



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**RETİNOİD YAPISINDAKİ BAZI
YENİ HETEROSİKLİK BİLEŞİKLERİN
SENTEZLERİ, YAPI AYDINLATILMASI,
BİYOLOJİK ETKİ ÇALIŞMALARI VE
MOLEKÜLER DOKİNG ÇALIŞMALARI**

Dilan KONYAR

**FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Erdem BÜYÜKBİNGÖL**

**ANKARA
2017**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RETİNOİD YAPISINDAKİ BAZI YENİ
HETEROSİKLİK BİLEŞİKLERİN SENTEZLERİ, YAPI
AYDINLATILMASI, BİYOLOJİK ETKİ ÇALIŞMALARI
VE MOLEKÜLER DOKİNG ÇALIŞMALARI**

Dilan KONYAR

**FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Erdem BÜYÜKBİNGÖL

**Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün
13B3336001 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**ANKARA
2017**

Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Retinoid Yapısındaki Bazı Yeni Heterosiklik Bileşiklerin Sentezleri, Yapı Aydınlatılması, Biyolojik Etki Çalışmaları ve Moleküler Doking Çalışmaları” 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: Dilan KONYAR

Tarih: 22/12/2017

İmza:

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmasötik Kimya Anabilim Dalında
“Retinoid Yapısındaki Bazı Yeni Heterosiklik Bileşiklerin Sentezleri, Yapı Aydınlatılması,
Biyolojik Etki Çalışmaları ve Moleküler Doking Çalışmaları” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri
tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

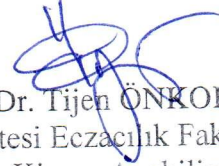
Tez Savunma Tarihi: 22/12/2017



Prof. Dr. Erdem BÜYÜKBİNGÖL
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Jüri Başkanı




Doç. Dr. Meltem CEYLAN ÜNLÜSOY
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Raportör



Prof. Dr. Tijen ÖNKOL
Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Üye



Prof. Dr. İlkay YILDIZ
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Üye



Prof. Dr. Birsen TOZKOPARAN KÖPRÜCÜ
Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Üye

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

Prof. Dr. Mehmet AKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	x
Çizelgeler	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Retinoidlerin Kimyasal Yapısı	5
1.2. Karotenoid ve Retinoid Metabolizması	7
1.3. Retinoid Reseptörleri ve Retinoidal Bileşiklerin Bu Reseptörlerle Etkileşimi	10
1.4. Retinoid Reseptörlerinin Çalışma Mekanizması	11
1.4.1. RAR Reseptörü	12
1.4.2. RXR Reseptörü	13
1.5. RAR ve RXR Ligandları'nın Kimyasal Özellikleri	13
1.6. RAR Agonist ve Antagonistlerin Yapı-Aktivite İlişkileri	14
1.6.1. Pan-RAR Agonistler	16
1.6.2. RAR Agonist ve Antagonistleri	17
1.7. RXR Agonist ve Antagonistlerin Yapı-Aktivite İlişkileri	24
1.7.1. RXR-Seçici Agonistler	26
1.8. Retinoidal Bileşiklerin Terapötik Kullanımları	29
1.8.1. Retinoidal Bileşiklerin Dermatolojik Etkileri	29
1.8.2. Retinoidal Bileşiklerin Antikanserojen Etkileri	31
1.8.3. Retinoidal Bileşiklerin Antinörodejeneratif Etkileri	33
1.8.4. Retinoidal Bileşiklerin Metabolik Bozukluklardaki Etkileri	34
1.8.5. Retinoidal Bileşiklerin Oftalmik Bozukluklar Üzerindeki Etkileri	36
1.8.6. Retinoidal Bileşiklerin Antienflamatuar Etkileri	37
1.8.7. Retinoidal Bileşiklerin Kas Hasarları Üzerine Etkileri	38
2. GEREÇ ve YÖNTEM	42
2.1. Sentez Edilen Maddelerin Analitik İncelemelerinde Uygulanan Yöntemler	42
2.1.1. Kromatografik Analizler	42
2.1.2. Erime Noktası Tayinleri	42
2.1.3. Elementel Analiz	43
2.1.4. Spektral Analizler	43
2.2. Sentez İşlemlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler	43
2.3. Tasarlanan Türevlerin Sentezi	44
2.4. Sentezlenen Bileşiklerin Biyolojik Aktivite Çalışmaları	45
2.4.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler	46
2.4.2. Sülförodamin B (SRB) Yöntemi	46
2.4.3. Kullanılan Hücre Hatları ve Genel Kültür Çalışmaları	48
2.4.4. Sülförodamin B (SRB) Yöntemi	49

2.4.5. Sonuçların Değerlendirilmesi	51
2.4.6. İstatistiksel Analiz	51
2.5. Sentezlenen Türevlerin Moleküler Doking Çalışma Metodu	52
3. BULGULAR	53
3.1. Başlangıç Maddelerinin Sentezi	53
3.1.1. 2,5-Dikloro-2,5-dimetilhekzan (1)	53
3.1.2. 1,1,4,4,6-Pentametil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen (2)	53
3.1.3. Metil 4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)karbonil] benzoat (3)	54
3.1.4. Metil 4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)vinil]benzoat (4)	55
3.1.5. Metil 4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)vinil] benzoik asit (5)	56
3.1.6. <i>N</i> -(1 <i>H</i> -indol-5-il)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (6)	58
3.1.7. <i>N</i> -(1 <i>H</i> -benzo[d]imidazol-2-il)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (7)	60
3.1.8. <i>N</i> -(2-(5-metoksi-1 <i>H</i> -indol-3-il)etil)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (8)	62
3.1.9. <i>N</i> -(Adamantan-1-il)metil)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (9)	64
3.1.10. <i>N</i> -(4-fluorobenzil)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (10)	66
3.1.11. <i>N</i> -(2,2,6,6-tetrametilpiperidin-4-il)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (11)	68
3.1.12. <i>N</i> -(2-(piperazin-1-il)etil)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (12)	70
3.1.13. <i>N</i> -(tiyazol-2-il)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (13)	72
3.1.14. <i>N</i> -(2-(dimetilamino)etil)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (14)	74
3.1.15. <i>N</i> -(2,2,6,6-tetrametil-piperidin-1-oksil-4-il)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (15)	76
3.1.16. <i>N</i> -((1-etilkarboksilat)piperidin-4-il)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (16)	78
3.1.17. <i>N</i> -(2-(pirolidin-1-il)etil)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (17)	80
3.2. Test Bileşiklerinin <i>In Vitro</i> Sitotoksik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi	82
3.3. Sentezlenen Türevlerin Doking Sonuçları	97
4. TARTIŞMA	101
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	109
ÖZET	112
SUMMARY	113
KAYNAKLAR	114
ÖZGEÇMİŞ	128

ÖNSÖZ

Bu doktora tez çalışmasında, bir retinoid türevi olan beksaroten ve fenretinid bileşiklerinden hareketle yeni reksinoid türevi bileşiklerin tasarlanması, sentezlenmesi, yapılarının aydınlatılması ve çeşitli kanser hücre kültürlerindeki sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi çalışmaları amaçlanmıştır.

Tez çalışmamın planlanması ve uygulanması sırasında desteğini esirgemeyen, sayın danışmanım Prof. Dr. Erdem BÜYÜKBİNGÖL'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım sırasında her konuda destek ve yardımlarını esirgemeyen sentezlediğim bileşiklerin ¹H-NMR ve MASS spektral analizlerinin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Hakan GÖKER'e ve elementel analizlerimi yapan Doç. Dr. Ecz. Mehmet ALP'e teşekkürlerimi sunarım. Her zaman ilgi ve desteklerini gördüğüm Farmasötik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyesi hocalarıma, çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen araştırma görevlisi, yüksek lisans ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimleriyle bana destek olan Doç. Dr. Selen GÜRKAN ALP'e, çalışmalarım sırasında destek ve yardımlarını gördüğüm Dr. Ecz. Zuhâl KILIÇ KURT'a ve Dr. Ecz. Tuğba ERTAN BOLELLİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Aktivite tayin çalışmalarımı yapan Hacettepe Üniversitesi Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı araştırma görevlisi Dr. Egemen Foto ve Dr. Fatma Zilifdar'a teşekkürlerimi sunarım.

Büyük fedakarlıklar göstererek bugünlere gelmemi sağlayan, sevgi ve desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen, varlıklarıyla bana güç veren canım anneme, babama ve biricik kardeşime, gönülden çok teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

(13cRA)	13-cis-retinoik asit
(9cRA)	9-cis-retinoik asit
A β	Amiloid β
ADAM10	Disintegrin ve metalloproteinaz etki alanı protein 10
ADT	Auto dock tools
AF	Aktivasyon fonksiyonu
APL	Akut promiyelositik lösemi
APP	Amiloid öncü protein
ATRA	All-trans-retinoik asit
CYP	Sitokrom P450 enzimi
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Media
EPA	Eikosapentanoik asit
FBS	Fetal Bovine Serum
HDAC	Histon deasetilaz
HRABP-II	Hücrel retinoik asit bağlayıcı protein-II
HRBP	Hücrel retinol-bağlayıcı proteinler

ICAM- 1	İnterselüler adezyon molekülü-I
IDE	İnsülin parçalanma enzimi
KTHL	Kutanöz T hücre lenfoması
LBD	Ligand bağlanma alanı
LRAT	Lesitin-retinol asetiltransferaz
NEP	Nükleer ihracat proteini
NKT	Doğal öldürücü T-hücreleri
N,N'-CDI	N,N'-Karbonildiimidazol
PML	Promiyelositik lösemi
RA	Retinoik asit
RAL	Retinal
RALDH	Retinal dehidrojenaz
RAR	Retinoik asit reseptörleri
RBP	Retinol bağlayıcı protein
RDH	Retinol dehidrojenaz
RE	Retinil ester
ROL	Retinol

RXR	Retinoid X reseptörleri
STRA6	Retinoik asit 6 tarafından uyarılan reseptör
TNF α	Tümör nekrozis faktör-alfa
TTAB	4-(5,5,8,8-Tetrametil-5,6,7,8-tetrahidroantrasen-2-il benzoik asit
TTNN	6-(5,5,8,8-Tetrametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il naftalen karboksilik asit
TTNPB	4-[(E)-2-(5,6,7,8-Tetrahidro-5,5,8,8-tetrametil-2-naftalenil)-1-propenil]benzoik asit
TTR	Transtiretin
VCAM-1	Vasküler hücre adezyon molekülü-I

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. β -Karoten	1
Şekil 1.2. All-trans-retinol (A Vitamini)	2
Şekil 1.3. Doğal retinoidlerin kimyasal yapısı.	2
Şekil 1.4. Beksaroten	4
Şekil 1.5. Temel retinoid yapısı.	6
Şekil 1.6. Karotenoid ve retinoid metabolizması.	8
Şekil 1.7. Hücresel RAR ve RXR bağlayıcı proteinlerinin etki mekanizması (Gesto ve ark., 2012).	9
Şekil 1.8. Retinoik asitin hücre çekirdeğinde ilgili reseptörlerle etkileşimi (Buskohl ve ark., 2012).	11
Şekil 1.9. Retinoid reseptör proteininin çeşitli fonksiyonel bölgeleri.	12
Şekil 1.10. Sentetik RAR retinoidlerinin iskelet yapısının genel sınıflandırılması ve yapısal çeşitliliği.	15
Şekil.1.11. Pan-RAR agonistleri.	17
Şekil 1.12. RAR α seçici agonistleri.	19
Şekil 1.13. RAR β seçici agonistleri.	20
Şekil 1.14. RAR α/β seçici agonistleri.	21
Şekil 1.15. RAR γ seçici agonistleri.	22
Şekil 1.16. RAR β/γ seçici agonistleri.	23
Şekil 1.17. Sentetik RXR retinoidlerinin iskelet yapısının genel sınıflandırılması ve yapısal çeşitliliği.	25
Şekil 1.18. RXR seçici agonistleri.	27
Şekil 1.19. Disilabeksaroten	27
Şekil 1.20. Z-Oksim ve O-Me türevi.	28
Şekil 1.21. LGD 100268	28
Şekil 1.22. 13-cis-RA	29
Şekil 1.23. Tazaroten	30
Şekil 1.24. Asitretin	30

Şekil 1.25. Bekсарoten	31
Şekil 1.26. ATRA	31
Şekil 1.27. TTNN hibrid molekülü	33
Şekil 1.28. Am80	34
Şekil 1.29. AC 261066	34
Şekil 1.30. AC 55649	34
Şekil 1.31. LE 135	35
Şekil 1.32. AGN 190168	35
Şekil 1.33. Adapalen	35
Şekil 1.34. CD 666	35
Şekil 1.35. 9- <i>cis</i> -retinoik asit	35
Şekil 1.36. R677	36
Şekil 1.37. CD437	36
Şekil 1.38. BMS961	37
Şekil 1.39. Etreinat	38
Şekil 1.40. CD 271	38
Şekil 1.41. CD1530	38
Şekil 1.42. BMS270394	38
Şekil 1.43. Fenretinid bileşiği'nin kimyasal formülü.	39
Şekil 1.44. Bekсарoten ve fenretinid hibrid bileşiği.	40
Şekil 2.1. Yeni retinoidal amid türevi bileşiklerin sentezi.	45
Şekil 3.1. Bileşik 3'ün kütle spektrumu.	55
Şekil 3.2. Bileşik 4'ün kütle spektrumu.	56
Şekil 3.3. Bileşik 5'in kütle spektrumu.	57
Şekil 3.5. Bileşik 6'nın kütle spektrumu.	59
Şekil 3.6. Bileşik 7'nin ¹ H-NMR spektrumu.	61
Şekil 3.7. Bileşik 7'nin kütle spektrumu.	61
Şekil 3.8. Bileşik 8'in ¹ H-NMR spektrumu.	63
Şekil 3.9. Bileşik 8'in kütle spektrumu.	63
Şekil 3.9. Bileşik 9'un ¹ H-NMR spektrumu.	65
Şekil 3.10. Bileşik 9'un kütle spektrumu.	65
Şekil 3.11. Bileşik 10'nun ¹ H-NMR spektrumu.	67

Şekil 3.12. Bileşik 10'nun kütle spektrumu.	67
Şekil 3.13. Bileşik 11'in ¹ H-NMR spektrumu.	69
Şekil 3.14. Bileşik 11'in kütle spektrumu.	69
Şekil 3.15. Bileşik 12'nin ¹ H-NMR spektrumu.	71
Şekil 3.16. Bileşik 12'nin kütle spektrumu.	71
Şekil 3.17. Bileşik 13'ün ¹ H-NMR spektrumu.	73
Şekil 3.18. Bileşik 13'ün kütle spektrumu.	73
Şekil 3.19. Bileşik 14'ün ¹ H-NMR spektrumu.	75
Şekil 3.20. Bileşik 14'ün ¹ H-NMR spektrumu.	75
Şekil 3.21. Bileşik 15'in ¹ H-NMR spektrumu.	77
Şekil 3.22. Bileşik 15'in kütle spektrumu.	77
Şekil 3.23. Bileşik 16'nın ¹ H-NMR spektrumu.	79
Şekil 3.24. Bileşik 16'nın kütle spektrumu.	79
Şekil 3.25. Bileşik 17'nin ¹ H-NMR spektrumu.	81
Şekil 3.26. Bileşik 17'nin kütle spektrumu.	81
Şekil 3.27. Test bileşiklerinin SRB testinde tarama çalışmaları sonucunda elde edilen % canlılık değerlerini gösteren grafik.	84
Şekil 3.28. Sübstitüe-(1-(3, 5, 5, 8, 8-pentametil-5, 6, 7, 8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil) benzamid türevlerinden IC ₅₀ (µM) değerleri 25 µM ve altında olan bileşiklerin enzim aktif yöresi ile etkileşimleri.	97
Şekil 3.29. Sübstitüe-4-(1-(3, 5, 5, 8, 8-pentametil-5, 6, 7, 8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil) benzamid türevi bileşiklerin en düşük enerjili konformasyonları ve kristal BMS649'un (pembe) RXRα aktif yöresinde üstüste çakıştırılmasıyla elde edilen görüntü.	100
Şekil 4.1. (A) RXRα (kristal) agonist ligand (BMS 649) ve Beksaroten bileşiklerinin enzim aktif yöresi ile etkileşimleri. (B) Kristal BMS 649 'un RXRα'ya bağlanma şeklinin şematik görüntüsü. Protein data bank'tan alınmıştır.	108

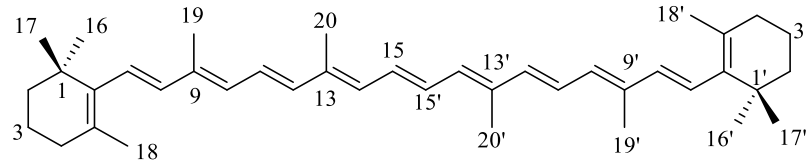
ÇİZELGELER

- Çizelge 1.1.** Temel retinoid iskelet yapısından sentetik olarak türetilen birinci, ikinci ve üçüncü kuşak retinoidlerin kimyasal yapıları. 6
- Çizelge 1.2.** Tasarlanan 3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen yapısındaki bileşiklerin kimyasal yapısı. 40
- Çizelge 3.1.** Test bileşiklerinin SRB testine ait tarama sonuçları (% canlılık). 83
- Çizelge 3.2.** 6 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen A549, HeLa, MCF-7 ve WiDr hücre hatlarında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevap eğrileri. 85
- Çizelge 3.3.** 7 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen HeLa hücre hattında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevap eğrisi. 86
- Çizelge 3.4.** 8 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen A549, HeLa, MCF-7 ve WiDr hücre hatlarında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevap eğrileri. 87
- Çizelge 3.5.** 10 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen HeLa hücre hattında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevap eğrisi. 88
- Çizelge 3.6.** 11 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen A549, HeLa, MCF-7 ve WiDr hücre hatlarında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevap eğrileri. 89
- Çizelge 3.7.** 12 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen A549, HeLa, MCF-7 ve WiDr hücre hatlarında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevap eğrileri. 90
- Çizelge 3.8.** 13 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen A549, HeLa, MCF-7 ve WiDr hücre hatlarında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevap eğrileri. 91
- Çizelge 3.9.** 14 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen A549, HeLa, MCF-7 ve WiDr hücre hatlarında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevap eğrileri. 92
- Çizelge 3.10.** 15 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen HeLa hücre hattında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevap eğrileri.93

- Çizelge 3.11.** 16 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen HeLa hücre hattında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevap eğrileri.93
- Çizelge 3.12.** 17 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen A549, HeLa, MCF-7 ve WiDr hücre hatlarında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevap eğrileri. 94
- Çizelge 3.13.** 12 adet retinoid türevi bileşiğin SRB testi sonucu elde edilen IC_{50} (μM) değerleri. 95
- Çizelge 3.14.** Sübstitüe-(1-(3, 5, 5, 8, 8-pentametil-5, 6, 7, 8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil) benzamid türevlerinden IC_{50} (μM) değerleri 25 μM ve altında olan bileşiklerin doking sonuçlarından elde edilen serbest bağlanma enerjileri, hidrojen bağı açısı ve uzaklıkları ve RMSD değerleri. 99

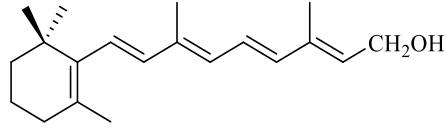
1. GİRİŞ

Karoten 1831 yılında izole edilmiştir. Diğer karotenoid pigmentler ise 19. yüzyılda tanımlanmış olmasına rağmen ancak 1928 yılında karotenin yüksek vitamin A aktivitesi keşfedilmiştir. β -Karotenin (Şekil 1.1) yapısal işlevi, A vitamininin metabolizması ve karaciğerde depolandığı, 1930 yılında Pawson tarafından gösterilmiştir (Pawson, 1981). Ayrıca, 1930 yılında Moore, sıçanın ince bağırsağında β -karotenin A vitaminine dönüştüğünü açıklamıştır. Böylece bitkilerde üretilen karotenoidin retinoidlerin öncül bileşiği olduğu kanıtlanmıştır (Moore, 1930). Karotenoidler, tüm fotosentetik bitkiler, protistler ve bakteriler tarafından biyosentezlenirken, A vitamini (retinol) herhangi bir hayvan türü tarafından sentez edilemez. Bitkilerden provitamin A karotenoidleri (β -karoten gibi) olarak veya doğrudan diğer hayvanlardan diyet yoluyla alınırlar. Alınan A vitamini ihtiyaç duyulana kadar karaciğerde retinil ester olarak depolanır ve bu süre boyunca retinol bağlayıcı proteinine (RBP) bağlı kalır (Quadro ve ark., 2003). İnsanlar için, β -karoten ve bazı başka provitamin A karotenoidler, A vitamini bakımından başlıca beslenme kaynağıdır (Baurenfiend ve ark., 1981).



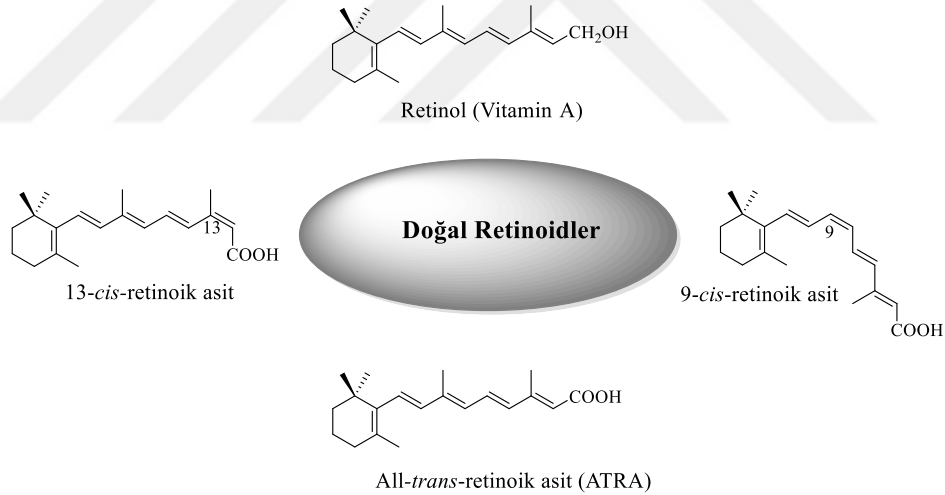
Şekil 1.1. β -Karoten

Retinoidler, vitamin A (Şekil 1.2), vitamin A türevleri ve bunlarla yakından ilişkili arotinoid adı verilen bileşiklerden oluşan farmakolojik bileşiklerin bir sınıfını oluştururlar (Boyd, 1989). Vitamin A, görme, çoğalma, embriyonik büyüme ve gelişme, immün yetkinlik, hücre çoğalması, apoptoz, epitel dokunun bakımı ve beyin fonksiyonları gibi birçok fizyolojik süreçte kilit rol oynamaktadır (Leone ve ark., 2015).



Şekil 1.2. All-trans-retinol (A Vitamini)

Hücrelerin çoğalması ve farklılaşmasında rol oynaması, retinoidlerin akne, psoriasis ve çeşitli kanser türleri gibi hastalıklarda hem koruyucu, hem de tedavi edici olarak kullanılmasına neden olmuştur (Boehm ve ark., 1994; Shealy, 1989). Provitamin A olarak adlandırılan β -karoten, retinol (A vitamini) öncülüdür. Retinol de biyotransformasyona uğrayarak retinal, all-*trans*-retinoik asit (ATRA) ve 9-*cis*-retinoik asit (9cRA), 13-*cis*-retinoik asit (13cRA) e dönüşmektedir (Şekil 1.3) (Siddikuzzaman ve ark., 2011), Ancak bu bileşiklerin, cilt tahrişi, lipid ve kemik toksisitesi, kuru göz, gece körlüğü ve teratojenite gibi istenmeyen yan etkilerinin görülme olasılığı oldukça yüksektir.



Şekil 1.3. Doğal retinoidlerin kimyasal yapısı.

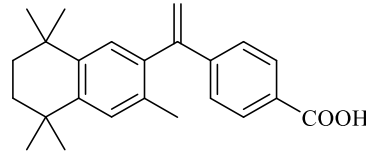
Retinoidler biyolojik aktivite spektrumunda “gen regülasyonunu” gerçekleştirme görevini üstlenirler (Balmer ve Blomhoff, 2002). Retinoik asit, RAR reseptörlerine bağlanarak, hedef genlerin transkripsiyonunu indüklerler. Meme kanseri hücreleri üzerinde yapılan bir çalışmada, HRABP-II’nin retinoik asite HRABP-I’den daha duyarlı olduğu bulunmuştur (Budhu ve Noy, 2002). Sitozolik HRABP-II proteini,

retinoik asiti bağlayarak hücre çekirdeğine girer ve ligandın RAR ile etkileşmesini sağlar. RAR reseptörleri, çok düşük retinoik asit konsantrasyonlarında bile çok çabuk aktive olabilmektedir (Budhu ve Noy, 2002).

Retinoidler, genel olarak retinoik asit reseptör (RAR) ve retinoid X reseptörleri (RXR) aracılığı ile biyolojik etkilerini gerçekleştirirler. Retinoid bileşik, retinoid reseptörü ile birleştiğinde “aktif gen” oluşabilmektedir (Balmer ve Blomhoff, 2002). Örneğin, retinoid ile bağlanmamış RAR, gen transkripsiyonuna izin vermemektedir. Ancak, retinoid bağlandıktan sonra gen aktivasyonu gerçekleşmektedir. Dolayısıyla, retinoidler gen ekspresyonunda son derece önemli moleküllerdir ve çoğu zaman gen regülasyonunda RAR ve RXR birlikte hareket etmektedir (Balmer ve Blomhoff, 2002). Bilindiği gibi, kanser hücrelerin anormal bir şekilde ve denetimsiz olarak çoğalmasıdır. Retinoidlerin kanser hücrelerini apoptoza (programlı hücre ölümü) yönlendirme özellikleri bulunmaktadır ve kanser hücrelerini değişime uğratarak zorunlu ölümlerini sağlamada etkin rol oynamaktadırlar (Altucci ve ark., 2001). Diğer taraftan, retinoidler kanser baskılayıcı genlerin ekspresyonunda önemli rol oynamaktadırlar (Streb ve ark., 2011). Retinoidlerin antioksidan aktivitesi de bulunmaktadır (Örneğin, A vitamini, retinol); bunun sonucu olarak da kanser oluşmasında önemli rol mekanizmalardan biri olan serbest radikallerin yok edilmesinde de retinoidler rol oynamaktadırlar (Ates-Alagoz ve ark., 2006).

RXR'lerinin arteriyal mononükleer lökosit iyileşmesindeki etkisi üzerinde yapılan bir çalışmada, RXR agonisti olan Beksaroten'in (Şekil 1.4) arteriyal mononükleer lökositler üzerindeki etkisi araştırılmış ve RXR α ekspresyonunu azalttığı anlaşılmıştır (Sanz ve ark., 2012). Beksaroten ve 9-cRA gibi RXR agonistlerinin aynı zamanda tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) tarafından indüklenen vasküler hücre adezyon molekülü 1 (VCAM-1) ve hücre içi adezyon molekülü 1 (ICAM-1) ekspresyonunu da azalttığı bulunmuştur. *In vivo* olarak yapılan çalışmada doza bağımlı olarak Beksaroten'in TNF- α ile indüklenen lökosit adezyonunu inhibe ettiği belirlenmiştir ki, RXR agonistlerinin özellikle enflamatuvar yanıt başlangıcını inhibe ederek enflamasyon prosesini kontrol altına almada önemli rol oynadıklarını

göstermiştir (Sanz ve ark., 2012). Beksaroten, bir diğer çalışmada omega-3 yağ asitleriyle birlikte kullanıldığında meme kanser gelişimini oldukça azaltmaktadır (Trappmann ve Hawk, 2011). Bilindiği gibi RXR agonistlerinin meme kanseri gelişimini inhibe edici özellikleri bulunmaktadır. Beksaroten, tek başına ve yüksek dozda kullanıldığında meme kanseri olan bazı hastaların bu uygulamayı tolere edemediği gösterilmiştir. Ancak, Beksaroten omega-3 yağ asitleriyle ve/veya eikosapentanoik asit (EPA) ile birlikte uygulandığında ise meme kanseri büyümesinin inhibisyonunda daha kolaylıkla tolere edilebilecek bir kombinasyonu oluşturmuştur (Trappmann ve Hawk, 2011). Kütanöz T-hücre lenfoma (KTHL) tedavisinde Finlandiya’da Beksaroten kullanımında 37 KTHL’li hastaya oral yoldan Beksaroten verilmesinin hastalar üzerindeki hem tedavi edici, hem de ilacın yan etkileri bakımından irdelenme çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda, yan etkileri kontrol edebilmek ve maksimum fayda sağlayabilmek için kişiye özel Beksaroten dozunun belirlenmesinin gerektiği gözlenmiştir. Beksaroten tedavisinden olumlu yanıt alındıktan sonra uzun süre tedaviye devam edilmesinin gerektiği gözlemlenmiştir. Yan etkileri rutin laboratuvar testleri ile kontrol edilerek karaciğer enzimlerinde belirgin ve devamlı bir yükseliş görülmesi durumunda tedavinin kesilmesi gerektiği bildirilmiştir (Väkevä ve ark., 2012). Genel olarak kemoterapi ve hematopoietik kök hücre transplantasyonu tedavide kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada, bu hastalığa sahip hem erişkinlerde, hem de çocuklarda Beksaroten uygulaması gerçekleştirilmiş ve erişkinlerde ve çocuklarda bu hastalığın tedavisi için Beksaroten (Şekil 1.4) oldukça umut verici bir ilaç olarak bulunmuştur (Mehta ve ark., 2012).



Şekil 1.4. Beksaroten

Furmick ve arkadaşları (Furmick ve ark., 2012), yaptıkları çalışmada Beksaroten bileşiğinin yeni halojenli türevlerini sentezlemişler ve bu türevlerden dört tanesinin RXR-bazında transkripsiyonu gerçekleştirdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışma da

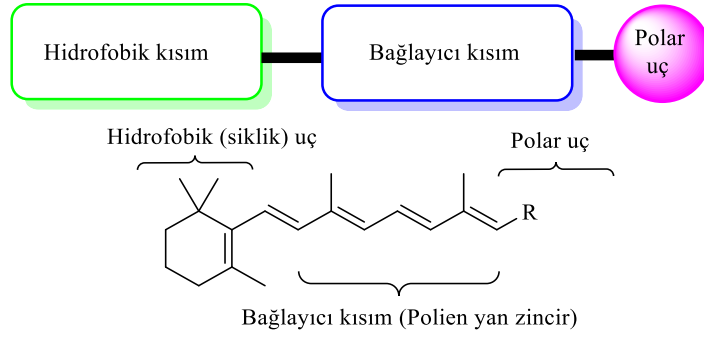
göstermiştir ki, retinoid yapıya sahip bileşiklerin özellikle kanser tedavisinde ele alınması (bekсарoten gibi), bu amaca yönelik yapılan bilimsel çalışmaların önemli bir kısmını oluşturmaktadır. RXR gamma modölatörlerinin çeşitli kanser türleri üzerindeki etkileri mekanizmaları oldukça ayrıntılı olarak açıklanmış ve bu modölatörlerin kanser hastalığında uygulanma yöntemleri de bir patent başvurusu şeklinde ele alınmıştır (Leung ve Leung, 2014).

Bekсарoten bileşiğinin çeşitli kanser türleri üzerindeki etkilerinin yanı sıra, bu bileşiğin son derece önemli bir etkisi de ortaya konulmuş ve Science gibi oldukça önemli bir dergide yayınlanmıştır. Buna göre, Bekсарoten Alzheimer hastalığında ApoE-yönlendirici beta-amiloid plaklarını 72 saat gibi kısa bir sürede %50 azaltmaktadır (Cramer ve ark., 2012). RXR agonisti Bekсарoten bileşiğinin fare modellerinde Alzheimer hastalığını tedavi edici özelliğinin ortaya konulmasından sonra, bu bileşiğin önemi oldukça artmış ve yeni Bekсарoten türevi bileşiklerin sentezleri ve biyolojik aktivite çalışmaları hız kazanmıştır (Bian ve ark., 2013; Cramer ve ark., 2012; Daiss ve ark., 2005; Wagner ve ark., 2009).

1.1. Retinoidlerin Kimyasal Yapısı

Retinoidlerin 3 üniteden oluştuğu kabul edilmektedir (Şekil 1.5).

- 1) Hacimli hidrofobik (siklik) uç bölgesi,
- 2) Polien yan zincir,
- 3) Polar uç bölgesi



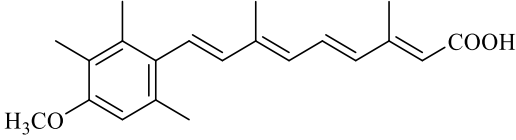
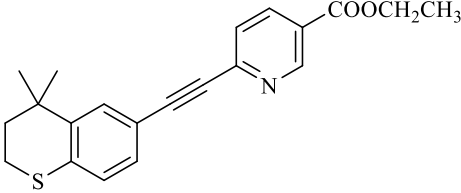
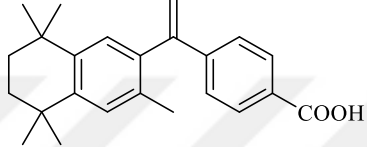
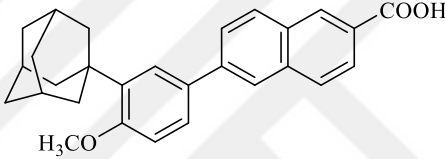
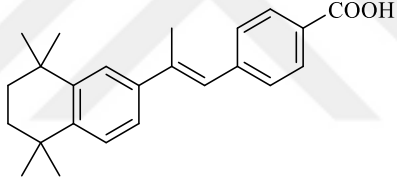
Şekil 1.5. Temel retinoid yapısı.

Polar uç grubunun ve polien yan zincirinin kimyasal modifikasyonları ile birinci kuşak retinoidler oluşmuştur (Çizelge 1.1). Bu moleküller içinde üzerinde en çok çalışılmış olanlar tretinoin (all-*trans*-retinoik asit) (*in vitro*) ve izotretinoin (13-*cis*-retinoik asit; Accutane[®], Roaccutane[®]) (*in vivo*). İkinci kuşak retinoidler (Çizelge 1.1), siklik uç bölge değiştirilerek geliştirilmiştir. İkinci kuşağın prototip molekülü etretinatır. Polien yan zincirinin siklizasyonu, üçüncü kuşak retinoid olan retinoidal benzoik asit türevleri diğer adıyla arotinoidlerin gelişmesine neden olmuştur. Yapılan tarama testlerinde arotinoid asit (TTNPB), birinci kuşak ve ikinci kuşak retinoidlere göre daha az toksik ve daha aktif çıkmıştır (Lippman ve Meyskens Jr, 1988).

Çizelge 1.1. Temel retinoid iskelet yapısından sentetik olarak türetilen birinci, ikinci ve üçüncü kuşak retinoidlerin kimyasal yapıları.

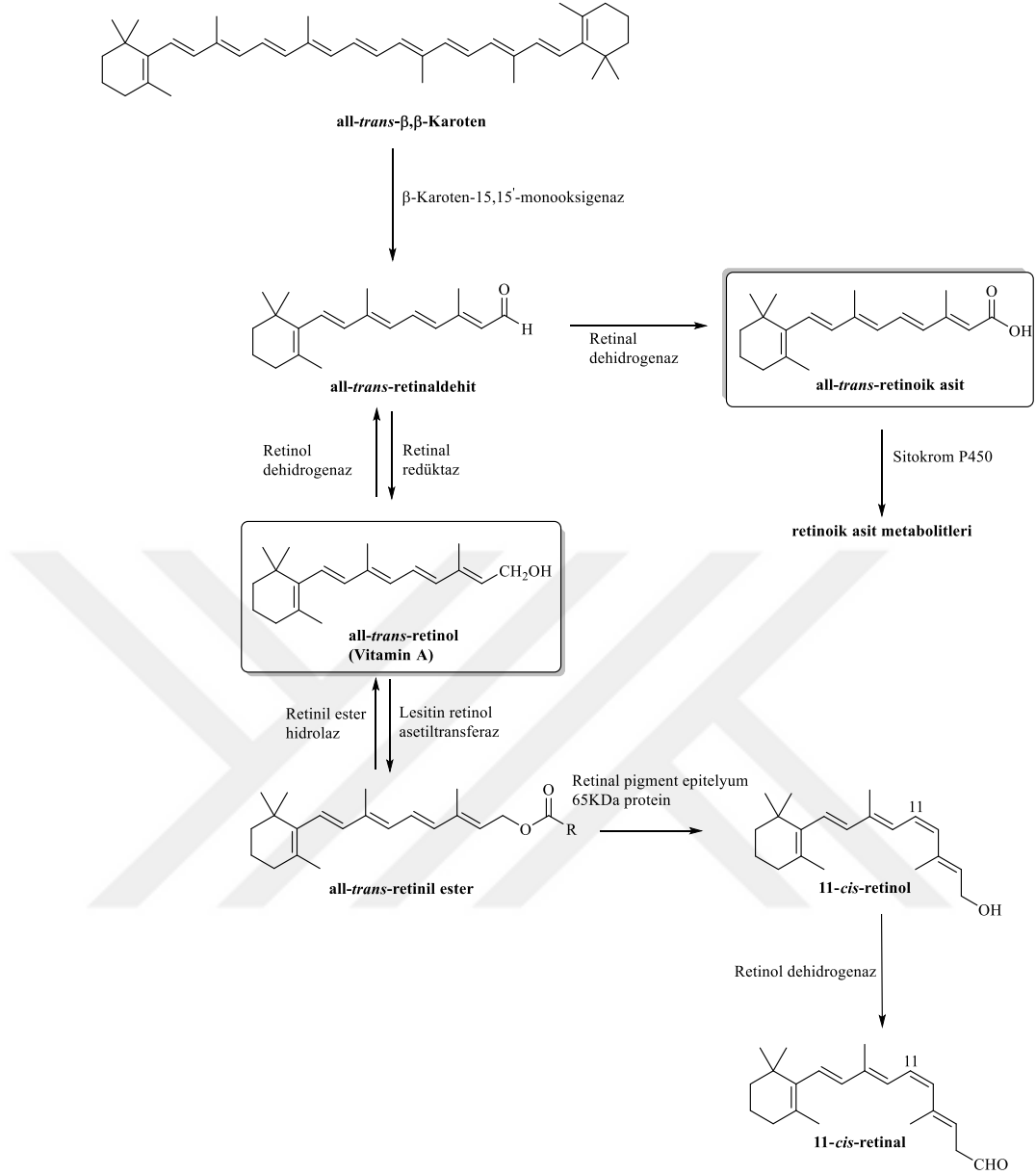
1. Kuşak (Aromatik olmayan) Retinoid	
Vitamin A (Retinol)	
Tretinoin (all- <i>trans</i> -retinoik asit, Retin A)	
Isotretinoin (13- <i>cis</i> -retinoik asit)	
2. Kuşak (Mono-aromatik) Retinoidler	
Etretinat	

Çizelge 1.1. Devam. Temel retinoid iskelet yapısından sentetik olarak türetilen birinci, ikinci ve üçüncü kuşak retinoidlerin kimyasal yapıları.

Asitretin	
3. Kuşak (Poli-aromatik, Arotinoid) Retinoidler	
Tazaroten	
Beksaroten	
Adapalen	
TTNPB	

1.2. Karotenoid ve Retinoid Metabolizması

Karotenoidler ve diğer retinoidler; gelişme, farklılaşma, çoğalma ve apoptozun da dahil olduğu birçok biyolojik sürecin düzenlenebilmesi için gerekli olan retinoik asite biyokimyasal yollarla dönüşürler (Şekil 1.6). Biyolojik dönüşüm, hücrel retinol-bağlayıcı proteinler (HRBP), retinol-bağlayıcı proteinler (RBP) ve hücrel retinoik asit bağlanmasını içeren çeşitli bağlayıcı proteinlerin desteği ile önce bağırsakta, daha sonra karaciğerde ve en son olarak da hedef hücrelerde gerçekleşir (Bushue ve Wan, 2010).

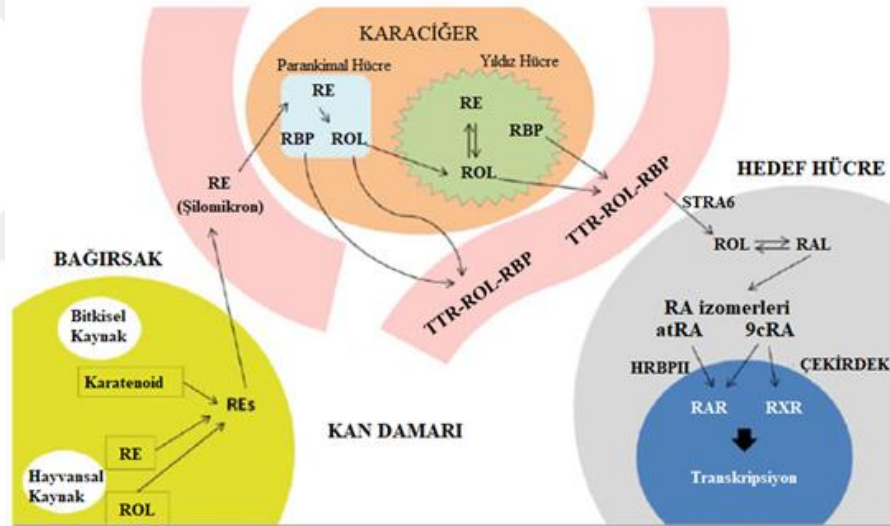


Şekil 1.6. Karotenoid ve retinoid metabolizması.

Sırasıyla bitkilerden veya hayvanlardan diyetle alınan β-karotenin metabolizması veya retinil esterlerin hidrolizi, retinolü oluşturur. Retinolün bilinen bir biyolojik aktivitesi yoktur. β-karotenler hücrel retinol bağlayıcı protein II (HRBP-II)'ye bağlanarak retinale dönüştürülürler. HRBP-II'ye bağlanması retinalin bağırsakta retinoik asite oksidasyonunu önler ve mikrozomal retinal redüktazın yardımıyla retinole indirgenmesine olanak sağlanmış olur. Hayvan kaynağından gelen retinil esterler hidroliz olarak retinolü oluştururlar. Retinol, lesitin-retinol

asetiltransferaz (LRAT) enziminin varlığında retinolün retinil esterlere dönüşümü için bir substrat görevi gören kompleksi vermek üzere HRBP-II ile bağlanırlar (Şekil 1.7) (Harrison ve Hussain, 2001; Macdonald ve Ong, 1988).

Retinil esterlerin çoğu şilomikron olarak lenf sistemine dağılır ve daha sonra triaçilgliserol lipoprotein lipaz yardımı ile elimine edilirler (Şekil 1.6.) (Blomhoff ve ark., 1990; Green ve Glickman, 1981). Sonuç olarak, karaciğerde şilomikron kalıntıları hepatositler tarafından endositoz yoluyla alınır. Retinil esterler, retinol oluşturmak için hidroliz olurlar. Serbest retinol, RBP'ne bağlanır ve transtiretin (TTR) ile plazma içine salınır (Noy ve ark., 1992). TTR'ye bağlı olması retinolün böbreklerde elimine olmasını önler.



Şekil 1.7. Hücresel RAR ve RXR bağlayıcı proteinlerinin etki mekanizması¹ (Gesto ve ark., 2012).

Aynı zamanda, retinoller “yıldız hücre” olarak bilinen başka bir tip karaciğer hücresine taşınırlar (Blaner ve ark., 2009; Macdonald ve Ong, 1988). Plazmadaki retinol-RBP-TTR kompleksi, “retinoik asit 6 tarafından uyarılan” (STRA-6) adı

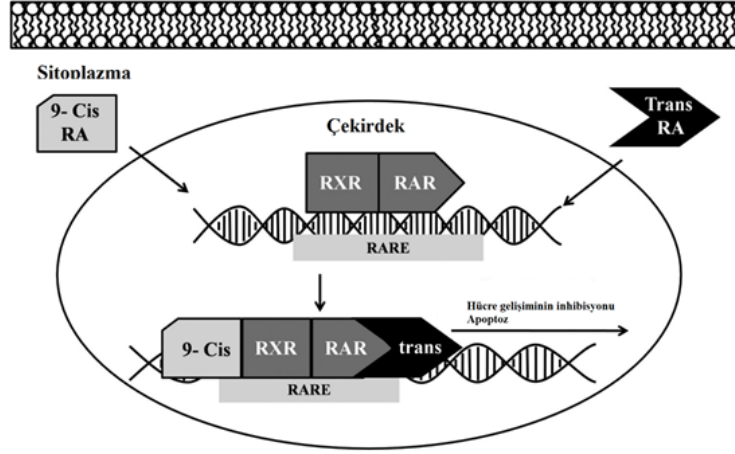
¹HRBP-II; hücresel retinol-bağlayıcı protein-II, RA; Retinoik asit, RAL; Retinal, RAR; Retinoik asit reseptör, RBP; Retinol bağlayıcı protein, RE; Retinil ester, ROL; Retinol, RXR; Retinoid X reseptör, STRA6; Retinoik asit 6 tarafından uyarılan reseptör, TTR; transtiretin.

verilen bir trans membran proteini olan RBP reseptörü aracılığıyla hedef hücreler tarafından alınır (Berry ve ark., 2012).

Serbest retinol, hedef hücreye girdikten sonra ya HRBP'ye bağlanır ya da retinol dehidrogenaz (RDH) aracılığı ile oksidasyona uğrayarak retinaldehit oluşur. Retinal daha sonra retinaldehit dehidrogenaz (RALDH) ile retinoik asite (RA) dönüşür (Duester, 2000). Retinoik asitin, hücrel retinoik asit bağlanma proteinine (HRABP) bağlanması çekirdeğe girmesine olanak sağlar. Bu sayede, RAR ve RXR başta olmak üzere çeşitli nükleer reseptörlere bağlanarak genomik olan ve olmayan mekanizmaları düzenler. Aynı zamanda RA sitokrom P450 enzimi (CYP26) ile 4-hidroksi retinoik asit ve 4-oksoretinoik asit gibi oksitlenmiş metabolitlere dönüşebilir (Blomhoff ve Blomhoff, 2006; Theodosiou ve ark., 2010).

1.3. Retinoid Reseptörleri ve Retinoidal Bileşiklerin Bu Reseptörlerle Etkileşimi

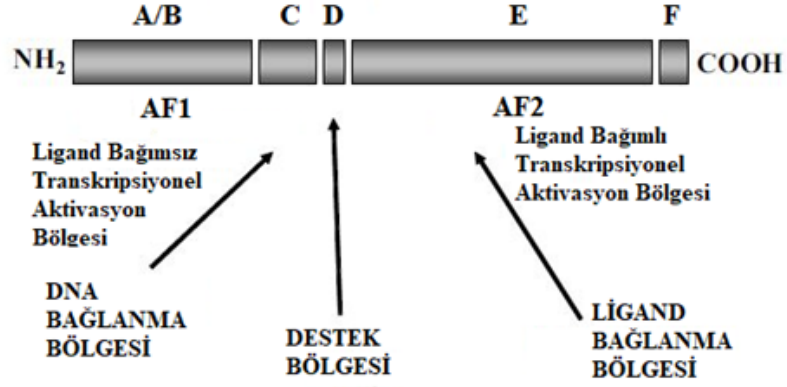
Vitamin A yapısal analogu retinoidler, biyolojik etkilerinin çoğunu çeşitli nükleer reseptörlere bağlanarak ve onları aktive ederek gösterirler. Retinoik asit, nükleer reseptör ailesinin önemli iki tip reseptörle etkileşerek etkisini gösterir. α , β , γ alt tipleri olan retinoik asit reseptörleri (RAR) ve retinoid asit reseptörleridir (RXR) (Brand ve ark., 1988; Mangelsdorf ve ark., 1990). RAR alt tipleri çeşitli dokularda farklı şekillerde belirtilmektedir. Hematopoietik dokularda $RAR\alpha$, ciltte $RAR\gamma$ (Mangelsdorf ve ark., 1995), nöral dokularda $RAR\beta$ şeklinde ifade edilmektedir (Blumberg ve Evans, 1998). RAR'ın ligandı *all-trans*-retinoik asit, RXR'ın ligandı *9-cis*-retinoik asittir (*9cRA*), (Şekil 1.3). *9cRA*, aynı zamanda RAR'a da doğrudan bağlanabilir. Bu nedenle, *all-trans*-retinoik asitin aksine, *9-cis* izomeri hem RAR hem de RXR için biyolojik aktif ligandır (Şekil 1.8). Aynı zamanda reseptör-spesifik olan RXR'a bağlanarak aktive olan ancak RAR ile etkileşme göstermeyen doğal ve sentetik RXR ligandları vardır. Bu yüzden araştırmacılar, RAR ligandı olarak biyolojik aktivite gösteren molekülleri 'retinoid', RXR ile etkileşen ligandları ise 'reksinoid' olarak sınıflandırmışlardır.



Şekil 1.8. Retinoik asitin hücre çekirdeğinde ilgili reseptörlerle etkileşimi (Buskohl ve ark., 2012).

1.4. Retinoid Reseptörlerinin Çalışma Mekanizması

Nükleer reseptörler, transkripsiyonel aktivasyona veya baskıya yol açan hedef genleri düzenleyen veya çevresinde bulunan spesifik DNA düzenleyici elemanlara bağlanan ligand aktive transkripsiyon faktörleridir. Nükleer reseptörlerin yapıları, amino terminalden A'dan F'ye kadar olan birkaç alandan oluşur. A/B amino terminali, ligand bağımsız transkripsiyonel aktivasyon fonksiyonu (AF1)'i içerirken, C alanı, DNA bağlanma alanını kapsar. E/F karboksi uç bölgesi, ligand bağlanma alanını (LBD), dimerizasyonunu ve önemli uyarılabilen transaktivasyon (AF-2) alanlarını içerir (Durand ve ark., 1994). Esnek eklem bölgesi (D) ile C alanından ayrılır (Fukasawa ve ark., 1993) (Şekil 1.9).



Şekil 1.9. Retinoid reseptör proteininin çeşitli fonksiyonel bölgeleri.

1.4.1. RAR Reseptörü

RAR'ların, sırasıyla RAR α , RAR β , RAR γ genleri tarafından kodlanan üç retinoik asit reseptörü vardır (Asson-Batres ve Rochette-Egly, 2014). Steroid hormon reseptörlerine benzer fonksiyonel alanlara sahiptirler (Nagpal ve ark., 1993). Bir retinoide bağlandığında transkripsiyon faktörü gibi davranırlar ve genlerin ekspresyonunu değiştirirler (Zhang ve ark., 2015). RAR, 7-*cis*-, 9-*cis*-, 11-*cis*- ve 13-*cis*- ve all-*trans*-RA izomerleri tarafından aktive edilen ve transkripsiyon faktörü olarak görev yapabilen bir nükleer reseptördür (Allenby ve ark., 1993; Germain ve ark., 2006). Bununla birlikte RAR'ların bağlanma bölgesi tercihi, RXR bağlanması ve sterik engeller tarafından belirlenir. Ligand bağlanma bölgesinin analizi sonucunda; RAR α 'da Ser232 ve Thr39'un, RAR β 'de Ala225 ve Ile232'nin reseptör seçici retinoidleri bağlamak için gerekli olduğu bulunmuştur (Ostrowski ve ark., 1995). Bunun yanında 9-*cRA*'nın RAR α 'ya bağlanması için Met406 ve Ile410 gereklidir (Tate ve Grippo, 1995). Arg269 ve Lys220 all-*trans* RA'nın RAR β 'ye bağlanması için önemlidir. Trp227 ise ligandın RAR γ 'ye bağlanması için gereklidir (Lupisella ve ark., 1995; Tairis ve ark., 1994).

1.4.2. RXR Reseptörü

RAR'ın heterodimerik eşi retinoid X reseptörüdür (Mangelsdorf ve ark., 1990). Retinoid X reseptörü (RXR), 9-*c*RA ile aktive edilen nükleer reseptörlerden biridir. Sırasıyla RXR α , RXR β , RXR γ genleri tarafından kodlanan üç retinoid X reseptörü vardır (Germain ve ark., 2006). RXR'ların etkin alan yapısı RAR'larla benzerdir. RXR'lar diğer steroid reseptör aile üyeleri ile heterodimerler oluşturur, böylece DNA yanıt elementlerine bağlandığında, bunların transkripsiyonel aktivitesini artırır (Zhang ve ark., 1992). Bilinen üç RXR izoformunun da, farklı transkripsiyonel aktivasyon şablonu vardır (Hallenbeck ve ark., 1996).

1.5. RAR ve RXR Ligandları'nın Kimyasal Özellikleri

Farmakolojik olarak hem RAR hem de RXR, agonistler, ters agonistler, kısmi agonistler ve antagonistler aracılığı ile alt türlere özelleşmiş olarak değişebilirler. RAR'ların doğal olarak oluşan ya da sentetik türevleri retinoidler olarak bilinirken, doğal olarak oluşan veya sentetik RXR türevleri reksinoid olarak bilinirler. Retinoid reseptörlerinin sınıflandırılması, aminoasit yapılarındaki farklılıklar, doğal ve sentetik ligandlara karşı tepki ve çeşitli hedef genlerin ekspresyonunu düzenleme özelliğine dayanır. Bu reseptörlerle etkileşen ligandlar, retinoidler, yapısal olarak çok çeşitli molekül gruplarından oluşurlar. Bunlar arasında;

- 1) Endojen retinoid ATRA, 13-*c*RA, 9-*c*RA ve 11-*cis* retinal ve etretinat ve asitretin gibi sentetik türevlerinde dahil olduğu tetraen grubu içeren moleküller,
- 2) Stilben yapısına sahip TTNPB ve 3-metil-TTNPB'nin de bu gruba dahil olduğu sentetik retinoidler,
- 3) Olefin yerine amid grubunun bulunduğu TTNPB analogu AM80 ve AM580 bileşikleri (Fukasawa ve ark., 1993; Koizumi ve ark., 1992),
- 4) Sedef hastalığının tedavisinde kullanılan Tazaroten bileşiği gibi olefin grubu yerine alkin grubu içeren bileşikler (Esgleyes-Ribot ve ark., 1994),

5) 4-[(5,5,8,8-Tetrametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)-karbonil] benzoik asit (Maignan ve ark., 1989), SR11237 (Lehmann ve ark., 1992) ve LGD1069 (Boehm ve ark., 1994) bileşiklerin içeren benzofenon karboksilik asit bazlı bileşikler bulunur.

Bunların ve diğer bilinen retinoidlerin biyolojik etkilerini, retinoid reseptörlerinden bir veya daha fazlasına bağlanıp reseptör-DNA kompleksini oluşturduktan sonra gen ekspresyonunu aktive ederek gösterdikleri bilinmektedir. Retinoidlerin reseptör seçicilikleri çok geniş bir yelpaze gösterir. Örneğin, ATRA türevleri başta olmak üzere, TTNPB, AM80, AM580 RAR'ı etkinleştirir (Boehm ve ark., 1994; Fukasawa ve ark., 1993; Koizumi ve ark., 1992). Buna karşılık ATRA'nın izomeri olan 9-cRA, 3-metil TTNPB ve 3-metil TTNPB türevleri altı retinoid reseptörü ile etkileşirler (Boehm ve ark., 1994; Heyman ve ark., 1992).

1.6. RAR Agonist ve Antagonistlerin Yapı-Aktivite İlişkileri

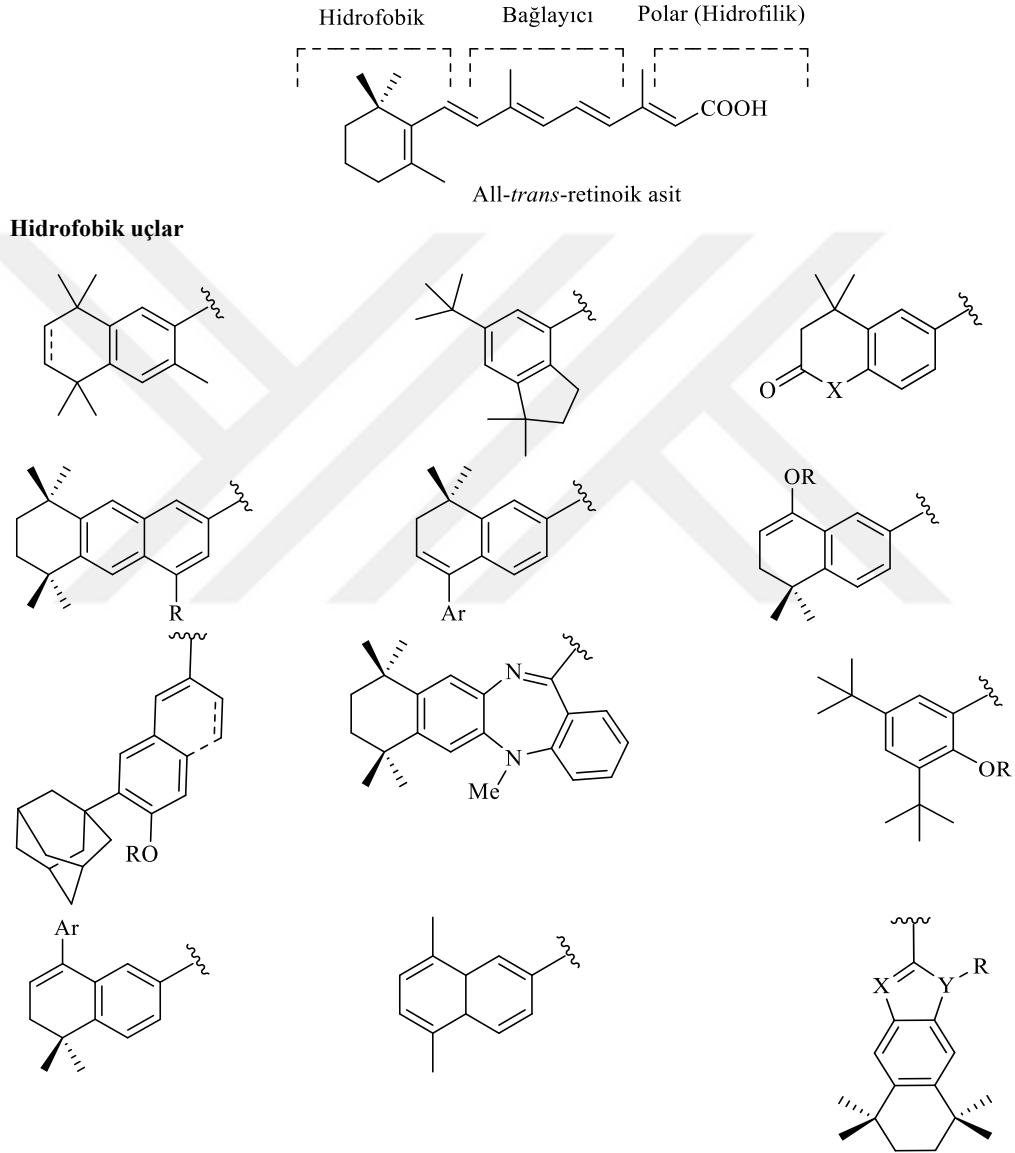
Retinoid reseptör alt tiplerinin bağlanma bölgeleri arasında amino asit farklılıkları vardır. Her bir yapı içinde ligandın fonksiyonlu grupları ile reseptördeki aminoasitlerin arasında oluşan sterik ve hidrojen bağı etkileşimleri, ligandların reseptör seçimlerini değiştirir. Şekil 1.10'da sentetik retinoidlerin iskelet yapısının genel sınıflandırılması gösterilmiştir. Bu sınıflandırma bilinen retinoidlerin büyük çoğunluğunun yapısal çeşitliliğini kapsamaktadır. Retinoid asit alt tiplerinin seçiciliği, fonksiyonlu grupların RAR alt tiplerinin farklı amino asitleriyle etkileşmesinin bir sonucudur.

Sentetik retinoid bileşiklerinin yapılarında bazı değişiklikler yapılmıştır. Bunlar;

- a) 11, 13-ikili bağının fenil halkası ile yer değiştirdiği 4-süstitüe benzoik asit içeren türevler,
- b) 9, 11, 13-ikili bağının naftalen halkası ile yer değiştirdiği 2-naftalen karboksilik asit içeren türevler,
- c) 5, 7-ikili bağının yerine fenil halkası olan türevler,

d) Ayrıca β -siklogeraniliden halkasında 1. veya 4. Konumda bulunan gem-dimetil grupları uzaklaştırılarak oksijen ve kükürt atomları ile yer değiştirilmiş türevler,

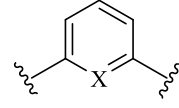
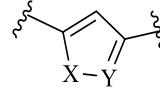
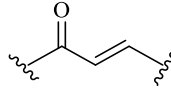
e) 2, 3- ve 1, 6-çifte bağlarının koparılması, çifte bağların bir halka yapısına dahil edilmesi ve metoksi, metil ve azido gruplarının çeşitli aromatik halka konumlarına eklendiği türevler.



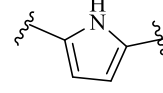
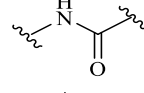
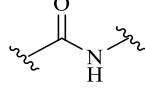
Şekil 1.10. Sentetik RAR retinoidlerinin iskelet yapısının genel sınıflandırılması ve yapısal çeşitliliği.

Bağlayıcı gruplar (Alt tiplere göre)

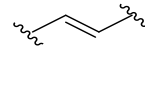
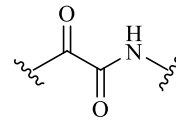
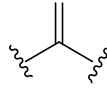
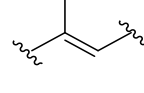
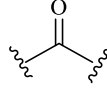
Pan-agonist



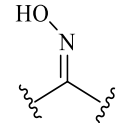
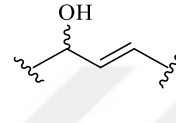
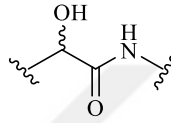
RAR α



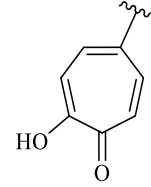
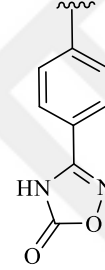
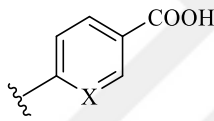
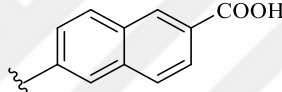
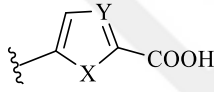
RAR β/γ



RAR γ



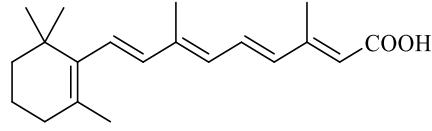
Polar uç



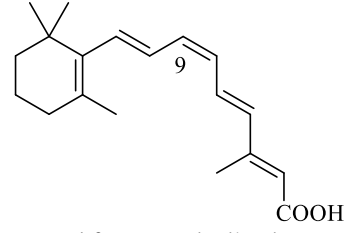
Şekil 1.10. Devam. Sentetik RAR retinoidlerinin iskelet yapısının genel sınıflandırılması ve yapısal

1.6.1. Pan-RAR Agonistler

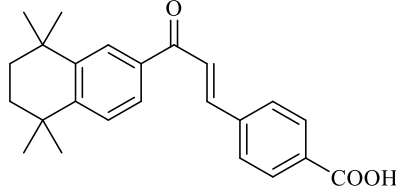
RAR alt reseptörlerinin hepsine seçici olmadan bağlanabilirler. Konformasyonel olarak esnek olan bileşiklerdir. Örnek olarak doğal polienlerden *all-trans*-retinoik asit (**1.1**) ve *9-cis*-retinoik asit (**1.2**) ve BMS181156 (**1.3**) ve CH55 (**1.4**) (Nervi ve ark., 1989) gibi H-bağı donörü olarak işlev gören bileşikler verilebilir. 3,5- di-*tert*-bütilfenil grubu içeren ALRT1550 (**1.5**) ve analogları, ayrıca konformasyonel esneklikleri aril halkaları tarafından sınırlandırılmış olsa da TTNPB (**1.6**) (Nervi ve ark., 1989) ve TTAB (**1.7**) gibi tipik arotinoidler de pan-agonistlerdir. ATRA'nın kararlı bir analogu olan EC23 (**1.8**), kök hücrelerinin indüklenmesinde ve nörojenezinde güçlü bir aktivite göstermiştir (Christie ve ark., 2010) (Şekil 1.11).



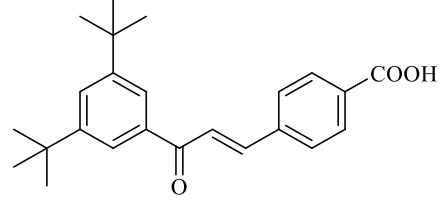
1.1. All-*trans*-retinoik asit



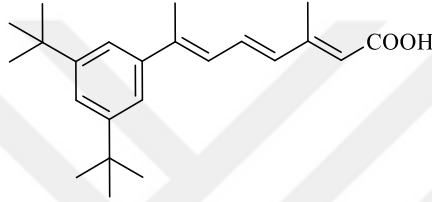
1.2. 9-*cis*-retinoik asit



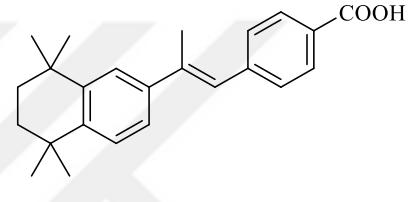
1.3. BMS181156



1.4. CH55

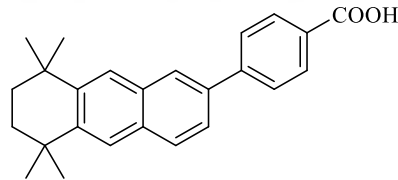


1.5. ALRT1550

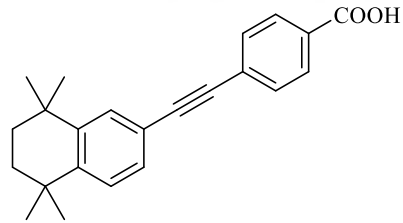


1.6. TTNPB

Şekil.1.11. Pan-RAR agonistleri.



1.7. TTAB



1.8. EC 23

Şekil.1.11. Devam. Pan-RAR agonistleri.

1.6.2. RAR Agonist ve Antagonistleri

Ortak retinoid iskeleti, hidrofobik ve polar uçların Şekil 1.11’de gösterildiği gibi bir bağlayıcı grup ile birleştirilerek oluşturulurlar. Klinikte onaylanan pan-RAR modülatörleri ATRA (tretinoin), 9-*cis* (alitretinoin) ve 13-*cis* (izotretinoin) izomerlerini içerir. ATRA ve 13-*cis* bileşikleri pan-RAR agonisti olarak davranırken, 9-*cis* pan-RAR ve pan-RXR agonisti olarak görev yapabilirler. Birçok retinoid,

çeşitli hastalık veya bozuklukların tedavisinde kullanılmıştır. Gelişmekte olan ülkelerde *all-trans* retinol, vitamin A eksikliğini azaltmak için kullanılır. Bu, retinoidlerin en güvenli ve en etkin terapötik kullanımlarından biridir (Humphrey ve ark., 1992). *All-trans*-RA (tretinoin) ve *13-cis*-RA, klinikte bazı akne ve dermatolojik rahatsızlıkların tedavisinde kullanılırlar (Chivot, 2005).

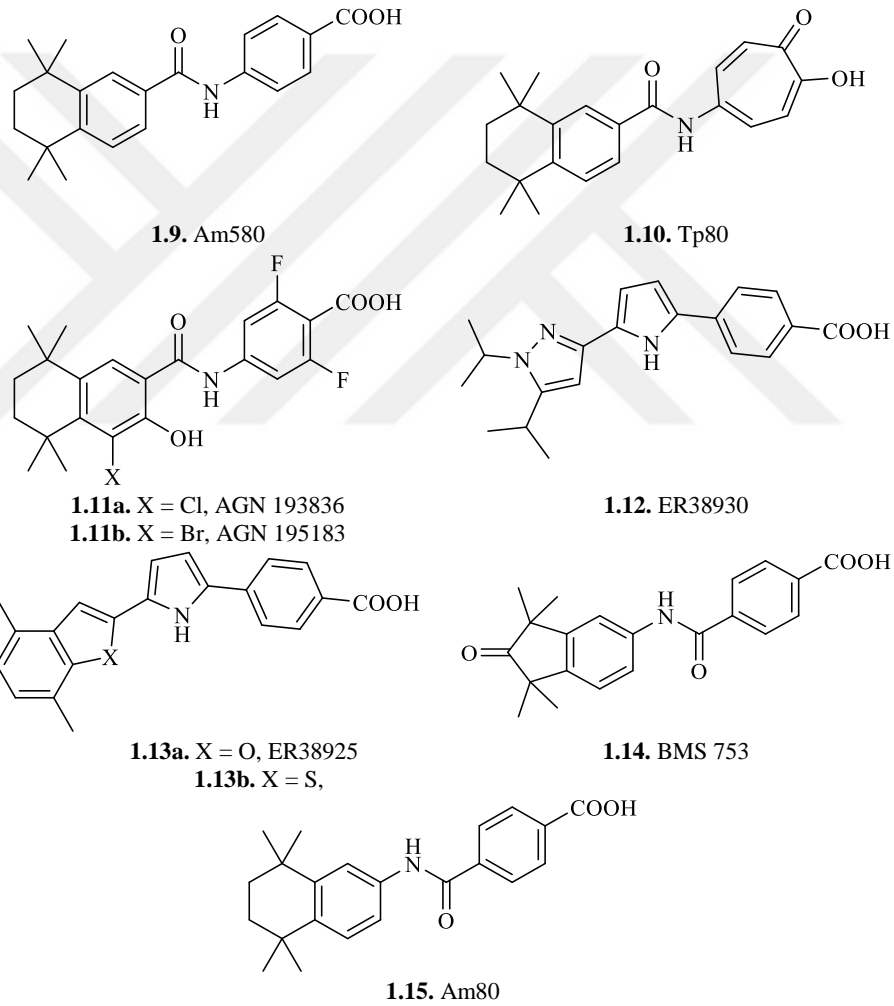
Kanserde, RAR sinyalinin etkinleşmesi, hücrelerin farklılaşmasına yol açarak kansere karşı koruyucu ve kemoterapötik olarak kullanılmasına neden olur. Akut Promiyelositik Lösemi (APL) durumunda, tümör baskılayıcı genin RAR sinyaline müdahalesi sonucu, RAR ile PML (promiyelositik lösemi proteini)'nin birleşmesi engellenir. Retinoid agonistlerden ATRA, PML-RAR etkileşmesinin etkilerini geri çevirebilir.

Bazı retinoidler, tümör hücrelerinde apoptoza neden olarak kemoterapi için başka bir mekanizma sağlamış olurlar (Hail ve ark., 2006; Simeone ve Tari, 2004). Tedavi için onaylananlar Şekil 1.12'de gösterilmiştir. Bir başka kararlı RAR analogu olan Tazaroten, RAR β ve RAR γ 'ya seçicilik gösterir. Siville ve sedef hastalığının topikal tedavisinde kullanılır (Chandraratna, 1996; Talpur ve ark., 2009).

1.6.2.1. RAR α -Seçici Agonistler

Bağlayıcı gruplarında hidrojen bağı donörü ve küçük hidrofobik halkaların olduğu Am580 (**1.9**) (Kagechika ve ark., 1988) ve benzoik asit amidleri (naftolik asitler hariç) veya benzoik asit amidlerinin biyoizosteri Tropolon Tp 80 (**1.10**) (Ebisawa ve ark., 2001; Ishida ve ark., 2003) seçici RAR α agonistleridir. En güçlü ve seçici RAR α agonisti AGN195183'te (**1.11b**) de (Beard ve ark., 2002) görüldüğü gibi C2 ve/veya C6 konumlarındaki flor atomu ile seçicilik ve güç artmaktadır. RAR α 'nın AM580 tarafından seçici olarak aktive edilmesi, insan kanserleri ile ilişkili olan fare modellerinde, tümör onkogenezi inhibe etmiştir. Etki mekanizması hücre çoğalmasını engellemesi ve apoptozu indüklemesi ile açıklanır (Lu ve ark., 2010).

Pirazol türevi (**1.12**), RAR α 'ya bağlanmada all-*trans*-retinoik asitten daha az güçlü olsa da insan promiyelositik lösemi HL-60 hücre hattında karşılaştırılabilir bir aktivite göstermiştir (Kikuchi ve ark., 2000). N-izopropil analogu, RAR α transaktivasyonunda all-*trans*-retinoik aside göre daha güçlüdür (Yoshimura ve ark., 2000). RAR α seçici benzofuranilpirol türevi (**1.13a**) ve benzotienilpirol türevi (**1.13b**) lipopolisakkarit ile uyarılan B-lenfosit çoğalmasını inhibe ederler (Yoshimura ve ark., 2000). RAR α 'ya spesifik agonistler arasında AM 580 (Tamibaroten) (**1.9**) BMS 753 (**1.14**) ve AM80 (**1.15**) bulunur (Le Maire ve ark., 2010).



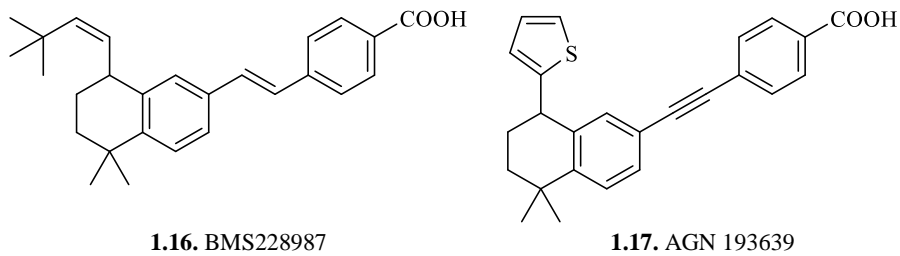
Şekil 1.12. RAR α seçici agonistleri.

1.6.2.2. RAR β -Seçici Agonistler

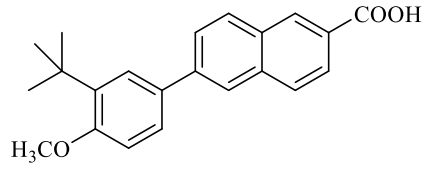
RAR β seçici ligandlardan (**1.16-1.19**)'un (Şekil 1.13) hidrofobik bölgedeki hacimli grupları, terapötik fayda gösterirler. Fareler de, asetilen türevi arotinoidler ile tedavi edildiği zaman (**1.20**) retinoid bileşikler ile tedavi edildiğinde oluşan deride tahriş ve teratojenite gibi yan etkiler gözlenmemiştir (Vuligonda ve ark., 1999).

Benzer şekilde, dibenzodiazepinilbenzoik asit halkası ile kaynaşan fenil grubu taşıyan bileşikler, RAR β seçicilik profilinden kısmen sorumludur (Li ve ark., 1999). RAR β -alt tipi seçiciliği (Alvarez ve ark., 2007; Kagechika ve ark., 1988) ilave olarak benzoik asit halkasının C-3 pozisyonunda klor atomu varlığı ile artırılabilir ve bu iki etkinin kombinasyonu RAR γ bağlanma afinitesinde belirgin bir kayba neden olur. Örneğin, BMS641 (**1.19**), yüksek afiniteli bir RAR β agonistidir.

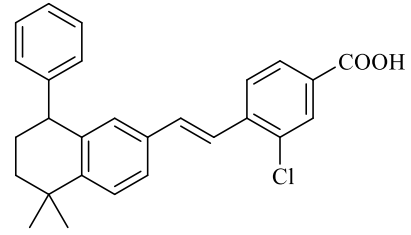
RAR β seçici agonistleri, (**1.22**) AC 55649'un optimizasyonu ile geliştirilen (**1.23**) AC 261066 ve yüksek verimli tarama kullanılarak keşfedilen 4'-oktil-4-fenilkarboksilik asiti içerir. 1-adamantil süstituentini taşıyan ve akne tedavisinde kullanılan Adapalen, hem RAR β 'ye hem de RAR γ 'ya karşı agonistik aktivite gösterir (Bernard, 1993). Şekil 1.14'deki retinoidler (**1.24**, **1.25**) hem RAR α hem de RAR β seçiciliği göstermektedirler. Benzanilid türevi Am80 (Tamibaroten) (**1.15**) (Kagechika ve ark., 1988), güçlü bir hücre farklılaşması indükleyicisidir ve dayanıklı APL tedavisi için Japonya'da onaylanmıştır (Tobita ve ark., 1997).



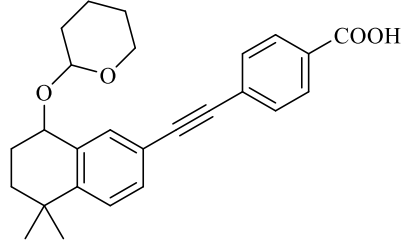
Şekil 1.13. RAR β seçici agonistleri.



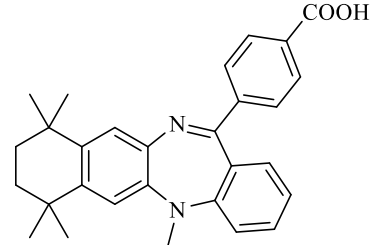
1.18. CD417



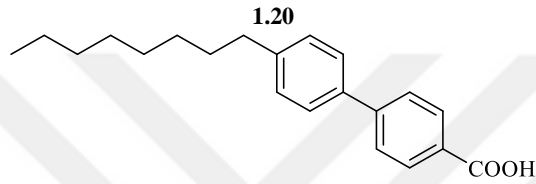
1.19. BMS641



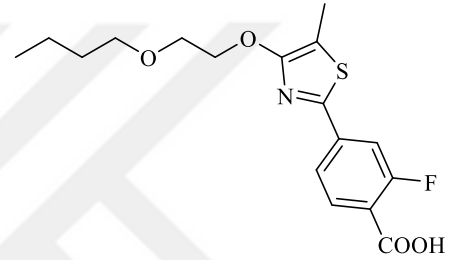
1.20



1.21



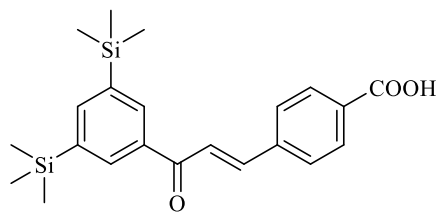
1.22. AC 55649



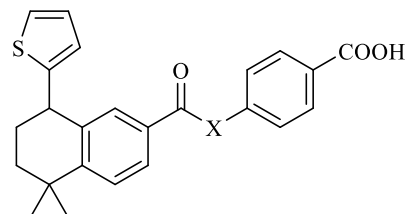
1.23. AC 261066

Şekil 1.13. Devam. RAR β seçici agonistleri.

İki trimetilsilil grubuna sahip bir şalkon olan TAC101 (1.24), anti-anjiyojenik ve antihepatometastazis etkiye sahiptir ve solid tümörlerin tedavisinde ABD'de klinik çalışmalar yapılmaktadır (Germain ve ark., 2004) .



1.24, Ch 555S (TAC 101)

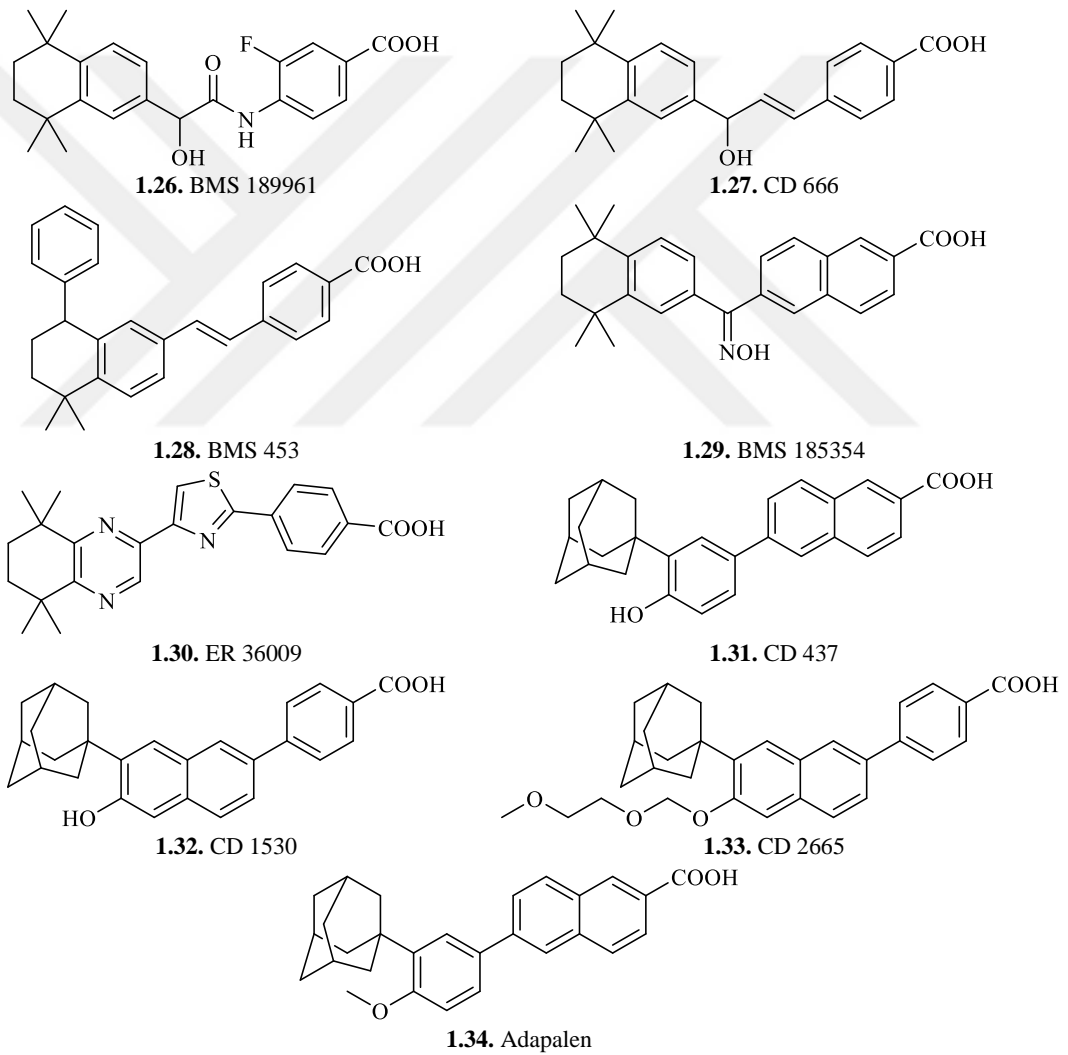


1.25, X=NH, O

Şekil 1.14. RAR α/β seçici agonistleri.

1.6.2.3. RAR γ -Seçici Agonistler

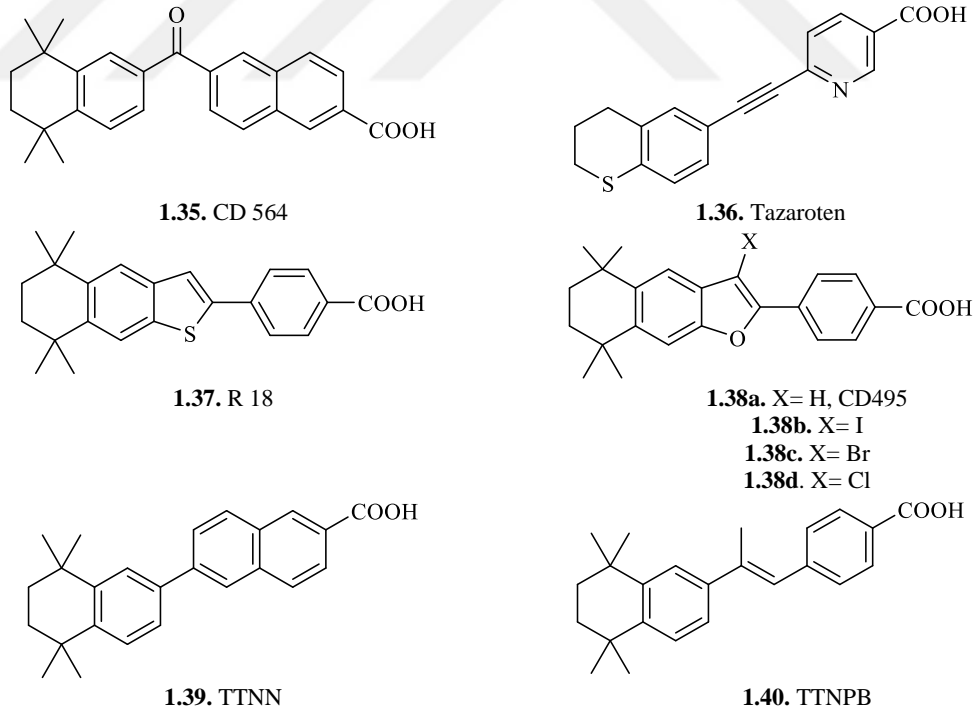
RAR γ seçiciliği, benzoik asitlerdeki aril halkaları (veya bir atom bağlayıcı naftolik asitler) ve daha büyük bir sterik grup (Şekil 1.15) arasında daha uzun zincirli bağlayıcı (üç atomlu bağlayıcı) olan ligandlar için uygundur. Hidroksi-asetamit benzoik asit türevi (**1.26**), hidroksipropenil türevi (**1.27**) (Bernard ve ark., 1992), naftolik asitin oksim türevi (**1.29**) ve tiyazol (**1.30**) (Sakuta ve ark., 2006) türevleri bileşiklerin hepsi bu yapısal özellikleri sergilemektedir.



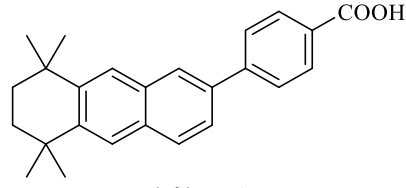
Şekil 1.15. RAR γ seçici agonistleri.

RAR γ seçici agonistleri arasında CD 437 (**1.31**), CD 1530 (**1.32**) ve Adapalen (**1.34**) türevleri bulunur (Bernard ve ark., 1992). CD 437'nin pro-apoptotik ve antitümöral etkilerinin RAR γ ile etkileşmesinden bağımsız olarak (Shao ve ark., 1995) ve muhtemelen proapoptotik mitokondriyal yolların (Sun ve ark., 1997) (Gonda ve ark., 2008) veya GADD45A proteininin düzenlenmesi aracılığı ile gösterdiği düşünülmektedir (Jiang ve ark., 2007).

Hem RAR β hem de RAR γ 'ya seçici olan ligandlar (Şekil 1.16) karbonil bağlayıcılar ile naftoik asitlere (**1.35**) (Delescluse ve ark., 1991), alkinil bağlayıcısı ve naftofuran/tiyofen bağlayıcıları ile (**1.36**, **1.37**, **1.38a**, **1.38b**) benzoik asite (Delescluse ve ark., 1991) (Kagechika ve ark., 1989; Lehmann ve ark., 1991) bağlanırlar. Sırasıyla polar uçtaki benzoik asit veya naftoik asit halkalarının aril (heteroaril) halkasının C3 veya C5 konumlarındaki halojenlerin (flor, brom) varlığı da RAR β/γ seçiciliklerine katkıda bulunur.



Şekil 1.16. RAR β/γ seçici agonistleri.



1.41. TTAB

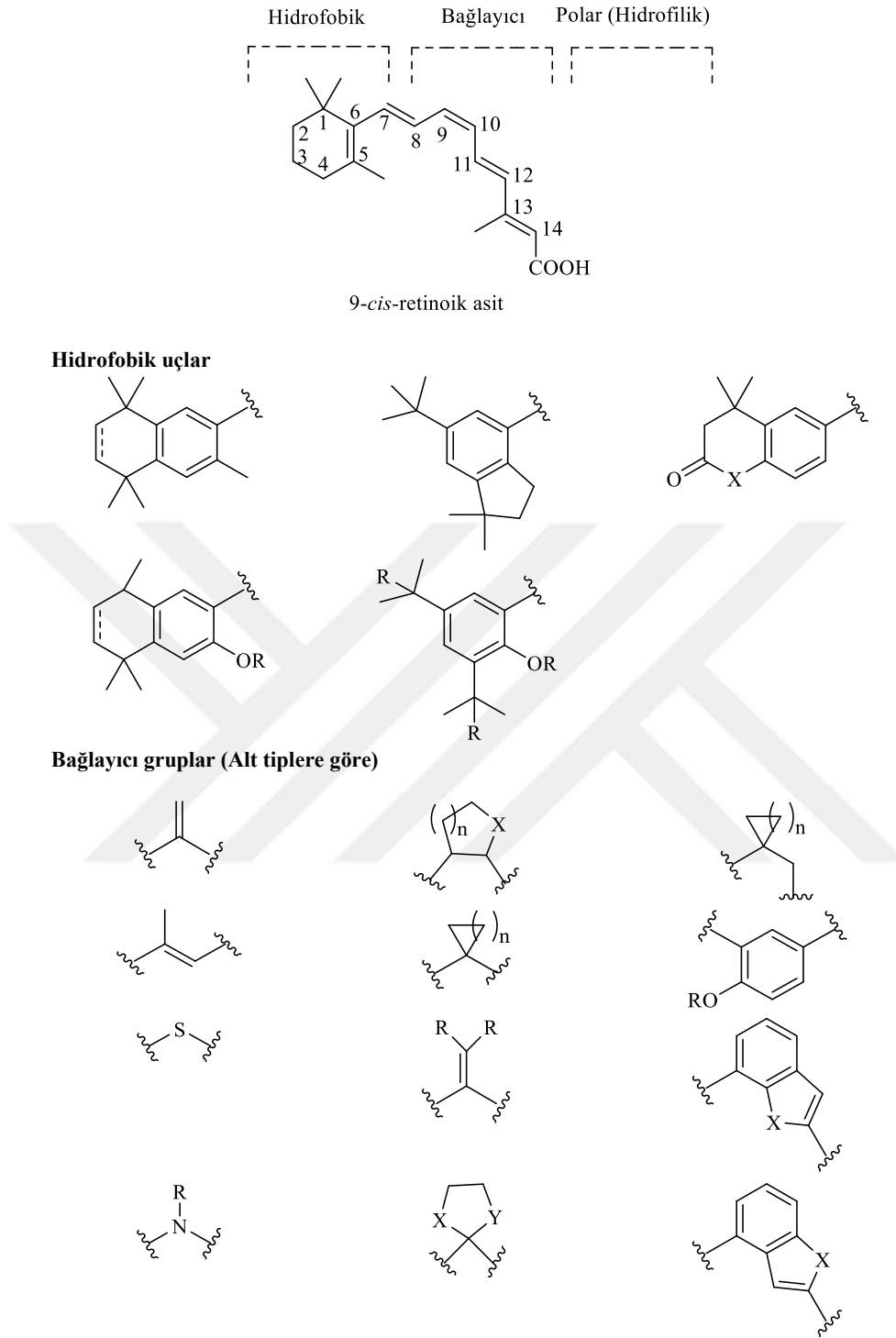
Şekil 1.16. Devam. RAR β / γ seçici agonistleri.

TTNN (1.39), TTNPB (1.40) ve TTAB (1.41) RAR β ve RAR γ 'yı aktive ederler. Bu üç retinoid arasından) RAR β ve RAR γ 'ya daha güçlü seçici aktivite gösteren TTNN (1.39)'dir (Livrea ve Packer, 1993).

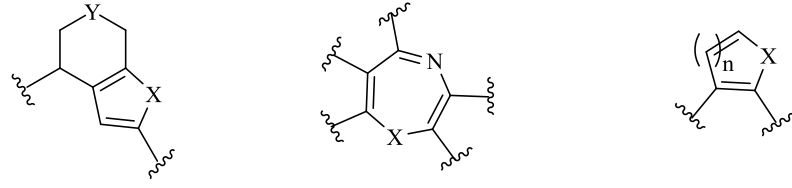
1.7. RXR Agonist ve Antagonistlerin Yapı-Aktivite İlişkileri

RXR'nin lipit bağlama cebinde bulunan grupların korunmuş doğası nedeniyle seçici retinoidlerin gelişimi çok daha zorlayıcı olmuştur (De Lera ve ark., 2007; Thacher ve ark., 2000).

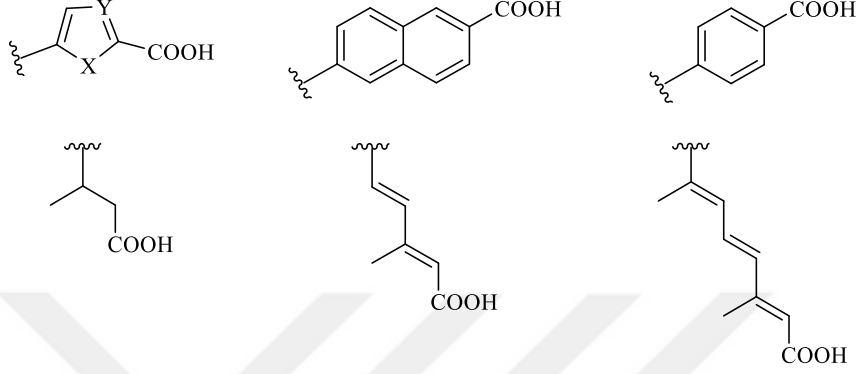
LGD1069 (Beksaroten) (1.43a), SR11237 (1.44) ve LGD100268 (1.47) gibi yüksek derecede aktif RXR ligandları, tek atomlu bağlayıcı gruplara (RAR agonistlerinden biraz daha kısa) sahiptirler. İsteğe bağlı olarak yapıyı bükülmüş konformasyona zorlayabilmek için de hidrofobik aromatik halkada orto-konumuna süstitüent takılabilir (Şekil 1.17) (Boehm ve ark., 1994; Farmer ve ark., 1997).



Şekil 1.17. Sentetik RXR retinoidlerinin iskelet yapısının genel sınıflandırılması ve yapısal çeşitliliği.



Polar uç

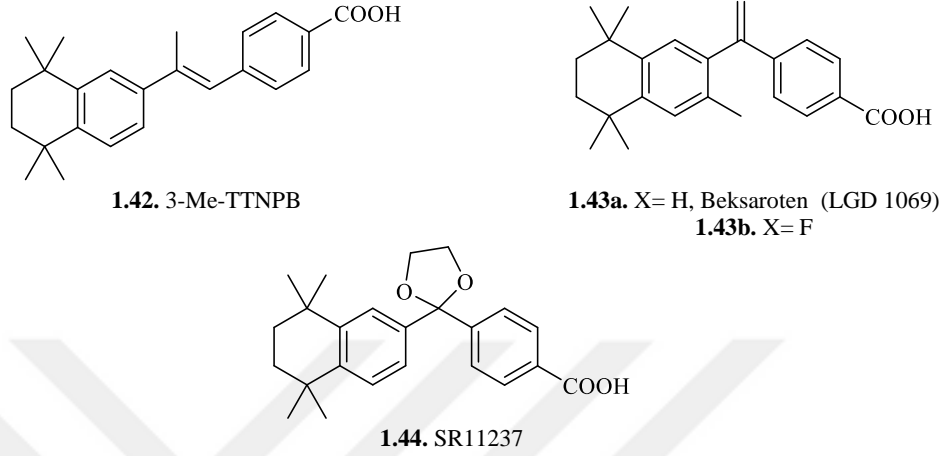


Şekil 1.17. Devam. Sentetik RXR retinoidlerinin iskelet yapısının genel sınıflandırılması ve yapısal çeşitliliği.

1.7.1. RXR-Seçici Agonistler

Kuvvetli reksinoid 3-Me-TTNPB'nin (**1.42**) (Beard ve ark., 1995; Beard ve ark., 1994; Boehm ve ark., 1994) keşfinden sonra, ligand LGD1069 (Beksaroten, Targretin (**1.43a**), KTHL tedavisi için tasarlanmıştır (Şekil 1.18), (Boehm ve ark., 1995). Fareler üzerinde beksaroten ile yapılan çalışmalarda, açlık plazma glikozunun ve açlık plazma insülininin rosiglitazona benzer düzeylerde azalmasına neden olduğu görülmüştür (Mukherjee ve ark., 1997). Metil gruplarının kaldırılması ve hidrofobik kısmın beş üyeli homologlar ile yer değiştirilmesi, benzoik asit üzerinde meta ve orto konumlarına süstitüent takılması, bağlayıcının alkiliden, keton veya oksasiklopropan grubuna dönüştürülmesi, 5,8-dihidronaftalen halkası (Faul ve ark., 2001) veya disilabeksaroten (**1.45**)'deki gibi karbonun silil grupları ile yer değiştirmesi (Daiss ve ark., 2005) gibi beksaroten'in yapısında yapılan sistematik varyasyonlar ile bir dizi analog bileşik elde edilmiştir.

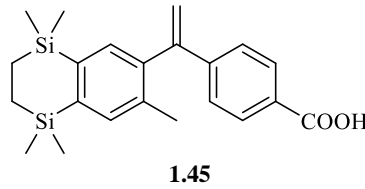
Benzoik asitin C2- ve C3-konumlarında (*o*-NO₂, *o*-F ve *m*-F) süstitüe edilmiş türevleri beksaroten'e eşdeğerdir. Özellikle *orto*-fluoro-beksaroten (**1.43b**), RXR'ye beksarotenden % 75 daha fazla bağlanma afinitesine sahiptir (Wagner ve ark., 2009).



Şekil 1.18. RXR seçici agonistleri.

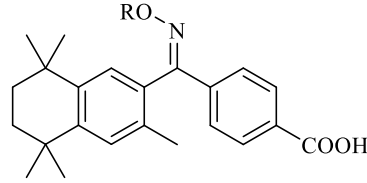
Bu analoglar, KTHL hücrelerinde kaspaz-3 ve -7'de yapılan deneylerde apoptotik aktivite sergilemişlerdir. Sitotoksik olmadıkları gibi mutajenik de olmamaları nedeniyle, *orto*-fluoro-beksarotenin (**1.43b**) klinikteki kullanımı beksarotenin KTHL'li hastalar üzerindeki istenmeyen yan etkilerinden kaçınmak için yararlı olabilir (Wagner ve ark., 2009).

Disilabeksaroten (**1.45**) silisyum gruplarının varlığı ile, daha yüksek oranda lipofilisiteye ve elektrostatik güce sahip olabilir (Daiss ve ark., 2005).



Şekil 1.19. Disilabeksaroten

Z-Oksim (**1.46a**) ve *O*-Me türevi (**1.46b**), ko-transfeksiyon testinde sırasıyla 14 ve 39 nM EC50 değerleri ile RXR/PPAR γ heterodimerinin transaktivasyonunda konsantrasyona bağlı bir artış göstermiştir (Canan Koch ve ark., 1999).

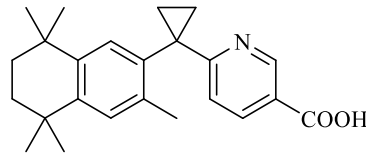


1.46a. R= H
1.46b. R= CH₃

Şekil 1.20. Z-Oksim ve *O*-Me türevi.

(**1.46a**) bileşiğini alan sıçanlarda, kontrol farelerine ve rosiglitazon alan sıçanlara kıyasla, yiyecek alımında azalma ve dolayısıyla vücut ağırlığında bir azalmaya neden olmuştur. Hem (**1.46a**), hem de (**1.46b**) bileşikleri kandaki şeker miktarı normal iken plazma insülin konsantrasyonlarını düşürmüştü ve sonuç olarak insülin duyarlılığı gelişmiştir (Liu ve ark., 2000).

Siklopropil ile süstitüe nikotinik asit içeren LGD100268 (**1.47**) RXR'ye daha spesifiktir ancak LGD1069 (**1.43a**) ile benzer bağlanma afinitesine sahiptir ve 9-*cis*-retinoik asitten en az 10 kat daha düşük konsantrasyonda % 50 maksimum aktivasyon sağlar. Üstelik, ko-transfeksiyon deneylerinde RXR/LXR heterodimerini güçlü bir şekilde aktive eder (Faul ve ark., 2001).



1.47

Şekil 1.21. LGD 100268

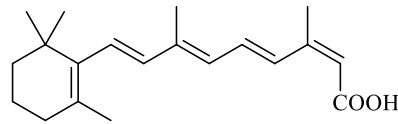
LGD100268 (1.47) alan sıçanlarda aynı zamanda rosiglitazon alan sıçanlara kıyasla gıda alımı ve vücut ağırlığında bir azalmaya neden olmuştur. Farelerin LG100268 (1.47) veya rosiglitazon ile tedavisi, iskelet kasında insülin ile uyarılan glikoz taşınımını önemli ölçüde arttırmıştır (Shen ve ark., 2004).

1.8. Retinoidal Bileşiklerin Terapötik Kullanımları

Retinoid esaslı tedavilerin geliştirilmesine ilişkin uzun süredir devam eden çalışmalar, belli bir dereceye kadar lösemi ve diğer kanserler türlerinde RAR-aracılı sinyalizasyon bozukluğu sonucu kanser oluştuğuna ve deri hücrelerinde de RAR proteininin ekspresyonu ile çeşitli cilt bozukluklarının tedavi edilebildiğine dikkat çekmektedir. Her iki alanda da, retinoid alanındaki gelişmeler önemli klinik faydalar sağlamıştır. Sırasıyla APL ve kronik akne tedavisinde ATRA ve isotretinoinin kullanımı önem kazanmıştır.

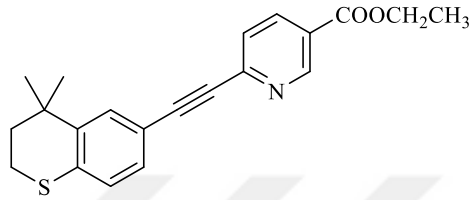
1.8.1. Retinoidal Bileşiklerin Dermatolojik Etkileri

Retinoidler dermatolojik hastalıkların tedavisinde etkilidirler. Oral yolla kullanılan izotretinoin (13-*c*RA) akne vulgaris'in tedavisinde, antibiyotiklerin ve diğer retinoid bileşiklerin başarısız olduğu durumlarda kullanılmaktadır. Bununla birlikte, 13-*c*RA (Şekil 1.22) kuru cilde neden olur ve teratojeniktir. Bu retinoid, doğurganlık çağındaki kadınlara verilebilir, ancak kontraseptifler tedaviden bir ay önce, tedavi sırasında ve tedaviden bir ay sonra verilmelidir.



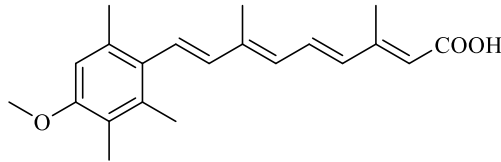
Şekil 1.22. 13-*cis*-RA

Depresyon, 13-cRA'in yan etkileri arasında gözlemlenmektedir (Azoulay ve ark., 2008). Yan etkiler ve hasta uyumu kıyaslandığı zaman kullanımın kısıtlanması doğru bulunmaktadır (D'erre ve ark., 2013). Bazı akne tedavisi gören hastalarda daha düşük toksisiteli retinoidlerin etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Tazaroten (AGN 190168) (Şekil 1.23), Allergan tarafından geliştirilmiş ve birçok hastada akneyi hafifleten RAR β/γ agonisti olan bir bileşiktir.



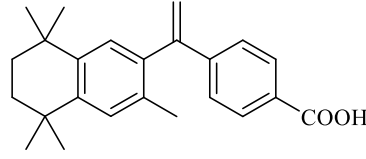
Şekil 1.23. Tazaroten

Asitretin (Şekil 1.24), dermatolojide; kseroderm, liken planus ve sedef hastalığının ağız yoluyla tedavisinde kullanılmaktadır (Ormerod ve ark., 2010). teratojeniktir ve bu nedenle doğum öncesi yaştaki kadınlar da tedaviden 1 ay önce, tedavi sırasında ve tedaviden 2 yıl sonra doğum kontrol yöntemlerinin uygulanmasına devam edilmesi gerekmektedir. Buna ek olarak, RXR agonisti beksaroten (LGD-1069) bileşiği, kutanöz T hücre lenfomaları ve bununla ilişkili lezyonlar için ağız yoluyla ve topikal olarak tedavide kullanılmak üzere 2000'de ABD Gıda ve İlaç İdaresi tarafından onaylanmıştır (Henney, 2000). Bu bileşik ayrıca RAR proteinlerine de bağlanabilir ve bunları etkinleştirebilir.



Şekil 1.24. Asitretin

Beksaroten'de non-hormonal kontrasepsiyon gereklidir, çünkü metabolik enzimlerin ilaçla aktifleşmesi hormonal kontrasepsiyonun etkinliğini azaltır. Bir başka yan etki de, Beksaroten (Şekil 1.25) verilen hastalarda hipotiroid olgular bildirilmiştir (Sherman ve ark., 1999; Smit ve ark., 2007).

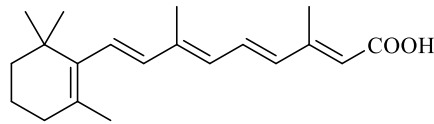


Şekil 1.25. Bekсарoten

Dermatolojik rahatsızlıkların tedavisinde seçici RAR alt tipi yeni sentetik retinoidlerin bulunmasında çok az ilerleme kaydedilmiştir. Ancak, bu süreçte retinoid destekleyicileri ile ilgili gelişmeler olmuştur. Granger ve arkadaşları, destek maddelerinin, ilaç bileşimlerindeki retinol ve retinil esterlerin retinoik aside dönüşmesini sağlayarak ilacın etkisini artırdığını bulmuşlardır (Burger ve ark., 1998; Granger ve ark., 1996; 1997; Granger ve ark., 1998) (Corey ve ark., 1999; Granger ve ark., 1999). Daha yakın zamanda Granger, sinerjik dermatolojik etkiyi optimize ederek retinoid aktivitesini en üst düzeye çıkarmak için gerekli retinoid destekleyici bileşimleri tanımlamıştır (Granger ve ark., 2013).

1.8.2. Retinoidal Bileşiklerin Antikanserojen Etkileri

Bugüne kadar retinoidlerin klinik açıdan en önemli uygulaması, hücre farklılaşmasına engel olan Akut Promiyelositik Lösemi (APL)'nin tedavisinde ATRA'nın kullanılmasıdır. Bir zamanlar tedavi edilemez bir hastalık olan APL için (Lengfelder ve ark., 2005), ATRA (Şekil 1.26), tedavide ilk kullanılan bileşiktir (Altucci ve ark., 2001; Clarke ve ark., 2004).



Şekil 1.26. ATRA

Kanser tedavisinde ATRA'nın kullanım sebebi, yüksek toksisiteye sahip olmasından kaynaklanmaktadır (Patatanian ve Thompson, 2008). ATRA'nın, APL'deki başarısının hücre farklılaşmasını bloke eden PML-RAR α füzyon proteininin

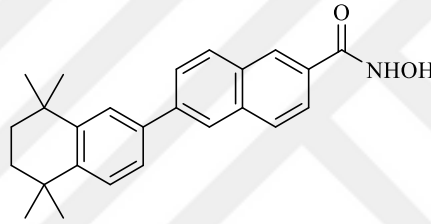
varlığıyla olduğuna dair bir kesinlik bulunmamaktadır (Chen ve ark., 1995). APL ve diğer kanserler için ATRA ile ilişkili toksisiteyi önleyen retinoidlerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

Anormal RAR sinyalinin çeşitli karsinomların patogeneze katkıda bulunduğu kanıtlanmıştır. Bu yüzden kanser tedavisinde, RAR alt tipi seçici retinoidlerin kullanımı bulunmaktadır. Yan ve arkadaşları, hepatoselüler karsinom hücre hattında ve primer tümörlerde artan RAR γ ekspresyon düzeyleri tespit etmişlerdir ve bu hücrelerin büyüme uyarıcı etkisi ATRA tedavisi ile hafifletilmiştir (Yan ve ark., 2010). Buna ek olarak, RAR γ 'nın ATRA ile indüklenen büyüme durmasına ve neoplastik fare papilloma hücre hatlarının apoptozuna aracılık ettiği gösterilmiştir. RAR selektif retinoidler, APL dışındaki kötü huylu tümörlerin tedavisinde etkinlik gösterirler ve bu retinoidlerin bazılarının toksik etkisi yoktur (Dragnev ve ark., 2011; Gniadecki ve ark., 2007). Bir grup retinoidin, baş ve boyun kanserleri tedavisinde de olası kullanımı bulunmaktadır. Baş ve boyun kanserleri; dudaklar, larinks, farinks, ağız boşluğu, burun boşluğu kanserlerini içerir ve tedavi büyük oranda ameliyata dayanır. Ancak ameliyatlar konuşma ve duyma ile ilgili riskler içermektedir (Olson ve Shedd, 1978).

RXR agonisti Beksaroten (Şekil 1.25), insan T hücreli lenfoma ve akciğer kanserlerinde (Dragnev ve ark., 2011; Dragnev ve ark., 2007; Gniadecki ve ark., 2007) ayrıca RAR γ agonistleri de fare epidermal keratinositlerindeki tümör büyümesini baskılamada (Chen ve ark., 2004) potansiyel bir etkinlik göstermişlerdir. Gudas ve arkadaşları, nitrokinolin-1-oksit (4-NQO) ile indüklenen ağız içi kanseri olan farelerde Beksaroten ve RAR γ agonistleri ile tek tek ve birlikte testler yapmışlardır (Gudas ve ark., 2015; Tang ve ark., 2014). Özellikle, 4-NQO ile indüklenen gen ekspresyonu değişikliklerinin, Beksaroten ve RAR γ agonisti tarafından engellendiği görülmüştür.

İn-vitro deneyler, göğüs kanserinin tedavisinde de retinoidlerin etkinliğini göstermiştir (Freemantle ve ark., 2003). Ayrıca, ön klinik çalışmalar da histon deasetilaz inhibitörlerinin (HDAC) göğüs kanserinde etkin olduğu görülmüştür (Fortunati ve ark., 2010; Rao ve ark., 2012). Buna ek olarak, HDAC'in retinoidlerle

bir arada etki göstermesinde meme kanseri hücrelerinin büyümesini baskıladığı bulunmuştur (Emionite ve ark., 2004). Miller ve arkadaşları, TTNN'nin ((6-(5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetrametil-2-naftalen-il)-2-naftalin-karboksilik asit) bir türevi olan hem RAR β hem de RAR γ 'ı agonize eden ve ayrıca histon deasetilazı da inhibe eden bir hibrid molekülü bulmuşlardır (Şekil 1.27) (Miller ve ark., 2013). Bu hibrid molekülün, üç meme kanser hücre hattında (MCF-7, SkBr3 ve MDA-MB-231) *in-vitro* anti-proliferatif etkiye sahip olduğu görülmüştür. Hibrid molekülü, östrojen reseptör ekspresyonunda negatif etkili ve ATRA'ya karşı dirençli olan BT-20 meme kanseri hücre hattına karşı aktif olduğu da gösterilmiştir. Meme kanseri tedavisinde kullanıldığında sağlıklı meme hücreleri üzerinde etki göstermeyerek tedavide umut vaad eden yeni bir moleküldür.

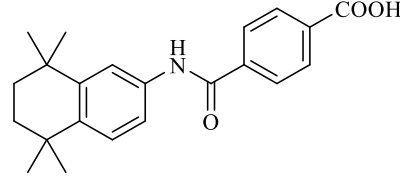


Şekil 1.27. TTNN hibrid molekülü

1.8.3. Retinoidal Bileşiklerin Antinörodejeneratif Etkileri

Amiloid öncü protein (APP) β - ve γ -sekretazlar tarafından eksprese edilir. Disintegrin ve metalloproteinaz 10 (ADAM10) α -sekretaz aktivitesine sahip olan proteolitik enzimlerdir (Endres ve Fahrenholz, 2012). Bu nedenle, ADAM10 düzeylerini artırmak Alzheimer için önemli bir terapötik yaklaşımdır. Retinol ve türevleri, α -sekretaz aktivitesinde artış meydana getirirler (Koryakina ve ark., 2009). Alzheimer hastalarının beyinlerinde retinoid taşınımında bozukluk olduğuna dair bulgular bulunmaktadır ve RAR agonisti Am80'nin 5 aylık farelerin beyindeki A β seviyesini azalttığı görülmüştür (Cramer ve ark., 2012). Yapılan çalışmalarda, Bekсарoten'in tek başına apolipoprotein E'ye bağımlı A β seviyesini artırdığı ve RAR agonisti Am80'nin de (Şekil 1.28) A β seviyesini önemli ölçüde düşürdüğü ve

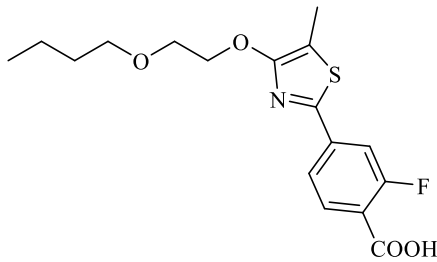
hafızadaki ve öğrenmedeki bozuklukları tersine çevirdiği bulunmuştur (Cramer ve ark., 2012).



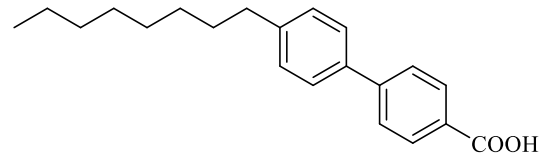
Şekil 1.28. Am80

1.8.4. Retinoidal Bileşiklerin Metabolik Bozukluklardaki Etkileri

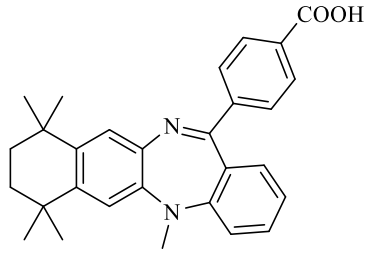
Yüksek yağlı diyet ve/veya vitamin A eksikliğinin doğurduğu sonuçlar ağır olabilmektedir. Kalp, böbrek, karaciğer, testis, pankreas, kanser, felç ve diyabet gibi yaygın hastalıklar bunlar arasında sayılabilirler. Yakın zamanda bulunan seçici RAR β agonistleri, bu gibi rahatsızlıkların potansiyel ilacı gibidir (Gudas ve ark., 2017). RAR β agonize retinoidlerin kullanımı AC261066 (Şekil 1.29), AC55649 (Şekil 1.30), LE135 (Şekil 1.31), AGN190168 (Şekil 1.32), Adapalen (Şekil 1.33), CD-666 (Şekil 1.34) ve 9cRA (Şekil 1.35) yukarıda belirtilen rahatsızlıkların azalmasını sağladığı gözlenmiştir. Özellikle, farelerde diyabet ve diğer pankreas hastalıklarında, insülin ve glukagon hassasiyeti korunmuş veya düzelmiştir.



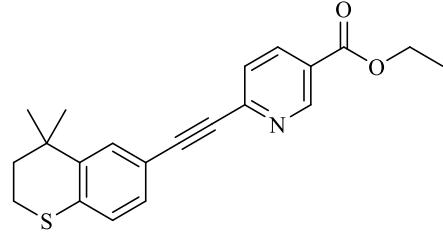
Şekil 1.29. AC 261066



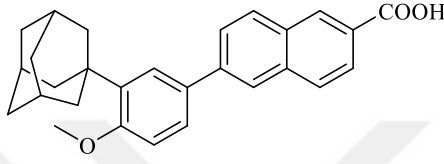
Şekil 1.30. AC 55649



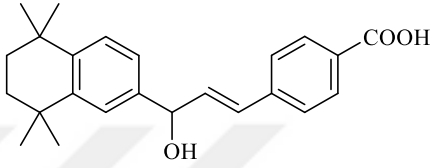
Şekil 1.31. LE 135



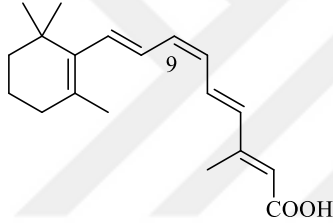
Şekil 1.32. AGN 190168



Şekil 1.33. Adapalene



Şekil 1.34. CD 666



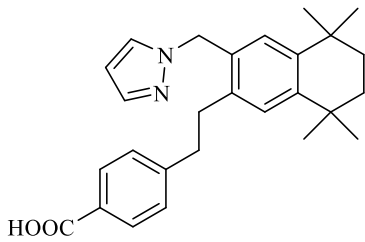
Şekil 1.35. 9-*cis*-retinoik asit

RAR β agonist tedavisinin, letisin: retinol açıltransferazı (LRAT) artırdığı ve karaciğerdeki sterol düzenleyici element bağlama proteini lc düzeyini düşürdüğü bulunmuştur. Özellikle, spesifik RAR β agonisti AC261066 (Şekil 1.29), yağ birikimini önleyerek karaciğer steatozisinde azalmaya neden olduğu bilinmektedir. Ayrıca, RAR β agonistlerinin, karaciğer gibi A vitamini eksikliği olan organlarda A vitamini sinyalinin geri getirebildiğini bulmuşlardır. Ancak bunların dışında retinoidlerin uzun süre terapötik kullanımı ile kabul edilen risklerden biri, serum trigliserit düzeylerinde yükselme eğilimi sonucu kalp hastalığı riskine yol açmasıdır (Barth ve ark., 1993; Cisneros ve ark., 2005; Stoll ve ark., 2004).

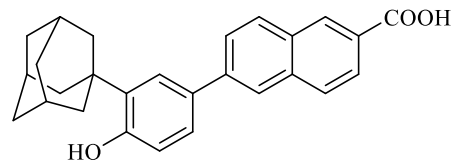
1.8.5. Retinoidal Bileşiklerin Oftalmik Bozukluklar Üzerindeki Etkileri

Keratokonjunktival hastalıklar, kornea ve göz dokusu iltihabına neden olan rahatsızlıklardır. Bu bozuklukların biri diğerini olumsuz olarak etkileyebilir ve hasarlar ciddi olabilir. Keratokonjunktival bozukluklar, kuru göz, keratit, enfeksiyon veya kornea ülserleri gibi rahatsızlıklara bağlı oftalmik durumların iyileşmesinde de gecikmelere yol açar. İyileşmenin gecikmesi ve kollajen yapısındaki bozulma, görme kaybına yol açacak yara oluşumuna neden olabilir. Bu, kollajen degradasyonunun önlenmesi ve onarımı için terapötik bileşiklerin kullanımı önem kazanmıştır.

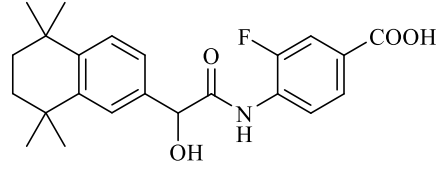
ATRA'nın kornea rejenerasyonunu bilinmeyen bir mekanizma ile artırdığı görülmüştür. Keratokonjunktival bozuklukların tedavi edilmesinde kullanılacak güvenli seçici RAR agonistlerinin geliştirilmesinin tedavide büyük yararlar sağlayacağı düşünülmektedir. Kimura ve arkadaşları, RAR γ agonistleri R-677 (Şekil 1.36), CD-437 (Şekil 1.37) ve BMS961'in (Şekil 1.38) tavşan keratinositlerine karşı test edildiğinde kollajen tip I yıkımını baskılamak için önemli bir kapasite sergilediğini gözlemlemişlerdir. Bu agonistlerin kornea skatrizasyonu ve konjunktival skatrizasyon sırasında kollajen kontraksiyonunu baskılamada etkili olduğu da görülmüştür (Kimura, 2016).



Şekil 1.36. R677



Şekil 1.37. CD437

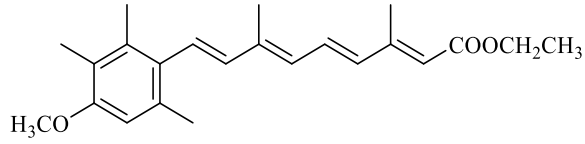


Şekil 1.38. BMS961

1.8.6. Retinoidal Bileşiklerin Antienflamatuar Etkileri

Karaciğerde bulunan, karaciğer sinüzoidal hücreleri, kupffer hücreleri, dendritik hücreler, doğal öldürücü (NK) hücreler, doğal öldürücü T (NKT) hücreleri, alkol kaynaklı karaciğer hasarı sonucunda oluşan inflamasyonda önemli rol oynarlar. NKT hücreleri alkol kaynaklı karaciğer hasarında bağışıklık sisteminin cevabını baskırlar (Crispe, 2009; Nagy, 2015). NKT hücrelerinin aktivitesini inhibe etme kapasiteleri açısından test edilen retinoidler arasında; AM580 (Şekil 1.12), 13cRA (Şekil 1.22), Tazaroten (Şekil 1.23), Asitretin (Şekil 1.24), ATRA (Şekil 1.26), AC55649 (Şekil 1.30), 9cRA (Şekil 1.35) ve Etreinat (Şekil 1.39) yer almaktadır (Chaturvedi, 2012).

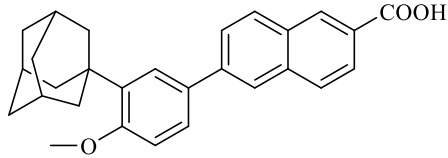
Osteoartrit (OA), eklemleri kaplayan kıkırdağın ve kemiğin aşınması sonucu ortaya çıkan bir hastalıktır. Osteoartrit'te sinovyumun genellikle iltihaplanır ve kemik aşınması nedeniyle oluşan ağrı da artışa neden olur (Davies ve ark., 2009). Retinoidlerin de osteoartritin patolojik sürecinde ağrıyı artırtırmaya katkıda buldukları bilinmektedir. RAR antagonistlerinin kullanımı, osteoartrit nedeniyle oluşan ağrıyı hafifletmek için kullanılabilirler önerilmektedir (Pehlivan ve ark., 2011). Pan-antagonistlerin potansiyel toksik etkilerinden kurtulmak için ve osteoartrit'deki ağrıyı tedavi edebilmek amacıyla pirazol türevi analoglar RARγ selektif antagonistleri olarak kullanılmıştır (Bleisch ve ark., 2012).



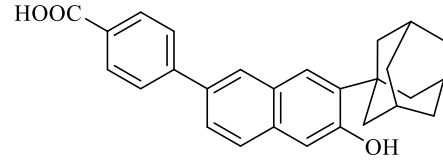
Şekil 1.39. Etretinat

1.8.7. Retinoidal Bileşiklerin Kas Hasarları Üzerine Etkileri

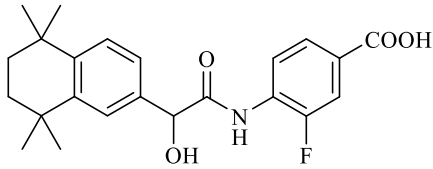
Kas hasarının nedenleri geniştir. Fiziksel hasar, enfeksiyon, vasküler bozulma ve kas distrofisine bağlı hipoksi içerir. Iwamoto ve arkadaşları, kas onarımının RAR γ agonistlerinin sistemik veya lokal olarak uygulanması ile veya kök hücrenin hasarlı bölgeye transplantasyondan önce RAR γ agonistleri ile ön tedavinin gerçekleştiğini bildirmişlerdir (Iwamoto ve Pacifici, 2016). RAR γ agonistleri arasında, CD437 (Şekil 1.37), CD271 (Şekil 1.40), CD1530 (Şekil 1.41) ve BMS 270394 (Şekil 1.42) yer alırlar. Test edilen RAR γ agonistlerinden BMS 270394'ün en etkili molekül olduğu bulunmuştur. RAR γ agonisti BMS 270394'ün, lokal ve sistemik uygulanmasının kas onarımını artırdığı bulunmuştur (Iwamoto ve Pacifici, 2016).



Şekil 1.40. CD 271



Şekil 1.41. CD1530



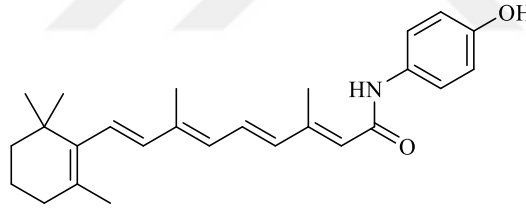
Şekil 1.42. BMS270394

Beksaroten bileşiği, 1999 yılında FDA tarafından onaylanmış ve 2000 yılından itibaren Targretin adı altında çeşitli kanser türlerinde kullanılan bir ilaçtır. Bu ilacın

sentezi (Wagner ve ark., 2009) Journal of Medicinal Chemistry’de 2009 yılında yayımlanmıştır. Biz de bu yayından hareketle Bekсарoten bileşiminin yeni türevlerini sentezlemeyi amaçladık.

Ayrıca, Bekсарoten’in Alzheimer hastalığına karşı beyinde oluşan beta-amiloid plaklarını kısa bir süre içinde erittiğinin ortaya konulmasıyla da (Cramer ve ark., 2012) bu biyolojik etkide de önemli bir inovatif çalışma yapılması olanağı ortaya çıkmıştır.

Bu doktora tez çalışmasında, beksaroten bileşiminin amid türevlerinin hazırlanması düşünülmüştür, ATRA yapısından hareketle sentezlenen Fenretinid (4-hidroksifenil retinamid), (Şekil 1.43) bileşiminin gösterdiği biyolojik aktivite şablonu ve bu bileşimin faz III aşamalarında özellikle meme kanseri başta olmak üzere diğer çeşitli kanser türlerinde test çalışmalarının yapıldığı bilinmektedir. Fenretinid bileşimi retinoik asitin *p*-hidroksi anilin ile amidleştirilmesi sonucu elde edilen bir bileşiktir (Das ve ark., 2008; Wu ve ark., 2008).

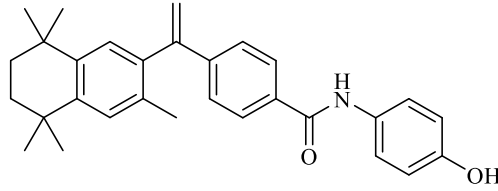


Şekil 1.43. Fenretinid bileşimi'nin kimyasal formülü.

FDA onaylı Bekсарoten bileşimi ile fenretinid bileşiminin hibridleşmesi sonucu elde edilecek türevlerin benzer aktivite şablonu göstermesi büyük bir olasılıkla söz konusu olacağı savı, beksaroten bileşimi ile fenretinid bileşiminin amid yapısı şeklinde hibridleştirilmesi (Şekil 1.44) ile oluşan yeni bir molekülün sentez edilmesi ile de bu tezdeki inovasyona yönelik düşüncenin ve amacın ne kadar önemli olduğunu vurgulamaktadır. Yeni bir ilaç geliştirme konusunda bilim dünyasında çalışmalar yapan araştırmacıların, bizim bu doktora tezi ile sunduğumuz düşünceye benzer çalışmalar yaptığını ve bunun sonucu olarak da beksaroten ile fenretinid yapısının

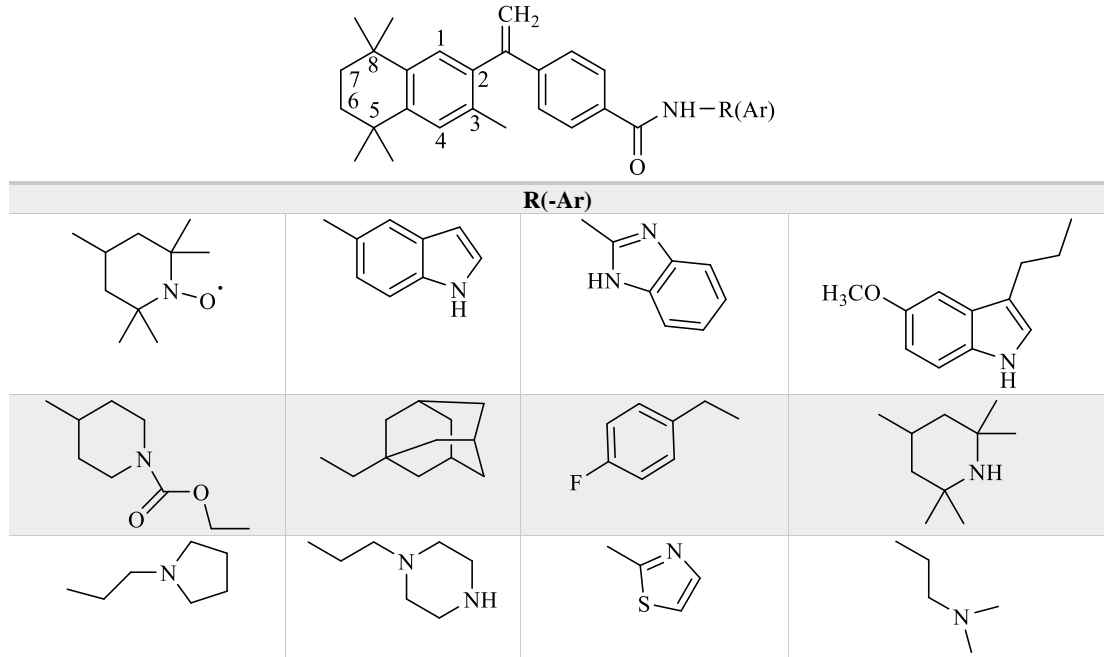
hibridleştirildiğini görmekteyiz (Boehm ve Heyman, 2010). Bu da, tezin özgün değerini açıklayabilecek önemli unsurlardan bir tanesidir.

Böylece, organik sentez ile elde edilecek her bir Bekсарoten türevi bileşiğin potansiyel ilaç olma kapasitesinin yüksek olacağı düşünülmektedir.



Şekil 1.44. Bekсарoten ve fenretinid hibrid bileşiği.

Çizelge 1.2. Tasarlanan 3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen yapısındaki bileşiklerin kimyasal yapısı.



Her ilaçta olduğu gibi, Bekсарoten bileşiğinin de çeşitli yan etkileri söz konusudur. Bunlar arasında hipotiroidizm, hiperlipidemi ve doz konsantrasyonuna bağlı olarak ortaya çıkan RAR agonizması sonucu kütanoz toksisitesi bilinmektedir. Bu nedenle, yeni ve daha düşük toksisite gösterebilecek bileşiklere gereksinim

duyulmaktadır. Bir karboksil yapısının (Beksaroten'de var olan) amid yapısına dönüştürülmesi, toksisitenin azalmasına yol açabilmektedir.

Bu doktora tez çalışmasında da, halen bir kanser hastalığında ilaç olarak kullanılan ve çeşitli kanser türlerinde faz II/III aşamalarına gelmiş olan Beksaroten bileşiğinden hareketle yeni amid türevi bileşiklerin sentezleri, moleküler modelleme çalışmaları ve çeşitli kanser doku türlerindeki sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi çalışmaları amaçlanmıştır.



2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Sentez Edilen Maddelerin Analitik İncelemelerinde Uygulanan Yöntemler

2.1.1. Kromatografik Analizler

Sentez çalışmaları sırasında reaksiyonların yürüyüşünü takip etmek, elde edilmiş olan ürünlerin saflık derecelerini saptamak amacı ile İnce Tabaka Kromatografisinden (İTK) yararlanılmıştır. Bu amaçla Kieselgel-60 GF₂₅₄ kaplı alüminyum plaklar (Merck) kullanılmıştır. Lekelerin belirlenmesinde 254 nm ve 366 nm dalga boyundaki UV ışığından (CAMAG marka UV lambası) yararlanılmıştır. Kolon kromatografisi için silikagel 60, 0.040-0.060 mm (230-400 mesh) kullanılmıştır.

İTK çalışmalarında aşağıda belirtilmiş olan çözücü sistemleri kullanılmıştır.

Çözücü Sistemi-1	<i>n</i> -Hekzan : Diklorometan	(3:1)
Çözücü Sistemi-2	<i>n</i> -Hekzan : Etilasetat	(2:1)
Çözücü Sistemi-3	<i>n</i> -Hekzan : Etilasetat	(3:1)
Çözücü Sistemi-4	<i>n</i> -Hekzan : Etilasetat	(4:1)
Çözücü Sistemi-5	<i>n</i> -Hekzan : Etilasetat: Amonyak	(3:1:0.1)

2.1.2. Erime Noktası Tayinleri

Erime noktası tayini, Elektrotermal 9100 kapiller erime noktası cihazı ile yapılmış ve sonuçlar düzeltilmeden verilmiştir.

2.1.3. Elementel Analiz

Elementel analizler, Leco 932 CHNS Elementel analiz cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

2.1.4. Spektral Analizler

2.1.4.1. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektrumları

¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları, Varian Mercury-400 FT-NMR spektrometresinde alınmıştır.

2.1.4.2. Kütle (MASS) Spektrumları

Kütle (Mass) analizleri, LC (Waters, Alliance) ve Waters ZQ mikromass MS spektrometresinde, elektrosprey iyonizasyon (ESI) yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

2.2. Sentez İşlemlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler

2,5-Dimetil-2,5-hekzandiol (Aldrich), potasyum bis(trimetilsilil)amid (Aldrich), metiltrifenilfosfonyum bromür (Aldrich), 5-aminoindol (Aldrich), 2-aminobenzimidazol (Aldrich), 3-(2-Aminoetil)indol (Aldrich), 1-adamantanmetilamin (Aldrich), 4-fluorobenzilamin (Aldrich), 4-aminopiperidin-1-karboksilik asit etil esteri (Aldrich), 2,2,6,6-tetrametilpiperidin-4-amin (Aldrich), 4-amino-2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oksil (Aldrich), *N*-(2-aminoetil)-pirolidin (Aldrich), 3-dimetil-amino-propilamin (Aldrich), 2-aminotiyazol (Aldrich), *N,N'*-karbonildiimidazol (*N,N'*-CDI) (Aldrich), tiyoniklorür (Fluka), alüminyum triklorür (Merck), hidroklorik asit (%37) (Riedel-de-Haën), sülfirik asit (%95-97) (Fluka), potasyum hidroksit (Aldrich), susuz sodyum sülfat (Aldrich), hekzan (Sigma-Aldrich),

etil asetat (Sigma-Aldrich), metanol (Riedel-de-Haën), toluen (Merck), etanol (Riedel-de-Haën), silikajel 60 (0.040-0.060 mm; 230-400 Mesh) (Merck), diklorometan (Riedel-de-Haën), kloroform (Riedel-de-Haën), N,N-dimetilformamid (DMF) (Sigma).

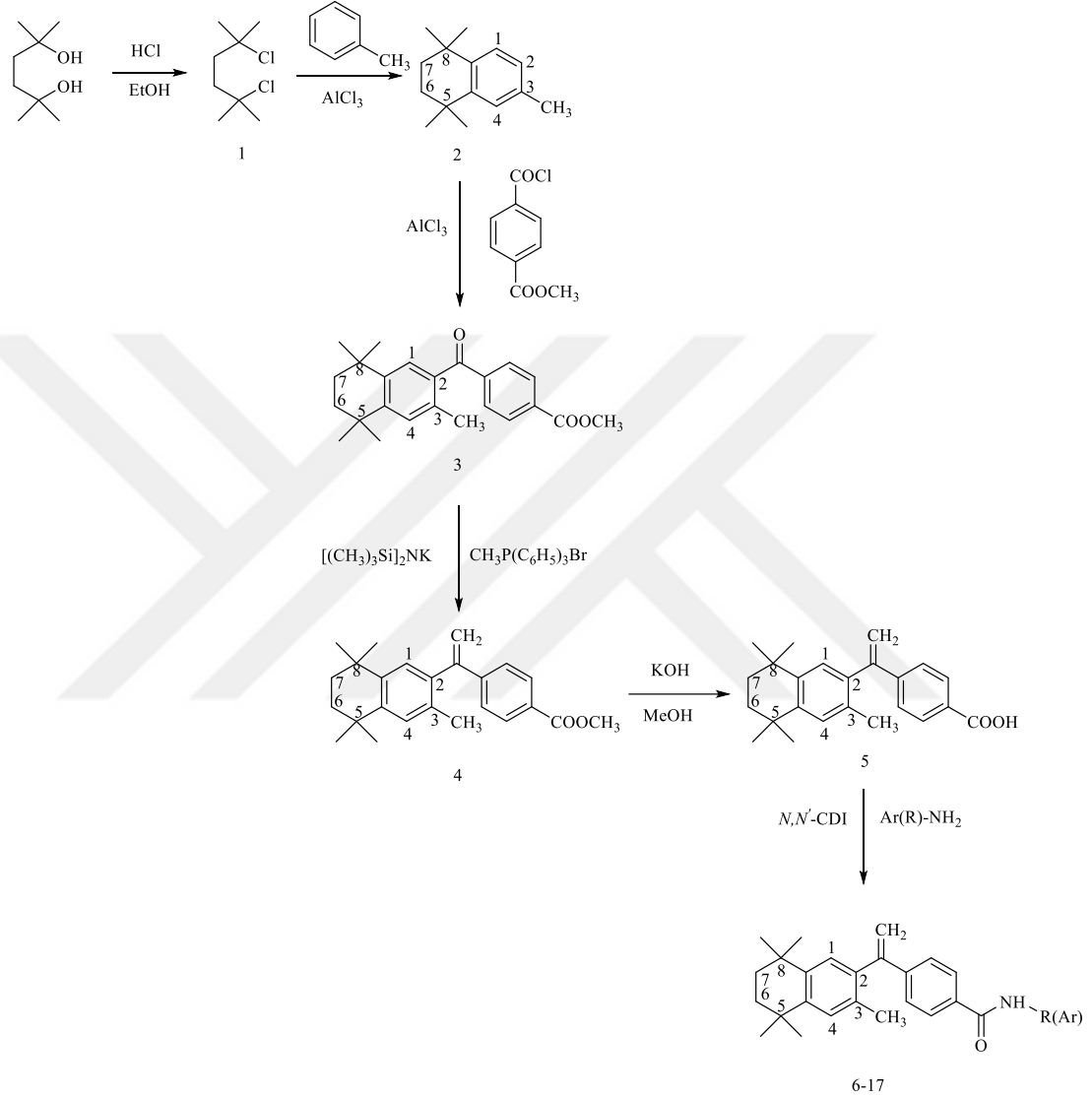
2.3. Tasarlanan Türevlerin Sentezi

4-[1-(3,5,5,8,8-pentametil-6,7-dihidronaftalen-2-il)etenil]benzoik asit **(5)** bileşiğinin karboksilik asit grubu ile seçilmiş amin türevleri arasında amid bağı oluşturularak yeni redinoidal bileşikler sentezlendi.

Başlangıç maddesi olan 2.5-dimetil-2,5-hekzandiol bileşiğinin hidroksil grupları, kuru HCl gazı ile doyurulmuş mutlak etanol içinde klorlanarak, 2.5-dikloro-2.5-dimetil hekzan **(1)** bileşiği sentezlendi (Boehm ve ark., 1994). Toluene AlCl₃ katalizörlüğünde Friedel-Crafts alkilasyon reaksiyonu ile alkillenerek, 1,2,3,4-tetrahidro-1,1,4,4,6-pentametilnaftalen **(2)** bileşiği sentezlenmiştir (Boehm ve ark., 1994). Mono metil tereftalat klorür bileşiği ile elde edilen bileşik AlCl₃ katalizörlüğünde Friedel-Crafts açılasyon reaksiyonu ile metil-4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)karbonil]benzoat **(3)** bileşiğine geçildi.

Daha sonra bu bileşiğin toluen ortamında ve azot gazı altında metiltrifenilfosfonyumbromür ve potasyum bistrimetilsililamid ile reaksiyona sokulması ile keton yapısının olefinik yapıya dönüştürülmesi sağlandı ve metil-4-(1-(1,2,3,4-tetrahidro-1,1,4,4,6-pentametilnaftalen-7-il)vinil)benzoat **(4)** bileşiği elde edildi . Bu bileşik daha sonra potasyum hidroksitin (KOH) sulu çözeltisiyle metanol (MeOH) içinde reaksiyona sokularak 4-[1-(3,5,5,8,8-pentametil-6,7-dihidronaftalen-2-il)etenil]benzoik asit **(5)** bileşiği elde edildi.

Yeni retinoidal türevi sonuç bileşikler (**6-17**), (4-[1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)etinil]benzoik asit) (**5**) daha sonra çeşitli amin türevleriyle amidleştirme reaksiyonuna tabi tutularak elde edildi (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Yeni retinoidal amid türevi bileşiklerin sentezi.

2.4. Sentezlenen Bileşiklerin Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Çalışmada sentezlenen 12 adet test bileşiğinin *in vitro* sitotoksik etki potansiyellerini belirlemeye yönelik biyolojik aktivite çalışmaları Hacettepe

Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji A.B.D’da Dr. Egemen Foto ve Dr. Fatma Zilifdar tarafından gerçekleştirilmiştir.

Test bileşikleri kullanılan yöntemler için uygun olan çözücülerden biri olan DMSO içerisinde hazırlanmış ve kullanımlarına kadar -20 °C’de saklanmışlardır. DMSO çözücü kontrol olarak test sisteminde incelenmiş ve uygulanan konsantrasyonlarının test sisteminde etkisi olmadığı teyit edilmiştir.

2.4.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

Çalışmada kullanılan sodyum klorür (NaCl), potasyum klorür (KCl), monobazik potasyum fosfat (KH₂PO₄), dibazik sodyum fosfat (Na₂HPO₄), glasiyel asetik asit Merck’den; sulforhodamine B (SRB), trikloroasetik asit (TCA), dimetilsulfoksit (DMSO), tripan blue, Sigma’dan, Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), fetal dana serumu (FBS), penisilin-streptomisin çözeltisi, tripsin-EDTA Lonza’dan temin edilmiştir.

2.4.2. Sülfürodamin B (SRB) Yöntemi

Literatüre bakıldığında hücre hatlarında sitotoksik etkinin değerlendirilmesi için bileşiklerle muamele edilmiş hücrelerde % canlılık ölçümüne dayalı yüksek ölçekli (high-throughput) yöntemler kullanıldığı görülmektedir (Boyd, 1997). Bu yöntemler çok sayıda bileşiğin hızlı bir şekilde aynı anda çok sayıda hücre hattında taranmasına olanak verdiği için sıklıkla tercih edilmektedirler. Bunlar içerisinde MTT, XTT ve SRB yöntemleri en sık kullanılanlardır. XTT ve MTT hala sıklıkla kullanılan yöntemler olsa da bazı dezavantajları nedeniyle NCI’in de dahil olduğu çok sayıda grup tarafından alternatif yöntemler tercih edilmektedir. Bu yöntemler renksiz bir tetrazolyum tuzunun hücresel faaliyetler sonucu indirgenmesi ve formazan kristalleri oluşturması reaksiyonunu baz alan yöntemlerdir. XTT yönteminde formazon kristalleri suda çözünebilir olması nedeniyle MTT yöntemine göre daha kolay olan bir

yöntemdir. Ancak her iki yöntemde de kullanılan tetrazolyum tuzlarının kararsız oluşu hataya sebebiyet verebilmektedir. Ayrıca bu yöntemlerin en büyük problemi formazan kristallerini oluşumu için hücrel NADPH ve NADH gerektirmesidir. Çünkü bu moleküllerin miktarı hücredeki glukoz seviyesine bağlı olarak değişebilmektedir ve analiz sürecinde bu moleküllerin miktarındaki dalgalanma yanlış sonuçlara neden olabilmektedir. Formazan kristallerinin oluşumu için gerekli pH'nın optimal bir şekilde sağlanamaması da yöntemin kullanımını kısıtlayan bir diğer faktördür. Yine yapılan bazı çalışmalarda test edilen bileşiklerin tetrazolyum tuzları ile reaksiyona girdiği ve yanlış sonuçlar elde edildiği de bildirilmiştir. Bu nedenle çoklu taramalar için tetrazolyum bazlı olmayan farklı yöntemler arayışına girilmiştir. Bunlar arasında nötral red yöntemi (NRU), resazurin indirgenmesi yöntemi (RES) ve SRB yöntemi en dikkat çekenlerdir. Ancak literatürde SRB yönteminin bu yöntemler arasında en iyi sonuç veren yöntem olduğu bildirilmiştir (Skehan ve ark., 1990; Vichai ve Kirtikara, 2006).

Yöntemde hücreler test bileşikleriyle çok kuyucuklu kültür kaplarında muamele edilmesinin ardından TCA ile fikse edilir. Ardından SRB boyası ile inkübe edilen kuyucuklar yıkanarak protein ile bağlanmayan fazla boya uzaklaştırılır. Kuyucuk yüzeyinde kalan boyanmış hücre debrisinin tampon içinde çözülmesi sonrası spektrofotometrik okuma yapılır. Elde edilen verilere göre % canlılık değerleri hesaplanır (Keepers ve ark., 1991; Perez ve ark., 1993; Skehan ve ark., 1990; Van Tonder ve ark., 2015; Vichai ve Kirtikara, 2006).

SRB yönteminde hücrel faaliyetin ölçümünden ziyade protein ve biyokitle miktarı ölçümü hücre canlılığı hakkında bilgi verir. Yöntemde proteinlerin bazik amino asitlerinin anyonik SRB boyası ile boyanması söz konusudur. Boya ile bağlanan protein miktarı, hücre canlılığı hakkında bilgi vermektedir. Yöntemin en büyük avantajı hücre sayısına bağlı lineer bir grafik elde edilebilmesidir. Ayrıca hücrel metabolik faaliyetlerden bağımsız olarak boyama yapıldığı için kültür koşullarından daha az etkilenmektedir. İhtiyaç duyulan ekipman ve malzemelerin ucuz ve kolay bulunabilir olması ile işlem basamaklarının kolaylığı da yöntemin tercih edilmesinin

sebepleri arasındadır (Van Tonder ve ark., 2015; Vichai ve Kirtikara, 2006; Voigt, 2005).

2.4.3. Kullanılan Hücre Hatları ve Genel Kültür Çalışmaları

2.4.3.1. Kullanılan Hücre Hatları

Tez çalışmasında test bileşiklerinin *in vitro* antikanser potansiyellerinin belirlenmesi amacıyla insan akciğer kanser epitel hücre hattı (A549) [ATCC®CCL-185™], insan meme kanseri hücre hattı (MCF-7) [ATCC®HTB-22™], insan serviks adenokarsinom hücre hattı (HeLa) [ATCC®CCL-2™] ve insan kolorektal adenokarsinom hücre hattı (WiDr) [ATCC®CCL-218™] olmak üzere 4 farklı kanser hücre hattı kullanılmıştır.

2.4.3.2. Hücrelerin Üretilmesi

Deney aşamalarında sıvı azot tankından alınan hücreler hızlı bir şekilde 37 °C'de su banyosu içerisinde çözülmüştür. Örnekler DMSO'nun uzaklaştırılması amacıyla besi ortamı içerisinde 1000rpm'de 5 dk santrifüj edildikten sonra %10 FBS, %1 penisilin-streptomisin içeren DMEM besi yerleri içerisine ekilmiştir. Hücrelerin 37°C'de %5 CO₂ ve %95 nem içeren inkübatörde steril koşullarda üremeleri sağlanmıştır.

Kültür kaplarındaki besi ortamı 3 günde bir tazelenmiştir. Hücreler 2 kez pasaj yapıldıktan sonra %70-80 çoğalma sağlandığı kültür kaplarından toplanarak deneylerde kullanılmıştır. Deneylerde en fazla arka arkaya 5-8 pasaj yapılan hücreler kullanılmış ve her defasında yeni stok kültürler canlandırılmıştır.

%70-80 çoğalma sağlanan kültür kaplarındaki hücreler 5dk %0.25 tripsin-EDTA muamelesi ile kültür kaplarından ayrılmıştır. Tripsinin inhibe edilesi amacıyla %10 Fetal Bovine Serum (FBS) içeren Dulbecco's Modified Eagle Media (DMEM) ortamına alınan hücreler 10000 rpm'de 5 dk santrifüjlenerek tripsin uzaklaştırılmıştır. Besi ortamı içerisinde süspansiyon edilen hücrelerden alınan örnek ile hücre canlılığı ve hücre sayısı belirlenmiştir. Deneylerde %95 ve üzerinde canlılığa sahip hücreler kullanılmıştır.

2.4.4. Sülförödamın B (SRB) Yöntemi

Çalışmada test edilen bileşiklerin sitotoksik aktivitelerinin araştırılması amacıyla sülförödamın B (SRB) yöntemi kullanılmıştır. Yöntem, anyonik sülförödamın B boyasının fikse edilmiş hücrelerdeki bazı proteinlere bağlanmasını esas alır. Dolayısıyla deney sonunda test bileşiklerinin değişik konsantrasyonları ile muamele edildikten sonra spektrofotometrede okunan renk yoğunluğunun azalması hücre sayısının azalması ile doğru orantılı olarak değerlendirilir. Vichai ve Kirtikara (2006)'nın, literatürde belirttiği yöntem esas alınarak uygulanan deney basamakları aşağıda detaylı bir şekilde açıklanmıştır (Vichai ve Kirtikara, 2006).

2.4.4.1. Test Bileşiklerinin Hazırlanması

Test bileşikleri 12.5 mM olacak şekilde %100 DMSO içerisinde çözülerek stok halinde saklanmıştır. Bu stok çözeltilerden alınan örnekler tam besi ortamı (%10 FBS, %1 penisilin-streptomisin içeren DMEM) içerisinde çözülerek 100 µM'lık ilk bileşik konsantrasyonu hazırlanmış ve bu konsantrasyonda test bileşiklerinin her bir kanser hattı üzerindeki sitotoksik etkileri açısından taranmıştır. Elde edilen verilere göre uygun bileşikler etki gösteren hücreler üzerinde uygulanmak üzere tam besi ortamı ile ½ oranında seri seyreltilerek en az 5 bileşik konsantrasyonu (50 µM, 25 µM, 12.5 µM, 6.25 µM, 3.125 µM) hazırlanmıştır.

Negatif kontrol olarak % 0.5 DMSO, pozitif kontrol olarak ise kamptotesin (CPT) kullanılmıştır.

2.4.4.2. Hücrelerin Hazırlanması

Hücreler üretilip toplandıktan sonra hücre canlılığı değerlendirilmiş ve hücre sayımları yapılmıştır. Hazırlanan hücre süspansiyonundan 96 kuyucuklu mikropiğin kuyucuklarının her birine 100'er µl ($1-2 \times 10^4$ hücre) eklenmiştir.

2.4.4.3. Test Bileşikleri ile Muamele

Hazırlanan mikropiğlar 24 saat 37 °C'de %5 CO₂ içeren etüvde inkübe edilmiştir. Süre sonunda mikropiğ kuyucuklarındaki besiyerleri uzaklaştırılmıştır. Tam besi yeri içerisinde en az 6 konsantrasyon olarak hazırlanan test bileşikleri, pozitif ve negatif kontroller mikropiğ kuyucuklarındaki ilgili yerlere eklenmişlerdir. Her değişken için 3'er kontrol kullanılmıştır. Hazırlanan mikropiğlar 48 saat 37 °C'de %5 CO₂ içeren etüvde inkübe edilmiştir.

2.4.4.4. Fiksasyon ve Boyama

Bileşikler ile muamele süresi sonunda mikropiğ kuyucuklarındaki besi yerleri uzaklaştırıldıktan sonra 100 µl soğuk TCA eklenmesini takiben 1 saat 4 °C'de inkübe edilerek fiksasyon sağlanmıştır. İnkübasyondan sonra piğlar yıkayıp kurutulduktan sonra oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Her bir kuyucuğa SRB boya çözeltisinden 100 µl eklendikten sonra oda sıcaklığında 30 dk inkübe edilmiştir. Süre sonunda piğlar %1'lik asetik asit ile yıkandıktan sonra kuruması için oda sıcaklığında bekletilmiştir.

2.4.5. Sonuçların Değerlendirilmesi

Boyama işleminden sonra her bir kuyucuğa 200 mikrolitre 10mM (pH10.5) Tris baz solüsyonu eklenip 15 dk çalkalanarak boyanın çözünmesi sağlanmıştır. Hazırlanan plaklardaki kuyucukların absorbansları 510 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Her bir doz için okunan absorbans değerleri kontrol kuyucukların absorbansları ile karşılaştırılmıştır. Aşağıdaki formüller kullanılarak bileşiklerin uygulanan her bir dozu için % canlılık ve % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır.

$$\% \text{ canlılık}(A) = \frac{OD_{\text{örnek}}}{OD_{\text{kontrol}}} \times 100$$

$$\% \text{ üreme inhibisyonu} = 100 - A$$

Deneyler en az 3 kez tekrar edilmiş ve % canlılık ortalamaları standart sapmaları ile birlikte hesaplanmıştır. Sonuç olarak bileşiklerin IC₅₀ değeri S-probit analiz programı ile belirlenmiştir.

2.4.6. İstatistiksel Analiz

SRB testinden elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmeleri Graphpad Prism5 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Verilerin normal dağılıp dağılmadığı Kolmogorov Smirnov testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arasında ortalamalar yönünden farkın önemliliği bağımsız grup sayısı iki olduğunda Student's t testi ile; ikiden fazla grup arasındaki farkın önemliliği ise Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ile değerlendirilmiştir. İki den fazla grup arasındaki farkın önemliliği ise Kruskal Wallis testi ile değerlendirilmiştir. Kruskal Wallis test istatistiği sonucunda anlamlı farkın ($p < 0.05$) görülmesi halinde Dunn's çoklu karşılaştırma testi kullanılarak anlamlı farklılığa neden olan doz grup/grupları belirlenmiştir. Tanımlayıcı istatistikler; sürekli değişkenler için ortalama \pm standart sapma olarak gösterilmiştir.

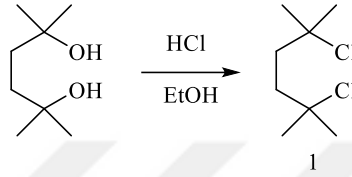
2.5. Sentezlenen Türevlerin Moleküler Doking Çalışma Metodu

Bileşiklerin enzim aktif yöresindeki etkileşimlerini incelemek amacıyla Autodock 4.2.1 ve Vina 1.0.2 yazılım programı (The Scripps Research Institute, La Jolla CA, USA) kullanıldı. RXR α -BMS649 kompleksi (PDB ID 1MVC), kristal yapıları Protein veri tabanından (PDB) elde edildi. Proteindeki moleküllerin su molekülleri silindi ve hidrojen atomları eklendi. Autogrid kullanılarak aktif bölgenin docking grid alanı tespit edildi. Grid boyutu 0.375Å'lık grid boşluğuyla 40 x 40 x 40 boyutları olarak belirlendi. Enzim-ligand kompleksinin kristal yapısındaki ligand, grid kutusunun ortasına gelecek şekilde ayarlandı. Bileşiklerin iki boyutlu yapıları ChemBioDrawUltra 11.0 kullanılarak çizildi ve HyperChem8.0 ile enerji minimizasyonları yapıldı. Minimize edilen bileşikler Autodock ile uyumlu olması için mol2 formatına dönüştürüldü. Protein yapıları ve bileşikler Autodock 4.2.1 ve Vina 1.0.2 yazılım programı ile birleştirildi. Rijit root (rigid root) ve dönebilen bağlar (rotatable bonds) ADT kullanılarak tanımlandı. Sonuçlar, ligand uyumuna, düşük bağlanma enerjisine ve RXR α ile oluşan hidrojen bağlarına göre sıralandı. Doking simülasyonu sırasında, ligand bağlanma bölgesi içerisinde tamamen optimize edildi. Bileşiklerin tahmin edilen en düşük bağlanma enerjisindeki konformasyonlarıyla, RXR α aktif bölgesine bağlanma özellikleri ve biyolojik aktiviteleri arasındaki ilişki değerlendirildi.

3. BULGULAR

3.1. Başlangıç Maddelerinin Sentezi

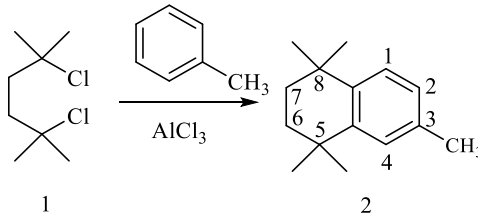
3.1.1. 2,5-Dikloro-2,5-dimetilhekzan (1)



0,5 g (3,4 mmol) 2,5-dimetil-2,5-hekzandiol, 4 ml mutlak etanol içinde çözüldü. Reaksiyon ortamı kahverengiye dönerek beyaz kristaller oluşuncaya kadar HCl gazı geçirildi. Reaksiyon ortamı buz banyosunda 5°C'ye kadar soğutuldu. Çöken kristaller Buchner hunisinden süzüldü. Soğuk etanolle yıkandı ve etanol ile kristallendirildi. Elde edilen beyaz kristaller vakumlu etüvde kurutuldu. Sonuç ürün % 65 verimle elde edildi.

E.N.: 64,4-66 °C, lit. E.N: 63-65,8 °C (Wagner ve ark., 2009).

3.1.2. 1,1,4,4,6-Pentametil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen (2)

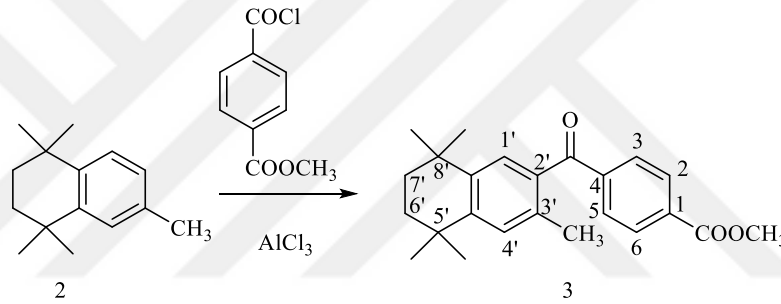


1 g (5,45 mmol) 2,5-dikloro-2,5-dimetilhekzan (1), 1g (10,85 mmol) toluen ile 5 ml diklorometan içinde çözüldü. Karışıma 10 mg (0,1 mmol) AlCl₃ yavaş yavaş ilave edildi ve HCl gazı çıkışı gözlemlendi. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 30 dk

karıştırıldıktan sonra 15 dk reflux edildi. Daha sonra reaksiyon karışımı buz banyosuna döküldü. 1 ml %20'lik HCl solüsyonu ilave edildi. Karışım üç kere 10 ml hekzan ile ekstre edildi. Organik faz su ile yıkandı, susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu. Vakumda yoğunlaştırıldı. Etanol ile kristalizasyon yapıldı ve beyaz kristal madde elde edildi. Sonuç ürün % 60 verimle elde edildi.

E.N: 33-35 °C, lit. E.N: 34-36 °C (Wagner ve ark., 2009).

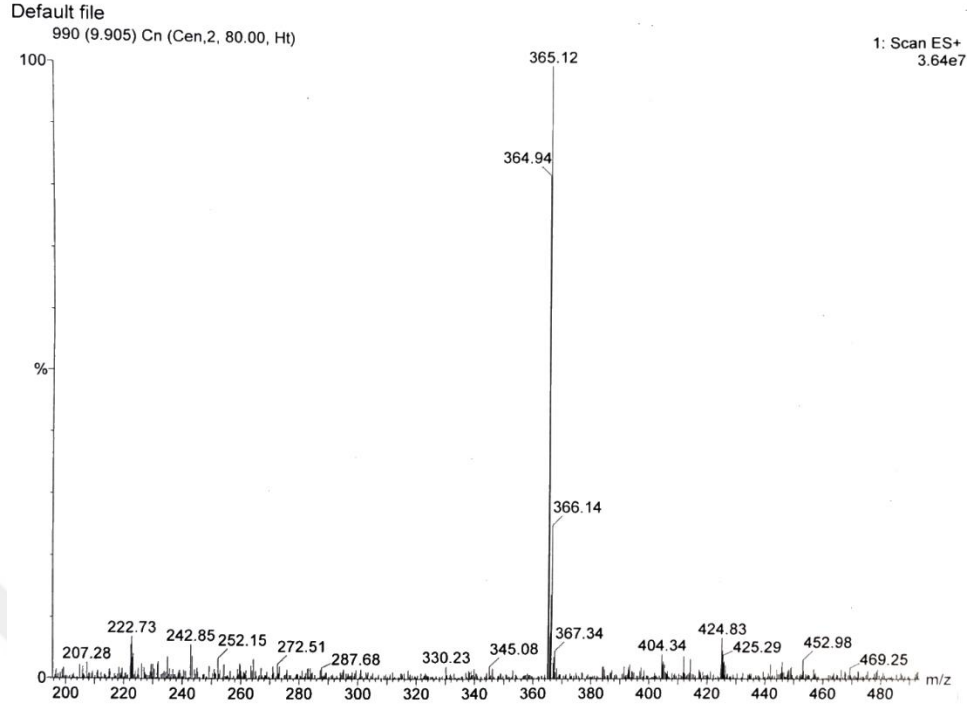
3.1.3. Metil 4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)karbonil]benzoat (3)



1 g (4,94 mmol) 1,1,4,4,6-Pentametil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen (2), 5 ml DCM ile çözüldü. Sonra 5,62 mmol mono metil tereftalat klorür ilave edildi. Karışıma 1,4 g (5,3 mmol) AlCl₃ yavaş yavaş ilave edildi. Oda sıcaklığında 30 dk karıştırıldı. Reaksiyon karışımı 15 dk reflux edildi. Daha sonra karışım buz banyosuna döküldü. 5 ml %20'lik HCl solüsyonu ile asitlendirildi. Karışım üç kere 20 ml etil asetat ile ekstre edildi. Organik fazlar birleştirilip, susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu ve vakumda yoğunlaştırıldı. Etanol ile kristalizasyon yapıldı ve beyaz kristal madde elde edildi. Sonuç ürün % 18 verim ile elde edildi.

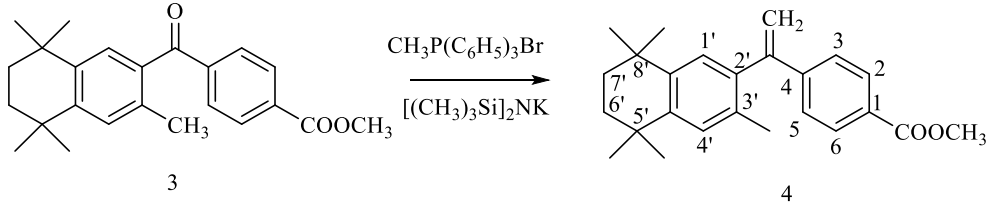
E.N.: 133-136 °C, lit. E.N: 143-144°C (Wagner ve ark., 2009).

Kütle Spektromu: m/z (ES⁺): 365,1 (M+H, 100).



Şekil 3.1. Bileşik 3'ün kütle spektrumu.

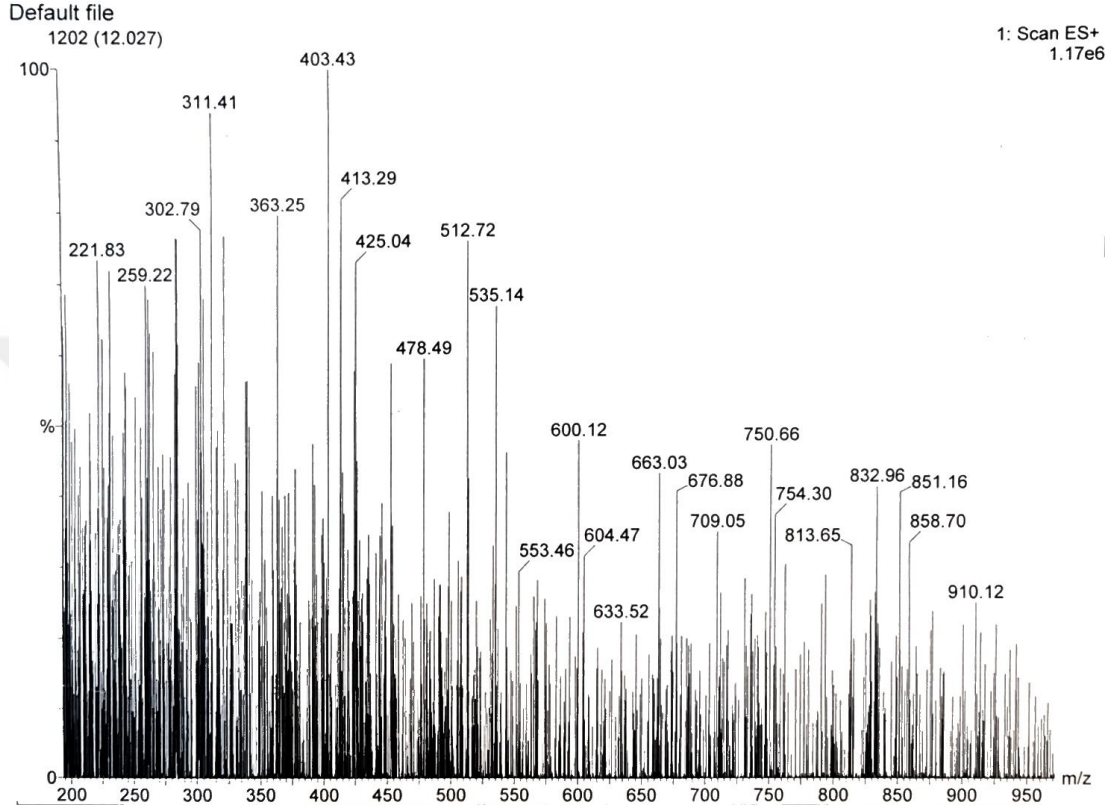
3.1.4. Metil 4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)vinil]benzoat (4)



1,46 mmol, 0.522 g metiltrifenilfosfonyumbromür ve 3,10 ml potasyumbistrimetilsililamid 0°C'de toluen içinde çözüldü. Metil 4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)karbonil]benzoat bileşiği 5ml toluen içinde çözüldü. Damla damla karışıma ilave edildi ve 4 saat 0-5°C'de karıştırıldı. Vakumda konsantre edildi. Su eklenip, dietileter ile ekstre edildi. Organik fazlar birleştirilip, susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu ve vakumda yoğunlaştırıldı. Elde edilen ham ürün *n*-hekzan : etilasetat (4 : 1) solvan sistemi kullanılarak, kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Sonuç ürün % 45 verimle elde edildi.

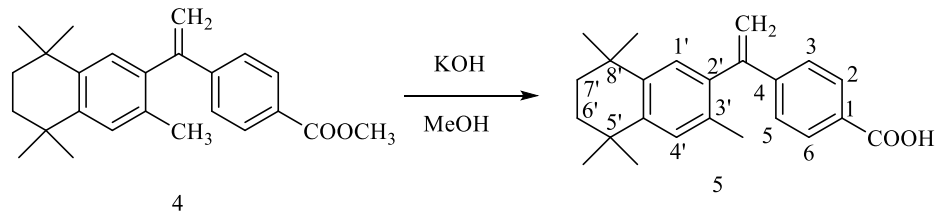
E.N.: 145-148 °C, lit. E.N.: 148-150°C (Wagner ve ark., 2009).

Kütle Spektrumu: m/z (ES+): 363,25 (M+H, 100); 403 (M+K).



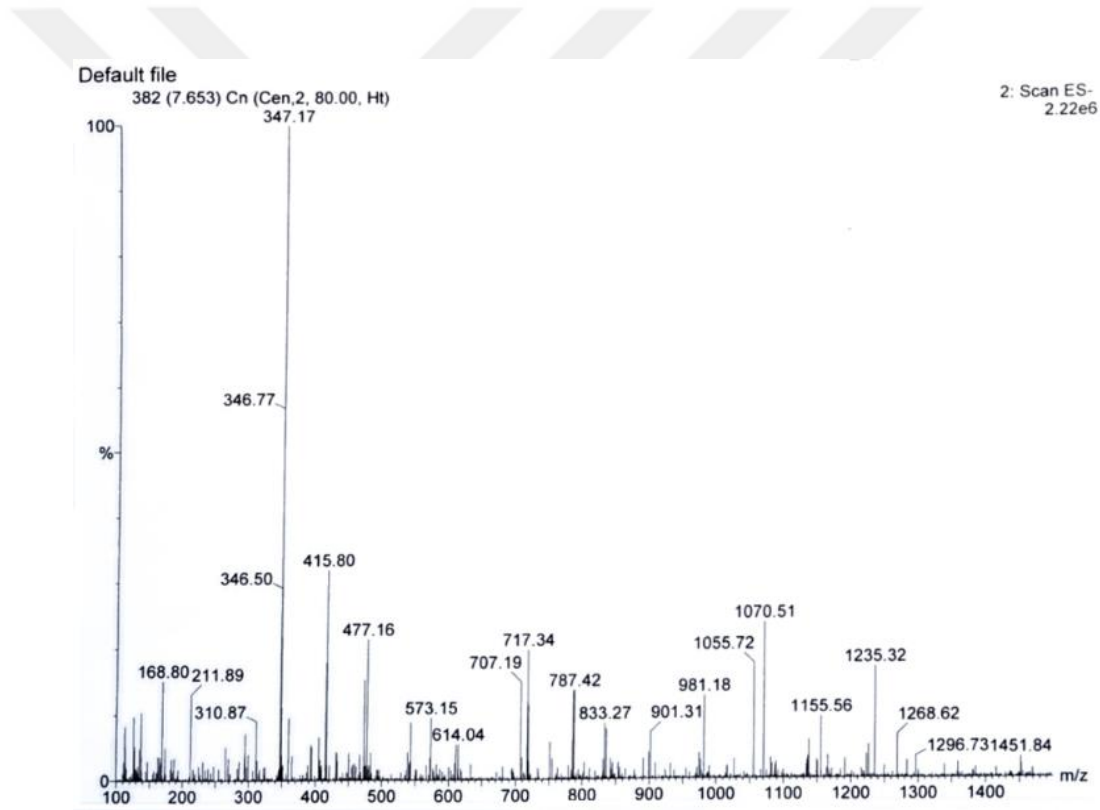
Şekil 3.2. Bileşik 4'ün kütle spektrumu.

3.1.5. Metil 4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)vinil]benzoik asit (5)



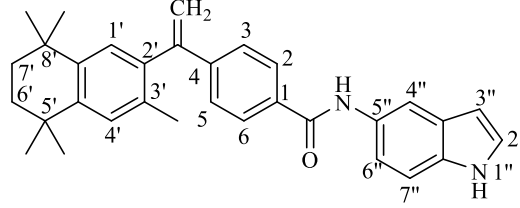
1,39 mmol, 0,505g metil 4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)vinil]benzoat bileşigi metanol içinde çözüldü. 5M KOH ile 1 saat refluks edildi. Oda sıcaklığına soğutuldu ve %20 HCl (20 ml) solüsyonu ilave edildi. Sulu faz etil asetat ile ekstre edildi. Organik faz tuzlu su ve su ile yıkandı. Organik fazlar birleştirilip, susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu ve vakumda yoğunlaştırıldı. Elde edilen ham ürün *n*-hekzan : etilasetat (3 : 1) solvan sistemi kullanılarak, kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Sonuç ürün %87 verimle elde edilmiştir. **E.N.:** 217-218 °C, lit. E.N.: 224-226 °C (Wagner ve ark., 2009).

Kütle Spektrumu: m/z (ES⁻): 347,17 (M+H, 100)



Şekil 3.3. Bileşik 5'in kütle spektrumu.

3.1.6. N-(1*H*-indol-5-il)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (6)

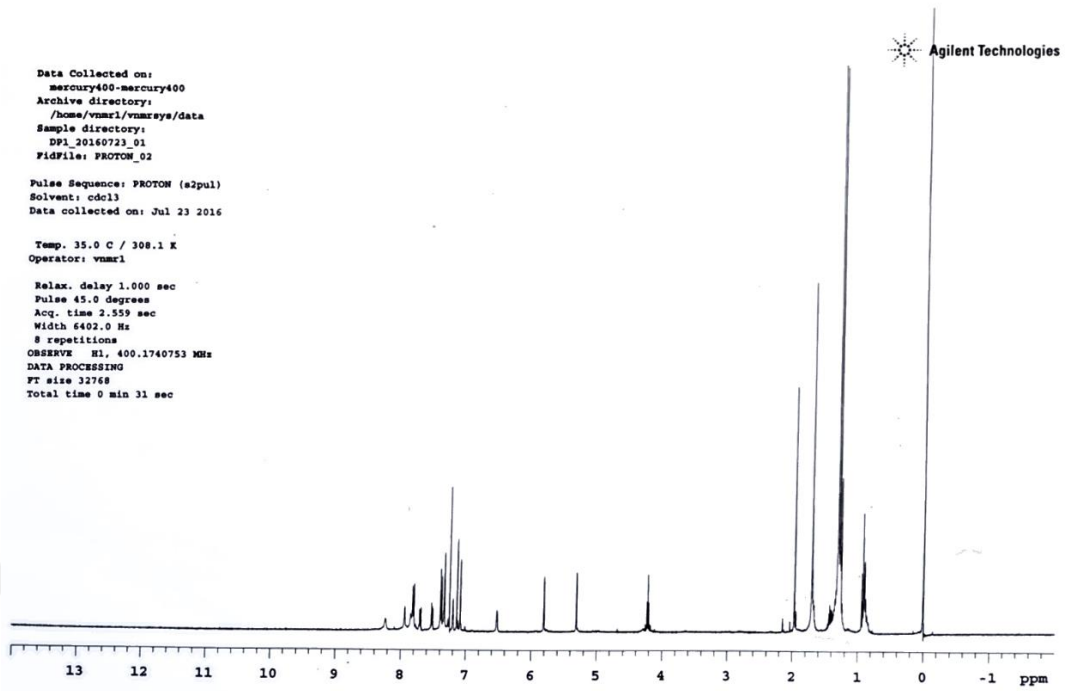


(5) numaralı bileşikten (1 mmol), susuz DMF (10 ml) ile çözüldü. *N,N'*-CDI'dan 1,5 mmol DMF'de çözümlenerek parça parça balona ilave edildi. 80 °C'de bir saat karıştırıldı. (1,2 mmol) 5-Amino indol bileşiği susuz DMF ile çözümlenerek reaksiyon ortamına damla damla ilave edildi. Oda sıcaklığında gece boyunca karıştırıldı. Su eklenip etil asetat ile ekstre edildi. Organik fazlar birleştirilerek susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu. Vakumda yoğunlaştırıldı. Elde edilen ham ürün *n*-hekzan : etilasetat (5:1) solvan sistemi kullanılarak, kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Etanolden kristallendirildi. Sonuç ürün % 50 verim ile elde edildi. **E.N.:** 215-217 °C.

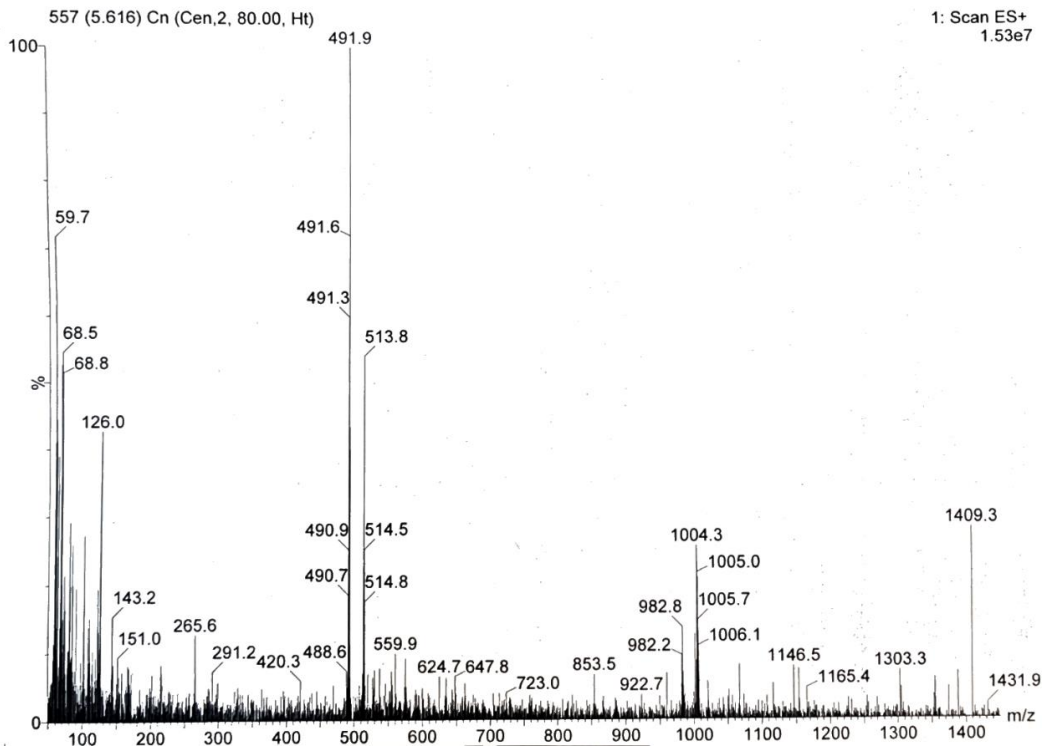
¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,23 (s, NH, -CO-NH), 7,94 (s, NH, indol-NH), 7,85 (s, 1H, Ar-indol-H(4'')), 7,81 (d, 1H, Ar-indol-H(6''), J_o=8,4 Hz), 7,70 (dd, 1H, indol-H(2''), J=6,0, 3,6, 3,2 Hz), 7,52 (dd, 1H, indol-H(3''), J=5,6, 3,2, 3,2 Hz), 7,38 (d, 2H, Ar-H (2, 6), J_o=8,0 Hz), 7,34 (d, 2H, Ar-H (3, 5), J_o=8,4 Hz), 7,20 (s, 1H, Ar-naft-H(1')), 7,13 (d, 1H, Ar-indol-H(7''), J_o=6,4 Hz), 7,09 (s, 1H, Ar-naft-H(4')), 5,81 (s, 1H, -vinil-CH₂), 5,31 (s, 1H, -vinil-CH₂), 1,97 (s, 3H, -CH₃), 1,68 (t, 4H, -(CH₂)₂), 1,31 (s, 6H, (CH₃)₂), 1,28 (s, 6H, (CH₃)₂).

Kütle Spektromu: m/z (ES⁺): 491,9 (M+H, 100); 513,8 (M+Na).

Elementel Analiz:	C₃₂H₃₄N₂O.0,75C₂H₅OH		
	%C	%H	%N
Hesaplanan:	81,02	7,80	5,43
Bulunan:	81,40	8,15	5,10

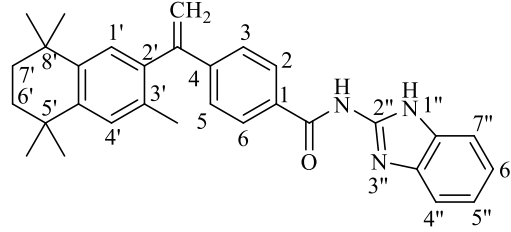


Şekil 3.4. Bileşik 6'nın ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.5. Bileşik 6'nın kütle spektrumu.

3.1.7. *N*-(1*H*-benzo[d]imidazol-2-il)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (7)



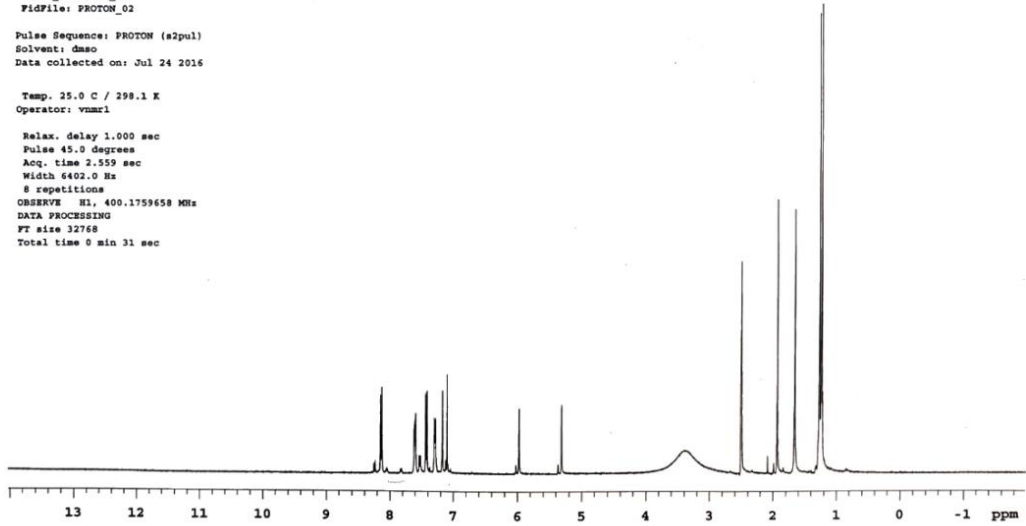
(5) numaralı bileşikten (1 mmol), susuz DMF (10 ml) ile çözüldü. *N,N'*-CDI'dan 1,5 mmol DMF'de çözümlenerek parça parça balona ilave edildi. 80°C'de bir saat karıştırıldı. (1,2 mmol) 2-Amino benzimidazol bileşiği susuz DMF ile çözümlenerek reaksiyon ortamına damla damla ilave edildi. Oda sıcaklığında gece boyunca karıştırıldı. Su eklenip etil asetat ile ekstre edildi. Organik fazlar birleştirilerek susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu. Vakumda yoğunlaştırıldı. Elde edilen ham ürün *n*-hekzan : etilasetat (5:1) solvan sistemi kullanılarak, kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Etanolden kristallendirildi. Sonuç ürün % 40 verimle elde edildi. **E.N.:** 273-275 °C.

¹H-NMR: (400 MHz, DMSO) δ ppm 8,15 (s, 1H, NH), 8,13 (s, 1H, -CO-NH), 7,61-7,59 (dd, 2H, Ar-benzimidazol-H(4'', 7'')), J=8,8, 3,2 Hz), 7,52 (d, 2H, Ar-H(2, 6)), J=8,4 Hz), 7,42 (d, 2H, Ar-H(3, 5)), J=8,4 Hz), 7,30-7,28 (dd, 2H, Ar-benzimidazol-H(5'', 6'')), J=9,6, 3,2 Hz), 7,17 (s, 1H, Ar-naft-H(1')), 7,10 (s, 1H, Ar-naft-H(4')), 5,98 (s, 1H, -vinil-CH₂), 5,31 (s, 1H, -vinil-CH₂), 1,93 (s, 3H, -CH₃), 1,66 (s, 4H, -(CH₂)₃), 1,27 (s, 6H, -(CH₃)₃), 1,24 (s, 6H, (CH₃)₂).

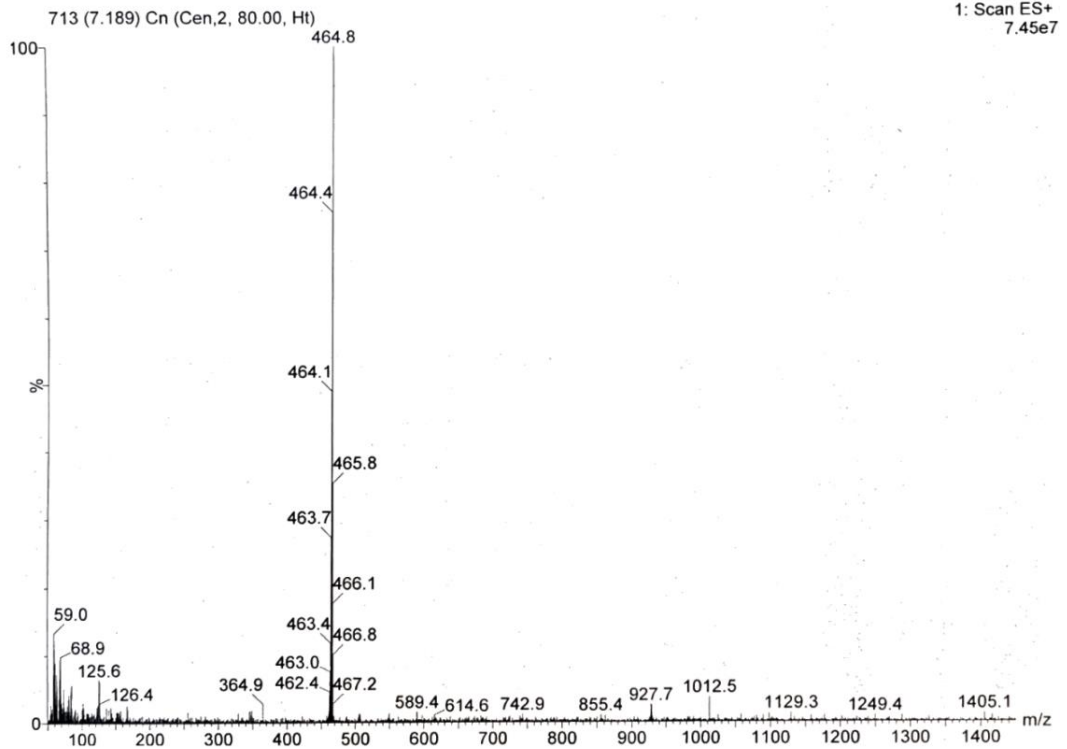
Kütle Spektromu: m/z (ES⁺): 464,8 (M+H, 100).

Elementel Analiz:	C₃₁H₃₃N₃O		
	%C	%H	%N
Hesaplanan:	80,31	7,17	9,06
Bulunan:	79,94	7,13	9,19

Data Collected on:
 mercury400-mercury400
 Archive directory:
 /home/vnmr1/vnmrsws/data
 Sample directory:
 DP2_20160724_01
 Fidfile: PROTON_02
 Pulse Sequence: PROTON (s2pul)
 Solvent: dmsc
 Data collected on: Jul 24 2016
 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
 8 repetitions
 OBSERVE H1, 400.1759658 MHz
 DATA PROCESSING
 FT size 32768
 Total time 0 min 31 sec

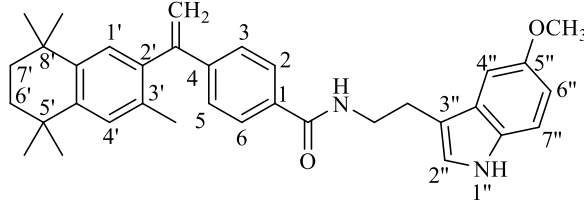


Şekil 3.6. Bileşik 7'nin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.7. Bileşik 7'nin kütle spektrumu.

3.1.8. N-(2-(5-metoksi-1H-indol-3-il)etil)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (8)



4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)vinil]benzoik asit (**5**) (1 mmol), susuz DMF (10 ml) ile çözüldü. *N,N'*-CDI'dan 1,5 mmol DMF'de çözümlenerek parça parça balona ilave edildi. 80°C'de bir saat karıştırıldı. (1,2 mmol) 3-Aminoetil-5-metoksi-indol bileşiği susuz DMF ile çözümlenerek reaksiyon ortamına damla damla ilave edildi. Oda sıcaklığında gece boyunca karıştırıldı. Etil asetat ile ekstre edildi. Organik fazlar susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu. Vakumda yoğunlaştırıldı. Elde edilen ham ürün *n*-hekzan : etilasetat (5:1) solvan sistemi kullanılarak, kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Sonuç ürün % 31 verimle elde edildi. **E.N.:** 192-195°C.

¹H-NMR: (400 MHz, DMSO) δ ppm 10,63 (s, 1H, -CO-NH), 8,56 (t, 1H, indol-NH), 7,80 (d, 2H, Ar-H(2, 6), J_o=8,0 Hz), 7,29 (d, 2H, Ar-H(3, 5), J_o=8,4 Hz), 7,22 (d, 1H, indol-H(2'') J=8,8 Hz), 7,15 (s, 1H, Ar-naft-H(1')), 7,13 (d, 1H, -indol-H(4''), J_m=2,4 Hz), 7,07 (s, 1H, Ar-naft-H(4')), 7,05 (d, 1H, indol-H(7''), J_o=8,8 Hz), 6,71 (dd, 1H, indol-H(6''), J=8,4, J=2,4; 2,0), 5,88 (s, 1H, vinil-CH₂), 5,22 (s, 1H, -vinil-CH₂), 3,70 (s, 3H, -O-CH₃), 3,52 (t, 2H, -NH-CH₂), 2,91 (t, 2H, -CH₂), 1,91 (s, 3H, -CH₃), 1,65 (s, 4H, -(CH₂)₂), 1,26 (s, 6H, -(CH₃)₂), 1,23 (s, 6H, -(CH₃)₂).

Kütle Spektrumu: m/z (ES⁺): 521,8 (M+H, 100); 543,7 (M+Na).

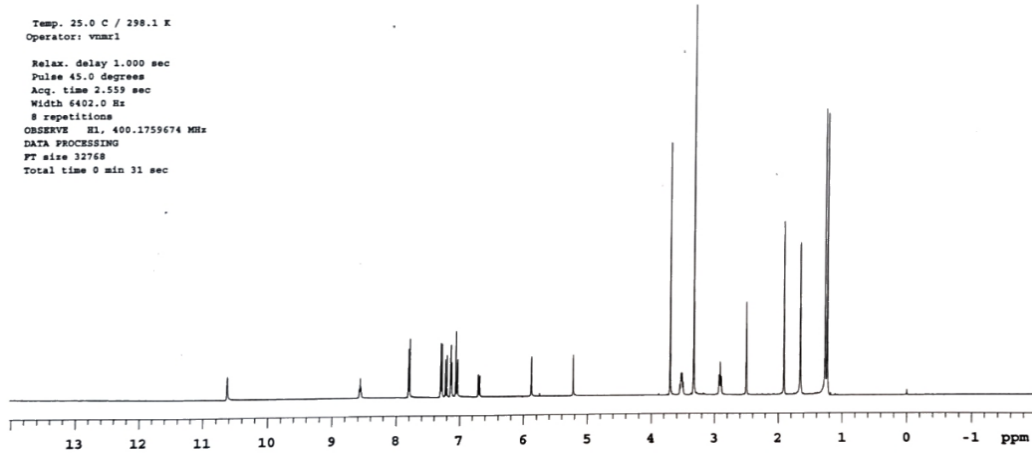
Elementel Analiz:	C₃₅H₄₀N₂O₂		
	%C	%H	%N
Hesaplanan:	80,73	7,74	5,37
Bulunan:	80,36	7,77	5,51

Data Collected on:
 Mercury400-mercury400
 Archive directory:
 /home/vnmr1/vnmrsys/data
 Sample directory:
 DP4_20160723_01
 Fidfile: PROTON_01

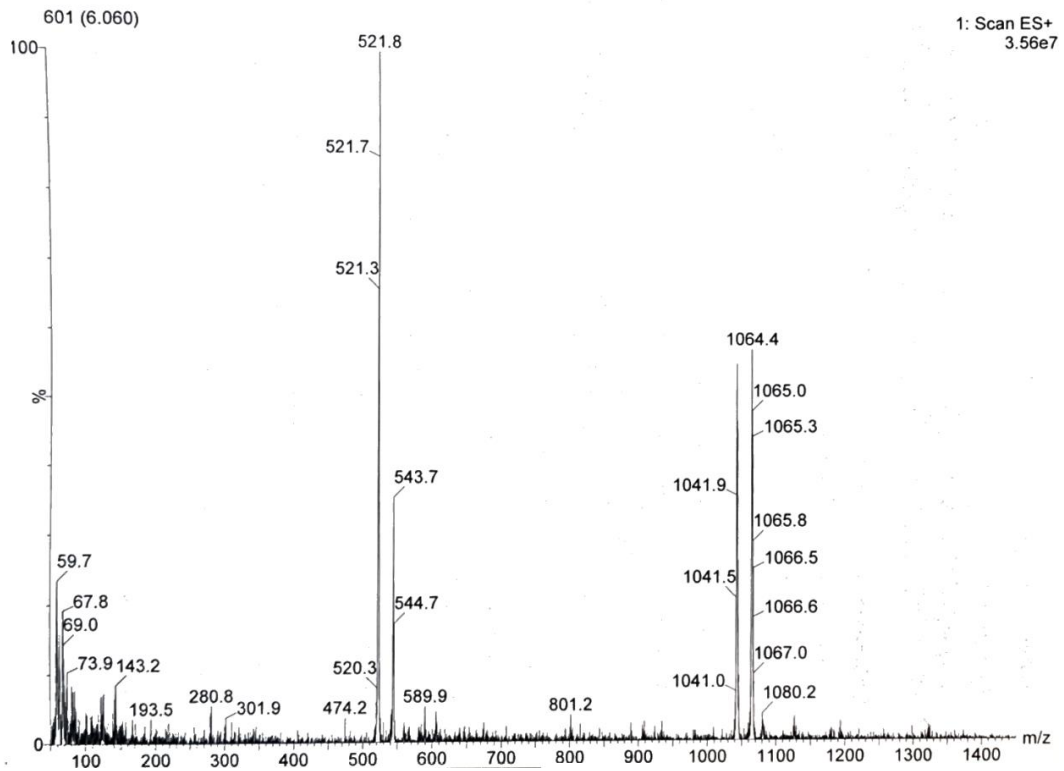
 Pulse Sequence: PROTON (s2pul)
 Solvent: dmsc
 Data collected on: Jul 23 2016

 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
 8 repetitions
 OBSERVE H1, 400.1759674 MHz
 DATA PROCESSING
 FT size 32768
 Total time 0 min 31 sec

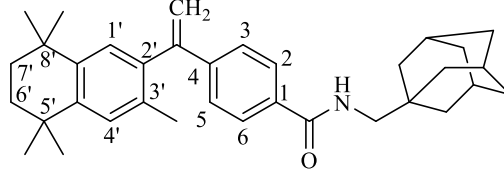


Şekil 3.8. Bileşik 8'in ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.9. Bileşik 8'in kütle spektrumu.

3.1.9. N-(Adamantan-1-il)metil-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (9)

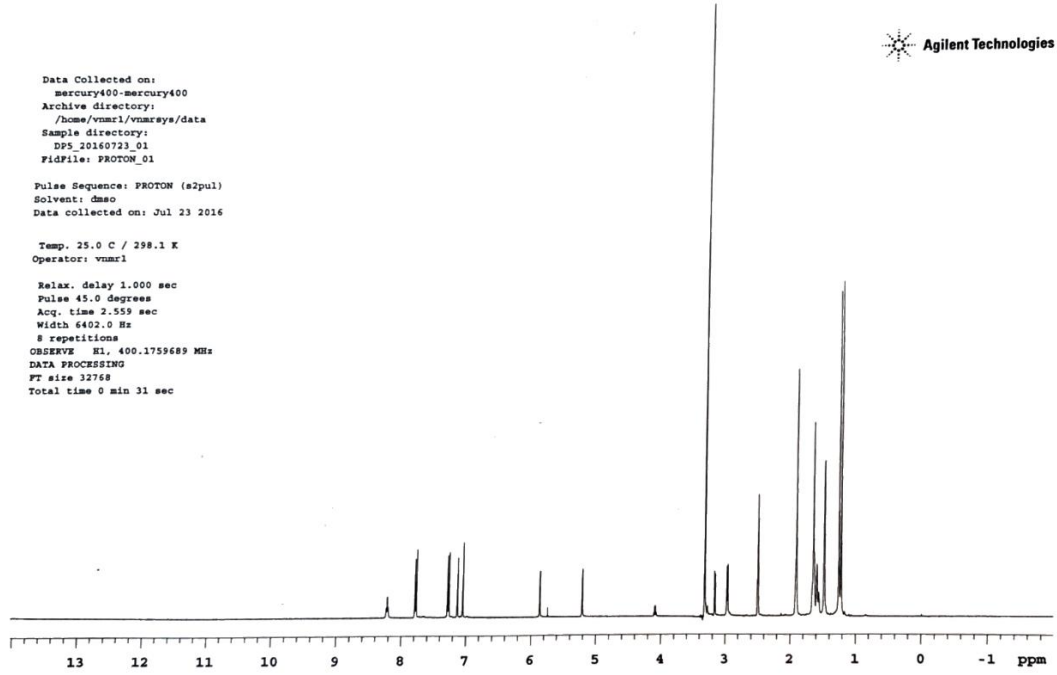


4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)vinil]benzoik asit (**5**) (1 mmol), susuz DMF (10 ml) ile çözüldü. *N,N'*-CDI'dan 1,5 mmol DMF'de çözümlenerek parça parça balona ilave edildi. 80°C'de bir saat karıştırıldı. (1,2 mmol) 1-Adamantanmetilamin bileşiği susuz DMF ile çözümlenerek reaksiyon ortamına damla damla ilave edildi. Oda sıcaklığında gece boyunca karıştırıldı. Su eklenip etil asetat ile ekstre edildi. Organik fazlar birleştirilerek susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu. Vakumda yoğunlaştırıldı. Elde edilen ham ürün *n*-hekzan : etilasetat (5:1) solvan sistemi kullanılarak, kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Etanolden kristallendirildi. Saf ürün % 20 verimle elde edildi. **E.N.:** 166-169 °C.

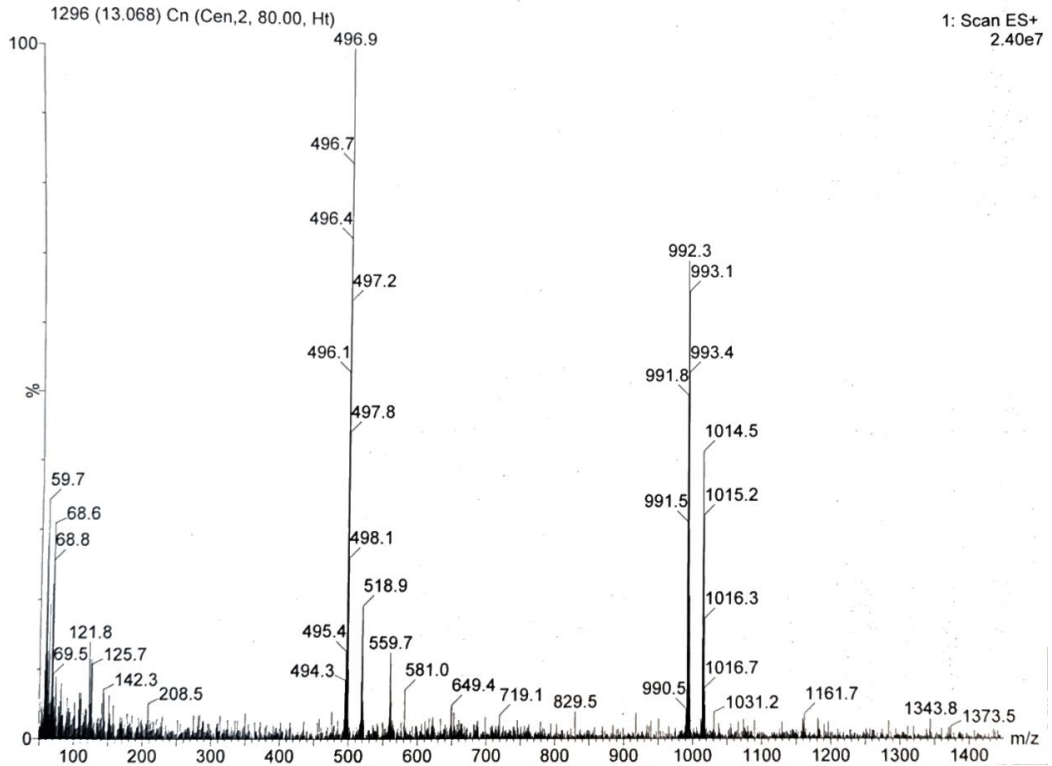
¹H-NMR: (400 MHz, DMSO) δ ppm 8,22 (t, -CO-NH), 7,78 (d, 2H, Ar-H(2, 6), J=8,8 Hz.), 7,28 (d, 2H, Ar-H(3, 5), J=8,4 Hz), 7,14 (s, 1H, Ar-naft-H(1')), 7,05 (s, 1H, Ar-naft-H(4')), 5,87 (s, 1H,-vinil-H), 5,21 (s, 1H, vinil-H), 2,97-1,25 (m, 24H), 1,25 (s, 6H, -(CH₃)₂), 1,22 (s, 6H, -(CH₃)₂)

Kütle Spektromu: m/z (ES⁺): 496,9 (M+H, 100); 518,9 (M+Na).

Elementel Analiz:	C₃₅H₄₅NO.0,25H₂O		
	%C	%H	%N
Hesaplanan:	84,03	9,16	2,79
Bulunan:	83,81	9,24	2,92

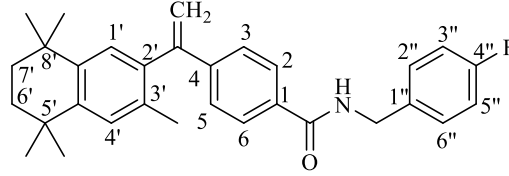


Şekil 3.9. Bileşik 9'un $^1\text{H-NMR}$ spektrumu.



Şekil 3.10. Bileşik 9'un kütle spektrumu.

3.1.10. N-(4-fluorobenzil)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (10)



4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)vinil]benzoik asit (**5**) (1 mmol), susuz DMF (10 ml) ile çözüldü. *N,N'*-CDI'dan 1,5 mmol DMF'de çözümlenerek parça parça balona ilave edildi. 80°C'de bir saat karıştırıldı. (1,2 mmol) 4-Fluorobenzilamin bileşiği susuz DMF ile çözümlenerek reaksiyon ortamına damla damla ilave edildi. Oda sıcaklığında gece boyunca karıştırıldı. Su eklenip etil asetat ile ekstre edildi. Organik fazlar birleştirilerek susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu. Vakumda yoğunlaştırıldı. Elde edilen ham ürün *n*-hekzan : etilasetat (5:1) solvan sistemi kullanılarak, kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Etanolden kristallendirildi. Saf ürün % 20 verimle elde edildi. **E.N.:** 186-189 °C.

¹H-NMR: (400 MHz, DMSO) δ ppm 9,02 (t, 1H, -CO-NH), 7,84 (d, 2H, Ar-H(2, 6), J_o=8,8 Hz), 7,37-7,33 (m, 2H, Ar-fluorofenil-H(2'', 6'')) 7,31 (d, 2H, Ar-H(3, 5), J_o=8,4 Hz), 7,15 (dd, 2H, Ar-fluorofenil-H(3'', 5'')), J=6,0, 2,0 Hz), 7,12 (s, 1H, Ar-naft-H(1')), 7,06 (s, 1H, Ar-naft-H(4')), 5,88 (s, 1H, -vinil-H), 5,23 (s, 1H, -vinil-H), 4,45 (d, 2H, -CH₂-NH, J= 5,6 Hz), 1,90 (s, 3H, -CH₃), 1,65 (s, 4H, (CH₂)₂), 1,26 (s, 6H, (CH₃)₂), 1,22 (s, 6H, (CH₃)₂).

Kütle Spektrumu: m/z (ES⁺): 456,7 (M+H, 100).

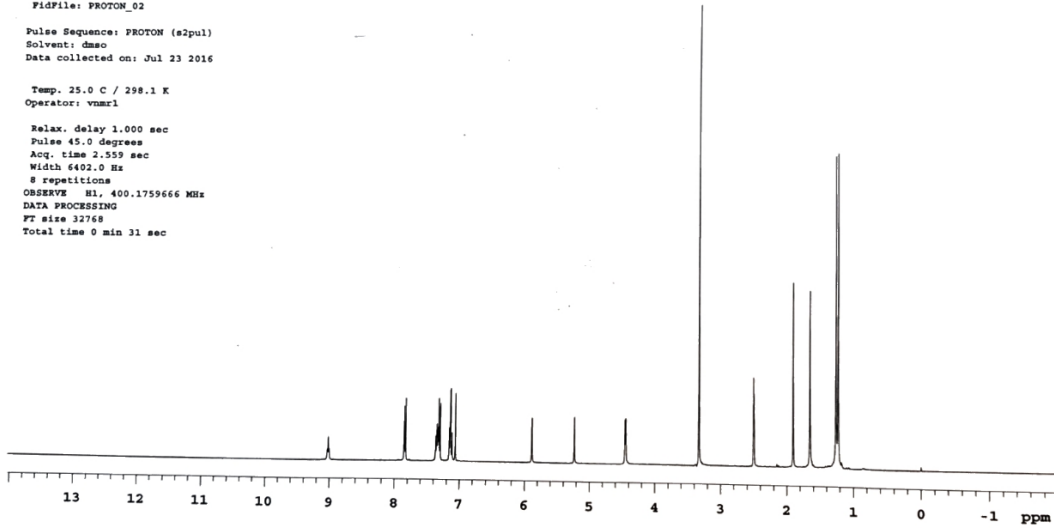
Elementel Analiz:	C₃₁H₃₄FNO.0,8H₂O		
	%C	%H	%N
Hesaplanan:	79,21	7,63	2,98
Bulunan:	78,83	7,35	3,18

Data Collected on:
 mercury400-mercury400
 Archive directory:
 /home/vnmr1/vnmrsws/data
 Sample directory:
 DPE_20160723_01
 FidFile: PROTON_02

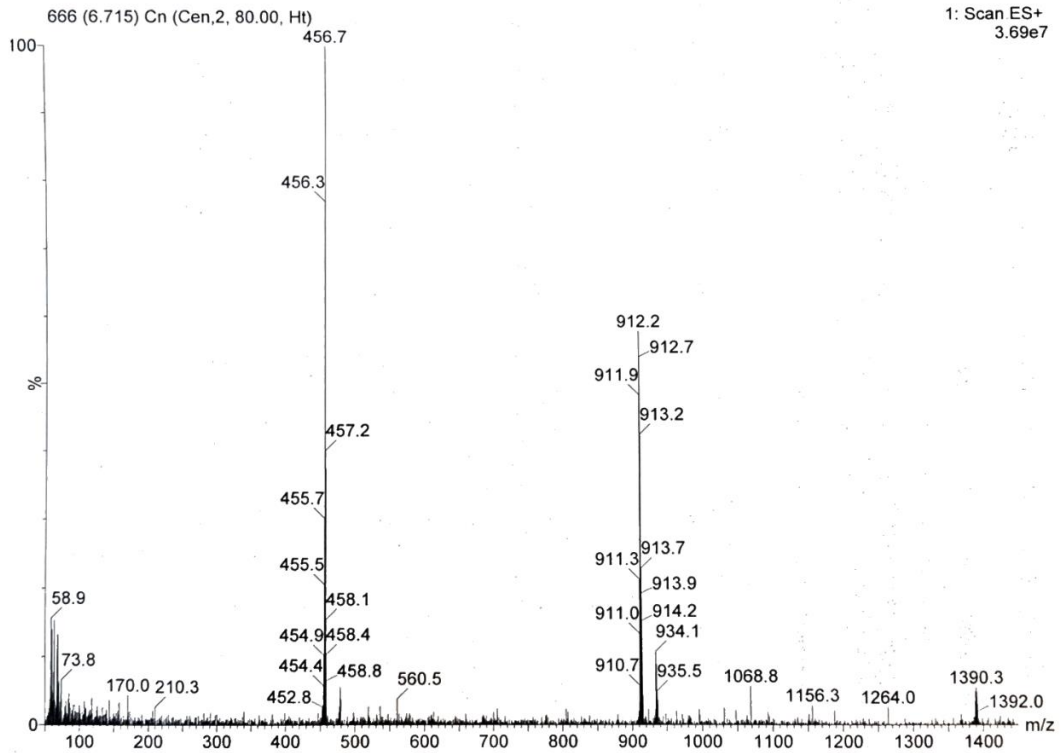
 Pulse Sequence: PROTON (s2pul)
 Solvent: dmsc
 Data collected on: Jul 23 2016

 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
 8 repetitions
 OBSERVE HL 400.1759666 MHz
 DATA PROCESSING
 FT size 32768
 Total time 0 min 31 sec

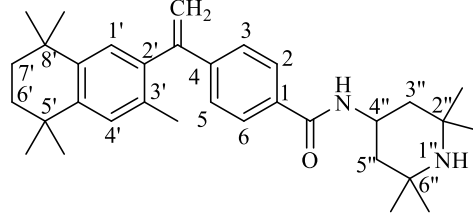


Şekil 3.11. Bileşik 10'nun ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.12. Bileşik 10'nun kütle spektrumu.

3.1.11. N-(2,2,6,6-tetrametilpiperidin-4-il)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (11)

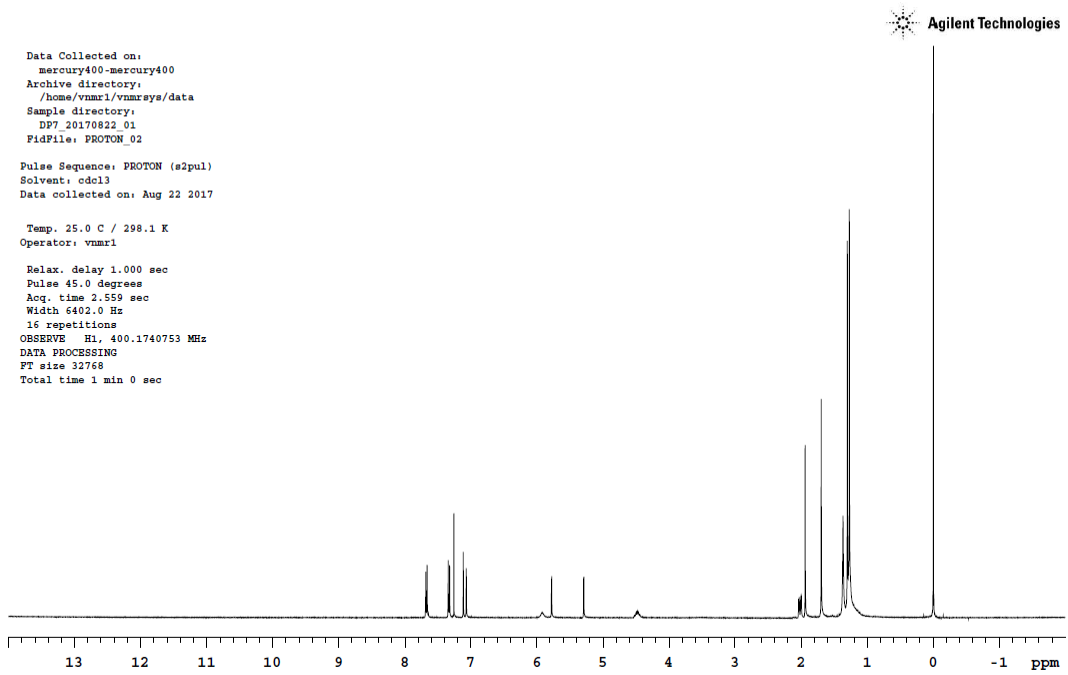


4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)vinil]benzoik asit (**5**) (1 mmol), susuz DMF (10 ml) ile çözüldü. *N,N'*-CDI'dan 1,5 mmol DMF'de çözülen parça parça balona ilave edildi. 80°C'de bir saat karıştırıldı. (1,2 mmol) 2,2,6,6-Tetrametilpiperidin-4-amin bileşiği susuz DMF ile çözülen reaksiyon ortamına damla damla ilave edildi. Oda sıcaklığında karıştırıldı. Etil asetat ile ekstre edildi. Organik fazlar birleştirilerek susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu. Vakumda yoğunlaştırıldı. Elde edilen ham ürün *n*-hekzan : etilasetat (5:1) solvan sistemi kullanılarak, kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Etanolden kristallendirildi. Saf ürün % 20 verimle elde edildi. **E.N.:** 216-217 °C.

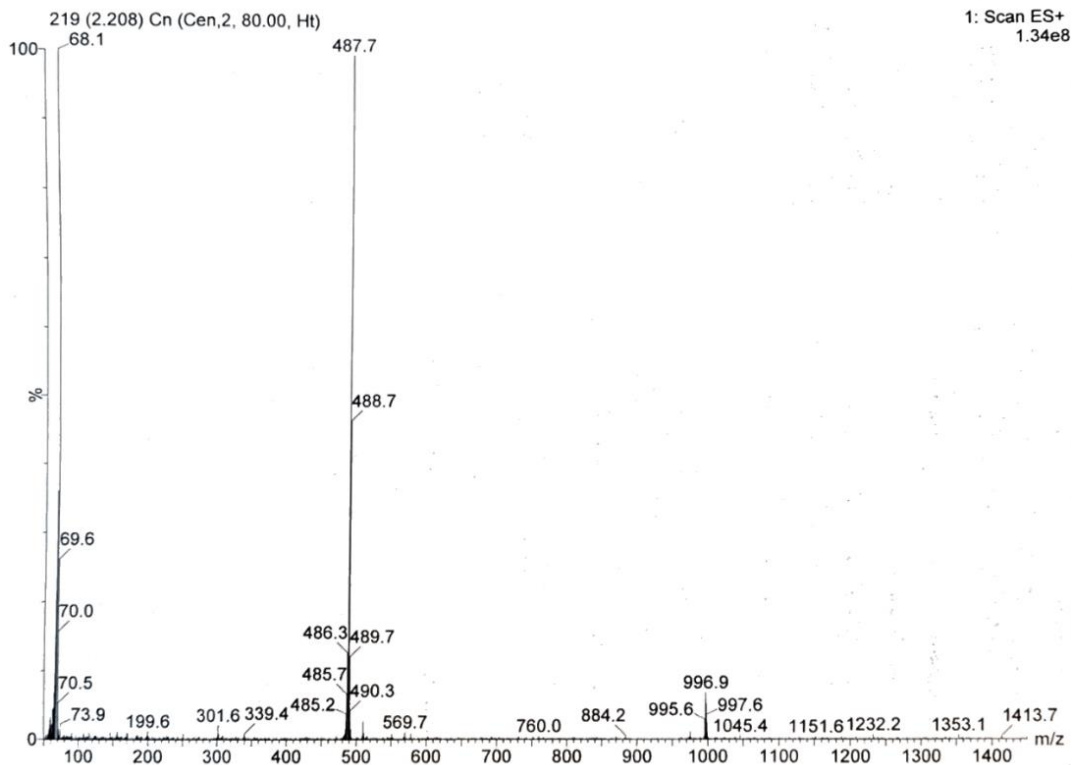
¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,67 (d, 2H, Ar-H(2, 6), J_o=8,0 Hz), 7,33 (d, 2H, Ar-H(3, 5), J_o=8,8 Hz), 7,11 (s, 1H, Ar-naft-H(1')), 7,07 (s, 1H, Ar-naft-H(4')), 5,78 (s, 1H, -vinil-H), 5,29 (s, 1H, -vinil-H), 4,50-4,46 (m, 1H, -NH-CH), 2,03 (d, 2H, -CH₂-CH(piperidin)), 2,00 (d, 2H, -CH₂-CH(piperidin)), 1,93 (s, 3H, -CH₃), 1,69 (s, 4H, (CH₂)₂), 1,33 (d, 12H, -(CH₃)₂, -(CH₃)₂), 1,27 (d, 12H, (CH₃)₂, -(CH₃)₂).

Kütle Spektromu: m/z (ES⁺): 496,9 (M+H, 100); 518,9 (M+Na).

Elementel Analiz:	C₃₃H₄₆N₂O.0,45H₂O		
	%C	%H	%N
Hesaplanan:	80,09	9,55	5,66
Bulunan:	80,07	9,62	5,87

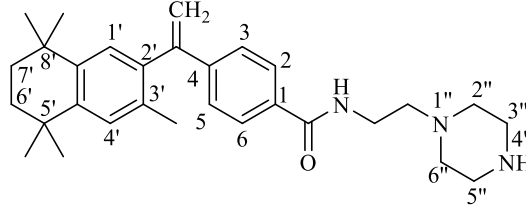


Şekil 3.13. Bileşik 11'in ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.14. Bileşik 11'in kütle spektrumu.

3.1.12. N-(2-(piperazin-1-il)etil)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (12)



4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)vinil]benzoik asit (**5**) (1 mmol), susuz DMF (10 ml) ile çözüldü. *N,N'*-CDI'dan 1,5 mmol DMF'de çözümlenerek parça parça balona ilave edildi. 80°C'de bir saat karıştırıldı. (1,2 mmol) 1-(2-Aminoetil)piperazin bileşiği susuz DMF ile çözümlenerek reaksiyon ortamına damla damla ilave edildi. Oda sıcaklığında karıştırıldı. Su eklenip etil asetat ile ekstre edildi. Organik fazlar birleştirilerek susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu. Vakumda yoğunlaştırıldı. Elde edilen ham ürün *n*-hekzan : etilasetat (5:1) solvan sistemi kullanılarak, kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Etanolden kristallendirildi. Saf ürün % 26 verimle elde edildi. **E.N.:** 159-161 °C.

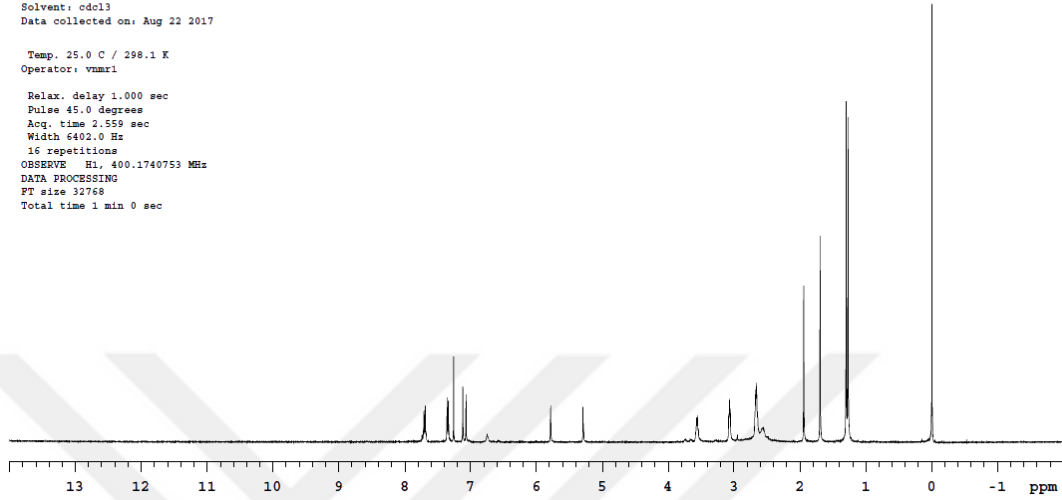
¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,69 (d, 2H, Ar-H(2, 6), J_o=8,4 Hz), 7,34 (d, 2H, Ar-H(3, 5), J_o=8,0 Hz), 7,11 (s, 1H, Ar-naft-H(1')), 7,07 (s, 1H, Ar-naft-H(4')), 5,78 (s, 1H, -vinil-H), 5,29 (s, 1H, -vinil-H), 3,57-3,54 (m, 2H, -NH-CH₂), 3,07 (t, 2H, -NH-CH₂-CH₂, J= 4,8, 4,4 Hz), 2,67-2,64 (m, 8H, piperazin-H(2'', 3'', 5'', 6'')), 2,55 (br.s, 1H, -NH), 1,94 (s, 3H, -CH₃), 1,69 (s, 4H, (CH₂)₂), 1,29 (s, 6H, -(CH₃)₂), 1,27 (s, 6H, (CH₃)₂).

Kütle Spektromu: m/z (ES⁺): 496,9 (M+H, 100); 518,9 (M+Na).

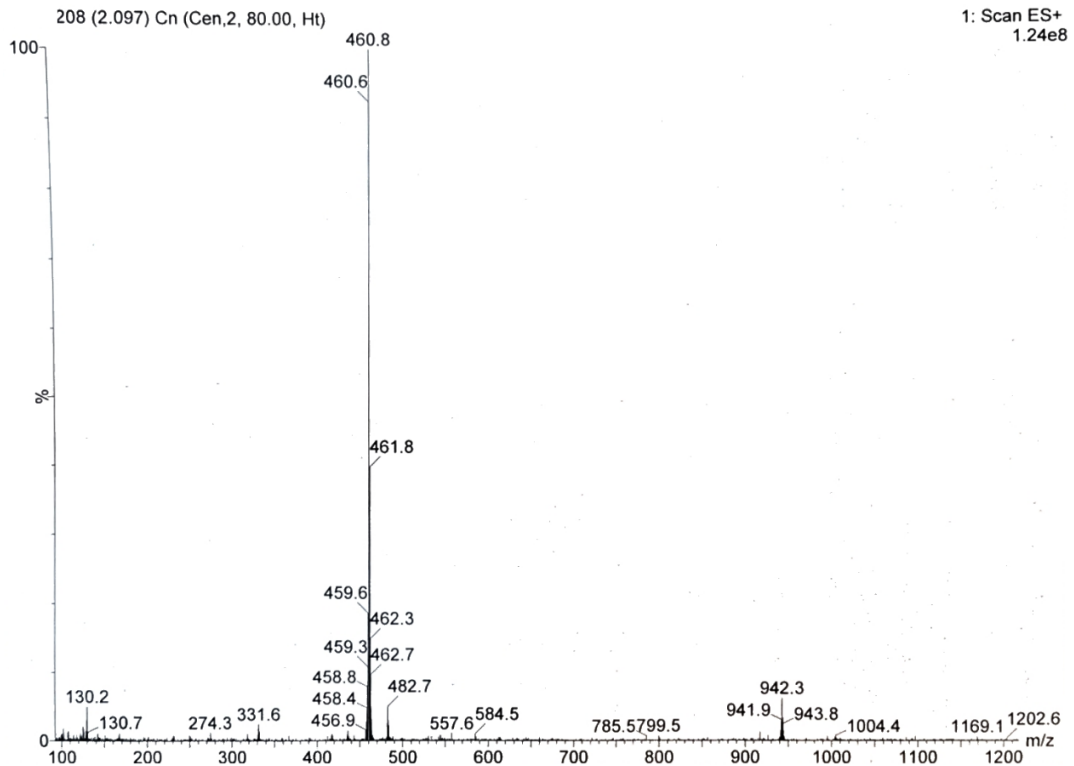
Elementel Analiz: C₃₀H₄₁N₃O.C₂H₅OH.0,7H₂O

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	75,27	9,22	8,52
Bulunan:	74,95	8,85	8,68

Sample Name:
 Data Collected on:
 mercury400-mercury400
 Archive directory:
 /home/vnmr1/vnmrsws/data
 Sample directory:
 DPS_20170822_01
 FidFile: PROTON_01
 Pulse Sequence: PROTON (s2pul)
 Solvent: cdcl3
 Data collected on: Aug 22 2017
 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, 400.1740753 MHz
 DATA PROCESSING
 FT size 32768
 Total time 1 min 0 sec

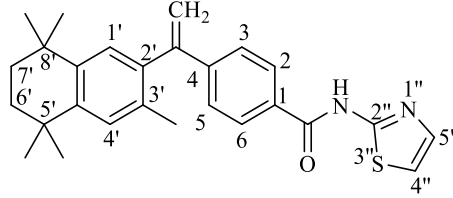


Şekil 3.15. Bileşik 12'nin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.16. Bileşik 12'nin kütle spektrumu.

3.1.13. N-(tiyazol-2-il)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (13)



4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)vinil]benzoik asit (**5**) (1 mmol), susuz DMF (10 ml) ile çözüldü. *N,N'*-CDI'dan 1,5 mmol DMF'de çözümlenerek parça parça balona ilave edildi. 80°C'de bir saat karıştırıldı. (1,2 mmol) 2-Aminotiyazol bileşiği susuz DMF ile çözümlenerek reaksiyon ortamına damla damla ilave edildi. Oda sıcaklığında gece boyunca karıştırıldı. Su eklenip etil asetat ile ekstre edildi. Organik fazlar birleştirilerek susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu. Vakumda yoğunlaştırıldı. Elde edilen ham ürün *n*-hekzan : etilasetat (5:1) solvan sistemi kullanılarak, kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Etanolden kristallendirildi. Saf ürün % 21 verimle elde edildi. **E.N.:** 225-226 °C.

¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,95 (d, 2H, Ar-H(2, 6), J_o=8,8 Hz), 7,42 (d, 2H, Ar-H(3, 5), J_o=8,0 Hz), 7,15 (s, 1H, Ar-naft-H(1')), 7,10 (s, 1H, Ar-naft-H(4')), 7,06 (d, 1H, -tiyazol-H(4''), J=3,2 Hz), 6,92 (d, 1H, -tiyazol-H(5''), J=3,6 Hz), 5,86 (s, 1H, -vinil-H), 5,36 (s, 1H, -vinil-H), 1,98 (s, 3H, -CH₃), 1,70 (s, 4H, (CH₂)₂), 1,31 (s, 6H, -(CH₃)₂), 1,29 (s, 6H, (CH₃)₂).

Kütle Spektrumu: m/z (ES⁺): 431,4 (M+H, 100).

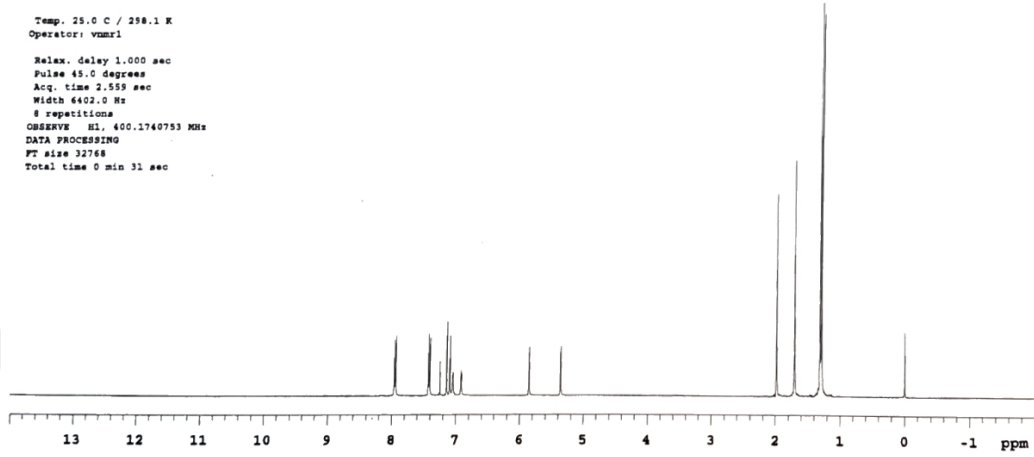
Elementel Analiz:	C₂₇H₃₀N₂OS		
	%C	%H	%N
Hesaplanan:	75,30	7,02	6,50
Bulunan:	75,55	7,04	6,79

Data Collected on:
 Mercury400-mercury400
 Archive directory:
 /home/vnmr1/vnmrsys/data
 Sample directory:
 DP-9_20170825_01
 FidFile: PROTON_01

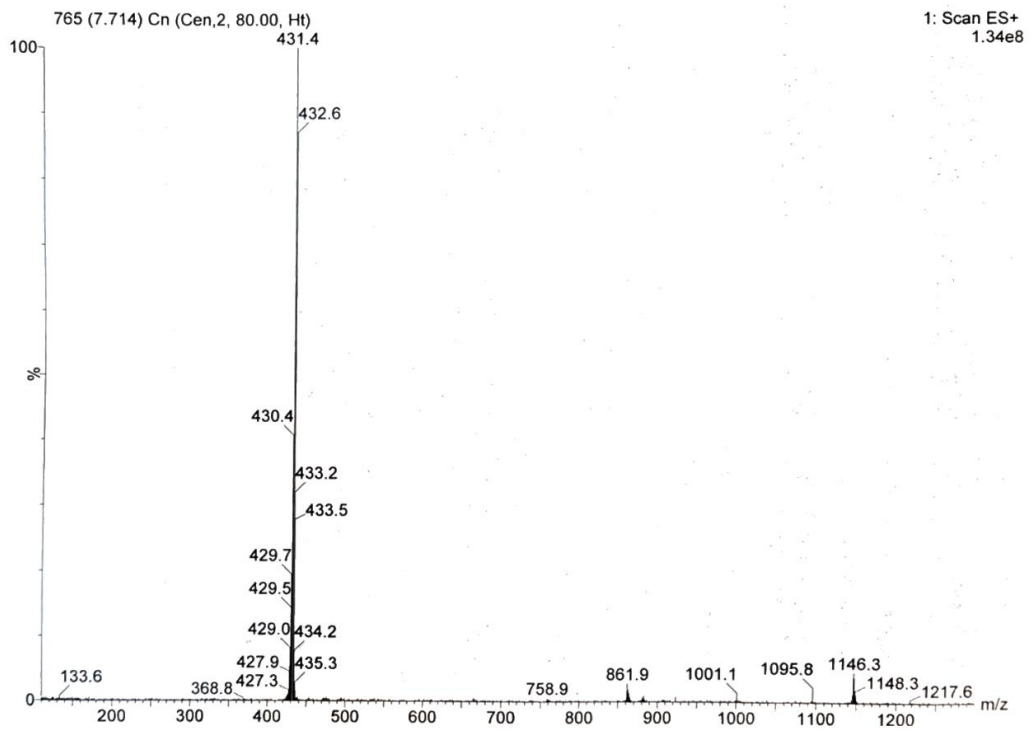
Pulse Sequence: PROTON (s2pull)
 Solvent: cdcl3
 Data collected on: Aug 25 2017

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
 8 repetitions
 OBSERVE H1, 400.1740793 MHz
 DATA PROCESSING
 FT size 32768
 Total time 0 min 31 sec

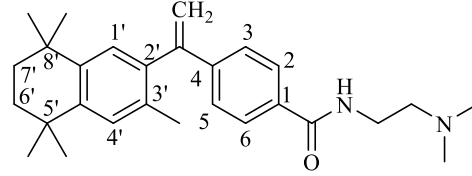


Şekil 3.17. Bileşik 13'ün ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.18. Bileşik 13'ün kütle spektrumu.

3.1.14. N-(2-(dimetilamino)etil)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (14)



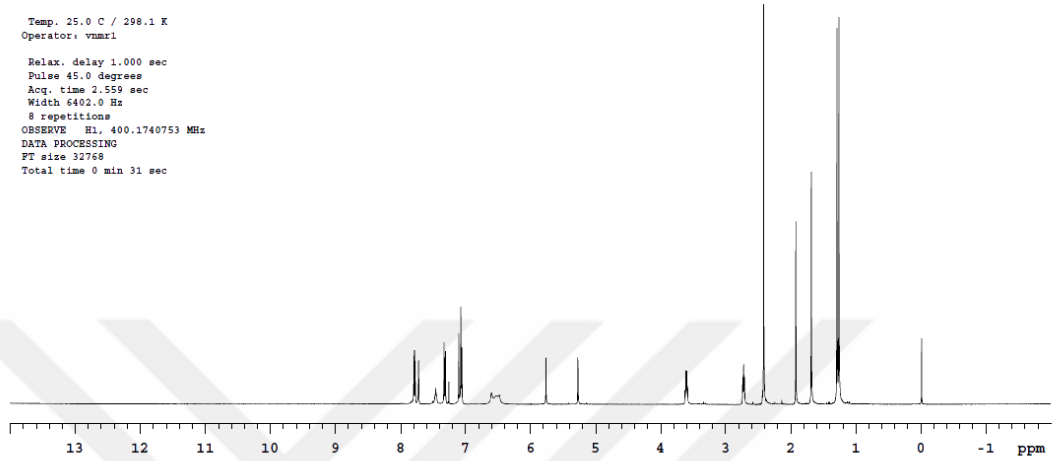
4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)vinil]benzoik asit (**5**) (1 mmol), susuz DMF (10 ml) ile çözüldü. *N,N'*-CDI'dan 1,5 mmol DMF'de çözümlenerek parça parça balona ilave edildi. 80°C'de bir saat karıştırıldı. (1,2 mmol) 3-Dimetil-amino-propilamin bileşiği susuz DMF ile çözümlenerek reaksiyon ortamına damla damla ilave edildi. Oda sıcaklığında karıştırıldı. Su eklenip etil asetat ile ekstre edildi. Organik fazlar birleştirilerek susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu. Vakumda yoğunlaştırıldı. Elde edilen ham ürün *n*-hekzan : etilasetat (5:1) solvan sistemi kullanılarak, kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Etanolden kristallendirildi. Saf ürün % 32 verimle elde edildi. **E.N.:** 143-145 °C.

¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,78 (d, 2H, Ar-H(2, 6), $J_o=8,8$ Hz), 7,22 (s, 1H, Ar-naft-H(1')), 7,45 (t, 1H, -CO-NH), 7,32 (d, 2H, Ar-H(3, 5), $J_o=8,8$ Hz), 7,10 (s, 1H, Ar-naft-H(4')), 5,76 (s, 1H, -vinil-H), 5,27 (s, 1H, -vinil-H), 3,62-3,58 (m, 2H, -NH-CH₂), 2,72 (t, 2H, -NH-CH₂-CH₂, $J=6,0, 5,6$ Hz), 2,41 (s, 6H, -N-(CH₃)₂), 1,92 (s, 3H, -CH₃), 1,68 (s, 4H, (CH₂)₂), 1,29 (s, 6H, -(CH₃)₂), 1,26 (s, 6H, (CH₃)₂).

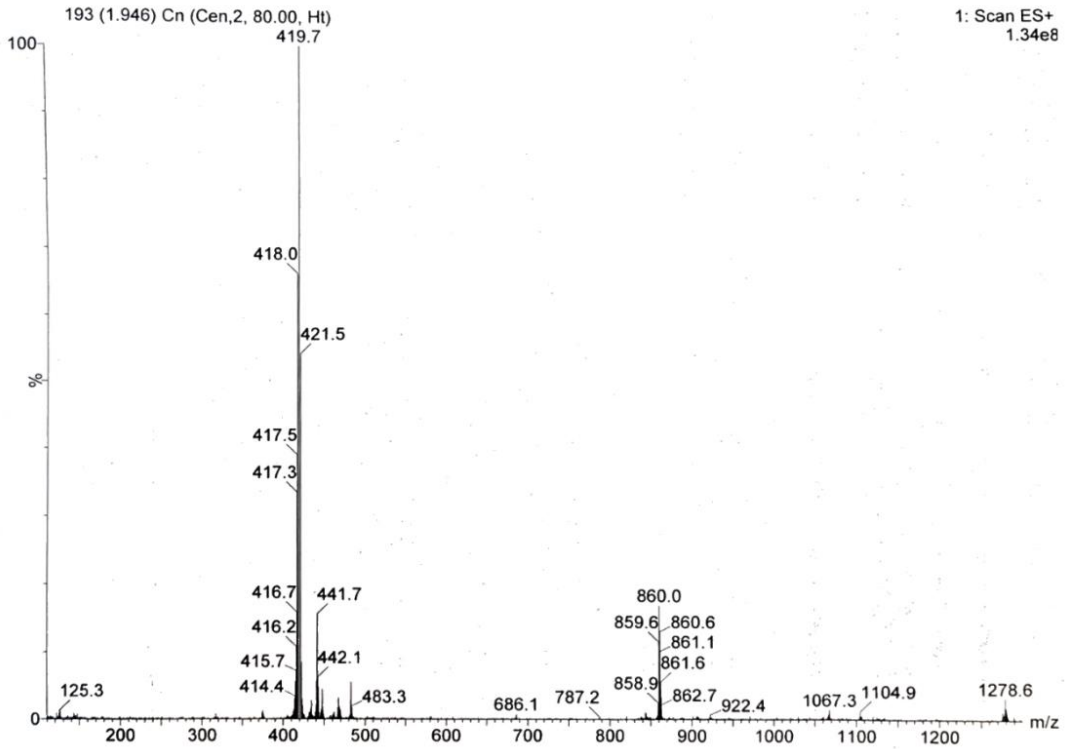
Kütle Spektromu: m/z (ES⁺): 496,9 (M+H, 100); 518,9 (M+Na).

Elementel Analiz:	C₂₈H₃₈N₂O		
	%C	%H	%N
Hesaplanan:	80,33	9,14	6,69
Bulunan:	80,62	8,82	6,52

Sample Name:
 Data Collected on:
 mercury400-mercury400
 Archive directory:
 /home/vnmr1/vnmrsys/data
 Sample directory:
 DP13_20170824_01
 FidFile: PROTON_01
 Pulse Sequence: PROTON (s2pul)
 Solvent: cdcl3
 Data collected on: Aug 24 2017
 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
 8 repetitions
 OBSERVE E1, 400.1740753 MHz
 DATA PROCESSING
 FT size 32768
 Total time 0 min 31 sec

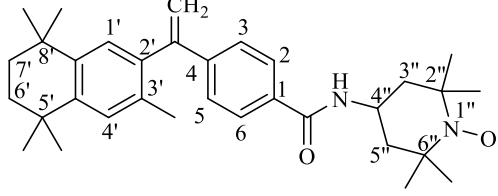


Şekil 3.19. Bileşik 14'ün ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.20. Bileşik 14'ün ¹H-NMR spektrumu.

3.1.15. N-(2,2,6,6-tetrametil-piperidin-1-oksil-4-il)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (15)



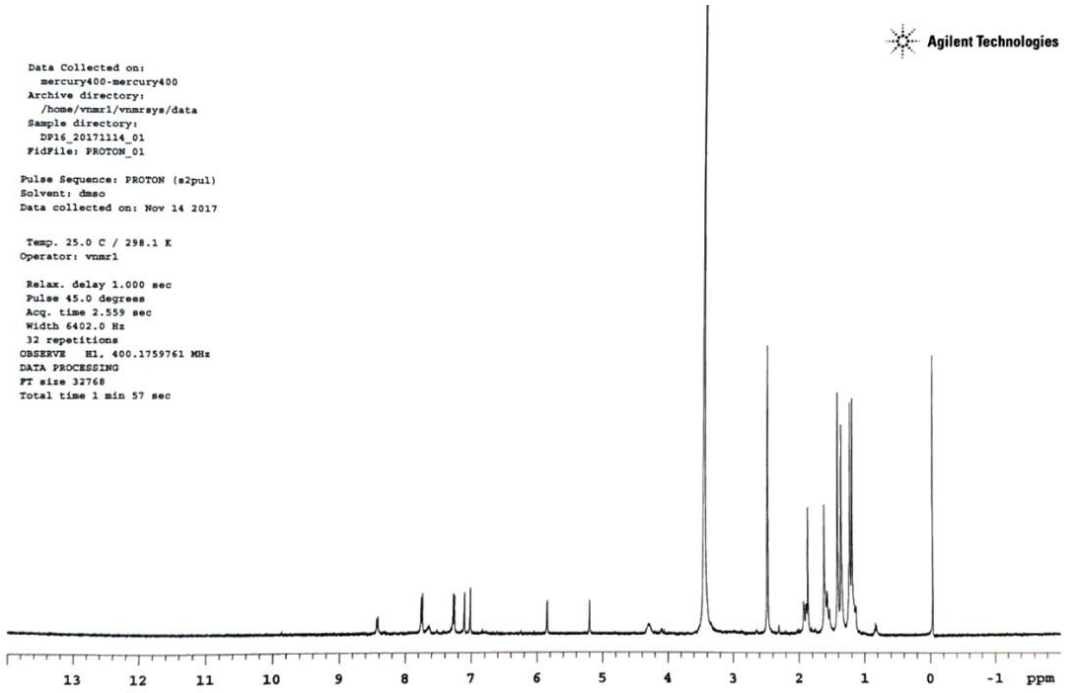
4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)vinil]benzoik asit (**5**) (1 mmol), susuz DMF (10 ml) ile çözüldü. *N,N'*-CDI'dan 1,5 mmol DMF'de çözümlenerek parça parça balona ilave edildi. 80 °C-100 °C'de bir saat karıştırıldı. (1,2 mmol) 4-Amino-2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oksil bileşiği susuz DMF ile çözümlenerek reaksiyon ortamına damla damla ilave edildi. Oda sıcaklığında karıştırıldı. Su eklenip etil asetat ile ekstre edildi. Organik fazlar birleştirilerek susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu. Vakumda yoğunlaştırıldı. Elde edilen ham ürün *n*-hekzan : etilasetat (5:1) solvan sistemi kullanılarak, kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Etanolden kristallendirildi. Saf ürün % 32 verimle elde edildi. **E.N.:** 226-227 °C.

¹H-NMR: (400 MHz, DMSO+Na₂S₂O₄+D₂O) δ ppm 8,43 (d, 1H, -CO-NH, J=7,6 Hz), 7,75 (d, 2H, Ar-H(2, 6), J_o=8,4 Hz), 7,27 (d, 2H, Ar-H(3, 5), J_o=8,0 Hz), 7,11 (s, 1H, Ar-naft-H(1')), 7,02 (s, 1H, Ar-naft-H(4')), 5,85 (s, 1H, -vinil-H), 5,20 (s, 1H, -vinil-H), 4,30 (brs, 1H, -NH-CH(piperidin)), 1,93 (s, 2H, -CH₂-CH(piperidin)), 1,89 (s, 2H, -CH₂-CH(piperidin)), 1,61 (s, 3H, -CH₃), 1,57 (s, 4H, (naft-CH₂)₂), 1,38 (d, 12H, -(CH₃)₂, -(CH₃)₂), 1,21 (d, 12H, (CH₃)₂, -(CH₃)₂).

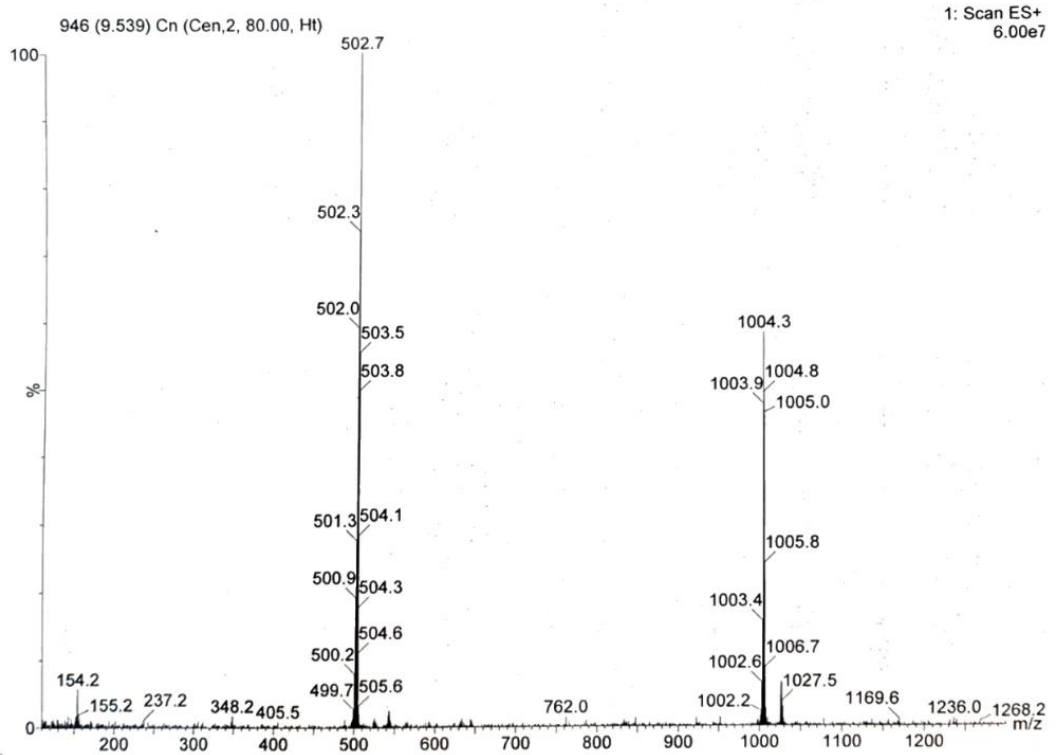
Kütle Spektromu: m/z (ES⁺): 496,9 (M+H, 100); 518,9 (M+Na).

Elementel Analiz: C₃₃H₄₅N₂O₂.0,01C₂H₅OH.0,4H₂O

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	77,85	9,07	5,49
Bulunan:	77,85	8,99	5,48

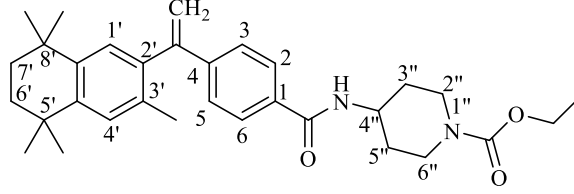


Şekil 3.21. Bileşik 15'in ^1H -NMR spektrumu.



Şekil 3.22. Bileşik 15'in kütle spektrumu.

3.1.16. N-((1-etilkarboksilat)piperidin-4-il)-4-(1-(3,5,5, 8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (16)



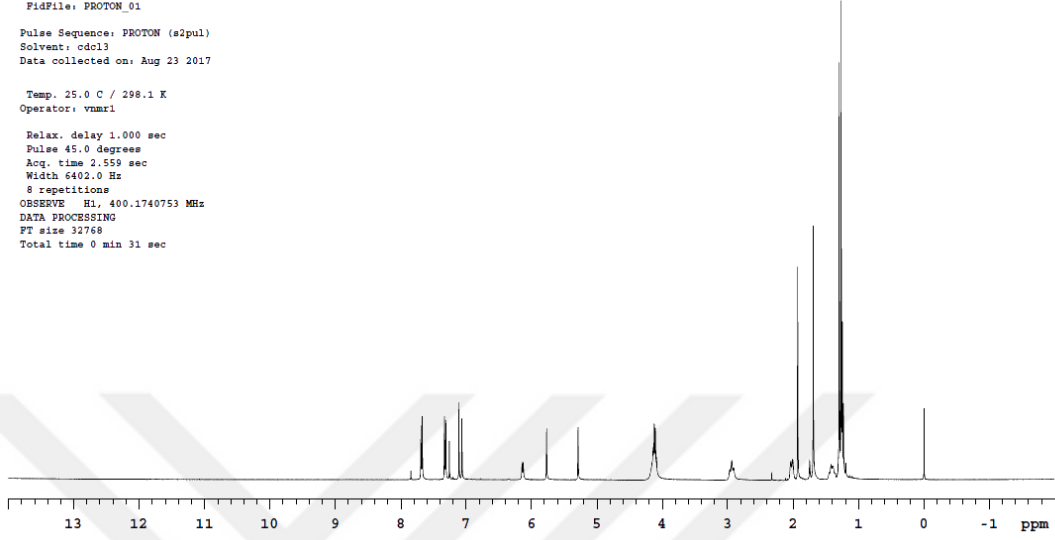
4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)vinil]benzoik asit (**5**) (1 mmol), susuz DMF (10 ml) ile çözüldü. *N,N'*-CDI'dan 1,5 mmol DMF'de çözümlenerek parça parça balona ilave edildi. 80°C'de bir saat karıştırıldı. (1,2 mmol) 4-Aminopiperidin-1-karboksilik asit etil esteri bileşiği susuz DMF ile çözümlenerek reaksiyon ortamına damla damla ilave edildi. Oda sıcaklığında karıştırıldı. Su eklenip etil asetat ile ekstre edildi. Organik fazlar birleştirilerek susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu. Vakumda yoğunlaştırıldı. Elde edilen ham ürün *n*-hekzan : etilasetat (5:1) solvan sistemi kullanılarak, kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Etanolden kristallendirildi. Saf ürün % 53 verimle elde edildi. **E.N.:** 221-222 °C.

¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,68 (d, 2H, Ar-H(2, 6), *J*_o=8,0 Hz), 7,32 (d, 2H, Ar-H(3, 5), *J*_o=8,4 Hz), 7,10 (s, 1H, Ar-naft-H(1')), 7,06 (s, 1H, Ar-naft-H(4')), 5,77 (d, 1H, -vinil-H, *J*=1,6 Hz), 5,29 (s, 1H, -vinil-H, *J*=1,2 Hz), 4,14-4,08 (m, 5H, -O-CH₂-CH₃), 2,93 (t, 1H, piperidin-H(4'')), 2,02 (d, 4H, piperidin-H(2'', 6''), *J*=11,6 Hz), 1,92 (s, 3H, -CH₃), 1,69 (s, 4H, naft-(CH₂)₂), 1,40 (d, 4H, piperidin-H(3'', 5''), *J*=11,2 Hz), 1,29-1,19 (m, 24H, -naft-(CH₃)₂, piperidin-(CH₃)₂).

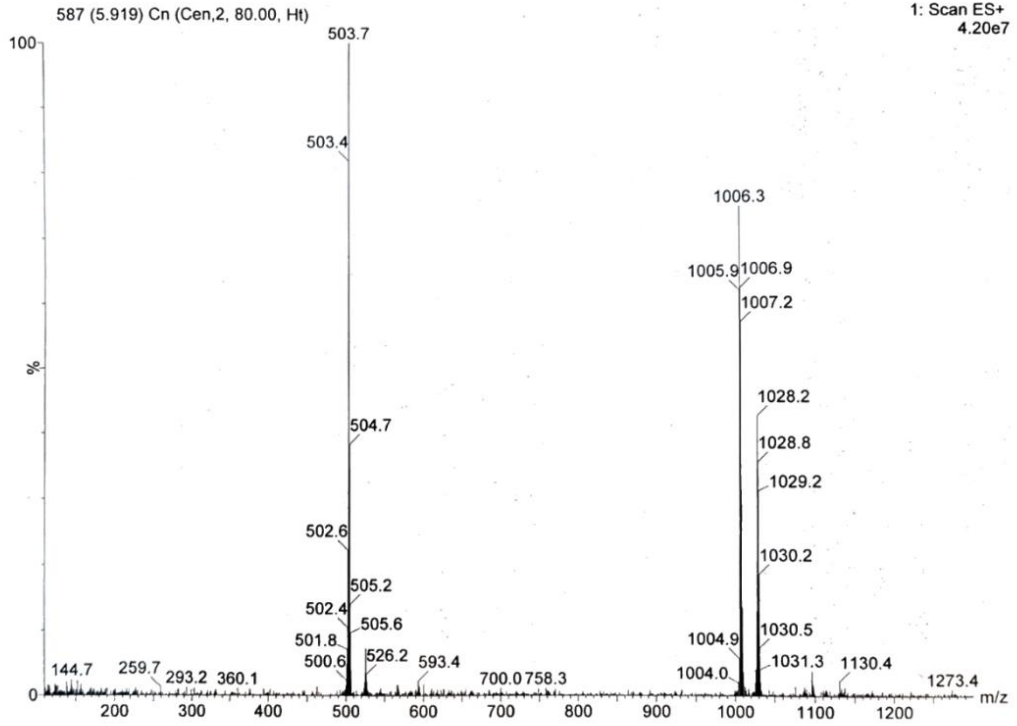
Kütle Spektromu: *m/z* (ES⁺): 503,7 (M+H, 100).

Elementel Analiz:	C₃₂H₄₂N₂O₃		
	%C	%H	%N
Hesaplanan:	76,45	8,42	5,57
Bulunan:	76,11	8,40	5,79

Sample Name:
 Data Collected on:
 mercury400-mercury400
 Archive directory:
 /home/vmmr1/vmmrse/data
 Sample directory:
 DP-18_20170823_01
 FidFile: PROTON_01
 Pulse Sequence: PROTON (s2pul)
 Solvent: cdcl3
 Data collected on: Aug 23 2017
 Temp. 25.0 C / 298.1 K
 Operator: vmmr1
 Relax. delay 1.000 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 2.559 sec
 Width 6402.0 Hz
 8 repetitions
 OBSERVE F1, 400.1740753 MHz
 DATA PROCESSING
 FT size 32768
 Total time 0 min 31 sec

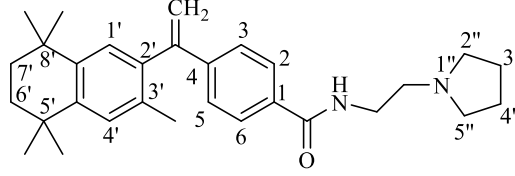


Şekil 3.23. Bileşik 16'nın ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 3.24. Bileşik 16'nın kütle spektrumu.

3.1.17. N-(2-(pirolidin-1-il)etil)-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (17)

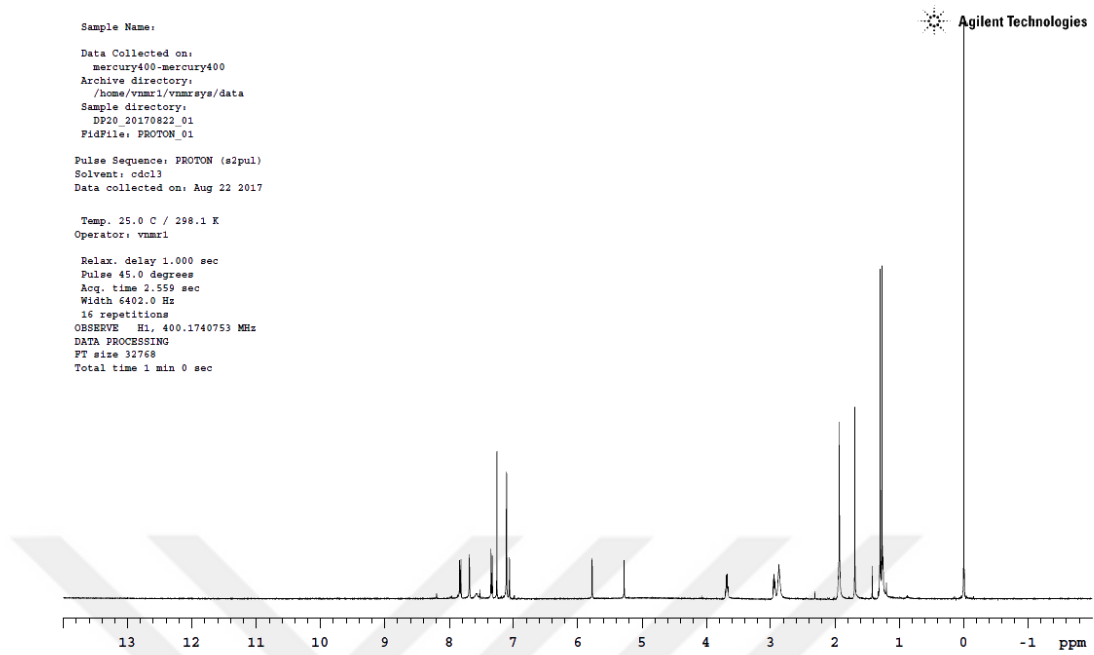


4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)vinil]benzoik asit (**5**) (1 mmol), susuz DMF (10 ml) ile çözüldü. *N,N'*-CDI'dan 1,5 mmol DMF'de çözümlenerek parça parça balona ilave edildi. 80°C'de bir saat karıştırıldı. (1,2 mmol) *N*-(2-aminoetil)-pirolidin bileşiği susuz DMF ile çözümlenerek reaksiyon ortamına damla damla ilave edildi. Oda sıcaklığında karıştırıldı. Su eklenip etil asetat ile ekstre edildi. Organik fazlar birleştirilerek susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu. Vakumda yoğunlaştırıldı. Elde edilen ham ürün *n*-hekzan : etilasetat (5:1) solvan sistemi kullanılarak, kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Etanolden kristallendirildi. Saf ürün % 57 verimle elde edildi. **E.N.:** 112-113 °C.

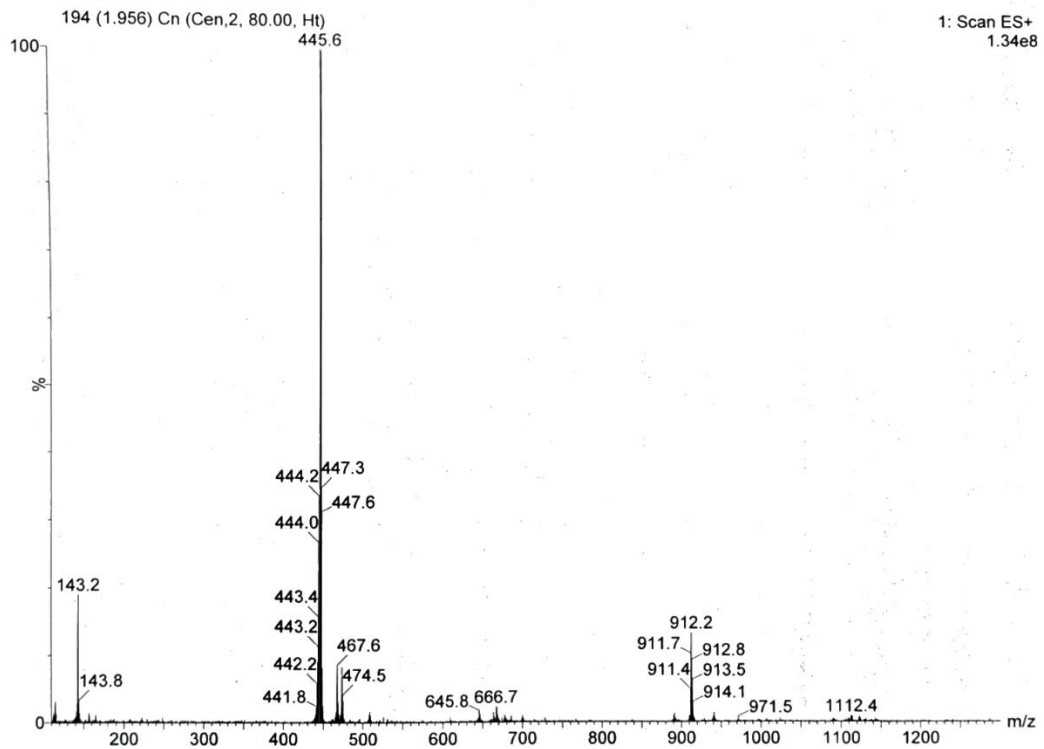
¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,82 (d, 2H, Ar-H(2, 6), J_o=8,8 Hz), 7,68 (s, 1H, Ar-naft-H(1')), 7,52 (t, 1H, -CO-NH), 7,33 (d, 2H, Ar-H(3, 5), J_o=8,4 Hz), 7,10 (s, 1H, Ar-naft-H(4')), 5,77 (s, 1H, -vinil-H), 5,28 (s, 1H, -vinil-H), 3,68-3,66 (m, 2H, -NH-CH₂-CH₂), 2,94 (t, 2H, -NH-CH₂-CH₂, J= 5,6, 5,6 Hz), 2,87 (br.s, 4H, pirolidin-H(2'', 5'')), 1,93 (s, 4H, pirolidin-H(3'', 4'')), 1,93 (s, 3H, -CH₃), 1,69 (s, 4H, (CH₂)₂), 1,29 (s, 6H, -(CH₃)₂), 1,26 (s, 6H, (CH₃)₂).

Kütle Spektrumu: m/z (ES⁺): 445,6 (M+H, 100); 467,6 (M+Na).

Elementel Analiz:	C₃₀H₄₀N₂O		
	%C	%H	%N
Hesaplanan:	81,03	9,06	6,30
Bulunan:	81,33	9,43	6,62



Şekil 3.25. Bileşik 17'nin ^1H -NMR spektrumu.



Şekil 3.26. Bileşik 17'nin kütle spektrumu.

3.2. Test Bileşiklerinin *In Vitro* Sitotoksik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

12 adet retinoid türevi bileşiğin A549, HeLa, MCF7 ve WiDr hücreleri üzerindeki sitotoksik potansiyelleri SRB yöntemi ile araştırılmıştır. Bu amaç doğrultusunda;

İlk olarak her bir test bileşiğinin 100 µM konsantrasyonundaki antiproliferatif etkisi dört hücre hattında da taranmıştır. Deney sonucunda her bir kuyucukta canlı kalan hücrelerin toplam protein miktarı kolorimetrik olarak ölçülmüş, elde edilen veriler test bileşiği ile muamele edilmemiş kontrol hücrelerinden elde edilen verilerle karşılaştırılarak % canlılık değerleri hesaplanmış ve doz cevap eğrileri çizilmiştir. Her bir test bileşiğinin dört farklı kanser hücre hattındaki tarama çalışmalarından elde edilen % canlılık değerleri standart sapmaları ile birlikte Çizelge 3.1’de ve bu verilerden elde edilen doz cevap eğrileri Şekil 3.27’de özetlenmiştir.

100 µM konsantrasyonda yapılan taramalar sonrasında; % canlılık değerleri %50’nin altında olan bileşikler etkili bileşikler olarak değerlendirilmiş olup bu bileşiklerin etkili olduğu görülen hücre hatlarındaki sitotoksik etkileri 100µM altındaki 5 farklı konsantrasyonu (50, 25, 12,5, 6,25 ve 3,125 µM) ile tekrar incelenmiştir. Bu aşama sonunda ise her bileşik için değişik konsantrasyonlarda elde edilen % canlılık değerleri S-probit analizi ile değerlendirilerek test bileşiğinin ilgili kanser hücre hattına ait IC₅₀ değerleri belirlenmiştir. Tarama çalışması sonrasında etkili (% canlılık<%50) olduğu görülen test bileşiklerinin denenen konsantrasyonlarından elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevap eğrilerine ait grafikler Çizelge 3.2 ile Çizelge 3.12 arasında gösterilmiştir. Ayrıca dört farklı kanser hücre hattı için her bir bileşiğe ait IC₅₀ değerleri Çizelge 3.13’de topluca özetlenmiştir.

Her bileşik için farklı zamanlarda en az 3 deney ve her bağımsız deneyde her değişken için 3 kopya kullanılmıştır. Rutinde antikanser ilacı olarak kullanılan kamptotesin (CPT) pozitif kontrol olarak sisteme eklenmiştir.

Tarama çalışmalarından elde edilen veriler topluca incelendiğinde;

9 numaralı bileşik hiçbir kanser hücre hattında canlılık yüzdeleri açısından %50 'nin altında sitotoksik etki göstermemiştir. Her bir hücre hattında canlılık yüzdesi %70'in üzerinde olduğu görülmüştür.

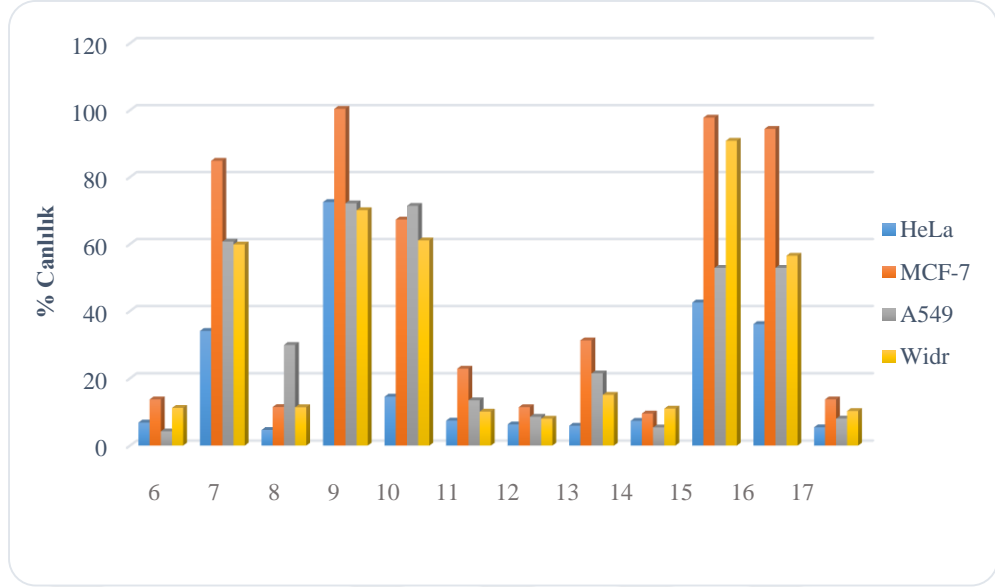
HeLa hücre hattında; **9** numaralı bileşiği hariç diğer 11 bileşiğin %4,2 - %42,5 arasında değişen canlılık yüzdeleri ile %50 'nin altında sitotoksik etki gösterdiği görülmüştür.

MCF-7, A549 ve WiDr hücre hatlarında ise **7, 10, 15 ve 16** numaralı bileşikleri hariç diğer 8 bileşiğin %4,2 - %31 arasında değişen canlılık yüzdeleri ile %50 'nin altında sitotoksik etki gösterdiği görülmüştür.

Çizelge 3.1. Test bileşiklerinin SRB testine ait tarama sonuçları (% canlılık).

Bileşik	HeLa	MCF-7	A549	WiDr
6	4,2 ± 0,27*	7,1 ± 1,55*	5,3 ± 0,50*	11,2 ± 1,66*
7	34,1 ± 8,61*	84,9 ± 2,42	60,7 ± 3,19	59,9 ± 4,48
8	30,3 ± 4,52*	5,4 ± 0,48*	11,2 ± 0,79*	11,4 ± 1,48*
9	72,5 ± 5,34	100 ± 2,15	72,2 ± 9,79	70,1 ± 1,01
10	14,5 ± 2,36*	67,3 ± 8,76	71,4 ± 4,1	61,1 ± 2,32
11	7,4 ± 0,30*	5,2 ± 0,40*	4,2 ± 0,31*	10,1 ± 0,36*
12	8,3 ± 0,52*	4,2 ± 0,31*	4,4 ± 0,57*	8,01 ± 0,49*
13	19,3 ± 0,60*	6,1 ± 0,69*	31 ± 3,18*	15,0 ± 1,11*
14	5,2 ± 0,50*	6,4 ± 0,33*	4,3 ± 0,24*	11,4 ± 0,78*
15	42,5 ± 8,2*	97,7 ± 4,51	52,9 ± 5,58	90,8 ± 5,84
16	36,1 ± 5,27*	94,4 ± 3,86	52,9 ± 2,2	56,5 ± 2,10
17	6,2 ± 0,37*	5,2 ± 1,21*	5,34 ± 0,12*	10,3 ± 0,99*

Veriler bileşiklerin 100µM konsantrasyonlarında elde edilen % canlılık ve standart sapma değerlerini göstermektedir. Her bir bileşiğin taranan hücre hattında %50'nin altındaki %canlılık değeri.*

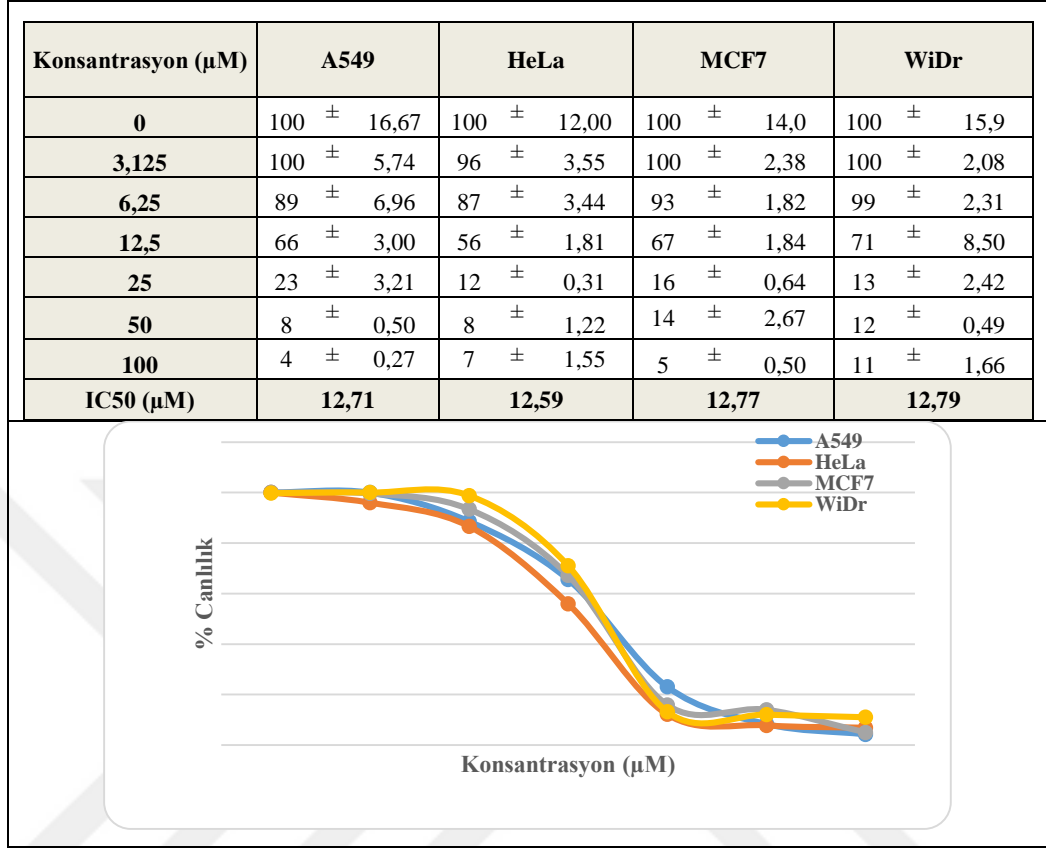


Şekil 3.27. Test bileşiklerinin SRB testinde tarama çalışmaları sonucunda elde edilen % canlılık değerlerini gösteren grafik.

Tarama çalışmaları sonrasında %50'nin altında canlılık gösteren test bileşiklerinin farklı konsantrasyonlarına karşılık gelen % canlılık verileri her bir kanser hücre hattı için, kontrol grubuna göre Dunn's çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında ise;

6 numaralı bileşiğin; % canlılık açısından kontrole göre anlamlı farklılığı yaratan ilk dozunun A549 ve HeLa hücre hatları için 6,25 μ M iken, MCF-7 ve WiDr hücre hatları için 12,5 μ M olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Farklılığı yaratan bu dozlarda hücre canlılığının; kontrole göre A549 hücrelerinde %11, HeLa hücrelerinde %13, MCF-7 hücrelerinde %33 ve WiDr hücrelerinde ise %29 oranında azaldığı görülmektedir. Bu dozlardan itibaren; her dört hücre dizisinde hücre canlılığının, doza bağlı olarak logaritmik olarak azaldığı görülmektedir. Ayrıca S-probit analizi sonucu elde edilen IC_{50} değeri; A549 için 12,71 μ M, HeLa için 12,59 μ M, MCF-7 için 12,77 μ M iken WiDr için 12,79 μ M olarak saptanmıştır.

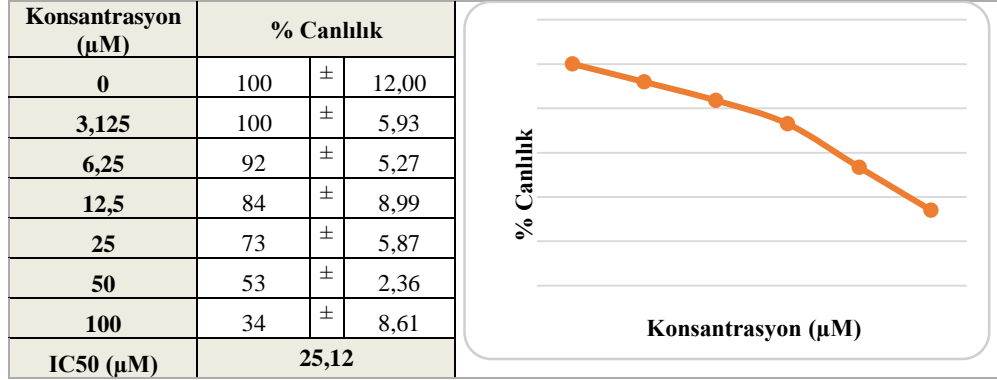
Çizelge 3.2. 6 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen A549, HeLa, MCF-7 ve WiDr hücre hatlarında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevap eğrileri.



*Veriler 3 deneyin ortalamasına ait % canlılık değerlerini ve standart sapmalarını göstermektedir.

7 numaralı bileşiğin; % canlılık açısından kontrole göre anlamlı farklılığı yaratan ilk dozunun HeLa hücre hattı için 12,5 μM olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Farklılığı yaratan bu dozda hücre canlılığının; kontrole göre HeLa hücrelerinde %16 oranında azaldığı görülmektedir. Bu dozdan itibaren hücre canlılığının, doza bağlı olarak logaritmik olarak azaldığı görülmektedir. Ayrıca S-probit analizi sonucu elde edilen IC₅₀ değeri; HeLa için 25,12 μM olarak saptanmıştır.

Çizelge 3.3. 7 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen HeLa hücre hattında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevap eğrisi.

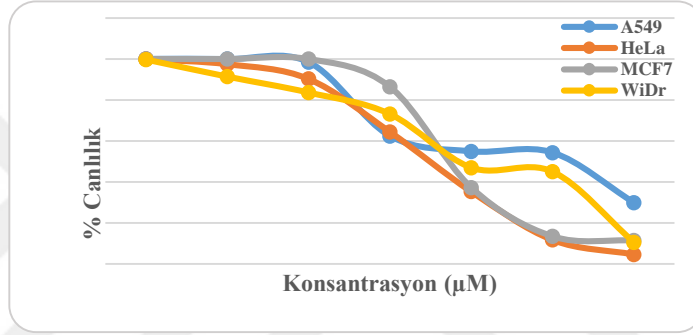


*Veriler 3 deneyin ortalamasına ait % canlılık değerlerini ve standart sapmalarını göstermektedir.

8 numaralı bileşimin; % canlılık açısından kontrole göre anlamlı farklılığı yaratan ilk dozunun A549, HeLa ve MCF-7 hücre hatları için 12,5 µM iken WiDr hücre hattı için 6,25 µM olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Farklılığı yaratan bu dozlarda hücre canlılığının; kontrole göre A549 hücrelerinde %38, HeLa hücrelerinde %36, MCF-7 hücrelerinde %24 ve WiDr hücrelerinde ise %16 oranında azaldığı görülmektedir. Bu dozlardan itibaren; her dört hücre dizisinde hücre canlılığının, doza bağlı olarak logaritmik olarak azaldığı görülmektedir. Ayrıca S-probit analizi sonucu elde edilen IC₅₀ değeri; A549 için 12,13 µM, HeLa için 12,68 µM, MCF-7 için 24,62 µM iken WiDr için 24,70 µM olarak saptanmıştır.

Çizelge 3.4. 8 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen A549, HeLa, MCF-7 ve WiDr hücre hatlarında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevab eğrileri.

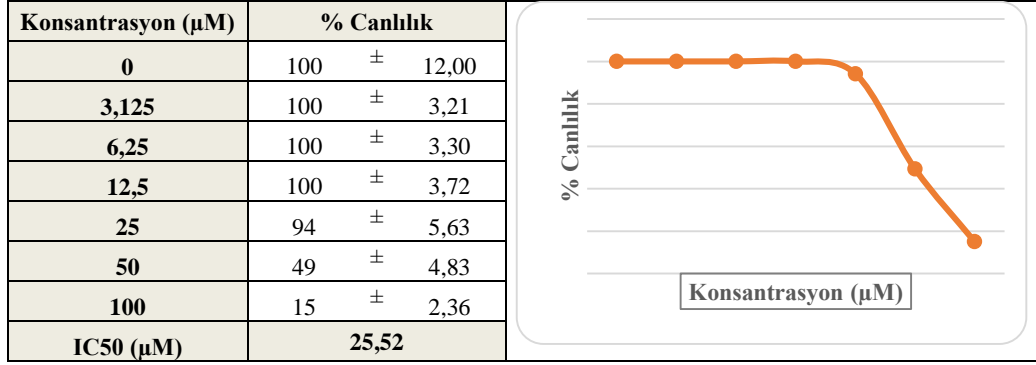
Konsantrasyon (μM)	A549		HeLa		MCF7		WiDr	
0	100	\pm 16,67	100	\pm 12,00	100	\pm 14,00	100	\pm 15,94
3,125	100	\pm 12,18	98	\pm 6,22	100	\pm 3,82	91	\pm 4,12
6,25	99	\pm 8,31	90	\pm 4,38	100	\pm 1,40	84	\pm 3,11
12,5	62	\pm 6,80	64	\pm 2,06	86	\pm 3,57	73	\pm 6,41
25	55	\pm 5,42	35	\pm 1,12	37	\pm 1,72	45	\pm 2,03
50	54	\pm 5,53	12	\pm 2,57	13	\pm 1,06	47	\pm 4,83
100	30	\pm 4,52	5	\pm 0,48	11	\pm 0,79	11	\pm 1,48
IC50 (μM)	12,13		12,68		24,62		24,70	



*Veriler 3 deneyin ortalamasına ait % canlılık değerlerini ve standart sapmalarını göstermektedir.

10 numaralı bileşiğin; % canlılık açısından kontrole göre anlamlı farklılığı yaratan ilk dozunun HeLa hücre hattı için 50 μM olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Farklılığı yaratan bu dozda hücre canlılığının; kontrole göre HeLa hücrelerinde %51 oranında azaldığı görülmektedir. Bu dozdan itibaren hücre canlılığının, doza bağlı olarak logaritmik olarak azaldığı görülmektedir. Ayrıca S-probit analizi sonucu elde edilen IC₅₀ değeri; HeLa için 25,52 μM olarak saptanmıştır.

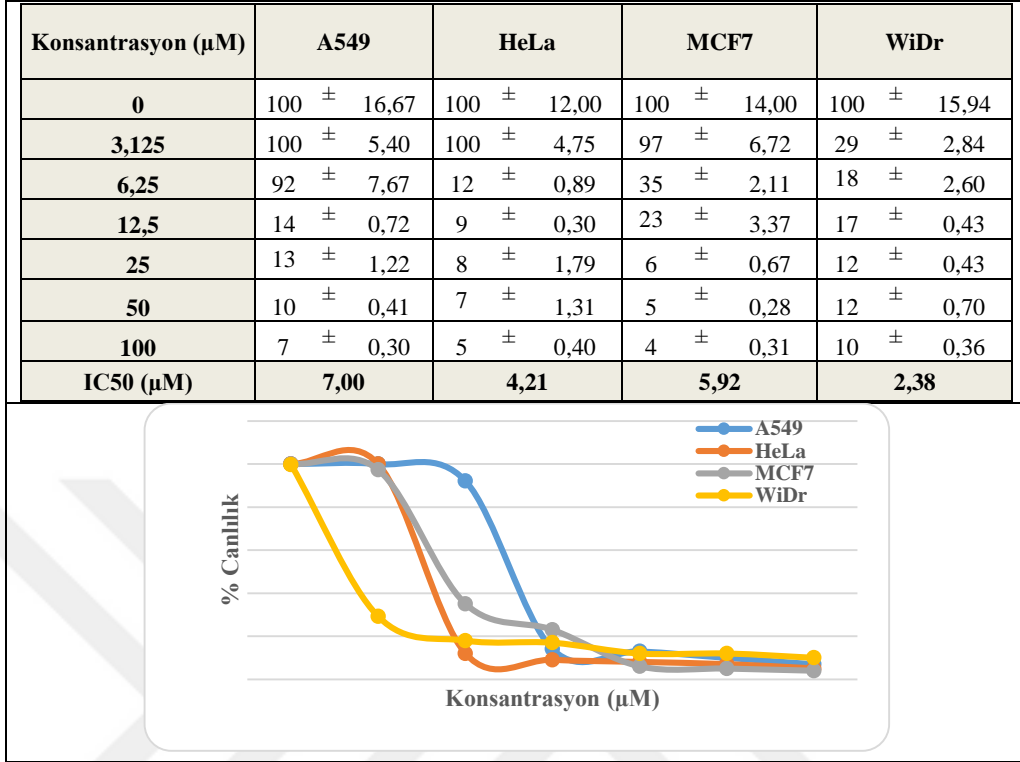
Çizelge 3.5. 10 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen HeLa hücre hattında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevap eğrisi.



*Veriler 3 deneyin ortalamasına ait % canlılık değerlerini ve standart sapmalarını göstermektedir.

11 numaralı bileşiğin; % canlılık açısından kontrole göre anlamlı farklılığı yaratan ilk dozunun A549 hücre hattı için 12,5 μM iken, HeLa ve MCF-7 hücre hatları için 6,25 μM ve WiDr hücre hattı için 3,125 μM olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Farklılığı yaratan bu dozlarda hücre canlılığının; kontrole göre A549 hücrelerinde %86, HeLa hücrelerinde %88, MCF-7 hücrelerinde %65 ve WiDr hücrelerinde ise %71 oranında azaldığı görülmektedir. Bu dozlardan itibaren; her dört hücre dizisinde hücre canlılığının, doza bağlı olarak logaritmik olarak azaldığı görülmektedir. Ayrıca S-probit analizi sonucu elde edilen IC₅₀ değeri; A549 için 7 μM , HeLa için 4,21 μM , MCF-7 için 5,92 μM iken WiDr için 2,38 μM olarak saptanmıştır.

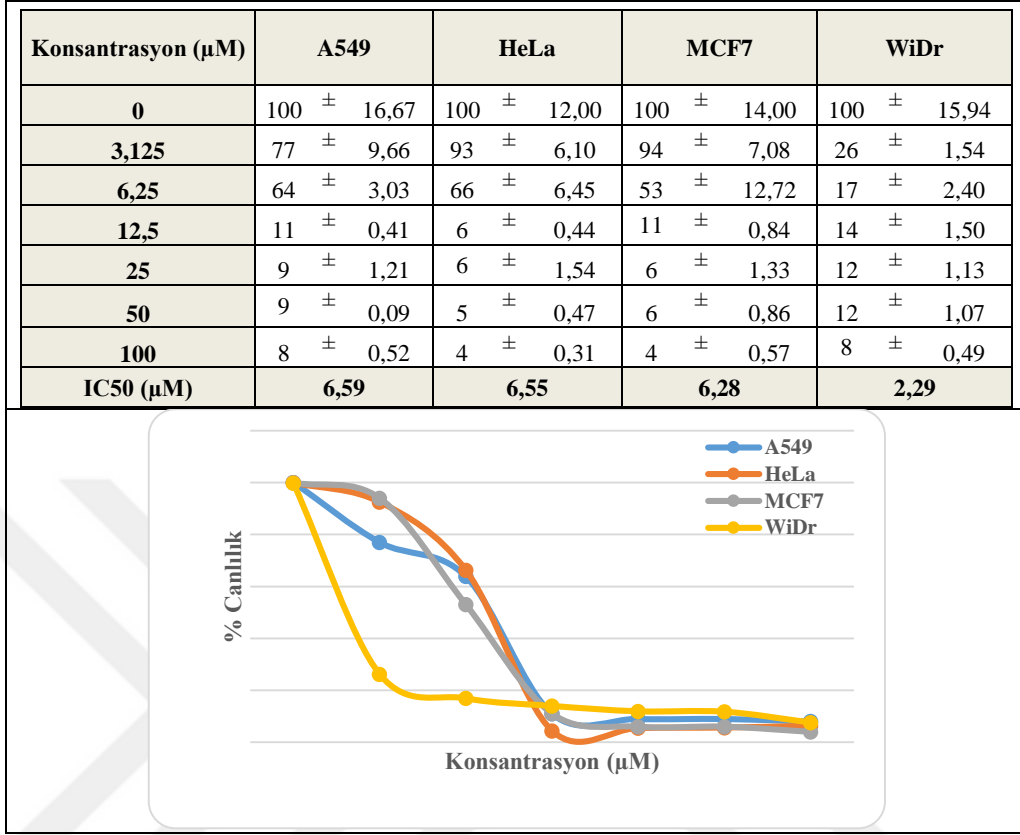
Çizelge 3.6. 11 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen A549, HeLa, MCF-7 ve WiDr hücre hatlarında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevab eğrileri.



* Veriler 3 deneyin ortalamasına ait % canlılık değerlerini ve standart sapmalarını göstermektedir.

12 numaralı bileşimin; % canlılık açısından kontrole göre anlamlı farklılığı yaratan ilk dozunun A549 hücre hattı için 3,125 μM iken, HeLa ve MCF-7 hücre hatları için 6,25 μM ve WiDr hücre hattı için 3,125 μM olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Farklılığı yaratan bu dozlarda hücre canlılığının; kontrole göre A549 hücrelerinde %23, HeLa hücrelerinde %34, MCF-7 hücrelerinde %47 ve WiDr hücrelerinde ise %74 oranında azaldığı görülmektedir. Bu dozlardan itibaren; her dört hücre dizisinde hücre canlılığının, doza bağlı olarak logaritmik olarak azaldığı görülmektedir. Ayrıca S-probit analizi sonucu elde edilen IC₅₀ değeri; A549 için 6,59 μM , HeLa için 6,55 μM , MCF-7 için 6,28 μM iken WiDr için 2,29 μM olarak saptanmıştır.

Çizelge 3.7. 12 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen A549, HeLa, MCF-7 ve WiDr hücre hatlarında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevab eğrileri.

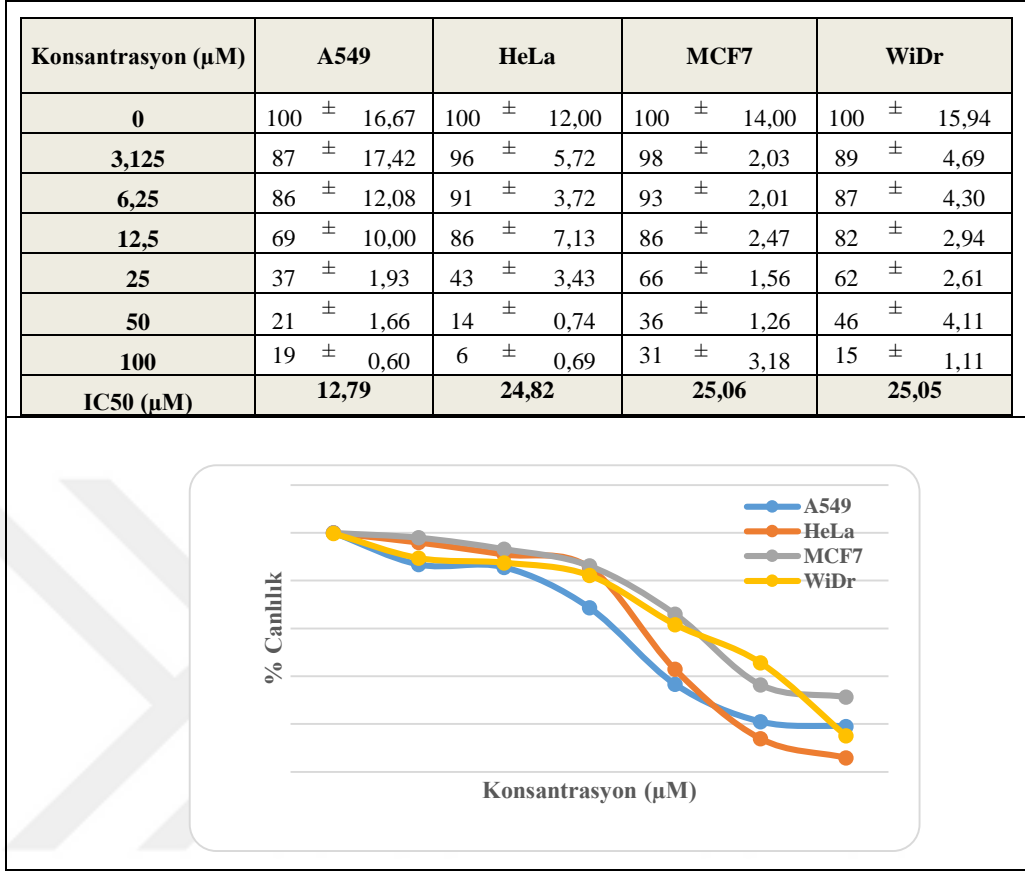


* Veriler 3 deneyin ortalamasına ait % canlılık değerlerini ve standart sapmalarını göstermektedir.

13 numaralı bileşiğin; % canlılık açısından kontrole göre anlamlı farklılığı yaratan ilk dozunun A549 hücre hattı için 3,125 μM iken, HeLa ve MCF-7 hücre hatları için 12,5 μM ve WiDr hücre hattı için 3,125 μM olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Farklılığı yaratan bu dozlarda hücre canlılığının; kontrole göre A549 hücrelerinde %13, HeLa hücrelerinde %14, MCF-7 hücrelerinde %14 ve WiDr hücrelerinde ise %11 oranında azaldığı görülmektedir. Bu dozlardan itibaren; her dört hücre dizisinde hücre canlılığının, doza bağlı olarak logaritmik olarak azaldığı görülmektedir.

Ayrıca S-probit analizi sonucu elde edilen IC₅₀ değeri; A549 için 12,79 μM , HeLa için 24,82 μM , MCF-7 için 25,06 μM iken WiDr için 25,05 μM olarak saptanmıştır.

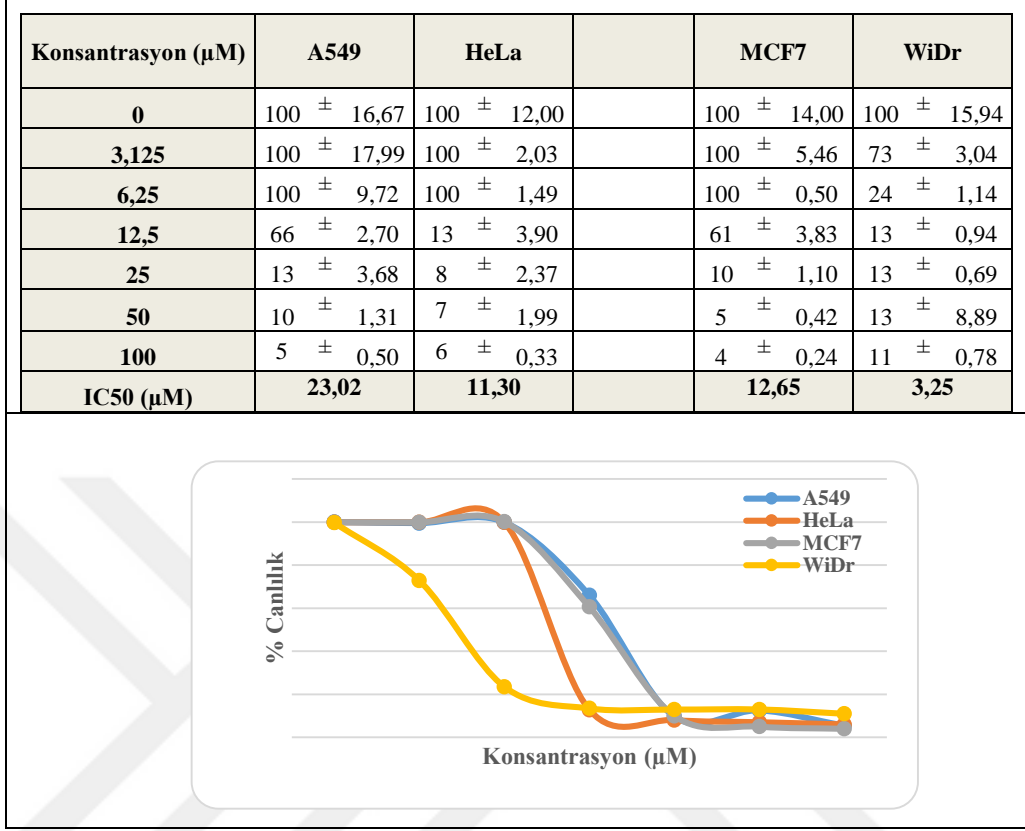
Çizelge 3.8. 13 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen A549, HeLa, MCF-7 ve WiDr hücre hatlarında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevab eğrileri.



* Veriler 3 deneyin ortalamasına ait % canlılık değerlerini ve standart sapmalarını göstermektedir.

14 numaralı bileşiğin; % canlılık açısından kontrole göre anlamlı farklılığı yaratan ilk dozunun A549, HeLa ve MCF-7 hücre hatları için 12,5 μM iken, WiDr hücre hattı için 3,125 μM olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Farklılığı yaratan bu dozlarda hücre canlılığının; kontrole göre A549 hücrelerinde %34, HeLa hücrelerinde %87, MCF-7 hücrelerinde %39 ve WiDr hücrelerinde ise %27 oranında azaldığı görülmektedir. Bu dozlardan itibaren; her dört hücre dizisinde hücre canlılığının, doza bağlı olarak logaritmik olarak azaldığı görülmektedir. Ayrıca S-probit analizi sonucu elde edilen IC₅₀ değeri; A549 için 23,02 μM , HeLa için 11,3 μM , MCF-7 için 12,65 μM iken WiDr için 3,25 μM olarak saptanmıştır.

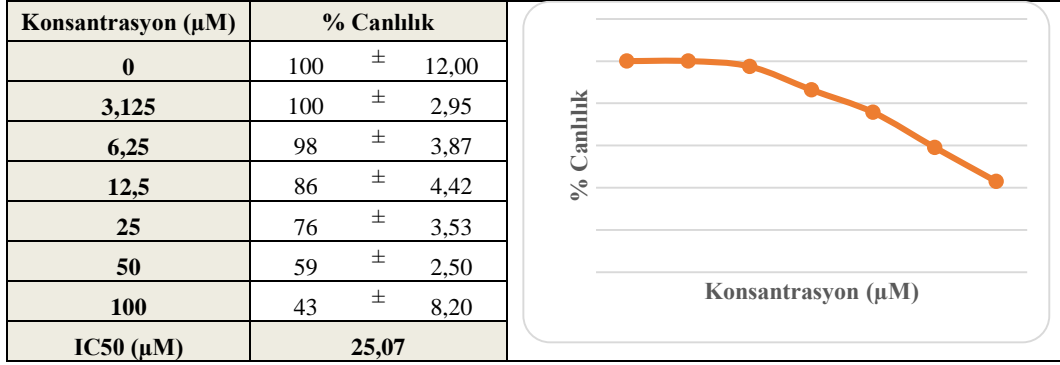
Çizelge 3.9. 14 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen A549, HeLa, MCF-7 ve WiDr hücre hatlarında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevab eğrileri.



* Veriler 3 deneyin ortalamasına ait % canlılık değerlerini ve standart sapmalarını göstermektedir.

15 numaralı bileşiğin; % canlılık açısından kontrole göre anlamlı farklılığı yaratan ilk dozunun HeLa hücre hattı için 12,5 μM olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Farklılığı yaratan bu dozda hücre canlılığının; kontrole göre HeLa hücrelerinde %14 oranında azaldığı görülmektedir. Bu dozdan itibaren hücre canlılığının, doza bağlı olarak logaritmik olarak azaldığı görülmektedir. Ayrıca S-probit analizi sonucu elde edilen IC₅₀ değeri; HeLa için 25,07 μM olarak saptanmıştır.

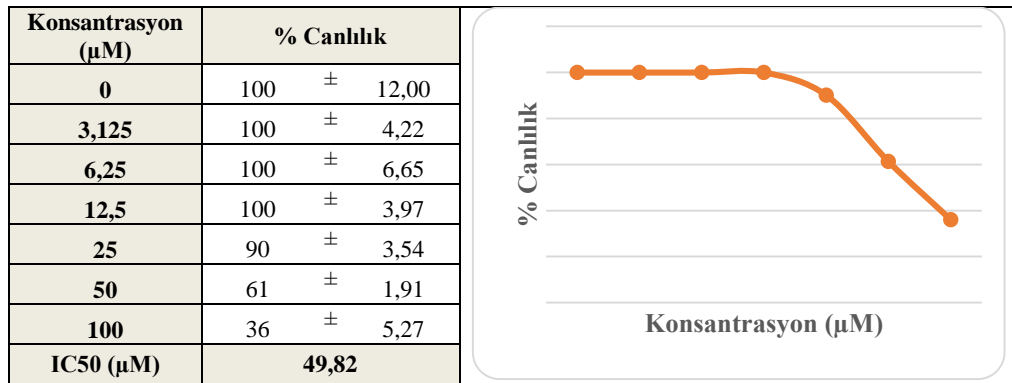
Çizelge 3.10. 15 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen HeLa hücre hattında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevap eğrileri.



* Veriler 3 deneyin ortalamasına ait % canlılık değerlerini ve standart sapmalarını göstermektedir.

16 numaralı bileşiğin; % canlılık açısından kontrole göre anlamlı farklılığı yaratan ilk dozunun HeLa hücre hattı için 50 μM olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Farklılığı yaratan bu dozda hücre canlılığının; kontrole göre HeLa hücrelerinde %39 oranında azaldığı görülmektedir. Bu dozdan itibaren hücre canlılığının, doza bağlı olarak logaritmik olarak azaldığı görülmektedir. Ayrıca S-probit analizi sonucu elde edilen IC₅₀ değeri; HeLa için 49,82 μM olarak saptanmıştır.

Çizelge 3.11. 16 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen HeLa hücre hattında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevap eğrileri.

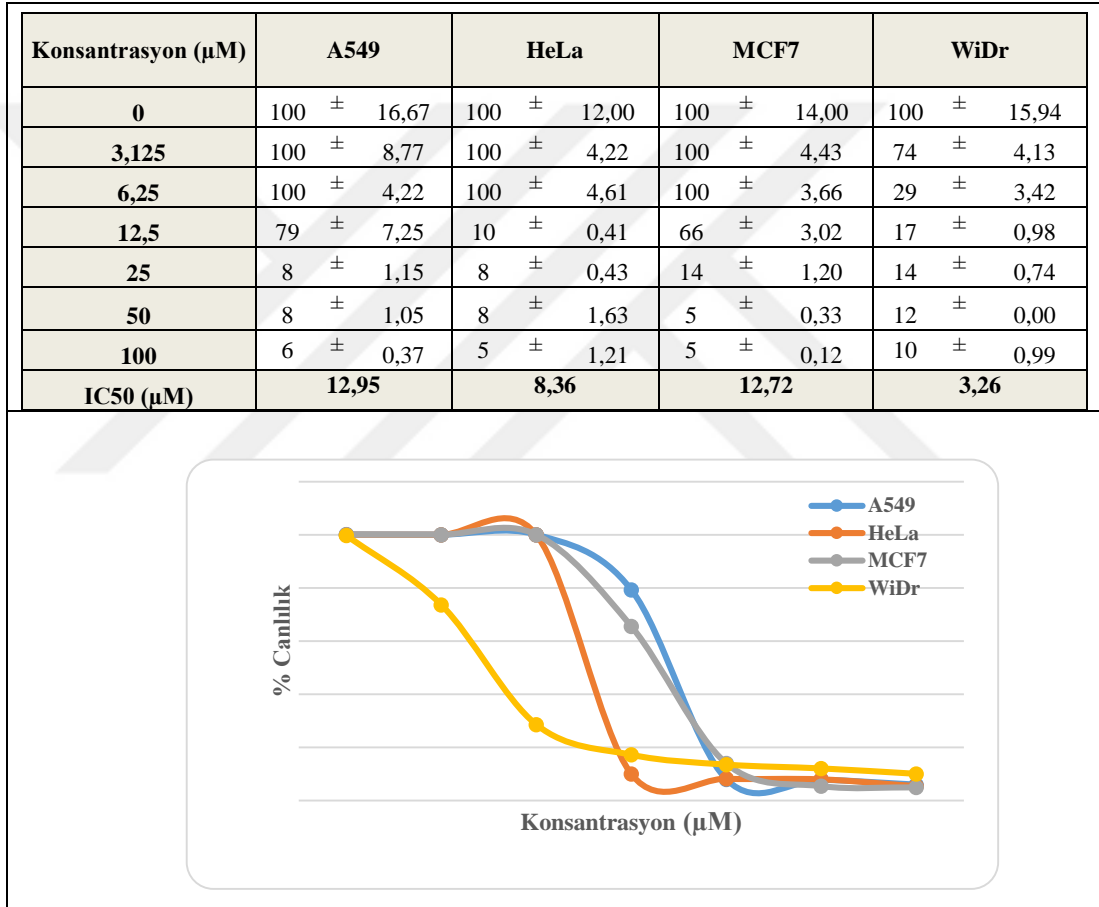


* Veriler 3 deneyin ortalamasına ait % canlılık değerlerini ve standart sapmalarını göstermektedir.

17 numaralı bileşiğin; % canlılık açısından kontrole göre anlamlı farklılığı yaratan ilk dozunun A549, HeLa ve MCF-7 hücre hatları için 12,5 μM iken WiDr hücre hattı için 3,125 μM olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Farklılığı yaratan bu dozlarda

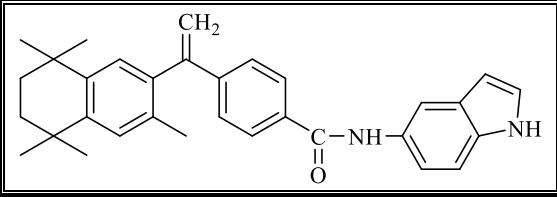
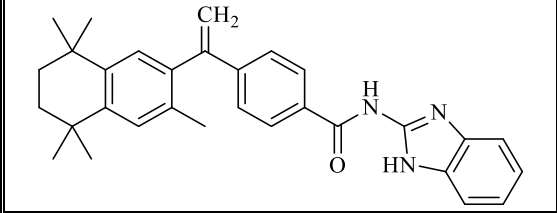
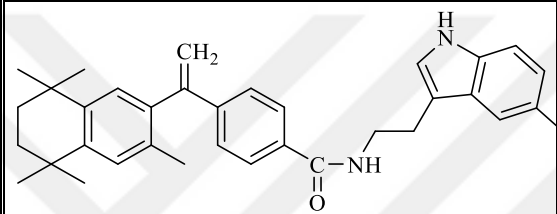
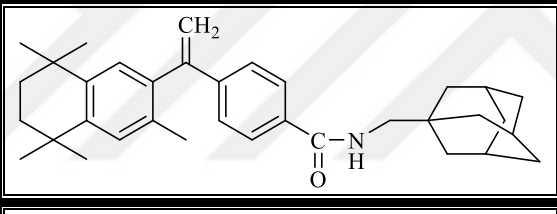
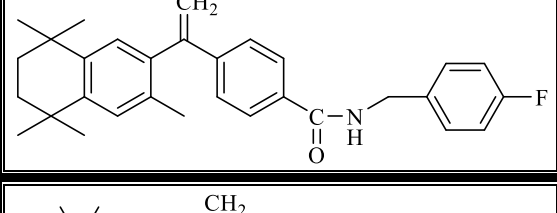
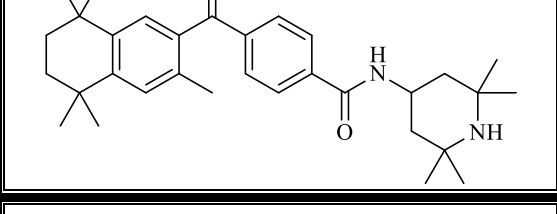
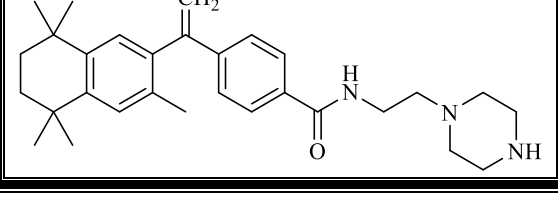
hücre canlılığının; kontrole göre A549 hücrelerinde %21, HeLa hücrelerinde %90, MCF-7 hücrelerinde %34 ve WiDr hücrelerinde ise %26 oranında azaldığı görülmektedir. Bu dozlardan itibaren; her dört hücre dizisinde hücre canlılığının, doza bağlı olarak logaritmik olarak azaldığı görülmektedir. Ayrıca S-probit analizi sonucu elde edilen IC₅₀ değeri; A549 için 12,95 µM, HeLa için 8,36 µM, MCF-7 için 12,72 µM iken WiDr için 3,26 µM olarak saptanmıştır.

Çizelge 3.12. 17 numaralı bileşik ile 48 saat muamele edilen A549, HeLa, MCF-7 ve WiDr hücre hatlarında SRB testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri ve doz-cevap eğrileri.

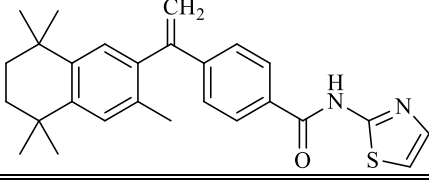
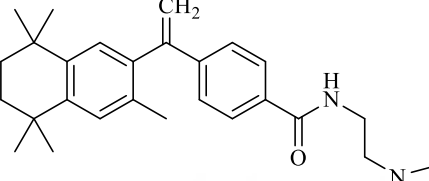
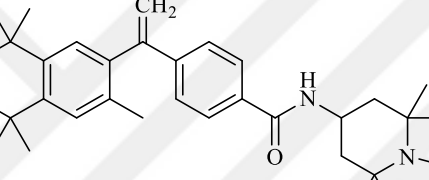
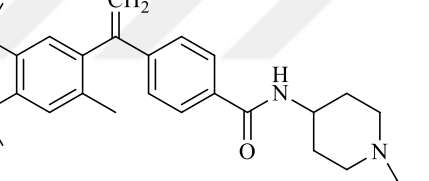
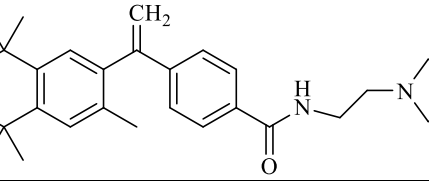
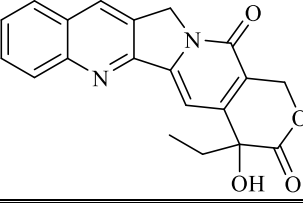


* Veriler 3 deneyin ortalamasına ait % canlılık değerlerini ve standart sapmalarını göstermektedir.

Çizelge 3.13. 12 adet retinoid türevi bileşiğin SRB testi sonucu elde edilen IC₅₀ (µM) değerleri.

Bileşik		A549	HeLa	MCF7	WiDr
6		12,71	12,59	12,77	12,79
7		>100	25,12	>100	>100
8		12,13 CH ₃	12,68	24,62	24,70
9		>100	>100	>100	>100
10		>100	25,52	>100	>100
11		7,00	4,21	5,92	2,38
12		6,59	6,55	6,28	2,29

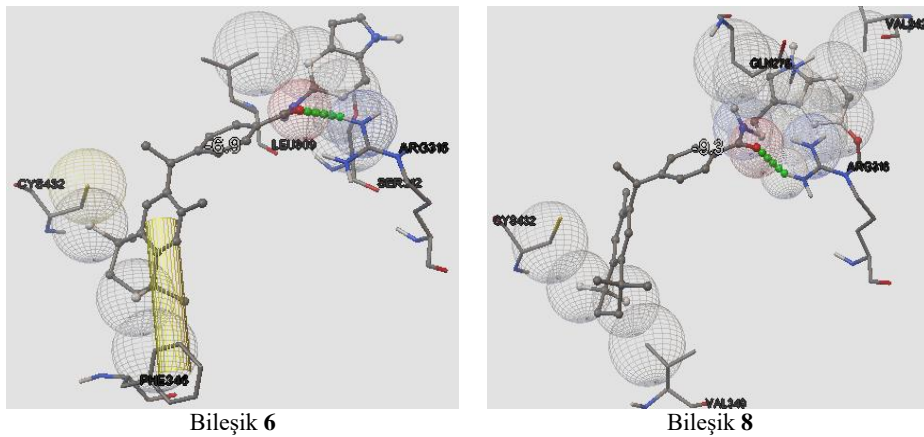
Çizelge 3.13. Devam. 12 adet retinoid türevi bileşiğin SRB testi sonucu elde edilen IC₅₀ (µM) değerleri.

Bileşik	A549	HeLa	MCF7	WiDr	
13		12,79	24,82	25,06	25,05
14		23,02	11,30	12,65	3,25
15		≥100	25,07	>100	>100
16		≥100	49,82	>100	>100
17		12,95	8,36	12,72	3,26
CPT		1,9	3,93	1,3	2,57

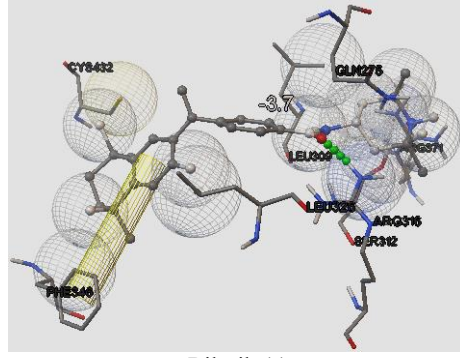
3.3. Sentezlenen Türevlerin Doking Sonuçları

Bu doktora tez çalışması kapsamında sentezlenen genel yapısı sübstitüe-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid olan türevlerden 25 μM 'ın altında IC_{50} değerine sahip 7 adet bileşiğin $\text{RXR}\alpha$ aktif yöresindeki bağlanma özellikleri incelenmiştir. Doking programı olarak Autodock vina 1.0.2. ve Autodock Tools (version 1.5.6) yazılım programı kullanılarak bağlanma enerjileri, enzim aktif yöresindeki yerleşimleri ve hidrojen bağı yapma özellikleri tespit edilmiştir. Bileşiklerin bağlanma özellikleri, serbest bağlanma enerjileri (ΔGb , kcal/mol), hidrojen bağları ve sapma ortalamasının kare kökü (RMSD, Root Mean Square Deviation) değerleri tespit edilmiştir. Doking çalışması yapılan tüm bileşiklerin enzim aktif yöresine yerleştiği ve çoğunluğunun Arg 316 aktif yöre aminoasiti ile bir veya iki adet hidrojen bağı yaptığı saptanmıştır (Şekil 3.28). Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.14'de yer almaktadır.

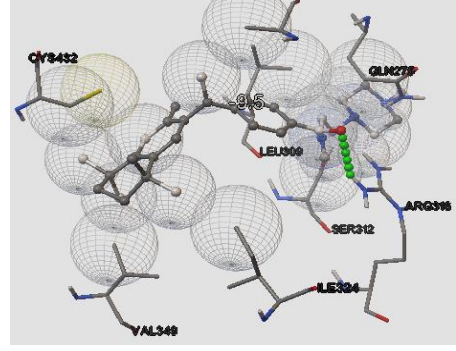
Doking sonuçlarından bileşik **6**, **8**, **11**, ve **12**'nin, amit karbonili ile Arg316-NH₁ ve bileşik **13**'ün amit karbonili ile Arg316 ve Gln275 NH₁ arasında hidrojen bağı etkileşimi göstermiştir. Bileşik **14** ve **17** ise, amit karbonili grubu ile Arg316-NHH12 ve Arg-NHH22'i arasında iki adet hidrojen bağı etkileşimi göstermiştir.



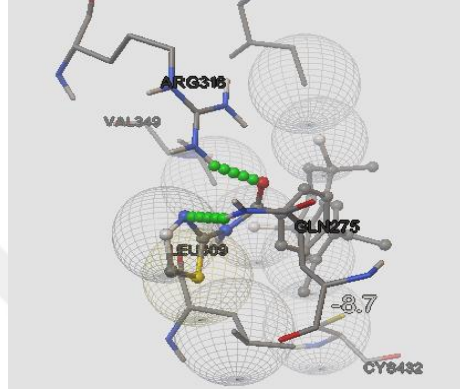
Şekil 3.28. Sübstitüe-(1-(3, 5, 5, 8, 8-pentametil-5, 6, 7, 8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil) benzamid türevlerinden IC_{50} (μM) değerleri 25 μM ve altında olan bileşiklerin enzim aktif yöresi ile etkileşimleri.



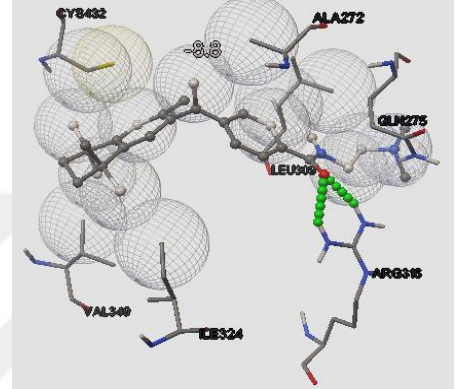
Bileşik 11



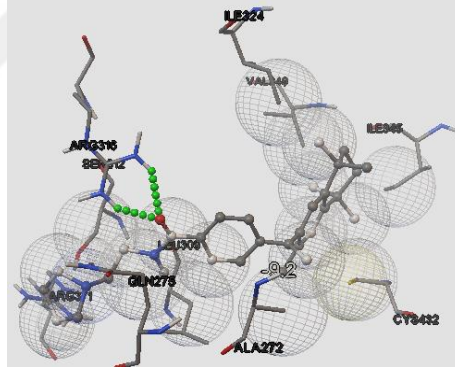
Bileşik 12



Bileşik 13



Bileşik 14



Bileşik 17

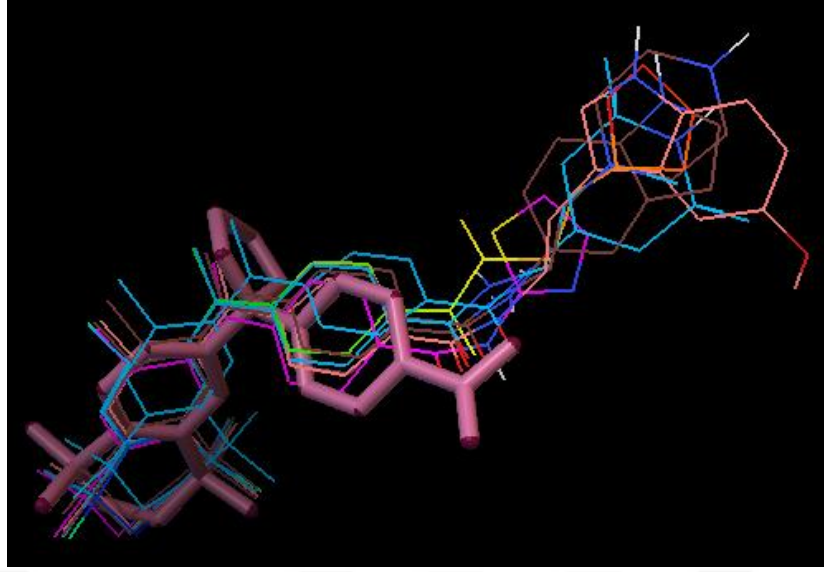
Şekil 3.28. Devam. Sübstitüe-(1-(3, 5, 5, 8, 8-pentametil-5, 6, 7, 8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil) benzamid türevlerinden IC_{50} (μM) değerleri 25 μM ve altında olan bileşiklerin enzim aktif yöresi ile etkileşimleri.

Çizelge 3.14. Sübstitüe-(1-(3, 5, 5, 8, 8-pentametil-5, 6, 7, 8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil) benzamid türevlerinden IC₅₀ (µM) değerleri 25 µM ve altında olan bileşiklerin doking sonuçlarından elde edilen serbest bağlanma enerjileri, hidrojen bağı açısı ve uzaklıkları ve RMSD değerleri.

Bileşik	ΔG ^a (kcal/mol)	Bileşiklerin Enzim Aktif Yöresi ile Yaptıkları Hidrojen Bağları			RMSD (Å)	
		Bileşik atomları	Amino asit	Uzaklık (Å) D-H.....A		Açı (°)
6	-6,9	-NH-CO	Arg316-NH	1,86	109,48	0,97
8	-9,3	-NH-CO	Arg316-NH	1,83	130,70	1,32
11	-3,7	-NH-CO	Arg316-NH	1,54	106,51	1,01
12	-9,5	--NH-CO	Arg316-NH	2,21	92,93	1,39
13	-8,7	-NH-CO	Arg316-NH Gln275-NH	1,84 2,05	112,54 161,57	1,88
14	-8,8	-NH-CO	Arg316-NHH12 Arg316-NHH22	2,21 2,05	130,03 42,57	1,58
17	-9,2	-NH-CO	Arg316-NHH12 Arg316-NHH22	2,19 2,01	132,20 23,32	1,54
RXRα^b (kristal)	-12,5	N5 NH ₂	Arg316-NHH22 Ala327	2,21 1,92	85,71 12,5	0,85
Beksaroten dock	-10,3	N5	Arg316-NHH22 Ala327	2,00 1,90	26,70 158,50	1,49

^a Serbest bağlanma enerjisi; ^b RXRα kristal yapısında (PDB ID: 1MVC) yer alan agonist ligand (BMS 649).

Sübstitüe-4-(1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil) benzamid olan türevi bileşiklerin doking sonuçları üstüste karşılaştırıldıklarında, enzim aktif yöresine kristal BMS649 ile oldukça benzer ve yakın bir şekilde yerleştikleri saptanmıştır (Şekil 3.29).



Şekil 3.29. Sübstitüe-4-(1-(3, 5, 5, 8, 8-pentametil-5, 6, 7, 8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil) benzamid türevi bileşiklerin en düşük enerjili konformasyonları ve kristal BMS649'un (pembe) RXR α aktif yöresinde üstüste çakıştırılmasıyla elde edilen görüntü.

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada bilinen retinoidal aktiviteye sahip bileşiklerin hibridleştirilmeleri ile yeni türevler elde etmek ve bazı kanser hücre hatlarına yönelik *in vitro* çalışmalar yapılması amaçlanmıştır. Doğal retinoidlerin toksik etkilerinden dolayı, retinoidaall ilaçların tedavide kullanımı sınırlandırılmıştır. Yan etkisi ve/veya toksisitesi daha düşük yeni retinoidal türevi bileşiklerin, klinikte tedaviye faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Her ilaçta olduğu gibi, Beksaroten bileşiğinin de çeşitli yan etkileri söz konusudur. Bunlar arasında hipotiroidizm, hiperlipidemi ve doz konsantrasyonuna bağlı olarak ortaya çıkan RAR agonizması sonucu kütanoz toksisitesi bilinmektedir. Bu nedenle, yeni ve daha düşük toksisite gösterebilecek bileşiklere gereksinim duyulmaktadır. Bir karboksil yapısının (Beksaroten'de var olan) amid yapısına dönüştürülmesi, toksisitenin azalmasına yol açabilmektedir. FDA onaylı Beksaroten bileşiği ile fenretinid bileşiğinin hibridleşmesi sonucu elde edilecek türevlerin benzer aktivite şablonu göstermesi büyük bir olasılıkla söz konusu olacağı savı, beksaroten bileşiği ile fenretinid bileşiğinin amid yapısı şeklinde hibridleştirilmesi (Şekil 1.44) ile oluşan yeni bir molekülün sentez edilmesi ile de bu tezdeki inovasyona yönelik düşüncenin ve amacın ne kadar önemli olduğunu vurgulamaktadır. Yeni bir ilaç geliştirme konusunda bilim dünyasında çalışmalar yapan araştırmacıların, bizim bu doktora tezi ile sunduğumuz düşünceye benzer çalışmalar yaptığını ve bunun sonucu olarak da beksaroten ile fenretinid yapısının hibridleştirildiğini görmekteyiz (Boehm ve Heyman, 2010).

Bu doktora tez çalışmasında, halen bir kanser hastalığında ilaç olarak kullanılan ve çeşitli kanser türlerinde faz II/III aşamalarına gelmiş olan Beksaroten bileşiğinden hareketle yeni amid türevi bileşiklerin (Çizelge 1.2) sentezleri, moleküler modelleme çalışmaları ve çeşitli kanser doku türlerindeki sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi çalışmaları amaçlanmıştır.

Hedeflenen bileşikler **(6-17)** 6 aşamada sentezlenmişlerdir. Amaçlanan Beksaroten türevi bileşiklerin sentezi, 2,5-dimetil-2,5-hekzandiol yapısının etanollü ortamda HCl gazı geçirilmesi ile 2,5-dikloro-2,5-dimetilhekzan **(1)** yapısına dönüştürülmesi ile başlamaktadır. Bunu takiben, Friedel-Crafts reaksiyonu uygulanmak suretiyle AlCl₃ ortamında toluen ile 2,5-dikloro-2,5-dimetilhekzandiol bileşiği 1,2,3,4-tetrahidro-1,1,4,4,6-pentametilnaftalen **(2)** bileşiği elde edilir. Friedel-Crafts reaksiyonu bir kez daha uygulanarak elde edilen son ara ürün ile mono metil tereftalat klorür bileşiği reaksiyona sokulur ve metil 4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)karbonil]benzoat **(3)** bileşiğine geçilir. Daha sonra toluen ortamında ve azot gazı altında metiltrifenilfosfonyumbromür ve potasyum bis trimetilsililazid ile reaksiyona sokulması keton yapısının olefinik yapıya dönüştürülmesini sağlar ve metil 4-(1-(1,2,3,4-tetrahidro-1,1,4,4,6-pentametilnaftalen-7-il)vinil)benzoat **(4)** bileşiği elde edilir. Bu bileşik daha sonra potasyum hidroksit (KOH) sulu çözeltisiyle metanol (MeOH) içinde reaksiyona sokulursa Beksaroten bileşiği elde edilir. Beksaroten (4-[1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)etil]benzoik asit) **(5)** amidleştirme reaktifi olarak *N,N'*-CDI kullanılarak çeşitli amin türevleriyle amidleştirme reaksiyonlarına tabi tutularak sentezi amaçlanan yeni süstitüe 3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid **(6-17)** türevlerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezi yapılan bileşikler, uygun çözücü sistemleri kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Bileşiklerin saflıkları İTK ile kontrol edilmiş ve erime noktaları belirlenmiştir. Elementel analiz, kütle (ESI⁺ ve ESI⁻) ve ¹H-NMR spektral bulguları ile bileşiklerin beklenen kimyasal yapıları kanıtlanmıştır.

Kütle spektral analizleri elektrospray iyonizasyon (ESI) yöntemi kullanılarak yapılmış ve bazı sonuç bileşikler pozitif iyonizasyon tekniği ile (M+H)⁺ iyonları, ara basamaktaki -COOH grupları için negatif iyonizasyon tekniği ile (M-H)⁻ iyonları şeklinde tespit edilmişlerdir. Sentezlenen türevlerin elementel analiz sonuçları teorik olarak hesaplanan değerlerle karşılaştırıldığında, tespit edilen sapma (%0,4) kabul edilebilir sınırlar içerisinde saptanmış ve sentezlenen bileşiklerin kimyasal yapısı ve saflığı kanıtlanmıştır.

Elde edilen bileşiklerin $^1\text{H-NMR}$ spektrumları CDCl_3 ve d-DMSO içerisinde alındı. $^1\text{H-NMR}$ spektrumları incelendiğinde şu noktalar dikkat çekici bulundu:

1- 3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen yapısı için ortak veriler elde edilmiştir. Bütün bileşikler için tetrahidronaftalen halkasının 5. ve 8. Konumlarındaki metil hidrojenleri 1,19-1,32 δppm değerlerinde singlet (s) olarak gözlemlendi.

2- Halkanın 3. konumundaki metil hidrojenleri ($-\text{CH}_3$) 1,90-1,98 δppm değerlerinde singlet (s) olarak gözlemlendi.

3- Halkanın 6.ve 7. konumlarındaki metilen hidrojenleri ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$) 1,65-1,70 δppm değerlerinde singlet (s) olarak gözlemlendi.

4- Vinil hidrojenleri ($-\text{CH}_2$) birbirlerine eşdeğer değildir. Ayrı ayrı yarımla göstererek 5,76-5,98 δppm 'de singlet (s) olarak ve 5,21-5,36 δppm singlet (s) olarak gözlemlendi.

5- Tetrahidronaftalen halkasına ait aril hidrojenleri H(1) 7,11-7,68 δppm ve H(4) 7,05-7,10 δppm değerlerinde singlet (s) olarak gözlemlendi.

6- Amit hidrojeni 6, 7, 8, 9, 10, 14, 17 bileşiklerinde 7,45-10,63 δppm değerlerinde singlet (s) olarak gözlemlendi.

7- Bileşik 15'in yapısı aydınlatılırken, serbest radikal özelliği nedeni ile $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda protonlar ve yarımları net bir şekilde gözlenememiştir. Bu nedenle NMR tüpünde madde DMSO-d_6 ile çözülmüş, üzerine $\text{D}_2\text{O-Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ çözeltisi damla damla eklenerek $^1\text{H-NMR}$ spektrumu çekilmiştir (Şekil 3.15). Böylece, paramanyetik nitroksit radikali ($-\text{N-O}^*$) söndürülerek, karşılık gelen hidroksilamine ($-\text{N-OH}$) indirgenmiştir (Franchi ve ark., 2008).

Antikanser ajan olmaya aday bileşiklerin araştırılmasında hücre kültürleri kullanılarak yapılan *in vitro* ön tarama çalışmaları ilk aşamada sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışmalarda bileşiklerin gerek sitotoksik ve genotoksik özellikleri, gerekse moleküler hedefleri üzerindeki etkinlikleri test edilebilmektedir. Hücre dizileriyle yapılan bu tarama çalışmaları hem kısa zamanda sonuç vermesi, yüksek ölçekli ve ucuz olması nedeniyle, hem de daha az sayıda deney hayvanı

kullanımı sağlaması yönünden faydalı çalışmalar olarak görülmektedir. *In vitro* ön tarama çalışmaları klinikte kullanım için kesin bilgi vermemesi nedeniyle yeterli görülmemesine rağmen, klinik öncesi fikir vermesi açısından tavsiye edilen yöntemlerdir (Keepers ve ark., 1991).

Bu bağlamda tez çalışması kapsamında 12 adet retinoid türevi bileşiğin *in vitro* antikanser potansiyellerinin incelenmesi amaçlanmış, elde edilen veriler ışığında antikanser ajan olmaya aday etkili bileşikler belirlenmeye çalışılmıştır.

Biyolojik hedefi ne olursa olsun antikanser bir ajandan beklenenin kanser hücrelerinde ölüm mekanizmalarının tetiklenmesi olduğu düşünüldüğünde tez çalışması kapsamında test edilen bileşiklerin *in vitro* antikanser aktivitelerinin değerlendirilmesinde kanser hücre hatlarında sitotoksik etki çalışmalarının yapılması planlanmıştır. Bu amaçla çalışmada insan kanser hücrelerine örnek teşkil etmesi açısından A549 (akciğer kanser), HeLa (rahim ağzı kanser), MCF-7 (meme kanser) ve WiDr (kolon kanser) hücre hatları kullanılmıştır.

Çalışmada ilk olarak test bileşiklerinin 100 µM konsantrasyonları Amerika Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI)'nün de ilaç taramaları için en çok tercih ettiği ve araştırmacılara tavsiye ettiği SRB yöntemi ile sitotoksik aktiviteleri açısından her bir hücre hattında taranmıştır. Tarama çalışmalarından elde edilen % canlılık verilerine göre, HeLa hücre hattında 11 bileşiğin %50'nin üzerinde sitotoksik etki yarattığı gözlenmiştir. Yalnızca adamantan halkası taşıyan bileşik 9'un 100µM konsantrasyonda HeLa hücre hattı için sitotoksik etkili olmadığı belirlenirken, en etkili bileşiklerin % 10'un altında canlılık oranı ile bileşik 6, 8, 11, 12, 13, 14, 17'nin olduğu görülmüştür.

MCF-7, A549 ve WiDr hücre hatlarında ise aynı 7 bileşiğin (6, 8, 11, 12, 13, 14, 17) yaklaşık %70-96 oranında hücre canlılığını azalttığı, diğer bileşiklerin ise %50'nin üzerindeki canlılık oranları ile toksik etki yaratmadığı izlenmiştir.

% 10'un altındaki canlılık oranları açısından en etkili bileşiklerin;
HeLa hücre hattı için sırasıyla **6>14>17>11>12**,
MCF-7 hücre hattı için sırasıyla **12>17>8>13>14>6**,
A549 hücre hattı için sırasıyla **11>12>14>6=17**,
WiDr hücre hattı için sırasıyla **12>11>17** olduğu görülmüştür.

Tarama sonuçları topluca değerlendirildiğinde kanser hücrelerini en az %50 oranında öldüren bileşiklerin etkili bileşikler olarak değerlendirilmiştir. Adamantan halkası ile amid oluşturulmuş olan bileşik **9**'un ise hiç bir hücrede toksik etki yaratmadığı için antikanser aktivitesi bulunmadığı gözlenmiştir.

Daha sonra tarama çalışmalarında etkili olduğu saptanan bileşiklerin 100 µM'ın altındaki 5 farklı konsantrasyonu ile deneyler tekrar edilmiş elde edilen verilerle bileşikler ile muamele edilen hücrelerde görülen IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 3.13). 10 µM'ın altında IC₅₀ değerine sahip bileşikler ise güçlü sitotoksik etki gösteren bileşikler olarak değerlendirilmiştir. Bu bağlamda, çalışmada test edilen bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri IC₅₀ değerleri açısından incelendiğinde;

A549 hücrelerinde; pozitif kontrol olarak kullanılan CPT'ye (IC₅₀A549: 1,9 µM) en yakın etki gösteren en etkili iki bileşiğin **11** no'lu bileşik (IC₅₀:7 µM) ve **12** no'lu bileşik (IC₅₀: 6,59 µM) olduğu görülürken orta derecede etkili diğer bileşiklerin 12,3 – 23 µM arasında değişen IC₅₀ değerleri ile bileşik **6, 8, 13, 14** ve **17** olduğu saptanmıştır.

HeLa hücrelerinde; pozitif kontrol olarak kullanılan CPT'ye (IC₅₀HeLa: 3,93 µM) en yakın etki gösteren en etkili bileşiklerin **11** no'lu (IC₅₀:5,92 µM), **12** no'lu (IC₅₀: 6,28 µM) ve **17** no'lu (IC₅₀:8,36 µM) bileşikler olduğu görülürken orta derecede etkili diğer bileşiklerin 11,3 – 49,82 µM arasında değişen IC₅₀ değerleri ile **6, 7, 8, 10, 13, 14, 15** ve **16** no'lu bileşikler olduğu saptanmıştır.

MCF-7 hücrelerinde; pozitif kontrol olarak kullanılan CPT'ye ($IC_{50MCF-7}$: 1,3 μ M) en yakın etki gösteren en etkili iki bileşiğin **11** no'lu (IC_{50} :4,21 μ M) ve **12** no'lu (IC_{50} : 6,55 μ M) bileşikler olduğu görülürken orta derecede etkili diğer bileşiklerin 12,65 – 25,06 μ M arasında değişen IC_{50} değerleri ile **6, 8, 13, 14** ve **17** olduğu saptanmıştır.

WiDr hücrelerinde; pozitif kontrol olarak kullanılan CPT'ye (IC_{50WiDr} : 2,57 μ M) en yakın etki gösteren en etkili iki bileşiğin **14** no'lu (IC_{50} :3,25 μ M) ve **17** no'lu (IC_{50} : 3,26 μ M) bileşikler olduğu görülürken, **11** no'lu (IC_{50} :2,38 μ M) ve **12** no'lu (IC_{50} : 2,29 μ M) bileşiklerin CPT'den daha etkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca orta derecede etkili diğer bileşiklerin 12,79 – 25,05 μ M arasında değişen IC_{50} değerleri ile **6, 8** ve **13** no'lu bileşikler olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak test edilen bileşiklerin tüm hatlardaki sitotoksik aktiviteleri topluca değerlendirildiğinde;

9 no'lu bileşiğin hiçbir kanser hattı için sitotoksik aktivite göstermediği,

7, 10, 15 ve **16** no'lu bileşiklerin ise sadece HeLa hücrelerinde sitotoksik etki gösterdiği,

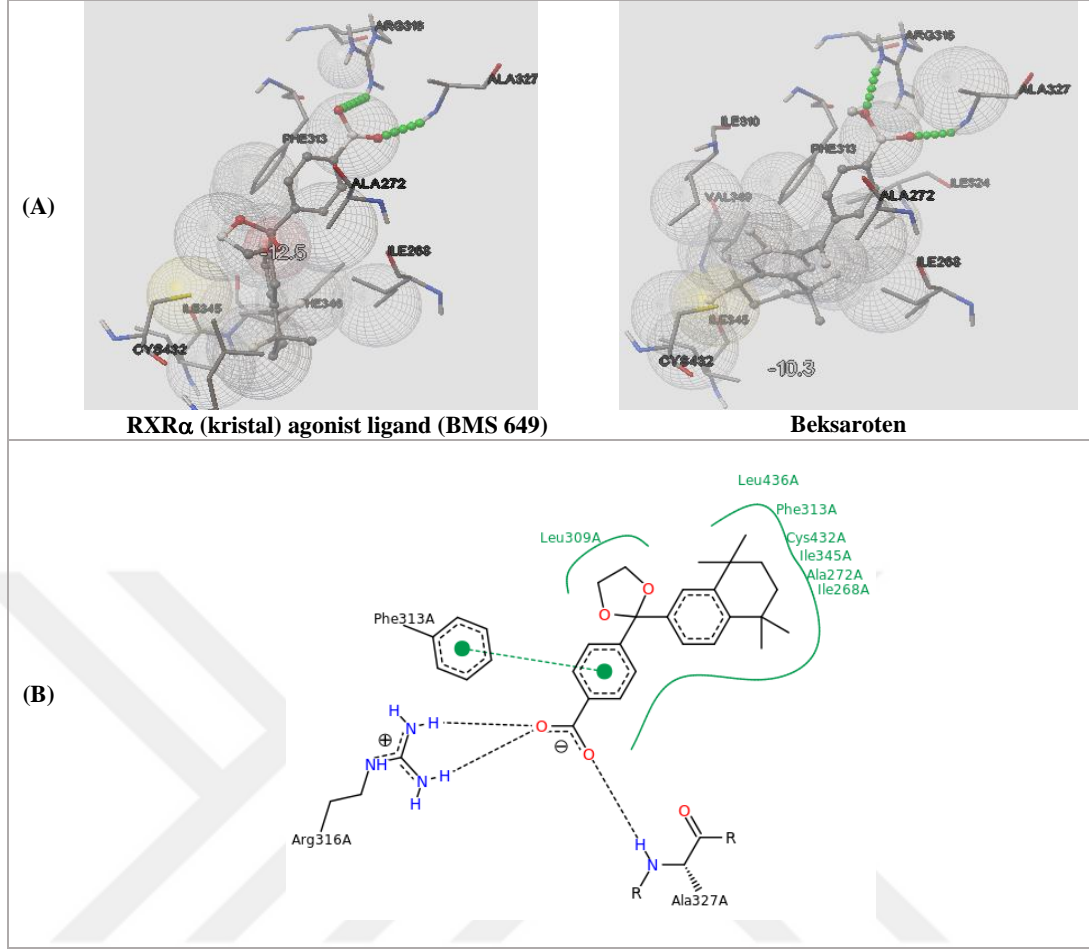
6, 8, 11, 12, 13, 14 ve **17** no'lu bileşiklerin dört farklı kanser hücre hattında kayda değer derecede sitotoksik etki gösterdiği ve bu seri içerisinde de **14** ve **17** no'lu bileşiklerin sadece WiDr hücrelerinde pozitif kontrol olarak kullanılan CPT'ye çok yakın derecede güçlü sitotoksik etki gösterdiği,

Yukarıda belirtilen 7 etkili bileşik serisi içerisinde ise **11** ve **12** no'lu bileşiklerin dört farklı kanser hatlarının hepsinde güçlü sitotoksik etki gösterdiği ve ayrıca bu iki bileşiğin WiDr hücrelerinde rutinde kanser ilacı olarak kullanılan CPT'den daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Yüksek sitotoksik etki gösteren bileşikler (**11, 12, 14, 17**) suda çözünebilir fonksiyonlu grupları içermektedir. Sırasıyla 2,2,6,6-tetrametilpiperidin-4-amin, 1-(2-aminoetil)piperazin, 3-dimetil-amino-propilamin, *N*-(2-aminoetil)-pirolidin bileşikleriyle benzamid türevleri elde edilmiştir. Bu grupların hidrojen bağı yapabilme özellikleri bulunmasından dolayı suda çözünürlükleri daha yüksektir. Sonuç olarak, hidrojen bağı yapabilme kapasiteleri bu bileşiklerin daha yüksek sitotoksik etki göstermiş olmalarına neden olabileceğini düşündürmüştür.

Doktora tez çalışmasında, kayda değer derecede etkili bulunan 5 bileşiğin (**6, 8, 13, 14 ve 17**) ve güçlü sitotoksik etki gösteren **11** ve **12** no'lu bileşiklerin başka kanser ve normal hücre hatlarının kullanıldığı panellerde değerlendirilmesi ve etki mekanizmasının ileri çalışmalarla aydınlatılması, aynı etkilerin görülmesi halinde *in vivo* çalışmalarla etkinliğin teyit edilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Bileşiklerin enzim aktif yoresi ile etkileşimlerini ve hidrojen bağı yapma özelliklerini araştırmak amacıyla doking çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalar ile bileşiklerin aktivitesi ve enzim aktif yoresi ile etkileşimleri arasındaki ilişkiler değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, doking yapılan **RXR α** agonisti olan Beksaroten ligandı ile **RXR α** -**BMS649** kompleksinin kristal yapısı içerisindeki **BMS649** ligandı ile iyi bir şekilde üstüste çakıştığı ve enzim yoresi ile aynı şekilde etkileştiği tespit edilmiştir. Doking yapılan **BMS649**'un bağlanma enerjisi ΔG_b : -12,5 kcal/mol ve RMSD değeri 0,85 Å olarak bulunmuştur. Kristal **BMS649**'un **RXR α** aktif bölgesine, benzoik asitin -CO grubu ve -OH grupları ile sırasıyla Arg316'nın -NH grubu ve Ala327'nin -NH grubu arasında iki adet hidrojen bağı yaparak bağlandığı (Şekil 4.1)'de rapor edilmiştir (Egea ve ark., 2002). Şekil 4.1'de gösterildiği üzere, doking yapılan **beksaroten**, kristal yapının ligandı olan **BMS649**'a benzer şekilde benzoik asitin -CO grubu ve -OH grupları ile sırasıyla Arg316'nın -NH grubu ve Ala327'nin -NH grubu arasında iki adet hidrojen bağı ile bağlandığı görülmüştür.



Şekil 4.1. (A) RXRα (kristal) agonist ligand (**BMS 649**) ve **Bekсарoten** bileşiklerinin enzim aktif yoresi ile etkileşimleri. (B) Kristal **BMS 649**'un RXRα'ya bağlanma şeklinin şematik görüntüsü. Protein data bank'tan alınmıştır.

Doking çalışması ile en yüksek aktiviteyi gösteren bileşiklerin (IC_{50} değerleri $25 \mu M$ 'dan daha düşük olan) aktivitelerinin aktif yöredeki amino asitler ile yaptıkları hidrojen bağından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bileşiklerde bulunan benzamid yapısındaki karbonil grubunun Arg316 aminoasitinin $-NH$ 'ı ile bir veya iki hidrojen bağı yaptıkları tespit edilmiştir. Bu yüksek aktivite gösteren bileşiklerin aynı zamanda **BMS649** ile benzer şekilde hidrojen bağı yapma özelliğine sahip olmalarından dolayı güçlü enzim inhibisyonu yapabilecekleri de düşünülmektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Hedeflenen bileşikler (6-17) 6 aşamada sentezlenmişlerdir. Amaçlanan Beksaroten türevi bileşiklerin sentezi, 2,5-dimetil-2,5-hekzandiol yapısının etanollü ortamda HCl gazı geçirilmesi ile 2,5-dikloro-2,5-dimetilhekzan (1) yapısına dönüştürülmesi ile başlamaktadır. Bunu takiben, Friedel-Crafts reaksiyonu uygulanmak suretiyle AlCl₃ ortamında toluen ile 2,5-dikloro-2,5-dimetilhekzandiol bileşiği 1,2,3,4-tetrahidro-1,1,4,4,6-pentametilnaftalen (2) bileşiği elde edilir. Friedel-Crafts reaksiyonu bir kez daha uygulanarak elde edilen son ara ürün ile mono metil tereftalat klorür bileşiği reaksiyona sokulur ve metil 4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)karbonil]benzoat (3) bileşiğine geçilir. Daha sonra toluen ortamında ve azot gazı altında metiltrifenilfosfonyumbromür ve potasyum bis trimetilsililazid ile reaksiyona sokulması keton yapısının olefinik yapıya dönüştürülmesini sağlar ve metil 4(1-(1,2,3,4-tetrahidro-1,1,4,4,6-pentametilnaftalen-7-il)vinil)benzoat (4) bileşiği elde edilir. Bu bileşik daha sonra potasyum hidroksit (KOH) sulu çözeltisiyle metanol (MeOH) içinde reaksiyona sokulursa Beksaroten bileşiği elde edilir. Beksaroten (4-[1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)etininil]benzoik asit) (5) amidleştirme reaktifi olarak *N,N'*-CDI kullanılarak çeşitli amin türevleriyle amidleştirme reaksiyonlarına tabi tutularak sentezi amaçlanan yeni süstitüe 3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (6-17) türevlerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezi yapılan bileşikler, uygun çözücü sistemleri kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Bileşiklerin saflıkları İTK ile kontrol edilmiş ve erime noktaları belirlenmiştir. Elementel analiz, kütle (ESI⁺, ESI⁻) ve ¹H-NMR spektral bulguları ile bileşiklerin beklenen kimyasal yapıları kanıtlanmıştır.

Sonuç olarak test edilen bileşiklerin tüm hatlardaki sitotoksik aktiviteleri topluca değerlendirildiğinde; 9 no'lu bileşiğin hiçbir kanser hattı için sitotoksik aktivite göstermediği,

7, 10, 15 ve **16** no'lu bileşiklerin ise sadece HeLa hücrelerinde sitotoksik etki gösterdiği, **6, 8, 11, 12, 13, 14** ve **17** no'lu bileşiklerin dört farklı kanser hücre hattında kayda değer derecede sitotoksik etki gösterdiği ve bu seri içerisinde de **14** no'lu (IC_{50} :3,25 μ M) ve **17** no'lu (IC_{50} : 3,26 μ M) bileşiklerin sadece WiDr hücrelerinde pozitif kontrol olarak kullanılan CPT'ye (IC_{50WiDr} : 2,57 μ M) çok yakın derecede güçlü sitotoksik etki gösterdiği bulunmuştur.

Yukarıda belirtilen 7 etkili bileşik serisi içerisinde ise **11** no'lu (IC_{50} :2,38 μ M) ve **12** no'lu (IC_{50} : 2,29 μ M) bileşiklerin dört farklı kanser hatlarının hepsinde güçlü sitotoksik etki gösterdiği ve ayrıca WiDr hücrelerinde, pozitif kontrol olarak kullanılan CPT'den daha etkili olduğu bulunmuştur.

Sentezlenen bileşiklerin doküman çalışmaları sonucunda, bütün yüksek inhibisyon aktivitesine sahip türevlerin RXR α aktif yoresine yerleştiği saptanmıştır. Bileşiklerden çoğu aktif cebe **BMS649** ile benzer şekilde yerleştiği gözlenmiştir. IC_{50} değeri 25 μ M'ın altında olan süstitüe 3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid türevlerinin hepsi birbirleriyle üst üste çakışmıştır (Şekil 3.29). Bileşiklerin yerleşimleri kristal ligand olan **BMS649** ile karşılaştırılmıştır. **BMS649**'un (4-[2-(3,5,5,8,8-tetrametil-5,6,7,8-tetrahidro-naftalen-2-il)-[1,3]dioksolan-2-il]benzoik asit) ile sentezlenen türevlerdeki süstitüe-3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid (**6, 8, 11, 12, 13, 14, 17**) ile üst üste çakıştığı tespit edilmiştir (Şekil 3.29).

Süstitüe 3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)vinil)benzamid türevlerinden en düşük bağlanma enerjisine sahip olan **11** nolu bileşik Arg316 ile hidrojen bağı yapmış ve RMSD değeri 1,013 olarak bulunmuştur. Ayrıca Phe346 ile tetrahidronaftalen yapısı arasında pi-pi etkileşimi olmuştur (Şekil 3.28). Ayrıca bir diğer en yüksek aktiviteye sahip olan **12** no'lu bileşiğin aktif yöre aminoasitlerinden Arg316 ile hidrojen bağı yapmış ve RMSD değeri 1,395 olarak bulunmuştur.

6 no'lu bileşik, Arg316 ile hidrojen bağı yapmış ve ayrıca Ayrıca Phe346 ile tetrahidronaftalen yapısı arasında pi-pi etkileşimi olmuştur (Şekil 3.28). Bileşik **13**'de benzamid karbonili ile Arg316'nın NH'ı ve tiyazol halkasındaki –NH ile Gln275'in –NH'ı arasında ikinci bir hidrojen bağı oluşumu gözlenmiştir (Şekil 3.28). **14** ve **17** no'lu bileşiklerin benzamid karbonili ile Arg316'nın NHH12 ve Arg316 NHH22'si arasında iki adet hidrojen bağı oluşumu gözlenmiştir (Şekil 3.28).

Sentezlenen sonuç bileşiklerinin aktivite sonuçlarından, güçlü inhibisyon yapan bileşiklerin kimyasal yapı olarak hacimli, hidrofilik yapıda oldukları saptanmıştır. Doking sonuçlarından, aktif olan bileşiklerin enzim aktif yöresi ile hidrojen bağı yaptığı ve düşük RMSD değerlerine sahip oldukları anlaşılmıştır. Aktiviteler ile doking sonuçları karşılaştırıldığında, iyi aktivite gösteren **6, 8, 11, 12, 13, 14** ve **17** bileşiklerinin enzim aktif yöresine hidrojen bağı yaparak yerleştiği; en iyi aktivitenin gözlemlendiği bileşiklerden **11** no'lu bileşiğin ise hidrojen bağının yanında ayrıca pi-pi etkileşiminin olduğu saptanmıştır.

Doking sonuçları ile biyolojik aktivite sonuçları arasında paralellik gözlemlendiği tespit edilmiştir.

Bu tez kapsamında elde edilen verilerden ve kaynaklarda yer alan aktivite sonuçlarından hareketle 10 μ M ve daha düşük aktivite gösteren bileşikler seçilerek reseptör etkileşimlerinin daha iyi irdelenerek yeni bileşiklerin tasarlanması, moleküler modelleme ve farmakofor analiz çalışmalarının yapılması ile de gelecekte daha etkin moleküllerin elde edilebileceği düşünülmektedir.

ÖZET

Retinoid Yapısındaki Bazı Yeni Heterosiklik Bileşiklerin Sentezleri, Yapı Aydınlatılması, Biyolojik Etki Çalışmaları ve Moleküler Doking Çalışmaları

Bu çalışmada on iki adet yeni retinoid türevi bileşik tasarlanmış ve sentezlenmiştir (6-17). Bu retinoid analogları altı basamakta sentezlenmiştir.

Tez çalışması kapsamında test edilen bileşiklerin *in vitro* antikanser aktivitelerinin değerlendirilmesinde kanser hücre hatlarında sitotoksik etki çalışmalarının yapılması planlanmıştır. Bu amaçla çalışmada insan kanser hücrelerine örnek teşkil etmesi açısından A549 (akciğer kanser), HeLa (rahim ağzı kanser), MCF-7 (meme kanser) ve WiDr (kolon kanser) hücre hatları kullanılmıştır. RXR α hedefine karşın aktivitelerinin incelenmesi, bileşiklerin enzim aktif yoresine bağlanma özelliklerinin tanımlanması ve biyolojik aktiviteleri ile bağlanma afiniteleri arasındaki ilişkilerin Autodock 4.2 programı kullanılarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Sentezi yapılan bileşikler, uygun çözücü sistemleri kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Bileşiklerin saflıkları İTK ile kontrol edilmiş ve erime noktaları belirlenmiştir. Elementel analiz, kütle (ESI⁺, ESI⁻) ve ¹H-NMR spektral bulguları ile bileşiklerin beklenen kimyasal yapıları kanıtlanmıştır.

Sentezlenen türevler arasında 4 kanser hücre hattında yüksek aktivite gösteren bileşikler 6, 8, 11, 12, 13, 14 ve 17 no'lu bileşiklerdir. WiDr kolon kanser hücre hattında CPT'den daha yüksek sitotoksik aktivite gösteren bileşiklerin 11 (IC₅₀:2,38) ve 12 (IC₅₀:2,29 μ M) no'lu bileşikler olduğu gözlenmiştir. Ayrıca 14 no'lu (IC₅₀:3.25 μ M) ve 17 no'lu (IC₅₀: 3.26 μ M) bileşiklerin de sadece WiDr hücrelerinde pozitif kontrol olarak kullanılan CPT'ye (IC₅₀_{WiDr}: 2.57 μ M) çok yakın derecede güçlü sitotoksik etki gösterdiği bulunmuştur. Tezdeki sonuçlar göz önüne alındığında, yüksek aktivite gözlenen bileşikler, ileride yapılacak çalışmalar için antikanser bileşik olarak RXR α 'yı hedef alabilecek öncü bileşikler olarak kullanılabilirler.

Anahtar Kelimeler: Bekсарoten, retinoid, RXR α , sitotoksosite.

SUMMARY

Synthesis, Structural Elucidation, Studies of Biological Activity and Molecular Docking Studies with Some Novel Heterocyclic Compounds Bearing Retinoid Structure

In this study, novel twelve retinoid derivatives were designed and synthesized. These retinoid analogues (6-17) were synthesized in six steps.

In this thesis, it is aimed to analyze the cytotoxic activity of synthesized compounds. Cytotoxic activities of the compounds have been tested against human lung carcinoma cells (A549), human cervical cancer cells (HeLa), human breast adenocarcinoma (MCF7) and human colon adenocarcinoma cell line (WiDr). It is focused to analyze the activity of compounds against RXR α target, to identify binding properties of compounds to active site of enzyme and to evaluate relationships between biological activity and binding affinities of compounds by using Autodock 4.2. program. These synthesized compounds were purified by column chromatography using suitable solvent system. The purity of the compounds was controlled by TLC followed by determining of the melting points. The chemical structures of the compounds were explained with their elemental analysis, mass (ESI⁺, ESI⁻) and ¹H-NMR spectral data.

According to the obtained cytotoxicity results, compounds 6, 8, 11, 12, 13, 14, 17 were found to have the highest cytotoxic activity in 4 cancer cell lines. The IC₅₀ values for active compounds, 11 and 12 were showed as 2,38 μ M; and 2,29 μ M, respectively that this compounds were determined higher cytotoxic activity in WiDr colon cancer cell line than as a positive control CPT. The closest activity with as a positive control CPT was observed in compound 14 and 17. Considering the results in this thesis, the highest active compounds can be used as the lead compounds targeting RXR α for anticancer compounds for further studies.

Key Words: Bexarotene, cytotoxicity, retinoid, RXR α .

KAYNAKLAR

- ALLENBY G, BOCQUEL M-T, SAUNDERS M, KAZMER S, SPECK J, ROSENBERGER M, LOVEY A, KASTNER P, GRIPPO JFCHAMBON P (1993). Retinoic acid receptors and retinoid x receptors: Interactions with endogenous retinoic acids. *Proc Nat Acad Sci* **90**: 30-34.
- ALTUCCI L, ROSSIN A, RAFFELSBERGER W, REITMAIR A, CHOMIENNE CGRONEMEYER H (2001). Retinoic acid-induced apoptosis in leukemia cells is mediated by paracrine action of tumor-selective death ligand trail. *Nat Med* **7**: 680-686.
- ALVAREZ S, GERMAIN P, ALVAREZ R, RODRÍGUEZ-BARRIOS F, GRONEMEYER HDE LERA AR (2007). Structure, function and modulation of retinoic acid receptor beta, a tumor suppressor. *Int J Biochem Cell Biol* **39**: 1406-1415.
- ASSON-BATRES MAROCHETTE-EGLY C (2014). *The biochemistry of retinoic acid receptors I: Structure, activation, and function at the molecular level*, Chapter 1, Springer.
- ATES-ALAGOZ Z, COBAN TBUYUKBINGOL E (2006). Synthesis and antioxidant activity of new tetrahydro-naphthalene-indole derivatives as retinoid and melatonin analogs. *Archiv der Pharmazie* **339**: 193-200.
- AZOULAY L, BLAIS L, KOREN G, LELORIER JBÉRARD A (2008). Isotretinoin and the risk of depression in patients with acne vulgaris: A case-crossover study. *J Clin Psychiatry* **69**: 526-532.
- BALMER JE, BLOMHOFF R (2002). Gene expression regulation by retinoic acid. *J Lipid Res* **43**: 1773-1808.
- BARTH J, MACDONALD-HULL S, MARK J, JONES RCUNLIFFE W (1993). Isotretinoin therapy for acne vulgaris: A re-evaluation of the need for measurements of plasma lipids and liver function tests. *Br J Dermatol* **129**: 704-707.
- BAURENFIEND JC, ADAMS CMARUSICH W (1981). *Carotenoids as Colorants and Vitamin A Precursors: Technological and Nutritional Applications*, ed. Baurenfiend JC, p.:563-720 Academic Press, New York, NY.
- BEARD RL, COLON DF, GILLETT SJ, HENRY E, MARLER DK, SONG T, DENYS L, GARST MEAREFIEG T (1995). Synthesis and structure-activity relationships of stilbene retinoid analogs substituted with heteroaromatic carboxylic acids. *J Med Chem* **38**: 2820-2829.

- BEARD RL, DUONG TT, TENG M, KLEIN ES, STANDEVAN AMCHANDRARATNA RA (2002). Synthesis and biological activity of retinoic acid receptor- α specific amides. *Bioorg Med Chem Lett* **12**: 3145-3148.
- BEARD RL, GIL DW, MARLER DK, HENRY E, COLON DF, GILLETT SJ, AREFIEG T, BREEN TS, KRAUSS HDAVIES PJ (1994). Structural basis for the differential rxr & rar activity of stilbene retinoid analogs. *Bioorg Med Chem Lett* **4**: 1447-1452.
- BERNARD BA (1993). Adapalene, a new chemical entity with retinoid activity. *Skin Pharmacol Physiol* **6**: 61-69.
- BERNARD BA, BERNARDON J-M, DELESCLUSE C, MARTIN B, LENOIR M-C, MAIGNAN J, CHARPENTIER B, PILGRIM WR, REICHERT USHROOT B (1992). Identification of synthetic retinoids with selectivity for human nuclear retinoic acid receptor γ . *Biochem Biophys Res Commun* **186**: 977-983.
- BERRY DC, O'BYRNE SM, VREELAND AC, BLANER WSNOY N (2012). Cross talk between signaling and vitamin a transport by the retinol-binding protein receptor stra6. *Mol Cell Biol* **32**: 3164-3175.
- BIAN H, FENG JXU W (2013). Synthesis and biological evaluation of novel am80 derivatives as antileukemic agents. *Med Chem Res* **2**: 175-185.
- BLANER WS, O'BYRNE SM, WONGSIRIROJ N, KLUWE J, D'AMBROSIO DM, JIANG H, SCHWABE RF, HILLMAN EM, PIANTEDOSI RLIBIEN J (2009). Hepatic stellate cell lipid droplets: A specialized lipid droplet for retinoid storage. *Biochim Biophys Acta, Mol Cell Biol Lipids* **1791**: 467-473.
- BLEISCH TJ, COATES DA, HUGHES NE, JONES SANORMAN BH (2012). Substituted pyrazole analogs as rar antagonists, US20140275049, Google Patents.
- BLOMHOFF RBLOMHOFF HK (2006). Overview of retinoid metabolism and function. *Dev Neurobiol* **6**: 606-630.
- BLOMHOFF R, GREEN MH, BERG TNORUM KR (1990). Transport and storage of vitamin a. *Science* **250**: 399-404.
- BLUMBERG BEVANS RM (1998). Orphan nuclear receptors—new ligands and new possibilities. *Genes Dev* **2**: 3149-3155.
- BOEHM MF, HEYMAN RA (2010). Compounds having selective activity for retinoid x receptors, and means for modulation of processes mediated by retinoid x receptors, US 7655699 B1, Google Patents.
- BOEHM MF, MCCLURG MR, PATHIRANA C, MANGELSDORF D, WHITE SK, HEBERT J, WINN D, GOLDMAN MEHEYMAN RA (1994). Synthesis of high

specific activity tritium-labeled [3h]-9-cis-retinoic acid and its application for identifying retinoids with unusual binding properties. *J Med Chem* **37**: 408-414.

BOEHM MF, ZHANG L, BADEA BA, WHITE SK, MAIS DE, BERGER E, SUTO CM, GOLDMAN MEHEYMAN RA (1994). Synthesis and structure-activity relationships of novel retinoid x receptor-selective retinoids. *J Med Chem* **37**: 2930-2941.

BOEHM MF, ZHANG L, ZHI L, MCCLURG MR, BERGER E, WAGONER M, MAIS DE, SUTO CM, DAVIES PJHEYMAN RA (1995). Design and synthesis of potent retinoid x receptor selective ligands that induce apoptosis in leukemia cells. *J Med Chem* **38**: 3146-3155.

BOYD AS (1989). An overview of the retinoids. *Am J Med* **86**: 568-574.

BOYD MR (1997) The NCI in vitro anticancer drug discovery screen: concept, implementation, and operation. *In: Anticancer Drug Development Guide: Preclinical Screening, Clinical Trials, and Approval*, ed. Teicher BA, Totowa, NJ; p.:23-42.

BRAND N, PETKOVICH M, KRUST A, CHAMBON P, MARCHIO A, TIOLLAIS PDEJEAN A (1988). Identification of a second human retinoic acid receptor. *Nature* **332**: 850-853.

BUDHU ASNOY N (2002). Direct channeling of retinoic acid between cellular retinoic acid-binding protein ii and retinoic acid receptor sensitizes mammary carcinoma cells to retinoic acid-induced growth arrest. *Mol Cell Biol* **22**: 2632-2641.

BURGER AR, IWATA K, GRANGER SP, RAWLINGS AVSCOTT IR (1998). Skin care compositions containing certain cyclic aliphatic unsaturated compounds and retinol or retinyl ester, US5759556, Google Patents.

BUSHUE NWAN YJ (2010). Retinoid pathway and cancer therapeutics. *Adv Drug Deliv Rev* **62**: 1285-1298.

BUSKOHL PR, GOULD RA, CURRAN S, ARCHER SDBUTCHER JT (2012). Multidisciplinary inquiry-based investigation learning using an ex ovo chicken culture platform: Role of vitamin a on embryonic morphogenesis. *Am Biol Teach* **74**: 636-643.

CANAN KOCH SS, DARDASHTI LJ, CESARIO RM, CROSTON GE, BOEHM MF, HEYMAN RANADZAN AM (1999). Synthesis of retinoid x receptor-specific ligands that are potent inducers of adipogenesis in 3t3-l1 cells. *J Med Chem* **42**: 742-750.

CHANDRARATNA R (1996). Tazarotene—first of a new generation of receptor-selective retinoids. *Br J Dermatol* **135**: 18-25.

CHATURVEDI VK (2012). Prevention and treatment of inflammatory conditions, EP3229811A1, Google Patents.

- CHEN CF, GOYETTE PLOHNS D (2004). Rary acts as a tumor suppressor in mouse keratinocytes. *Oncogene* **23**: 5350-5359.
- CHEN SJ, WANG ZY, CHEN Z (1995). Acute promyelocytic leukemia: From clinic to molecular biology. *Stem Cells* **13**: 22-31.
- CHIVOT M (2005). Retinoid therapy for acne. *Am J Clin Dermatol* **6**: 13-19.
- CHRISTIE VB, MALTMAN DJ, HENDERSON AP, WHITING A, MARDER TB, LAKO MPRZYBORSKI SA (2010). Retinoid supplementation of differentiating human neural progenitors and embryonic stem cells leads to enhanced neurogenesis in vitro. *J Neurosci Methods* **193**: 239-245.
- CISNEROS F, GOUGH B, PATTON RFERGUSON S (2005). Serum levels of albumin, triglycerides, total protein and glucose in rats are altered after oral treatment with low doses of 13-cis-retinoic acid or all-trans-retinoic acid. *J Appl Toxicol* **25**: 470-478.
- CLARKE N, JIMENEZ-LARA AM, VOLTZ EGRONEMEYER H (2004). Tumor suppressor irf-1 mediates retinoid and interferon anticancer signaling to death ligand trail. *The EMBO journal* **23**: 3051-3060.
- COREY J, DOROGI PL, MEYERS AJVARGAS A (1999). Cosmetic composition with a retinol fatty acid ester, US 5885595 A, Google Patents.
- CRAMER PE, CIRRITO JR, WESSON DW, LEE CD, KARLO JC, ZINN AE, CASALI BT, RESTIVO JL, GOEBEL WDJAMES MJ (2012). Apoe-directed therapeutics rapidly clear β -amyloid and reverse deficits in ad mouse models. *Science* **335**: 1503-1506.
- CRISPE IN (2009). The liver as a lymphoid organ. *Annu Rev Immunol* **27**: 147-163.
- D'ERME AM, PINELLI S, COSSIDENTE A, CAMPOLMI E, LOTTI TGOLA M (2013). Association between isotretinoin and mood changes: Myth or reality? An updated overview. *Int J Dermatol* **52**: 499-500.
- DAISS JO, BURSCHKA C, MILLS JS, MONTANA JG, SHOWELL GA, FLEMING I, GAUDON C, IVANOVA D, GRONEMEYER HTACKE R (2005). Synthesis, crystal structure analysis, and pharmacological characterization of disila-bexarotene, a disila-analogue of the rxr-selective retinoid agonist bexarotene. *Organometallics* **24**: 3192-3199.
- DAS BC, SMITH MEKALPANA GV (2008). Design and synthesis of 4-hpr derivatives for rhabdoid tumors. *Bioorg Med Chem Lett* **18**: 3805-3808.
- DAVIES MR, RIBEIRO LR, DOWNEY-JONES M, NEEDHAM MR, OAKLEY CWARDALE J (2009). Ligands for retinoic acid receptors are elevated in osteoarthritis

and may contribute to pathologic processes in the osteoarthritic joint. *Arthritis & Rheum* **60**: 1722-1732.

DE LERA AR, BOURGUET W, ALTUCCI LGRONEMEYER H (2007). Design of selective nuclear receptor modulators: Rar and rxr as a case study." *Nat Rev Drug Discov* **6**: 811-820.

DELESCLUSE C, CAVEY M, MARTIN B, BERNARD B, REICHERT U, MAIGNAN J, DARMON MSHROOT B (1991). Selective high affinity retinoic acid receptor alpha or beta-gamma ligands. *Molecular pharm* **40**: 556-562.

DRAGNEV KH, MA T, CYRUS J, GALIMBERTI F, MEMOLI V, BUSCH AM, TSONGALIS GJ, SELTZER M, JOHNSTONE DERKMEN CP (2011). Bexarotene plus erlotinib suppress lung carcinogenesis independent of kras mutations in two clinical trials and transgenic models. *Cancer Prev Res* **4**: 818-828.

DRAGNEV KH, PETTY WJ, SHAH SJ, LEWIS LD, BLACK CC, MEMOLI V, NUGENT WC, HERMANN T, NEGRO-VILAR ARIGAS JR (2007). A proof-of-principle clinical trial of bexarotene in patients with non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* **13**: 1794-1800.

DUESTER G (2000). Families of retinoid dehydrogenases regulating vitamin a function. *The FEBS Journal* **267**: 4315-4324.

DURAND B, SAUNDERS M, GAUDON C, ROY B, LOSSON RCHAMBON P (1994). Activation function 2 (af-2) of retinoic acid receptor and 9-cis retinoic acid receptor: Presence of a conserved autonomous constitutive activating domain and influence of the nature of the response element on af-2 activity. *The EMBO journal* **13**: 5370.

EBISAWA M, OHTA K, KAWACHI E, FUKASAWA H, HASHIMOTO YKAGECHIKA H (2001). Novel retinoidal tropolone derivatives. Bioisosteric relationship of tropolone ring with benzoic acid moiety in retinoid structure. *Chem Pharm Bull* **49**: 501-503.

EGEA PF, MITSCHLER AMORAS D (2002). Molecular recognition of agonist ligands by rxrs. *Mol Endocrinol* **16**: 987-997.

EMIONITE L, GALMOZZI F, GRATAROLA M, BOCCARDO F, VERGANI LTOMA S (2004). Histone deacetylase inhibitors enhance retinoid response in human breast cancer cell lines. *Anticancer Res* **24**: 4019-4024.

ENDRES KFAHRENHOLZ F (2012). Regulation of alpha-secretase adam10 expression and activity. *Exp Brain Res* **217**: 343-352.

ESGLEYES-RIBOT T, CHANDRARATNA RA, LEW-KAYA DA, SEFTON JDUVIC M (1994). Response of psoriasis to a new topical retinoid, agn 190168. *J Am Acad Dermatol* **30**: 581-590.

- FARMER LJ, JEONG S, KALLEL EA, KOCH SSC, CROSTON GE, FLATTEN KS, HEYMAN RANADZAN AM (1997). Synthesis and structure-activity relationships of potent retinoid x receptor ligands. *Bioorg Med Chem Lett* **7**: 2393-2398.
- FAUL MM, RATZ AM, SULLIVAN KA, TRANKLE WGWINNEROSKI LL (2001). Synthesis of novel retinoid x receptor-selective retinoids. *J Org Chem* **66**: 5772-5782.
- FORTUNATI N, CATALANO M, MARANO F, MUGONI V, PUGLIESE M, BOSCO O, MAININI FBOCCUZZI G (2010). The pan-dac inhibitor lbh589 is a multi-functional agent in breast cancer cells: Cytotoxic drug and inducer of sodium-iodide symporter (nis). *Breast Cancer Res Treat* **124**: 667-675.
- FRANCHI P, FANÌ M, MEZZINA ELUCARINI M (2008). Increasing the persistency of stable free-radicals: Synthesis and characterization of a nitroxide based [1] rotaxane. *Org Lett* **10**: 1901-1904.
- FREEMANTLE SJ, SPINELLA MJDMITROVSKY E (2003). Retinoids in cancer therapy and chemoprevention: Promise meets resistance. *Oncogene* **22**: 7305-7315.
- FUKASAWA H, IJIMA T, KAGECHIKA H, HASHIMOTO YSHUDO K (1993). Expression of the ligand-binding domain-containing region of retinoic acid receptors α , β and γ in escherichia coli and evaluation of ligand-binding selectivity. *Biol Pharm Bull* **16**: 343-348.
- FURMICK JK, KANEKO I, WALSH AN, YANG J, BHOGAL JS, GRAY GM, BASO JC, BROWDER DO, PRENTICE JLMONTANO LA (2012). Modeling, synthesis and biological evaluation of potential retinoid x receptor-selective agonists: Novel halogenated analogues of 4-[1-(3, 5, 5, 8, 8-pentamethyl-5, 6, 7, 8-tetrahydro-2-naphthyl) ethynyl] benzoic acid (bexarotene). *Chem Med Chem* **7**: 1551-1566.
- GERMAIN P, CHAMBON P, EICHELE G, EVANS RM, LAZAR MA, LEID M, DE LERA AR, LOTAN R, MANGELSDORF DJGRONEMEYER H (2006). International union of pharmacology. Lx. Retinoic acid receptors. *Pharmacolog Rev* **58**: 712-725.
- GERMAIN P, KAMMERER S, PEREZ E, PELUSO-ILTIS C, TORTOLANI D, ZUSI FC, STARRETT J, LAPOINTE P, DARIS JPMARINIER A (2004). Rational design of rars-selective ligands revealed by rar β crystal structure. *EMBO Reports* **5**: 877-882.
- GESTO M, CASTRO LFC, REIS-HENRIQUES MASANTOS MM (2012). Retinol metabolism in the mollusk osilinus lineatus indicates an ancient origin for retinyl ester storage capacity. *PloS One* **7**: 35138.
- GNIADECKI R, ASSAF C, BAGOT M, DUMMER R, DUVIC M, KNOBLER R, RANKI A, SCHWANDT PWHITTAKER S (2007). The optimal use of bexarotene in cutaneous t-cell lymphoma. *Br J Dermatol* **157**: 433-440.

- GONDA K, TSUCHIYA H, SAKABE T, AKECHI Y, IKEDA R, NISHIO R, TERABAYASHI K, ISHII K, MATSUMI YASHLA AA (2008). Synthetic retinoid cd437 induces mitochondria-mediated apoptosis in hepatocellular carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* **370**: 629-633.
- GRANGER SP, RAWLINGS AVSCOTT IR (1996). Skin care compositions containing dimethyl imidazolidinone and retinol or retinyl ester, US 5536740 A, Google Patents .
- GRANGER SP, RAWLINGS AVSCOTT IR (1997). Skin care compositions containing fatty acid amides and retinol or retinyl ester, US 5811110 A, Google Patents.
- GRANGER SP, RAWLINGS AVSCOTT IR (1998). Skin care compositions containing an amide of a hydroxy fatty acid and a retinoid, US 5747051, Google Patents.
- GRANGER SP, RAWLINGS AVSCOTT IR (1999). Skin care compositions containing an n-substituted fatty acid amide and retinol or retinyl ester, US5955092, Google Patents.
- GRANGER SP, SCOTT IR, DONOVAN RM, IOBST STLICAMELI L (2013). Method for treating skin with retinoids and retinoid boosters, US20140050676, Google Patents.
- GREEN PG, LICKMAN RM (1981). Intestinal lipoprotein metabolism. *J Lipid Res.* **22**: 1153-1173.
- GUDAS LJ, BENOIT Y, PEREZ R, TANG X-HTRASINO S (2017). Methods of treating diseases associated with high-fat diet and vitamin a deficiency using retinoic acid receptor agonists, US20170135964, Google Patents.
- GUDAS LJ, TANG X-H, KWAME O-SURVALEK A (2015). Combination therapy for head and neck cancer, US 20170072010 A1, Google Patents.
- HAIL N, KIM HALOTAN R (2006). Mechanisms of fenretinide-induced apoptosis. *Apoptosis* **11**: 1677-1694.
- HALLENBECK PL, MINUCCI S, LIPPOLDT R, PHYILLAIER M, HORN V, OZATO KNIKODEM VM (1996). Differential 9-cis-retinoic acid-dependent transcriptional activation by murine retinoid x receptor (rxr) and rxr role of cell type and rxr domains. *J Biol Chem* **271**: 10503-10507.
- HARRISON EH, HUSSAIN MM (2001). Mechanisms involved in the intestinal digestion and absorption of dietary vitamin a. *J Nutr* **131**: 1405-1408.
- HENNEY JE (2000). New drug for refractory cutaneous t-cell lymphoma. *JAMA* **283**: 1131-1131.

- HEYMAN RA, MANGELSDORF DJ, DYCK JA, STEIN RB, EICHELE G, EVANS RMTHALLER C (1992). 9-cis retinoic acid is a high affinity ligand for the retinoid x receptor. *Cell* **68**: 397-406.
- HUMPHREY J, WEST JR KSOMMER A (1992). Vitamin a deficiency and attributable mortality among under-5-year-olds. *Bull World Health Org Suppl* **70**: 225.
- ISHIDA S, SHIGEMOTO MOGAMI Y, KAGECHIKA H, SHUDO K, OZAWA S, SAWADA J-I, OHNO YINOUE K (2003). Clinically potential subclasses of retinoid synergists revealed by gene expression profiling. *Mol Cancer Ther* **2**: 49-58.
- IWAMOTO M, PACIFICI M (2016). Composition and method for muscle repair and regeneration, US 9314439 B2, Google Patents.
- JIANG T, SOPRANO DR SOPRANO KJ (2007). Gadd45a is a mediator of cd437 induced apoptosis in ovarian carcinoma cells. *J Cell Physiol* **212**: 771-779.
- KAGECHIKA H, HIMI T, NAMIKAWA K, KAWACHI E, HASHIMOTO YSHUDO K (1989). Retinobenzoic acids. 3. Structure-activity relationships of retinoidal azobenzene-4-carboxylic acids and stilbene-4-carboxylic acids. *J Med Chem* **32**: 1098-1108.
- KAGECHIKA H, KAWACHI E, HASHIMOTO Y, HIMI TSHUDO K (1988). Retinobenzoic acids. 1. Structure-activity relationships of aromatic amides with retinoidal activity. *J Med Chem* **31**: 2182-2192.
- KEEPERS YP, PIZAO PE, PETERS GJ, VAN ARK-OTTE J, WINOGRAD BPINEDO HM (1991). Comparison of the sulforhodamine b protein and tetrazolium (mtt) assays for in vitro chemosensitivity testing. *Eur J Cancer Clin Oncol* **27**: 897-900.
- KIKUCHI K, HIBI S, YOSHIMURA H, TAI K, HIDA T, TOKUHARA N, YAMAUCHI TNAGAI M (2000). Novel retinoic acid receptor α agonists: Syntheses and evaluation of pyrazole derivatives. *Bioorg Med Chem Lett* **10**: 619-622.
- KIMURA K (2016). Therapeutic agent for keratoconjunctive disorders, US975072, Google Patents.
- KOIZUMI H, SATO KCOHKAWARA A (1992). Effects of novel synthesized retinobenzoic acid (am-80) on adenylate cyclase and arachidonic acid release in pig epidermis. *J Dermatol Sci* **3**: 97-102.
- KORYAKINA A, AEBERHARD J, KIEFER S, HAMBURGER MKÜENZI P (2009). Regulation of secretases by all-trans-retinoic acid. *The FEBS journal* **276**: 2645-2655.
- LE MAIRE A, TEYSSIER C, ERB C, GRIMALDI M, ALVAREZ S, DE LERA AR, BALAGUER P, GRONEMEYER H, ROYER CAGERMAIN P (2010). A unique

secondary-structure switch controls constitutive gene repression by retinoic acid receptor. *Nat Struct Mol Biol* **17**: 801-807.

LEHMANN JM, DAWSON MI, HOBBS PD, HUSMANN MPFAHL M (1991). Identification of retinoids with nuclear receptor subtype-selective activities. *Cancer Res* **51**: 4804-4809.

LEHMANN JM, JONG L, FANJUL A, CAMERON JF, LU XP, HAEFNER P, DAWSON MIPFAHL M (1992). Retinoids selective for retinoid x receptor response pathways. *Science* **258**: 1944-1944.

LENGFELDER E, SAUSSELE S, WEISSER A, BÜCHNER THEHLMANN R (2005). Treatment concepts of acute promyelocytic leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol* **56**: 261-274.

LEONE A, SPADA A, BATTEZZATI A, SCHIRALDI A, ARISTIL JBERTOLI S (2015). Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of moringa oleifera leaves: An overview. *Int J Mol Sci* **16**: 12791-12835.

LEUNG W-HLEUNG W (2014). Retinoid x receptor-gamma agonists and retinoid x receptor-alpha antagonists for treatment of cancer, Google Patents.

LI Y, HASHIMOTO Y, AGADIR A, KAGECHIKA HZHANG X-K (1999). Identification of a novel class of retinoic acid receptor β -selective retinoid antagonists and their inhibitory effects on ap-1 activity and retinoic acid-induced apoptosis in human breast cancer cells *J Biol Chem* **274**: 15360-15366.

LIPPMAN SMMEYSKENS JR FL (1988). Vitamin a derivatives in the prevention and treatment of human cancer. *J Am Coll Nutr* **7**: 269-284.

LIU Y, SENNITT M, HISLOP D, CROMBIE D, HEYMAN RCAWTHORNE M (2000). Retinoid x receptor agonists have anti-obesity effects and improve insulin sensitivity in zucker fa/fa rats. *Int J Obes* **24**: 997.

LIVREA MA, PACKER L (1993). *Retinoids: Progress in research and clinical applications*, ed. DEKKER M, Chapter 13, CRC Press.

LU Y, BERTRAN S, SAMUELS T-A, MIRA-Y-LOPEZ RFARIAS E (2010). Mechanism of inhibition of mmtv-neu and mmtv-wnt1 induced mammary oncogenesis by rara agonist am580. *Oncogene* **29**: 3665-3676.

LUPISELLA JA, DRISCOLL JE, METZLER WJRECZEK PR (1995). The ligand binding domain of the human retinoic acid receptor γ is predominantly α -helical with a trp residue in the ligand binding site. *J Biol Chem* **270**: 24884-24890.

- MACDONALD PNONG D (1988). Evidence for a lecithin-retinol acyltransferase activity in the rat small intestine. *Journal of Biological Chemistry* **263**: 12478-12482.
- MACDONALD PNONG DE (1988). A lecithin: Retinol acyltransferase activity in human and rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* **156**: 157-163.
- MAIGNAN J, LANG G, MALLE G, RESTLE SSHROOT B (1989). Bicyclic aromatic derivatives, method for preparing them, and their use in human and veterinary medicine and in cosmetics, US4833240, Google Patents.
- MANGELSDORF DJ, ONG ES, DYCK JAEVANS RM (1990). Nuclear receptor that identifies a novel retinoic acid response pathway. *Nature* **345**: 224-229.
- MANGELSDORF DJ, THUMMEL C, BEATO M, HERRLICH P, SCHÜTZ G, UMESONO K, BLUMBERG B, KASTNER P, MARK MCHAMBON P (1995). The nuclear receptor superfamily: The second decade. *Cell* **83**: 835-839.
- MEHTA N, WAYNE AS, KIM YH, HALE GA, ALVARADO CS, MYSKOWSKI P, JAFFE ES, BUSAM KJ, PULITZER MZWERNER J (2012). Bexarotene is active against subcutaneous panniculitis-like t-cell lymphoma in adult and pediatric populations. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* **12**: 20-25.
- MILLER WH, GLEASON JMADER S (2013). Hybrid molecule having mixed retinoic acid receptor agonism and histone deacetylase inhibitory properties, US 20140051760 A1, Google Patents.
- MOORE T (1930). Vitamin a and carotene: The absence of the liver oil vitamin a from carotene. Vi. The conversion of carotene to vitamin a in vivo. *Biochem J* **24**: 692-702.
- MUKHERJEE R, DAVIES PJ, CROMBIE DL, BISCHOFF ED, CESARIO RM, JOW L, HAMANN LG, BOEHM MF, MONDON CENADZAN AM (1997). Sensitization of diabetic and obese mice to insulin by retinoid x receptor agonists. *Nature* **386**: 407-410.
- NAGPAL S, FRIANT S, NAKSHATRI HCHAMBON P (1993). Rars and rxrs: Evidence for two autonomous transactivation functions (af-1 and af-2) and heterodimerization in vivo. *The EMBO Journal* **12**: 2349.
- NAGY LE (2015). The role of innate immunity in alcoholic liver disease. *Alcohol Res* **37**: 237-250.
- NERVI C, GRIPPO JF, SHERMAN MI, GEORGE MDJETTEN AM (1989). Identification and characterization of nuclear retinoic acid-binding activity in human myeloblastic leukemia hl-60 cells. *Proc Natl Acad Sci* **86**: 5854-5858.
- NOY N, SLOSBERG ESCARLATA S (1992). Interactions of retinol with binding proteins: Studies with retinol-binding protein and with transthyretin. *Biochem* **31**: 11118-11124.

- OLSON ML, SHEDD DP (1978). Disability and rehabilitation in head and neck cancer patients after treatment. *Head & Neck* **1**: 52-58.
- ORMEROD A, CAMPALANI E, GOODFIELD M (2010). British association of dermatologists guidelines on the efficacy and use of acitretin in dermatology. *Br J Dermatol* **162**: 952-963.
- OSTROWSKI J, HAMMER L, ROALSVIG T, POKORNOWSKI K, KRECZEK PR (1995). The n-terminal portion of domain e of retinoic acid receptors alpha and beta is essential for the recognition of retinoic acid and various analogs. *Proc Natl Acad Sci* **92**: 1812-1816.
- PATATANIAN E, THOMPSON D (2008). Retinoic acid syndrome: A review. *J Clin Pharm Ther* **33**: 331-338.
- PAWSON BA (1981). A historical introduction to the chemistry of vitamin a and its analogs (retinoids). *Ann N Y Acad Sci* **359**: 1-8.
- PEHLIVAN Y, KISACIK B, SAYINER Z, AONAT AM (2011). Inflammatory back pain in patients treated with isotretinoin. *J rheumatol* **38**: 2690-2690.
- PEREZ RP, GODWIN AK, HANDEL LM, HAMILTON TC (1993). A comparison of clonogenic, microtetrazolium and sulforhodamine b assays for determination of cisplatin cytotoxicity in human ovarian carcinoma cell lines. *Eur J Cancer* **29**: 395-399.
- QUADRO L, HAMBERGER L, COLANTUONI V, GOTTESMAN ME, BLANER WS (2003). Understanding the physiological role of retinol-binding protein in vitamin a metabolism using transgenic and knockout mouse models. *Mol. Aspects Med* **24**: 421-430.
- RAO R, BALUSU R, FISKUS W, MUDUNURU U, VENKANNAGARI S, CHAUHAN L, SMITH JE, HEMBRUFF SL, KATADJA P (2012). Combination of pan-histone deacetylase inhibitor and autophagy inhibitor exerts superior efficacy against triple-negative human breast cancer cells. *Mol Cancer Ther* **11**: 973-983.
- SAKUTA T, UCHIYAMA T, KANAYAMA T (2006). Topical er36009, a rary-selective retinoid, decreases abdominal white adipose tissue and elicits changes in expression of genes related to adiposity and thermogenesis. *Endocrine* **30**: 113-119.
- SANZ MJ, ALBERTOS F, OTERO E, JUEZ M, MORCILLO E, JIQUERAS L (2012). Retinoid x receptor agonists impair arterial mononuclear cell recruitment through peroxisome proliferator-activated receptor- γ activation. *J Immunol* **189**: 411-424.
- SHAO ZM, DAWSON MI, LI XS, RISHI AK, SHEIKH MS, HAN QX, ORDONEZ JV, SHROOT B, FONTANA JA (1995). P53 independent g0/g1 arrest and apoptosis induced by a novel retinoid in human breast cancer cells. *Oncogene* **11**: 493-504.

- SHEALY YF (1989). Synthesis and evaluation of some new retinoids for cancer chemoprevention. *Prev Med* **18**: 624-645.
- SHEN Q, CLINE GW, SHULMAN GI, LEIBOWITZ MDDAVIES PJ (2004). Effects of rexinoids on glucose transport and insulin-mediated signaling in skeletal muscles of diabetic (db/db) mice. *J Biol Chem* **279**: 19721-19731.
- SHERMAN SI, GOPAL J, HAUGEN BR, CHIU AC, WHALEY K, NOWLAKHA PDUVIC M (1999). Central hypothyroidism associated with retinoid x receptor-selective ligands. *N Engl J Med* **340**: 1075-1079.
- SIDDIKUZZAMAN, GURUVAYOORAPPAN C, BERLIN GRACE VM (2011). All trans retinoic acid and cancer. *Immunopharmacol immunotoxicol* **33**: 241-249.
- SIMEONE A, MTARI A (2004). How retinoids regulate breast cancer cell proliferation and apoptosis. *Cell Mol Life Sci* **61**: 1475-1484.
- SKEHAN P, STORENG R, SCUDIERO D, MONKS A, MCMAHON J, VISTICA D, WARREN JT, BOKESCH H, KENNEY SBOYD MR (1990). New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J Natl Cancer Inst* **82**: 1107-1112.
- SMIT JW, STOKKEL MP, PEREIRA AM, ROMIJN JAVISSER TJ (2007). Bexarotene-induced hypothyroidism: Bexarotene stimulates the peripheral metabolism of thyroid hormones. *J Clin Endocrinol Metab* **92**: 2496-2499.
- STOLL D, BINNERT C, MOOSER VTAPPY L (2004). Short-term administration of isotretinoin elevates plasma triglyceride concentrations without affecting insulin sensitivity in healthy humans. *Metabolism* **53**: 4-10.
- STREB JW, LONG X, LEE T-H, SUN Q, KITCHEN CM, GEORGER MA, SLIVANO OJ, BLANER WS, CARR DWGELMAN IH (2011). Retinoid-induced expression and activity of an immediate early tumor suppressor gene in vascular smooth muscle cells. *PloS one* **6**: 18538.
- SUN SY, YUE P, SHROOT B, HONG WKLOTAN R (1997). Induction of apoptosis in human non-small cell lung carcinoma cells by the novel synthetic retinoid cd437. *J Cell Physiol* **173**: 279-284.
- TAIRIS N, GABRIEL JL, GYDA M, SOPRANO KJSOPRANO DR (1994). Arg269 and lys220 of retinoic acid receptor-beta are important for the binding of retinoic acid. *J Biol Chem* **269**: 19516-19522.
- TALPUR R, COX KDUVIC M (2009). Efficacy and safety of topical tazarotene: A review. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* **5**: 195-210.

- TANG XH, OSEI SARFO K, URVALEK AM, ZHANG T, SCOGNAMIGLIO TGUDAS LJ (2014). Combination of bexarotene and the retinoid cd1530 reduces murine oral-cavity carcinogenesis induced by the carcinogen 4-nitroquinoline 1-oxide. *Proc Natl Acad Sci* **111**: 8907-8912.
- TATE BF, GRIPPO JF (1995). Mutagenesis of the ligand binding domain of the human retinoic acid receptor α identifies critical residues for 9-cis-retinoic acid binding. *J Biol Chem* **270**: 20258-20263.
- THACHER SM, VASUDEVAN JCHANDRARATNA RA (2000). Therapeutic applications for ligands of retinoid receptors. *Curr Pharm Des* **6**: 25-58.
- THEODOSIOU M, LAUDET VSCHUBERT M (2010). From carrot to clinic: An overview of the retinoic acid signaling pathway. *Cell Mol Life Sci* **67**: 1423-1445.
- TOBITA T, TAKESHITA A, KITAMURA K, OHNISHI K, YANAGI M, HIRAOKA A, KARASUNO T, TAKEUCHI M, MIYAWAKI SUEDA R (1997). Treatment with a new synthetic retinoid, am80, of acute promyelocytic leukemia relapsed from complete remission induced by all-trans retinoic acid. *Blood* **90**: 967-973.
- TRAPPMANN J, HAWK SN (2011). The effects of n-3 fatty acids and bexarotene on breast cancer cell progression. *J Cancer Ther* **2**: 710.
- VÄKEVÄ L, RANKI AHAHTOLA S (2012). Ten-year experience of bexarotene therapy for cutaneous t-cell lymphoma in finland. *Acta Derm Venereol* **92**: 258-263.
- VAN TONDER A, JOUBERT AMCROMARTY AD (2015). Limitations of the 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl-2h-tetrazolium bromide (mtt) assay when compared to three commonly used cell enumeration assays. *BMC Res Notes* **8**: 47.
- VICHAJ V, KIRTIKARA K (2006). Sulforhodamine b colorimetric assay for cytotoxicity screening. *Nat protoc* **1**: 1112-1116.
- VOIGT W (2005). Sulforhodamine b assay and chemosensitivity, *Methods Mol Med*, **110**: 39-48.
- VULIGONDA V, LIN Y, THACHER SM, STANDEVEN AM, KOCHAR DMCHANDRARATNA RA (1999). A new class of rar subtype selective retinoids: Correlation of pharmacological effects with receptor activity. *Bioorg Med Chem* **7**: 263-270.
- WAGNER CE, JURUTKA PW, MARSHALL PA, GROU TL, VAN DER VAART A, ZILLER JW, FURMICK JK, GRAEBER ME, MATRO EMIGUEL BV (2009). Modeling, synthesis and biological evaluation of potential retinoid x receptor (rxr) selective agonists: Novel analogues of 4-[1-(3, 5, 5, 8, 8-pentamethyl-5, 6, 7, 8-tetrahydro-2-naphthyl) ethynyl] benzoic acid (bexarotene). *J Med Chem* **52**: 5950-5966.

WU X-Q, YU JJI M (2008). Novel process for large scale synthesis of n-(4-hydroxyphenyl) retinamide. *Journal of Southeast University (English Edition)* **24**: 247-249.

YAN T-D, WU H, ZHANG H-P, LU N, YE P, YU F-H, ZHOU H, LI W-G, CAO XLIN Y-Y (2010). Oncogenic potential of retinoic acid receptor- γ in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* **70**: 2285-2295.

YOSHIMURA H, KIKUCHI K, HIBI S, TAGAMI K, SATOH T, YAMAUCHI T, ISHIBAH I A, TAI K, HIDA TTOKUHARA N (2000). Discovery of novel and potent retinoic acid receptor α agonists: Syntheses and evaluation of benzofuranyl-pyrrole and benzothiophenyl-pyrrole derivatives. *J Med Chem* **43**: 2929-2937.

ZHANG R, WANG Y, LI R, CHEN G (2015). Transcriptional factors mediating retinoic acid signals in the control of energy metabolism. *Int J Mol Sci* **16**: 14210-14244.

ZHANG XK, HOFFMANN B, TRAN PBV, GRAUPNER G, PFAHL M (1992). Retinoid x receptor is an auxiliary protein for thyroid hormone and retinoic acid receptors. *Nature* **355**: 441-446.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı : Dilan
Soyadı : Konyar
Doğum yeri ve tarihi : Ankara-13.08.1985
Uyruđu : T.C.
Medeni durumu : Bekar
İletişim adresi : Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik
Kimya Anabilim Dalı Tandođan Çankaya/ANKARA
Telefon : 0506 925 70 97

II- Eğitimi

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik
Kimya Anabilim Dalı, 2008-2011
Lisans : Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, 2004-2008
Lise : Ankara Atatürk Anadolu Lisesi, 1999-2003
Ortaokul : Avni Akyol İlköğretim Okulu, 1996-1999
Yabancı Dili : İngilizce

III- Ünvanı : Uzm. Eczacı

IV- Mesleki Deneyimi

2009- Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Farmasötik ve Medisinal Kimya Derneği

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınları:

SCI Kapsamındaki Uluslararası Yayınlar:

- 1. Konyar D**, Erdas O, Alpaslan FN, Buyukbingol E. An application of CIFAP for predicting the binding affinity of Chk1 inhibitors derived from 2-aminothiazole-4-carboxamide. *J Mol Recognit.* 2017 Jun 16. doi: 10.1002/jmr.2642. [Epub ahead of print]
- 2. Gurer-Orhan H**, Ince E, **Konyar D**, Saso L, Suzen S. The Role Of Oxidative Stress Modulators In Breast Cancer. *Curr Med Chem.* 2017 Jul 11. doi: 10.2174/0929867324666170711114336. [Epub ahead of print]
- 3. Konyar D**, Andac CA., Buyukbingol E. Design, Synthesis and Cytotoxic Activity of Spiro(oxindole-3-3'- pyrrolidine) Derivatives. *Lett Drug Des Discov.* 2017. doi: 10.2174/1570180814666170810120634 (E-pub Ahead of Print)

Sözlü Sunum Listesi:

1. Cenk A. Andaç, **Dilan Konyar**, Selen Gürkan Alp, Ningur Noyanalpan, Erdem Büyükbingöl, Mdm2-P53 Etkileşimini İnhibe Edecek Antikanser Etkili Yeni Spiro-Oksiindol Türevleri, 27. Ulusal Kimya Kongresi 23-28 Ağustos 2015 / Çanakkale, Türkiye.
2. **Dilan Konyar**, Erdem Büyükbingöl, Yeni Bazı Spirooksiindol Türevlerinin Sentezi, Yapı Aydınlatılması, *In vitro* Sitotoksosite ve Moleküler Doking Çalışmaları, 5. İlaç Kimyası Kongresi 30 Mart-02 Nisan 2017 Side/Antalya, Türkiye.

Posterleri:

1. Ozlem Erdas, **Dilan Konyar**, Ferda Nur Alpaslan, Erdem Buyukbingol, Application of cifap for predicting the binding affinity of chk1 inhibitors derived from 2-aminothiazole-4-carboxamide, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, December 15-20 2015/Honolulu, Hawaii, USA.
2. **Dilan Konyar**, Cenk Andaç, İrem Durmaz, Rengül Çetin-Atalay , Erdem Büyükbingöl , "Studies on Synthesis, Structure Elucidation And Molecular Docking of Some Novel Anticancer Effective Spiroindole Derivatives", R1ct 2013 Drug Discovery And Selection When Chemical Biology Meets Drug Design, 3-5 Temmuz 2013, Nice Fransa.
3. **Dilan Konyar** , Erdem Büyükbingöl , "Docking Studies Of Novel Small Molecule İnhibitors Of Mdm2", Bau International Drug Design Symposium 2013: Novel Methods And Emerging Targets in Drug Discovery Patented Drug Development, 21-23 Mart 2013, İstanbul, Türkiye.
4. **Dilan Konyar** , Cenk Andaç, İrem Durmaz, Rengül Çetin-Atalay , Erdem Büyükbingöl . "Yeni Spirooksiindol Türevlerinin Sentezi, Moleküler Doking ve Antikanser Etki Çalışmaları", 3. Ulusal Farmasötik Kimya Kongresi, 14-16 Eylül 2012, Malatya, Türkiye.

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Verdiği Seminerler: Kanser Hastalığında Rolü Olan Enzimler, Mekanizmaları ve Etkili İnhibitörler (2009)

P53 ve Kanserdeki Rolü (2013)

Prion Hastalıkları (2013)

Projeleri:

1. Erdem Büyükbingöl, Dilan Konyar, Yeni Retinoid Bileşiklerin Sentezleri ve Biyolojik Etkinliklerinin Değerlendirilmesi, BAP Projesi 2015.
2. Erdem Büyükbingöl, Dilan Konyar, Mdm2 Protein İnhibisyonu Yapabilecek Yeni Bileşiklerin Sentezleri ve Moleküler Modelleme Çalışmaları, BAP Projesi 2013.