⁽⁴⁾ Merrifield resin; Erişim:[<http://glycopep.com/Webcat/Merrifield/Merrifield.html/>], Erişim Tarihi: 26/01/2016.



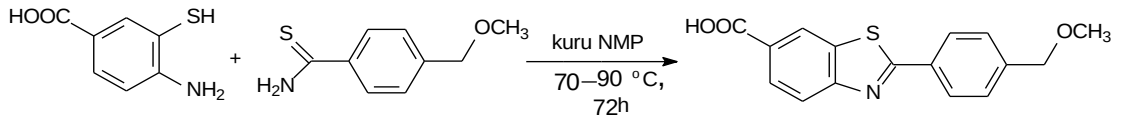
Şekil 1.97. Katı Faz Sentez Yöntemi ile 2-metilbenzotriazol türevi bileşiklerin sentezi

Batista ve ark. (2004), bitienil-1,3-benzotriazol türevi bazı bileşikleri, çeşitli 5-formil-5-alkoksi veya 5-formil-*N,N*-dialkilamino-2,2-bitiyofen ile *o*-amino tiyofenolün reaksiyonu sonucu elde etmişlerdir (Şekil 1.98.).



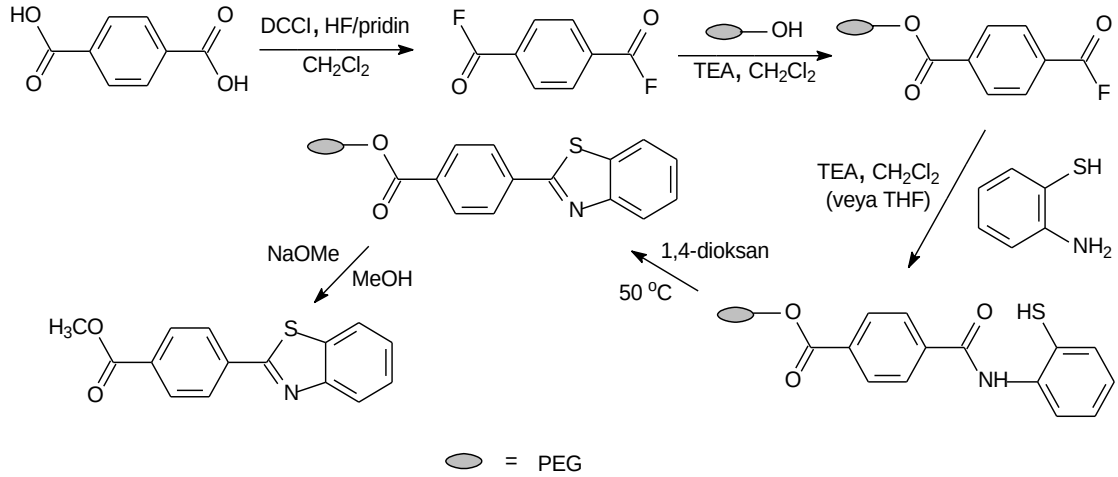
Şekil 1.98. Bitienil-1,3-benzotriazol türevi bileşiklerin sentezi

Mashraqui ve ark. (2004), 4-amino-3-merkpto-benzoik asiti, 4-metoksimetilbenzotiyooamit ile *N*-metil pirrolidon (NMP) içerisinde reaksiyona sokarak, 2-(4-metoksimetilfenil)-6-karboksibenzotriazol bileşiğini elde etmişlerdir (Şekil 1.99.).



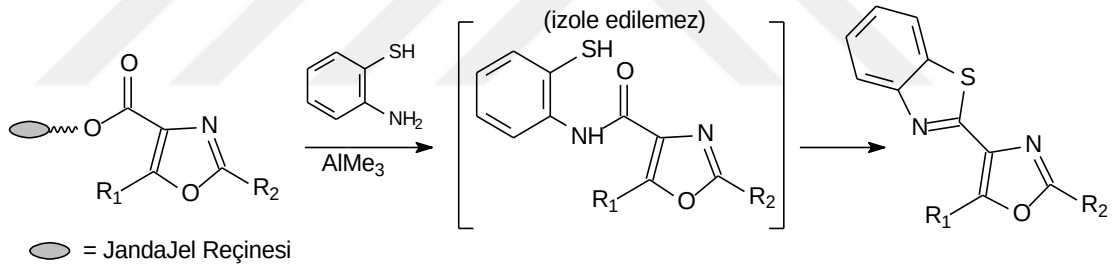
Şekil 1.99. 2-(4-Metoksimetilfenil)-6-karboksibenzotriazol türevlerinin sentezi

C. Chen ve Y.-J. Chen (2004), sıvı faz sentez yöntemi ile disikloheksilkarbodiimid (DCCI) ve hidrojen florür-piridin varlığında elde ettikleri tereftalik asit florürlerini trietilamin (TEA) varlığında, polietilenglikol (PEG) metil eter ile muamele etmişler ve PEG bağlı ftalil florürleri, TEA veya THF varlığında *o*-aminotiyofenol ile benzanilid türevi bileşik elde etmişlerdir. Sonrasında 1,4-dioksan ile halka kapatılıp, PEG koparılaraq, 2-(4-metoksikarbonilfenil)benzotriazol bileşiği %22-37 verimle sentezlenmiştir (Şekil 1.100.).



Şekil 1.100. Sıvı Faz Sentez Yöntemi ile 2-(4-metoksikarbonilfenil)benzotriazol sentezi

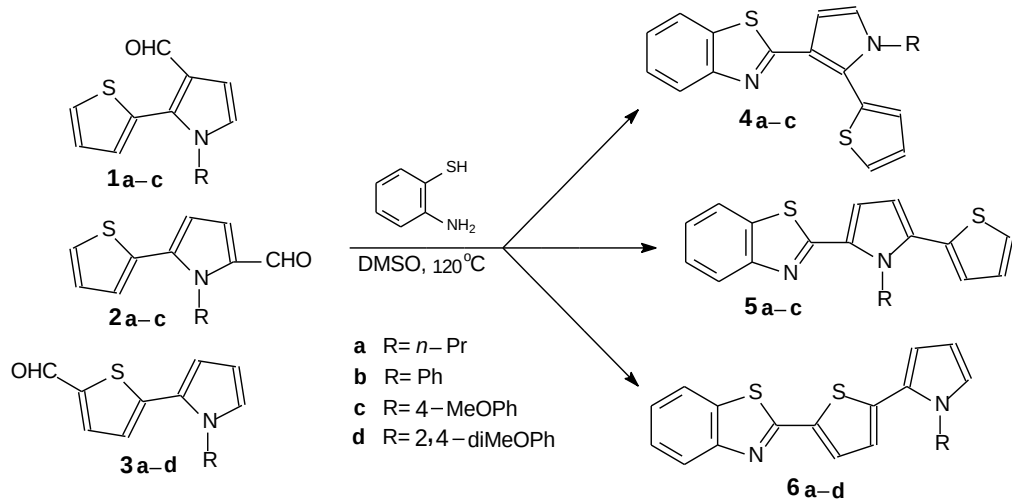
Matsushita ve ark. (2004), katı faz sentez yöntemi ile, 2-aminotiyofenolü JandaJel Reçinesi⁽⁵⁾ bağlı oksazol yapısı ile bir Lewis asiti olan AlMe_3 varlığında reaksiyona sokarak, 2-(2,5-disübstittüeoksazol-4-il)benzotriazol yapısını elde etmişlerdir (Şekil 1.101.).



Şekil 1.101. Katı Faz Sentez Yöntemi ile 2-(2,5-disübstittüeoksazol-4-il)benzotriazol sentezi

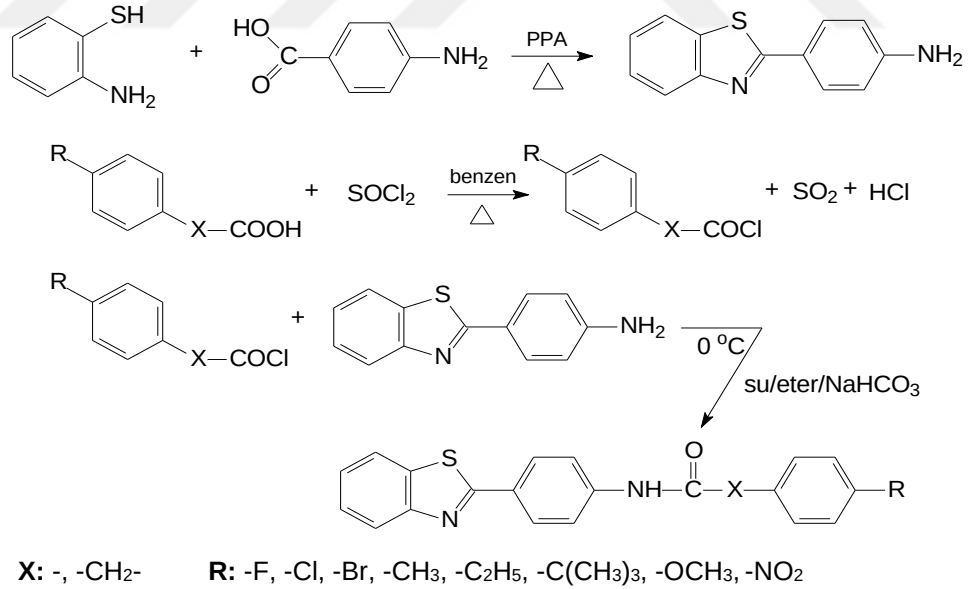
Batista ve ark. (2007), 3. / 5. konumlarında formil grupları taşıyan tiyofen ve pirrol halkaları kullanarak benzotriazol türevlerini sentezlemişlerdir. 4-6 Kodlu benzotriazol türevleri, *o*-aminobenzentiylol ile formil türevlerinin 120 °C'de 2-3 saat DMSO içerisinde karıştırılmasıyla elde edilmiştir (Şekil 1.102.).

⁽⁵⁾ JandaJel Resin. (Moss ve ark., 2002).



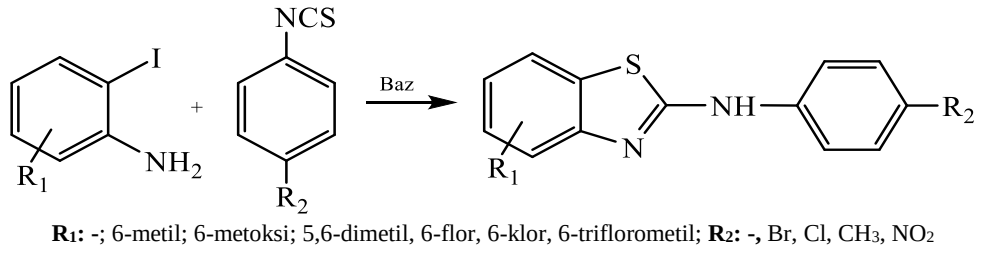
Şekil 1.102. Tienilpirrolilbenzotiyazol türevlerinin sentezi

Bolelli ve ark. (2012), 2-[4-(4-süstitüe-benzamido / fenilasetamido)fenil]-benzotiyazol türevi bileşikleri sentezlemişlerdir. Bu bileşikler, 4-amino benzoik asit ve 2-aminotiyofenol, PPA içerisinde 200 °C’de 4 saat geri çeviren dik soğutucu altında karıştırılıp, elde edilen 2-(4-aminofenil) benzotiyazolün çeşitli *p*-süstitüe benzoil/fenilasetil klorürler ile soğukta karıştırılarak elde edilmiştir.



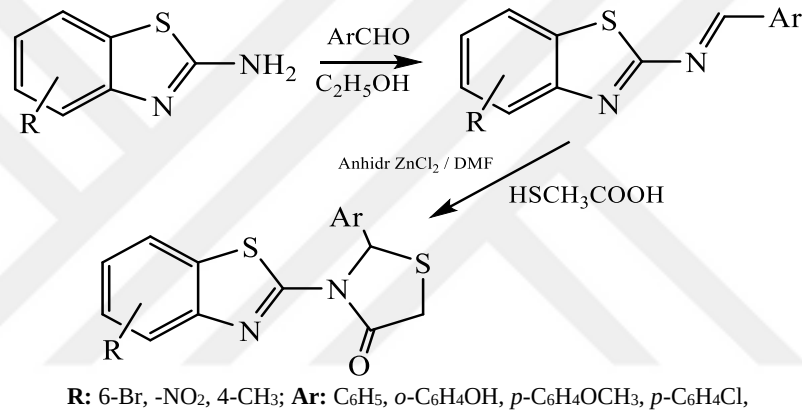
Şekil 1.103. 2-[4-(4-Süstitüe-benzamido / fenilasetamido)fenil]-benzotiyazol türevi bileşiklerin sentezi

Wang ve ark. (2012), *o*-iyodoanilin ve fenil izotiyosiyanatı oda sıcaklığında 1 saat karıştırıp ardından DMSO ve bir baz ilave ederek bir seri 2-(4-süstitüe anilino)-5,6-dimetil/6-süstitüe benzotiyazol türevi bileşikleri elde etmişlerdir (Şekil 1.104.).



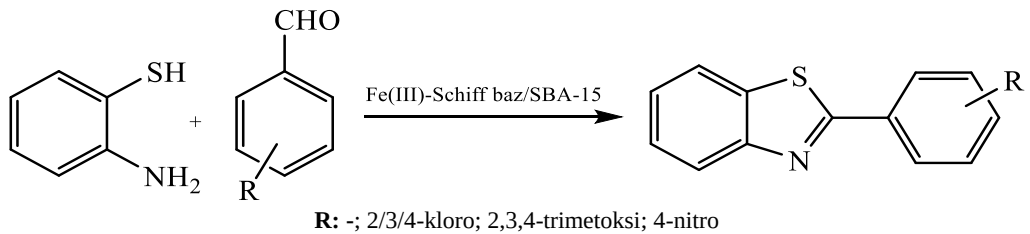
Şekil 1.104. 2-(4-Süstitüe anilino)-5,6-dimetil/6-süstitüe benzotriazol türevlerinin sentezi

Pareek ve ark. (2014), süstitüe 2-aminobenzotriazolden hareketle çeşitli benzaldehitler ile schiff bazlarını oluşturup, merkaptto asetik asit ile siklizasyon yaparak 2-tiyazolidinil benzotriazol türevi bileşikler elde etmişlerdir (Şekil 1.105.).



Şekil 1.105. 2-Tiyazolidinil benzotriazol türevi bileşiklerin sentezi

Bardajee ve ark. (2016), bir nanokatalizör olan Fe(III)-Schiff bazı/SBA-15 kullanarak *o*-aminotiyofenol ile süstitüe benzaldehitleri muamele ederek bir seri 2-(süstitüe fenil)benzotriazol bileşiklerini elde etmişlerdir (Şekil 1.106.).

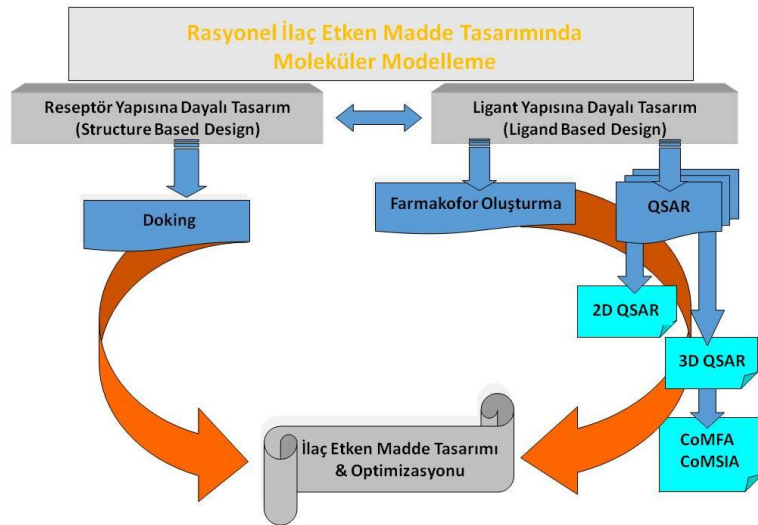


Şekil 1.106. 2-(Süstitüe fenil)benzotriazol türevlerinin sentezi

1.4. Moleküler Modelleme Teknikleri

Günümüzde spesifik etkili ilaç etken maddesi olabilecek yeni kimyasal bileşiklerin rasyonel tasarımını sağlayabilmek, farmasötik ve medisinal kimyacıların en önemli hedeflerinden biridir. Bu amaçla bilgisayar destekli ilaç etken madde tasarım ve geliştirme çalışmaları hızlı bir artış göstermektedir. Moleküler modelleme çalışmalarının amacı, bir molekülün kimyasal ve fiziksel özellikleri arasındaki temel ilişkiyi, kimyasal ve üç boyutlu (3D) yapısını anlamaktır. Bu anlayış, bu özelliklerin moleküllerin kimyasal, katalitik veya biyolojik fonksiyonlarıyla ilişkilendirilmesi ve en önemlisi değişen fonksiyona ait moleküllerin rasyonel olarak tasarlanmasına olanak sağlamaktadır. Kimyasal yapı ve fonksiyon arasındaki bu bağlantı, moleküler biyoloji, protein bilimi, ilaç tasarımı, kimyasal kataliz veya materyal ve polimer bilimi gibi birçok bilimsel alan için hayati önem taşımaktadır (Cohen, 1996).

Yeni ilaç etken madde geliştirme çalışmalarında moleküler modelleme teknikleri oldukça önemli bir yer tutmaktadır. Terapötik ajanların rasyonel tasarımı, moleküler modelleme çalışmalarının, araştırmacının bakış açısını yansıtması bakımından da önemlidir. Son yıllardaki bilgisayar donanım ve yazılımındaki gelişmeler moleküler modelleme çalışmalarını kolay uygulanabilir bir hale getirmiştir. İlaç tasarımındaki rasyonel yaklaşımlar, ligand yapısına dayalı tasarım ve hedef yapısına dayalı tasarım olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Şekil 1.107.).



Şekil 1.107. Rasyonel ilaç etken madde tasarım yöntemleri

Ligand yapısına dayalı tasarımda etki gösteren moleküllerin yapısından faydalanılarak reseptör yapısının yorumlanması amaçlanmaktadır. Hedef yapısına dayalı tasarımda ise, bilinen reseptör yapısından hareketle etki gösterebilecek moleküllerin tasarlanması amaçlanmaktadır (Young, 2009).

Moleküler modelleme teknikleri kullanılarak;

- Molekölün üç boyutlu yapısı ve fizikokimyasal özellikleri hakkında bilgi alınabilir.
- Molekölün başka moleküllerle kıyaslanması mümkün olabilir.
- İlaç reseptör etkileşimleri incelenebilir.
- Daha etkili bileşikler tasarlanabilir.

Yirminci yüzyılın ikinci yarısından itibaren araştırmacılar, yeni ilaç etken maddesi bileşiklere ulaşabilmek amacıyla kimyasal bileşiklerin moleküler yapıları ile biyolojik etkileri arasındaki ilişkileri tanımlama çalışmalarına yoğunlaşmışlardır. Bu yeni teknikler, yeni ilaç etken maddesi niteliğindeki kimyasal bileşiklerin geliştirilmesi, daha ideal etkili bileşiklere ulaşılması, etki mekanizmalarının tanımlanabilmesi etkinliklerinin yürütülmesinde giderek önemli rol kazanmışlardır (Akı-Şener ve Yalçın, 2003).

Reseptör yapısı belli olan hedeflere yönelik tasarlanan moleküllerin reseptördeki kavitelere uyumu ve amino asit kalıntılarıyla etkileşimleri, çeşitli açılardan irdelenebilmektedir. Bilgisayar ortamında 3D olarak ligand-reseptör etkileşmesi olarak ele alınan ve bu nedenle “reseptör -ya da yapısal- tabanlı ilaç tasarımı” olarak bilinen “docking” çalışmaları da bu sistem içinde yer almaktadır (Lengauer and Rarey, 1996). Bilgisayar destekli ilaç tasarımı genellikle mekanizmaya dayalı olarak yapılmaktadır. Mekanizmaya dayalı tasarım için fizyolojik yolak bilinmeli ve tüm çalışmalar moleküler düzeyde gerçekleştirilebilmelidir. Bir reseptörün yapısının aydınlatılmasında ligandın aktif konformasyonunun seçimi ve moleküllerin eşleştirilmesi oldukça önemlidir. Moleküller farklı sınıf bileşikler içinde olsalar bile, üç boyutlu yapılarının düzenlenmesiyle ortak özellikler gösterebilirler.

1.4.1. Ligand Tabanlı İlaç Tasarımı

1.4.1.1. Farmakofor Analizi

İlaç tasarımıda sık karşılaşılan, söz konusu reseptörün üç boyutlu yapısı bilinmediği durumlarda, moleküler modelleme çalışmalarıyla, ligandların yapıları iyice karakterize edilir ve bazen biyolojik etkide rol oynayan konformasyonları kesin bir biçimde ortaya çıkartılmaktadır. Reseptörün yapısı daha sonra bu tür ligandlardan ortaya çıkartılabilmekte veya ‘haritalanabilmektedir’; böylelikle mevcut yapı-etki ilişkilerini rasyonelize etmek ve yeni ilaç adaylarını tasarlamak için kullanabilmektedir. Ligandların biyolojik aktiviteleri için gerekli olan temel fonksiyonel grupların bağlı yönlendirimleri farmakoforu tanımlamaktadır. Diğer bir ifadeyle farmakofor, belli bir biyolojik aktivite için gerekli olan yapısal elemanların uzaysal düzenlemesidir. Oluşturulan model bağlanma veya inhibisyonu hakkında bilgi verebilir, daha çok sayıda aktif bileşiğin oluşturulması için bir temel oluşturabilir ve aynı farmakoforu içeren moleküllerin tanımlanmasına yardımcı olabilir. Bir farmakofor, yapısal olarak farklı ligandların ortak bir reseptöre bağlanmasına açıklama getirmektedir (Cohen, 1996).

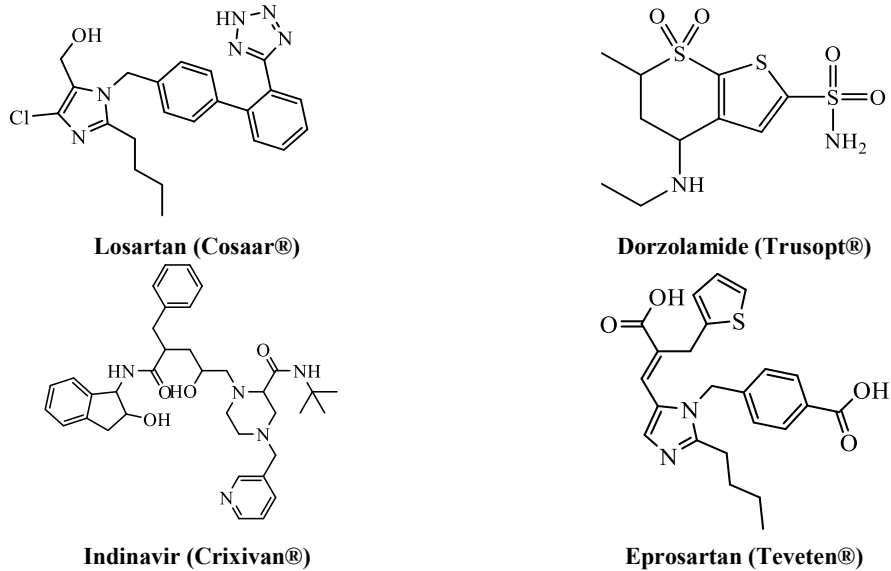
1.4.1.1.1. HipHop Yöntemi

HipHop metodu, spesifik olarak tedavi edici etkisi bilinen yada bilinmeyen bir seri molekülden hareketle; moleküllerin ortak özelliklerini gösteren farmakofor modelleri veya hipotezleri oluşturur. HipHop yöntemi ile farmakofor analizi ancak Unix sisteminde çalışan Catalyst paket programı yardımı ile uygulanabilmekteydi (Barnum ve ark.,1996; Greene ve ark., 1994; Hahn, 1995 ve 1997; Hirashima ve ark., 2001 ve 2002 ve Smellie ve ark., 1995). Günümüzde PC tabanlı Discovery Studio 3.5. programı ile de yapılmaktadır. Farmakofor modeli ise molekülün üç boyutlu yapısını kapsayan; hidrofobik gruplar, yüklü veya iyonize olabilen gruplar, hidrojen bağı donör ve akseptörleri gibi molekül özelliklerini gösterir. Bu özellikler, reseptöre bağlanmak için gerekli olan karakteristik özelliklerle benzeşen kimyasal fonksiyonları içerir.

Oluşturulan farmakofor modeli ile uyumlu olan bileşikler 3D veri tabanları olarak kullanılabilir ve sonuçta etkin yeni aday moleküllerin önerilmesini sağlar.

HipHop çalışmasına bir dizi molekülün konformasyonlarının aydınlatılması ile başlanır. Bir konformasyon, molekülün üç boyutlu alandaki farklı konumlanışını ifade eder. Bu konformasyonlardan en uygun ideal konumlu olan otomatik belirlenir ve hipotezler oluşturulur. Oluşturulan hipotezlerden hareketle yeni etkin bileşikler öngörülebilir.

Günümüzde moleküler modelleme teknikleri kullanılarak geliştirilmiş ilaç molekülleri bulunmaktadır. Angiotensin II reseptör antagonisti olarak hipertansiyon tedavisinde kullanılan Losartan (Cosaar®) (Duncia ve ark., 1990 ve 1992) ve Eprosartan (Teveten®) (Keenan ve ark., 1993 ve Weinstock ve ark., 1991); AIDS tedavisinde kullanılan Indinavir (Crixivan®) (Dorsey ve ark., 1994 ve Reynolds ve ark., 1995), karbonik anhidraz inhibitörü olarak glokom tedavisinde kullanılan Dorzolamide (Trusopt®) (Greer ve ark., 1994) bu moleküllere örnek olarak gösterilebilir. (Şekil 1.108.).



Şekil 1.108. Moleküler modelleme teknikleri kullanılarak geliştirilmiş ilaç molekülleri

1.4.2. Reseptör Tabanlı İlaç Tasarımı

1.4.2.1. Doking Yöntemi

Günümüzde medisinal kimya alanında bilgisayar kullanımı standart bir hal almıştır. Protein-ligand doking yöntemlerinin, yapısal tabanlı ilaç tasarımı konusundaki önemi tartışmasızdır. İlaç tasarımı, küçük moleküller ile reseptörler arasında yapılan doking çalışmaları gittikçe artan bir önem kazanmaktadır. (Schneider ve Böhm, 2002; Toledo-Sherman ve Chen, 2002 ve Waszkowycz, 2002)

Doking, kararlı bir kompleks oluşturmak üzere birbirine bağlandıklarında, bir molekülün ikinci bir moleküle tercih edildiği şekilde yönlendirilmesini tahmin eden bir yöntemdir (Lengauer and Rarey, 1996). Küçük molekülü ilaç adaylarının protein hedeflerine karşı affinitesini, bu proteinlere bağlanmasını ve dolayısıyla biyolojik aktivitesini önceden tahmin edebilmek için kullanılmaktadır. Bu nedenle, ilaçların rasyonel tasarımında önemli bir yeri bulunmaktadır (Chikhi ve Bensegueni, 2008 ve Kitchen ve ark., 2004).

Doking çalışmalarında hedef olarak ele alınan yapı, protein yapısındadır. Hedefin yapısının tanımlanmasında en çok X ışınları kristallografisi ve nükleer manyetik rezonans (NMR) teknikleri kullanılmaktadır. Kristal olarak elde edilebilen bir protein üzerine X ışınları gönderilerek, bu proteinin yapısı belirlenebilmektedir. Daha kompleks olan NMR yönteminde, su ortamında çözünen proteinin konformasyonu saptanabilmektedir. Ancak, NMR yöntemi oldukça karışık ve kompleks çözümlemelere gereksinim duymaktadır. Dolayısıyla, tercih edilen yöntem X ışınları kristallografisidir. Bu yöntemin en önemli dezavantajı, her protein bileşiğinin kristal olarak elde edilmesinin mümkün olmamasıdır. En tercih edilen durum, ligand ile protein molekülünün yapmış olduğu kompleksin kristalinin elde edilebilmesidir. Ancak, bu çok fazla rastlanan bir durum değildir. Hedef proteininin yapısının bilinmesi, ligand-protein kompleksinin kristal olarak elde edilememesine rağmen, etkileşimin belirlenmesi açısından, uygun bir yaklaşım olarak karşımıza çıktığı için önemlidir.

Moleküler doking teknikleri, bilgisayar destekli rasyonel ilaç tasarımı da ilaç adayları ile enzim, nükleik asit ve proteinlerdeki aktif etkileşim yöntemlerinin (reseptörlerin) birbirine nasıl uyum gösterdiklerini araştırmak için sıklıkla kullanılmaktadır (Jain; 2007 ve Spitzer ve ark., 2007). Bu doking çalışmalarında, üç boyutlu yapısı belli olan reseptöre bağlanma enerjileri belirlenebilmekte ve reseptörün bağlanma bölgesinde ligandın pozisyonu canlandırılabilir. Bu durum, bağlanma tipinin anlaşılması ve proteinleri hedefleyen küçük moleküllü, daha uyumlu ligandların tasarlanması için faydalı olabilmektedir (Holt ve ark., 2008).

Başka bir deyişle; doking, ligandın uygun konformasyonu ile reseptör arasında anahtar-kilit ilişkisine benzer bir uyum olması durumudur. Ligandlar genellikle hareketlidir (flexible) ve çözücü içerisinde birçok farklı konformasyonda bulunmaktadır. Bazı doking yöntemlerinde ligand ve reseptörün tek bir konformasyonu kullanılmaktadır. Fakat bu yöntem diğer yöntemlere göre daha az uygulanmaktadır. En çok kullanılan doking yöntemi; sabit tutulan proteinin aktif yoresi ile ligandın bir seri konformasyonu arasında yapılan doking işlemidir. Hareketli doking yönteminde ise, seçilen yan zincirler doking sırasında hareketli olarak optimize edilmektedir. Bu doking yönteminde yan zincir veya ana iskelet hareketli yapılarak reseptörün farklı konformasyonları elde edilir. Aynı zamanda ligand da hareketlidir. Bu yöntem daha gerçekçi bir yaklaşım olmasına rağmen çok fazla zaman aldığı ve diğer doking yöntemlerine göre çok fazla veri elde edildiği için diğer yöntemler daha sık kullanılmaktadır.

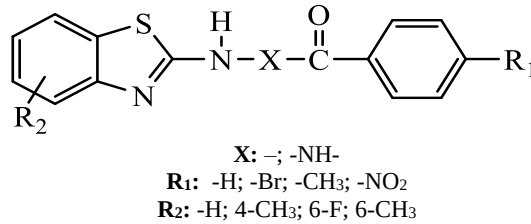
Teknik olarak, moleküllerin ilgili alana (örneğin; reseptör bağlanma yoresi) yerleşmesi “Doking” olarak adlandırılırken, aralarındaki ilişkinin tahmin edilmesi ise, “Skoring” olarak adlandırılmaktadır. “Doking” ve “Skoring” arasındaki ayrım doking programlarına ait iki önemli noktayı aydınlatmaktadır: Molekülün bağlanma şeklinin doğru olarak tahmini (pose prediction) (pose: molekülün reseptörün bağlanma yoresi ile uyum gösteren konformasyonu) ve bileşiklerin bağlanma affinitelerinin güvenilir tahminidir (Stahl ve Rarey, 2001 ve Verkhivker, 2000).

1.4.2.1.1. CDocker Yöntemi

Doking çalışmalarında sıklıkla kullanılan bir yöntem CDocker olarak bilinen moleküler dinamik tabanlı bir algoritmadır. Bu doking yönteminde protein sabit tutulurken ligandlar hareketli davranmaktadır.

Güç alanı (forcefield), deneysel ve kuantum mekanik hesaplamalara dayanarak elde edilmiş, bir partikülün (atomun veya molekülün) potansiyel enerjisini tanımlamak için kullanılan parametrelerdir. CDocker yönteminde kullanılan güç alanı CHARMM (Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics) olarak adlandırılmaktadır (Brooks ve ark., 1983). CHARMM güç alanı; proteinler, nükleik asitler, organik moleküller ve kofaktörler için parametrelerin optimize edilmesinde ve atomlara ait eksik parametrelerin tahmin edilmesinde kullanılır. CHARMM güç alanının protein-ligand ve protein-protein etkileşimleri ile ilgili çalışmalarda yaygın kullanımı mevcuttur (Discovery Studio 3.5). CDocker yönteminin başarısını belirlemek üzere yapılan bir çalışmada 41 adet protein-ligand kompleksi kullanılarak doking işlemi uygulanmıştır. Doking sonuçlarına göre, % 66-76 oranında başarılı sonuç elde edildiği gözlenmiştir (Wu ve ark., 2003).

Bu bilgiler ışığında, yürütülen bu çalışmada 11 adet süstitüe benzamit ve bir adet de süstitüe hidrazid grubu taşıyan, beş tanesi orijinal benzotiyazol türevi bileşiklerin (Şekil 1.109.) sentezlenmesi, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, Kütle ve Elementel Analiz yöntemleri kullanılarak yapılarının aydınlatılması ve *in vitro* ortamda hGST P1-1 etkilerinin IC₅₀ değerlerinde araştırılması gerçekleştirilmiştir. Enzim inhibitör aktivite değerleri saptanan bileşiklerin hGST P1-1 enzim yüzeyi ile gösterdikleri etkileşme dinamikleri, geliştirilen farmakofor modeli ve yürütülen moleküler doking çalışmaları aracılığıyla açıklanmaya çalışılmıştır. Referans ilaç olarak EA seçilmiştir.



Şekil 1.109. Elde edilen benzotiyazol türevi bileşikler

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Sentezlenen bileşiklerin NMR analizleri, ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları şeklinde, Varian Mercury 400 High Performance Digital FT-NMR Spektrometre cihazı ile sırasıyla 400 MHz ve 100 MHz’de yapılmıştır. İç standart madde olarak tetrametilsilan (TMS), çözücü olarak dimetilsülfoksit- d_6 (DMSO- d_6) ve kloroform- d (CDCl_3 - d) kullanılmıştır. Mass (Kütle) analizleri, Waters 2695 Alliance Mikromass ZQ marka LC/MS spektrometre cihazında, Elektrosprey İyonizasyonu (ESI) yöntemi uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin erime noktası tayini, Büchi Melting Point B-540 cihazı kullanılarak, kapiller yöntem ile belirlenmiştir. Değerler düzeltilmeden verilmiştir. Elementel analizler, CHNS-932 (LECO) Elementel Analiz cihazı kullanılarak yapılmıştır. Sentez çalışmaları sırasında, reaksiyonu gerçekleştirmek için CEM Discover SP marka Mikrodalga cihazı kullanılarak yapılmıştır. Reaksiyonlardaki gelişmeyi izlemek, elde edilen maddelerin saflık derecelerini ve R_f değerlerini saptamak amacıyla, ince tabaka kromatografisinden (İTK) yararlanılmıştır. Bu amaçla SilicaGel 60 GF₂₅₄ alüminyum plaklar (Merck) kullanılmıştır. Sentez edilen maddelerin uygun çözücü sisteminde sürüklenme işlemi tamamlandıktan sonra plaklar açık havada kurutulmuştur. Lekelerin belirlenmesi için 254 ve 366 nm dalga boyundaki UV ışığı veren Camag UV Lambasından faydalanılmıştır.

Enzim çalışmalarında, Mettler Toledo marka pH metre cihazı ve Shimadzu UV-2501 PC Spektrofotometre kullanılmıştır.

2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Sentez ve saflaştırma işlemlerinde, 2-aminobenzotiyazol (Aldrich), 2-amino-6-fluorobenzotiyazol (Aldrich), 2-amino-4-metilbenzotiyazol (Aldrich), 2-amino-6-metilbenzotiyazol (Aldrich), 2-hidrazinobenzotiyazol (Aldrich), benzoik asit (Aldrich), 4-bromobenzoik asit (Aldrich), 4-metilbenzoik asit (Aldrich), 4-nitrobenzoik asit (Aldrich), kloroform (Merck), metanol (Riedel-de Haën), dimetilsülfoksit-*d*₆ (Merck), susuz sodyum sülfat (Merck), etil asetat (Merck), etanol (Fluka), tiyonil klorür (Fluka), benzen (Merck), dietileter (Merck), hidroklorik asit (Merck), sodyum bikarbonat (Riedel-de Haën), *n*-hekzan (Merck), sodyum hidroksit (Riedel-de Haën) kullanılmıştır.

Enzim çalışmalarında ise, etakrinik asit (Sigma-Aldrich), 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) (Sigma-Aldrich), glutatyon (Sigma-Aldrich), sodyum fosfat (Na₂HPO₄) (Merck), trizma baz (Merck), 1,4-ditiyotretol (DTT) (Sigma-Aldrich) ve etilendiamintetraasetik asit (EDTA) (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır.

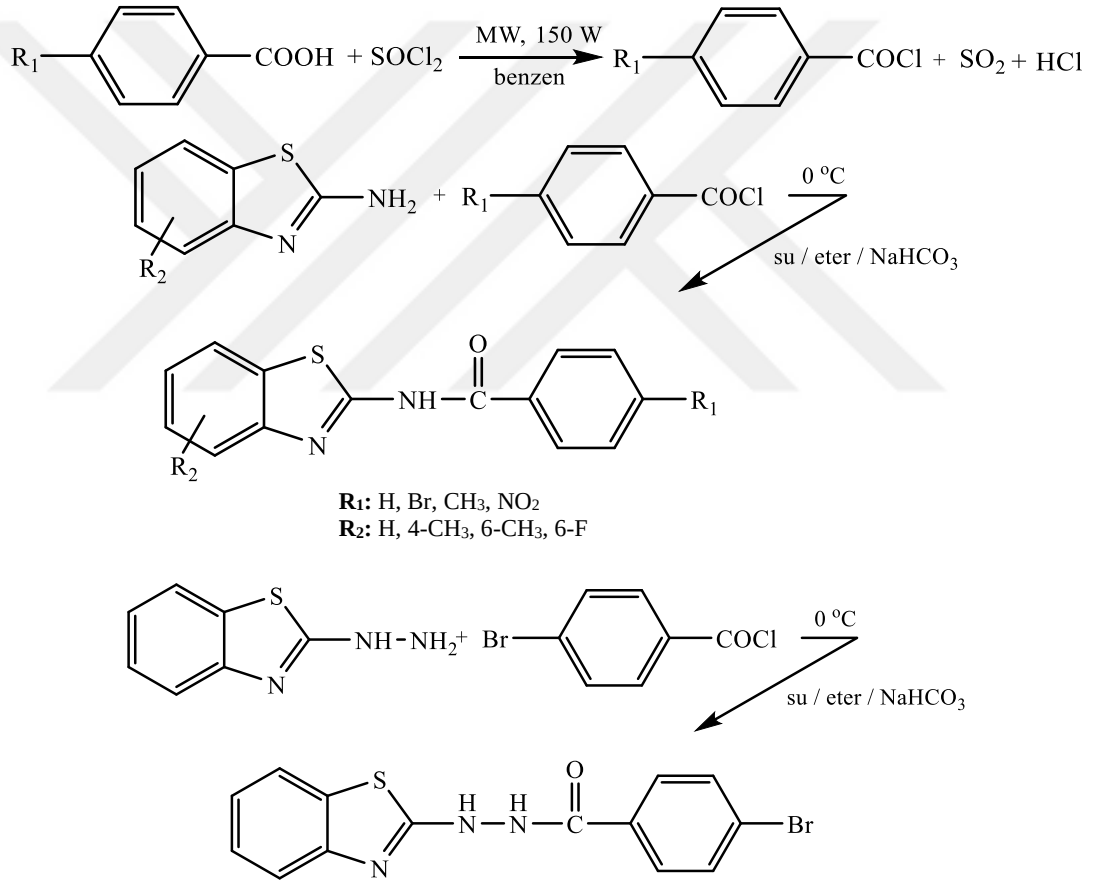
2.2. Yöntem

2.2.1. Elde Edilen Bileşiklerin Sentez ve Saflaştırma Yöntemleri

2.2.1.1. Elde Edilen 2-(4'-Sübstitüe Benzamido/*N'*-Benzhidrazido)-4/6-sübstitüe Benzotiyazol Bileşiklerinin Sentezi, Reaksiyon Denklemi ve Saflaştırma Yöntemi

Hedeflenen bileşiklere ulaşmak üzere, uygun benzoik asit (4-bromo/metil/nitro benzoik asit veya non-sübstitüe benzoik asit) (1 mmol), SOCl₂ (0,3 ml) ile benzen (0,5 ml) içerisinde 150 °C sıcaklıkta, 250 PSI basınçta ve 150 W mikrodalga enerjisine 10 dk maruz bırakılmıştır. Oluşan açıl klorürü saflaştırmak için, süre bitiminde çözücü ve tiyonilklorürün aşırısı indirgenmiş basınç altında rotari evaporatörde uzaklaştırılmıştır. Bakiye, susuz dietileter (1 ml) içinde çözülmüştür. Elde edilen çözelti, buz banyosunda soğutulan 2-amino-4/6-sübstitüe benzotiyazol türevleri veya 2-hidrazinobenzotiyazol

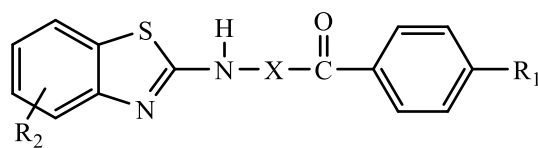
(1 mmol), sodyum bikarbonat (2 mmol), eter (1 ml) ve su (1 ml) dan oluşan karışım üzerine damla damla ilave edilmiştir. Karışım bir gece buz banyosunda karıştırılıp süzlmüştür. Bakiye, sırasıyla su, 2N HCl, su ve eter ile yıkandıktan sonra etanol içerisinde çözülmüş, daha sonra aktif kömür ile muamele edilmiştir. Bileşik etanolden kristallendirildikten sonra vakum etüvünde kurutulmuş ve sonuç ürünler olan 2-(4'-bromo/metil/nitrobenzamido-4/6-sübstitüe benzotiyazol türevleri ile 2-(4'-bromo-*N'*-benzhidrazido)benzotiyazol saf olarak sentezlenmiştir. Çalışmada yararlanılan İTK çözücü sistemi (S₁): *n*-Hekzan : Etil asetat (3 : 1) [benzamidobenzotiyazol için]; (S₂): *n*-Hekzan : Etil asetat (1 : 1) [benzhidrazidobenzotiyazol için]



Şekil 2.1. Elde edilen benzotiyazol türevi bileşiklerin elde ediliş denklemleri

Şekil 2.1.'de belirtilen sentez yönteminin uygulanması sonucunda, beş tanesi orijinal olan 12 adet benzotiyazol türevi bileşik sentezlenmiştir. Sentezi gerçekleştirilen bu bileşikler Çizelge 2.1.'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Elde edilen benzotiyazol türevi bileşikler



No	Süstitüentler		
	X	R ₁	R ₂
1	-	H	H
2	-	Br	H
3	-	CH ₃	H
4	-	NO ₂	H
5	-	Br	4-CH ₃
6	-	NO ₂	4-CH ₃
7	-	Br	6-F
8	-	H	6-CH ₃
9	-	Br	6-CH ₃
10	-	CH ₃	6-CH ₃
11	-	NO ₂	6-CH ₃
12	NH	Br	H

2.2.2. Elde Edilen Bileşiklerin Yapı Analiz Yöntemleri

2.2.2.1. Sentezlenen Bileşiklerin Elementel Analizleri

Sentezlenen bileşiklerin elementel analizleri yapılmış ve bileşiklerin içerdiği C, H, N ve S elementlerinin yüzde miktarları bulunmuş, bu bulgular teorik hesaplamalarla karşılaştırılarak bileşiklerin saflığı ve içerdikleri su miktarları belirlenmiştir. İncelenen bileşiklerdeki C, H, N ve S elementlerinin miktarı % ± 4 sınırları içinde bulunmuştur.

2.2.2.2. Sentezlenen Bileşiklerin Kütle Spektral Analizleri

Sentezlenen bileşiklerin Elektrosprey İyonizasyonu (ESI) yöntemi uygulanarak Kütle spektral analizleri alınmıştır. Bu yöntem ile tüm bileşikler iyonize olmuştur. Bazı bileşiklerde moleküler iyon (M^+) piki gözlenirken, çoğu bileşikte de $M^+ + H$ piki gözlenmiştir. Brom gibi izotopu ile bağlı bollukları birbirine oldukça yakın hatta eşit olan atomları içeren bileşiklerde de $M^+ + H + 2$ pikleri gözlenmiştir⁽⁶⁾.

⁽⁶⁾ Bu atomların izotoplarının doğadaki bağlı bollukları şu orandadır (Cameron ve Wichers, 1962);
⁷⁹Br: % 50,69 ve ⁸¹Br: % 49,31

2.2.2.3. Sentezlenen Bileşiklerin ^1H -NMR Spektral Analizleri

Sentezlenen bileşikler dimetilsülfoksit- d_6 (DMSO- d_6)’de veya kloroform- d (CDCl_3 - d)’da çözülerek ^1H -NMR spektrumları alınmıştır. Bu çözücüler % 100 döterolanmış olmayıp, % 98-99,8 oranından döteryum içerdiğinden spektrumlarda çözücülerin döterolanmamış formlarının da pikleri mevcuttur. Spektrumlardaki 7,25-7,33 ppm’de gözlenen pik döterolanmamış CHCl_3 ’den, 1-2 ppm’deki pikler ise CDCl_3 - d içindeki sudan, 2,25-2,35 ppm’de gözlenen pik, çözücü içindeki döterolanmamış DMSO’dan, 3,35-3,60 ppm’de gözlenen pik ise DMSO- d_6 içindeki sudan kaynaklanmaktadır.

Benzotiyazol türevi bileşiklerin ^1H -NMR spektrumları incelendiğinde; 12,89-13,25 ppm arasında NH (CO-NH) protonları gözlenmiştir. Hidrazid içeren bileşik, diğer bileşiklere göre daha çok gölgelendiği için diamagnetik kayma gösteren NH (CO-NH) protonu daha düşük frekansta, 11,04 ppm’de gözlenmiştir. Aynı bileşikteki hidrazid N’ (CO-NH-N’H) protonu 10,04 ppm’de gözlenmiştir. 3 ve 10 nolu bileşiklerdeki benamide *para* konumundan bağlı CH_3 protonları 2,38 ppm’de gözlenirken, 5 ve 6 nolu bileşiklerdeki benzotiyazole 4. konumdan bağlı CH_3 protonları sırasıyla 2,62 ppm ve 2,61 ppm’e doğru; 8, 9, 10 ve 11 nolu bileşiklerdeki benzotiyazole 6. konumdan bağlı CH_3 protonları ise sırasıyla 2,45 ppm, 2,42 ppm, 2,45 ppm, 2,42 ppm’e doğru aromatik benzotiyazol halkasına doğrudan bağlı olması nedeniyle gölgelenmesi azalıp, paramagnetik kayma gösterdiği gözlenmiştir.

2.2.2.4. Sentezlenen Bileşiklerin ^{13}C -NMR Spektral Analizleri

Sentezlenen bileşikler dimetilsülfoksit- d_6 (DMSO- d_6)’de veya kloroform- d (CDCl_3 - d)’da çözülerek ^{13}C -NMR spektrumları alınmıştır. Spektrumlardaki yaklaşık 77 ppm’de gözlenen triplet pik, CDCl_3 - d ’den; yaklaşık 40 ppm’de gözlenen multiplet pik ise, DMSO- d_6 ’dan kaynaklanmaktadır.

Benzotiyazol türevi bileşiklerin ^{13}C -NMR spektrumları incelendiğinde; bileşiklerin taşıdığı CH_3 karbonu 17,96-21,58 ppm arasında; amit karbonu ise 165,20-165,96 ppm arasında gözlenmiştir. Benzotiyazol halkasının 6. konumunda flor taşıyan 7 nolu bileşikte, flor atomuna bağlı karbonun *orto* konumlarındaki karbonların yarılmasından kaynaklanan 108,18 ppm ve 114,33 ppm'de görülen sırasıyla *J* değerleri 27 Hz ve 24 Hz olan iki dublet ve flor atomuna doğrudan bağlı karbonun yarılmasından kaynaklanan 158,76 ppm'de görülen *J* değeri 239 Hz olan bir dublet gözlenmiştir.

2.2.3. Elde Edilen Bileşiklerin *in vitro* GST P1-1 Analizi

2.2.3.1. Rekombinant hGST P1-1'in Ekspresyonu ve Saflaştırılması

pKXHP1 plazmidi içeren *E. coli* XL-1 Blue, 50 ml 2TYA besiyerinde (0,5 g tripton, 0,25 g maya ekstraktı, 0,5 g NaCl / 50 ml) bir gece büyütüldükten sonra, 500 ml'lik ekspresyon besiyerine (20 g tripton, 15 g maya ekstraktı, 5 g NaCl, 10 g gliserol ve 50 mg ampisilin / litre) 5 ml'si aktararak 37 °C'de OD₆₀₀ 0,35 oluncaya kadar bırakılmıştır. Ardından kültür ortamına 0,2 mM izopropil- β -D-tiyo-galaktozit eklenerek, hGST P1-1 eksprese edilmiştir (15-18 saat). Santrifüj (7000 xg, 5 dk) ile elde edilen peletler -80 °C'de yarım saat tutulmuştur. Hücreler lizis tamponu [10 mM Tris HCl; 1 mM EDTA; 0,2 mM ditiyotritol (DTT) pH 7,0 ve proteaz inhibitör kokteyli; 0,2 mg/ml lizozim] içerisinde yavaşça karıştırılarak (4 °C'de 30 dk) yeniden süspanse hale getirilmiştir. Hücreleri parçalamak için sonikasyon (3×10 sn) yapılmıştır. Çözünür fraksiyonlar santrifüj (25.000 xg, 4 °C'de 50 dk) edilerek sitozole fenilmetan-sülfonilflorit (PMSF) (170 μM) eklenmiştir.

Epoksi ile aktive edilmiş S-hekzilglutasyon-sefaroze 6B afinite matriksi saflaştırma için kullanılmıştır. Enzim lizati, bağlanma tamponu (tampon A) ile dengelenmiş matrikse uygulanmıştır ve 40 dk boyunca buz üzerinde yavaşça karıştırılmıştır. GST bağlı matriks tampon A (10 mM Tris HCl pH 7,8; 1 mM EDTA; 0,2 M NaCl; 0,2 mM DTT) ile yıkanarak bağlı olmayan proteinler elimine edilmiştir.

Matriks, tampon A ile dengelenmiş Sefadeks G-25 kolonuna (Pharmacia; 4 x 40 cm) yüklenmiştir. Bağlı proteinler tampon B (10 mM Tris HCl pH 7,8; 1 mM EDTA; 0,2 M NaCl; 0,2 mM DTT; 5 mM S-hekzilglutasyon) ile elüe edilmiştir. GST aktivitesi içeren fraksiyonlar buz üzerinde konsantre (M_r 10 000; Spectrum, Houston, TX) edilmiştir ve sonra içerisinde NaCl içermeyen tampon A'ya karşı diyaliz edilmiştir. Elde edilen enzimin saflığı, sodyum dodesil sülfat poliakrilamit jel elektroforez (SDS-PAGE) ile belirlenmiştir (Kolm ve ark., 1995; Mannervik ve Guthenberg, 1981).

2.2.3.2. Elde Edilen Bileşiklerin hGST P1-1 Enzimi Üzerindeki İnhibitör Etkilerinin Saptanması

Enzim aktivitesi ölçümü: Enzim aktivitesi 1-kloro-2,4-dinitrobenzen'in (CDNB) konjuge edici aktivitesi üzerinden saptanmıştır (Habig ve ark., 1974). Deney ortamı içerisinde 1 mM EDTA içeren 100 mM sodyum fosfat tamponu (pH 6,5), 1 mM GSH, 1 mM CDNB ve % 5 etanol içerecek şekilde hazırlanmış ve ortamın sıcaklığı 30°C olarak belirlenmiştir. Konjugat oluşumu 340 nm'de absorpsiyon artışı üzerinden 1 dk boyunca izlenmiştir. Spesifik aktivite $9,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ absorpsiyon katsayısı kullanılarak hesaplanmış ve $\mu\text{mol min}^{-1}/\text{mg}$ protein olarak ifade edilmiştir.

İnhibisyon analizi: Bileşiklerin hGST P1-1 üzerindeki inhibisyon etkisine farklı derişimlerde (1-50 μM) standart enzim ölçüm yöntemi kullanılarak bakılmış ve IC_{50} değerleri hesaplanmıştır. IC_{50} , saf enzim aktivitesinin % 50'sini inhibe eden bileşiğin derişim değeridir. İnhibisyon tipi analizi, inhibitörün farklı miktarlarının varlığında ve farklı GSH (0,5-20 mM) ve CDNB (0,1-2,0 mM) derişimlerinde, “double reciprocal plot” aracılığıyla saptanmıştır. Kinetik veriler (IC_{50} , K_m ve V_m) GraphPad 4.0 yazılımı ile belirlenmiştir.

2.2.4. Moleküler Modelleme Çalışmaları

2.2.4.1. Farmakofor Çalışması (HipHop Yöntemi)

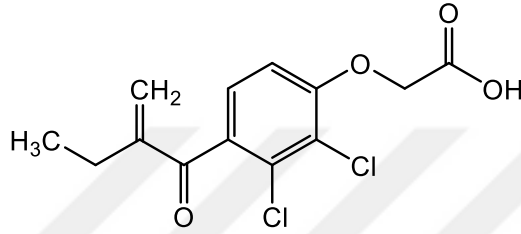
hGST P1-1 enzimine karşı inhibitör etkisi deneysel olarak kanıtlanmış en etkili iki bileşik (2 ve 5 nolu bileşikler) referans alınarak etkisi test edilen tüm bileşikler üzerinden HipHop yöntemi kullanılarak moleküllerin ortak konformasyonel özellikleri belirlenmiştir. Bunun için, referans olarak seçilen 2 ve 5 nolu bileşikler için MaxOmitFeat değeri 0, Principal değeri 2 olarak girilmiştir. Daha az etkili olan 3, 7, 9 ve 10 nolu bileşikler için MaxOmitFeat değeri 2, Principal değeri 1 olarak girilmiştir. En az etkili bileşikler için ise, MaxOmitFeat değerleri 2, Principal değerleri 0 olarak girilmiştir. Çözünürlük sorunu nedeniyle etkisi test edilememiş bileşiklere (4, 6 ve 11 nolu bileşikler) çalışmada yer verilmemiştir. HipHop çalışması sonucu bileşiklerin farmakofora uyumunu gösteren hipoteze uyum değerleri (FitValue) Bulgular bölümünde Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Farmakofor hipotezinin oluşturulması için hidrojen bağı alıcısı (HBA), hidrojen bağı vericisi (HBD), hidrofobiklik (Hp), hidrofobik aromatik (HpAr), hidrofobik alifatik (HpAl), ve aromatik halka (R) özellikleri seçilmiştir. Sonuçta elde edilen 10 hipotezden 6. hipotez uygun bulunmuş ve Bulgular bölümünde Şekil 3.38.'de verilmiştir.

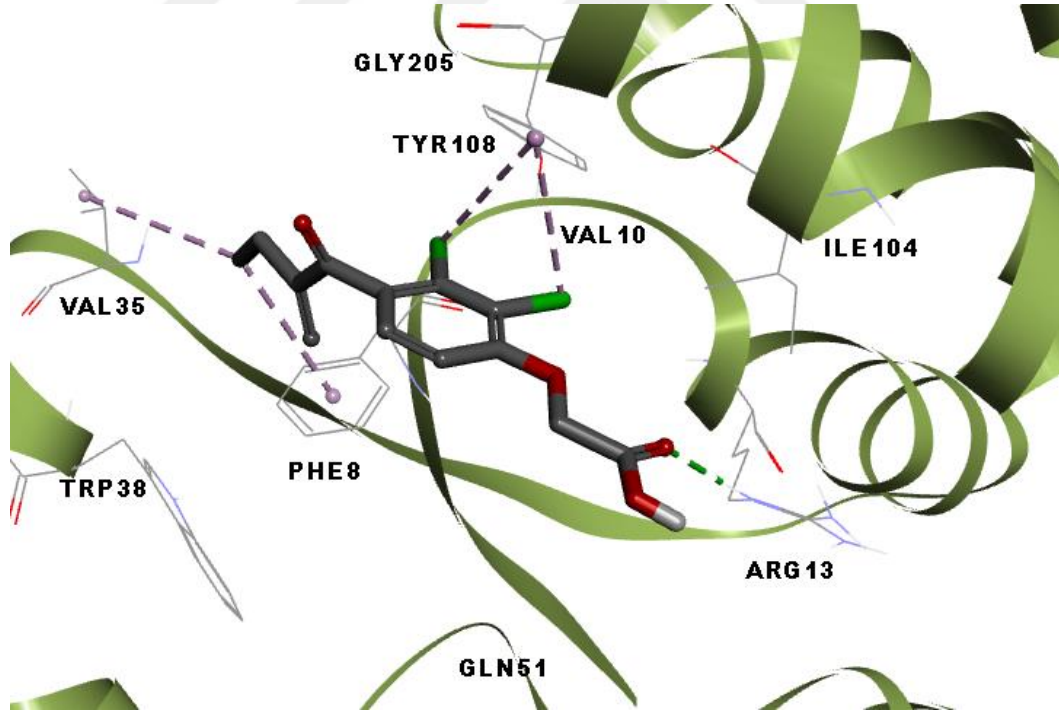
2.2.4.2. Doking Çalışması (CDocker Yöntemi)

Doktora tezi kapsamında sentezlenmiş olan bileşiklerin etkilerinin hGST P1-1 enzimi üzerinden yapılan doking çalışmasında referans ligand olarak EA (Şekil 2.3.) kullanılmıştır. Protein Veri Bankası (PDB)'ndan GST enzimi ve EA'nın birlikte bulunduğu 2GSS kodlu kristal yapı alınmış (Oakley ve ark., 1997b); Discovery Studio 3.5. programı ile CDocker yöntemi kullanılarak EA ile yapılan doking çalışması sonucunda bulunan en uygun konformasyon X ışınları kristalografisindeki konformasyonu ile karşılaştırılmıştır. Protein ile ligand arasında, Arg13 ile hidrojen

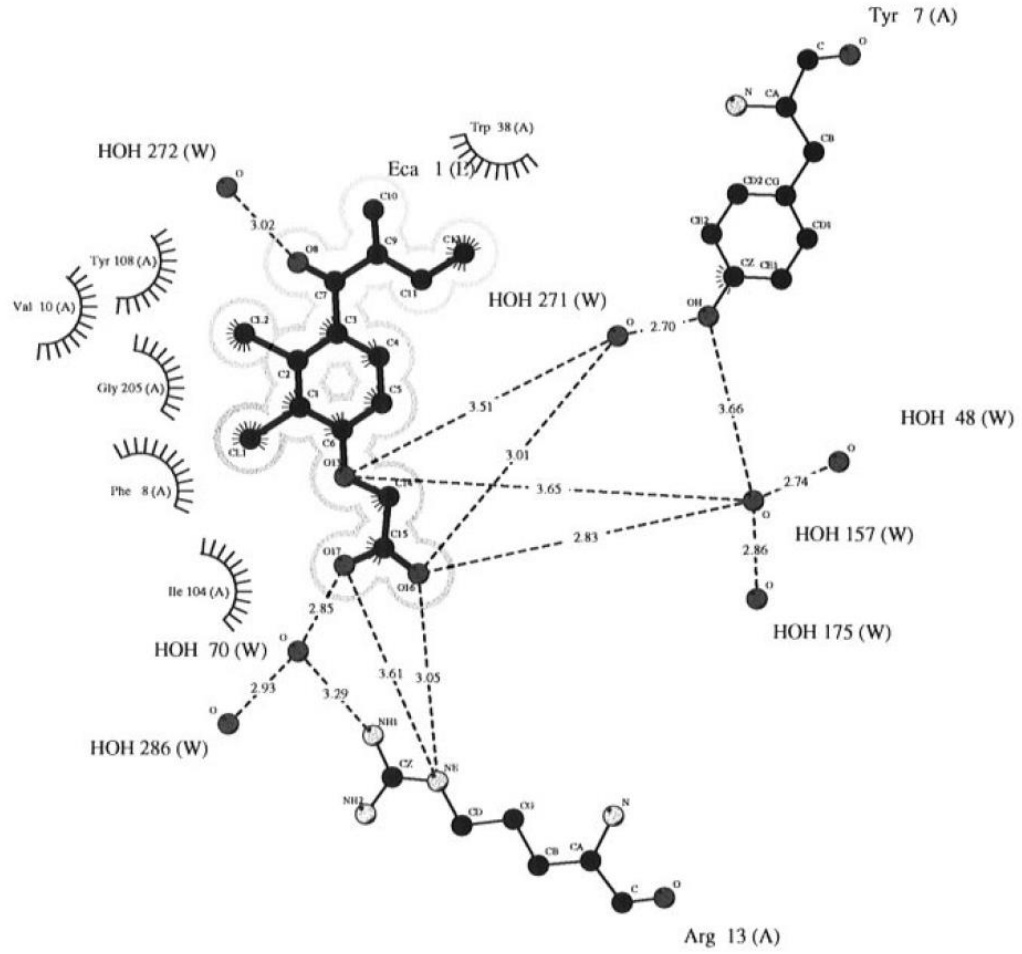
bağı yaptığı ve Phe8, Val35 ve Tyr108 ile hidrofobik etkileşimler gözlenmiştir (Şekil 2.3.). En uygun konformasyon ile X ışınları kristalografisindeki konformasyonu arasındaki farklılığı ifade eden RMSD değeri 0,6766 bulunarak uygun bir sonuç elde edilmiştir. Oakley ve ark. tarafından yapılan X ışınları kristalografi çalışması sonucunda ortaya çıkarılan EA bağlanma yöreni Şekil 2.4.'te verilmiştir (PDB ID: 2GSS) (Oakley ve ark., 1997c). Daha sonra doktora tezi kapsamında sentezlenmiş olan bileşiklerden en iyi inhibitör etkiye sahip 2 nolu bileşik için yine aynı yöntemle doking işlemi uygulanmıştır.



Şekil 2.2. Etakrinik asit (EA) (referans ligand)



Şekil 2.3. EA'nın Arg13 ile yaptığı hidrojen bağı ve Phe8, Val35 ve Tyr108 ile yaptığı hidrofobik etkileşimler



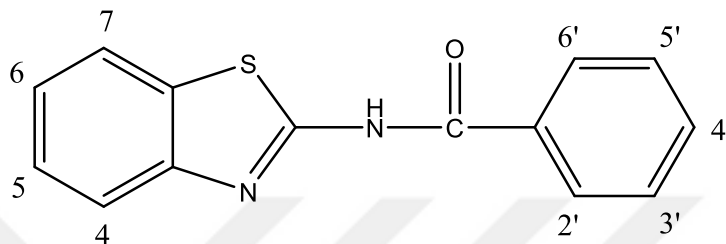
Şekil 2.4. EA bağlanma yören

Doking işleminden önce, enzim (hGST P1-1) ve doking yapılacak bileşik üzerinden minimizasyon ve moleküler dinamik çalışması yapılmıştır. Öncelikle, PDB’ndan 2GSS kodlu kristal yapı alınmış, hidrojen atomları eklenmiştir. Adopted Basis Newton Raphson (ABNR) yöntemi kullanılarak enzim minimize edilmiştir. Doking yapılacak bileşik, Discovery Studio 3.5 programı kullanılarak çizilip, ABNR metodu ile minimize edilmiş ve moleküler dinamik yöntemlerinden Heat and Cool (700 K → 200 K) ile bileşiğın farklı konformasyonları elde edilmiş ve doking işlemi uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar Bulgular bölümünde Çizelge 3.3’te verilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Elde Edilen Bileşiklerin Sentez ve Analiz Bulguları

3.1.1. 2-Benzamidobenzotiyazol (1)



Gerçekleştirilen sentezde 0,001 mol 2-aminobenzotiyazol, 0,001 mol benzoil klorür ve 0,001 mol sodyum bikarbonat kullanıldı. Sentez sonunda % 53 verimle saf ürün elde edildi (Angulo-Cornejo ve ark., 2000 ve Ramesh ve ark., 2005).

Kütle Spektromu m/z (%X); 255,18 ($M^+ + H$)(%100)

^1H -NMR Spektromu (Int. TMS, DMSO- d_6); δ ppm; 7,33-7,37 (m, 1H, 6 protonu); 7,46-7,50 (m, 1H, 5 protonu); 7,56-7,60 (m, 2H, 3', 5' protonları); 7,66-7,70 (m, 1H, 4' protonu); 7,80 (d, $J=8,4$ Hz, 1H, 7 protonu); 8,03 (d, $J=7,6$ Hz, 1H, 4 protonu); 8,16 (d, $J=7,2$ Hz, 2H, 2', 6' protonları); 12,91 (s, 1H, NH protonu)

^{13}C -NMR Spektromu (Int. TMS, DMSO- d_6); δ ppm; 120,31; 121,73; 123,67; 126,17; 128,31; 128,63; 131,45; 132,86; 148,31; 158,86; 165,96

Elementel Analiz;

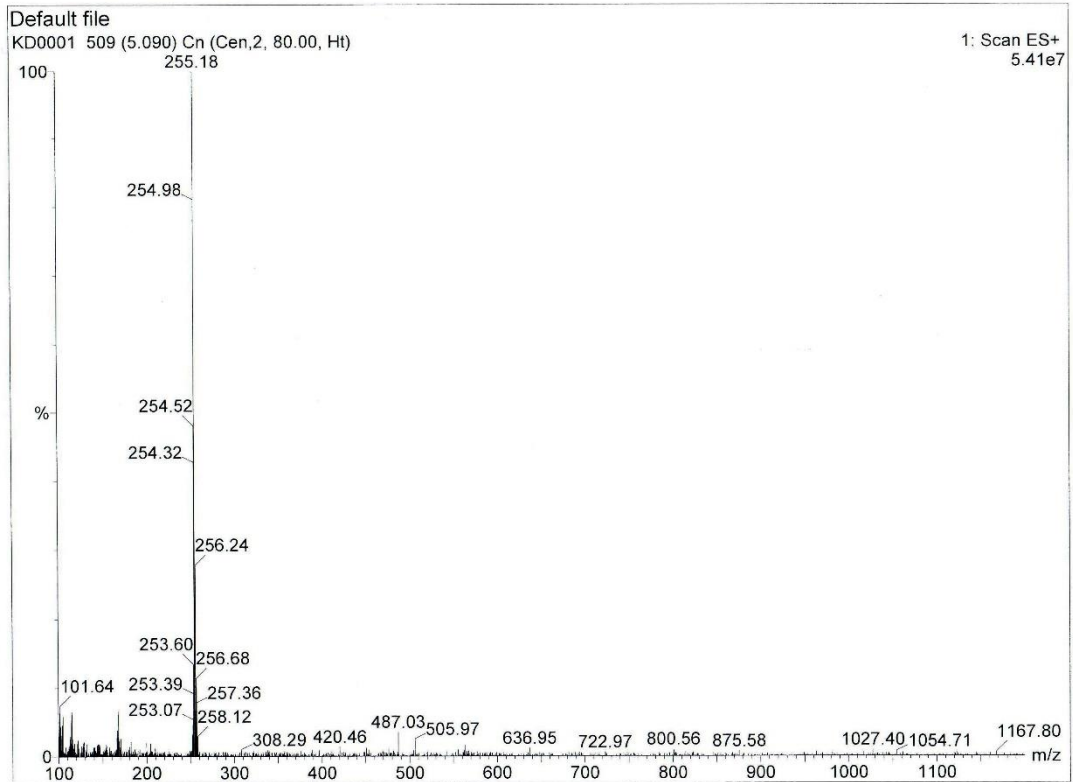
	<u>C</u>	<u>H</u>	<u>N</u>	<u>S</u>
Hesaplanan :	66,120	3,964	11,016	12,609
Bulunan :	66,100	3,736	11,280	12,670

Kapalı Formül : C₁₄H₁₀N₂OS

Molekül Ağırlığı : 254,31

Erime Noktası : 188-189 °C (E.N.: 187-189 °C; Angulo-Cornejo ve ark., 2000)

R_f Değeri : 0,35 (S₁)



Şekil 3.1. 1 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu

KD0001

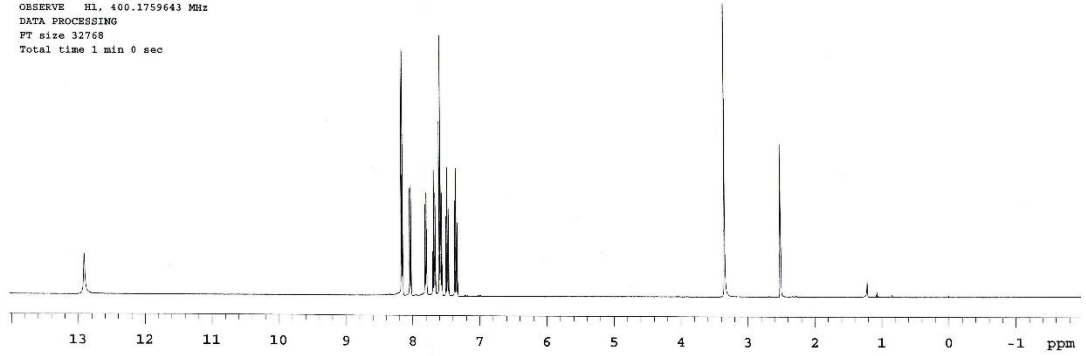
Sample Name:
KD0001
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory:
KD0001_20151209_01
FidFile: PROTON_02

Pulse Sequence: PROTON (s2pul)
Solvent: dmsd
Data collected on: Dec 9 2015

Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 2.559 sec
Width 6402.0 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1, 400.1759643 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 1 min 0 sec

Agilent Technologies



Şekil 3.2. 1 Nolu Bileşiğin ¹H-NMR Spektrumu

KD0001

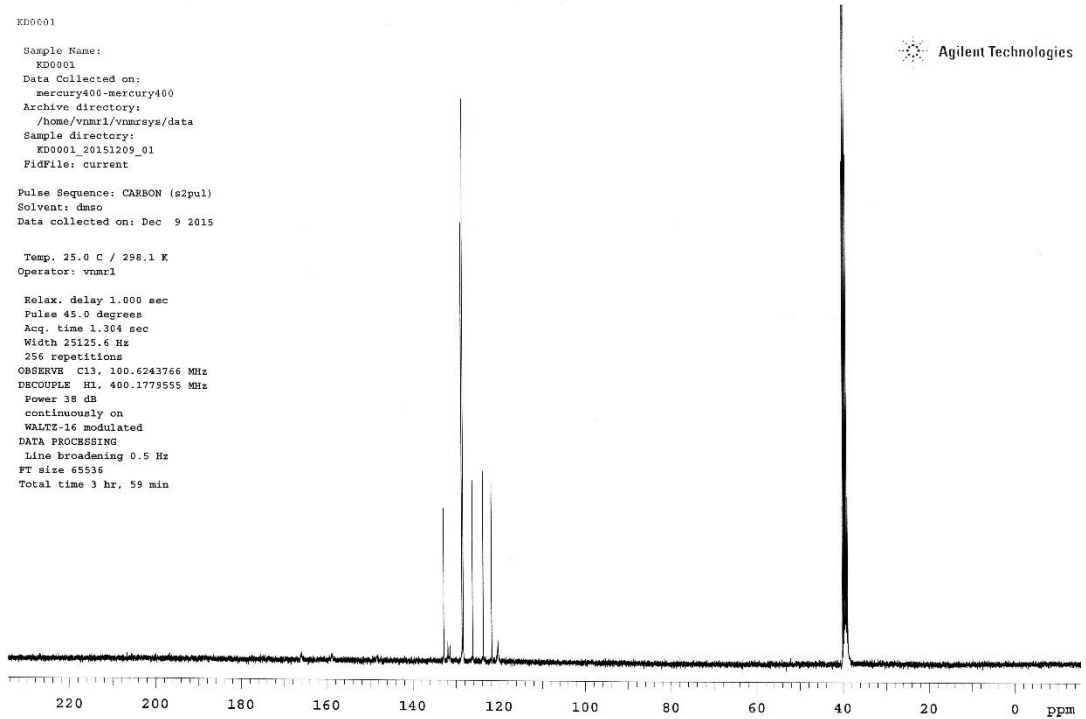
Sample Name:
KD0001
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory:
KD0001_20151209_01
FidFile: current

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsd
Data collected on: Dec 9 2015

Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vnmr1

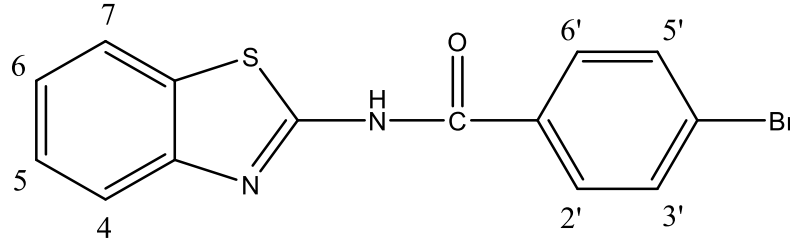
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.304 sec
Width 25125.6 Hz
256 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243766 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 3 hr, 59 min

Agilent Technologies



Şekil 3.3. 1 Nolu Bileşiğin ¹³C-NMR Spektrumu

3.1.2. 2-(4'-Bromobenzamido)benzotiyazol (2)



Gerçekleştirilen sentezde 0,001 mol 2-aminobenzotiyazol, 0,001 mol 4-bromobenzoil klorür ve 0,001 mol sodyum bikarbonat kullanıldı. Sentez sonunda % 51 verimle saf ürün elde edildi (Ramesh ve ark., 2005).

Kütle Spektrumu m/z (%X); 333,24 ($M^+ + H$)(%100)
335,24 ($M^+ + H + 2$)(%83)

^1H -NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO- d_6); δ ppm; 7,34 (t, 1H, 6 protonu); 7,45-7,49 (m, 1H, 5 protonu); 7,77 (d, $J=9,2$ Hz, 3H, 3', 5', 7 protonları); 8,01 (d, $J=8,4$ Hz, 1H, 4 protonu); 8,07 (d, $J=8,0$ Hz, 2H, 2', 6' protonları); 12,99 (s, 1H, NH protonu)

^{13}C -NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO- d_6); δ ppm; 120,27; 121,78; 123,74; 126,23; 126,82; 130,38; 131,23; 131,66

Elementel Analiz;

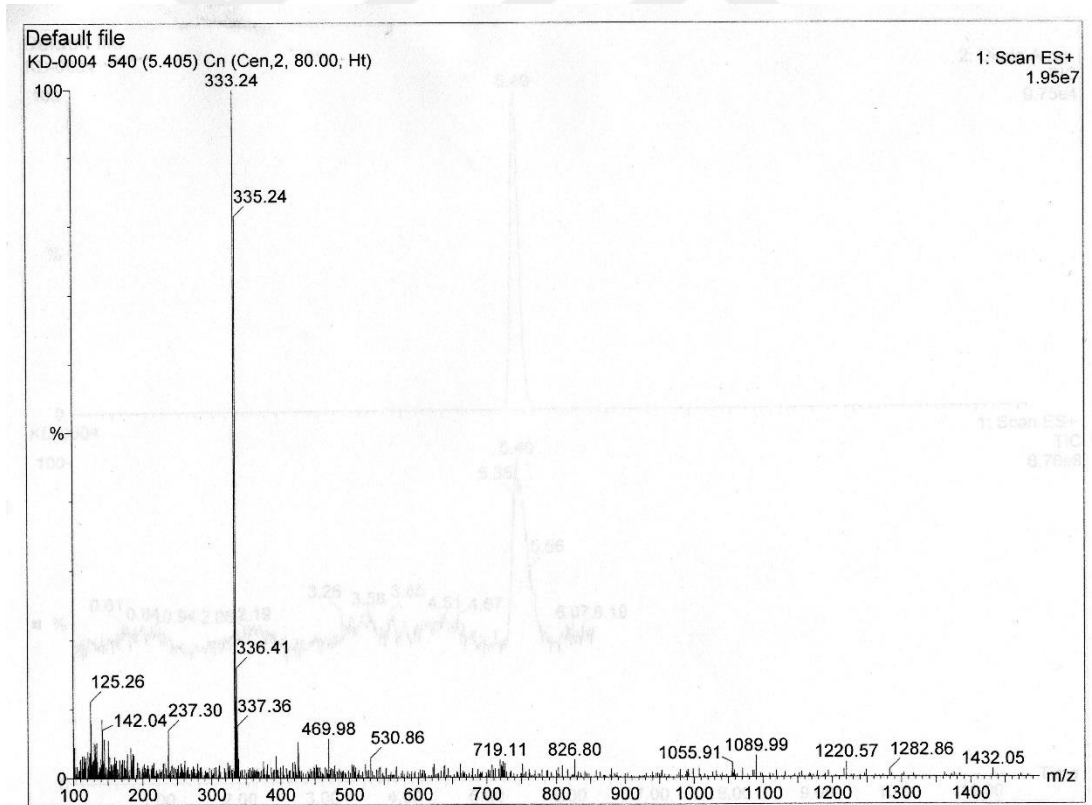
	<u>C</u>	<u>H</u>	<u>N</u>	<u>S</u>
Hesaplanan :	50,470	2,723	8,407	9,624
Bulunan :	50,010	2,657	8,746	9,631

Kapalı Formül : $C_{14}H_9BrN_2OS$

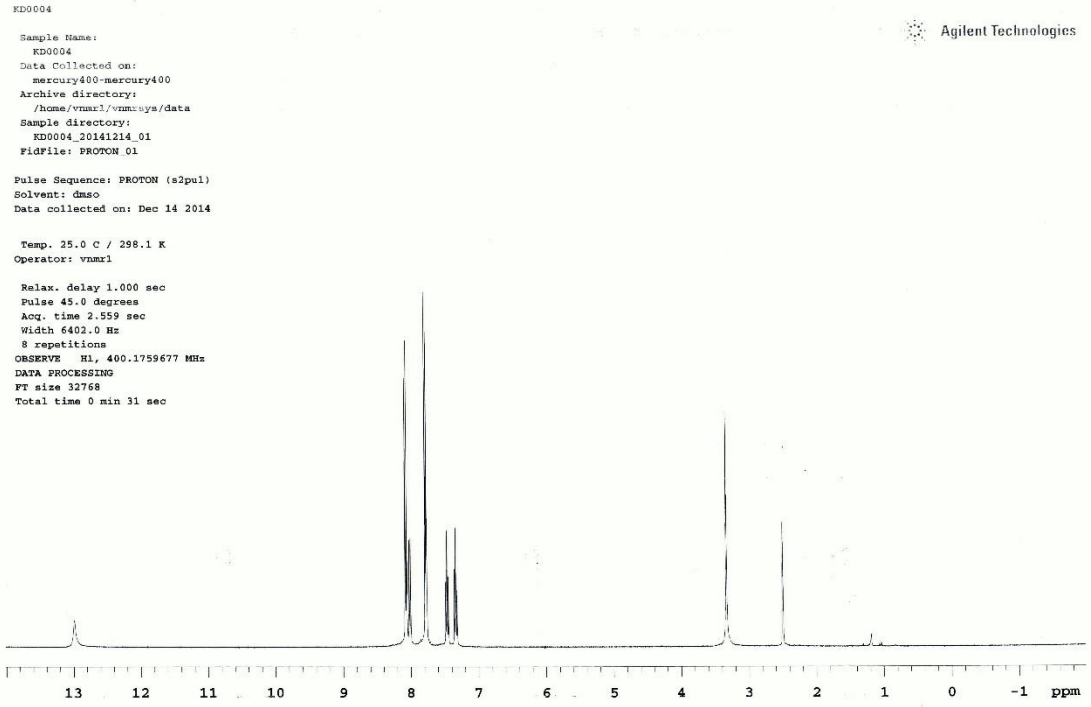
Molekül Ağırlığı : 233,20

Erime Noktası : 239-240 °C (Literatürde E.N.'na rastlanmamıştır.)

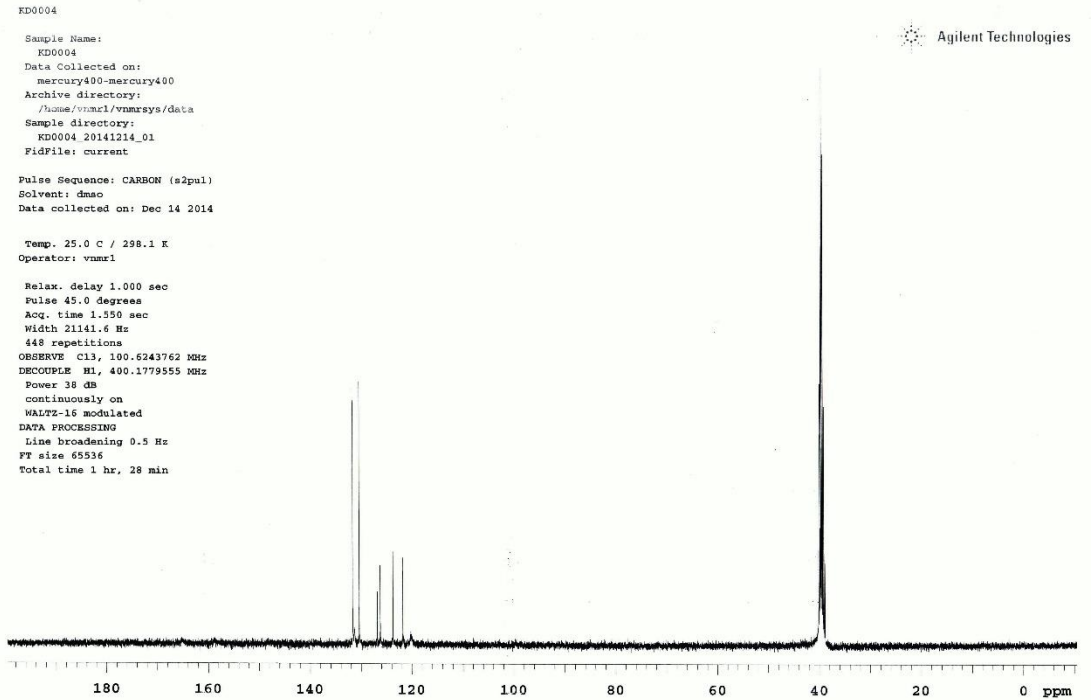
R_f Değeri : 0,44 (S₁)



Şekil 3.4. 2 Nolu Bileşiğin Kütle Spektromu

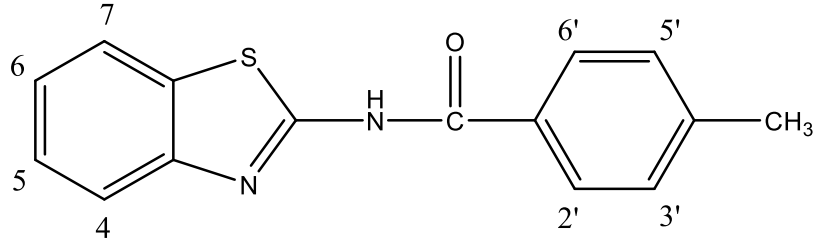


Şekil 3.5. 2 Nolu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu



Şekil 3.6. 2 Nolu Bileşiğin ^{13}C -NMR Spektrumu

3.1.3. 2-(4'-Metilbenzamido)benzotiyazol (3)



Gerçekleştirilen sentezde 0,001 mol 2-aminobenzotiyazol, 0,001 mol 4-metilbenzoil klorür ve 0,001 mol sodyum bikarbonat kullanıldı. Sentez sonunda % 27 verimle saf ürün elde edildi (Bailey ve Pevear, 2004 ve Ramesh ve ark., 2005).

Kütle Spektrumu m/z (%X); 269,33 ($M^+ + H$)(%100)

^1H -NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO- d_6); δ ppm; 2,38 (s, 3H, CH_3 protonları); 7,20 (d, $J=8,4$ Hz, 2H, 3', 5' protonları); 7,26-7,29 (m, 3H, 5, 6, 7 protonları); 7,83-7,86 (m, 1H, 4 protonu); 7,89 (d, $J=8,0$ Hz, 2H, 2', 6' protonları); NH protonu gözlenmemiştir

^{13}C -NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO- d_6); δ ppm; 21,58; 120,69; 121,34; 123,92; 126,01; 127,92; 129,15; 129,68; 131,91; 143,94; 147,75; 159,74; 165,78

Elementel Analiz;

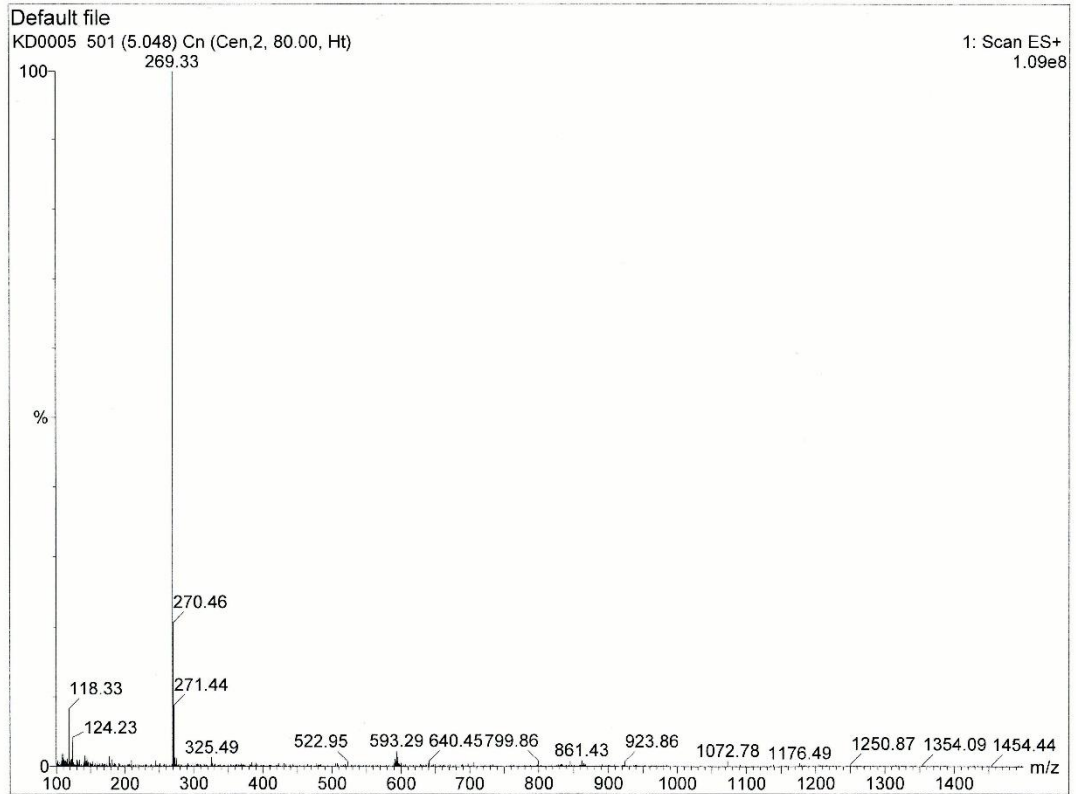
	<u>C</u>	<u>H</u>	<u>N</u>	<u>S</u>
Hesaplanan :	67,140	4,508	10,440	11,950
Bulunan :	66,860	4,245	10,610	11,820

Kapalı Formül : C₁₅H₁₂N₂OS

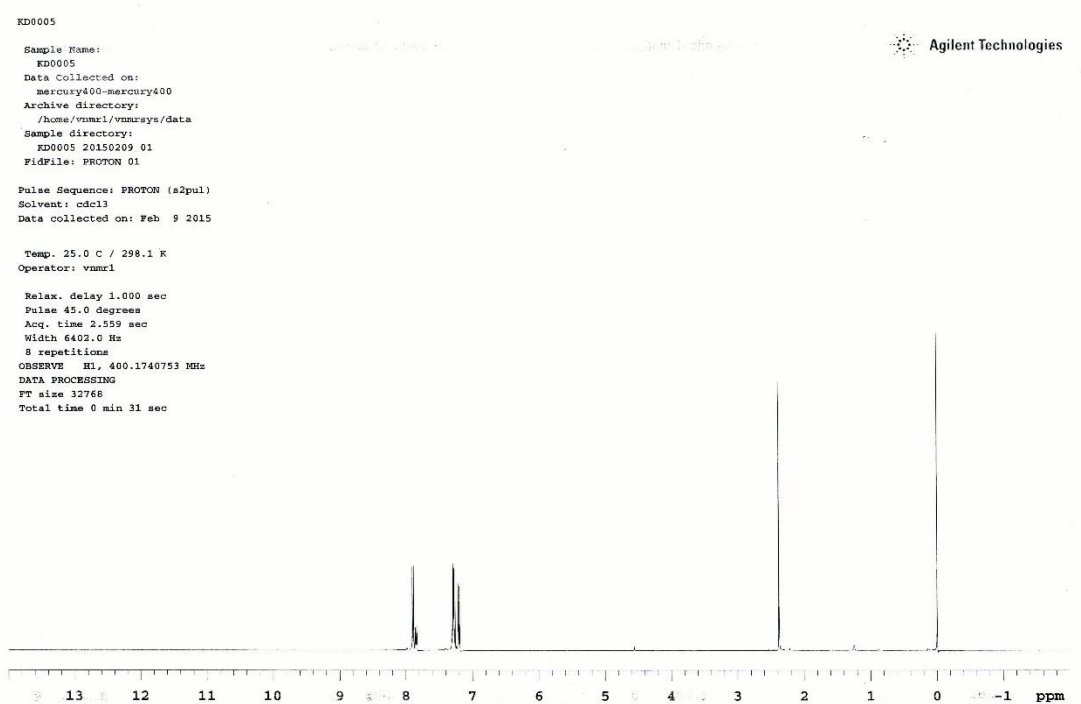
Molekül Ağırlığı : 268,33

Erime Noktası : 188-189 °C (Literatürde E.N.'na rastlanmamıştır.)

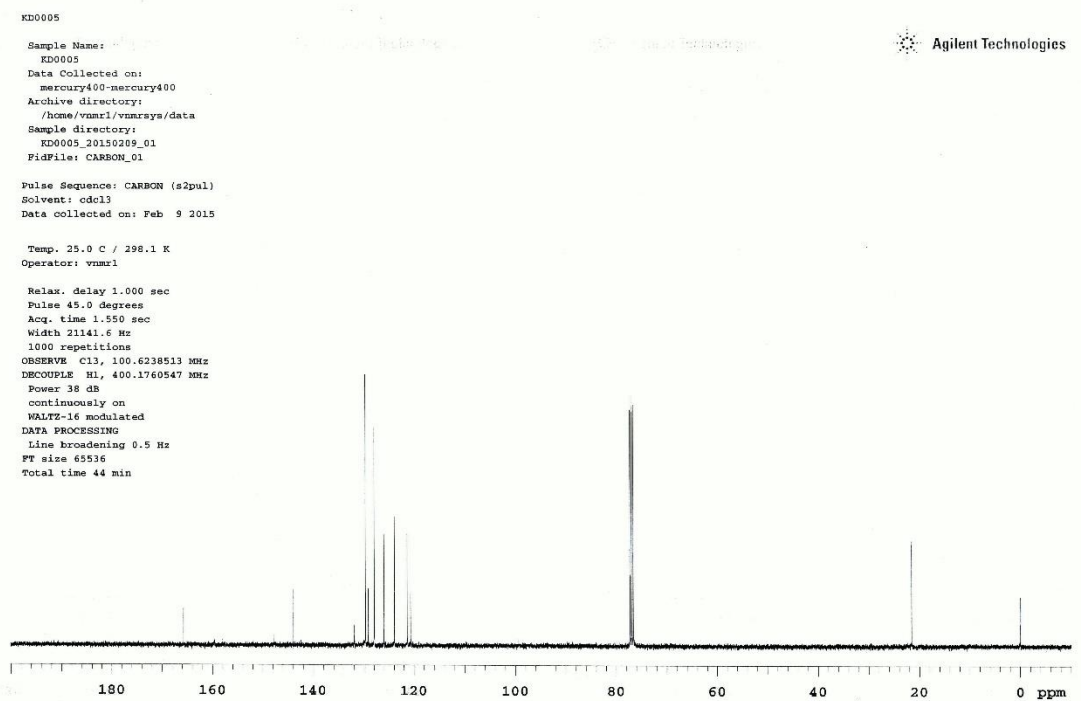
R_f Değeri : 0,37 (S₁)



Şekil 3.7. 3 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu

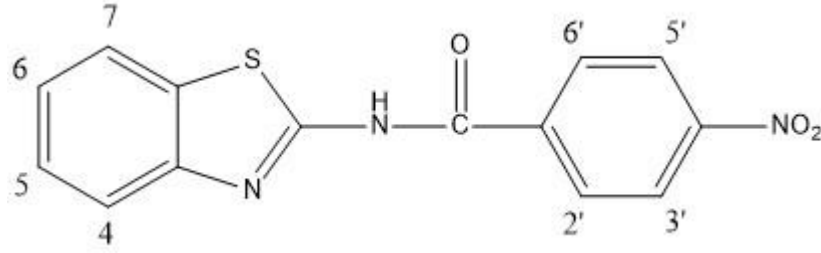


Şekil 3.8. 3 Nolu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu



Şekil 3.9. 3 Nolu Bileşiğin ^{13}C -NMR Spektrumu

3.1.4. 2-(4'-Nitrobenzamido)benzotiyazol (4)



Gerçekleştirilen sentezde 0,001 mol 2-aminobenzotiyazol, 0,001 mol 4-nitrobenzoil klorür ve 0,001 mol sodyum bikarbonat kullanıldı. Sentez sonunda % 42 verimle saf ürün elde edildi (Bailey ve Pevear, 2004 ve Ramesh ve ark., 2005).

Kütle Spektromu m/z (%X); 300,21 ($M^+ + H$)(%100)

^1H -NMR Spektromu (Int. TMS, DMSO- d_6); δ ppm; 7,34-7,38 (m, 1H, 6 protonu); 7,46-7,50 (m, 1H, 5 protonu); 7,78 (d, $J=7,6$ Hz, 1H, 7 protonu); 8,02 (d, $J=8,0$ Hz, 1H, 4 protonu); 8,33-8,39 (m, 4H, 2', 3', 5', 6' protonları); 13,25 (s, 1H, NH protonu)

^{13}C -NMR Spektromu (Int. TMS, DMSO- d_6); δ ppm; 118,83; 119,73; 121,86; 123,53; 123,84; 126,32; 129,84; 131,06; 137,99; 144,91; 149,69; 152,77

Elementel Analiz;

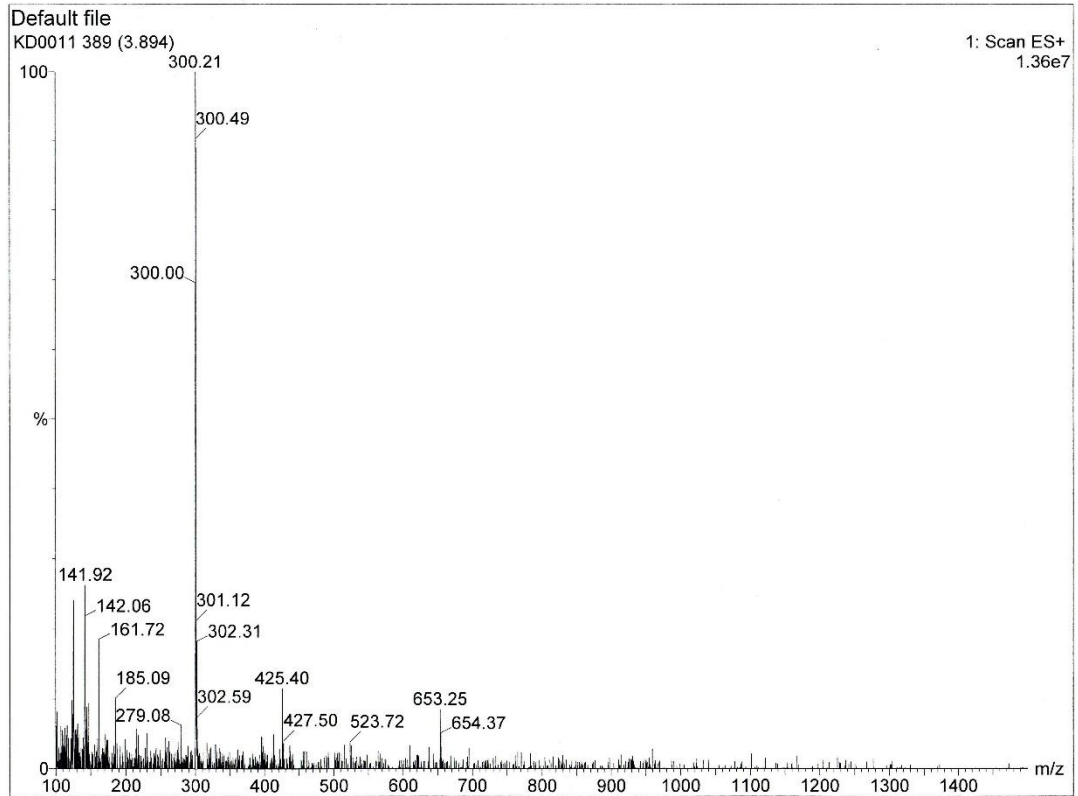
	<u>C</u>	<u>H</u>	<u>N</u>	<u>S</u>
Hesaplanan :	56,180	3,031	14,039	10,714
Bulunan :	55,830	3,238	14,080	10,730

Kapalı Formül : C₁₄H₉N₃O₃S

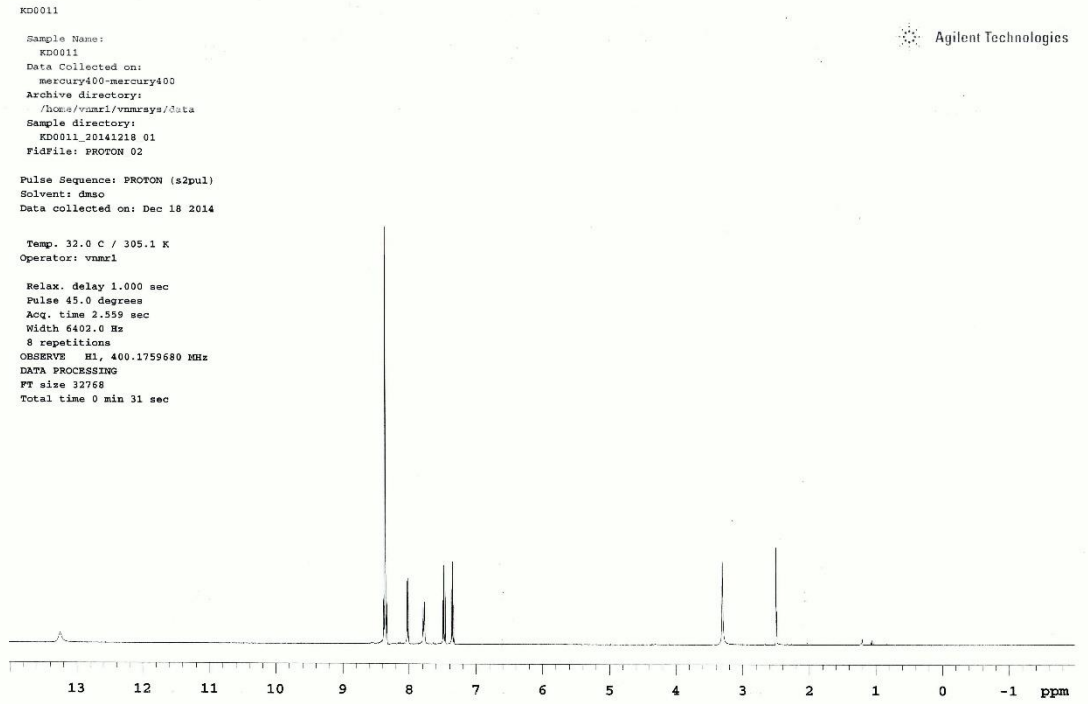
Molekül Ağırlığı : 299,30

Erime Noktası : 295-296 °C (Literatürde E.N.'na rastlanmamıştır.)

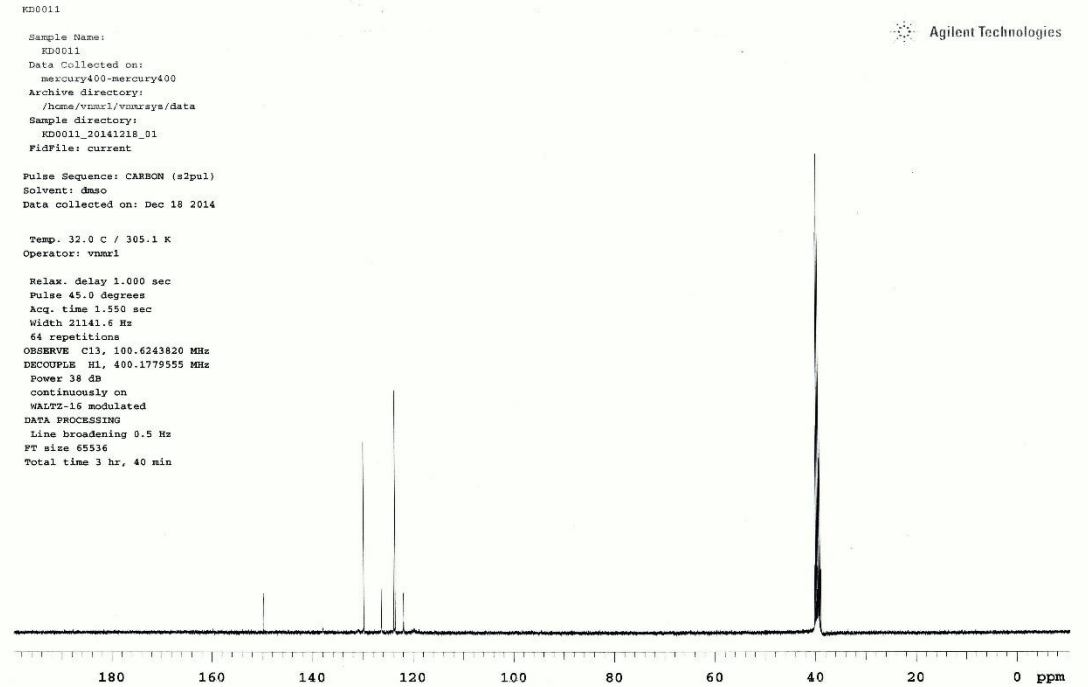
R_f Değeri : 0,35 (S₁)



Şekil 3.10. 4 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu

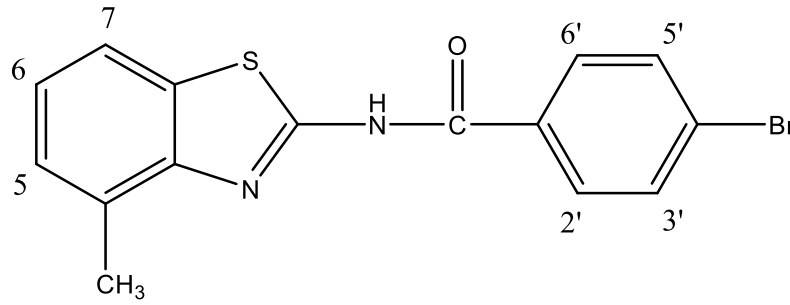


Şekil 3.11. 4 Nolu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu



Şekil 3.12. 4 Nolu Bileşiğin ^{13}C -NMR Spektrumu

3.1.5. 2-(4'-Bromobenzamido)-4-metilbenzotiyazol (5)



Gerçekleştirilen sentezde 0,001 mol 2-amino-4-metilbenzotiyazol, 0,001 mol 4-bromobenzoil klorür ve 0,001 mol sodyum bikarbonat kullanıldı. Sentez sonunda % 55 verimle saf ürün elde edildi.

Kütle Spektrumu m/z (%X); 347,31 ($M^+ + H$)(%100)
349,25 ($M^+ + H + 2$)(%96)

^1H -NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO- d_6); δ ppm; 2,62 (s, 3H, CH_3 protonları); 7,21-7,29 (m, 2H, 5, 6 protonları); 7,77 (d, $J=8,8$ Hz, 2H, 3', 5', protonları); 7,82 (d, $J=7,6$ Hz, 1H, 7 protonu); 8,08 (d, $J=8,4$ Hz, 2H, 2', 6' protonları); 12,98 (s, 1H, NH protonu)

^{13}C -NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO- d_6); δ ppm; 18,07; 119,06; 123,68; 126,70; 126,77; 129,94; 130,43; 131,13; 131,61

Elementel Analiz;

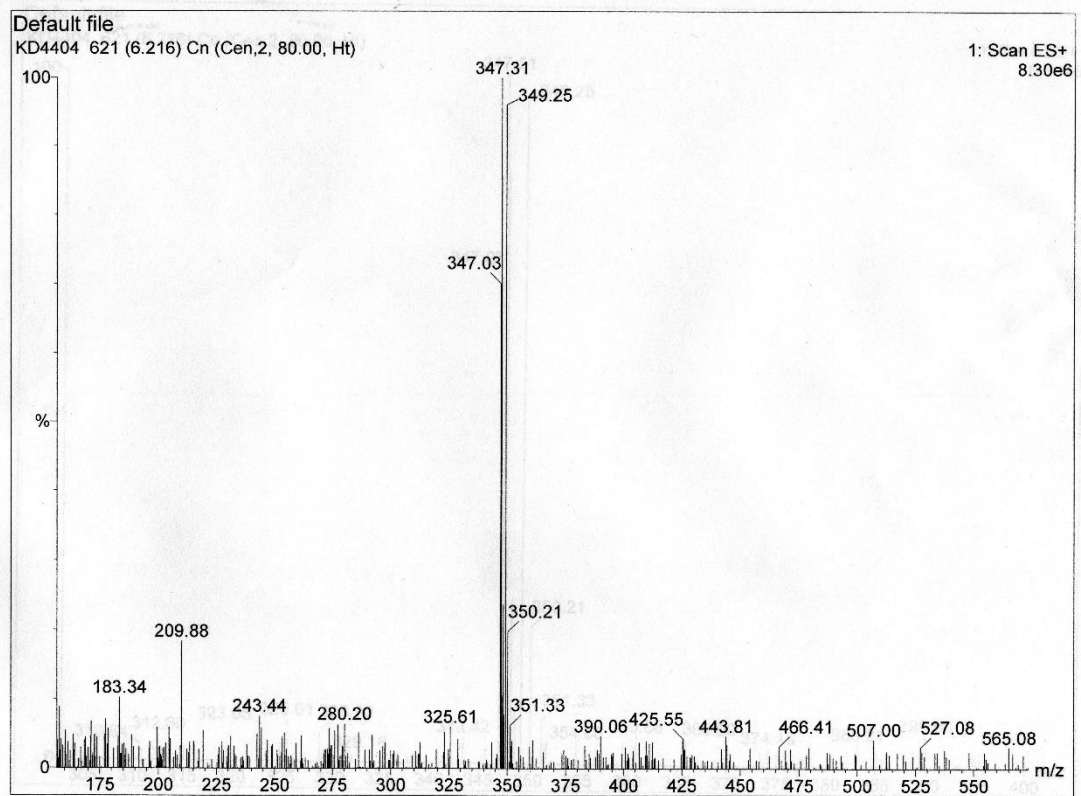
	<u>C</u>	<u>H</u>	<u>N</u>	<u>S</u>
Hesaplanan :	49,080	3,625	7,632	8,736
Bulunan :	48,790	3,824	8,023	8,791

Kapalı Formül : C₁₅H₁₁BrN₂OS – 1,1HOH

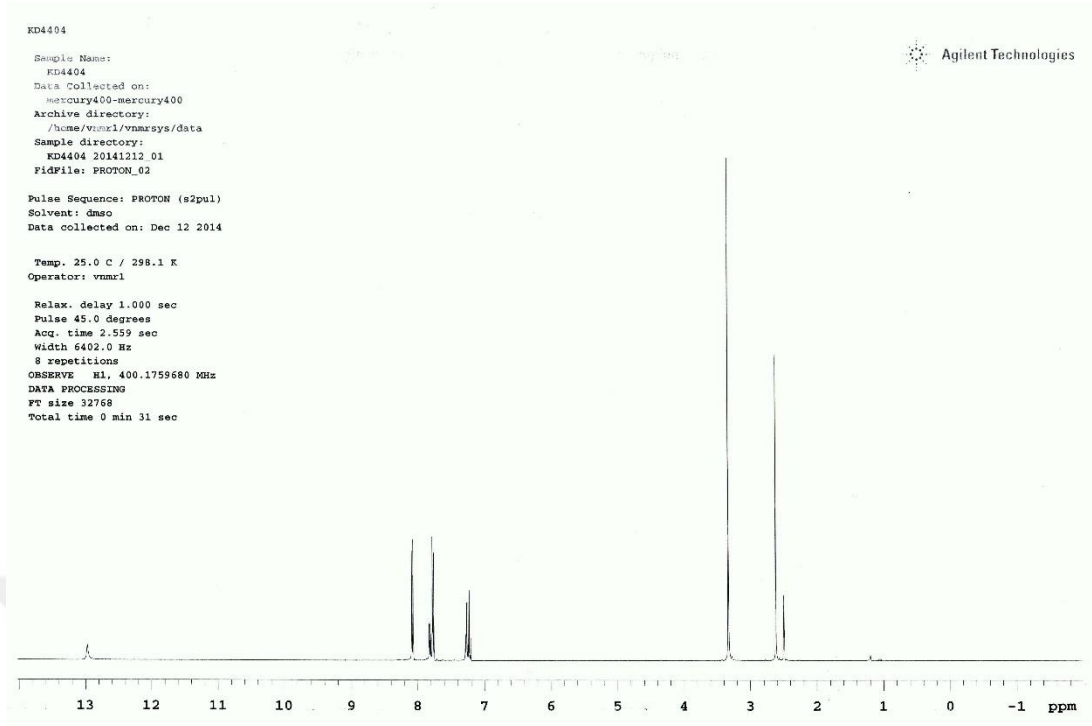
Molekül Ağırlığı : 347,23

Erime Noktası : 190-191 °C (171-172 °C dekompoze oldu)

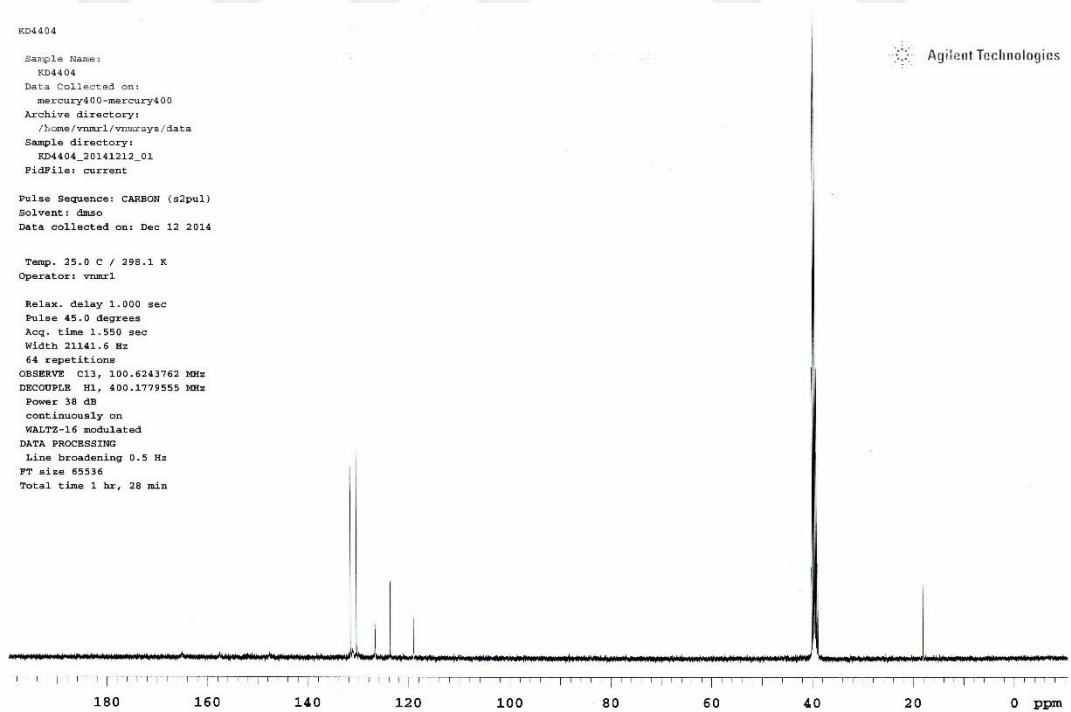
R_f Değeri : 0,67 (S₁)



Şekil 3.13. 5 Nolu Bileşiğin Kütle Spektromu

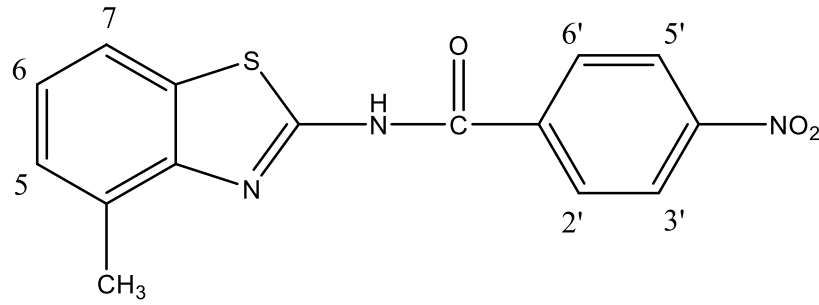


Şekil 3.14. 5 Nolu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu



Şekil 3.15. 5 Nolu Bileşiğin ^{13}C -NMR Spektrumu

3.1.6. 2-(4'-Nitrobenzamido)-4-metilbenzotiyazol (6)



Gerçekleştirilen sentezde 0,001 mol 2-amino-4-metilbenzotiyazol, 0,001 mol 4-nitrobenzoil klorür ve 0,001 mol sodyum bikarbonat kullanıldı. Sentez sonunda % 71 verimle saf ürün elde edildi.

Kütle Spektrumu m/z (%X); 314,20 (M⁺+H)(%100)

¹H-NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO-d₆); δ ppm; 2,61 (s, 3H, CH₃ protonları); 7,21-7,28 (m, 2H, 5, 6 protonları); 7,82 (d, J=8,0 Hz, 1H, 7 protonu); 8,32-8,36 (m, 4H, 2', 3', 5', 6' protonları); 13,23 (s, 1H, NH protonu)

¹³C-NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO-d₆); δ ppm; 17,96; 119,10; 123,48; 123,79; 126,72; 129,88; 149,65

Elementel Analiz;

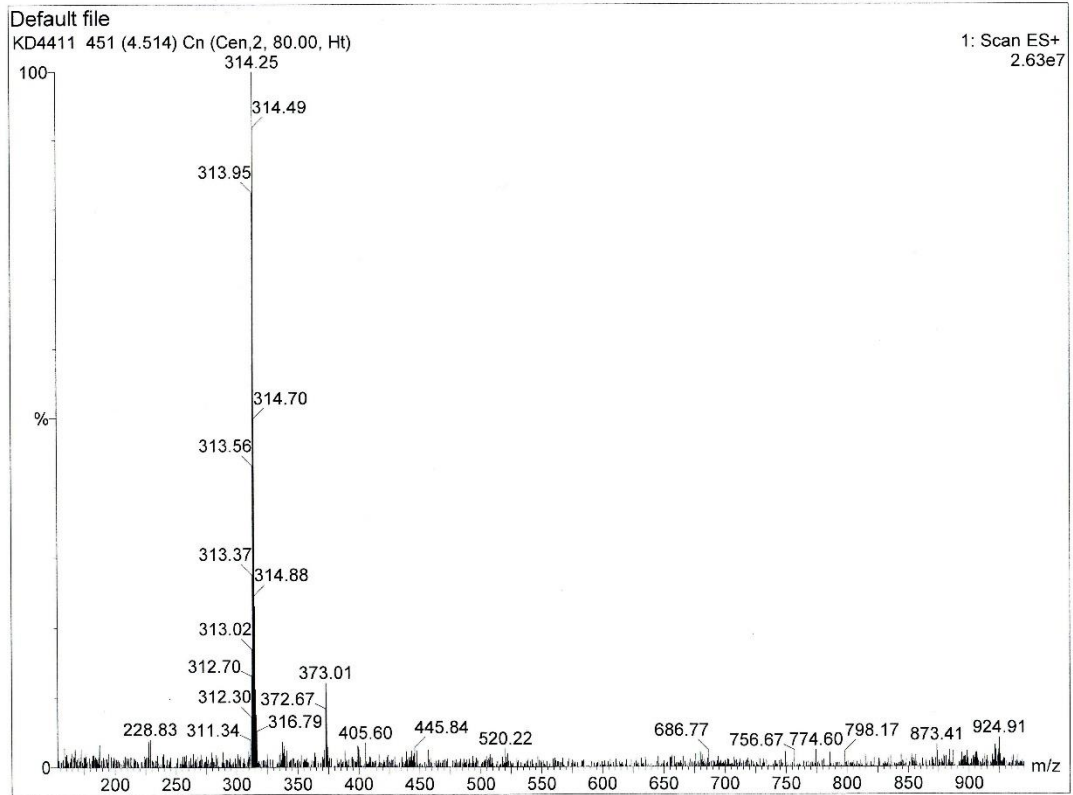
	<u>C</u>	<u>H</u>	<u>N</u>	<u>S</u>
Hesaplanan :	57,500	3,539	13,411	10,234
Bulunan :	57,350	3,581	13,270	9,985

Kapalı Formül : $C_{15}H_{11}N_3O_3S - 1,1HOH$

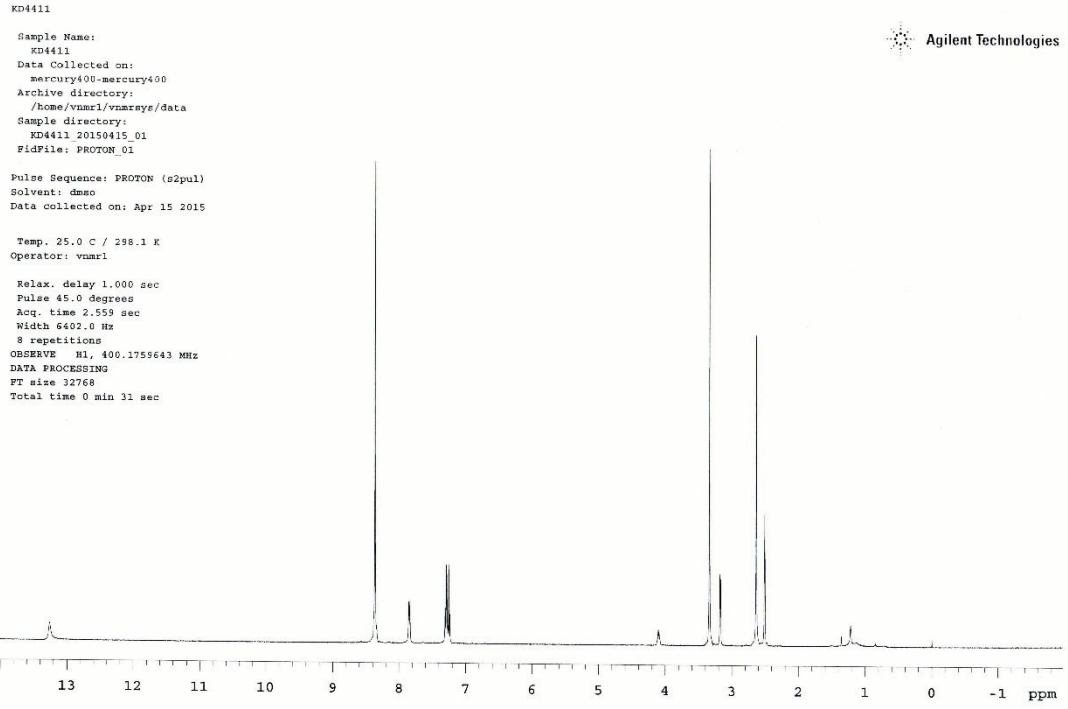
Molekül Ağırlığı : 313,33

Erime Noktası : 237-238 °C

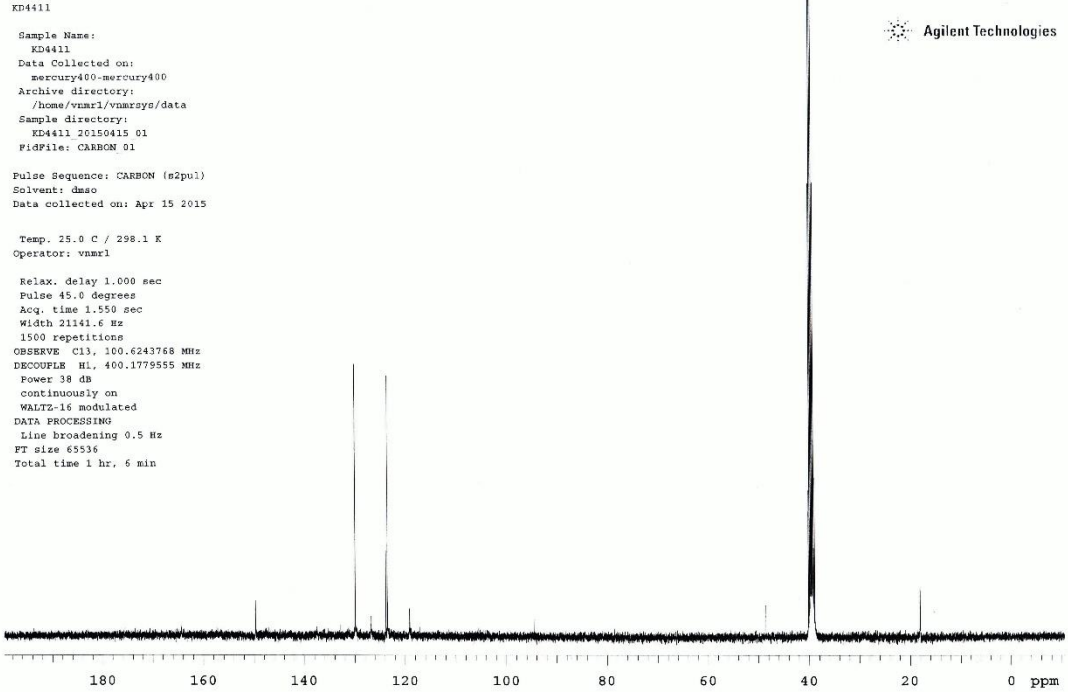
R_f Değeri : 0,46 (S₁)



Şekil 3.16. 6 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu

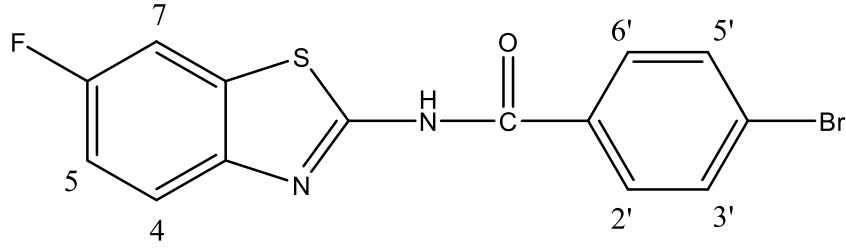


Şekil 3.17. 6 Nolu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu



Şekil 3.18. 6 Nolu Bileşiğin ^{13}C -NMR Spektrumu

3.1.7. 2-(4'-Bromobenzamido)-6-florobenzotiyazol (7)



Gerçekleştirilen sentezde 0,001 mol 2-amino-6-florobenzotiyazol, 0,001 mol 4-bromobenzoil klorür ve 0,001 mol sodyum bikarbonat kullanıldı. Sentez sonunda % 47 verimle saf ürün elde edildi.

Kütle Spektrumu m/z (%X); 351,29 ($M^+ + H$)(%100)
353,34 ($M^+ + H + 2$)(%96)

^1H -NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO- d_6); δ ppm; 7,29-7,34 (m, 1H, 5 protonu); 7,76-7,80 (m, 3H, 3', 7, 5' protonları); 7,92 (dd, $J=2,4$ ve $J=8,4$ Hz, 1H, 4 protonu); 8,06 (d, $J=8,8$ Hz, 2H, 2', 6' protonları); 13,00 (s, 1H, NH protonu)

^{13}C -NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO- d_6); δ ppm; 108,18 (d, $J_{C-F}=27$ Hz); 114,33 (d, $J_{C-F}=24$ Hz); 121,49; 126,89; 130,36; 130,99; 131,68; 132,69; 145,01; 158,76 (d, $J_{C-F}=239$ Hz); 165,20

Elementel Analiz;

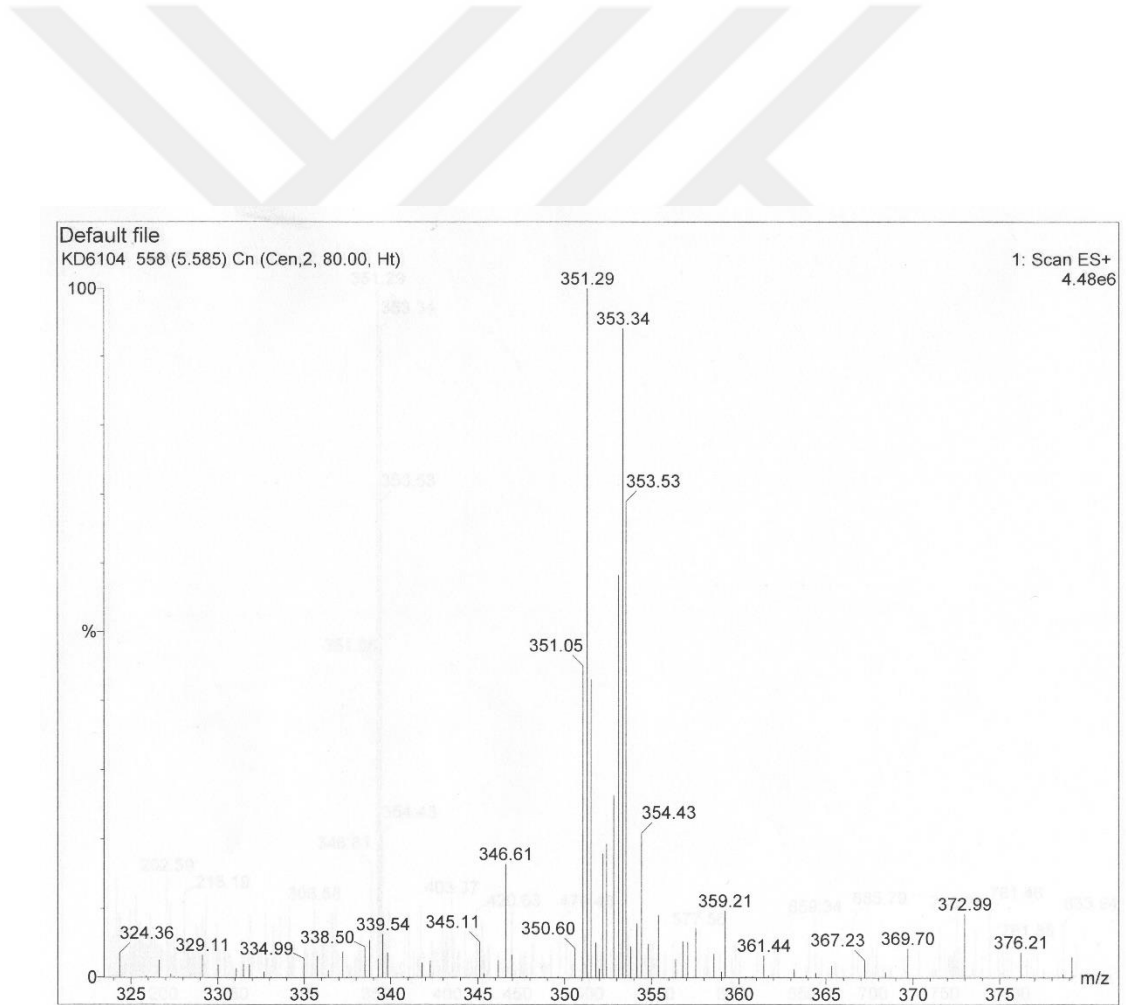
	<u>C</u>	<u>H</u>	<u>N</u>	<u>S</u>
Hesaplanan :	47,880	2,296	7,977	9,131
Bulunan :	47,790	2,423	8,287	9,035

Kapalı Formül : C₁₄H₈BrFN₂OS

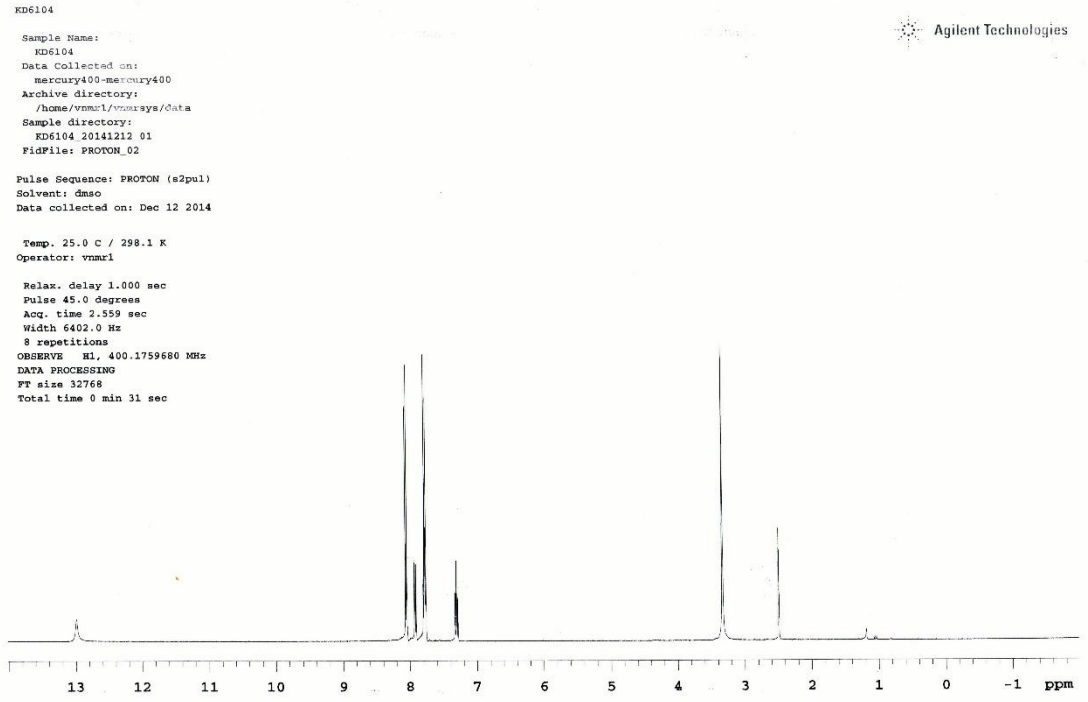
Molekül Ağırlığı : 351,19

Erime Noktası : 271-272 °C

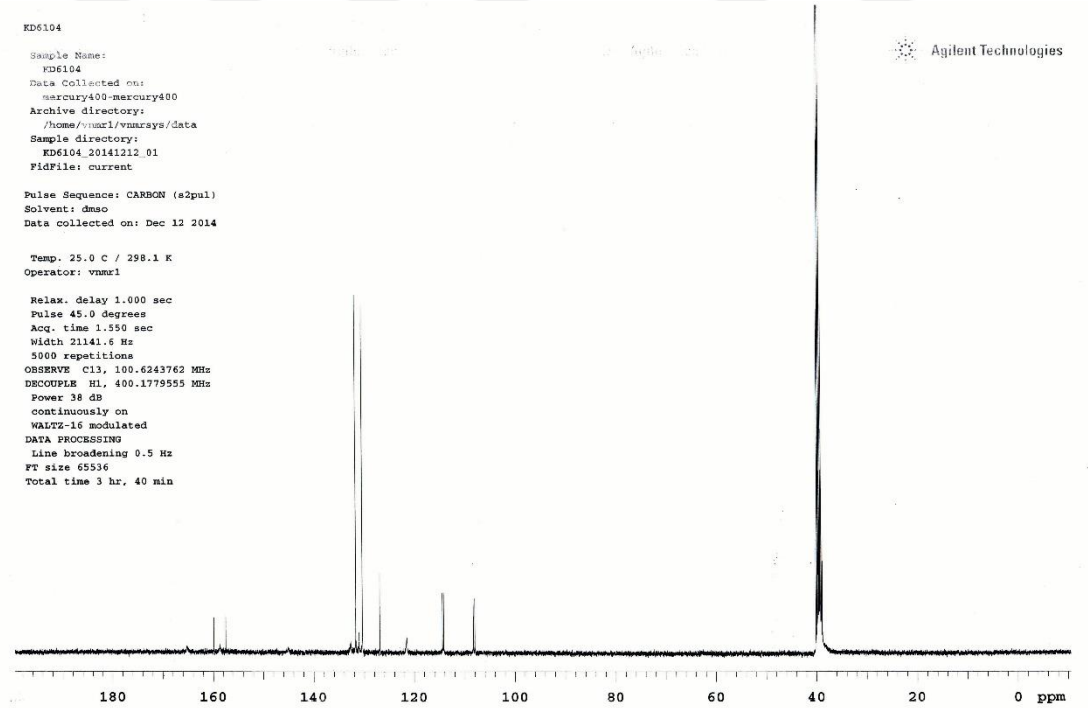
R_f Değeri : 0,43 (S₁)



Şekil 3.19. 7 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu

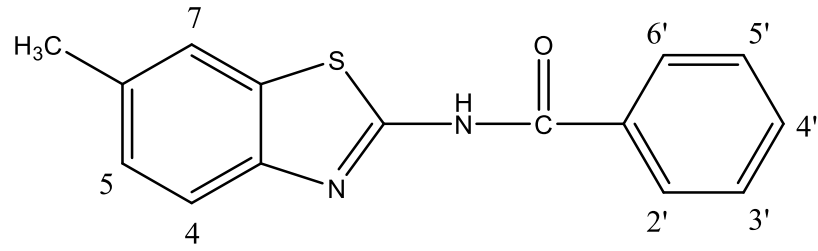


Şekil 3.20. 7 Nolu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu



Şekil 3.21. 7 Nolu Bileşiğin ^{13}C -NMR Spektrumu

3.1.8. 2-Benzamido-6-metilbenzotiyazol (8)



Gerçekleştirilen sentezde 0,001 mol 2-amino-6-metilbenzotiyazol, 0,001 mol benzoil klorür ve 0,001 mol sodyum bikarbonat kullanıldı. Sentez sonunda % 26 verimle saf ürün elde edildi (Shen ve ark., 2009).

Kütle Spektromu m/z (%X); 269,33 (M⁺+H)(%100)

¹H-NMR Spektromu (Int. TMS, DMSO-d₆); δ ppm; 2,45 (s, 3H, CH₃ protonları); 7,05-7,62 (m, 6H, 4, 5, 7, 3', 4', 5' protonları); 8,01 (d, J=7,2 Hz, 2H, 2', 6' protonları); NH protonu gözlenmedi

¹³C-NMR Spektromu (Int. TMS, DMSO-d₆); δ ppm; 21,44; 120,15; 121,13; 127,57; 127,95; 128,98; 131,96; 132,08; 133,00; 134,02; 145,56; 158,97; 165,86

Elementel Analiz;

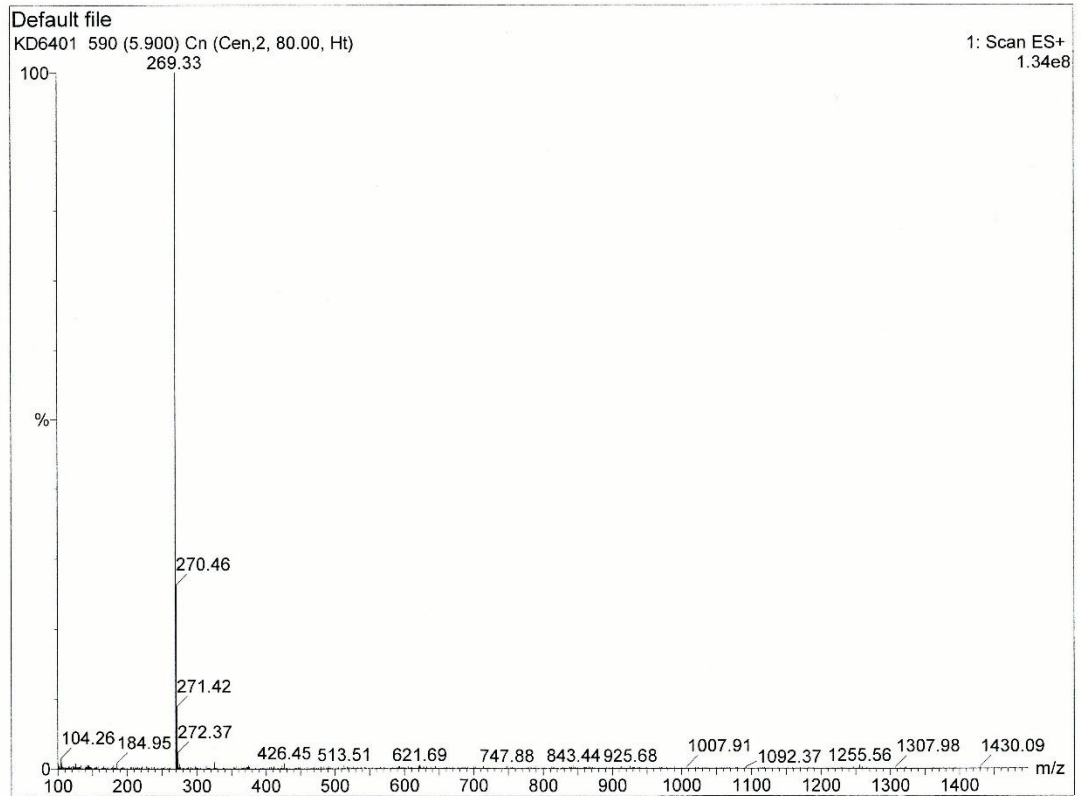
	<u>C</u>	<u>H</u>	<u>N</u>	<u>S</u>
Hesaplanan :	62,920	4,928	9,783	11,200
Bulunan :	63,000	5,072	9,964	11,140

Kapalı Formül : C₁₅H₁₂N₂OS – HOH

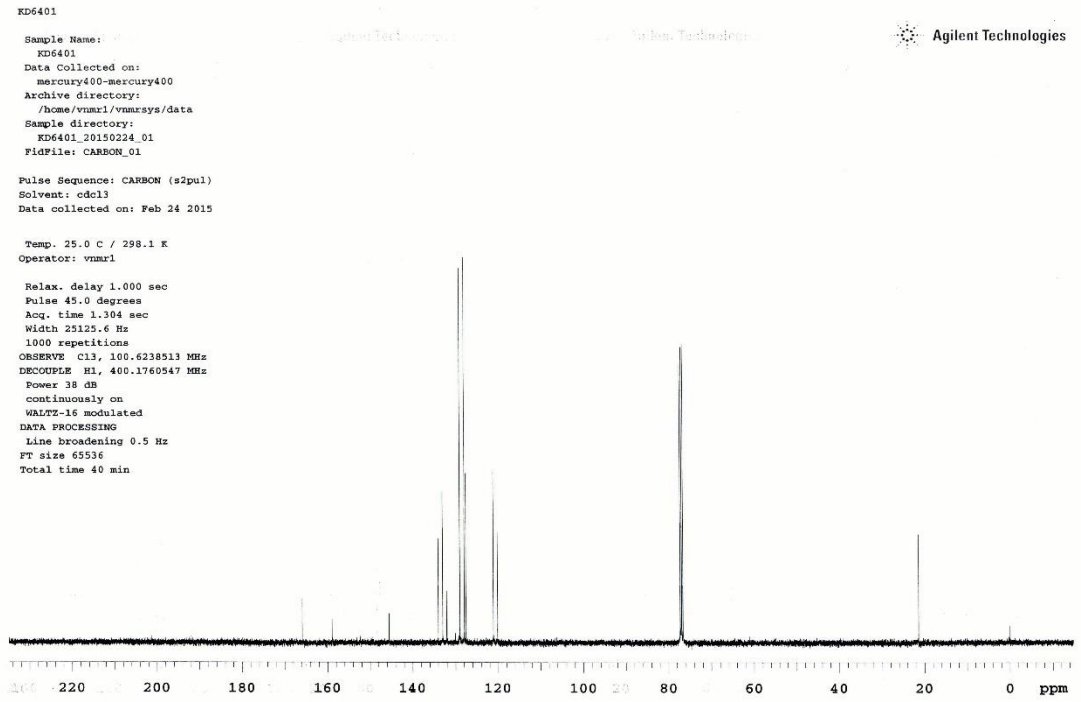
Molekül Ağırlığı : 268,33

Erime Noktası : 214-216 °C (Literatürde E.N.'na rastlanmamıştır.)

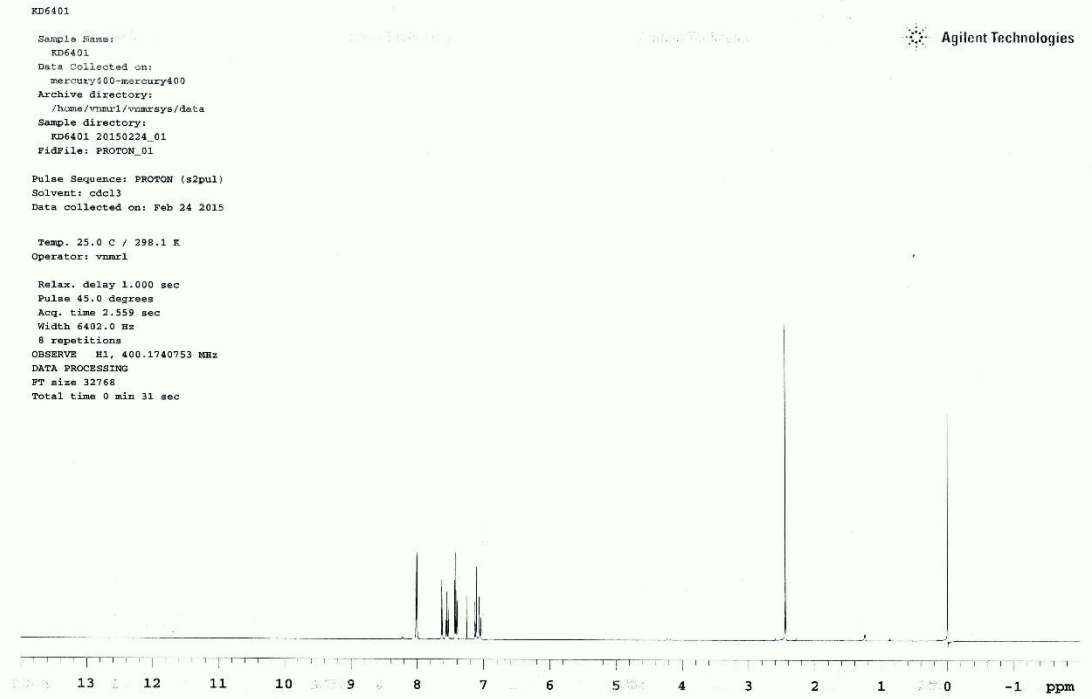
R_f Değeri : 0,38 (S₁)



Şekil 3.22. 8 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu

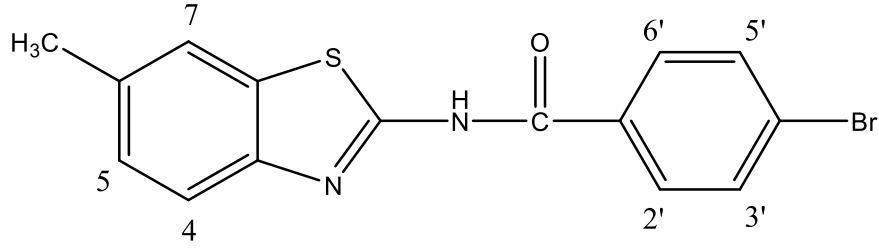


Şekil 3.23. 8 Nolu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu



Şekil 3.24. 8 Nolu Bileşiğin ^{13}C -NMR Spektrumu

3.1.9. 2-(4'-Bromobenzamido)-6-metilbenzotiyazol (9)



Gerçekleştirilen sentezde 0,001 mol 2-amino-6-metilbenzotiyazol, 0,001 mol 4-bromobenzoil klorür ve 0,001 mol sodyum bikarbonat kullanıldı. Sentez sonunda % 43 verimle saf ürün elde edildi.

Kütle Spektrumu m/z (%X); 347,24 ($M^+ + H$)(%100)
349,20 ($M^+ + H + 2$)(%100)

^1H -NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO- d_6); δ ppm; 2,42 (s, 3H, CH₃ protonları); 7,25 (d, $J=8,4$ Hz, 1H, 5 protonu); 7,64 (d, $J=8,0$ Hz, 1H, 4 protonu); 7,75 (d, $J=8,8$ Hz, 2H, 3', 5' protonları); 7,76 (s, 1H, 7 protonu); 8,04 (d, $J=8,4$ Hz, 2H, 2', 6' protonları); 12,89 (s, 1H, NH protonu)

^{13}C -NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO- d_6); δ ppm; 20,98; 119,80; 121,34; 126,72; 127,53; 130,32; 131,33; 131,63; 133,22

Elementel Analiz;

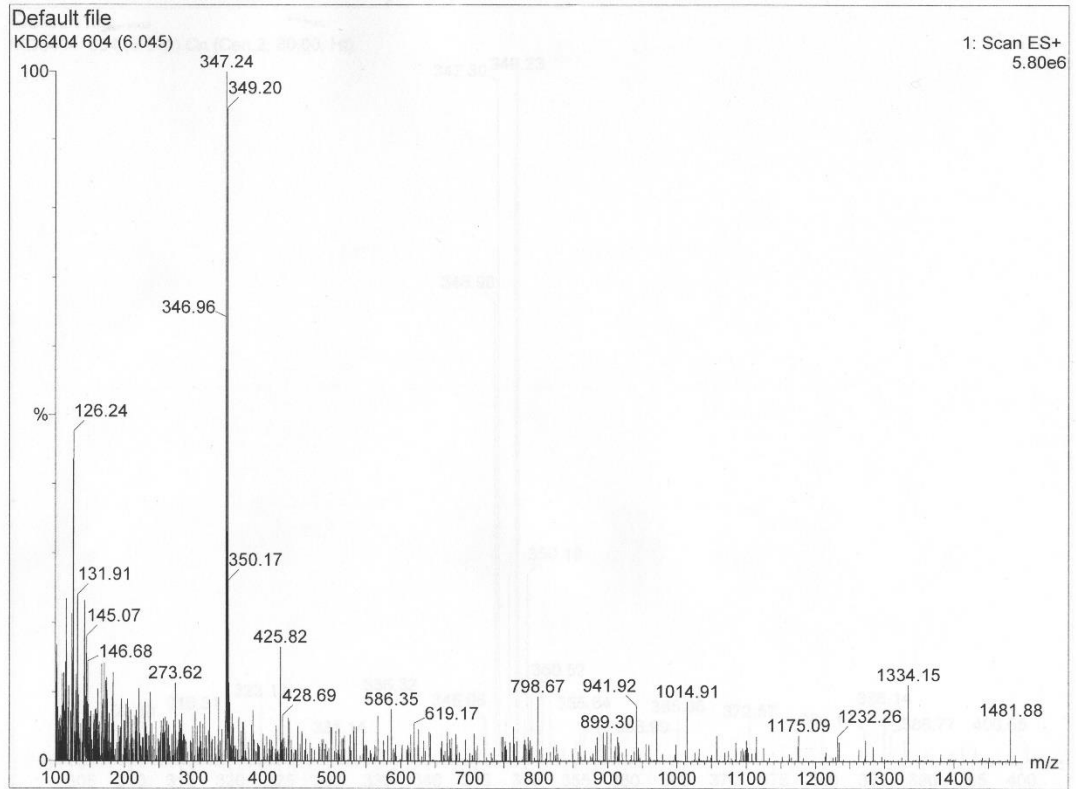
	<u>C</u>	<u>H</u>	<u>N</u>	<u>S</u>
Hesaplanan :	51,890	3,193	8,068	9,235
Bulunan :	51,820	3,297	8,482	9,239

Kapalı Formül : C₁₅H₁₁BrN₂OS

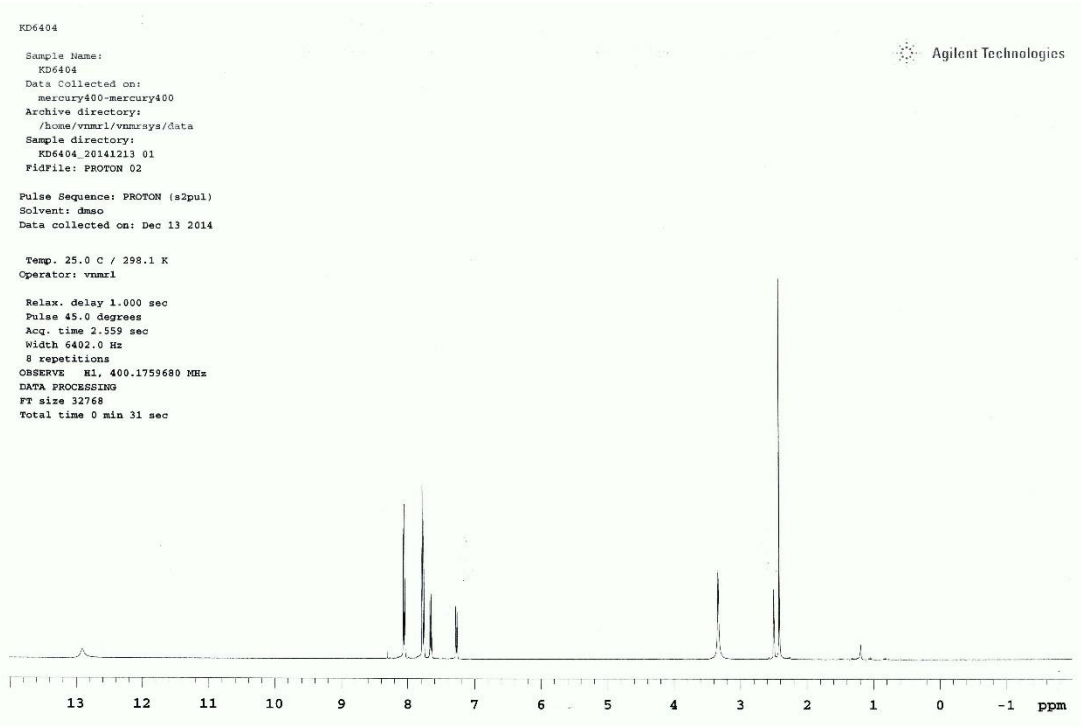
Molekül Ağırlığı : 347,23

Erime Noktası : 259-260 °C

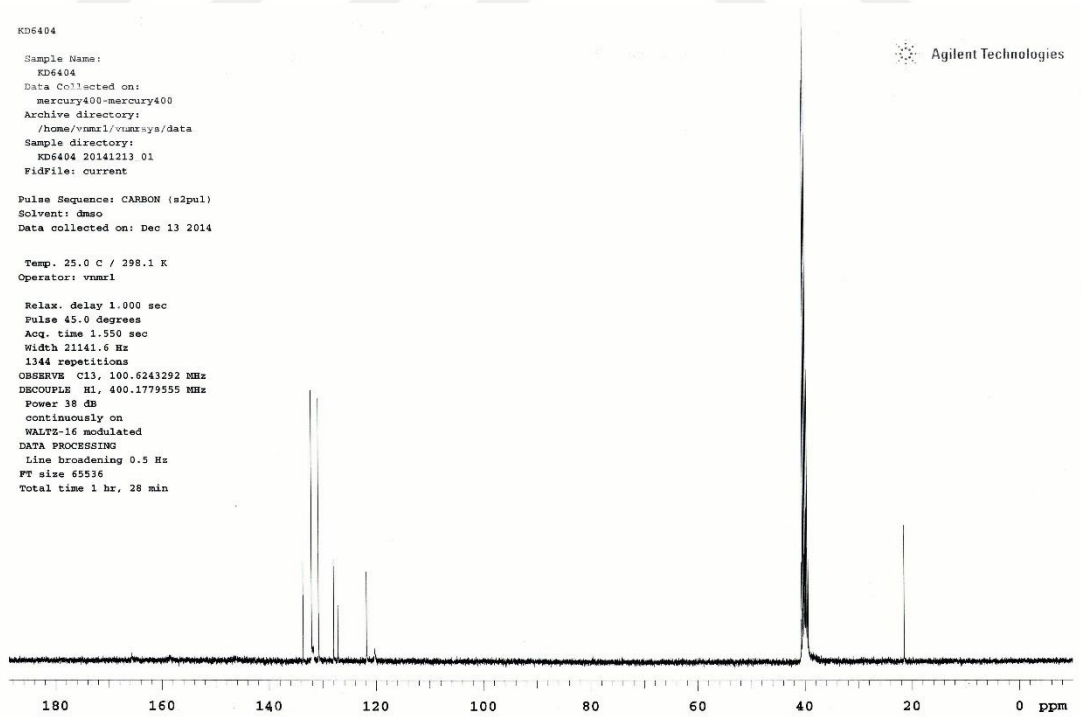
R_f Değeri : 0,46 (S₁)



Şekil 3.25. 9 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu

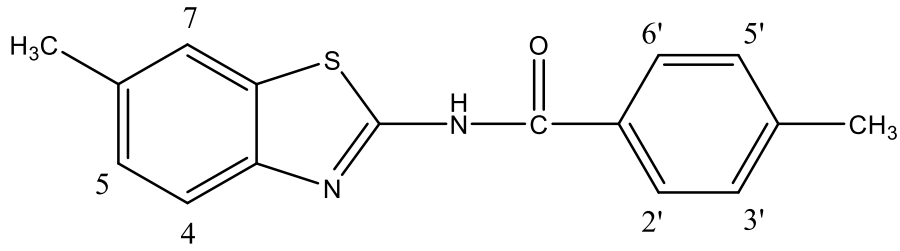


Şekil 3.26. 9 Nolu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu



Şekil 3.27. 9 Nolu Bileşiğin ^{13}C -NMR Spektrumu

3.1.10. 2-(4'-Metilbenzamido)-6-metilbenzotiyazol (10)



Gerçekleştirilen sentezde 0,001 mol 2-amino-6-metilbenzotiyazol, 0,001 mol 4-metilbenzoil klorür ve 0,001 mol sodyum bikarbonat kullanıldı. Sentez sonunda % 46 verimle saf ürün elde edildi (Hur ve ark., 2013).

Kütle Spektrumu m/z (%X); 283,35 ($M^+ + H$)(%100)

^1H -NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO- d_6); δ ppm; 2,38 (s, 3H, 4'-CH₃ protonları); 2,45 (s, 3H, 6-CH₃ protonları); 7,08 (d, $J=7,6$ Hz, 1H, 5 protonu); 7,18-7,26 (m, 3H, 3', 4, 5' protonları); 7,63 (s, 1H, 7 protonu); 7,88 (d, $J=8,0$ Hz, 2H, 2', 6' protonları); NH protonu gözlenmedi

^{13}C -NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO- d_6); δ ppm; 21,43; 21,58; 120,25; 121,12; 127,48; 127,89; 129,22; 129,64; 132,05; 133,91; 143,83; 165,67

Elementel Analiz;

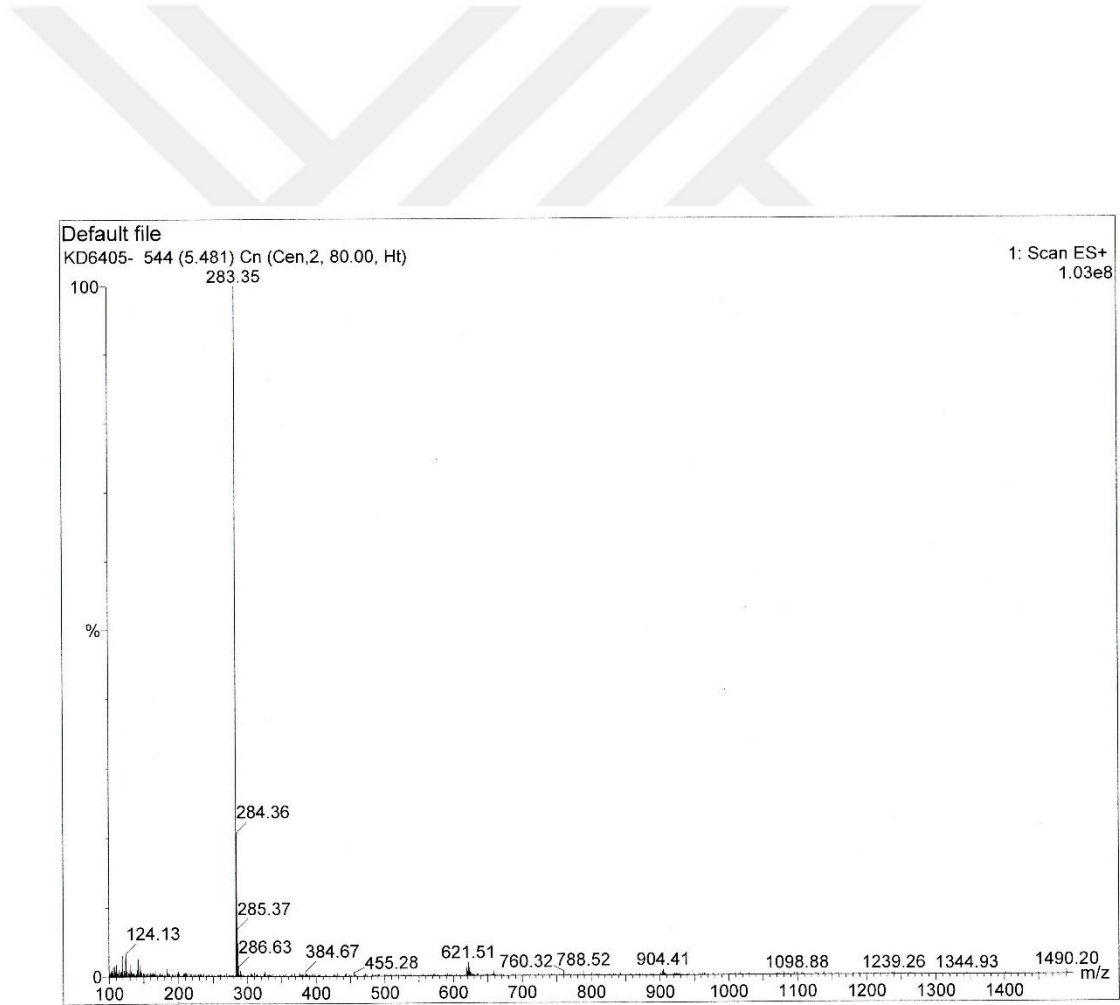
	<u>C</u>	<u>H</u>	<u>N</u>	<u>S</u>
Hesaplanan :	68,060	4,998	9,921	11,360
Bulunan :	68,060	4,882	10,160	11,330

Kapalı Formül : C₁₆H₁₄N₂OS

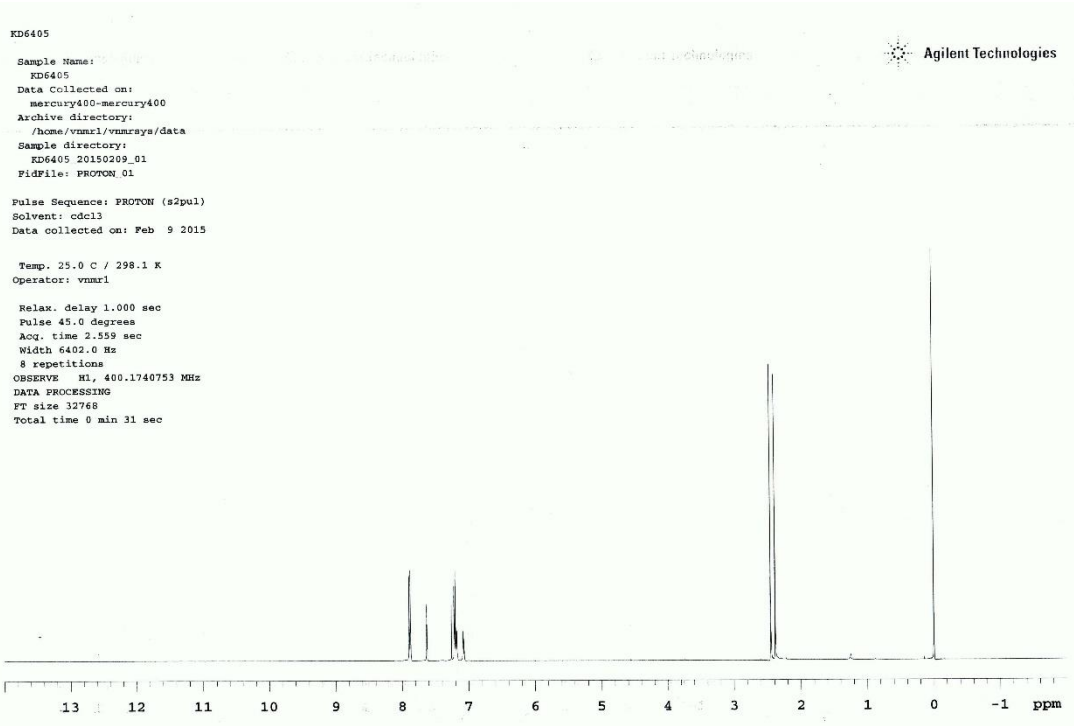
Molekül Ağırlığı : 282,36

Erime Noktası : 234-235 °C (Literatürde E.N.'na rastlanmamıştır.)

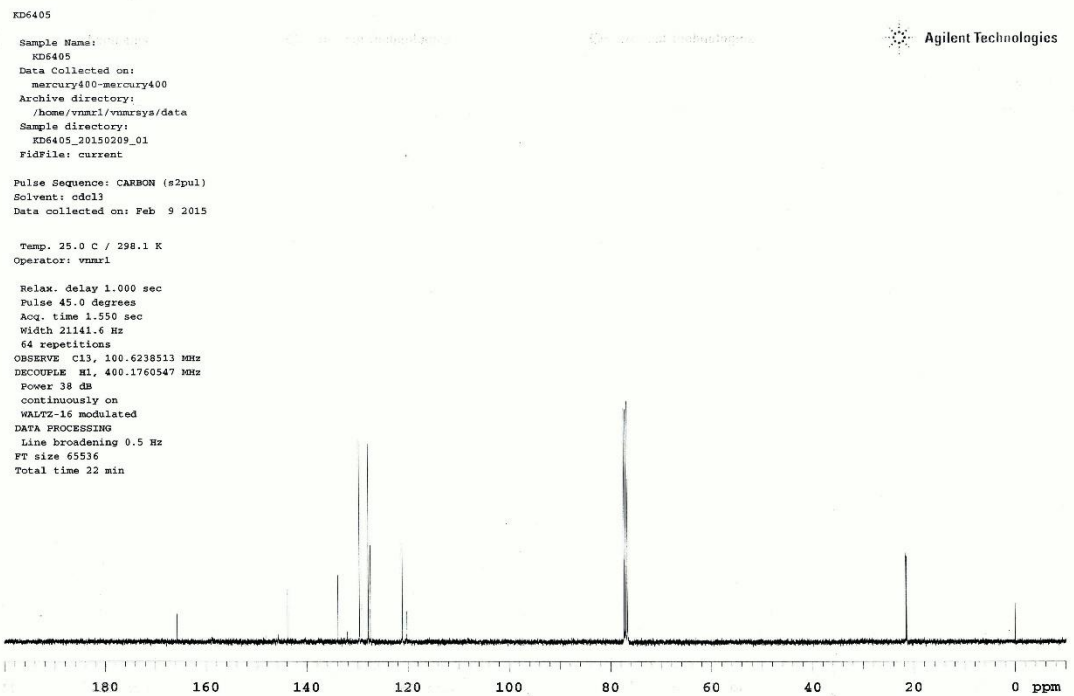
R_f Değeri : 0,41 (S₁)



Şekil 3.28. 10 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu

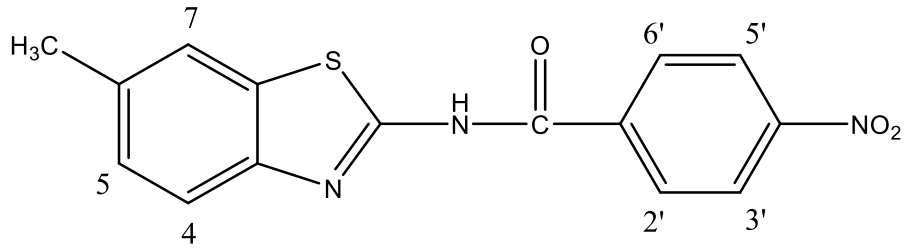


Şekil 3.29. 10 Nolu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu



Şekil 3.30. 10 Nolu Bileşiğin ^{13}C -NMR Spektrumu

3.1.11. 2-(4'-Nitrobenzamido)-6-metilbenzotiyazol (11)



Gerçekleştirilen sentezde 0,001 mol 2-amino-6-metilbenzotiyazol, 0,001 mol 4-nitrobenzoil klorür ve 0,001 mol sodyum bikarbonat kullanıldı. Sentez sonunda % 47 verimle saf ürün elde edildi.

Kütle Spektrumu m/z (%X); 314,37 (M⁺+H)(%100)

¹H-NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO-d₆); δ ppm; 2,42 (s, 3H, CH₃ protonları); 7,29 (dd, J=1,2 Hz ve J=8,0 Hz, 1H, 5 protonu); 7,65 (d, J=7,6 Hz, 1H, 4 protonu); 7,79 (s, 1H, 7 protonu); 8,31-8,37 (m, 4H, 2', 3', 5', 6' protonları); 13,14 (s, 1H, NH protonu)

¹³C-NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO-d₆); δ ppm; 20,91; 121,42; 123,50; 127,63; 129,78; 133,38; 149,64

Elementel Analiz;

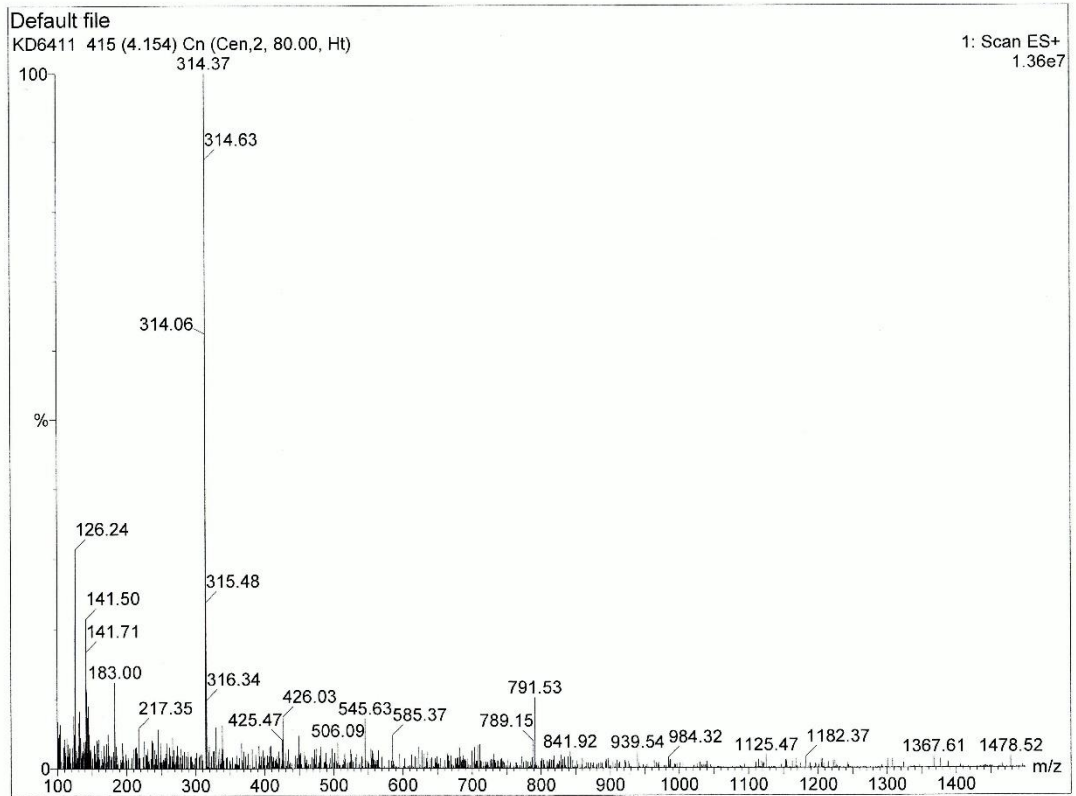
	<u>C</u>	<u>H</u>	<u>N</u>	<u>S</u>
Hesaplanan :	57,500	3,539	13,411	10,230
Bulunan :	57,290	3,733	13,550	10,230

Kapalı Formül : C₁₅H₁₁N₃O₃S

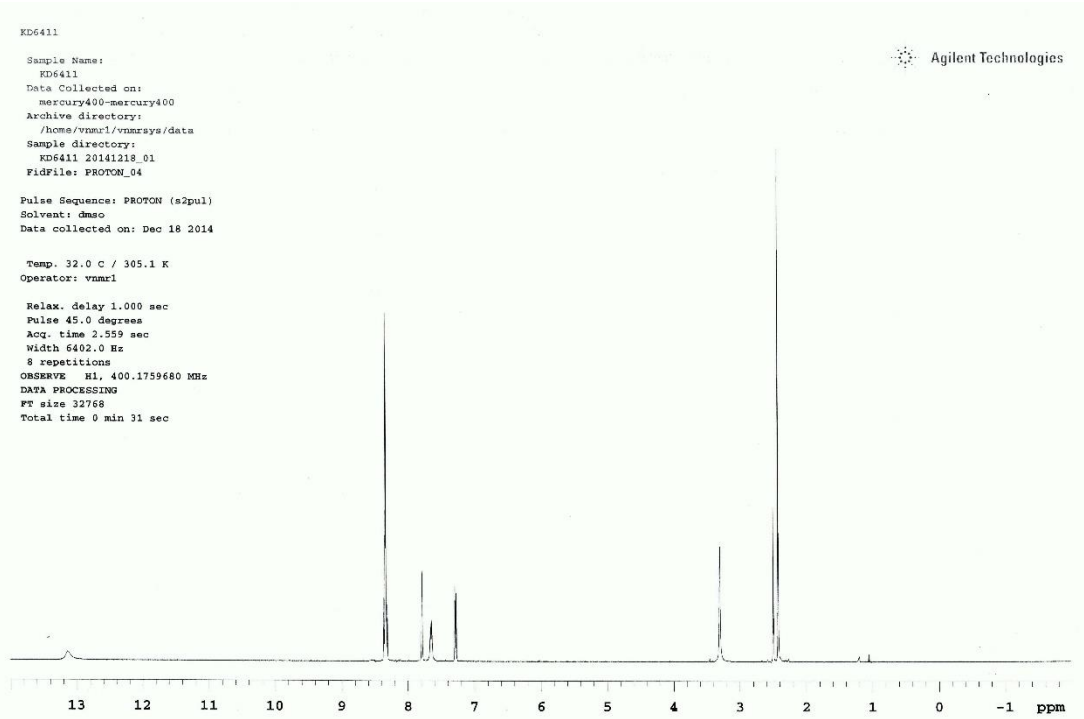
Molekül Ağırlığı : 313,33

Erime Noktası : 278-279 °C

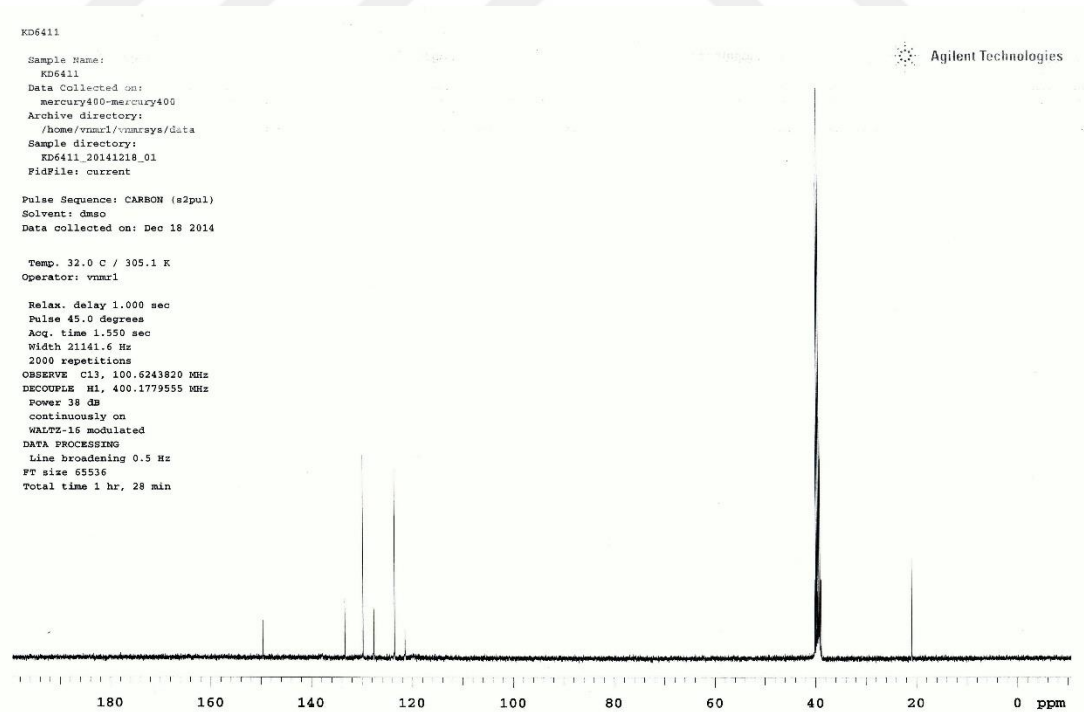
R_f Değeri : 0,34 (S₁)



Şekil 3.31. 11 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu

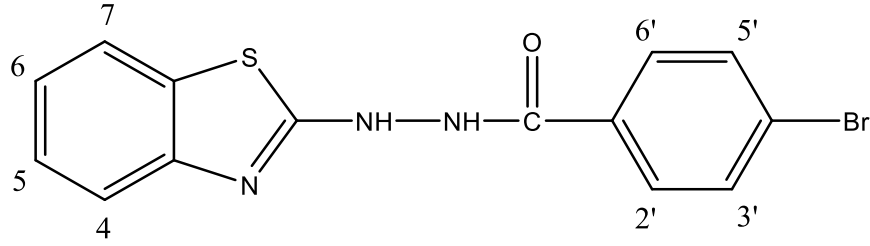


Şekil 3.32. 11 Nolu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu



Şekil 3.33. 11 Nolu Bileşiğin ^{13}C -NMR Spektrumu

3.1.12. 2-(4'-Bromo-*N'*-benzhidrazido)benzotiyazol (12)



Gerçekleştirilen sentezde 0,001 mol 2-hidrazinobenzotiyazol, 0,001 mol 4-bromobenzoil klorür ve 0,001 mol sodyum bikarbonat kullanıldı. Sentez sonunda % 29 verimle saf ürün elde edildi (Butler ve ark., 1971).

Kütle Spektrumu m/z (%X); 350,22 ($M^+ + H$)(%100)
348,18 ($M^+ + H + 2$)(%95)

^1H -NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO- d_6); δ ppm; 7,09 (t, $J=7,6$ Hz, 1H, 6 protonu); 7,27 (t, $J=7,2$ Hz, 1H, 5 protonu); 7,46 (d, $J=7,6$ Hz, 1H, 7 protonu); 7,73 (d, $J=8,0$ Hz, 1H, 4 protonu); 7,75 (d, $J=8,4$ Hz, 2H, 3', 5' protonları); 7,85 (d, $J=8,4$ Hz, 2H, 2', 6' protonları); 10,04 (s, 1H, N'H protonu); 11,04 (s, 1H, NH protonu)

^{13}C -NMR Spektrumu (Int. TMS, DMSO- d_6); δ ppm; 118,83; 121,28; 121,64; 125,73; 125,93; 129,44; 130,17; 131,17; 131,65; 152,13; 165,47; 170,16

Elementel Analiz;

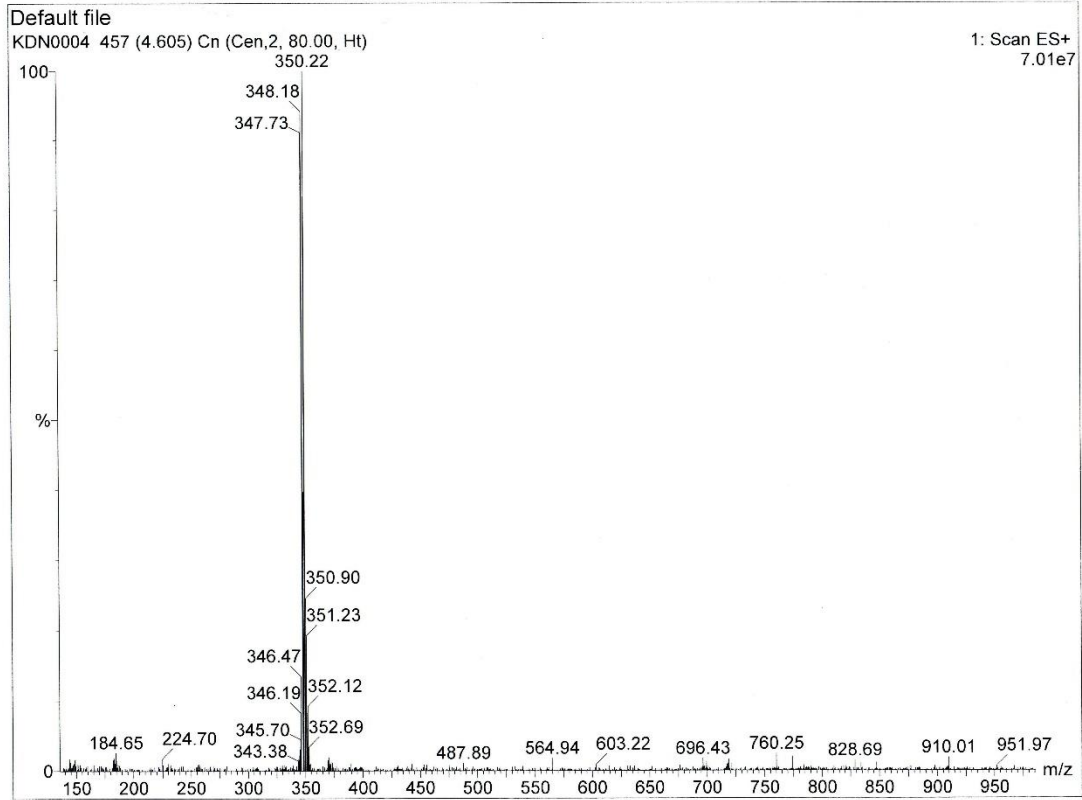
	<u>C</u>	<u>H</u>	<u>N</u>	<u>S</u>
Hesaplanan :	48,460	3,347	11,533	8,801
Bulunan :	48,940	2,977	11,760	8,689

Kapalı Formül : $C_{14}H_{10}BrN_3OS - 0,35CH_3OH$

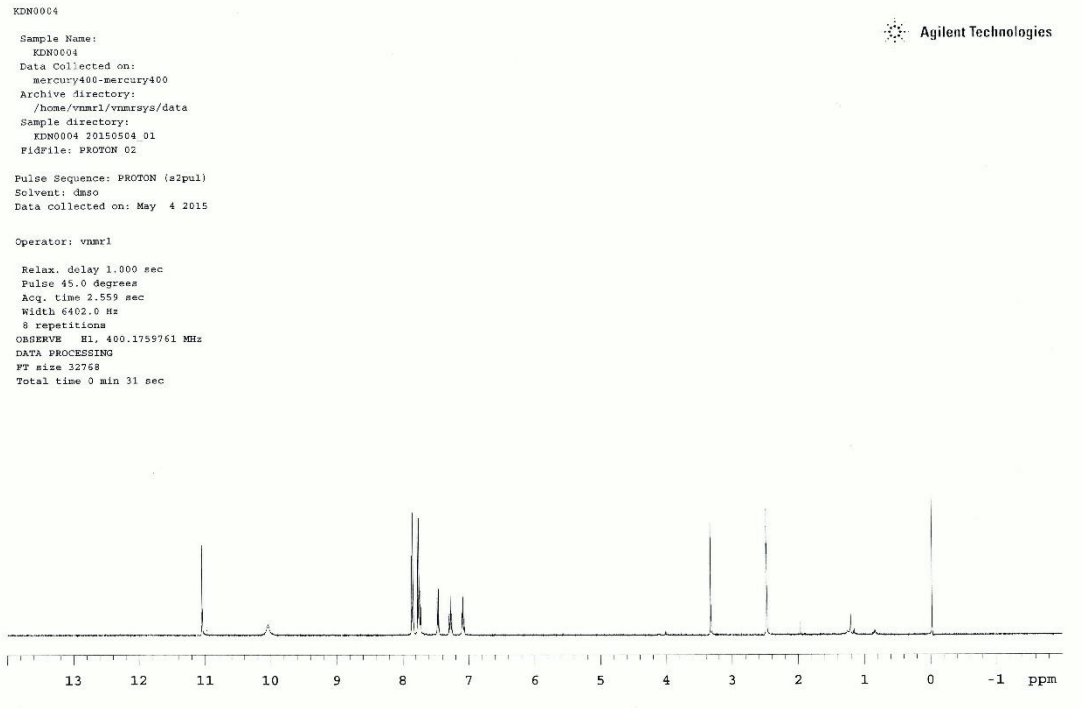
Molekül Ağırlığı : 348,22

Erime Noktası : 235-237 °C (Literatürde E.N.'na rastlanmamıştır.)

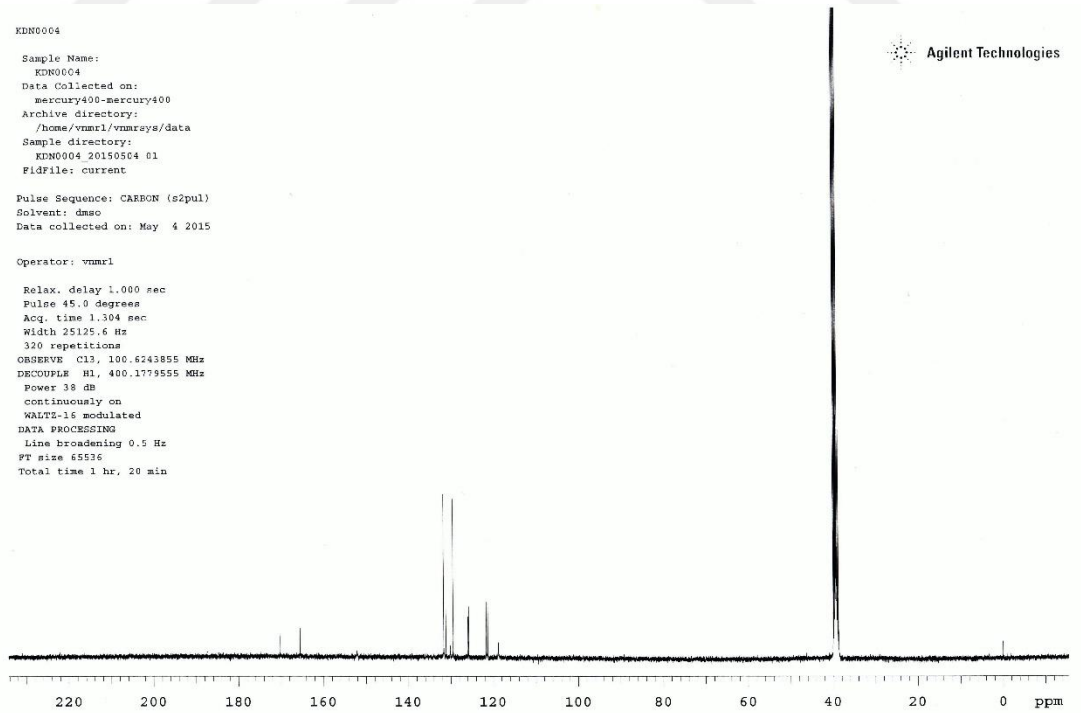
R_f Değeri : 0,32 (S₂)



Şekil 3.34. 12 Nolu Bileşiğin Kütle Spektrumu



Şekil 3.35. 12 Nolu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu

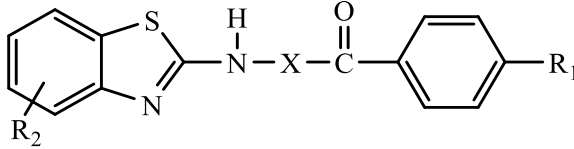


Şekil 3.36. 12 Nolu Bileşiğin ^{13}C -NMR Spektrumu

3.2. Elde Edilen Bileşiklerin *in vitro* hGST P1-1 Enzim İnhibitör Etkileri

Sentezlenen bileşiklerin ve kullanılan referansın gözlenen *in vitro* hGST P1-1 enzim inhibitör etkileri ve IC₅₀ değerleri (μM) şeklinde Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Elde edilen bileşiklerin ve kullanılan referansın gözlenen *in vitro* hGST P1-1 enzim inhibitör etkileri ve IC₅₀ değerleri (μM)



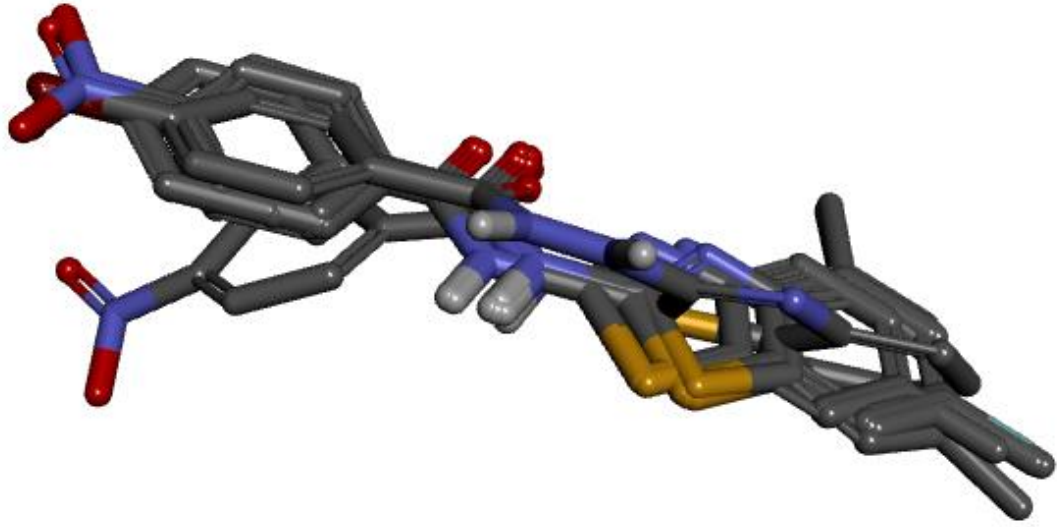
No	Süstitüentler			hGST P1-1
	X	R ₁	R ₂	IC ₅₀ (μM)
1	-	H	H	>100
2	-	Br	H	12
3	-	CH ₃	H	30
4	-	NO ₂	H	TE*
5	-	Br	4-CH ₃	15,1
6	-	NO ₂	4-CH ₃	TE*
7	-	Br	6-F	30
8	-	H	6-CH ₃	>100
9	-	Br	6-CH ₃	38,9
10	-	CH ₃	6-CH ₃	30
11	-	NO ₂	6-CH ₃	TE*
12	NH	Br	H	>100
Etakrinik asit				10,2

*: Çözünürlük sorunu nedeniyle test edilememiştir.

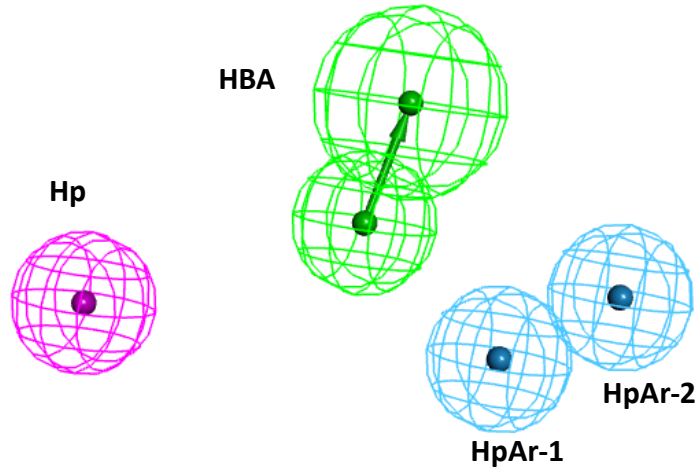
3.3. Moleküler Modelleme Çalışmaları

3.3.1. Farmakofor Çalışması (HipHop Yöntemi)

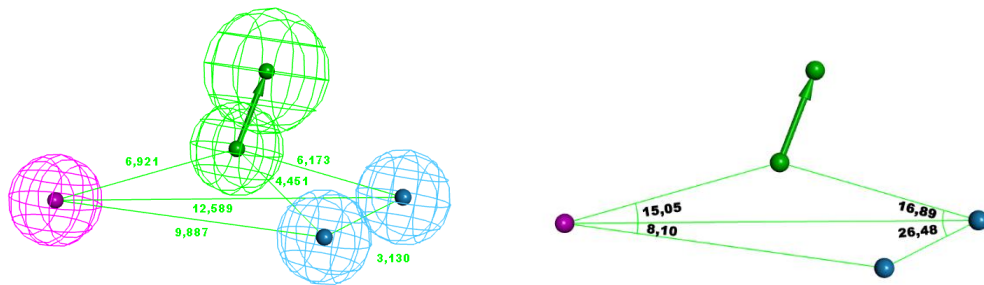
hGST P1-1 enzim inhibitörü etkileri test edilen dokuz adet bileşikten en etkili olan 2 ve 5 nolu bileşikler referans alınarak bu dokuz adet bileşik üzerinden yapılan HipHop çalışması sonucu bulunan en uygun hipotez (Hipotez 6) ile doktora tezi kapsamında sentezi yapılan bileşiklerin farmakoforik yörelerinin haritalanması Şekil 3.37. – Şekil 3.41.'de verilmiştir.



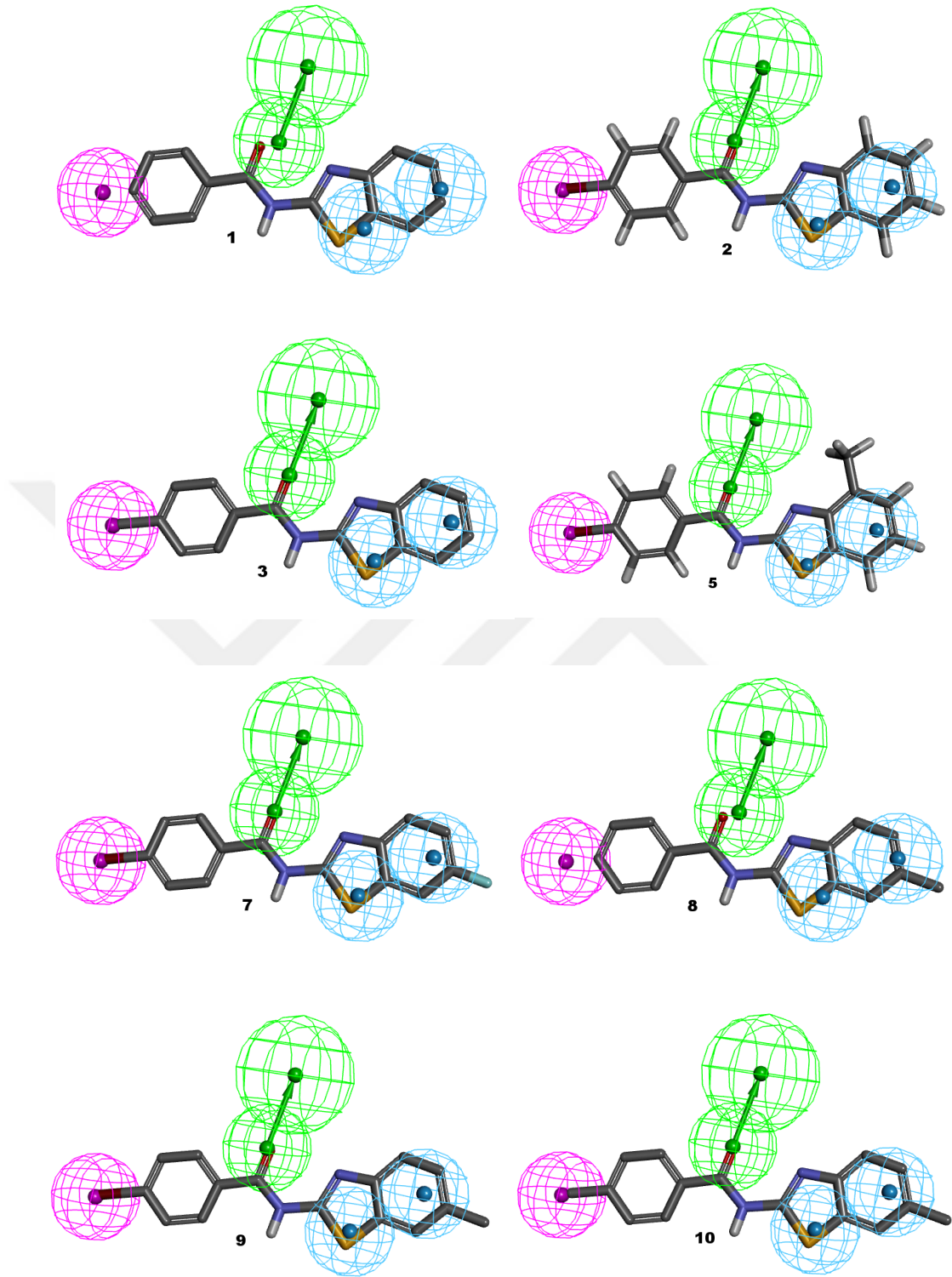
Şekil 3.37. Tüm bileşiklerin üstüste çakışma görünümü



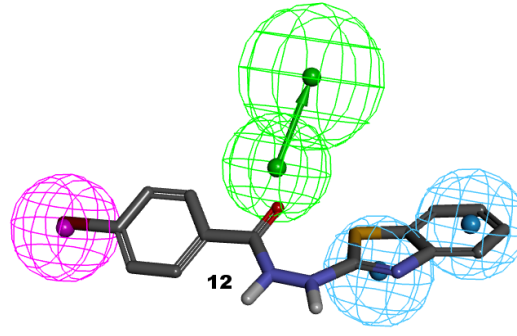
Şekil 3.38. HipHop çalışması sonucu uygun bulunan hipotez (Hipotez 6) [Yeşil renk hidrojen bağı alıcı özelliği (HBA), mavi renk hidrofobik aromatik özelliği (HpAr) ve pembe renk ise hidrofobik özelliği gösterir]



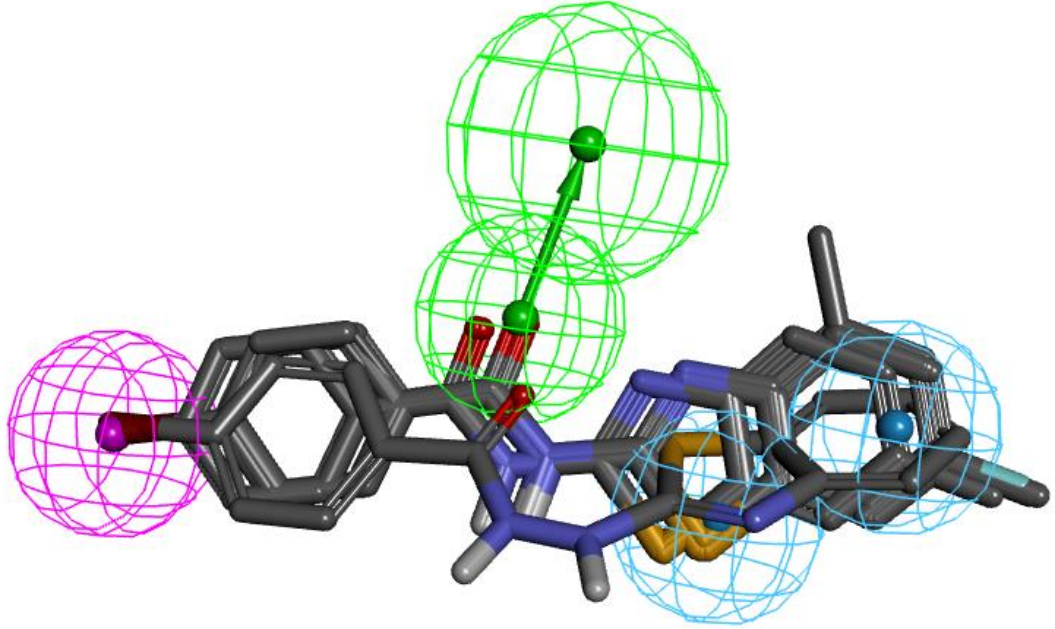
Şekil 3.39. Hipotezin farmakofor özellikleri arası Å cinsinden uzaklıkları ve açıları



Şekil 3.40. Test edilen bileşiklerin hipotez 6 ile farmakoforik yörelerinin gösterimi [Yeşil renk hidrojen bağı alıcı özelliği (HBA), mavi renk hidrofobik aromatik özelliği (HpAr) ve pembe renk ise hidrofobik özelliği gösterir]



Şekil 3.40. Devam. Test edilen bileşiklerin hipotez 6 ile farmakoforik yörelerinin gösterimi [Yeşil renk hidrojen bağı alıcı özelliği (HBA), mavi renk hidrofobik aromatik özelliği (HpAr) ve pembe renk ise hidrofobik özelliği gösterir]



Şekil 3.41. Farmakofor analizi sonucu elde edilen hipotez 6 üzerinde test edilen tüm bileşiklerin gösterimi

Çizelge 3.2. HipHop farmakofor çalışmasında kullanılan ve elde edilen değerler

No	MaxOmitFeat	Principal	FitValue	HpAr-1 ^a	HpAr-2 ^b	Hp ^c	HBA ^d	Pharmprint ^e
2	0	2	3,99	1	1	1	1	'1111'
5	0	2	3,99	1	1	1	1	'1111'
7	2	1	3,98	1	1	1	1	'1111'
3	2	1	3,94	1	1	1	1	'1111'
9	2	1	3,93	1	1	1	1	'1111'
10	2	1	3,87	1	1	1	1	'1111'
12	2	0	2,90	1	1	1	1	'1111'
1	2	0	1,99	1	1	0	1	'1101'
8	2	0	1,86	1	1	0	1	'1101'
Hipotez 6			YYHA ^f Rank: 70,135 DH ^g : 111111 PH ^h : 000000 Max Fit: 4					

^a Benzotiyazol halka sistemindeki tiyazol halkasının hidrofobik aromatik özelliği

^b Benzotiyazol halka sistemindeki benzen halkasının hidrofobik aromatik özelliği

^c Benzotiyazol halka sistemindeki 2. konuma bağlı benzamidin para konumundaki süstitüentin hidrofobik özelliği

^d Benzotiyazol halka sistemindeki 2. konuma bağlı amit karbonil oksijeninin hidrojen bağı alıcı özelliği

^e Molekül farmakofor özelliği ile uyuyorsa 1, uyuyuyorsa 0 değerini alır

^f Y: Hidrofobik aromati özellik; H: Hidrofobik özellik; A: Hidrojen bağı alıcı özellik

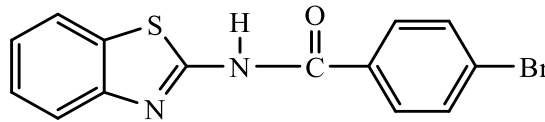
^g Direct Hit: Farmakoforik özelliklere bileşiklerin doğrudan uyumu

^h Partial Hit: Farmakoforik özelliklere bileşiklerin kısmi uyumu

3.3.2. Doking Çalışması (CDocker Yöntemi)

Glutasyon S-transferaz enzimi ile en etkili olan 2 nolu bileşiğin Discovery Studio 3.5. programı kullanılarak yapılan doking çalışması sonucu Çizelge 3.3'te verilmiştir. 2 nolu bileşiğin enzim ile yapılmış olan doking çalışmasına ait fotoğraflar Şekil 3.42'de verilmiştir. Ayrıca PDB'den alınan 2GSS kodlu kristal yapı içindeki EA'in ve 2GSS üzerinde doking çalışması yapılan 2 nolu bileşiğin etkileştikleri amino asit rezidülerinin aynı olduğu gözlenmiş ve EA'in yaptığı etkileşimlerin 2 boyutlu gösterimi (Stierand ve Rarey; 2010) Şekil 3.43'te verilmiştir.

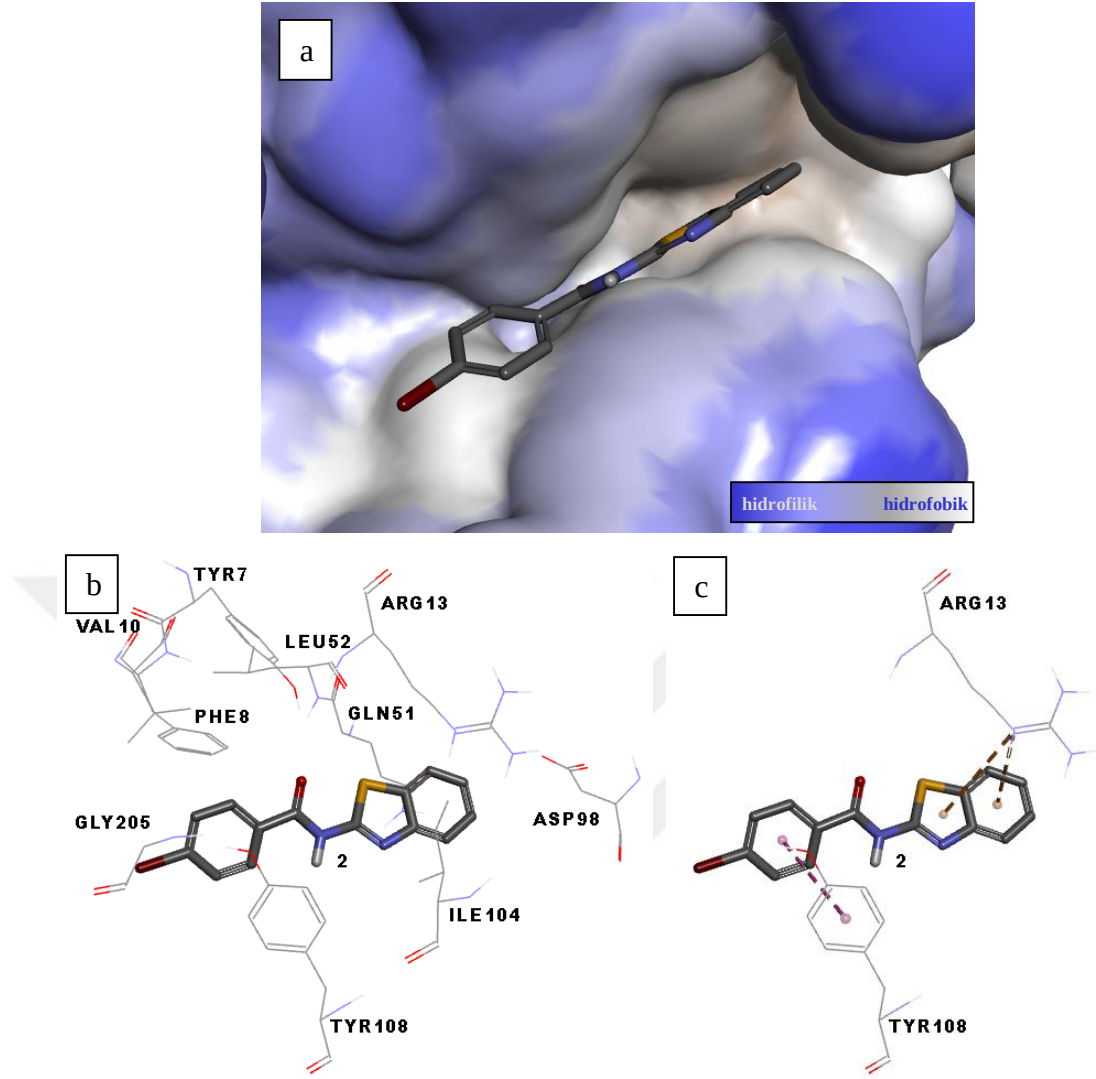
Çizelge 3.3. En etkili 2 nolu bileşiğin bağlanma enerjisi ve 4 Å çevresinde etkileştiği aminoasit rezidüleri



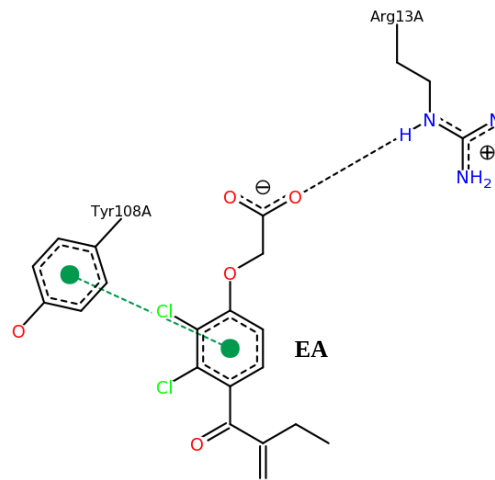
No	Bağlanma Enerjisi	4 Å Çevresindeki Etkileştiği Aminoasit Rezidüleri
2	-16,3635	Arg13 ^[a] , Tyr108 ^[b] (Şekil 3.42c)

[a]: pi-kasyon etkileşimleri (benzen ve tiyazol halkası ile),

[b]: pi-pi etkileşimi (fenil halkası ile)



Şekil 3.42. 2 Nolu Bileşik için: a. Yüzey Alanı Gösterimi, b. 4 Å çevresindeki aminoasit rezidüleri, c. 4 Å çevresinde etkileştiği aminoasit rezidüleri



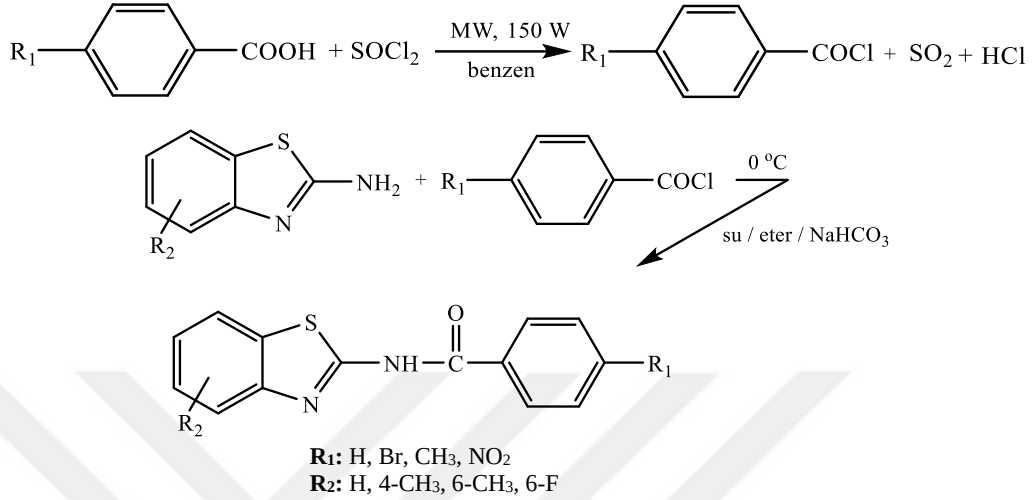
Şekil 3.43. 2GSS kodlu kristal yapı içindeki EA'nin etkileştiği aminoasit rezidüleri

4. TARTIŞMA

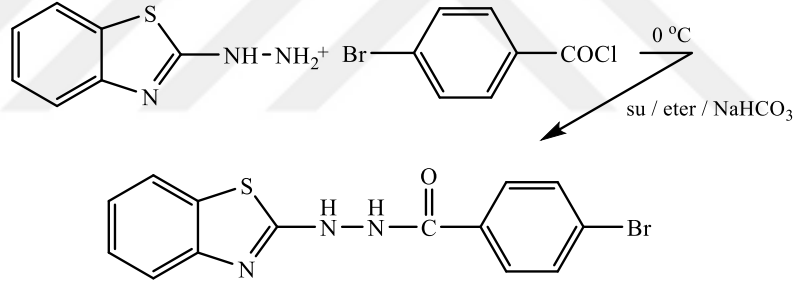
Glutasyon S-transferazlar, ekzojen ve endojen kaynaklı, elektrofilik bileşiklerin GSH ile konjugasyonunu sağlayarak, genellikle daha kolay atılabilen ve daha az toksik metabolitlere dönüşümünü katalizleyen Faz II detoksifikasyon enzimidir. Birçok tümörlü hücrede GSH ve hGSTP1-1 seviyelerinin arttığı bildirilmiştir. Artmış GSH ve GST seviyelerinin kemoterapide bu sistemle metabolize olan pek çok ilacın metabolizmasını hızlandırarak; ilaçla hedeflenen etkiye ulaşılamamasına, bir başka deyişle ilaca kazanılmış direnç gelişimine sebep olduğu görülmektedir. Bu nedenle, hGST P1-1 enzimi kanser tedavisi için önemli bir hedef olarak düşünülmektedir.

Bu çalışmada benzotiyazol ana yapısına sahip beş tanesi orijinal olan toplam 12 adet sübstitüe benzotiyazol türevi bileşik sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşikler içerisinde iki adedi 4-metil-2-sübstitüe benzotiyazol (5 ve 6 nolu bileşikler), bir adedi 6-floro-2-sübstitüe benzotiyazol (7 nolu bileşik) ve dört adedi 6-metil-2-sübstitüe benzotiyazol halka yapısı içerirken (8, 9, 10 ve 11 nolu bileşikler), beş adedi 2-sübstitüe benzotiyazol (1, 2, 3, 4 ve 12 nolu bileşikler) yapısı içermektedir. Bu bileşikler, nükleik asitlerin yapısını oluşturan adenin (Şekil 1.41.) ve guanin (Şekil 1.42.) bazlarının halka eşdeğerleri olması nedeniyle, organizmadaki biyopolimerlerle kolay etkileşebilmesi bakımından değerlendirilerek sentezlenmiştir. Ayrıca 2-amino benzotiyazol türevi bileşiklerin güçlü antikanser özellikleri saptanmıştır (Akhtar ve ark., 2008; Bolakatti ve ark., 2013; Gabr ve ark., 2016; Gill ve Bedi, 2012; Mosula ve ark., 2009; Pareek ve ark., 2011; Repický ve ark., 2010; Sekar ve ark., 2011; Song ve ark., 2008 ve Yoshida ve ark., 2005). Yapılan çalışmalarda hidrazid grubu taşıyan bileşiklerin de güçlü antikanser etkiye sahip olduğunu belirlenmiştir (Kumar ve Narasimhan, 2013; Nerkar ve ark., 2009 ve Salum ve ark., 2015). Bu nedenle sentezlenen bir seri bileşiğe hidrazid grubu taşıyan bir bileşik de eklenmiştir. Bu bileşiklerin sentezinde, sentez süresini kısaltması yanısıra, yüksek güvenilirlik ve tekrarlanabilirlik sağlaması nedeniyle mikrodalga sentez cihazı kullanılmış ve uygun benzoik asit, SOCl_2 ile benzen içerisinde 150 °C sıcaklıkta, 250 PSI basınçta ve 150 W mikrodalga enerjisine 10 dk maruz bırakılmıştır. Oluşan açıl klorür 2-amino-4/6-sübstitüe benzotiyazol türevleri ile su, eter ve NaHCO_3 karışımında soğukta muamele

edilerek sonuç ürünler olan 2-(4'-bromo/metil/nitrobenzamido)-4/6-sübstitüe benzotiyazol türevleri (Şekil 4.1.) ile 2-(4'-bromo-*N'*-benzhidrazido)benzotiyazol elde edilmiştir (Şekil 4.2.).



Şekil 4.1. Elde edilen 2-(4'-bromo/metil/nitrobenzamido)-4/6-sübstitüe benzotiyazol türevi bileşiklerin elde ediliş denklemleri

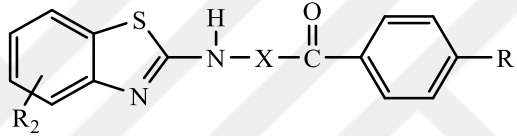


Şekil 4.2. Elde edilen 2-(4'-bromo-*N'*-benzhidrazido)benzotiyazol türevi bileşiklerin elde ediliş denklemleri

Sentezlenen bileşiklerin saflıkları İnce Tabaka Kromatografisi ile kontrol edildikten sonra, erime dereceleri saptanmıştır. Bileşiklerin yapıları ¹H-NMR, ¹³C-NMR, Kütle ve Elementel Analiz Yöntemleri kullanılarak yapıları aydınlatılmıştır. Sentezlenen dokuz adet sübstitüe benzotiyazol türevi bileşiğin (1-3, 5, 7-10 ve 12 nolu bileşikler) hGST P1-1 enzimi üzerindeki IC₅₀ inhibitör etkileri test edilmiştir. Sentezlenen üç adet 2-(4'-nitrobenzamido)benzotiyazol türevi bileşik (4, 6 ve 11 nolu bileşikler) ise, çözünürlük sorunu nedeniyle test edilememiştir. Test edilen bileşiklerin IC₅₀ değerleri incelendiğinde, bileşiklerden 2-3, 5, 7 ve 9-10 nolu altı adet benzotiyazol türevi bileşiğin 12 – 38,9 µM değerleri arasında inhibisyon gösterdiği, üç bileşikte (1, 8 ve 12 nolu bileşikler) ise, 100 µM'dan daha büyük inhibisyon değeri gözlenmiştir.

Test edilen bileşikler içerisinde iki bileşikte (2 ve 5 nolu bileşikler) dikkate değer ölçüde hGST P1-1 enzimi inhibitör etki bulunduğu görülmüştür. 2 nolu bileşik 12 μM IC_{50} değeriyle referans bileşik EA'ya yakın bir etki göstermiştir. Test edilen bileşiklerin yapı etki ilişkileri incelendiğinde, R_1 konumunda Br süstitüsyonunun etkiyi arttırdığı gözlenmiştir. Bu bileşiklerin etkileri birbirleri ile karşılaştırıldığında, benzotiyazol halkası üzerinde süstitüsyon olmadığında etkinin arttığı, 4. konumda metil süstitüsyonunun etkiyi bir miktar azalttığı, 6. konumda metil grubunun veya flor atomunun ve 2. konumda hidrazin köprüsünün bulunmasının ise etkiyi önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir (Çizelge 4.1.).

Çizelge 4.1. Elde edilen bileşiklerin ve kullanılan referansın gözlenen *in vitro* hGST P1-1 enzim inhibitör etkileri ve IC_{50} değerleri (μM)

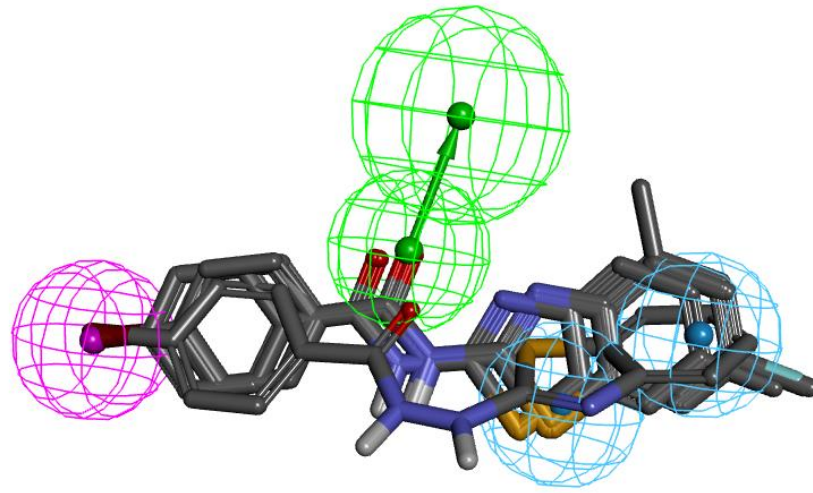


No	Süstitüentler			hGST P1-1 IC_{50} (μM)
	X	R_1	R_2	
1	-	H	H	>100
2	-	Br	H	12
3	-	CH_3	H	30
4	-	NO_2	H	TE*
5	-	Br	4- CH_3	15,1
6	-	NO_2	4- CH_3	TE*
7	-	Br	6-F	30
8	-	H	6- CH_3	>100
9	-	Br	6- CH_3	38,9
10	-	CH_3	6- CH_3	30
11	-	NO_2	6- CH_3	TE*
12	NH	Br	H	>100
Etakrinik asit				10,2

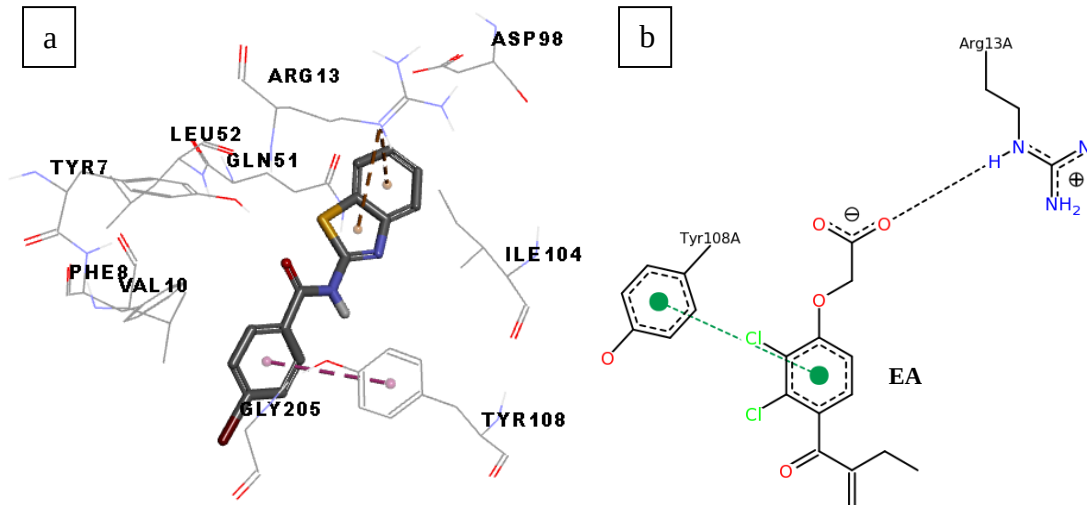
*: Çözünürlük sorunu nedeniyle test edilememiştir.

Gözlenen bu enzim inhibitör aktivite sonuçları doğrultusunda test edilen benzotiyazol türevi bileşiklerin etkiden sorumlu atom ve/veya atom gruplarını tanımlamak için, hGST P1-1 enzimine karşı inhibitör etkisi kanıtlanmış en etkili iki bileşik (2 ve 5 nolu bileşikler) referans alınarak etkisi test edilen tüm bileşikler üzerinden HipHop yöntemi kullanılarak farmakofor modellerinin hipotezleri oluşturulmuştur. Oluşturulan 10 hipotezden 6. hipotez uygun bulunmuştur. Diğer hipotezlerde benzotiyazol halkasındaki kükürt üzerinde hidrojen alıcısı özelliği farmakoforik özellik olarak gösterilmektedir. Hidrojen alıcı özellik, tiyazol halkasında

kükürtün serbest elektronları rezonansa katıldığı için azot üzerinde olduğu bilinmektedir (Kubinyi, 2013). Bu nedenle kimyasal açıdan tiyazol halkasının kükürt atomu üzerinden hidrojen bağı oluşturma özelliği çok zayıf olduğu bilinen diğer hipotezler dikkate alınmayarak, kimyasal bağ oluşturma açısından etkileşme dinamiklerinin daha geçerli olduğu görülen ve Şekil 4.3'te gösterilen 6. hipotez farmakofor model olarak verilmiştir. Ayrıca, en etkili bileşik olan 2 nolu bileşiğin hGST P1-1 enzimi substrat reseptör yüzeyi ile etkileşimini değerlendirmek amacıyla doking çalışması yapılmış (Şekil 4.4a) ve PDB'den alınan 2GSS kodlu kristal yapının içindeki EA'nın yaptığı etkileşimlerin aynı olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.4b). Elde edilen tüm veriler Bulgular kısmında verilmiştir.



Şekil 4.3. Farmakofor analizi sonucu elde edilen hipotez 6 üzerinde test edilen tüm bileşiklerin gösterimi



Şekil 4.4. a. 2 nolu bileşiğin doking pozu, b. 2GSS kodlu kristal yapısı içindeki EA'nın etkileştiği aminoasit rezidüleri

Bileşiklerin 6. hipotez ile uyumları değerlendirildiğinde, hGST P1-1 enzim inhibitör etkileri ile hipoteze uyum değerleri (FitValue) arasında paralellik gözlenmiştir. R₁ konumunda, yani benzen halkası üzerinde *para* konumunda yer alan hidrofobik özelliğin aktivite için önemli olduğu tespit edilmiştir. Bu konumda özellikle Br gibi halkayı dezaktive eden grupların bulunmasının etki için önemli olabileceği düşünülmüştür.

En yüksek inhibitör etki gösteren 2 nolu bileşiğin doking sonucuna göre Tyr108 ile bir adet, Arg13 ile iki adet pi etkileşimi göstererek -16,3635 bağlanma enerjisi değeri ile hGST P1-1 enzimi ile güçlü bir etkileşim yaptığı gözlenmiş (Çizelge 3.3., Şekil 3.42c, Şekil 4.4a.) ve PDB'den alınan 2GSS içindeki EA'nın yaptığı etkileşimlerin de aynı olması, yapılan doking çalışmasının doğruluğunu kanıtlamıştır (Şekil 3.43., Şekil 4.4b.).

HipHop çalışması sonucu elde edilen 6. hipotezle 2 nolu bileşik haritalandığında doking sonuçları ile uyumlu olduğu gözlenmiştir. 6. hipotezde görüldüğü üzere, benzotiyazol halkasının 2. konumundan amit köprüsü ile bağlı olan fenil halkasının *para* pozisyonundaki sübstitüent üzerinde hidrofobik özellik görülmekte ve bu halka üzerinden Tyr108 ile pi-pi etkileşimi göstermektedir. Tyr108'in fenil halkasına bağlı hidroksil sübstitüenti, taşıdığı oksijenin serbest elektronlarının halkayı aktive etmesi ile halka üzerindeki elektron yoğunluğunu arttırmakta ve halkanın elektron donörü gibi davranmasını sağlamaktadır. Buna karşılık, 2 nolu bileşikteki fenil halkası taşıdığı Br sübstitüenti ile halojenlerin güçlü elektronegatif özelliği nedeniyle halkayı dezaktive ederek halkanın elektron yoğunluğunu azaltmasıyla, yani elektron akseptörü gibi davranmasını sağlayarak Tyr108 ile pi-pi etkileşime girebilmektedir. Bu konumda nitro veya siyano gibi halkayı daha çok dezaktive eden sübstitüentlerin bulunması etkileşimin daha güçlü olmasına ve dolayısıyla inhibitör etkinin de artmasına neden olabilir. Ancak, sentezlenen bileşikler arasında bu konumda nitro taşıyan bileşiklerin (4, 6 ve 11 nolu bileşikler) hidrofobisitelerinin artması ve buna bağlı olarak suda çözünürlüğün azalması nedeniyle inhibitör etki deneyleri sırasında %50'sini inhibe eden konsantrasyona ulaşmadan çökme gözlenmiştir.

6. hipotezde benzotiyazolün her iki halkası üzerinde de hidrofobik aromatik özellik görülmekte ve bu halkalar üzerinden Arg13 ile pi-kasyon etkileşimleri göstermektedir. Test edilen bileşiklerden en etkili olan 2 nolu bileşiğin benzotiyazolün benzen halkası üzerinde herhangi bir süstitüsyon taşımamaktadır. Ancak 4. veya 6. konumlarda metil süstitüsyonunun etkiyi azalttığı görülmektedir. Bunun nedeninin, metilin alan etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. 4. veya 6. konumda bulunan metil grubunun tiyazol halkasındaki kükürte komşu *meta* konumlarında elektron yoğunluğunu azaltarak kükürtün rezonansa katılan serbest elektronlarını üzerine çekmekte ve kükürt üzerindeki elektron yoğunluğu azaltarak aromatisasyonu düşürdüğü tahmin edilmektedir. Böylelikle benzotiyazol halkası üzerinde aromatiklik azaldıkça inhibitör etkide de azalma görülmektedir. Bu durum değerlendirildiğinde, halka üzerinde 5. veya 7. konumlarda halkayı aktive eden grupların yer alması kükürtün sağladığı rezonansı azaltmayarak halkanın aromatisasyonuna doğrudan katkı sağlaması nedeniyle hidrofobik aromatikliği artırıp, etkileşimin daha güçlü olmasını ve yine inhibitör etkinin de artmasını sağlayacağı düşünülmektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada benzotiyazol ana yapısına sahip beş tanesi orijinal olan toplam 12 adet sübstitüe benzotiyazol türevi bileşik sentezlenmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Sentezlenen 12 adet sübstitüe benzotiyazol türevi bileşiğin hGST P1-1 enzimi üzerindeki IC₅₀ inhibitör etkileri *in vitro* ortamda test edilmiştir. Test edilen bileşiklerden 2, 3, 5, 7, 9 ve 10 nolu altı adet benzotiyazol türevi bileşiğin 12 – 38,9 µM değerleri arasında inhibisyon değeri; 1, 8 ve 12 nolu üç adet bileşikte ise >100 µM şeklinde inhibisyon değeri gözlenmiştir. 4, 6 ve 11 nolu üç adet bileşikte ise, bileşiklerin taşıdığı nitro grubuna bağlı olarak hidrofobisitelerinin artmasıyla oluşan çözünürlük sorunu nedeniyle inhibitör etkileri test edilememiştir. Test edilen bileşikler içerisinde 2 ve 5 nolu iki adet bileşikte, dikkate değer ölçüde hGST P1-1 enzimi inhibitör etki bulunduğu görülmüştür. Bu sonuçlar, benzotiyazolün 2. konumuna bağlı benzamidin *para* konumunda Br sübstitüsyonunun aktivite için önemli olduğunu; metil sübstitüsyonunun aktiviteyi biraz düşürdüğünü göstermektedir. Bu bileşikler birbiriyle karşılaştırıldığında, benzotiyazol halkası üzerinde sübstitüsyon olmadığında etkinin referans bileşik EA'ye yakın olduğu, 4. konumda metil sübstitüsyonunun etkiyi biraz azalttığı, 6. konumda metil veya flor sübstitüsyonunun ve 2. konumda hidrazin köprüsünün bulunması ise etkiyi önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir.

Bu sonuçları desteklemek amacıyla, hGST P1-1 enzimine karşı inhibitör etkisi deneysel olarak kanıtlanmış en etkili olan 2 ve 5 nolu bileşiklerin referans alındığı HipHop yöntemi kullanılarak etkisi saptanan test moleküllerine ait farmakoforik yapı ve etkiden sorumlu atom ve atom grupları saptanmıştır. Yürütülen farmakofor modeli oluşturma çalışmaları sonucunda elde edilen hipotezler arasından 6. hipotezin en uygun olduğu bulunmuştur (Şekil 3.38). Hipotezde benzotiyazolün her iki halkasının hidrofobik aromatik özelliği, benzotiyazolün 2. konumundan bağlı amit karbonil oksijeninin hidrojen alıcı özelliği ve yine benzotiyazolün 2. konumundan bağlı benzamidin *para* konumundaki sübstitüentin hidrofobik özelliği görülmektedir. Uygun bulunan hipotez ile uyum değerleri (FitValue), bileşiklerin hGST P1-1 inhibitör etkileri ile karşılaştırıldığında birbirleriyle paralellik göstermektedir. Ayrıca, en etkili bileşik olan 2 nolu bileşiğin hGST P1-1 enzimi substrat reseptör yüzeyi ile etkileşimini

değerlendirmek amacıyla doking çalışması yapılmış ve PDB'den alınan 2GSS kodlu kristal yapının içindeki EA'in yaptığı etkileşimlerin aynı olduğu gözlenmiş, böylelikle yapılan doking çalışmasının doğruluğu da kanıtlanmıştır. Etkili bileşiklerin hipotez ile uyumu ve yapılan doking çalışması sonucu elde edilen olası etkileşimler incelendiğinde, benzotiyazolün 2. konumundan bağlı benzamidin fenil halkası üzerinde *para* konumunda yer alan hidrofobik özelliğin aktivite için önemli olduğu değerlendirilmiş ve Tyr108 ile yaptığı pi etkileşimi ile bu konumda özellikle halkayı dezaktive eden grupların bulunmasının etki için önemli olabileceği, dezaktivasyonun artmasıyla etkileşimin, dolayısıyla inhibitör etkinin artabileceği düşünülmüştür. Benzotiyazol halkası üzerindeki hidrofobik aromatik özelliğin yine aktivite için önemli olduğu değerlendirilmiş ve Arg13 ile yaptığı pi etkileşimleri ile etki için halkanın aromatisasyonun artmasıyla etkileşimin, dolayısıyla inhibitör etkinin artabileceği düşünülmüştür. Benzotiyazol halkası üzerinde halkayı aktive edici atom veya grupların yer almasının, ancak bu atom veya grupların özellikle 5. ve 7. konumlarda olması aktivitenin daha güçlü olması açısından önemli olduğu değerlendirilmiştir. Benzotiyazol halkasının 2. konumundaki amit karbonil oksijeni üzerinde hidrojen alıcı özelliğin aktivite açısından herhangi bir öneminin olmadığı düşünülmüş ve doking çalışmasında da bu atom üzerinden herhangi bir aminoasit rezidüsü ile etkileşime girmediği gözlenerek bu çıkarımın geçerli olduğu saptanmıştır.

Tüm bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar ışığında, 2 ve 5 nolu bileşikler yeni hGST P1-1 inhibitörlerinin tasarımında yol gösterir nitelikte bulunmuştur. Elde edilen değerlendirmeler ışığında, bu bileşikler üzerinden modifikasyonlar yapılarak veya çözünürlük sorunu olan mevcut bileşiklerin çözünürlüğünü arttıracak şekilde yeni düzenlemeler yapılarak hGSTP1-1 inhibitörü olabilecek daha etkili lider bileşiklere ulaşılması planlanmaktadır.

ÖZET

Bazı Yeni Benzotiyazol Türevi Bileşiklerin Sentezleri, Yapı Aydınlatmaları, GST Enzim İnhibitörü Etkileri ve Etki Mekanizması Dinamiklerinin İncelenmesi

GST, ekzojen ve endojen kaynaklı, elektrofilik ve hidrofobik bileşiklerin GSH ile konjugasyonunu katalizleyen Faz-II detoksifikasyon enzim ailesidir. GST izozimlerinden en önemlisi olan hGST P1-1'in çok farklı insan kaynaklı tümörde fazla miktarda salgılandığı ve bu sistemle metabolize olan pek çok kanser ilacının metabolizmasını hızlandırarak; ilaçla hedeflenen etkiye ulaşamamasına, bir başka deyişle çoklu ilaç direnç (MDR) gelişimine sebep olduğu bilinmektedir. Tüm bu nedenlerden dolayı son zamanlarda hGST P1-1 enzimi kanser tedavisi için bir hedef haline gelmiştir.

Bu çalışmada benzotiyazol ana yapısına sahip beş tanesi orijinal olan toplam 12 adet sübstitüe benzotiyazol türevi bileşik sentezlenmiştir. Hedeflenen bileşiklere ulaşmak üzere, uygun benzoik asit, SOCl_2 ile benzen içerisinde 150°C sıcaklıkta, 250 PSI basınçta ve 150 W mikrodalga enerjisine 10 dk maruz bırakılmıştır. Oluşan açıl klorür 2-amino-4/6-sübstitüe benzotiyazol türevleri ile muamele edilerek sonuç ürünler olan 2-(4'-bromo/metil/nitrobenzamido)-4/6-sübstitüe benzotiyazol türevleri ile 2-(4'-bromo-*N'*-benzhidrazido)benzotiyazol elde edilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin saflıkları İnce Tabaka Kromatografisi ile kontrol edildikten sonra, erime dereceleri saptanmıştır. Bileşiklerin yapıları ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, Kütle ve Elementel Analiz Yöntemleri kullanılarak aydınlatılmıştır.

Sentezlenen 12 adet sübstitüe benzotiyazol türevi bileşiğin hGST P1-1 enzimi üzerindeki IC_{50} inhibitör etkileri test edilmiştir. Bileşiklerin IC_{50} değerleri şeklindeki inhibitör etkileri incelendiğinde, test edilen bileşiklerden 2-3, 5, 7 ve 9-10 nolu altı adet benzotiyazol türevi bileşiğin 12 – 38,9 μM değerleri arasında inhibisyon gösterdiği, üç bileşikte (1, 8 ve 12 nolu bileşikler) ise, 100 μM 'dan daha büyük inhibisyon değeri gözlenmiştir. Üç bileşikte ise (4, 6 ve 11 nolu bileşikler) çözünürlük sorunu nedeniyle test edilememiştir. Gözlenen bu enzim inhibitör aktivite sonuçları doğrultusunda, hGST P1-1 enzimine karşı inhibitör etkisi kanıtlanmış en etkili iki bileşik (2 ve 5 nolu bileşikler) referans alınarak etkisi test edilen tüm bileşikler üzerinden HipHop yöntemi kullanılarak farmakofor modellerinin hipotezleri oluşturulmuştur. Oluşturulan 10 hipotezden 6. hipotez uygun bulunmuştur. Ayrıca, en yüksek inhibitör etki gösteren 2 nolu bileşik üzerinden, hGST P1-1 enzimi substrat reseptör yüzeyi ile etkileşimini değerlendirmek amacıyla CDocker Yöntemi ile doking çalışması yapılmış ve 2GSS kodlu kristal yapı içindeki EA ile aynı etkileşimleri yaptığı gözlenmiştir.

Tüm yapılan çalışmaların ışığında, 2 ve 5 nolu bileşikler yeni hGST P1-1 inhibitörlerinin tasarımında yol gösterir nitelikte bulunmuştur. Bu bileşikler üzerinden yapılacak yeni düzenlemelerle hGSTP1-1 inhibitörü olabilecek daha etkili lider bileşiklere ulaşılması planlanmaktadır.

Anahtar Sözcükler: antikanser, benzotiyazol, doking, farmakofor, glutatyon S-transferaz

SUMMARY

Synthesis, Structure Elucidation, GST Enzyme Inhibitor Activity and Investigation of Activity Mechanistic Dynamics of Some New Benzothiazole Derivatives

Glutathione S-transferases (GSTs) are Phase II detoxification enzymes that catalyse the conjugation of various electrophilic compounds with glutathione (GSH). Human GST P1-1 is the most important isozyme in MDR as derived from overexpression of hGST P1-1 in a large number of human tumors and is involved in the development of resistance to several anticancer drugs. Because of these reasons, hGST P1-1 enzyme has recently become an important target in cancer treatment.

In this study, 12 benzothiazole derivatives were synthesized which five of them were synthesized for the first time. To obtain these compounds; appropriate benzoic acid derivatives and SOCl_2 were heated at 150 °C in benzene by using microwave for 10 min. under 250 PSI pressure. Then, prepared acylchlorides were treated with 2-amino-4/6-substitutedbenzothiazole derivatives to obtain 2-(4'-bromo/methyl/nitrobenzamido)-4/6-substitutedbenzothiazole derivatives and 2-(4'-bromo-*N'*-benzhydrazido)-benzothiazoles. The purity of the synthesized compounds was controlled by TLC and their melting points were determined. Their structures were elucidated by using ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, Mass, Elemental Analysis Methods.

Twelve synthesized benzothiazole derivatives were screened for *in vitro* inhibition of hGST P1-1 enzyme. Among all of the tested compounds, six compounds (2-3, 5, 7 and 9-10) inhibited hGST P1-1, with an IC_{50} value of 12 – 38.9 μM ; three compounds (1, 8 and 12) exhibited >100 μM inhibitory activity and the other three compounds (4, 6 and 11) were not been able to be tested due to their solubility problem. According to the results of the observed hGST P1-1 enzyme inhibitory activities, the hypotheses of pharmacophore models have been established using HipHop Method. The most active two compounds (Compounds 2 and 5) were used as references during the pharmacophore analysis. The sixth hypothesis was chosen as the best among 10 hypotheses. Additionally, in order to explain the interactions with hGST P1-1 enzyme, compound 2, the most active one, was chosen for the docking studies performed by using CDocker Method.

As a result of all studies, Compounds 2 and 5 have been found as the lead compounds in the drug design studies of new hGST P1-1 enzyme inhibitors. Some modifications of these compounds might offer more active compounds.

Keywords: anticancer, benzothiazole, docking, glutathione transferase, pharmacophore

RESUMEN

Síntesis, Elucidación de la Estructura, Actividad Inhibidores de la Enzima GST e Investigación de la Actividad Mecanicistas Dinámica de Algunos Derivados Nuevos del Benzotiazol

Las glutathion S-transferasas (GSTs) son enzimas de desintoxicación de Fase II que catalizan la conjugación de diversos compuestos electrófilos con glutatión (GSH). La GST humana de la clase pi (hGST P1-1) es la isoenzima más importante de RMD (La Resistencia a Múltiples Drogas) como se deriva de la sobreexpresión de hGST P1-1 en tumores humanos muy diferente y está implicado en el desarrollo de resistencia a varios fármacos contra el cáncer. Debido a estas razones, la enzima hGST P1-1 ha convertido recientemente en un objetivo importante en el tratamiento del cáncer.

En este estudio, 12 derivados del benzotiazol se sintetizaron que cinco de ellos se sintetizaron por primera vez. Para obtener estos compuestos; los derivados de ácidos benzoico apropiado y SOCl_2 (cloruro de tionilo) se calentaron a 150°C en benceno mediante el uso de microondas durante 10 min. bajo una presión de 250 PSI. Entonces, cloruros de acil preparados fueron tratados con los derivados de 2-amino-4/6-sustituidosbenzotiazol para obtener los derivados de 2-(4'-bromo/metilo/nitrobenzamido)-4/6-sustituidosbenzotiazol y 2-(4'-bromo-*N'*-benzohidracido) benzotiazol. La pureza de los compuestos sintetizados se controló por CCF (La Cromatografía en Capa Fina) y sus puntos de fusión se determinaron. Sus estructuras fueron determinadas mediante el uso de la Espectroscopía de RMN ^1H , RMN ^{13}C , Masas y Métodos de Análisis Elemental.

Doce derivados del benzotiazol sintetizados fueron seleccionados para la inhibición *in vitro* de la enzima de hGST P1-1. Entre todos los compuestos ensayados, seis compuestos (2°-3°, 5°, 7° y 9°-10°) de los compuestos analizados inhibieron la actividad inhibidora para hGST P1-1, con un valor de IC_{50} de 12 – 38.9 μM ; tres compuestos (1°, 8° y 12°) exhibieron $>100\ \mu\text{M}$ y los otros tres compuestos (4°, 6° y 11°) no se han podido ser probado debido a su problema de solubilidad. De acuerdo con estos resultados de la actividad inhibidora de la enzima de hGST P1-1 observada, las hipótesis de los modelos de farmacóforos se han establecido utilizando el Método de HipHop. Dos compuestos (2° y 5°) más activos fueron utilizados como referencias durante el análisis farmacóforo. La sexta hipótesis fue elegido como el mejor entre 10 hipótesis. Además, con el fin de explicar las interacciones con la enzima de hGST P1-1, el compuesto 2°, más activo, fue elegido por los estudios de docking realizadas usando el Método CDocker.

Como resultado de todos los estudios, compuestos 2° y 5° se han encontrado que los compuestos de plomo en los estudios de diseño de fármacos de los inhibidores nuevos de la enzima de hGST P1-1. Algunas modificaciones de estos compuestos podrían ofrecer más compuestos activos.

Palabras clave: anticáncer, benzotiazol, docking, farmacóforo, glutatión S-transferasa

KAYNAKLAR

- ABDELGAWAD MA, ABDELLATIF KRA, AHMED OM (2014). Design, Synthesis and Anticancer Screening of Novel Pyrazole Derivatives Linking to Benzimidazole, Benzoxazole and Benzothiazole. *Med Chem*, **S1**: 1-7.
- ADANG AE, BRUSSEE J, VAN DER GEN A, MULDER GJ (1990). The glutathione-binding site in glutathione S-transferases. Investigation of the cysteinyl, glycyl and gamma-glutamyl domains. *Biochem J*, **269(1)**: 47-54.
- ADLER V, YIN Z, FUCHS SY, BENERZA M, ROSARIO L, TEW KD, PINCUS MR, SARDANA M, HENDERSON CJ, WOLF CR, DAVIS RJ, RONAI Z (1999). Regulation of JNK signaling by GSTp. *EMBO J*, **18(5)**: 1321-1334.
- AIZPURUA JM, PALOMO C (1984). Reagents and Synthetic Methods. 27: Improved Synthesis of 2-Substituted-benzoxazoles Induced by Trimethylsilylpolyposphosphate (PPSE). *Bull Soc Chim Fr*, **II**: 142-144.
- AKBAY A, ÖREN İ, TEMİZ Ö, AKI-ŞENER E, YALÇIN İ (2003). Synthesis and HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitor Activity of Some 2,5,6-Substituted-benzoxazole, Benzimidazole, Benzothiazole and Oxazolo(4,5-*b*)pyridine Derivatives. *Arzneim-Forsch/Drug Research*, **53(4)**: 266-271.
- AKHTAR T, HAMEED S, AL-MASOUDI NA, LODDO R, LA COLLA P (2008). *In vitro* antitumor and antiviral activities of new benzothiazole and 1,3,4-oxadiazole-2-thione derivatives. *Acta Pharm*, **58**: 135-149.
- AKI-ŞENER, E. ve YALÇIN, İ. (2003). Kantitatif Yapı-Etki İlişkileri Analizleri (QSAR). Ankara Üniversitesi Basımevi.
- AKSOY Y (2010). Kanserde ilaç direncinin üstesinden gelmenin yolları: Yeni ilaçların tasarımı. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, **30(6)**: 2011-2016
- ANAND RM, SUMATHI K, SHARMA SV, MURUGAN V (2006). 3-D QSAR CoMFA Study of Nitrogen Mustards Possessing New Chemical Entities as Possible Anticancer Agents. *Indian J Pharm Sci*, **68(3)**: 323-326.
- ANGULO-CORNEJO J, LINO-PACHECO M, RICHTER R, HENNIG L, HALLMEIER K-H, BEYER L (2000). Metal chelates of *N*-benzothiazol-2-yl-, *N*-benzoxazol-2-yl- and *N*-(1*H*-benzimidazol-2-yl)-benzamide. *Inorg Chim Acta*, **305**: 38-45.
- ARMSTRONG RN (1987). Enzyme-catalyzed Detoxication Reactions: Mechanisms and Stereochemistry. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, **22(1)**: 39-88.
- ARMSTRONG RN (1997). Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases. *Chem Res Toxicol*, **10(1)**: 2-18.
- ASCIONE A, CIANFRIGLIA M, DUPUIS ML, MALLANO A, SAU A, PELLIZZARI F, PEZZOLA TS, CACCURI AM (2009). The glutathione S-transferase inhibitor 6-(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-ylthio)hexanol overcomes the MDR1-P-glycoprotein and MRP1-mediated multidrug resistance in acute myeloid leukemia cells. *Cancer Chemother Pharmacol*, **64(2)**: 419-424.
- ATA A, UDENIGWE CC (2008). The discovery and application of inhibitors of glutathione S-transferase as therapeutic agents. *Curr Bioact Comp*, **4(1)**: 41-50.

- BAGULEY BC (2010). Multiple drug resistance mechanisms in cancer. *Mol Biotechnol*, **46(3)**: 308-316.
- BAILEY TR, PEVEAR DC (2004). Benzothiazole Compounds, Compositions and Methods for Treatment and Prophylaxis of Rotavirus Infections and Associated Diseases. *Viropharma Inc., Int. Patent*, WO 2004/078115 A2.
- BARDAJEE GR, MOHAMMADI M, YARI H, GHAEDI A (2016). Simple and efficient protocol for the synthesis of benzoxazole, benzoimidazole and benzothiazole heterocycles using Fe(III)–Schiff base/SBA-15 as a nanocatalyst. *Chin Chem Lett*, **27(2)**: 265–270.
- BARNUM D, GREENE J, SMELLIE A, SPRAGUE P (1996). Identification of common functional configurations among molecules. *J Chem Inf Comput Sci*, **36**:563–571.
- BATISTA RMF, COSTA SPG, MALHEIRO EL, BELSLEY M, RAPOSO MMM (2007). Synthesis and Characterization of New Thienylpyrrolylbenzothiazoles as Efficient and Thermally Stable Nonlinear Optical Chromophores. *Tetrahedron*, **63(20)**: 4258-4265.
- BATISTA RMF, COSTA SPG, RAPOSO MMM (2004). Synthesis of New Fluorescent 2-(2',2''-Bithienyl)-1,3-benzothiazoles. *Tetrahedron Lett*, **45(13)**: 2825-2828.
- BERZELIUS JJ (1835). *Årsberättelse om framstegen i fysik och kemi*, Royal Swedish Academy of Sciences Stockholm, Sweden: Norstedt, 245.
- BILLEAU S, CHATEL F, ROBIN M, FAURE R, GALY J-P (2006). ¹H and ¹³C Chemical Shifts for 2-Aryl and 2-N-Arylamino Benzothiazole Derivatives. *Magn Reson Chem*, **44**: 102-105.
- BOARD P, COGGAN M, JOHNSTON P, ROSS V, SUZUKI T, WEBB G (1990). Genetic Heterogeneity Of The Human Glutathione Transferases: A Complex of Gene Families. *Phar Ther*, **48(3)**: 357-369.
- BOLAKATTI G, BADIGER A, KATAGI MS, MISKIN NR, DABADI P, MURALIKRISHNA KS (2013). Synthesis and pharmacological evaluation of novel series of benzothiazolyl-coumarin conjugates: As anti-inflammatory and anticancer agents. *Univ J Pharm*, **2(3)**: 148-154.
- BOLAKATTI G, BADIGER A, KATAGI M, MISKIN N, MURALIKRISHNA KS (2014). Synthesis and Antitumor Activity of 2-(4-Aminophenyl)-6-fluoro-N-(substituted phenyl) benzo[d]thiazol-7-amine Derivatives: A Novel Class of Anticancer Agents. *RGUHS J Pharm Sci*, **4(1)**: 22-29.
- BOLELLI K, YALCIN I, ERTAN-BOLELLI T, OZGEN S, KAYNAK-ONURDAG F, YILDIZ I, AKI E (2012). Synthesis of novel 2-[4-(4-substitutedbenzamido/phenylacetamido)phenyl]benzothiazoles as antimicrobial agents. *Med Chem Res*, **21(11)**: 3818-3825.
- BRANTLEY E, TRAPANI V, ALLEY MC, HOSE CD, BRADSHAW TD, STEVENS MFG, SAUSVILLE EA, STINSON SF (2004). Fluorinated 2-(4-Amino-3-methylphenyl)benzothiazoles induce CYP1A1 Expression, Become Metabolized, and Bind to Macromolecules in Sensitive human Cancer Cells. *Drug Metab Dispos*, **32(12)**: 1392-1401.
- BROOKS BR; BRUCCOLERI RE; OLAFSON BD; STATES DJ; SWAMINATHAN S; KARPLUS M (1983). CHARMM: A program for macromolecular energy minimization and dynamics calculations. *J Comp Chem*, **4**: 187-217.
- BURG D, FILIPPOV DV, HERMANN S, VAN DER MAREL GA, VAN BOOM JH, MULDER GJ (2002). Peptidomimetic glutathione analogues as novel gamma GT stable GST inhibitors. *Bioorg Med Chem*, **10(1)**: 195-205.
- BURG D, MULDER GJ (2004). Peptidomimetic Glutathione Analogs. *U. S. Patent*, US 6,747,009 B2.

- BURG D, RIEPSAAME J, PONT C, MULDER G, VAN DE WATER B (2006). Peptide-bond modified glutathione conjugate analogs modulate GSTII function in GSH-conjugation, drug sensitivity and JNK signaling. *Biochem Pharmacol*, **71(3)**: 268-277.
- BUTLER PN, O'SULLIVAN P, SCOTT FL (1971). The reactions of lead tetra-acetate benzothiazolylhydrazones. *J Chem Soc C*, **0**: 2265-2268.
- CAMERON AE, WICHES E (1962). Report of the International Commission on Atomic Weights. *J Am Chem Soc*, **84(22)**: 4175-4197.
- CHEN C, CHEN Y-J (2004). Liquid-phase Synthesis of 2-Substituted Benzimidazoles, Benzoxazoles and Benzothiazoles. *Tetrahedron Lett*, **45(1)**: 113-115.
- CHEN, C, WU C, LU X, YAN Z, GAO J, ZHAO H, LI S (2013). Coniferyl Ferulate, a Strong Inhibitor of Glutathione S-Transferase Isolated from *Radix Angelicae sinensis*, Reverses Multidrug Resistance and Downregulates P-Glycoprotein. *Hindawi Publ Corp*, **639083**: 1-10.
- CHEN LH, SHIAU CC (1989). Induction of glutathione S-transferase activity by antioxidants in hepatocyte culture. *Anticancer Res*, **9(4)**: 1069-1072.
- CHIDRAWAR AB, POKALWAR RU, WAGHMARE GS, KUBERKAR SV (2014). Novel Synthesis and *In Vitro* Anticancer Activity of 3-Cyano-4,14-Diimino-2-Methylthio-10-Nitropyrimido[2,3-*b*] Pyrazolo[3,4-*e*] Pyrimido [2,3-*b*][1,3] Benzothiazole and Its 2-Substituted Derivatives. *Asian J Biochem Pharm Res*, **4(4)**: 259-263.
- CHIKHI A, BENSEGUENI A (2008). Comparative study of the efficiency of three protein-ligand docking programs. *J Proteomics Bioinf*, **1(3)**: 161-165.
- CHOI S-J, PARK HJ, LEE SK, KIM SW, HAN G, CHOO H-YP (2006). Solid Phase Combinatorial Synthesis of Benzothiazoles and Evaluation of Topoisomerase II Inhibitory Activity. *Bioorg Med Chem*, **14(4)**: 1229-1235.
- COHEN NC (1996). Guidebook on Molecular Modeling in Drug Design. Academic Press Inc., San Diego, California.
- COLES B, KETTERER B (1990). The role of glutathione and glutathione transferases in chemical carcinogenesis. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, **25(1)**: 47-70.
- CONRAD PD Jr, PLAINFIELD NJ (1974). 4-(Benzothiazol-2-yl)fluoro Phenyl-Acetic Acids. *U.S. Patent Office*, 3,816,443.
- COWAN MM (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev*, **12(4)**: 564-582.
- COWELL IG, DIXON KH, PEMBLE SE, KETTERER B, TAYLOR JB (1988). The structure of the human glutathione S-transferase pi gene. *Biochem J*, **255(1)**: 79-83
- CUI H, SHEN J, LU D, ZHANG T, ZHANG W, SUN D, WANG PG (2008). 4-Aryl-1,3,2-oxathiazolylum-5-olate- a novel GST inhibitor to release JNK and activate c-Jun for cancer therapy. *Cancer Chemother Pharmacol*, **62(3)**: 509-515.
- DANG DT, CHEN F, KOHLI M, RAGO C, CUMMINS JM, DANG LH (2005). Glutathione S-transferase pi 1 promotes tumorigenicity in HCT116 human colon cancer cells. *Cancer Res*, **65(20)**: 9485-9494.
- DONG HS, QUAN B, CHAI E-F, MAO X-R (2002). The Synthesis and Crystal Structure of Novel 5-Methyl-3-substituted-1,2,4-triazolo[3,4-*b*]benzothiazoles. *J Mol Struct*, **608(1)**: 41-47.

- DORSEY BD, LEVIN RB, MCDANIEL SL, VACCA JP, GUARE JP, DARKE PL, ZUGAY JA, EMINI EA, SCHLEIF WA, QUINTERO JC, LIN JH, CHEN W, HOLLOWAY KM, FITZGERALD PMD, AXEL MG, OSTOVIC D, ANDERSON PS, HUFF JP (1994). L-735,524: The Design of a Potent and Orally Bioavailable HIV Protease Inhibitor. *J Med Chem*, **37(21)**: 3443-3451.
- DOYLE L, ROSS DD (2003). Multidrug resistance mediated by the breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2). *Oncogene*, **22(47)**: 7340-7358.
- DUNCIA JV, CARINI DJ, CHIU AT, JOHNSON AL, PRICE WA, WONG PC, WEXLER RR, TIMMERMA PMWM (1992). The discovery of DuP 753, a potent, orally active nonpeptide angiotensin II receptor antagonist. *Med Res Rev*, **12(2)**: 149-191.
- DUNCIA JV, CHIU AT, CARINI DJ, GREGORY GB, JOHNSON AL, PRICE WA, WELLS GJ, WONG PC, CALABRESE JC, TIMMERMA PMWM (1990). The discovery of potent nonpeptide angiotensin II receptor antagonists: a new class of potent antihypertensives. *J Med Chem*, **33(5)**: 1312-1329.
- DUVOIX A, BLASIUS R, DELHALLE S, SCHNEKENBURGER M, MORCEAU F, HENRY E, DICATO M, DIEDERICH M (2005). Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Lett*, **223(2)**: 181-190.
- EDWARDS P (2006). Benzothiazoles Derivatives as Antitumor Agents. *Molecules*, **11(13-14)**: 671-672.
- ERTAN-BOLELLI T, MUSDAL Y, BOLELLI K, YILMAZ S, AKSOY Y, YILDIZ I, AKI-YALCIN E, YALCIN I (2014). Synthesis, Biological Evaluation of 2-Substituted-5-(4-nitrophenylsulfonamido) benzoxazoles as Human GST P1-1 Inhibitors and Description of the Binding Site Features, *ChemMedChem*, **9(5-SI)**: 984-992.
- FEDERICI L, LO STERZO C, PEZZOLA S, DI MATTEO A, SCALONI F, FEDERICI G, CACCURI AM (2009). Structural Basis for the Binding of the Anticancer Compound 6-(7-Nitro-2,1,3-Benzoxadiazol-4-Ylthio)Hexanol to Human Glutathione S-Transferases. *Cancer Res*, **69(20)**: 8025-8034.
- FINDLAY VJ, TOWNSEND DM, SAAVEDRA JE, BUZARD GS, CITRO ML, KEEFER LK, JI X, TEW KD (2004). Tumor cell responses to a novel glutathione S-transferase-activated nitric oxide-releasing prodrug. *Mol Pharmacol*, **65(5)**: 1070-1079.
- FLATGAARD JE, BAUER KE, KAUVA LM (1993). Isozyme specificity of novel glutathione-S-transferase inhibitors. *Cancer Chemother Pharmacol*, **33(1)**: 63-70.
- FOURNIER D, BRIDE JM, POIRIE M, BERGE JB, PLAPP FW Jr (1992). Insect glutathione S-transferases. Biochemical characteristics of the major forms from houseflies susceptible and resistant to insecticides. *J Bio Chem*, **267(3)**: 1840-1845.
- FURLAN A, ROUX B, LAMBALLE F, CONTI F, ISSALY N, DAIAN F, GUILLEMOT J-F, RICHELME S, CONTENSIN M, BOSCH J, PASSARELLA D, PICCOLO O, DONO R, MAINA F (2012). Combined Drug Action of 2-Phenylimidazo[2,1-b]benzothiazole Derivatives on Cancer Cells According to Their Oncogenic Molecular Signatures. *PLOS ONE*, **7(10)**: e46738: 1-17.
- GABR MT, EL-GOHARY NS, EL-BENDARY ER, EL-KERDAWY MM, NI N (2016). Synthesis, in vitro antitumor activity and molecular modeling studies of a new series of benzothiazole Schiff bases, *Chin Chem Lett*, **27(3)**: 477-489.
- GATE L, TEW KD (2001). Glutathione S-transferases as emerging targets, *Expert Opin Ther Targets*, **5(4)**: 477-489.

- GEORGE B, PAPADOPOULOS EP (1977). Heterocycles from N-Ethoxycarbonyl Thioamides and Dinucleophilic Reagents. 2. Five-Membered Rings containing Two Heteroatoms at 1,3 Positions. *J Org Chem*, **42(3)**: 441-443.
- GHAZALI R, WARING RH (1999). Effects of flavonoids on glutathione-S-transferase in human blood platelets, rat liver, rat kidney, and HT-29 colon adenocarcinoma cell-lines: potential in drug metabolism and chemoprevention. *Med Sci Res*, **27(7)**: 449-451.
- GILL RK, BEDI PMS (2012). Synthesis and cytotoxic evaluation of 2-aminobenzothiazole derivatives, *Int J Nat Prod Sci*, **Spl Issue 1**: 100
- GREENE J, KAHN S, SAVOJ H, SPRAGUE P, TEIG S (1994). Chemical Function Queries For 3D Database Search. *J Chem Inf Comput Sci*, **34(6)**: 1297-1308.
- GREER J, ERICKSON JW, BALDWIN JJ, VARNEY MD (1994). Application of the Three-Dimensional Structures of Protein Target Molecules in Structure-Based Drug Design. *J Med Chem*, **37(8)**: 1035-1054.
- GUNNARSDOTTIR S, ELFARRA AA (1999). Glutathione-dependent metabolism of *cis*-3-(9*H*-purin-6-ylthio)acrylic acid to yield the chemotherapeutic drug 6-mercaptopurine: evidence for two distinct mechanism in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, **290(3)**: 950-957.
- GUNNARSDOTTIR S, RUCKI M, ELFARRA AA (2002). Novel glutathione-dependent thiopurine prodrugs: evidence for enhanced cytotoxicity in tumor cells and for decreased bone marrow toxicity in mice. *J Pharmacol Exp Ther*, **301(1)**: 77-86.
- GUNNARSDOTTIR S, ELFARRA AA (2004). Cytotoxicity of the novel glutathione-activated thiopurine prodrugs *cis*-AVTP [*cis*-6-(2-acetylvinylthio)purine] and *trans*-AVTG [*trans*-6-(2-acetylvinylthio)guanine] results from the National Cancer Institute's anticancer drug screen. *Drug Metab Dispos*, **32(3)**: 321-327.
- GUPTA SD, MOORTHY NSHN, SANYAL U (2010). Synthesis, cytotoxic evaluation, *in silico* pharmacokinetic and QSAR study of some benzothiazole derivatives. *Int J Pharmacy Pharm Sci*, **2(3)**: 57-62.
- HABIG WH, PABST MJ, JAKOBY WB (1974). Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*, **249(22)**: 7130-7139.
- HAHN M (1995). Receptor Surface Models. 1. Definition and Construction. *J Med Chem*, **38(12)**: 2080-2090.
- HAHN M (1997). Three-Dimensional Shape-Based Searching of Conformationally Flexible Compounds. *J Chem Inf Comput Sci*, **37(1)**: 80-86.
- HAMER FM (1956). Some Chain-Substituted Methincyanines and Styryl Dyes. *J Chem Soc*, **298**: 1480-1498.
- HAYESHI R, MUKANGANYAMA S, HAZRA B, ABEGAZ B, HASLER J (2004). The interaction of selected natural products with human recombinant glutathione transferase. *Phytother Res*, **18(11)**: 877-883.
- HAYESHI R, MUTINGWENDE I, MAVENGERE W, MASIYANISE V, MUKANGANYAMA S (2007). The inhibition of human glutathione S-transferases activity by plant polyphenolic compounds ellagic acid and curcumin. *Food Chem Toxicol*, **45(2)**: 286-295.
- HEIN DW, ALHEIM RJ, LEAVITT JJ (1957). The Use of Polyphosphoric Acid in the Synthesis of 2-Aryl- and 2-Alkyl-substituted Benzimidazoles, Benzoxazoles and Benzothiazoles. *J Ame Chem Soc*, **79(2)**: 427-429.

- HENDERSON CJ, SMITH AG, URE J, BROWN K, BACON EJ, WOLF CR (1998). Increased skin tumorigenesis in mice lacking pi class glutathione S-transferases. *Proc Natl Acad Sci USA*, **95**: 5275–5280.
- HENRIKSEN G, HAUSER AI, WESTWELL AD, YOUSEFI BH, SCHWAIGER M, DRZEZGA A, WESTER H-J (2007). Metabolically Stabilized Benzothiazoles for Imaging of Amyloid Plaques. *J Med Chem*, **50(6)**: 1087-1089.
- HIRASHIMA, A., EIRAKU, T., WATANABE, Y., KUWANO, E., TANIGUCHI, E., ETO, M. (2001) Identification of novel inhibitors of calling and in vitro [¹⁴C]acetate incorporation by pheromone glands of *Plodia interpunctella*. *Pest Manag Sci*, **57**:713–720.
- HIRASHIMA, A., MORIMOTO, M., OHTA, H., KUWANO, E., TANIGUCHI, E., ETO, M. (2002). Three-Dimensional Common-Feature Hypotheses for Octopamine Agonist 1-Arylimidazolidine-2-Thiones. *International Journal of Molecular Sciences*, **3**: 56-68.
- HOFFMAN AW (1879). Über die Einwirkung des Schwefels auf Phenylbenzamid. *Ber*, **12**: 2359-2366.
- HOLT PA, CHAIRES JB, TRENT JO (2008). Molecular Docking of Intercalators and Groove-Binders to Nucleic Acids Using Autodock and Surflex. *J Chem Inf Model*, **48**: 1602-1615.
- HRUTFORD BF, BUNNETT JF (1958). A General Principle for the Synthesis of Heterocyclic and Homocyclic Compounds. *J Ame Chem Soc*, **80**: 2021-2022.
- HUANG S-T, HSEI I-J, CHEN C (2006). Synthesis and Anticancer Evaluation of *bis*(benzoxazoles) and benzothiazoles. *Bioorg Med Chem*, **14(17)**: 6106-6119.
- HUANG X, TANG J (2003). Solid Phase Synthesis of Benzothiazole and Thiophene Derivatives based on Resin-Bound Cyclic Malonic Acid Ester. *Tetrahedron*, **59(26)**: 4851-4856.
- HUR Y, KIM D-H, KIM E-K, PARK J-H, JOO J-E, KANG H-W, OH S-W, KIM D-K, AHN K-K (2013). Phenylimide-containing Benzothiazole Derivative or Its Salt and Pharmaceutical Composition Comprising the Same. *Yuhan Corp., Int. Patent*, WO 2013/043001 A1.
- HUTCHINSON I, CHUA M-S, BROWNE HL, TRAPANI V, BRADSHAW TD, WESTWELL AD, STEVENS MFG (2001). Antitumor Benzothiazoles. 14. Synthesis of *in vitro* Biological Properties of Fluorinated 2-(4-Aminophenyl)benzothiazoles. *J Med Chem*, **44**: 1446-1455.
- HUTCHINSON I, STEVENS MFG, WESTWELL AD (2000). The Regiospecific Synthesis of 5- and 7-Monosubstituted and 5,6-Disubstituted 2-arylbenzothiazoles. *Tetrahedron Lett*, **41(3)**: 425-428.
- IERSEL ML, PLOEMEN JP, STRUIK I, VAN AMERSFOORT C, KEYZER AE, SCHEFFERLIE JG, VAN BLADEREN PJ (1996). Inhibition of glutathione S-transferase activity in human melanoma cells by alpha, beta-unsaturated carbonyl derivatives. Effects of acrolein, cinnamaldehyde, citral, crotonaldehyde, curcumin, ethacrynic acid, and trans-2-hexenal. *Chem-Biol Interact*, **102(2)**: 117-132.
- IZBICKA E, LAWRENCE R, CERNA C, VON HOFF DD, SANDERSON PE (1997). Activity of TER286 against human tumor colony-forming units. *Anticancer Drugs*, **8(4)**: 345–348.
- JAIN AN (2007). Surflex-Dock 2.1: robust performance from ligand energetic modeling, ring flexibility, and knowledge-based search. *J Comput- Aided Mol Des*, **21**: 281–306.
- JAKOBSSON PJ, MORGENSTERN R, MANCINI J, FORD-HUTCHINSON A, PERSSON B (1999). Common structural features of MAPEG-a wide spread super family of associated proteins with highly divergent functions in eicosanoid and glutathione metabolism. *Protein Sci*, **8**: 689-692.

- KALETA Z, MAKOWSKI BT, SOÓS T, DEMBINSKI R (2006). Thionation using Fluorous Lawesson's Reagent. *Org Chem Portal*, **8**: 1625-1628.
- KANAOKA Y, HAMADA T, YONEMITSU O (1970). Polyphosphate Esther as A Synthetic Agent. XIII. Synthesis of 2-Substituted-benzoxazoles and Benzothiazoles with PPE. *Chem Pharm Bull*, **18(3)**: 587-590.
- KANDEEL MM, ABDELALL EKA, ABD EL HAMID MK, ABDELGAWAD MA, PHILOPPES JN (2013). Synthesis and *in vitro* antitumor activity of new benzothiazole and benzoxazole derivatives. *J Chem Pharm Res*, **5(8)**: 16-21.
- KARLSSON HJ, BERGQVIST MH, LINCOLN P, WESTMAN G (2004). Syntheses and DNA-Binding Studies of a Series of Unsymmetrical Cyanine Dyes: Structural Influence on the Degree of Minor Groove Binding to Natural DNA. *Bioorg Med Chem*, **12**: 2369-2384.
- KARLSSON HJ, LINCOLN P, WESTMAN G (2003). Syntheses and DNA-Binding Studies of a New Asymmetric Cyanine Dye Binding in the Minor Groove of [Poly(dA-dT)]₂. *Bioorg Med Chem*, **11**: 1035-1040.
- KATRITZKY AR, SINGH SK (2003). Microwave-Assisted Heterocyclic Synthesis. *Arkivoc*, (xiii)68-86.
- KEENAN RM, WEINSTOCK J, FINKELSTEIN JA, FRANZ RG, GAITANOPOULOS DE, GIRARD GR, HILL DT, MORGAN TM, SAMANEN JM (1993). Potent nonpeptide angiotensin II receptor antagonists. 2. 1-(Carboxybenzyl)imidazole-5-acrylic acids. *J Med Chem*, **36(13)**: 1880-1892.
- KIM JS, SUN Q, GATTO B, YU C, LIU A, LIU LF, LA VOIE EJ (1996). Structure-Activity Relationships of Benzimidazoles and Related Heterocycles as Topoisomerase I Poisons. *Bioorg Med Chem*, **4(4)**: 621-630.
- KINI SG, CHOUDHARY S, MUBEEN M (2012). Synthesis, docking study and anticancer activity of coumarin substituted derivatives of benzothiazole. *J Comput Methods Mol Des*, **2(1)**: 51-60.
- KINI S, SWAIN SP, GANDHI AM (2007). Synthesis and Evaluation of Novel Benzothiazole Derivatives against Human Cervical Cancer Cell Lines. *Indian J Pharm Sci*, **69(1)**: 46-50.
- KITCHEN DB, DECORNEZ H, FURR JR, BAJORATH J (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nat Rev Drug Discovery*, **3**: 935-949.
- KLOTZ P, SLAOUİ-HASNAOUI A, BANERES JL, DUCKERT JF, ROSSI JC, KERBAL A (1998). Synthesis and glutathione Stransferase structure-affinity relationships of nonpeptide and peptidase-stable glutathione analogues. *J Med Chem*, **41(13)**: 2278-2288.
- KOLM RH, STENBERG G, WIDERSTEN M, MANNERVIK B (1995). High-level bacterial expression of human glutathione transferase P1-1 encoded by semisynthetic DNA. *Protein Expr Purif*, **6(3)**: 265-271.
- KOO JY, KIM HJ, JUNG K-O, PARK K-Y (2004). Curcumin inhibits the growth of AGS human gastric carcinoma cells in vitro and shows synergism with 5-fluorouracil. *J Med Food*, **7(2)**: 117-121.
- KUBINYI H (2013). Hugo Kubinyi Lectures. Erişim adresi: [<http://www.kubinyi.de/dd-18.pdf>]. Erişim Tarihi: 30/5/2016
- KUMAR P, NARASIMHAN B (2013). Hydrazides/Hydrazones as Antimicrobial and Anticancer Agents in the New Millennium. *Mini-Rev Med Chem*, **13(7)**: 971-987.

- KURATA M, SUZUKI M, TAKEDA K (1992). Effects of phenol compounds, glutathione analogues and a diuretic drug on glutathione S-transferase, glutathione reductase and glutathione peroxidase from canine erythrocytes. *Comp Biochem Physiol B*, **103(4)**: 863-867.
- LABHSETWAR LB, SHENDARKAR GR, KUBERKAR SV (2010). Synthesis and *in vitro* anticancer activity of 8-chloro-3-cyano-4-imino-2-methylthio-4*H*-pyrimido [2,1-*b*] [1,3] benzothiazole and its 2-substituted derivatives. *JPRHC*, **2(3)**: 273-278.
- LEE CL, LAM Y, LEE S-Y (2001). Solid-Phase Combinatorial Synthesis of Benzothiazole and 2,3-Dihydro-[1,5]-benzothiazepine Derivatives. *Tetrahedron Lett*, **42(1)**: 109-111.
- LENG WN, ZHOU YM, XU QH, LIU JZ (2001). Synthesis of Nonlinear Optical Polyimides containing Benzothiazole Moiety and Their Electro-Optical and Thermal Properties. *Polymer*, **42(22)**: 9253-9259.
- LENGAUER T, RAREY M (1996). Computational methods for biomolecular docking. *Curr Opin Struct Biol*, **6(3)**: 402-406.
- LI Z, CHU T, LIU X, WANG X (2005). Synthesis and *in vitro* and *in vivo* Evaluation of Three Radioiodinated Nitroimidazole Analogues as Tumor Hypoxia Markers. *Nuclear Med Biol*, **32(3)**: 225-231.
- LOAIZA-PÉREZ AI, TRAPANI V, HOSE C, SINGH SS, TREPEL JB, STEVENS MFG, BRADSHAW TD, SAUSVILLE EA (2002). Aryl Hydrocarbon Receptor Mediates Sensitivity of MCF-7 Breast Cancer Cells to Antitumor Agent 2-(4-Amino-3-methylphenyl) Benzothiazole. *Mol Pharmacol*, **61(1)**: 13-19.
- LONGO V, AMATO G, SALVETTI A, GERVASI PG (2000). Heterogenous effect of anthraquinones on drug-metabolizing enzymes in the liver and small intestine of rat. *Chem-Biol Interact*, **126**: 63-77.
- LYON RP, HILL JJ, ATKINS WM (2003). Novel Class of Bivalent Glutathione S-Transferase Inhibitors. *Biochemistry*, **42(35)**: 10418-10428.
- LYTTLE MH, HOCKER MD, HUI HC, CLADWELL CG, AARON DT, ENGQVIST-GOLDSTEIN A, FLATGAARD JE, BAUER KE (1994). Isozyme-specific glutathione S-transferase inhibitors: design and synthesis. *J Med Chem*, **37(1)**: 189-194.
- MAHAJAN S, ATKINS WM (2005). The chemistry and biology of inhibitors and pro-drugs targeted to glutathione S-transferases. *Cell Mol Life Sci*, **62(11)**: 1221-1233.
- MANNERVIK B, ALIN P, GUTHENBERG C, JENSSON H, TAHIR MK, WARHOLM M, JÖRNVALL H (1985). Identification of three classes of cytosolic glutathione transferases common to several mammalian species: Correlation between structural data and enzymatic properties. *Proc Natl Acad Sci USA*, **82(21)**: 7202-7206.
- MANNERVIK B, DANIELSON UH (1988). Glutathione transferases - structure and catalytic activity. *CRC Crit Rev Biochem Mol Biol*, **23(3)**: 283-337.
- MANNERVIK B, GUTHENBERG C (1981). Glutathione transferase (human placenta). *Methods Enzymol*, **77**: 231-235.
- MAROTTA F, SHILED YR, BAMBA T, NAITO Y, MINELLI E, YOSHIOKA M (2003). Hepatoprotective effect of a curcumin/absinthium compound in experimental severe liver injury. *Chin J Dig Dis*, **4(3)**: 122-127.

- MASHRAQUI SH, KUMAR S, DÂU ETH (2004). Synthesis, Molecular Structure and Optical Spectral Studies of *syn*-Dithiabenzothiazolophane and *anti-bis*-lactone benzothiazolophane. *J Mol Struct*, **697(1-3)**: 221-230.
- MATHEW N, KALYANASUNDARAM M, BALARAMAN K (2006). Glutathione S-transferase (GST) inhibitors. *Exp Opin Ther Pat*, **16(4)**: 431-444.
- MATHIS CA, BACSKAI BJ, KAJDASZ ST, McLELLAN ME, FROSCH MP, HYMAN BT, HOLT DP, WANG Y, HUANG G-F, DEBNATHD ML, KLUNK WE (2002). A Lipophilic Thioflavin-T Derivative for Positron Emission Tomography (PET) Imaging of Amyloid in Brain. *Bioorg Med Chem Lett*, **12**: 295-298.
- MATSUSHITA N, ARITAKE K, TAKADA A, HIZUE M, HAYASHI K, MITSUI K, HAYASHI M, HIROTSU I, KIMURA Y, TANI T, NAKAJIMA H (1998). Pharmacological studies on the novel antiallergenic drug HQL-79: 2. Elucidation of mechanisms for antiallergic and antiasthmatic effects. *Jpn J Pharmacol*, **78(1)**: 11-22.
- MATSUSHITA H, LEE S-H, JOUNG M, CLAPHAM B, JANDA KD (2004). Smart Cleavage Reactions: the Synthesis of Benzimidazoles and Benzothiazoles from Polymer-Bound Esters. *Tetrahedron Lett*, **45(2)**: 313-316.
- MIDDLETON JR E, KANDASWAMI C, THEOHARIDES TC (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, **52(4)**: 673-751.
- MORALES GA, LABORDE E (2007). Small-molecule inhibitors of glutathione S-transferase P1-1 as anticancer therapeutic agents. *Ann Reports Med Chem*, **42**: Chapter 20.
- MORGAN AS, SANDERSON PE, BORCH RF, TEW KD, NIKTSU Y, TAKAYANA T, VONHOFF DD, IZBICKA E, MANGOLD G, PAUL C, BROBERG U, MANNERNIK B, HENNER DW, KAUVAR LM (1998). Tumor efficacy and bone marrow sparing properties of TER286, a cytotoxin activated by glutathione transferase. *Cancer Res*, **58**: 2568-2575.
- MORTIMER CG, WELLS G, CROCHARD J-P, STONE EL, BRADSHAW TD, STEVENS MFG, WESTWELL AD (2006). Antitumor Benzothiazoles. 26. 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5-fluorobenzothiazole (GW 610, NSC 721648), a Simple Fluorinated 2-Arylbenzothiazole, Shows Potent and Selective Inhibitory Activity against Lung, Colon, and Breast Cancer Cell Lines. *J Med Chem*, **49(1)**: 179-185.
- MOSS JA, DICKERSON TJ, JANDA KD (2002). Solid Phase Peptide Synthesis on JandaJel™ Resin. *Tetrahedron Lett*, **43(1)**: 37-40.
- MOSULA L, ZIMENKOZSKY B, HAVRYLTUK D, MISSIR A-V, CHIRITĂ IC, LESYK R (2009). Synthesis and antitumor activity of novel 2-thioxo-4-thiazolidinones with benzothiazole moieties. *Farmacia*, **57(3)**: 321-330.
- MOURTAS S, GATOS D, BARLOS K (2001). Solid Phase Synthesis of Benzothiazolyl Compounds. *Tetrahedron Lett*, **42(11)**: 2201-2204.
- MUKANGANYAMA S, WIDERSTEN M, NAIK YS, MANNERNIK B, HASLER JA (2002). Inhibition of glutathione S-transferases by antimalarial drugs. Possible implications for circumventing anticancer drug resistance. *Int J Cancer*, **97(5)**: 700-705.
- MUSDAL Y, ERTAN-BOLELLI T, BOLELLI K, YILMAZ S, CEYHAN D, HEGAZY U, MANNERNIK B, AKSOY Y (2012). Inhibition of human glutathione transferase P1-1 by novel benzazole derivatives, *Turkish J Biochem*, **37(4)**: 431-436.

- NAGPAL S, CHANDRARATNA RAS (1996). Ratinoids as Anti-Cancer Agents. *Curr Pharm Des*, **2**: 295-316.
- NAKAJIMA T, TAKAYAMA T, MIYANISHI K, NOBUOKA A, HAYASHI T, ABE T, KATO J, SAKON K, NANIWA Y, TANABE H, NIITSU Y (2003). Reversal of multiple drug resistance in cholangiocarcinoma by the glutathione S-transferase-pi-specific inhibitor O1-hexadecyl-gamma-glutamyl-S-benzylcysteinyl-D-phenylglycine ethylester. *J Pharmacol Exp Ther*, **306(3)**: 861-869.
- NERKAR AG, SAXENA AK, GHONE SA, THAKER AK (2009). In Silico Screening, Synthesis and In Vitro Evaluation of Some Quinazolinone and Pyridine Derivatives as Dihydrofolate Reductase Inhibitors for Anticancer Activity. *E-J Chem*, **6(S1)**: S97-S102.
- OAKLEY A (2011). Glutathione transferases: a structural perspective. *Drug Metab Rev*, **43(2)**: 138-151.
- OAKLEY AJ, ROSSJOHN J, LO BELLO M, CACCURI AM, FEDERICI G, PARKER MW (1997a). The Three-Dimensional Structure of the Human Pi Class Glutathione Transferase P1-1 in Complex with the Inhibitor Ethacrynic Acid and Its Glutathione Conjugate. *Biochemistry*, **36**: 576-585.
- OAKLEY AJ, LO BELLO M, BATTISTONI A, RICCI G, ROSSJOHN J, VILLAR HO, PARKER MW (1997b). The Structures of Human Glutathione Transferase P1-1 in Complex with Glutathione and Various Inhibitors at High Resolution. *J Mol Biol*, **274**: 84-100.
- OAKLEY AJ, LO BELLO M, MAZZETTI AP, FEDERICI G, PARKER MW (1997c). The glutathione conjugate of ethacrynic acid can bind to human pi class glutathione transferase P1-1 in two different modes. *FEBS Letters*, **419**: 32-36.
- O'BRIEN ML, TEW KD (1996). Glutathione and related enzymes in multidrug resistance. *Eur J Cancer*, **32A(6)**: 967-978.
- OZBEN T (2006). Mechanisms and strategies to overcome multiple drug resistance in cancer. *FEBS Lett*, **580(12)**: 2903-2909.
- PALMER PJ, HALL G, TRIGG RB, WARRINGTON JV (1971). Antimicrobials. 1. Benzothiazolylbenzylamines. *J Med Chem*, **14(12)**: 1223-1225.
- PAREEK PK, MITHLESH, PAREEK D, CHAUDHARY M, PAREEK A, KANT R, OJHA KG (2011). Rapid synthesis of some medicinally important hexahydro-s-triazine derivatives incorporating benzothiazole. *Main Group Chem*, **10(1)**: 63-71.
- PAREEK D, CHAUDHARY M, PAREEK PK, OJHA KG, PAREEK A (2014). Synthesis and Biological Evaluation of Substituted 3-(Benzothiazolyl)-1,3-thiazolidine-4-ones. *Int J Pharm Pharm Sci*, **6(4)**: 438-455.
- PEDERSEN BS, SCHEIBYE S, NILSON NH, LAWESSON SO (1978). Studies on Organophosphorus Compounds. 10. Synthesis of Thioketones. *Bull Soc Chim Belg*, **87(3)**: 223-228.
- PENG X, XIE G, WANG Z, LIN H, ZHOU T, XIANG P, JIANG Y, YANG S, WEI Y, YU L, ZHAO Y (2014). SKLB-163, a new benzothiazole-2-thiol derivative, exhibits potent anticancer activity by affecting RhoGDI/JNK-1 signaling pathway. *Cell Death Dis*, **5**: e1143:1-10.
- PHOON CW, NG PY, TING AE, YEO SL, SIM MM (2001). Biological Evaluation of Hepatitis C Virus Helicase Inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, **11**: 1647-1650.

- PICCOLOMINI R, DI ILIO C, ACETO A, ALLOCATI N, FARAONE A, CELLINI L, RAVAGNAN G, FEDERICI G (1989) Glutathione transferase in bacteria: subunit composition and antigenic characterization. *J Gen Microbiol*, **135(11)**: 3119-3125.
- PIPER JT, SINGHAL SS, SALAMEH MS, TORMAN RT, AWASTHI YC, AWASTHI S (1998). Mechanisms of anticarcinogenic properties of curcumin: the effect of curcumin on glutathione linked detoxification enzymes in rat liver. *Int J Biochem Cell Biol*, **30(4)**: 445-456.
- POLLMANN W, SCHRAMM G (1964). Reactivity of Metaphosphate Esters Prepared from P_4O_{10} and Ethyl Ether. *Biochem Biophys Acta*, **80**: 1-7.
- RABILLOUD G, SILLON B (1979). Reactions of Benzoic Acid and with *ortho*-substituted-anilines in A Triphenyl Phosphite-Pyridine Mixture, C. R. Hebd. Seances. *Acad Sci Ser C*, **288(23)**: 559-560, Ref: CA: 91: 192954n, 1979.
- RACANE L, STOJKOVIC R, TRALIC-KULENOVIC V, KARMINSKI-ZAMOLA G (2006). Synthesis and Antitumor Evaluation of Novel Derivatives of 6-Amino-2-phenylbenzothiazoles. *Molecules*, **11**: 325-333.
- RAGHUNATHAN S, CHANDROSS RJ, KRETSINGER RH, ALLISON TJ, PENINGTON CJ, RULE GS (1994). Crystal structure of human class mu glutathione transferase GSTM2-2. Effects of lattice packing on conformational heterogeneity. *J Mol Biol*, **238(5)**: 815-832.
- RAMESH UV, SINGH R, PAYAN DG, PARLATI F, LOWE R, LOOK GC (2005). Benzothiazole Compositions and their use as Ubiquitin Ligase Inhibitors. *U. S. Patent*, US 2005/0130974 A1.
- REINEMER P, DIRR HW, LADENSTEIN R, SCHAFFER J, GALLAY O, HUBER R (1991). The three-dimensional structure of class pi glutathione S-transferase in complex with glutathione sulfonate at 2.3 Å resolution. *EMBO J*, **10(8)**: 1997-2005.
- REPICKÝ A, JANTOVÁ S, ČIPÁK L (2010). Apoptosis of murine L1210 leukemia cells induced by 2-acetyl-3-(6-methoxybenzothiazol-2-ylamino)acrylonitril involves ROS-mitochondrial mediated death signalling and activation of p38 MAPK. *Acta Chim Slovaca*, **3(1)**: 15-28.
- REYNOLDS CH, SHABER SH (1995). Rational design of novel ergosterol biosynthesis inhibitor fungicides. ACS Symposium Series 589 (Computer-Aided Molecular Design), 171-82 2 Plates - 230a-230b.
- RODRIGUES JR, CHARRIS J, CAMACHO J, BARAZARTE A, GAMBOA N, ANTUNES F (2012). Cytotoxic Effects of *N*'-Formyl-2-(5-nitrothiophen-2-yl)benzothiazole-6-carbohydrazide in Human Breast Tumor Cells by Induction of Oxidative Stress. *Anticancer Res*, **32(7)**: 2721-2726.
- ROMPELBERG CJM, PLOEMEN JHTM, JESPERSEN S, GREEF VAN DER J, VERHAGEN H, VAN BLADEREN PJ (1996). Inhibition of rat, mouse and human glutathione S-transferase by eugenol and its oxidation products. *Chem-Biol Interact*, **99(1-3)**: 85-97.
- ROSARIO LA, O'BRIEN ML, HENDERSON CJ, WOLF CR, TEW KD (2000). Cellular Response to a Glutathione S-Transferase P1-1 Activated Prodrug. *Mol Pharmacol*, **58(1)**: 167-174
- ROSEN LS, BROWN J, LAXA B, BOULOS L, REISWIG L, HENNER WD, LUM RT, SCHOW SR, MAACK CA, KECK JG, MASCAVAGE JC, DOMBROSKI JA, GOMEZ RF, BROWN GL (2003). Phase I study of TLK286 (glutathione S-transferase P1-1 activated glutathione analogue) in advanced refractory solid malignancies, *Clin Cancer Res*, **9(5)**: 1628-1638.
- SALUM LB, MASCARELLO A, CANEVAROLO RR, ALTEI WF, LARANJEIRA ABA, NEUENFELDT PD, STUMPF TR, CHIARADIA-DELATORRE LD, VOLLMER LL, DAGHESTANI HN, DE SAUZA MELO CP, SILVEIRA AB, LEAL PC, FEDERICO MJS, DO NASCIMENTO LF, SANTOS ARS, ANDRICOPULO AD, DAY BW, YUNES RA, VOGT A,

- NUNES RJ (2015). N-(10-naphthyl)-3,4,5-trimethoxybenzohydrazide as microtubule destabilizer: Synthesis, cytotoxicity, inhibition of cell migration and in vivo activity against acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Med Chem*, **96**: 504-518.
- SAU A, PELLIZZARI TREGNO F, VALENTINO F, FEDERICI G, CACCURI AM (2010). Glutathione transferases and development of new principles to overcome drug resistance. *Arch Biochem Biophys*, **500(2)**: 116-122.
- SCHNEIDER G, BOHM H-J (2002). Virtual screening and fast automated docking methods. *Drug Discovery Today*, **7**: 64-70.
- SEETARAMSWAMY S, SEKAR V, GANDHIMATHI S, LAXMANADOSS M, PERUMAL P (2013). Synthesis and *in-vitro* Anticancer Activity of Some Novel *bis*-Benzothiazole Derivatives. *Int J Curr Pharm Res*, **5(2)**: 63-64.
- SEKAR V, PERUMAL P, ARUNACHALAM, GANDHIMATHI S (2011). Screening of anticancer activity in newly synthesized benzothiazole derivatives. *J Pharm Sci Res*, **3(10)**: 1520-1524.
- SHAMI PJ, SAAVEDRA JE, WANG LY, BONIFANT CL, DIWAN BA, SINGH SV, GU Y, FOX SD, BUZARD GS, CITRO ML, WATERHOUSE DJ, DAVIES KM, JI X, KEEFER LK (2003). JS-K, a glutathione/glutathione S-transferase-activated nitric oxide donor of the diazeniumdiolate class with potent antineoplastic activity. *Mol Cancer Ther*, **2(4)**: 409-417.
- SHAROM FJ (1997). The P-Glycoprotein Efflux Pump: How Does it Transport Drugs? *J Membr Biol*, **160(3)**: 161-175.
- SHEEHAN D, MEADE G, FOLEY VM, DOWD CA (2001). Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of nonmammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem J*, **360(1)**: 1-16.
- SHEN G, LV X, BAO W (2009). Synthesis of *N*-Substituted-2-Aminobenzothiazoles by Ligand-Free Copper(I)-Catalyzed Cross-Coupling Reaction of 2-Haloanilines with Isothiocyanates. *Eur J Org Chem*, **34**: 5897-5901.
- SHI D-F, BRADSHAW TD, WRIGLEY S, McCALL CJ, LELIEVELD P, FICHTNER I, STEVENS MFG (1996). Antitumor Benzothiazoles. 3. Synthesis of 2-(4-Aminophenyl) benzothiazoles and Evaluation of Their Activities against Breast Cancer Cell Lines *in vitro* and *in vivo*. *J Med Chem*, **39(17)**: 3375-3384.
- SHI X-H, WANG Z, XIA Y, YE T-H, DENG M, XU Y-Z, WEI Y-Q, YU L-T (2012). Synthesis and biological evaluation of novel benzothiazole-2-thiol derivatives as potential anticancer agents. *Molecules*, **17**: 3933-3944.
- SINNING I, KLEYWEGT GJ, COWAN SW, REINEMER P, DIRR HW, HUBER R, GILLILAND GL, ARMSTRONG RN, JI X, BOARD PG (1993) Structure determination and refinement of human alpha class glutathione transferase A1-1, and a comparison with the Mu and Pi class enzymes. *J Mol Biol*, **232(1)**: 192-212.
- SMELLIE A, TEIG SL, TOWBIN P (1995). Poling: Promoting conformational variation. *J Comput Chem*, **16(2)**: 171-187.
- SONG EY, KAUR N, PARK M-Y, JIN Y, LEE K, KIM G, LEE KY, YANG J, SHIN JH, NAM K-Y, NO KT, HAN G (2008). Synthesis of amide and urea derivatives of benzothiazole as Raf-1 inhibitor. *Eur J Med Chem*, **43**: 1519-1524.
- SPITZER GM, WELLENZOHN B, LAGGNER C, LANGER T, LIEDL KR (2007). DNA minor groove pharmacophores describing sequence specific properties. *J Chem Inf Model*, **47**: 1580-1589.

- STAHL M, RAREY M (2001). Detailed analysis of scoring functions for virtual screening. *J Med Chem*, **44**(7): 1035-1042.
- STIERAND K, RAREY M (2010). Drawing the PDB: Protein-Ligand Complexes in Two Dimensions. *ACS Med Chem Lett*, **1**(9): 540-545.
- STRANGE RC, SPITERI MA, RAMACHANDRAN S, FRYER AA (2001). Glutathione-S-transferase family of enzymes. *Mutat Res*, **482**(1-2): 21-26.
- SURH Y-J (1998). Cancer chemoprevention by dietary phytochemicals: a mechanistic viewpoint. *Cancer J*, **11**: 6-10.
- TAMPO Y, YONAH M (1990). Vitamin E and glutathione are required for preservation of microsomal glutathione S-transferase from oxidative stress in microsomes. *Pharmacol Toxicol*, **66**(4): 259-265.
- TEW KD (1994). Glutathione-associated enzymes in anticancer drug resistance. *Cancer Res*, **54**(16): 4313-4320.
- TEW KD, BOMBER AM, HOFFMAN SJ (1988). Ethacrynic acid and piriprost as enhancers of cytotoxicity in drug resistant and sensitive cell lines. *Cancer Res*, **48**(13): 3622-3625.
- THOMAS L, GUPTA A, GUPTA V (2003). Synthesis of 2-Amino-5-chloro-3-(trifluoromethyl)benzenethiol and Conversion into 4H-1,4-benzothiazines and Their Sulfones. *J Fluorine Chem*, **122**(2): 207-213.
- TIRZITE D, TIRZITIS G, VIGANTE B, DUBURS G (1993). The effect of some 1,4-dihydropyridine and 1,4-dihydroindeno[1,2-*b*]pyridine derivatives on glutathione S-transferase activity *in vitro*. *Biochem Pharmacol*, **46**(4): 773-775.
- TOLEDO-SHERMAN LM, CHEN D (2002). High-throughput virtual screening for drug discovery in parallel. *Curr Opin Drug Discovery Dev*, **5**: 414-421.
- TOWNSEND DM, SHEN H, STAROS AL, GATE L, TEW KD (2002). Efficacy of a glutathione S-transferase pi-activated prodrug in platinum-resistant ovarian cancer cells. *Mol Cancer Ther*, **1**(12): 1089-1095.
- TOWNSEND DM, TEW KD (2003). The role of glutathione S-transferase in anti-cancer drug resistance. *Oncogene*, **22**(47): 7369-7375.
- TOZKOPARAN B, AYTAÇ SP (2007). Kanser kemoterapisinde terapötik hedef olarak glutatyon S-transferazlar. *Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi*, **27**(2): 139-164.
- TRAPANI G, FRANCO M, LATROFA A, REHO A, LISO G (2001). Synthesis *in vitro* and *in vivo* Cytotoxicity and Prediction of the Intestinal Absorption of Substituted 2-Ethoxycarbonyl-imidazo[2,1-*b*]benzothiazoles. *Eur J Pharm Sci*, **14**(3): 209-216.
- TRAPANI G, FRANCO M, LATROFA A, CAROTTI A, GENCHI G, SERRA M, LISO G (1996). Synthesis and Benzodiazepine Receptor Binding of Some Imidazo- and pyrimido[2,1-*b*]benzothiazoles. *Eur J Med Chem*, **31**(7-8): 575-587.
- TUNA G (2008). Sıçan İnce Bağırsağından Glutatyon S-Transferaz Enziminin Saflaştırılması ve İzozimlerinin Hiperisin Bileşiği ile Bağlanma Özelliğinin İncelenmesi. *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Programı Yüksek Lisans Tezi*, p.:1-21.
- TURELLA P, FILOMENI G, DUPUIS ML, CIRIOLO MR, MOLINARI A, DE MARIA F, TOMBESI M, CIANFRIGLIA M, FEDERICI G, RICCI G, CACCURÌ AM (2006). A Strong Glutathione S-Transferase Inhibitor Overcomes the P-glycoprotein-mediated Resistance in Tumor Cells 6-

- (7-Nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-ylthio)hexanol (NBDHEX) Triggers a Caspase-Dependent Apoptosis in MDR1-Expressing Leukemia Cells. *J Bio Chem*, **281(33)**: 23725-23732.
- TÜRKER FA, KAYAALP SO (2002). Kanser kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar, Ed.: Kayaalp, S.O., *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, Ankara, Feryal Matbaacılık. p.:380-415.
- VAN HAAFTEN RIM, EVELO CTA, PENDERS J, EIJNWACHTER MPF, HAENEN GRMM, BAST A (2001). Inhibition of human glutathione S-transferase Pi-I by tocopherol and a tocopherol derivatives. *Biochem Biophys Acta*, **1548(1)**: 23-28.
- VAN HAAFTEN RIM, HAENEN GR, VAN BLADEREN PJ, BOGAARDS JJ, EVELO CT, BAST A (2003). Inhibition of various glutathione S-transferase isoenzymes by RRR- α -tocopherol. *Toxicol In Vitro*, **17(3)**: 245-251.
- VAN ZANDEN JJ, BEN HAMMAN O, VAN IERSEL ML, BOEREN S, CNUBBEN NH, LO BELLO M, VERVOORT J, VAN BLADEREN PJ, RIETJENS IM (2003). Inhibition of human glutathione S-transferase P1-1 by the flavonoid quercetin. *Chem Biol Interact*, **145(2)**: 139-148.
- VAN ZANDEN JJ, GERAETS L, WORTELBOER HM, VAN BLADEREN PJ, RIETJENS IM, CNUBBEN NH (2004). Structural requirements for the flavonoid-mediated modulation of glutathione S-transferase P1-1 and GS-X pump activity in MCF7 breast cancer cells. *Biochem Pharmacol*, **67(8)**: 1607-1617.
- VARMA RS, KUMAR D (1999). Microwave-Accelerated Solvent-Free Synthesis of Thioketones, Thiolactones, Thioamides, Thionoesters, and Thioflavonoids. *Org Chem Portal*, **1**: 697-700.
- VERKHIVKER GM, BOUZIDA D, GEHLHAAR DK, REJTO PA, ARTHURS S, COLSON AB, FREER ST, LARSON V, LUTY BA, MARRONE T, ROSE PW (2000). Deciphering common failures in molecular docking of ligand-protein complexes. *J Comput Aided Mol Des*, **14**: 731-751.
- VOS RME, OMMEN BV, HOEKSTEIN MSJ, DE GOEDE JHM, VAN BLADEREN PJ (1989). Irreversible inhibition of rat hepatic glutathione S-transferase isoenzymes by a series of structurally related quinines. *Chem-Biol Interact*, **71**: 881-892.
- VURAL N (2005). Toksikoloji. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No:73*.
- WAGNER G., EPPNER B. (1980). Synthesis of 2-(4-Amidinophenyl)benzofuran, -Benzoxazole and -Benzothiazole as well as of 2-(4-Amidinophenyl)benzoxazole. *Pharmazie*, **35**: 285-288.
- WANG M, GAO M, MOCK BH, MILLER KD, SLEDGE GW, HUTCHINS GD, ZHENG Q-H (2006). Synthesis of Carbon-11 Labeled Fluorinated 2-Arylbenzothiazoles as Novel Potential PET Cancer Imaging Agents. *Bioorg Med Chem*, **14(24)**: 8599-8607.
- WANG R, CHEN Z, YUE L, PAN W, ZHAO JJ (2012). Direct transition metal-free C-S bond formation: synthesis of 2-aminobenzothiazole derivatives via base-mediated approach. *Tetrahedron Lett*, **53(34)**: 4529-4531.
- WANG Z, JIN L, WEGRZYN G, WEGRZYN A (2009). A novel method for screening the glutathione transferase inhibitors. *BMC Biochemistry*, **10(6)**: 1-11.
- WASZKOWYCZ B (2002). Structure-based approaches to drug design and virtual screening. *Curr Opin Drug Discovery Dev*, **5(3)**: 407-413.
- WEINSTOCK J, KEENAN RM, SAMANEN J, HEMPEL J, FINKELSTEIN JA, FRANZ RG, GAITANOPOULOS DE, GIRARD GR, GLEASON JG (1991). 1-(Carboxybenzyl)imidazole-

- 5-acrylic acids: potent and selective angiotensin II receptor antagonists. *J Med Chem*, **34(4)**: 1514-1517.
- WHITLEY AC, STONER GD, DARBY MV, WALLE T (2003). Intestinal epithelial cell accumulation of the cancer preventive polyphenol ellagic acid-extensive binding to protein and DNA. *Biochem Pharmacol*, **66(6)**: 907-915.
- WHO (2012). World Health Statistics, Dünya Sağlık Örgütü İstatistikleri 2012.
- WU G, ROBERTSON DH, BROOKS CL, VIETH M (2003). Detailed Analysis of Grid-Based Molecular Docking: A Case Study of CDOCKER-A CHARMM-Based MD Docking Algorithm. *J Comput Chem*, **24(13)**: 1549-1562.
- YADAV MUKESH R, DESHMUKH VINAYAK K, CHAUDHARI SANJAY R (2013). Microwave Assisted Synthesis and Anticancer Activity of Substituted Pyrimido [2,1-*b*] [1,3] benzothiazole Derivatives. *Int J Pharm Sci Rev Res*, **22(1)**: 41-47.
- YANG X, LIU G, LI H, ZHANG Y, SONG D, LI C, WANG R, LIU B, LIANG W, JING Y, ZHAO G (2010). Novel oxadiazole analogues derived from ethacrynic acid: Design, synthesis and structure-activity relationships in inhibiting the activity of glutathione S-transferase P1-1 and cancer cell proliferation. *J Med Chem*, **53(3)**: 1015-1022.
- YILDIZ-ÖREN İ, YALÇIN İ, AKI-ŞENER E, UÇARTÜRK N (2004). Synthesis and Structure-Activity Relationships of New Antimicrobial Active Multisubstituted-benzazole Derivatives. *Eur J Med Chem*, **39**: 291-298.
- YOUNG AM, ALLEN CE, AUDUS KL (2003). Efflux transporters of the human placenta. *Adv Drug Delivery Rev*, **55(1)**: 125-132.
- YOUNG, DC (2009). Computational Drug Design: A Guide for Computational and Medicinal Chemists. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- YOSHIDA M, HAYAKAWA I, HAYASHI N, AGATSUMA T, ODA Y, TANZAWA F, IWASAKI S, KOYAMA K, FURUKAWA H, KURAKATAD S, SUGANO Y (2005). Synthesis and biological evaluation of benzothiazole derivatives as potent antitumor agents. *Bioorg Med Chem Lett*, **15**: 3328-3332.
- ZHANG K, DAS NP (1994). Inhibitory effects of plant polyphenols on rat liver glutathione S-transferases. *Biochem Pharmacol*, **47(11)**: 2063-2068.
- ZHANG K, WONG KP, CHOW P (2003). Conjugation of chlorambucil with GSH by GST purified from human colon adenocarcinoma cells and its inhibition by plant polyphenols. *Life Sci*, **72(23)**: 2629-2640.
- ZHAO G, YU T, WANG R, WANG X, JING Y (2005). Synthesis and structure-activity relationship of ethacrynic acid analogues on glutathione-s-transferase P1-1 activity inhibition. *Bioorg Med Chem*, **13(12)**: 4056-4062.
- ZHAO G, WANG X (2006). Advance in Antitumor Agents Targeting Glutathione S-Transferase. *Curr Med Chem*, **13(12)**: 1461-1471.
- ZHAO Z, KOEPLINGER KA, PETERSON T, CONRADI RA, BURTON PS, SUARATO A, HEINRIKSON RL, TOMASSELLI AG (2009). Mechanism, Structure-Activity Studies, and Potential Applications of Glutathione S-Transferase-catalyzed Cleavage of Sulfonamides. *Drug Metab Dispos*, **27(9)**: 992-998.

ZERZOUF A, KEITA A, SALEM M, ESSASSI EM, ROUMESTANT M-L, VIALLEFONT P (1999).
Synthesis of new heterocyclic systems containing benzothiazole, 1,3,4-thiadiazole and furan.
Organic and Organometallic Synthesis, CR Acad Sci – Series IIC, Paris, **2(7)**: 435-439.

ZHOU S, GAO Y, JIANG W, HUANG M, XU A, PAXTON JW (2003). Interactions of herbs with
cytochrome P450. *Drug Metab Rev*, **35**: 35-98.



ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: Kayhan
Soyadı: Bolelli
Doğum yeri ve Tarihi: Paşaköy/Ayvacık – 11.02.1982
Uyruğu: T.C.
Medeni Durumu: Evli
Askerlik Durumu: Yaptı
İletişim Adresi: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Kimya A.D. Tandoğan 06100 ANKARA
Tel: 0 532 645 90 86
E-posta: Kayhan.Bolelli@ankara.edu.tr
Web: <http://cv.ankara.edu.tr/bolelli@pharmacy.ankara.edu.tr>

II- Eğitimi

2007 - 2016	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı (Yüksek Lisans) (3,84/4)
2004 - 2007	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı (Yüksek Lisans) (3,58/4)
2000 - 2004	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (90.31/100)
1997 - 2000	Çanakkale Milli Piyango Anadolu Lisesi (Lise K.)(4.44/5)
1993 - 1997	Çanakkale Milli Piyango Anadolu Lisesi (Orta K.) [Yabancı Dili: İngilizce]
1988 - 1993	Cumhuriyet İlkokulu (Pekiyi)

III- Ünvanları

- Uzman Eczacı
- Araştırma Görevlisi

IV- Mesleki Deneyimi

- M.S.B. İlaç Fabrikası Komutanlığı
Kalite Kontrol ve Ar-Ge Laboratuvarı Şef Yardımcısı
(15.01.2008 – 30.11.2008)
- Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya A.D.
[Araştırma Görevlisi (29.12.2005 – Halen)]
- Norman Kozmetik
[Mesul Müdürlük (01.11.2004 – 27.12.2005)]
- ProCon Gfk Araştırma Hizmetleri A.Ş.
[Medikal Anketörlük (01.07.2004 – 05.09.2004)]
- Aventis-Pasteur Aşı Ticaret A.Ş.
[Satış Departmanı Asistanlığı (06.09.2004 – 01.10.2004)]
- Pfizer İlaçları Ltd. Şti.
[Medikal Departmanı (04.08.2003 – 12.09.2003)]
- Evcim Eczanesi
[Stajyer Eczacılık (01.07.2002 – 30.08.2002 / 02.07.2001 – 31.08.2001)]

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

- Royal Society of Chemistry (RSC) (2015)
- European Association for Cancer Research (EACR) (2015)
- Moleküler Kansere Araştırma Derneği (MOKAD) (2015)
- İlaç Araştırmacıları ve Uygulayıcıları Derneği (İLARUD) (2013)
- Farmasötik ve Medisinal Kimya Derneği (2004)
- Bilgisayar Destekli İlaç Tasarım ve Geliştirme Derneği (CADD&Ds) (2004)

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınlar

1. Serap Yılmaz, Gulsen Altinkanat-Gelmez, **Kayhan Bolelli**, Deniz Guneser-Merdan, M. Ufuk Over-Hasdemir, Esin Aki, Ismail Yalcin, "Binding Site Feature Description of 2-Substituted Benzothiazoles as AcrAB-TolC Efflux Pump Inhibitors in E. coli", SAR and QSAR in Environmental Research, 26(10), 853-871 (2015).
2. O. Unsalan, Y. Sert, H. Ari, A. Simão, A. Yılmaz, M. Boyukata, O. Bolukbasi, **K. Bolelli**, I. Yalcin, "Micro-Raman, Mid-IR, Far-IR and DFT studies on 2-[4-(4-Fluorobenzamido)phenyl] benzothiazole", Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy, 125: 414-421, (May, 2014).
3. Tuğba Ertan-Bolelli, Yaman Musdal, **Kayhan Bolelli**, Serap Yılmaz, Yasemin Aksoy, Ilkay Yildiz, Esin Aki-Yalcin, and Ismail Yalcin, "Synthesis, Biological Evaluation of 2-Substituted-5-(4-nitrophenylsulfonamido) benzoxazoles as Human GST P1-1 Inhibitors and Description of the Binding Site Features", ChemMedChem, 9(5-SI): 984-992, (May, 2014).
4. Serap Yılmaz, Gulsen Altinkanat-Gelmez, **Kayhan Bolelli**, Deniz Guneser-Merdan, M. Ufuk Over-Hasdemir, Ilkay Yildiz, Esin Aki-Yalcin, Ismail Yalcin, "Pharmacophore Generation of 2-Substituted Benzothiazoles as AdeABC Efflux Pump Inhibitors in A. baumannii", SAR and QSAR in Environmental Research, 25(7): 551-563, (2014).
5. Bhagyasree JB; Varghese, Hema T; Panicker CY; Samuel, Jadu; Van Alsenoy, Christian; **Bolelli, Kayhan**; Yildiz, Ilkay; Aki, Esin, "Vibrational spectroscopic (FT-IR, FT-Raman, 1H NMR and UV) investigations and computational study of 5-nitro-2-(4-nitrobenzyl) benzoxazole", Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy, 102C: 99-113, (Feb, 2013).
6. Yaman Musdal, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Serap Yılmaz, Deniz Ceyhan, Usama Hegazy, Bengt Mannervik, Yasemin Aksoy, "Inhibition of human glutathione transferase P1-1 by novel benzazole derivatives", Turkish Journal of Biochemistry, 37(4): 431-436, (30 December 2012).
7. **Kayhan Bolelli**, Ismail Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, Selda Ozgen, Fatma Kaynak-Onurdag, Ilkay Yildiz, Esin Aki, "Synthesis of novel 2-[4-(4-substitutedbenzamido/ phenylacetamido)phenyl]benzothiazoles as antimicrobial agents", Medicinal Chemistry Research, 21(11): 3818-3825, (Nov, 2012).
8. T. Ertan, I. Yildiz, B. Tekiner-Gulbas, **K. Bolelli**, O. Temiz-Arpaci, S. Ozkan, F. Kaynak, I. Yalcin, E. Aki, "Synthesis, biological evaluation and 2D-QSAR analysis of benzoxazoles as antimicrobial agents", European Journal of Medicinal Chemistry, 44(2): 501-510, (Feb, 2009).
9. I. Yildiz, T. Ertan, **K. Bolelli**, O. Temiz-Arpaci, I. Yalcin, E. Aki, "QSAR and pharmacophore analysis on amides against drug-resistant S. aureus", SAR and QSAR in Environmental Research, 19(1-2): 101-113, (2008).

Proceeding Yayınlar

1. Fatma Zilifdar, Egemen Foto, Omur Bostanci, Sibel Sari, **Kayhan Bolelli**, Ismail Yalcin, Nuran Diril, “Mutagenic Activity of 4 Newly Synthesized Heterocyclic Compounds”, The Turkish Journal of Occupational / Environmental Medicine and Safety (TURJOEM), 1(1), Suppl. 1: 14, (2015).
2. Egemen Foto, Fatma Zilifdar, Sibel Sari, Omur Bostanci, **Kayhan Bolelli**, Ismail Yalcin, Nuran Diril, “Mutagenic Activity of Some Benzothiazole Derivatives”, The Turkish Journal of Occupational / Environmental Medicine and Safety (TURJOEM), 1(1), Suppl. 1: 16, (2015).
3. Esin Aki, Ismail Yalcin, Ilkay Yildiz, Ozlem Temiz-Arpaci, **Kayhan Bolelli**, Tugba Ertan-Bolelli, “DNA-Topoisomerase Inhibitory Activity of Some Heterocyclic Compounds and Their Structure-Activity Relationships”, Medicinal Chemistry Research, 19(S1): 6, (Feb, 2010).

Short Communications

1. Ismail Yalcin, Serap Yilmaz, **Kayhan Bolelli**, Esin Aki-Yalcin, Ufuk Over-Hasdemir, “Binding site description of 2-substituted benzothiazoles as potential RND efflux pump inhibitors”, Macedonian pharmaceutical bulletin, 62 (suppl): 543-544, (2016).
2. Esin Aki-Yalcin, Ozum Ozturk, **Kayhan Bolelli**, Ismail Yalcin, “Docking studies of neurokinin-1 receptor antagonists as an anticancer target”, Macedonian pharmaceutical bulletin, 62 (suppl): 553-554, (2016).

Sözlü Bildiriler

1. Esin Akı Yalçın, Serap Yılmaz, **Kayhan Bolelli**, Özüm Öztürk, Tuğba Ertan-Bolelli, İsmail Yalçın, The Role of Chemometrics in Computer Aided Drug Design Studies, 3rd International Conference on New Trends in Chemometrics and Applications (NTCA-2016), Side, Antalya, Turkey, IL-02: p4, May 25-28, 2016.
2. Özüm Öztürk, Esin Akı-Yalçın, **Kayhan Bolelli**, İsmail Yalçın. Nörokinin-1 Reseptör Antagonistlerinin Moleküler Modelleme Çalışmaları, 2. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı Kursu (Uygulamalı), Biruni Üniversitesi, İstanbul, Türkiye, S-2: p11, 16-17 Mayıs 2016.
3. **Kayhan Bolelli**, Yaman Musdal, Esin Akı-Yalçın, İsmail Yalçın. Bazı Yeni Benzotiyazol Türevi Bileşiklerin GST Enzimi üzerine Etkileri ve Doking Çalışmaları, 2. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı Kursu (Uygulamalı), Biruni Üniversitesi, İstanbul, Türkiye, 16-17 Mayıs 2016.
4. Esin Aki-Yalcin, Ismail Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, Kayhan Bolelli, Serap Yilmaz, Ozum Ozturk. Molecular Modeling Application by using Discovery Studio, BIOVIA Turkish Regional User Meeting with A-Ztech Ltd., ByOtell Hotel, Istanbul, Turkey, 6 May 2016.
5. Ismail Yalcin, Serap Yilmaz, **Kayhan Bolelli**, Ozum Ozturk and Tugba Ertan Bolelli. Enzyme Binding Site Description of AcrAB-TolC Efflux Pump Inhibitors, 10th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS 2015), International Convention Center Jeju, Jeju, Korea, OP4-1: p253, 18-21 October 2015.
6. E. Aki-Yalcin, O. Ozturk, T. Ertan-Bolelli, **K. Bolelli**, S. Yilmaz, A. H. Nur, O. Bingol-Ozakpınar, and F. Ozdemir. Mechanism of Action of Some New

- Anticancer Active Neurokinin-1 (NK1) Receptor Antagonists, 10th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS 15), International Convention Center Jeju, Jeju, Korea, OP4-4: p256, 18-21 October 2015.
7. Ismail Yalcin, Serap Yilmaz, Gulsen Altinkanat-Gelmez, **Kayhan Bolelli**, Deniz Guneser-Merdan, M. Ufuk Over-Hasdemir, Esin Aki-Yalcin. Binding Site Description Of Benzothiazoles As the RND Efflux Pump Acrb Inhibitors, 3rd International BAU-Drug Design Symposium 2015, Bahçeşehir University, Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey, CL-14: p30, 1-3 October 2015.
 8. Esin Aki-Yalcin, Ozum Ozturk, **Kayhan Bolelli**, Tugba Ertan-Bolelli, Andry Nur Hidayat, Ozlem Bingol-Ozakpinar, Filiz Ozdemir, Ismail Yalcin. Mechanism of Action of Neurokinin-1 Receptors as an Anticancer Target, 3rd International BAU-Drug Design Symposium 2015, Bahçeşehir University, Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey, CL-22: p39-40, 1-3 October 2015.
 9. Ismail Yalcin, Serap Yilmaz, **Kayhan Bolelli**, Ozum Ozturk, Tugba Ertan-Bolelli, Esin Aki-Yalcin. Description of the Binding Site Features of AcrAB-TolC Efflux Pump Inhibitors, 8th International Symposium on Computational Methods in Toxicology and Pharmacology Integrating Internet Resources (CMTPI-2015), Chios, Greece, MT-11: p44, 21-25 June 2015.
 10. Esin Aki-Yalcin, Ozum Ozturk, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, A.H. Nur, S. Sahin, Ismail Yalcin, Ozlem Bingol-Ozakpinar, Filiz Ozdemir. Molecular Modeling Studies on Neurokinin 1 (NK1) Receptors, 8th International Symposium on Computational Methods in Toxicology and Pharmacology Integrating Internet Resources (CMTPI-2015), Chios, Greece, MT-12: p47, 21-25 June 2015.
 11. Esin Aki-Yalcin, Ismail Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, Serap Yilmaz, **Kayhan Bolelli**, Özüm Öztürk, Tugba Taskin-Tok, Emine Öksüzoglu, Cigdem Özen-Kaplan. Computer aided drug design studies for new anticancer drugs, EACR-Sponsored 3rd Anticancer Agent Development Congress, Dokuz Eylül University, Izmir, Turkey, Closing Lecture: p38, 18-19 May 2015.
 12. Ozum Ozturk, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, Ismail Yalcin, Esin Aki-Yalcin. Molecular Docking Analysis of Benzothiazole/Benzothiazolium Derivatives as Human DNA Topoisomerase II Inhibitors, BIOVIA Turkish Regional User Meeting with A-Ztech Ltd., ByOtell Hotel, Istanbul, Turkey, 10 April 2015.
 13. Ismail Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, Yaman Musdal, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, Yasemin Aksoy, Bengt Mannervik, Ilkay Yildiz, Esin Aki-Yalcin. Computer Aided Molecular Modeling of the Binding Site and GSH Conjugation Features of the New Human GST P1-1 Inhibitors, The 3rd International Conference on Computation for Science and Technology, Aston Denpasar Hotel and Convention Center, Bali, Indonesia, PL-03: p6, 23-25 September 2014.
 14. Esin Aki-Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, Ozum Ozturk, Tugba Taskin-Tok, Andry Nur Hidayat, Ilkay Yildiz, Ismail Yalcin. Anticancer Drug Design Studies using Molecular Modeling Techniques, The 3rd International Conference on Computation for Science and Technology, Aston Denpasar Hotel and Convention Center, Bali, Indonesia, IS-02: p10, 23-25 September 2014.
 15. Tugba Ertan-Bolelli, Ismail Yalcin, Yaman Musdal, Serap Yilmaz, **Kayhan Bolelli**, Ozum Ozturk, Yasemin Aksoy, Bengt Mannervik, Ilkay Yildiz, Esin Aki-Yalcin. Molecular Docking Studies on Human Glutathione S-transferase Enzyme (hGSTP1-1), The 3rd International Conference on Computation for Science and Technology, Aston Denpasar Hotel and Convention Center, Bali, Indonesia, O-P13: p28, 23-25 September 2014.

16. Serap Yilmaz, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Ozum Ozturk, Sanaz Ataei, Ilkay Yildiz, Esin Aki-Yalcin, Ismail Yalcin. Computational Drug Design Studies for Multidrug Resistance AcrAB-TolC Efflux Pump Inhibitors on Escherichia coli, The 3rd International Conference on Computation for Science and Technology, Aston Denpasar Hotel and Convention Center, Bali, Indonesia, O-P106: p62, 23-25 September 2014.
17. Esin Aki-Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, Tugba Taskin-Tok, Cigdem Ozen, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, Ozum Ozturk, Ilkay Yildiz, Ismail Yalcin. Identification of Mechanism of Action of DNA-Topoisomerase II Inhibitors by Molecular Modeling Studies, 20th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships (20th EuroQSAR), St-Petersburg, Russia, OC12: p52, 31 August - 4 September 2014.
18. Ismail Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, Yaman Musdal, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, Yasemin Aksoy, Bengt Mannervik, Ilkay Yildiz, Esin Aki-Yalcin. Description of the Binding Site Features of Some Fused Heterocycles as New Human GST P1-1 Inhibitors, 2nd International BAU-Drug Design Symposium 2014, Bahçeşehir University, Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey, CL-5: p9, 17-19 April 2014.
19. Esin Aki-Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, Tugba Taskin-Tok, Serap Yilmaz, **Kayhan Bolelli**, Ozum Ozturk, Ilkay Yildiz and Ismail Yalcin. Molecular Modeling Studies on DNA-Topoisomerase II Inhibitors, 2nd International BAU-Drug Design Symposium 2014, Bahçeşehir University, Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey, IL-8: p18, 17-19 April 2014.
20. Esin Aki-Yalcin, Ismail Yalcin, Ilkay Yildiz, Tuğba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, Özüm Öztürk. Chemometrics in Drug Design, 2nd International Conference on New Trends in Chemometrics and Applications (NTCA-2013), Ankara University, Faculty of Pharmacy, Ankara, Turkey, IL-05: p7, 25-28 October 2013.
21. Esin Aki-Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, Ozum Ozturk, Tugba Taskin-Tok, Ilkay Yildiz and Ismail Yalcin. Rational Design of DNA-Topoisomerase Inhibitory Active Benzazoles as Antitumoral Agents, 9th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS 13), The Grand Hotel, Taipei, Taiwan, O-37: p54, 15-18 October 2013.
22. Ismail Yalcin, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, Tugba Ertan-Bolelli, Ozum Ozturk, Sanaz Ataei, Ilkay Yildiz, Esin Aki-Yalcin. CADD Studies on Chemotherapeutical Active Fused Heterocyclic Compounds, 9th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS 13), The Grand Hotel, Taipei, Taiwan, S18-01: p55, 15-18 October 2013.
23. Esin Aki, Tugba Taskin, Serap Yilmaz, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Ozum Ozturk, Ilkay Yildiz, Ismail Yalcin, Yaman Musdal, Yasemin Aksoy. Molecular Modelling Studies on the Design of Chemotherapeutically Active Heterocyclic Compounds, 1st International BAU-Drug Design Symposium 2013, Bahçeşehir University, Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey, Lecture-1: p26, 21-23 March 2013.
24. Ismail Yalcin, Serap Yilmaz, **Kayhan Bolelli**, Tugba Ertan-Bolelli, Ilkay Yildiz, Esin Aki-Yalcin. Common Feature Pharmacophore Generation of Heterocyclic Compounds as Bacterial RND Efflux Pump Inhibitors, 1st International BAU-Drug Design Symposium 2013, Bahçeşehir University, Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey, Lecture-2: p27, 21-23 March 2013.
25. Ismail Yalcin, Esin Aki, Ilkay Yildiz, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, and Serap Yilmaz. Computational Methods in Rational Drug Design, 2nd International Conference on Computation for Science and Technology (ICCST-II), Nigde, Turkey, Plenary Lec-5: p43, 09-11 July 2012.

26. Esin Aki, İsmail Yalçın, İlkay Yildiz, Tuğba Taşkın, Tuğba Ertan-Bolelli, Serap Yılmaz, **Kayhan Bolelli**. Structure Based Drug Design Methods, 2nd International Conference on Computation for Science and Technology (ICCST-II), Nigde, Turkey, Invited Lec-7: p52, 09-11 July 2012.
27. Ismail Yalcin, Esin Aki, İlkay Yildiz, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, and Serap Yilmaz. QSAR and Molecular Modeling Studies on Chemotherapeutic Active Benzazoles, 8th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS 11), Keio Plaza Hotel, Tokio, Japan, IL-B1: p8, 29 November-2 December 2011.
28. Esin Aki, Ismail Yalcin, İlkay Yildiz, Betul Tekiner-Gulbas, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, Sanaz Ataei, Özüm Öztürk. Chemometrics in Drug Design, 1st International Conference on New Trends in Chemometrics and Applications (NTCA-2011), Side, Antalya, Turkey, IL-05: p7, October 08-11, 2011.
29. Ismail Yalcin, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, İlkay Yildiz, and Esin Aki-Yalcin. Common Feature Pharmacophore Generation of Heterocyclic Compounds against Efflux Pump Over-expressor Bacteria, 6th International Symposium on Computational Methods in Toxicology and Pharmacology Integrating Internet Resources (CMTPI-2011), Maribor, Slovenia, OC-21: p67, 03-07 September 2011.
30. Esin Aki, Tugba Taskin, Yaman Musdal, Yasemin Aksoy, Serap Yilmaz, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, İlkay Yildiz, İsmail Yalcin. Docking Studies of GST Inhibitory Active 2-Substituted Benzazoles, 6th International Symposium on Computational Methods in Toxicology and Pharmacology Integrating Internet Resources (CMTPI-2011), Maribor, Slovenia, MT-07: p43, 03-07 September 2011.
31. Esin Aki, İsmail Yalçın, İlkay Yıldız, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Tugba Taşkın, Serap Yılmaz. Kemoterapötik Etkili Heterosiklik Bileşiklerin Bilgisayar Destekli İlaç Tasarım Çalışmaları, Uluslararası Katılımlı 25. Ulusal Kimya Kongresi (UKK-25), Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye, IL-009: p43, 27 Haziran - 02 Temmuz 2011.
32. Tugba Taskin-Tok, Esin Aki, Ismail Yalcin, İlkay Yildiz, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz. Docking Studies of Topoisomerase II Inhibitors, Uluslararası Katılımlı 25. Ulusal Kimya Kongresi (UKK-25), Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye, MS-013: p180, 27 Haziran - 02 Temmuz 2011.
33. Esin Aki, İsmail Yalçın, İlkay Yildiz, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz. Computational Drug Design Studies on Antitumoral Active Heterocyclic Compounds, 18th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships (18th EuroQSAR), Rhodes, Greece, OP27: p84, 19-24 September 2010.
34. Esin Aki, İsmail Yalçın, İlkay Yildiz, Tuğba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Serap Yılmaz. Computer Aided Drug Design Studies on Chemotherapeutically Active Heterocyclic Compounds, Third International Meeting on Pharmacy & Pharmaceutical Sciences (IMPPS-3), Istanbul, Turkey, PL-2: p16, 9-12 June 2010.
35. Esin Aki, İsmail Yalcin, İlkay Yildiz, Özlem Temiz-Arpaci, **Kayhan Bolelli**, Tugba Ertan-Bolelli. DNA-Topoisomerase Inhibitory Activity of Some Heterocyclic Compounds and Their Structure-Activity Relationships, Current Trends in Drug Discovery Research (CTDDR-2010), Med Chem Res (2010), Lucknow, India, 19(Suppl.1): S6, 17-21 February 2010.
36. Ilkay Yildiz, Tugba Ertan, Ozlem Temiz-Arpaci, **Kayhan Bolelli**, Esin Aki-Sener, Ismail Yalcin. Three-Dimensional Common-Feature Hypotheses and 2D-QSAR Studies on Some Antimicrobiologically Active Amides against Drug-

Resistance Staphylococcus aureus, Fourth International Symposium on Computational Methods in Toxicology and Pharmacology Integrating Internet Resources (CMTPI-2007), Moscow, Russia, OC-15: p52, 1-5 September 2007.

Yazılı Bildiriler

1. Ismail Yalcin, Serap Yilmaz, **Kayhan Bolelli**, Esin Aki-Yalcin, Ufuk Over-Hasdemir. Binding site description of 2-substituted benzothiazoles as potential RND efflux pump inhibitors, 6th Congress of Pharmacy in Macedonia, Ohrid, Macedonia, S6 PP 259: p571-572, June 1-5, 2016.
2. Esin Aki-Yalcin, Ozum Ozturk, **Kayhan Bolelli**, Ismail Yalcin. Docking studies of neurokinin-1 receptor antagonists as an anticancer target, 6th Congress of Pharmacy in Macedonia, Ohrid, Macedonia, S6 PP 264: p553-554, June 1-5, 2016.
3. **Kayhan Bolelli**, Yaman Musdal, Esin Aki-Yalçın, İsmail Yalçın. Bazı Yeni Benzotiyazol Türevi Bileşiklerin GST Enzimi üzerine Etkileri ve Doking Çalışmaları, 3rd International Conference on New Trends in Chemometrics and Applications (NTCA-2016), Side, Antalya, Turkey, PP-74: p156, May 25-28, 2016.
4. Tugba Ertan-Bolelli, Yaman Musdal, Bengt Mannervik, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, Ozum Ozturk, Ilkay Yildiz, Esin Aki-Yalcin, Ismail Yalcin. Design and Synthesis of Novel sulfonamide-containing benzoxazoles as Human GST P1-1 Inhibitors, Challenges in Organic Chemistry (ISACS19), Irvine, Los Angeles, California, USA, P15, 20-23 March 2016.
5. **Kayhan Bolelli**, Tugba Ertan-Bolelli, Serap Yilmaz, Ozum Ozturk, Esin Aki-Yalcin, Ismail Yalcin. Pharmacophore Identification Analysis on hGST P1-1 Enzyme Inhibitory Active Benzothiazole Derivatives, Challenges in Organic Chemistry (ISACS19), Irvine, Los Angeles, California, USA, P33, 20-23 March 2016.
6. Ozum Ozturk, Esin Aki-Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, Ismail Yalcin. Molecular Modeling Studies of Neurokinin-1 Receptor Antagonists, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (Pacifichem-2015), Honolulu, Hawaii, USA, 10-HLTH-450: p294, 15-20 December 2015.
7. Serap Yilmaz, Ozum Ozturk, **Kayhan Bolelli**, Tugba Ertan Bolelli, Esin Aki Yalcin, Ismail Yalcin. Molecular Docking Studies of Some Novel Bacterial Topoisomerase II Inhibitors, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (Pacifichem-2015), Honolulu, Hawaii, USA, 10-HLTH-454: p295, 15-20 December 2015.
8. Serap Yilmaz, Ozum Ozturk, **Kayhan Bolelli**, Tugba Ertan Bolelli, Esin Aki Yalcin, Ismail Yalcin. Pharmacophore Generation of Some Novel Benzothiazole Derivatives as Bacterial Topoisomerase II Inhibitors, 10th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS 15), International Convention Center Jeju, Jeju, Korea, PP2-39: p293, 18-21 October 2015.
9. Gizem Kunal, Filiz Arioz-Ozdemir, Ozlem Bingol-Ozakpinar, **Kayhan Bolelli**, Esin Aki-Yalcin, Ismail Yalcin. A New Rapid RP-HPLC Method For Determination Of Novel 2-[4-(4-Ethyl Benzamido)Phenyl]-Benzothiazole, 3rd International BAU-Drug Design Symposium 2015, Bahçeşehir University, Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey, PP-74: p195-196, 1-3 October 2015.
10. **Kayhan Bolelli**, Hatice Ari, Mustafa Boyukata, Ismail Yalcin, Ozan Unsalan. Micro-Raman, Mid-IR and DFT Studies on 2-[4-(4-Ethylbenzamido)phenyl]benzothiazole, II. International Turkish Congress on

Molecular Spectroscopy (TURCMOS 2015), Akdeniz University, Antalya, Turkey, P-136: p215, 13-18 September 2015.

11. Ozum Ozturk, Esin Aki-Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, Ismail Yalcin. Common Pharmacophore Generation of Some Antitumor Agents, 8th International Symposium on Computational Methods in Toxicology and Pharmacology Integrating Internet Resources (CMTPI-2015), Chios, Greece, PO-1-02: p55, 21-25 June 2015.
12. **Kayhan Bolelli**, Tugba Ertan-Bolelli, Ozlem Bingol-Ozakpinar, Filiz Arioz-Ozdemir, Ismail Yalcin, Esin Aki-Yalcin. Cytotoxic Activity of Some Benzazole Derivatives, 8th International Symposium on Computational Methods in Toxicology and Pharmacology Integrating Internet Resources (CMTPI-2015), Chios, Greece, PO-1-07: p60, 21-25 June 2015.
13. Serap Yilmaz, Ozum Ozturk, **Kayhan Bolelli**, Tugba Ertan-Bolelli, Dilara Eren, Esin Aki-Yalcin, Ismail Yalcin. Comparison of Pharmacophore Models between Fluoroquinolones and Nonfluoroquinolone Bacterial Type II Topoisomerase Inhibitors, 8th International Symposium on Computational Methods in Toxicology and Pharmacology Integrating Internet Resources (CMTPI-2015), Chios, Greece, PO-2-14: p67, 21-25 June 2015.
14. **Kayhan Bolelli**, Tugba Ertan-Bolelli, Ozlem Bingol-Ozakpinar, Filiz Arioz-Ozdemir, Esin Aki-Yalcin, Ismail Yalcin. Anticancer activity of some heterocyclic compounds, EACR-Sponsored 3rd Anticancer Agent Development Congress, Dokuz Eylul University, Izmir, Turkey, PP-072: p129, 18-19 May 2015.
15. Ozum Ozturk, Esin Aki-Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, Ismail Yalcin. Pharmacophore generation of neurokinin-1 receptor antagonists as antitumor agents, EACR-Sponsored 3rd Anticancer Agent Development Congress, Dokuz Eylul University, Izmir, Turkey, PP-094: p151, 18-19 May 2015.
16. Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Yaman Musdal, Bengt Mannervik, Esin Aki-Yalcin, Ismail Yalcin. Molecular modeling studies on human glutathione-S-transferase enzyme, EACR-Sponsored 3rd Anticancer Agent Development Congress, Dokuz Eylul University, Izmir, Turkey, PP-119: p176, 18-19 May 2015.
17. Ilkay Yildiz, Tugba Ertan-Bolelli, Sanaz Ataei, Serap Yilmaz, Esin Karatas, **Kayhan Bolelli**, Ozum Ozturk, Ismail Yalcin. Molecular Docking and Pharmacophore Analysis on some Topoisomerase I Targetted Antitumor Benzoxazole and Analogues, 9th Drug Design & Medicinal Chemistry, Berlin, Germany, 5-6 May 2015.
18. Tubanur Ustaömer-Dere, **Kayhan Bolelli**, İlkey Yıldız. Yataklı Tedavi Hizmetlerinde Klinik Eczacının Yeri ve Önemi, Kamu Eczacıları Kongresi, Bilkent Otel, Ankara, Türkiye, 6-7 Mart 2015.
19. Fatma Zilifdar, Egemen Foto, Omur Bostanci, Sibel Sari, **Kayhan Bolelli**, Ismail Yalcin, Nuran Diril. Mutagenic Activity of 4 Newly Synthesized Heterocyclic Compounds, 1st International Congress & Workshop of Forensic Toxicology (1st ForeTox 2014), Ankara, Turkey, P14: p71, 29-30 November 2014.
20. Egemen Foto, Fatma Zilifdar, Sibel Sari, Omur Bostanci, **Kayhan Bolelli**, Ismail Yalcin, Nuran Diril. Mutagenic Activity of Some Benzothiazole Derivatives, 1st International Congress & Workshop of Forensic Toxicology (1st ForeTox 2014), Ankara, Turkey, P16: p73, 29-30 November 2014.
21. **Kayhan Bolelli**, Ismail Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, Serap Yilmaz, Ozum Ozturk, Ilkay Yildiz, Esin Aki-Yalcin. Pharmacophore Identification Analysis on hGST P1-1 Enzyme Inhibitory Active Benzazole Derivatives, The 3rd International Conference on Computation for Science and Technology, Aston

- Denpasar Hotel and Convention Center, Bali, Indonesia, P-P12: p76, 23-25 September 2014.
22. Ozum Ozturk, Esin Aki-Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, Ilkay Yildiz, Ismail Yalcin. Common Feature Pharmacophore Generation of Neurokinin-1 Receptor Antagonists, The 3rd International Conference on Computation for Science and Technology, Aston Denpasar Hotel and Convention Center, Bali, Indonesia, P-P110: p103, 23-25 September 2014.
 23. Serap Yilmaz, Tugba Ertan Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Ozum Ozturk, Sanaz Ataei, Ilkay Yildiz, Esin Aki Yalcin, Ismail Yalcin. Molecular Docking Studies of AcrB Trimeric Multidrug Efflux Pumps, 20th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships (20th EuroQSAR), St-Petersburg, Russia, P096: p170, 31 August - 4 September 2014.
 24. Ilkay Yildiz, Tugba Ertan-Bolelli, Serap Yilmaz, Sanaz Ataei, **Kayhan Bolelli**, Ozum Ozturk, Esin Karatas, Esin Aki-Yalcin, Ismail Yalcin. Molecular Modeling Studies on Some Benzazole Derivatives as Topoisomerase I Poison, 20th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships (20th EuroQSAR), St-Petersburg, Russia, P147: p221, 31 August - 4 September 2014.
 25. Ismail Yalcin, Tugba Ertan Bolelli, Yaman Musdal, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, Yasemin Aksoy, Bengt Mannervik, Ilkay Yildiz, Esin Aki Yalcin. Description of the Binding Site and GSH Conjugation Features of the New Human GST P1-1 Inhibitors, 20th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships (20th EuroQSAR), St-Petersburg, Russia, P150: p224, 31 August - 4 September 2014.
 26. J.B. Bhagyasree, Hema Tresa Varghese, C. Yohannan Panicker, Jadu Samuel, Christian Van Alsenoy, **Kayhan Bolelli**, Ilkay Yildiz, Esin Aki. Vibrational spectroscopic (FT-IR, FT-Raman, ¹H NMR and UV) investigations and computational study of 5-nitro-2-(4-nitrobenzyl) benzoxazole, 2nd International Conference on New Trends in Chemometrics and Applications (NTCA-2013), Ankara University, Faculty of Pharmacy, Ankara, Turkey, PP-26: p54, 25-28 October 2013.
 27. **Kayhan Bolelli**, Ismail Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, Serap Yilmaz, Ozum Ozturk, Yaman Musdal, Ilkay Yildiz and Esin Aki-Yalcin. Molecular Docking Studies of Glutathion S-Transferase Inhibitors, 9th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS 13), The Grand Hotel, Taipei, Taiwan, P1-03: p62, 15-18 October 2013.
 28. Serap Yilmaz, Ismail Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Ozum Ozturk, Sanaz Ataei, Ilkay Yildiz, and Esin Aki-Yalcin. Molecular Docking Studies on AcrB Trimeric Multidrug Efflux Pumps of Escherichia coli, 9th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS 13), The Grand Hotel, Taipei, Taiwan, P1-04: p63, 15-18 October 2013.
 29. Tugba Ertan-Bolelli, Ilkay Yildiz, Selda Ozgen, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, Sanaz Ataei, Ozum Ozturk, Esin Aki-Yalcin, and Ismail Yalcin. Molecular Docking Studies on Enoyl-ACP Reductase Enzyme, 9th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS 13), The Grand Hotel, Taipei, Taiwan, P1-05: p64, 15-18 October 2013.
 30. **Kayhan Bolelli**, Tugba Ertan-Bolelli, Yaman Musdal, Serap Yilmaz, Ozum Ozturk, Yasemin Aksoy, Ilkay Yildiz, Esin Aki, Ismail Yalcin. Docking Studies on Glutathione S-Transferase P1-1 Enzyme, Seventh International Symposium on Computational Methods in Toxicology and Pharmacology Integrating Internet Resources (CMTPI-2013), Seoul, South Korea, PO-C-03: p66, 8-12 October 2013.

31. Tugba Ertan-Bolelli, Ilkay Yildiz, **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, Sanaz Ataei, Ozum Ozturk, Selda Ozgen, Esin Aki, Ismail Yalcin. Molecular Docking Studies on Dihydropteroate Synthase Enzyme, Seventh International Symposium on Computational Methods in Toxicology and Pharmacology Integrating Internet Resources (CMTPI-2013), Seoul, South Korea, PO-C-09: p72, 8-12 October 2013.
32. Y. Sheena Mary, K. Raju, Tuğba Ertan Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Ilkay Yıldız, Helena I.S. Nogueira, Carlos M. Granadeiro, Christian Van Alsenoy. FT-IR, FT-Raman, surface enhanced Raman scattering and computational study of 2-[p-fluorobenzyl)-6-nitrobenzoxazole, I. International Turkish Congress on Molecular Spectroscopy (TURCMOS 2013), Harbiye Cultural Center & Museum, Istanbul, TURKEY, P106: p188-189, September 15-20, 2013.
33. Unsalan, O., Sert, Y., Ari, H., Simão, A., Yilmaz, A., Boyukata, M., Bolukbasi, O., **Bolelli, K.**, Yalcin, I. Micro-Raman, Mid-IR, Far-IR and DFT studies on 2-[4-(4-Fluorobenzamido)phenyl]benzothiazole, I. International Turkish Congress on Molecular Spectroscopy (TURCMOS 2013), Harbiye Cultural Center & Museum, Istanbul, TURKEY, P147: p230, September 15-20, 2013.
34. Sanaz ATAEL, Serap YILMAZ, Ilkay YILDIZ, Tugba ERTAN-BOLELLI, **Kayhan BOLELLI**, Ozum OZTURK, Esin AKI-YALCIN, Ismail YALCIN. Molecular nDocking Studies of Some Benzazole Derivatives as DNA Topoisomerase I Inhibitors, 49th International Conference on Medicinal Chemistry (RICT-49), The Conference Center Nice Acropolis, Nice, France, HT006: p182, 3-5 July 2013.
35. Ozum OZTURK, Esin AKI-YALCIN, Tugba ERTAN-BOLELLI, **Kayhan BOLELLI**, Serap YILMAZ, Sanaz ATAEL, Ilkay YILDIZ, Ismail YALCIN. Common Feature Pharmacophore Generation of DNA Topoisomerase II Enzyme Inhibitors, 49th International Conference on Medicinal Chemistry (RICT-49), The Conference Center Nice Acropolis, Nice, France, HT094: p268, 3-5 July 2013.
36. Serap YILMAZ, Ismail YALCIN, Tugba ERTAN-BOLELLI, **Kayhan BOLELLI**, Ozum OZTURK, Ilkay YILDIZ, Esin AKI-YALCIN. Molecular Modeling and Docking Studies of AcrB Trimeric Multidrug Efflux Pumps, 1st International BAU-Drug Design Symposium 2013, Bahçeşehir University, Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey, P11: p63, 21-23 March 2013.
37. Ozum OZTURK, Esin AKI-YALCIN, Tuğba ERTAN-BOLELLİ, **Kayhan BOLELLİ**, Serap YILMAZ, İlkey YILDIZ, İsmail YALCIN. Docking Studies of Human Topoisomerase II Enzyme Inhibitors, 1st International BAU-Drug Design Symposium 2013, Bahçeşehir University, Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey, P12: p64, 21-23 March 2013.
38. **Kayhan Bolelli**, Ismail Yalcin, Tugba Ertan-Bolelli, Serap Yilmaz, Ozum Ozturk, Ilkay Yildiz, Esin Aki-Yalcin. Docking Studies of Glutathion S-Transferase (GST) Inhibitors, 1st International BAU-Drug Design Symposium 2013, Bahçeşehir University, Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey, P13: p65, 21-23 March 2013.
39. Emine Öksüzoğlu, **Kayhan Bolelli**, Tuğba Ertan-Bolelli, Serap Yılmaz, Nuran Diril. A Study on Mutagenic Effects of Novel Benzoxazole Derivative Compounds by Ames/Salmonella Microsomal Test System, 8. Uluslararası Katılımlı Türk Toksikoloji Derneği Kongresi (8.TTDK), Beldibi-Kemer, Antalya, Turkey, P67: p66, 15-18 Kasım 2012.
40. **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, Ilkay Yildiz, Esin Aki, Ismail Yalcin. Common Feature Pharmacophore Generation of Bacterial AdeABC Efflux Pump Inhibitors, 19th European Symposium on Quantitative Structure-Activity

Relationships (19th EuroQSAR), Vienna, Austria, P078: p141, 26-30 August 2012.

41. Esin Aki, Tugba Taskin, Ismail Yalcin, Yaman Musdal, Yasemin Aksoy, Serap Yilmaz, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Ilkay Yildiz. Computational Drug Design Studies of Some New GST Inhibitory Active 2-Substituted Benzoxazoles and Benzothiazoles, 19th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships (19th EuroQSAR), Vienna, Austria, P093: p156, 26-30 August 2012.
42. **Kayhan Bolelli**, Tugba Ertan-Bolelli, Ozum Ozturk, Ilkay Yildiz Esin Aki, Ismail Yalcin. Docking Studies of Some Fused Heterocyclic Compounds into HIV-1 Reverse Transcriptase Enzyme, 19th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships (19th EuroQSAR), Vienna, Austria, P095: p158, 26-30 August 2012.
43. Yasemin Aksoy, Deniz Ceyhan, Yaman Musdal, Esin Aki, Tugba Ertan-Bolelli, Kayhan Bolelli, Ilkay Yildiz, Ismail Yalcin. 2-Substituted Benzazole Derivatives, Suicide Inhibitors For Glutathione S-Transferases and Docking Studies, 7th International Symposium on Health Informatics and Bioinformatics (HIBIT 2012), Perissia Hotel, Urgup, Cappadocia, Nevsehir, Turkey, 19-22 April 2012.
44. **Kayhan Bolelli**, Serap Yilmaz, İsmail Yalçın, İlkey Yıldız, Esin Aki. QSAR Analysis of Some 2-Substituted Benzothiazoles as Antibacterial Agents against Multidrug-Resistant Staphylococcus aureus, 1st International Conference on New Trends in Chemometrics and Applications (NTCA-2011), Side, Antalya, Turkey, PP-37: p64, 08-11 October 2011.
45. **Kayhan Bolelli**, Tugba Ertan-Bolelli, İsmail Yalcin, Esin Aki, İlkey Yıldız. Bazı Yeni 2-[4-(4-Süstitüebenzamido)fenil] benzotiyazol Türevlerinin 1H-NMR Spektroskopi Çalışmaları, Uluslararası Katılımlı XII. Ulusal Spektroskopi Kongresi (USK-12), Side, Antalya, Türkiye, P-210: p248, 18-22 Mayıs 2011.
46. İlkey Yıldız, Sanaz Ataei, Serap Yilmaz, Egemen Foto, Tugba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Nuran Diril, Esin Aki-Yalcin, İsmail Yalcin. Three-Dimensional Common-Feature Hypotheses on Benzoxazine Derivatives as Topoisomerase I Inhibitors, The 18th International Conference on Organic Synthesis (ICOS-18), Bergen, Norway, 377: p54, 1-6 August 2010.
47. **Kayhan Bolelli**, İsmail Yalçın. Bazı Yeni 2-[4-(4-Süstitüebenzamido/Fenilasetamido) fenil]benzotiyazol Türevlerinin Sentezi, Yapılarının Aydınlatılması ve Mikrobiyolojik Aktivite Çalışmaları, II. Ulusal Farmasötik Kimya Kongresi (UFKK-2), Mersin, Türkiye, P-11: p22, 13-15 Kasım 2009.
48. Tugba Ertan-Bolelli, İlkey Yildiz, **Kayhan Bolelli**, Betül Tekiner-Gulbas, Serap Yilmaz, Özlem Temiz-Arpaci, Esin Aki and Ismail Yalcin. Pharmacophore Analysis on Some Benzoxazoles against Drug-Resistant *Escherichia coli*, Fifth International Symposium on Computational Methods in Toxicology and Pharmacology Integrating Internet Resources (CMTPI-2009), Istanbul, Turkey, PO-41: p108, 4-8 July 2009.
49. Tugba Ertan-Bolelli, İlkey Yildiz, **Kayhan Bolelli**, Esin Aki, Ismail Yalcin. Pharmacophore Analysis on Some Benzoxazoles against Drug-Resistant Bacillus subtilis, 45th International Conference on Medicinal Chemistry (RICT-45), University of Orléans, Orléans, France, SL-11: p111, 1-3 July 2009.
50. **Kayhan Bolelli**, İsmail Yalcın, Tugba Ertan-Bolelli, İlkey Yıldız, Esin Aki and Fatma Kaynak-Onurdag. Synthesis, Structure Elucidation and Microbiological Activity of Some New 2-[4-(4-Substituted Phenylacetamido) phenyl] benzothiazole Derivatives, 45th International Conference on Medicinal

Chemistry (RICT-45), University of Orléans, Orléans, France, SL-12: p112, 1-3 July 2009.

51. **İlkay Yıldız**, Tugba Ertan, **Kayhan Bolelli**, Ozlem Temiz-Arpaci, Ismail Yalcin, Esin Akı-Sener. Molecular Modelling Studies on Some Benzazoles as Eukaryotic DNA Topoisomerase II Inhibitors, 4th Central European Conference Chemistry towards Biology (CTB4), Dobogókő, Hungary, P: p135, 8-11 September 2008.
52. **K. Bolelli**, I. Yalcin, T. Ertan, F. Kaynak-Onurdağ, I. Yıldız, Ö. Temiz-Arpaci, E. Akı-Sener, U. Abbasoğlu. Synthesis, Structure Elucidation and Microbiological Activity of Some New 2-[4-(4-Substitutedbenzamido)phenyl] benzothiazole Derivatives, International Meeting on Medicinal and Pharmaceutical Chemistry (IMMPC-3), WOW Kremlin Palace, Antalya, Turkey, P-61: p96, 16-21 October 2007.
53. **T. Ertan**, I. Yıldız, B. Tekiner-Gülbaş, **K. Bolelli**, O. Temiz-Arpaci, S. Özkan, U. Abbasoğlu. Synthesis and in vitro Antibacterial Activity against Pseudomonas aeruginosa of Some Novel 2-Phenyl Benzoxazoles, 8th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-8), Ankara, Turkey, P197: p315, 13-16 June 2006.
54. **T. Ertan**, I. Yıldız, **K. Bolelli**, O. Temiz-Arpaci, B. Tekiner-Gulbas, E. Akı-Sener, I. Yalcin, U. Abbasoglu. Synthesis and Antibacterial Activity of Some 4-Substituted-N-(2-Hydroxy-5(or 6)-nitrophenyl)benzamide Derivatives, International Symposium on Medicinal Chemistry Research and Development 2005 (MCRD 2005), Tusan Hotel, Kuşadası, Turkey, P81: p105, 28 September - 1 October 2005.

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Aldığı burslar

1. Challenges in Organic Chemistry (ISACS19), Irvine, Los Angeles, California, USA, 20-23 March 2016. (Royal Society of Chemistry Travel Bursary)
2. 3rd EACR-Sponsored Anticancer Agent Development Congress, Izmir, Turkey, 18-19 May 2015. (Young Researcher Scholarship – Genç Araştırmacı Bursu)
3. TÜBİTAK Eğitim Bursu 2211 - Yurt içi Lisansüstü Burs Programı – Doktora (2009-2014)
4. TÜBİTAK Eğitim Bursu 2211 - Yurt içi Lisansüstü Burs Programı – Yüksek Lisans (2005-2007)

Ödüller

1. Fatma Zilifdar, Egemen Foto, Ömür Bostanci, Sibel Sari, Kayhan Bolelli, Ismail Yalcin, Nuran Diril. Mutagenic Activity of 4 Newly Synthesized Heterocyclic Compounds, 1st International Congress & Workshop of Forensic Toxicology (1st ForeTox 2014), Ankara, Turkey, P14: p71, 29-30 November 2014. (ULUSLARARASI ADLİ TOKSIKOLOJİ KONGRE VE ÇALIŞTAYI - Poster 2.'lik ödülü)

Projeleri

1. İlkay Yıldız, Esin Akı, İsmail Yalçın, Arzu Atalay, Tuğba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Serap Yılmaz, Sanaz Ataei, Özüm Öztürk, Bazı Yeni Antitümör Etkili Heterosiklik Bileşiklerin Sentezi ve Moleküler Modellemesi, Ankara

Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (BAP), 12B3336002, Proje Bütçesi: 264.020,00 ₺, Proje Araştırmacı, 02.01.2012-2015.

2. İlkay Yıldız, Esin Aki, İsmail Yalçın, Tuğba Ertan-Bolelli, **Kayhan Bolelli**, Serap Yılmaz, Ayşe Yeşbek-Kaymaz, Bazı Yeni DNA Topoizomeraz Etkili İnhibitör Benzotiyazol Türevlerinin Sentezi, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (BAP), 11A3336001, Proje Bütçesi: 220.157,37 ₺, Proje Araştırmacı, 06.09.2011-2014.
3. Özlem Temiz-Arpacı, İlkay Yıldız, Betül Tekiner-Gülbaş, Sabiha Alper, Tuğba Ertan, **Kayhan Bolelli**, Mustafa Arısoy, Ufuk Abbasoğlu, Fatma Kaynak-Onurdağ, Yeni Bazı Benzoksazol ve Benzotiyazol Türevlerinin Sentez, Yapı Aydınlatması ve Antimikrobiyal Etkileri, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (BAP), 08B3336001, Proje Bütçesi: 38.866,36 ₺, Proje Araştırmacı, 01.01.2008-01.07.2010.

Verdiği konferans ya da seminerler

1. Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS), Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Bayer Salonu, Ankara, Türkiye, 30 Nisan 2010.
2. Enoil-ACP Redüktaz, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Bayer Salonu, Ankara, Türkiye, 30 Nisan 2010.
3. Bazı Yeni 2-[4-(4-Süstitübenzamido / fenilasetamido)fenil] benzotiyazol Türevlerinin Sentezi, Yapılarının Aydınlatılması ve Mikrobiyolojik Aktivite Çalışmaları, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Bayer Salonu, Ankara, Türkiye, 19 Temmuz 2007.
4. Anjiogenezis İnhibitörleri, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi 80. Yıl Salonu, Ankara, Türkiye, 17 Mayıs 2007.
5. Antibakteriyel İlaç Tasarımında Genomiks Kavramı, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi A-2 Salonu, Ankara, Türkiye, 13 Ocak 2005.

VIII- Diğer Bilgiler

Eğitim programı haricinde aldığı kurslar

- İspanyolca

Bildirisiz Kongre Katılımları

1. 4. Ulusal Farmasötik Kimya Kongresi (UFKK-4), 29 Nisan-1 Mayıs 2016, Oscar Resort Otel, Girne, Kıbrıs.
2. Türk Eczacıları Birliği 40. Olağan Büyük Kongresi, 03-06 Aralık 2015, The Green Park Hotel, Ankara, Türkiye.
3. 2. Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi (IVEK), 27-29 Kasım 2015, Haliç Kongre Merkezi, İstanbul, Türkiye.
4. 11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-11), 09-12 June 2015, Ankara, Turkey. (Kayıt Masası Üyesi, Sosyal Komite Üyesi)
5. International Multidisciplinary Symposium on Drug Research & Development (DRD-2013), 28-30 November 2013, Kervansaray Hotel, Lara, Antalya, Turkey.
6. İlaç Temel Araştırma Merkezi (İTAM) Projesi Toplantısı, “İlaç Araştırmaları ve Farmasötik Kimya”, 08 Kasım 2013, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, İstanbul, Türkiye.
7. VI. Uluslararası Bilgi Güvenliği ve Kriptoloji Konferansı (ISCTurkey 2013), 20-21 Eylül 2013, ODTÜ Kültür ve Kongre Merkezi, Ankara, Türkiye.

8. European Association of Faculties of Pharmacy 2013 Annual Conference (EAFP 2013), 16-18 May 2013, Ankara, Turkey. (Kayıt Masası Üyesi, Sosyal Komite Üyesi)
9. 3. Ulusal Farmasötik Kimya Kongresi (UFKK-3), 14-16 Eylül 2012, Malatya, Türkiye.
10. 10th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-10), 26-29 June 2012, Ankara, Turkey. (Kayıt Masası Üyesi, Sosyal Komite Üyesi)
11. Bioinformatics for Anti-cancer Drug Discovery (BACDD-2011), 17-18 October 2011, Bilkent University, Ankara, Turkey.
12. 9th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-9), 23-26 June 2009, Ankara, Turkey. (Organizing Committee)
13. 6th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS 07), 08-11 July 2007, Istanbul, Turkey.
14. I. Ulusal Farmasötik Kimya Kongresi (UFKK-1), 11-12 Kasım 2006, İstanbul, Türkiye.
15. The 15th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships & Molecular Modelling (EuroQSAR 2004), 05-10 September 2004, Istanbul, Turkey.
16. European COST Action B16 Symposium on Multidrug Resistance Reversal, 13-14 May 2005, Antalya/TURKEY.
17. The 15th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships & Molecular Modelling (QSAR 2004), 05-10 September 2004, İstanbul/TURKEY.

Katıldığı Çalıştaylar ve Eğitimler

1. Short Chemometrics Course, May 23-24, 2016, Side, Antalya, Turkey.
2. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı Kursu (Uygulamalı Schrödinger), 17 Mayıs 2016, Biruni Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, İstanbul, Türkiye.
3. Ankara Eczacı Odası Sektör-Eczacı Buluşması – 2, Güneş ve Sağlık, 5 Mayıs 2016, Green Park Hotel, Çukurambar, Ankara, Türkiye.
4. Ankara Eczacı Odası Sektör-Eczacı Buluşması – 1, Omega Yağ Asitleri ve Sağlık Üzerine Etkileri, 19 Şubat 2016, Green Park Hotel, Çukurambar, Ankara, Türkiye.
5. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi 55. Yıl Etkinlikleri Meslek içi Eğitim Programı, 15 Aralık 2015, Ankara, Türkiye.
6. İş Sağlığı ve Güvenliği Eğitim Programı, 13 Kasım 2015, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Ankara, Türkiye.
7. 11. Uluslararası Eczacılık Bilimleri Sempozyumu, Panel: “Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları: Fitoterapi ve Fitoterapide Kullanılan Ürünler”, 12 Haziran 2015, Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Ankara, Türkiye.
8. Araştırma Görevlileri için Araştırma Yöntemleri Eğitim Programı, 03-19 Haziran 2015, Ankara Üniversitesi, Ord. Prof. Dr. Şevket Aziz Kansu Binası, Fen Bilimleri Enstitüsü, Taşınmaz Geliştirme A.D., Ankara, Türkiye.
9. Kamu Eczacıları Çalıştayı, 13 Haziran 2015, Green Park Otel, Çukurambar, Ankara, Türkiye.
10. Elsevier Publishing Campus, Publishing Connect Author Workshop, May 12th, 2015, Ankara University, Ankara, Turkey.
11. SEM – Agilent Spektroskopideki Yenilikler Semineri, 05 Mayıs 2015, Crown Plaza, Ankara, Türkiye.
12. Tübitak 2237 Proje Eğitimi Etkinliklerini Destekleme Programı, Sağlık Bilimleri Alanında Proje Hazırlama ve Yürütme Eğitimi: Ankara 2015, 20-22 Mart 2015, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, Türkiye.

13. Advances in Small and Large Molecule Characterization in the Pharmaceutical Industry, Atomika Teknik, 6 Ocak 2015, Mövenpick Hotel, Ankara, Türkiye.
14. Araştırma Görevlileri için Eğiticilerin Eğitimi, 24 Kasım-25 Aralık 2014, ATAUM, Ankara, Türkiye.
15. Agilent Technologies Cary 630 Model FTIR Sistemi ve Software Eğitimi, 27 Ekim 2014, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Ankara, Türkiye.
16. II. Çevre Günleri – Sürdürülebilir Enerji Sempozyumu, 05 Haziran 2014, Ankara Üniversitesi Rektörlüğü, Ankara, Türkiye.
17. SEM – Agilent Spektroskopi Çözümleri Semineri, 08 Mayıs 2014, Swissotel, Ankara, Türkiye.
18. Interlab and Sigma-Aldrich Seminer Series: Sigma Life Science – Where Bio Begins, 18 March 2014, Hilton Hotel, Ankara, Turkey.
19. Chemometrics Course, NTCA-2013, 23-25 October 2013, Ankara University, Faculty of Pharmacy, Ankara, Turkey.
20. Siber Güvenlik Farkındalık Eğitimi, ISCTurkey 2013 Konferansı, 21 Eylül 2013, ODTÜ, Ankara, Türkiye.
21. İlaç Araştırmalarında Uygulamalı Moleküler Modelleme ve Simülasyon Teknikleri Kursu, MAGUM, 20-22 Şubat 2013, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye.
22. Computational Drug Discovery, Schrödinger Workshop, 26-27 April 2012, Yeditepe University, Istanbul, Turkey.
23. Ankara Biyoteknoloji Günleri, Mikrobiyal Biyoteknoloji, 17-18 Ekim 2011, Ankara Üniversitesi Rektörlüğü, Ankara, Türkiye.
24. Meslek İçi Eğitim Programı (MİEP), 15-16 Aralık 2010, Ankara, Türkiye.
25. 2nd Workshop on Computer Aided Drug Design & Development – Molecular Modeling (WCADD-2), 26-29 June 2008, Başkent University, Ankara, Turkey.
26. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı ve Geliştirilmesi – 1, Kantitatif Yapı-Etki İlişkileri (WCADD-1), 02-05 Şubat 2007, Koç Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.
27. Molecular Operating Environment (MOE) kullanıcı grubu seminerleri, 27-28 Nisan 2006, Ankara/Türkiye.

Organizasyonunda katkıda bulunduğu bilimsel toplantılar

1. 3rd International Conference on New Trends in Chemometrics and Applications (NTCA-2016), Orsem Hotel, Side, Antalya, Turkey, 25–28 May 2016. (**Local Organizing Committee**)
2. Ankara Eczacı Odası Sektör-Eczacı Buluşması – 2, Güneş ve Sağlık, Green Park Hotel, Çukurambar, Ankara, Türkiye, 5 Mayıs 2016. (**AEO Ar-Ge Komisyonu Organizasyon Komite Üyesi**)
3. Ankara Eczacı Odası Sektör-Eczacı Buluşması - 1, Omega Yağ Asitleri ve Sağlık Üzerine Etkileri, Greenpark Hotel, Ankara, Türkiye, 19 Şubat 2016. (**AEO Ar-Ge Komisyonu Organizasyon Komite Üyesi**)
4. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi 55. Yıl Etkinlikleri, Ankara, Türkiye, 14-18 Aralık 2015. (**Kayıt Masası Üyesi**)
5. 11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-11), 09-12 June 2015, Ankara, Turkey. (**Kayıt Masası Üyesi, Sosyal Komite Üyesi**)
6. 2st International Conference on New Trends in Chemometrics and Applications (NTCA-2013), Ankara University, Faculty of Pharmacy, Ankara, Turkey, 25-28 October 2013. (**Local Organizing Committee**)
7. European Association of Faculties of Pharmacy 2013 Annual Conference (EAFP 2013), 16-18 May 2013, Ankara, Turkey. (**Kayıt Masası Üyesi, Sosyal Komite Üyesi**)

8. 10th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-10), 26-29 June 2012, Ankara, Turkey. (**Kayıt Masası Üyesi, Sosyal Komite Üyesi**)
9. 1st International Conference on New Trends in Chemometrics and Applications (NTCA-2011), Side, Antalya, Turkey, 08-11 October 2011. (**Local Organizing Committee, Technical Committee**)
10. Uluslararası Katılımlı XII. Ulusal Spektroskopi Kongresi (USK-12), Side, Antalya, Türkiye, 18-22 Mayıs 2011. (**Kayıt Kurulu Üyesi**)
11. 9th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-9), 23-26 June 2009, Ankara, Turkey. (**Organizing Committee**)

Diğer Üyelikleri

1. II. Bölge Ankara Eczacı Odası Araştırma ve Geliştirme Komisyon Üyeliği (2015 – Halen)
2. II. Bölge Ankara Eczacı Odası Kamu Eczacıları Komisyon Üyeliği, (2015 – Halen)
3. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi İhale Komisyon Üyeliği, 2015/81852, Ankara, Türkiye, [Mali Uzman (Yedek)] (07.08.2015 - 07.10.2015)
4. National Geographic Society (01.12.2012 - Halen)
5. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi İhale Komisyon Üyeliği, 2011/113006, Ankara, Türkiye, [Mali Uzman (Yedek)] (25.08.2011 - 25.10.2011)
6. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Mezunlar Derneği (2004 – Halen)
7. Türk Eczacılar Birliği (TEB) (2004 – Halen)
8. II. Bölge Ankara Eczacı Odası (AEO) (2004 – Halen)