

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**PERİLENDİİMİD TÜREVLERİNİN SENTEZLENEREK ÇEŞİTLİ
BİYOLOJİK HEDEFLERE OLAN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fatma AKÇAY

Balıkesir, Ağustos-2011

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**PERİLENDİİMİD TÜREVLERİNİN SENTEZLENEREK ÇEŞİTLİ
BİYOLOJİK HEDEFLERE OLAN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fatma AKÇAY

Balıkesir, Ağustos-2011

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

PERİLENDİİMİD TÜREVLERİNİN SENTEZLENEREK ÇEŞİTLİ BİYOLOJİK
HEDEFLERE OLAN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fatma AKÇAY

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Funda YÜKRÜK

Sınav Tarihi: 22.08.2011

Jüri Üyeleri: Yrd.Doç. Dr. Funda YÜKRÜK (BAÜ)

Yrd. Doç. Dr. Belgin S. İŞGÖR (Atılım Üniversitesi)

Doç. Dr. Akın AZİZOĞLU (BAÜ)

Enstitü Yönetim Kurulunun tarih sayılı oturumunun nolu
kararı ile Mezun olmuştur.

Balıkesir, Ağustos-2011

“Bu alışma Balıkesir Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından BAP 2011/11 Kodlu Proje ile desteklenmiştir. Teşekkür ederiz.”

ÖZET

PERİLENDİİMİD TÜREVLERİNİN SENTEZLENEREK ÇEŞİTLİ BİYOLOJİK HEDEFLERE OLAN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Fatma AKÇAY

Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı

(Yüksek Lisans Tezi/Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr.Funda YÜKRÜK)

Balıkesir, 2011

Yeşil renkli perilendiimid türevlerinin antikanser etkinliği olduğu bilinmektedir ve bu bileşiklerin c-Src tirozin kinaz ve Glutatyon-S-Transferaz enzimleri inhibisyon etkinlikleri, hedefe özgün ilaç tasarım ve geliştirilmesinde oldukça önemli bir rolü bulunmaktadır.

c-Src tirozin kinaz enzimi, kanser hücrelerinde aktivasyon kontrolünün kalkmasına ve tümörün büyümesine neden olur.

Glutatyon-S-Transferaz enzimi, ilaç direnç mekanizmasına yol açan Faz II detoksifikasyon enzimlerinden olduğu için hücre içinde ilaç ve diğer ksenobiyotikleri metabolize ederek vücuttan uzaklaşmasına yardımcı olur; ancak bazı durumlarda kanser ve diğer bazı hastalık oluşum ve gelişmesinde de rol oynar.

Bu enzimlerin etkin olduğu hastalıkların farklı şekilde kontrol altına alınmasına olanak sağlayacağı düşünülen yeni yeşil perilendiimid molekülü sentezlendi. Bu perilendiimid türevi molekülünün "imid" bölgesine N-substituent, körfez bölgesine bis substituent gruplar bağlanarak çözünürlüğü artırılmış oldu. Molekül yapısı da ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve kütle spektrumları ile aydınlatıldı.

Bu molekül c-Src tirozin kinaz enzimi inhibisyonunda etki göstermemiş fakat Glutatyon-S-Transferaz enzimi inhibisyonunda etki göstermiştir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Perilendiimid/c-Src tirozin kinaz/Glutatyon-S-transferaz

ABSTRACT

INVESTIGATION OF EFFECTS ON VARIOUS BIOLOGICAL TARGETS BY SYNTHESIZE PERYLENEDIIMIDE DERIVATIVES

Fatma AKÇAY

Balikesir University, Institute of Science, Department of Chemistry

(Master Thesis / Supervisor: Assistant Professor Funda YÜKRÜK)

Balikesir, Turkey, 2011

It is known that green perylenediimide derivatives have anti-cancer activities and inhibition efficiencies against Glutathione-S-transferase and c-Src tyrosine kinase enzymes are very important for targeted drug design and development.

c-Src tyrosine kinase causes the growth of the tumor and the removal of activation control in cancer cells.

Glutathione-S-Transferase helps to dispose from the body by metabolizing drugs and other xenobiotics in the cell because it is one of the phase II detoxification enzymes which causes drug resistance mechanism, but in some cases it acts as the reason of occurrence and progress of cancer and other diseases.

New green perylenediimide derivative has been synthesized which is thought providing opportunities about undertaking control in different way of diseases, taking role of these enzymes. The solubility of this perylenediimide derivative molecule has been increased by binding groups of bis substituent to "core" side N-substituent to "imide" side. The structure of molecule has been determined by ¹H-NMR, ¹³C-NMR and mass spectrum.

This molecule didn't show that the inhibition of c-Src tyrosine kinase but it showed the inhibition of Glutathione-S-transferase.

KEYWORDS: Perylenediimide / c-Src tyrosine kinase / Glutathione-S transferase

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET, ANAHTAR SÖZCÜKLER	ii
ABSTRACT, KEY WORDS	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SEMBOL LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
ÇİZELGE LİSTESİ	xi
ÖNSÖZ	xii
1.GİRİŞ	1
1.1 Perilenler	1
1.1.1 Perilen Pigmentleri	1
1.1.1.1 Perilen Pigmentlerin Kimyası, Üretimi ve Uygulamaları	2
1.1.1.2 Perilen Pigmentlerinin Özellikleri	3
1.1.2 Perilen Türevleri ve Özellikleri	3
1.1.2.1 PTCDA (perilen–3,4:9,10-tetrakarboksilikasit dianhidrid)	3
1.1.2.2 Perilendiimidler	4
1.1.2.2.1 Perilendiimidlerde Çözünürlük	4
1.1.2.2.2 Perilendiimidlerin Kullanım Alanları	7
1.1.2.3 Diğer Perilen Türevleri	8
1.1.3 Perilenlerin Optik Özellikleri	10
1.2 Kanser ve Perilendiimidlerle Olan İlişkisi	11
1.2.1 Kanser ve Tirozin Kinazlar	11
1.2. Protein Kinazlar	13
1.2.2.1 Reseptör Tirozin Kinazlar	14
1.2.2.2 Non-Reseptör Tirozin Kinazlar	16
1.2.2.2.1 Src Non-Reseptör Tirozin Kinaz	16
1.2.3 Tirozin Kinazlar ve Sinyal İletim Yolu	18

1.2.4 Protein Tirozin Kinazların Onkojenik Transformasyonu	21
1.2.5 Tirozin Kinaz İnhibitörleri	22
1.3 Terapötik Hedef Olarak Glutatyon S-Transferaz	27
1.3.1 Ksenobiyotikler ve Ksenobiyotik Metabolizması	27
1.3.2 Glutatyon-S-transferazlar	28
1.3.2.1 GST'lerin Adlandırılması ve Sınıflandırılması	30
1.3.3 Glutatyon-S-transferazlar ve Sinyal İletimi	31
1.3.4 Glutatyon-S-transferaz inhibitörleri	31
2 MATERYAL VE YÖNTEM	33
2.1 Materyaller	33
2.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler	33
2.1.1.1 Maddelerin Sentezinde Kullanılan Kimyasal Maddeler	33
2.1.1.2 Aktivite Ölçüm Ve Tayin Aşamasında Kullanılan Kimyasal Maddeler	33
2.1.2 Kullanılan Alet Ve Cihazlar	33
2.1.2.1 Sentez Aşamasında Kullanılan Alet ve Cihazlar	33
2.1.2.2 Aktivite Ölçüm Ve Tayin Aşamasında Kullanılan Alet ve Cihazlar	34
2.2 Deneysel çalışmalar	35
2.2.1 1,7-dibromo-3,4:9,10-perilenetetrakarboksilikasit dianhidrit Sentezi (FA1)	35
2.2.2 1,7-dibromo N-N'-sikloheksilamin 3,4:9,10-perilendiimid Sentezi (FA2)	36
2.2.3 1,7-dimorfolin N-N'-sikloheksilamin 3,4:9,10-perilendiimid Sentezi (FA3)	37
2.2.4 c-Src Enzim Aktivitesinin Tayini	38
2.2.5 Glutatyon S-Transferaz Aktivite Ölçümleri	39
3 BULGULAR	40
3.1 FA3 Maddesinin Spekturum Verileri	40
3.1.1 FA3 Maddesinin ¹ H-NMR Spekturumu Verileri	40
3.1.2 FA3 Maddesinin ¹³ C-NMR Spekturum Verileri	41
3.1.3 FA3 Maddesinin Mass Spekturum Verileri	42
3.1.4 FA2 ve FA3 Maddelerinin UV-VIS Spektrumları	43

3.1.5 c-Src Enzim İnhibisyonu Çalışmaları	44
3.1.6 Glutasyon-S-transferaz Enzim İnhibisyon Sonuçları	45
4 TARTIŞMA VE SONUÇ	46
KAYNAKLAR	48

SEMBOL LİSTESİ

Simge Adı	Tanımı
PTCDA	Perilen-3,4:9,10-tetrakarboksilikasit dianhidrid
UV	Ultraviyole(morötesi ışınım)
VEGF	Vasküler endotel büyüme faktörü
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
PDGF	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
EGF	Epidermal büyüme faktörü
RTK	Reseptör Tirozin Kinazlar
SH2	Src-homology-2
NRTK	Non-Reseptör Tirozin Kinazlar
Abl	Abelson tirozin kinaz
FAK	Fokal adezyon kinaz)
JAK	Janus Family Kinases
Ras-MAPK	Ras-Mitojen aktive edici protein kinaz
Grb2	Büyüme faktörü reseptör bağlayıcı proteini-2
GDP	Guanozindifosfat
GTP	Guanozintrifosfat
MEK	Mitojenlerin aktive ettiği hücre dışı sinyal düzenleyen kinaz
ERK	Hücre dışı sinyal düzenleyen kinaz
PI-3K	Fosfoinazitid-3-kinaz
PIP2	Fosfatidilinozitol-4,5-difosfat
PIP3	Fosfatidilinozitol trifosfat
PDK	Bağımlı kinaz
STAT	Hücre içi sinyal iletim ve transkripsiyonu
GOF	Gain of function
Ph	Philadelphia kromozomu
GSH	Glutatyon
GST	Glutatyon-S-transferaz

NMR	Nükleer Magnetik Rezonans
FT-IR	Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopi
NMP	N-metil pyrolidin
CH₃COOH	Asetikasit
CDCl₃	Doterokloroform
Br₂	Brom
H₂SO₄	Sülfürik asit
CH₂Cl₂	Diklorometan
CHCl₃	Kloroform
I₂	İyot

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil</u> <u>Numarası</u>	<u>Adı</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1	Perilen tetrakarboksilikasit dianhidrit sentezi	1
Şekil 1.2	Perilen ve PTCDA molekülünün yapısı	4
Şekil 1.3	PTCDA’ e N atomlarının bağlanması	5
Şekil 1.4	Perilendiimid 1a yapısı	6
Şekil 1.5	Suda çözülebilir hale gelmiş yeşil perilen türevleri	9
Şekil 1.6	Perilen boyalarında hipsokromik ve batokromik kaymalar	10
Şekil 1.7	Protein yapısındaki tirozinlerin protein tirozin kinazlar tarafından fosfatlanması	13
Şekil 1.8	Tirozin Kinaz enzim ailesi	14
Şekil 1.9	Src non-reseptör tirozin kinaz’ın üç boyutlu yapısı	17
Şekil 1.10	Src non-reseptör tirozin kinazların aktivasyonu	18
Şekil 1.11	Sinyal iletim yolları	20
Şekil 1.12	Tirozin kinaz inhibisyon mekanizmaları	23
Şekil 1.13	İmatinib mesilat molekül yapısı	24
Şekil 1.14	Bcr-abl protein tirozin kinazın imatinib mesilat ile inhibisyonu	24
Şekil 1.15	Staurosporine	25
Şekil 1.16	Hiperisin’in üç boyutlu yapısı	26
Şekil 1.17	Calphostin C	26
Şekil 1.18	Glutasyonun (GSH) ksenubiyotiklere glutasyon transferaz (GST) katalizli reaksiyonu	29
Şekil 1.19	Memeli karaciğerindeki GST yapıları	30
Şekil 2.1	FA1 sentezi	35
Şekil 2.2	FA2 sentezi	36
Şekil 2.3	FA3 sentezi	37
Şekil 3.1	FA3 Maddesinin ¹ H-NMR Spekturumu	40
Şekil 3.2	FA3 Maddesinin ¹³ C-NMR Spekturumu	41
Şekil 3.3	FA3 Maddesinin Mass Spekturumu	42

Şekil 3.4	FA2 Maddesinin UV-VIS Spektrumu	43
Şekil 3.5	FA3 Maddesinin UV-VIS Spektrumu	43
Şekil 3.6	FA Maddesinin c-Src enzimine karşı bir inhibisyon grafiği	44
Şekil 3.7	FA3 GST inhibisyon eğrisi	45

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge numarası</u>	<u>Adı</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1	Ksenobiyotiklerin türleri, vücuda giriş yolları ve vücuttaki değişim biçimleri	30

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Funda YÜKRÜK'e çalışmanın planlanmasında ve sürdürülmesindeki desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Biyolojik aktivite tayin çalışmalarımı yapan Sayın Yrd. Doç. Dr. Belgin S. İŞGÖR ve Yrd.Doç.Dr. Yasemin İŞGÖR'e teşekkür ederim.

Deneyisel çalışmalarım sırasındaki yardımları için çalışma arkadaşım Taner KESKİN'E teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmalarım boyunca desteğini her an hissettiğim, içten yardımları ile daima yanımda olan Onur OĞUR'a en içten teşekkürlerimi sunarım..

Beni bugünlere getiren hiçbir zaman maddi ve manevi desteğini esirgemeyen her zaman yanımda olan canım aileme özellikle annem Nurgül AKÇAY ve babam Turan AKÇAY'a sonsuz minnet ve şükranlarımı sunarım.

Bu çalışma Balıkesir Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından BAP 2011/11 Kodlu Proje ile desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı Balıkesir Üniversitesi Araştırma Fonu Başkanlığına teşekkür ederiz.

Bu tez Tübitak tarafından 110T026 no'lu hızlı destek projesi ile desteklenmiştir. Teşekkür ederiz.

Balıkesir, 2011

Fatma AKÇAY

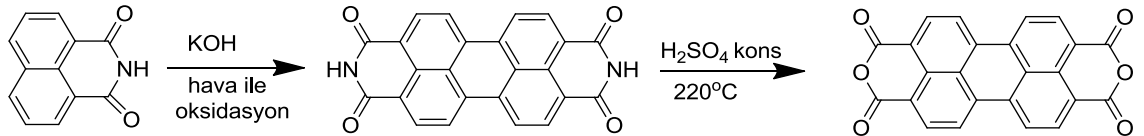
1 GİRİŞ

1.1 PERİLENLER

Perilenler ilk olarak 1913'te Kardos tarafından keşfedilmişlerdir. Onların güçlü fluoresans özellikleri Giessler ve Remy tarafından 1940'larda gözlemlendi. İlk uygulama alanları tekstilde, daha sonraki dönemlerde yüksek performanslı pigmentler olarak kullanılmışlardır. Bu boyaların düşük çözünürlüğü pigment uygulamaları için oldukça gerekli bir özellik olmasına rağmen bu özelliklerinden dolayı pratik uygulamalar için kullanılamıyorlardı [1].

1.1.1. Perilen Pigmentleri

Perilen bileşiklerinin pigment olarak kullanımı 1950 yılından sonraya rastlar. Çok sayıda perilen pigment serileri endüstriyel ölçekte üretilmeye başlanmıştır. Perilen tetrakarboksilik asit pigmentlerinin sentezinde kullanılan temel başlangıç maddesi, dianhidrittir. 190 ile 220°C'de, örneğin sodyum hidroksit, potasyum hidroksit, sodyum asetat gibi kostik alkali ile 1,8-naftalin dikarboksilik asit imidinin erimesiyle hazırlanır. Bunu, eriyen reaksiyon karışımının hava ile oksidasyonu veya sulu hidrolizi izler. Reaksiyon sonunda öncelikle bisimid (perildiimid) oluşur. Ardından 220°C'de, konsantre sülfürik asitle hidroliz edilerek dianhidrit formu oluşur [2].



Şekil 1.1 Perilen tetrakarboksilikasit dianhidrit sentezi

1.1.1.1.Perilen Pigmentlerin Kimyası, Üretimi ve Uygulamaları

Simetrik olmayan, süstitüe perilen pigmentleri, son dönemlerin en ilginç yapılarındandır. Perilen tetrakarboksilik asitin tetra sodyum tuzunun seçimli olarak protonlanması, yüksek verimde perilen tetra karboksilik monoanhidritin mono sodyum tuzunu verir. Sonraki adımda aminlerle reaksiyonu sonucu simetrik olmayan süstitüe perilen pigmentler elde edilir [2].

Ham ürünü, endüstriyel olarak kullanışlı pigmentlere çeviren çok sayıda teknik mevcuttur. Önemli metodlar arasında; sülfürik asitte yeniden çöktürme, öğütme ve çözümden yeniden kristallendirme bulunmaktadır. Optimize edilmiş sonuçlar elde edebilmek için bu metodlar uygun şekilde birleştirilmelidir [2].

Perilen tetrakarboksilik asit dianhidrit, alkali tuzunun hazırlanması ve sonrasında asit ile çöktürülmesiyle pigment formuna çevrilebilir. Dianhidrit, organik çözümden, muhtemelen basınç altında, 100 ile 200°C'de termal işlem ile asitin ayrılmasından sonra oluşur. Uygun ortam olarak alkol, keton, karboksilik asit esterleri, hidrokarbonlar ve dipolar aprotik çözümler verilebilir [2].

Çoğu perilen pigmentleri, kinakridon pigmentlerde de olduğu gibi;

- Endüstriyel boya olarak, özellikle de orijinal otomotiv sektöründe kullanılırlar.
- Küçük partiküllü türleri özellikle metalik ve saydam boyacılıkta kullanılırken; saydam olmayan türleri, inorganik ve diğer organik pigmentlerle karıştırılarak farklı gölgeli boyaların oluşturulmasında kullanılırlar.
- Bazı türleri özellikle ısıya karşı mükemmel bir kararlılık gösterdiğinden, plastiklerde ve spin boyama ürünlerinde kullanılırlar [2].

1.1.1.2 Perilen Pigmentlerinin Özellikleri

Perilen pigmentleri geniş bir renk aralığında bulunabilirler; kırmızı, bordo, mor, kahverengi ve siyaha yakın renk tonu verebilirler. Bu pigmentler mükemmel çözücü kararlılığı, plastiklerde oldukça iyi göç kararlılığı, boya kaplamacılığında oldukça uzun ömürlülük, yüksek kimyasal inertlik ve olağanüstü termal kararlılık gösterirler. Sadece temel bileşiği olan tetrakarboksilik asit dianhidrit, alkali içinde dayanıklı değildir.

Grup olarak perilen pigmentleri, yüksek renk verme özelliği gösterirler. Kinakridon pigmentlerinden güçlü oldukları bulunmuştur. Bununla birlikte perilen pigmentleri ışık ve havaya karşı mükemmel dayanıklılık gösterirler. Bu konuda aşağı yukarı kinakridon pigmentlerinin performansına eşittirler [2].

1.1.2. Perilen Türevleri ve Özellikleri

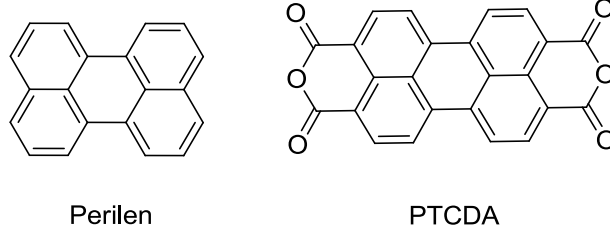
1.1.2.1. PTCDA (perilen-3,4:9,10-tetrakarboksilikasit dianhidrid)

PTCDA (perilen-3,4:9,10-tetrakarboksilikasit dianhidrid - $C_{24}H_8O_6$) molekülü şekil 1.1'de de gösterildiği gibi, perilen molekülünün her bir yanına bir anhidrid fonksiyonel grubu eklenmesiyle elde edilen bir perilen türevidir. Yapıyı perilen çekirdeği ve iki anhidrid fonksiyonel grubu olarak bölümlediğimizde, özellikle C1s ve O1s seviyelerinin spektroskopik gözlemlerinde büyük kolaylıklar sağlamış oluruz [3].

PTCDA kristali, organik yarı iletkenler arasında en yüksek elektron mobilitesine sahip maddelerden birisidir. İyi düzenlenmiş filmlerdeki dizilme doğrultusu $1 \text{ cm}^2/\text{Vs}$ değerini aşar. Bu yüzden PTCDA molekülü, organik molekül esaslı elektronik sistemlerin üretiminde önemli bir yapıdır [3]

Perilen çekirdeği ve anhidrid gruplar hesaba katıldığında, kimyasal olarak birbirine eşdeğer olmayan 7 farklı karbon atomu göze çarpar. PTCDA, iyonik boyutları sırasıyla $a = 6.79 \text{ \AA}$ ve $b = 11.47 \text{ \AA}$ ve Van der Waals yarıçapı ise sırasıyla 9.2 \AA ve 14.2 \AA olan düzlemsel organik bir moleküldür. PTCDA istiflenmiş

moleküler yapraklar şeklinde kristallenir. Her düzlem kristal diğerleriyle zayıf Van der Waals kuvvetleri ve elektrostatik güçlerle bağlanırlar[3].



Şekil 1.2 Perilen ve PTCDA molekülünün yapısı

PTCDA molekülleriyle yapılan foto emisyon çalışmaları sonucu, bu moleküllerin reaktif metal yüzeyine ve yarı iletken yüzeylere kuvvetlice bağlandığı görülmüştür. Moleküller eşzamanlı olarak farklı yönelimlerle yüzeylere bağlanırlar. Yüzey üzerinde etki oluştururlar ve kısmen de ayrılabilirler. Moleküller, yüksek aktivitelerinden dolayı anhidrid grubu üzerinden adsorplanırlar [3].

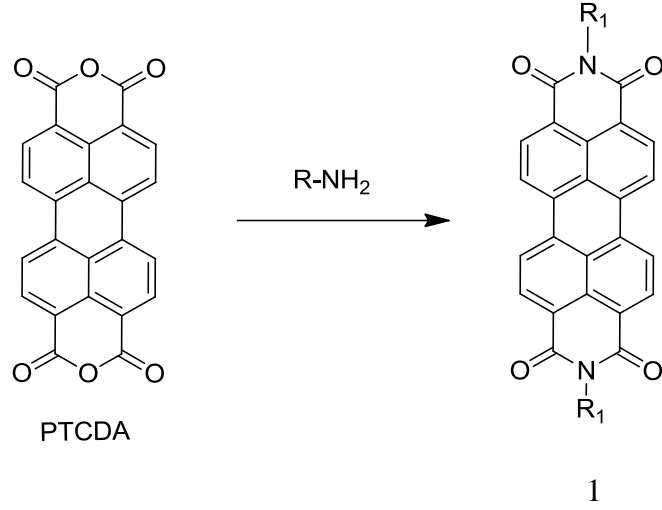
1.1.2.2. Perilendiimidler

PTCDA'ten çıkılarak sentezlenen perilendiimidler (şekil 1.2) yüksek kimyasal dayanıklılık gibi benzersiz özellikleri ve yüksek fotokararlılığı nedeniyle multikromoforların sentezi için oldukça cazip yapı taşlarıdır [1].

1.1.2.2.1. Perilendiimidlerde Çözünürlük

Perilendiimid moleküllerinin genel sorunu çözünürlüklerinin düşük olmasından kaynaklanmaktadır. Bu sorunu gidermek için çözünürlüğü arttırıcı gruplardan yararlanılmıştır. Çözünürlüğü arttırmak için perilendiimid 1 yapısına değişik grupların bağlanması sağlanmıştır. Sentetik nedenlerden dolayı N atomları içeren moleküller bu iş için en uygun olanlarıdır [1].

Tetra bütül gruplarının 1 nolu moleküle N atomundan bağlanmasıyla çözünürlüğün oldukça arttığı gözlemlenmiştir. Daha az hacimli bu grupların eklenmesiyle, organik çözümlerde yeterli çözünürlük sağlanmıştır. Ancak bu tip boyaların hazırlanmasında da oldukça ağır şartlar gerekmektedir [1].



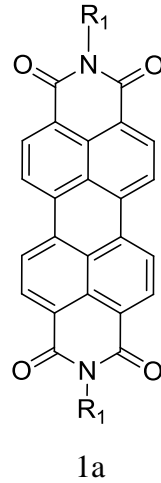
Şekil 1.3 PTCDA'e N atomlarının bağlanması

Çözünürlük artışı N atomlarındaki alifatik substitüentlerle kolayca başarılabilir. Ayrıca alkilenmiş aromatik substitüentlerle çözünürlük artışında daha iyi sonuçlar alınır. Dallenmamış alkil grupları çözünürlük üzerinde olumsuz etkiye sahiptir. Alkil zincirlerindeki C atomu sayısı 5' ten çok olduğu zaman yeniden çözünürlükte bir azalma olur [1].

N atomlarına bağlı küçük siklo alkil gruplarının çözünmeye etkisi azdır. Sadece beş üyeli halkalarda çözünürlüğe etki biraz artar. Çözünürlük N atomlarına bağlı orta büyüklükteki halkalarda düşüktür. Ancak orta büyüklükteki halkalardan büyük halka yapılarına gidildikçe çözünürlük artar [1].

Molekülde paralel veya zig-zag zincirler içeriyorsa bu artış daha da fazla olmaktadır. Eğer N atomlarının ters taraflarına bağlanarak uzun zincirli sekonder alkil grupları oluşturulursa, çözünürlükte daha etkili bir artış sağlanmış olur. İki veya daha fazla kiral grubun bağlanması sonucu diastereomerler oluşur. Bunların sentezi, saflaştırılması ve spektroskopisi daha karmaşık olur. Kloroform gibi çok iyi çözücülerde, *sec*-alkil grupları taşıyan boyaların çözünürlüğünü tanımlamak oldukça güçtür [1].

R1 yan zincirinde 13 C atomu içeren boya 1a, yeterli çözünürlük ile uygun çözelti konsantrasyonu bakımından iyi bir örnektir ve iyi formu kristaller şeklinde elde edilir. Daha yüksek homologları ise mumsu yapı gösterirler. Bunların saflaştırılması ve kullanımı çok daha karmaşıktır [4].



R₁= 1-hekzilheptil

Şekil 1.4 Perilendiimid 1a yapısı

Zincir uzunluğunun 1 no' lu yapının çözünürlüğü üzerindeki etkilerinin sistematik araştırmasına dair sonuçlar, multikromoforik yapılar gibi diğer yapılar içinde kullanılabilir. Böylece uzun zincirli *sec*-alkil gruplarının yapıya eklenmesi sonucu multikromoforik sistemlerin çözünürlüğünde artışa neden olur. Bu durum, sentez, saflaştırma ve uygulama için önemlidir [4].

1.1.2.2.2. Perilendiimidlerin Kullanım Alanları

Perilen türevlerinden en yaygın ve kullanım özelliği en iyi olanlardan biri perilendiimidlerdir. Perilendiimidler fotodinamik terapiden elektronik teknolojiye birçok kullanım alanına sahiptir.

Perilendiimidler elektron transfer katalizörü olarak kullanılırlar. UV ışık ya da güneş ışığı radyasyonu altında moleküler oksijen tarafından organik bileşiklerinin fotouyarımlı oksidasyonu organik yapılarının oluşumunda ve sanayi ürünlerinin yapımında en önemli rol oynayan ürünlerdir.

Günümüzde konsantre güneş ışınlarıyla perilendiimidler üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardan perilendiimidlerin yoğun güneş radyasyonu altında bile oldukça yüksek fotokararlılığı olduğu tespit edilmiştir [4].

Perilendiimidler, singlet foto duyarlaştırıcı olarak bilinirler. Bu özelliklerinden dolayı perilendiimidler, foto oksidasyonlarda kullanılmaya başlanılmıştır. Bu yöntem iki çeşit yolla uygulanmaktadır [4].

- Enerji transfer yoluyla
- Elektron transfer yoluyla uygulanır.

Enerji transfer yolunda triplet oksijenden ($^3\text{O}_2$), singlet oksijen oluşturulur. Oluşturulan singlet oksijenin substratlarla etkileşime girmesi sağlanır.

Elektron transfer yolunda genellikle elektron değişiminden yararlanır. Bu oksidasyonda oksijen moleküler halden, süper oksit anyon radikaline (O_2^-) dönüşüm ile sağlanmaktadır. Süper oksit anyon radikalleri de katyonik alken radikalleriyle tepkimeye girerek yükseltgenme ürünlerini oluştururlar [4].

Güneş ışığından yararlanarak elde edilen kimyasalların üretimi fotokimyasal açıdan oldukça önemlidir. Ancak güneş ışığının kısa süreli olmasından güneş ışığıyla yapılan fotosentezler güvenilirlik teşkil etmez. Perilendiimidlerin oldukça yüksek fotokararlılıkları olduğu bilinir. Fotokimyasal işlemler konsantre güneş ışınlarında daha hızlı ilerler. Sadece inorganik fotouyarıcıların konsantre güneş ışığında yapılan uygulamalarda, fotokararlılığının yüksek olduğu bilinir. Diğer bir yandan laboratuvar koşullarında bazı organik fotouyarıcıların kullanılmasıyla başarılan birçok fotosentez vardır. Bu fotouyarıcılardan bir tanesi de perilendiimidlerdir [5].

Simetrik ve asimetrik perilendiimidler ve onların perilenmonoimidlerle olan ilişkileri son yıllarda elektronik alanların yanında biyolojik açıdan da oldukça fazla bir öneme sahiptir. Perilendiimidler çoğunlukla elektriksel ve görsel uygulamalarda kullanılırlar [6].

Bunların dışında alan etki transistörlerinde, fotovoltaiik uygulamalarda n-tipi yarı iletken sistem olarak boya lazer teknolojisinde, elektrofotografik aletlerde, organik ışık yayma diyotlarında, ve fotokırılım ince film teknolojisindeki kullanımları da örnek olarak verilebilmektedir [5].

1.1.2.3. Diğer Perilen Türevleri

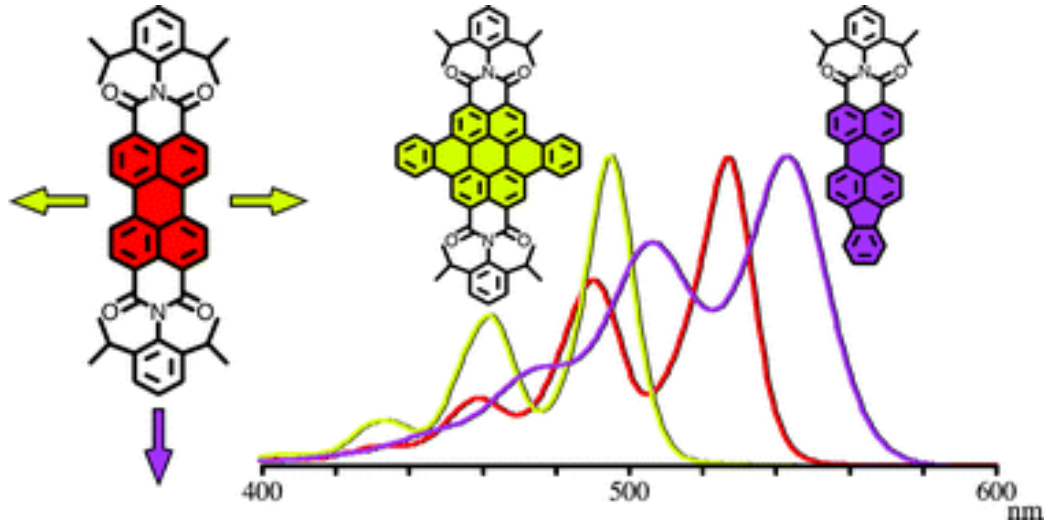
Perilen çekirdeğindeki değişikliklerle birlikte imid oluşturan diğer yapılar absorpsiyonda değişiklikler oluşturur. İmid bağının bir tarafının açılması ile absorpsiyonda biraz değişiklik meydana gelir. Bu durum özellikle titreşim yapısının değişmesine neden olur. Her iki imid halkasının açılması ile güçlü hipsokromik kayma meydana gelir [1].

Örneğin tetrametilperilen tetrakarboksilat yapısı, çözeltide sarı renklidir ve mavimsi yeşil fluoresans oluşturur. Tetrakarboksilat anyonu benzer spektral bölgede absorplama yapar. 1a yapısında da olduğu gibi her iki boyanın fluoresans kuantum verimleri %100'e yakındır ve her iki boya fluoresans standardı olarak kullanılabilir. Bununla birlikte bu yapılar, 1a yapısı kadar kararlı değildirler [1].



Şekil 1.5 Suda Çözülebilir hale gelmiş yeşil perilen türevleri

Perilen boyalarının imid bölümündeki karbonil gruplarında yapılacak değişikliklerle absorpsiyonda batokromik kayma meydana getirilebilir. Karbonil grupları, imin grupları ile yer değiştirir. Sonuçta bu yapıların hidrolize uğrama kararlılığı azalır. Ancak imin grupları, altı üyeli halkalarla birlikte takılırsa kararlılık biraz artar. Ayrıca kararlılığa geminal metil gruplarının bulunmasıyla ulaşılabilir. Diğer bir yöntemde ise moleküle imin gruplarının geniş π sistemine katılmasıdır. Bu gibi boyaların çözünürlüğü düşüktür. Bununla birlikte geminal etil grupları iki uzun zincirli alkil gruplarıyla yer değiştirdiğinde, kuyruk yapısında bir substitüent tekrar elde edilir [1].



Şekil 1.6 Perilen boyalarında hipsokromik ve batokromik kaymalar [7].

1.1.3. Perilenlerin Optik Özellikleri

1a yapısının çözeltideki UV-VIS spektrumu oldukça belirgindir ve çözen polaritesinden fazla etkilenmez. 1a yapısının UV-VIS spektrumlarının, bağlı olan süstitüentlerle fazla alakalı olmamasını kuantum kimyasal hesaplamalarla açıklayabiliriz. Çünkü düğümler ya da oldukça düşük olan atomik katsayılar, N atomlarının HOMO ve LUMO orbitalleri için hesaplanmıştır. Metoda bakılmaksızın kullanılan düğüm veya oldukça düşük atomik katsayılar HOMO -1 ve LUMO +1 orbitalleri için bulunur ve bunlar konfigürasyon etkileşimi için önemlidir [1].

Lineer dikromizm ölçümlerine göre 1 yapısı görünür bölgede sadece bir elektronik geçiş gösterir. Bunun geçiş momenti iki N atomunun bağlanma yönündedir. Geçiş momenti, hem absorpsiyon hem de fluoerans da iki N atomunun bağlantısına paraleldir. Böylelikle UV-VIS spektrumları basit ve temiz bir şekilde anlaşılır. Multikromoforik sistemlerin spektrumlarının yorumlanmasını kolaylaştırır [4].

Çözünür perilen türevleri çözeltide ve katı durumda (bazı türevleri) çok şiddetli fluoresans gösterirler. Bunların kloroformdaki fluoresans kuantum verimleri, oksijen atmosferinde bile %100'e yakındır. Böylece yüksek emisyonları nedeniyle bu boyalar, fluoresans spektrometreler için standart olarak kullanılabilirler [7].

1.2.Kanser ve Perilendiimidlerin İlişkisi

1.2.1. Kanser ve Tirozin kinazlar

Kanser, hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması, invazif nitelik kazanması ve metastaz yapması ile kendini gösteren ve halen gelişmiş ülkelerin ölüm istatistiklerinde kalp-damar hastalıklarından sonra ikinci sırada yer alan öldürücü bir hastalıktır. Genel olarak bakıldığında erişkin kanser hastalarında yaşam süre ve kalitesi 1960'larda %39 iken bu oran 1990'larda %60'a ulaşmıştır. Sağkalım oranlarında görülen bu artış, kombine tedavi yaklaşımının bir sonucudur. Günümüzde kanser tedavisi cerrahi, kemoterapi ve radyoterapinin kombinasyonu şeklinde uygulanmaktadır. İlkinde amaç tümörlü doku veya organın uzaklaştırılması, son ikisinde ise kanser hücrelerinin öldürülmesidir [8,9].

Son yıllarda tümör oluşumunda rolü olan moleküler ve hücreyel mekanizmaların bulunmasıyla kanser tanı ve tedavisinde önemli ilerleme kaydedilmesine rağmen, kanser tedavisi hala güçlkle yürütülen, çoğunlukla yetersiz kalan oldukça pahalı bir tedavi sürecine sahiptir [10]. Kanser kemoterapisinde amaç, ilaç etkisiyle tümör büyümesini yavaşlatmak veya engellemek, hızlı gelişen tümörlerde hedeften farklı doku ve organlarda birincil tümörden kaynaklı yeni tümörlerin gelişimini yani metastazı engellemek, hatta cerrahi müdahaleye gerek kalmadan hedef tümörün tümüyle ortadan kaldırılmasını sağlamaktır [11].

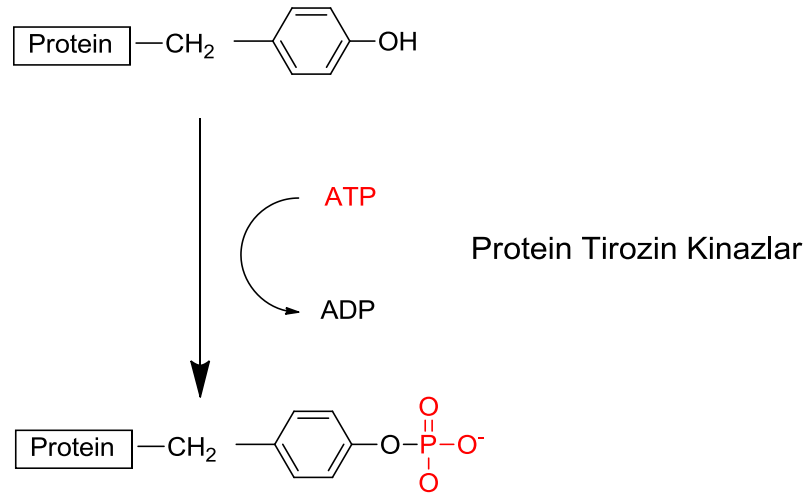
Tirozin kinaz inhibitörleri ile tedavi, son yıllarda kanser biyolojisinin daha iyi anlaşılmasıyla kanser tedavisinde yeni ve umut verici bir yaklaşım haline gelen hedefli tedavi yöntemlerindedir [12].

Tirozin kinazların kanser oluşum ve gelişimindeki rolünün anlaşılması, tirozin kinaz inhibitörlerinin kanser kemoterapisinde potansiyel hedef olarak seçilebileceklerini gündeme getirmiştir. Vasküler endotel büyüme faktörü (vascular endothelial growth factor, VEGF), fibroblast büyüme faktörü (fibroblast growth factor, FGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (platelet-derived growth factor, PDGF), epidermal büyüme faktörü (epidermal growth factor, EGF) gibi reseptör tirozin kinazlar ve non-reseptör tirozin kinaz olan pp60c-Src (transformasyon yapan rous sarkoma virüs geninin memeli normal hücrelerinde yapısal benzerlik gösteren genin ürünü) ailesi (Fyn, Yes, Yrk, Lyn, Lck, Hck, Fgr ve Blk) bulunmuş, yapıları ve kanser oluşumu üzerine olan aktiviteleri incelenmiştir [13].

Tirozin kinazların kanser oluşumundaki rolünün anlaşılması, antikanser ilaç geliştirme çalışmalarının tirozin kinazlar üzerine yoğunlaşmasını sağlamıştır. Tirozin kinazlar farmakolojik olarak çeşitli mekanizmalarla inhibe edilebilir [14].

1.2.2. Protein kinazlar

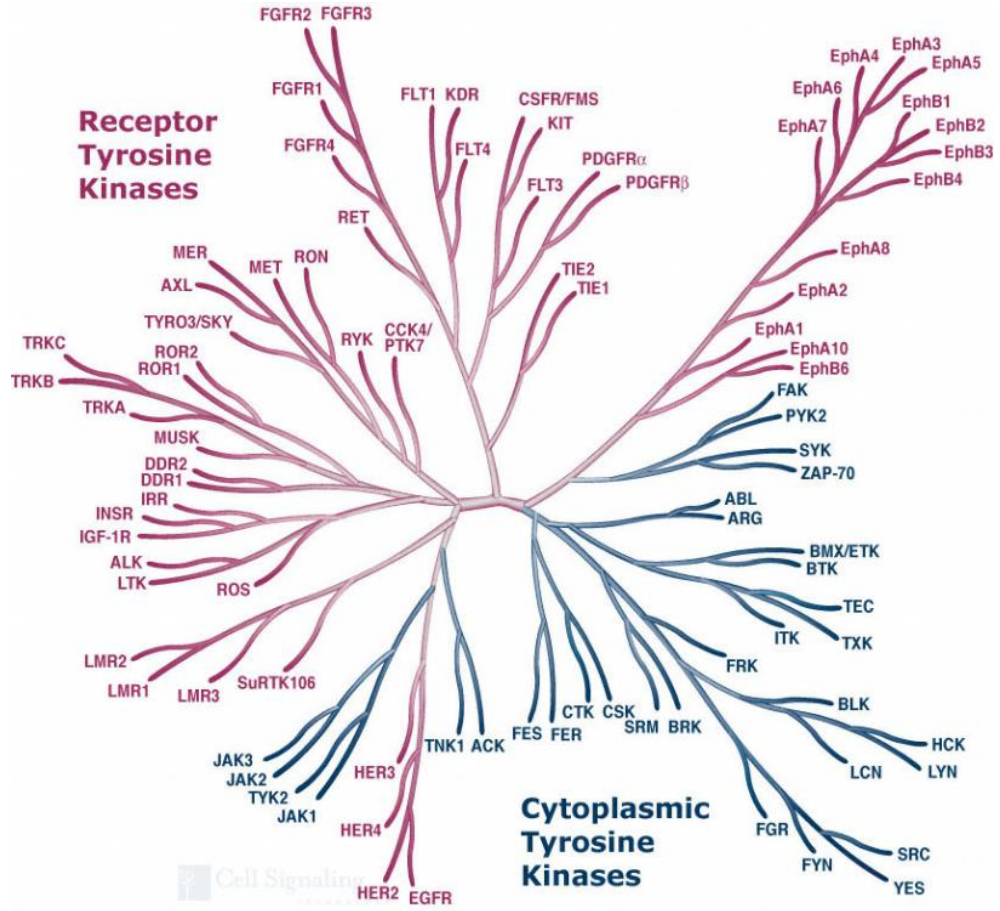
İnsan Genom Projesi'nin verilerine göre, insan genomundaki yaklaşık 32.000 genin %20'si sinyal iletiminde görev alan proteinleri kodlamaktadır [15]. Bu proteinler arasında hücre membranında yerleşen reseptörler, G-proteinler ve sinyal ileten enzimler yer almaktadır. Protein kinazlar, sinyal iletimi sırasında protein fosforilasyonunu/aktivasyonunu sağlarlar [16].



Şekil 1.7 Protein yapısındaki tirozinlerin protein tirozin kinazlar tarafından fosforilasyonu

Protein kinazlar

- membran yerleşimli olanlar (*reseptör tirozin kinazlar*)
- ve sitoplazmik tirozin kinazlar(*non-reseptör tirozin kinazlar*) olarak iki ana gruba ayrılır.



Şekil 1.8 Tirozin kinaz enzim ailesi

Bu proteinler, katalitik özelliklerine göre (fosforilasyona uğrayan aminoasit türü) tirozin ve serin/treonin kinazlar olarak da sınıflandırılırlar [17,18]. İnsan genomunda tanımlanmış 90 tirozin kinazın 58'i reseptör tirozin kinazlara, 32'si ise non-reseptör tirozin kinazlara aittir [19].

1.2.2.1. Reseptör Tirozin Kinazlar

RTK'lar hücre zarına yerleşik proteinlerdir. Reseptör tirozin kinazlar (RTK), hücre dışı sinyalleri hücre içine ileten ve hücrel farklılaşma ve çoğalmada etkin sinyal iletim ağında rolü olan temel arabulucu proteinlerdir[14]. Tanımlanmış 58 RTK, kendi içinde 20 alt gruba ayrılmıştır [19].

Bu reseptörler arasında

- *insülin reseptörü,*
- *büyüme faktörleri (EGF, VEGF, PDGF, FGF, NGF) reseptörleri*
- *ve efrin reseptörleri (EphA, EphB) yer almaktadır [18].*

Vasküler Endotel Büyüme Faktör (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) Reseptör Tirozin Kinazlar , fizyolojik ve patolojik anjiyogenezisi düzenleyen regülatörlerden biridir [20]. VEGF'lerin spesifik reseptörlerine bağlanmasıyla, VEGF reseptör tirozin kinazların intraselüler tirozin kinaz bölgesinin otofosforilasyonu ve aktivasyonu gerçekleşir. Böylece hücre içi sinyal iletim yolağı tetiklenmiş olur [21].

Epidermal Büyüme Faktörü (Epidermal Growth Factor, EGF) Reseptör Tirozin Kinazlar EGFR tirozin kinazlar bulunan ilk reseptör tirozin kinazlardır. Epidermal büyüme faktörü (EGF) tarafından uyarılırlar. EGF polipeptid yapılıdır ve birçok dokuda bulunur. Anjiyogenezi uyaran faktörler arasındadır [22]. EGF reseptör sinyal iletim yolları, tümör hücre motilitesi, işgali, metastazı ve apoptozisin (programlı hücre ölümü) inhibisyonu gibi çeşitli neoplastik oluşumların düzenlenmesinde rol almaktadır. EGFR aracılığıyla gerçekleşen sinyal iletiminin düzensizleşmesi göğüs, akciğer, over ve böbrek tümörlerine neden olmaktadır [21].

Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (Platelet-Derived Growth Factor, PDGF) Reseptör Tirozin Kinazlar, trombositlerin alfa granülleri içinde bulunur [22]. PDGF reseptörünün ve olmak üzere tanımlanmış iki tipi vardır [23]. Bu reseptörlerin aktivasyonu hücre büyümesi, çoğalması, farklılaşması gibi hücre fonksiyonları düzenler. PDGF reseptörünün her iki tipinin katı tümörlerde aşırı salındığı görülmüştür [21].

1.2.2.2. Non-Reseptör Tirozin Kinazlar

İnsan genomunda tanımlanmış 32 non-reseptör tirozin kinaz vardır ve yapısal farklılıklarına göre kendi içinde 10 alt gruba ayrılmıştır [25]. Bunlar arasında c-Src, Abl, (Abelson tirozin kinaz), FAK (fokal adezyon kinaz) ve JAK (Janus Family Kinases) proteinleri yer almaktadır [15].

Nonreseptör tirozin kinazlar genel olarak SH-2, SH-3 ve tirozin kinaz bölgelerinden oluşmaktadır. SH-2 ve SH-3 bölgeleri protein-protein etkileşmelerinden sorumludur. Tirozin kinaz bölgesi ise aktivasyondan sorumlu bölgedir [22].

İstirahat halindeki hücrelerde bu proteinler sitoplazmada inaktif halde bulunurlar. Büyüme faktörleri veya sitokinler ile hücrenin uyarılmasından sonra aktif hale gelen bu proteinler, sitoplazmadaki veya nükleustaki hedeflerine yönelirler. Sitoplazmik tirozin kinazların sürekli aktivasyonu ve onkojenik sinyal iletimi, transformasyon, tümör büyümesi, motilite ve invazyon artışı ile anjiyogenez gibi malign fenotipe özgü hücresel olayları hızlandırır [26,27].

1.2.2.2.1. Src Non-Reseptör Tirozin Kinaz

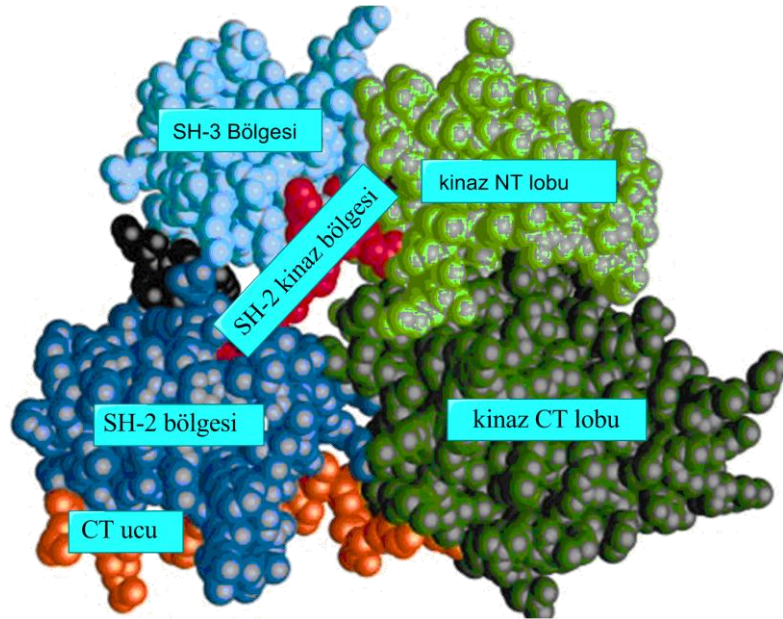
Src, karakterize edilen ilk tirozin kinazdır. 1970'lerin sonunda transformasyon yapan Rous sarkoma virüs geninin (v-src) ürünü olan pp60v-Src tanımlanmıştır [28].

Src enzim ailesi, plazma zarı, perinükleer zar, endozomal membran gibi hücresel membranlarda ve sitoplazmada bulunur. Src enzim ailesinin c-Src, Fyn, Yes, Yrk, Lyn, Lck, Hck, Fgr ve Blk olmak üzere 9 üyesi vardır. Lyn, Lck, Hck, Fgr ve Blk kan hücrelerinde bulunurken, c-Src, Fyn, Yes ve Yrk vasküler endotel hücreler gibi birçok hücre tipinde yaygın olarak bulunur. Src ailesi kinazlar (Src family kinase, SFK), hücre büyümesi, farklılaşması, kanser oluşumu ve immün hücre fonksiyonu gibi çeşitli düzenlemelerde rol oynarlar. Src tirozin kinazların biyolojik

olayları düzenlemedeki bu geniş spektrumlu rolü, bu enzimlerin çok sayıda farklı reseptörleri ve hücrel hedefleri etkileme yeteneğine bağlıdır [29].

Src enzim ailesi yapısal olarak 52-62 kDa'luk enzimlerdir ve 8 farklı fonksiyonel bölgeden oluşmaktadır (Şekil 1.9) [30].

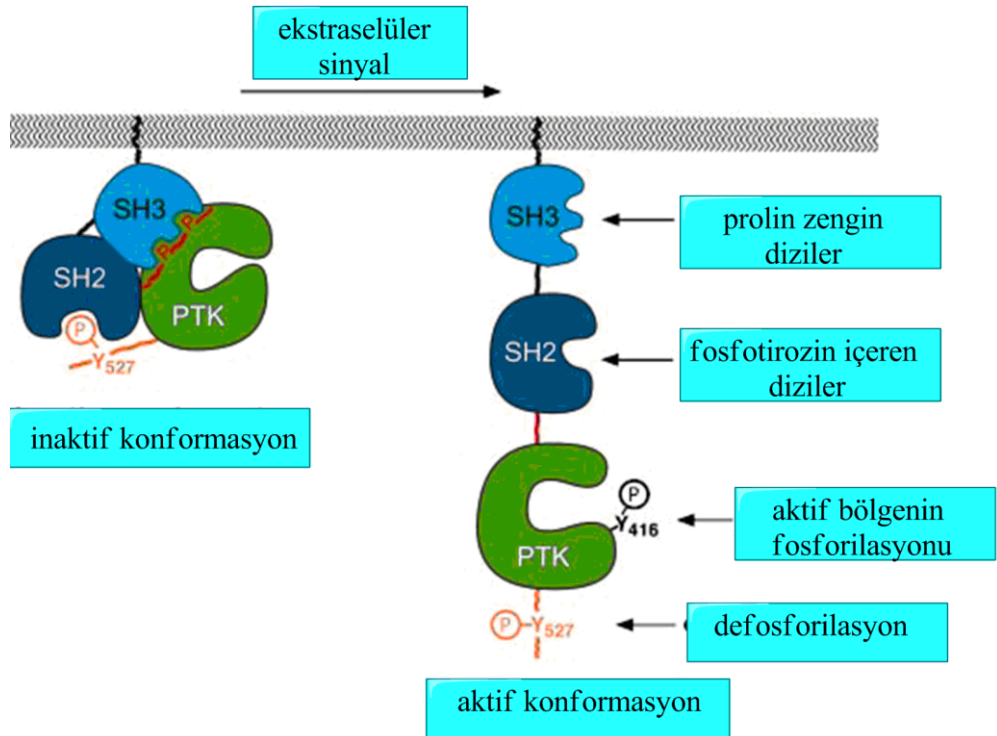
1. Miristolasyon Bölge (yağ asitlerini açılleyen bölge/-NH₂-ucu)
2. Özel Bölge
3. SH-3 Bölgesi (Src homolog bölge-3)
4. SH-3-SH-2 bağlayıcı
5. SH-2 Bölgesi (Src homolog bölge-2)
6. SH-2 Kinaz Bölgesi (PPII bağlayıcısı/polipirolin tip II)
7. Kinaz Bölgesi (SH-1 bölgesi)
8. Düzenleyici bölge (C-terminal ucu)



Şekil 1.9.. Src non-reseptör tirozin kinaz'ın üç boyutlu yapısı [82]

Src tirozin kinazlar inaktif halden aktif hale fosforilasyon durumlarını kontrol ederek geçebilirler. Src tirozin kinazlar inaktif haldeyken, fosfotirozin 527 (pY527) SH-2 bölgesine ve SH-2 kinaz bölgesi (PPII) de SH-3 bölgesine bağlanmış durumdadır (Şekil 1.10) [31].

Bu iki intramoleküler etkileşimden birinin veya her ikisinin bozulması Src tirozin kinaz aktivasyonunu sağlamaktadır (Şekil 1.12).



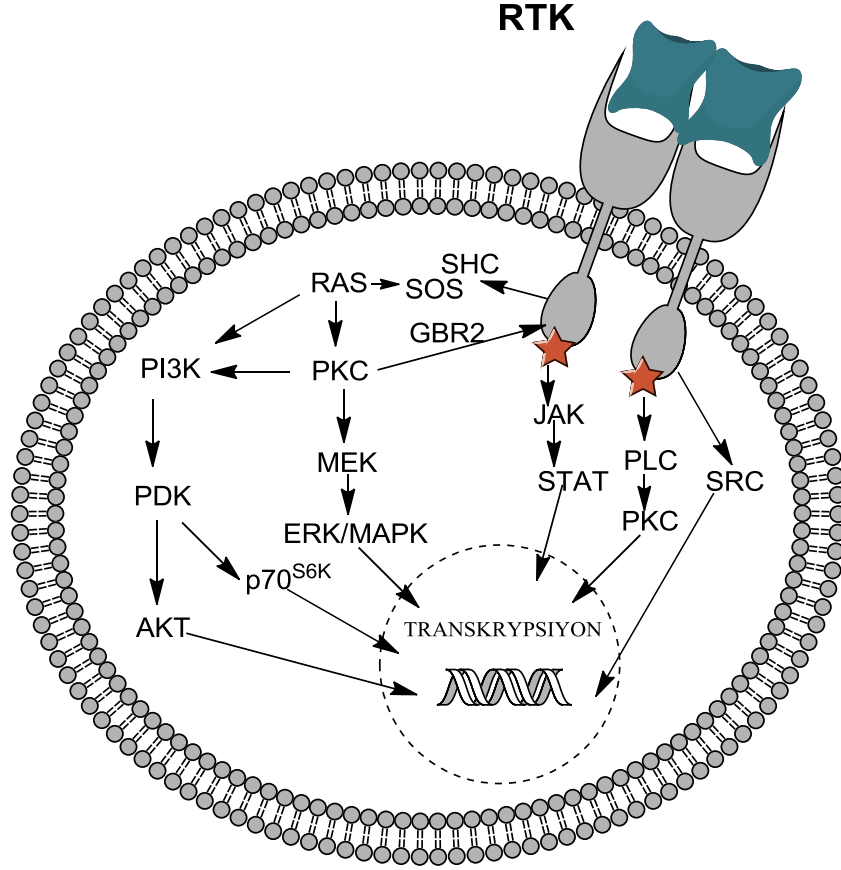
Şekil 1.10 Src non-reseptör tirozin kinazların aktivasyonu [82].

1.2.3. Tirozin Kinazlar ve Sinyal İletim Yolu

Tirozin Kinazların aktivasyonu beraberinde birçok sitoplazmik sinyal iletim yolağını da aktif hale getirir. Bu yollardaki hücre içi mediyatörler aracılığıyla, sinyaller membran reseptörlerden sitoplazmaya oradan da çekirdeğe kadar taşınır.

Sonuçta, hücre büyümesi, farklılaşması ve ölümü gibi çeşitli biyolojik işlemler için gerekli olan DNA sentezi gerçekleşir [22].

Reseptör tirozin kinaz sinyal iletim yollarından en önemlisi Ras-Mitojen aktive edici protein kinaz (Ras-Mitogen Activated Protein Kinase, Ras-MAPK) yoludur (Şekil 1.11). Bu yol büyüme faktörlerinin reseptörlerini aktive etmesiyle tetiklenir [23]. EGF, PDGF gibi büyüme faktörlerinin reseptör tirozin kinazlara bağlanmasıyla reseptör dimerizasyonu ve ardından sitoplazmik kinaz bölgesinde tirozin fosforilasyonu gerçekleşir. Fosfatlanan sitoplazmik bölgelere büyüme faktörü reseptör bağlayıcı proteini-2 (growth factor receptor binding protein-2, Grb2) adlı protein SH-2 bölgesi aracılığıyla bağlanır. Aktive olan Grb2 proteini diğer bir adaptör protein olan SOS (son of sevenless, ras aktivatörü bir protein) proteininin SH3 bölgesine bağlanır. SOS proteini Ras aktivasyonundan sorumludur. İnaktif Ras-GDP (guanozindifosfat)'den aktif Ras-GTP (guanozintrifosfat) oluşumunu sağlar [33]. Aktive olan Ras proteinleri Raf kinazlara yüksek afinite ile bağlanarak, Raf kinazların membran yerleşimini ve aktivasyonunu sağlarlar. Raf kinazlar da mitojenlerin aktive ettiği hücre dışı sinyal düzenleyen kinaz (mitogen-activated extracellular signal regulated protein kinase, MEK) ve hücre dışı sinyal düzenleyen kinaz (extracellular signal regulated protein kinase, ERK) yolağını aktive ederler [16]. Aktive olan ERK, mitojenik sinyal üreten çekirdeğe yerleşir. Transkripsiyon faktörlerini fosforilleyerek aktive eder. Böylece hücre bölünme siklusunu başlatmak için gerekli olan genlerin aktivasyonu sağlanmış olur [33].



Şekil 1.11. Sinyal iletim yollarları.

İnsan tümörlerinin % 30'unda Ras/Raf/MEK/ERK yolunun aşırı aktivasyonu söz konusudur. Bu oran tümörlerdeki Ras mutasyonu sıklığı ile uyumludur. Mutant Ras proteinleri aktif Ras-GTP formunda kalırlar. Bu nedenle, hücrenin kontrolsüz uyarılmasından sorumlu oldukları düşünülmektedir [16]. RTK'ların aktive ettikleri diğer bir sinyal iletim yolu ise, fosfoinositid-3-kinaz (PI-3K) yoludur. PI-3K sinyal iletimindeki değişiklikler hücre büyümesi, çoğalması ve farklılaşması gibi birçok hücre fonksiyonlarının da değişmesine neden olur. Akciğer kanserlerinde PI-3K sentezinin aşırı derecede arttığı gözlemlenmiştir. RTK'lar tarafından aktive edilen PI-3K, fosfatidilinozitol-4,5-difosfat'ı (PIP₂) fosforilleyerek fosfatidilinozitol trifosfat (PIP₃) oluşumunu sağlar. PIP₃, PIP₃ bağımlı kinazları (PIP₃-dependent kinase, PDK), p70 ribozomal protein 6 kinazı (p70 ribozomal protein 6 kinase, p70s6k) ve protein kinaz B olarak da bilinen Akt kinazları aktive ederek, sinyali çekirdeğe kadar taşır [23].

RTK'ların aktive ettikleri sinyal iletim yollarında, NRTK'lar da rol almaktadır. Aktive olan RTK'ların sitoplazmik fosfotirozin bölgelerine, Src non reseptör tirozin kinazlar SH-2 bölgeleri aracılığıyla bağlanırlar. Bu şekilde aktif hale geçen Src, hücre içi sinyal iletim ve transkripsiyonunu yapan proteinleri (Signal transducer and activator of transcription, STAT) aktive eder [34]. Aktive olan STAT proteinleri çekirdeğe gelerek, DNA üzerinde hedef genlerin (örn:c-myc) transkripsiyonunu uyarır [16].

1.2.4. Protein Tirozin Kinazların Onkojenik Transformasyonu

Tirozin kinazlar hücrelerin onkojenik transformasyonunda temel rol oynarlar [25]. Protein kinazlar dört mekanizma aracılığıyla onkojenik transformasyona yol açabilir [15]:

1. Protoonkogenin retroviral transdüksiyonu,
2. Genomik rearanjmanlar,
3. "Gain of function (GOF)" mutasyonlar,
4. Protein kinazın aşırı sentezlenmesi.

Retroviral transdüksiyon diğer canlılarda (örneğin; rodentler) karşılaşılan transformasyon yoludur. Genomik rearanjmanlar arasında Philadelphia (Ph) kromozomu önemli bir yer tutar. Bu kromozom t(9;22) (bcrabl) translokasyonu sonucunda oluşur. Sentezlenen p210Bcr-Abl onkojenik füzyon proteini ise sürekli kinaz aktivitesine sahiptir. Bu aktivite hücre çoğalması, apoptozis ve adezyon ile ilgili kontrolsüz sinyal iletimlerine neden olmaktadır [35].

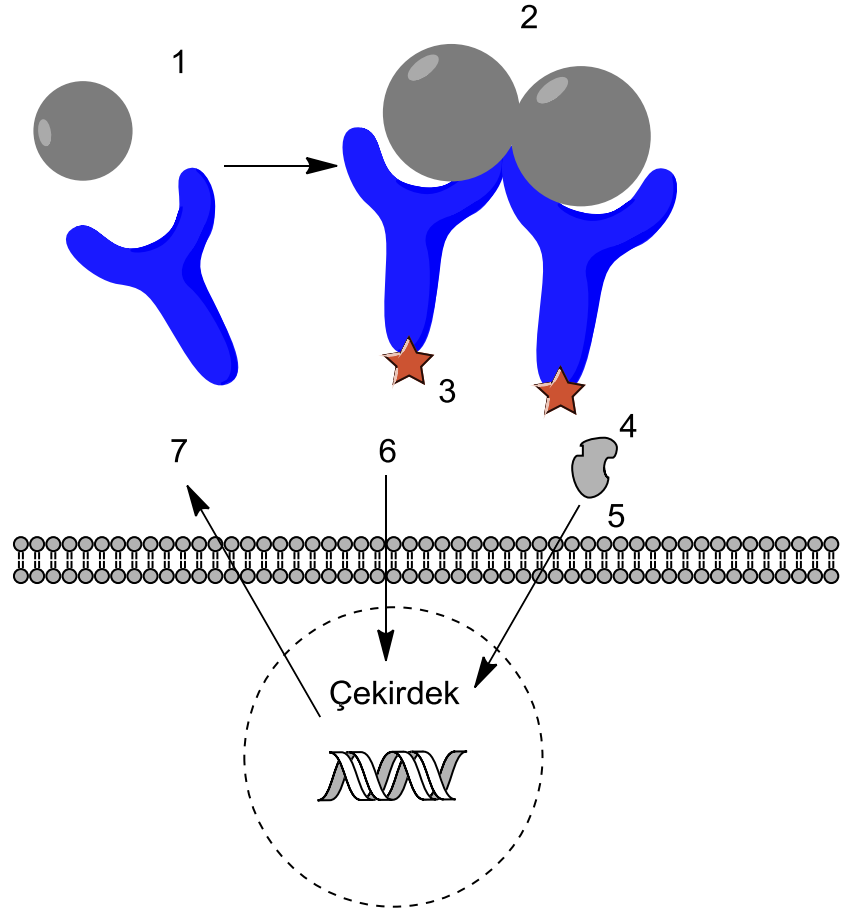
Protein kinazların devamlı aktivasyonuna yol açan GOF mutasyonlara *Src tirozin kinaz* ve *c-kit* örnek verilebilir. *Src tirozin kinaz proteininin* c-ucunda meydana gelen kısalma, proteinin inaktif hale dönmesini önler ve onkojenik potansiyel kazandırır [10]. *c-kit protoonkogeninde* ise, nokta mutasyonu sonrası sürekli kinaz aktivasyonu söz konusudur. İmatinib mesilat, gastrointestinal stromal tümörlerde de c-kit kinaz aktivitesini baskılamaktadır [35].

Tümör hücrelerinde, protein kinaz sentezinin artması da onkojenik transformasyonda etkili olmaktadır. Örneğin; Erb-B reseptör ailesinde yer alan proteinlerin (örneğin; EGFR, HER2) sentezinin artması akciğer kanseri patogenezi doğrudan etkilemektedir [36]. Meme karsinomalarında da HER2/neu sentezi artmaktadır. Son yıllarda ivme kazanan hedeflenmiş tedavi yaklaşımlarında, tümör hücresi büyüme faktörleri reseptörlerini bloke eden monoklonal antikolar (örneğin, Herceptin) veya doğrudan tirozin kinaz aktivitesini inhibe eden ilaçlar (örneğin, Gleevec) ile klinik çalışmalar yürütülmektedir [37].

Sinyal iletiminde yer alan moleküllerin ve sinyal yollarının karsinogenezdeki rollerinin ortaya konması ve bu yollara özgül inhibitör ajanlar ile yapılan klinik çalışmalar, kanser tedavisinde yeni ufukların açılmasını sağlayabilir. Bu yaklaşımların ortak hedefi, en etkin kanser tedavisine ulaşmaktır [16].

1.2.5. Tirozin Kinaz İnhibitörleri

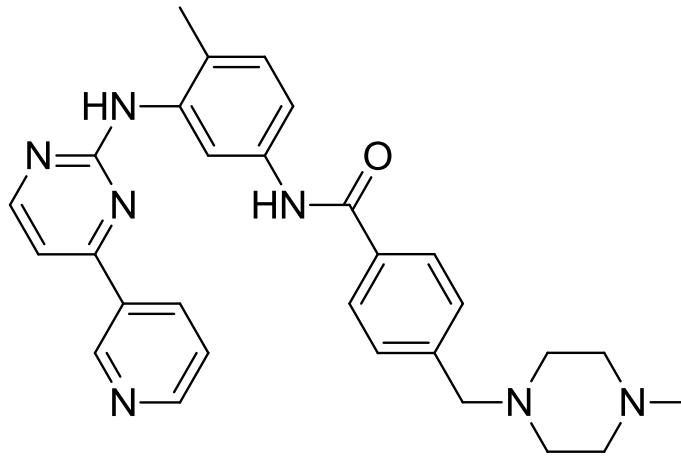
Tirozin kinazların kanser oluşumundaki rolünün anlaşılması, antikanser ilaç geliştirme çalışmalarının tirozin kinazlar üzerine yoğunlaşmasını sağlamıştır. Tirozin kinazlar farmakolojik olarak çeşitli mekanizmalarla inhibe edilebilir. Şekil 1.12'de şematik olarak anlatılan bu mekanizmalar ilaç geliştirme çalışmalarına yön verebilir [14].



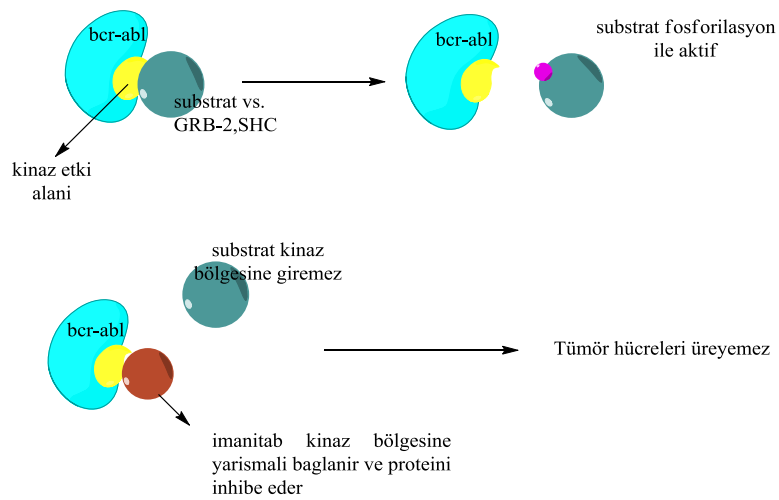
Şekil 1.12. Tirozin kinaz inhibisyon mekanizmaları.

1. Reseptör tirozin kinaz aktivasyonunun ilk basamağı olan ligand-reseptör etkileşmesinin bloke edilmesi
2. Reseptör dimerizasyonunun önlenmesi
3. Kinaz bölgesinin otofosforilasyonunun önlenmesi
4. Adaptör proteinlerin hedef proteinlere bağlanmasının önlenmesi
5. Hücre içi sinyal iletim yollarının inhibisyonu
6. Çekirdeğe giriş ve çekirdek translokasyonunun önlenmesi
7. DNA ve RNA sentezinin önlenmesi

Enzime özgü inhibitörlerin bulunmasıyla hastalık oluşum ve gelişiminden sorumlu hedeflerin direk etkisiz hale getirilmeleri, ya da bu hedeflerin kontrol altına alınmaları mümkündür. Bu konuda yapılmış olan ve başarıyla sonuçlanmış en önemli örnek Bcr-Abl hedefine özgü geliştirilmiş olan imatinib mesilat(STI 571 = Gleevec) molekülüdür ve kronik miyelositer lösemide p210Bcr-Abl onkojenik füzyon proteininin kinaz aktivitesini inhibe etmektedir. [17,38,39,40, 41].

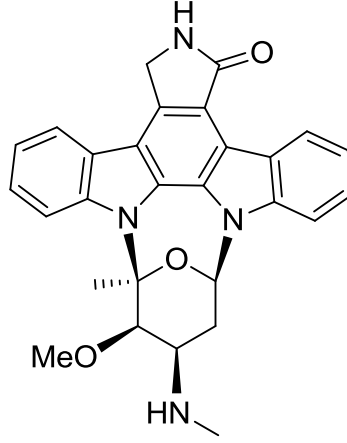


Şekil.1.13.İmatinib mesilat molekül yapısı



Şekil 1.14. Bcr-abl protein trozin kinazın imanitib mesilat ile inhibisyonu

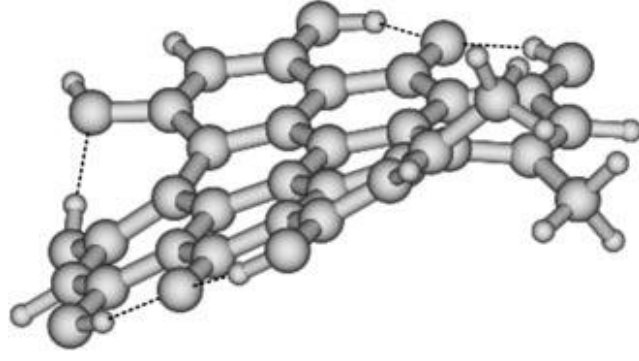
Bugüne kadar yapılmış olan çalışmalarda özellikle enzime ATP bağlanmasını ve enzimin tirozin kinaz aktivitesi gösteren bölgesine substrat bağlanmasını engellemeye yönelik inhibitörler ağırlıklı olarak çalışılmıştır. Bunlar arasında staurosporine analogları, kinaz aktivitesine özgü SU11274, PHA-665752, SGX523 sayılabilir [42,43,44].



Şekil 1.15.Staurosporine

Bu moleküllerden PHA-665752'nin EGFR'zin kinaz inhibitörü olan gefitinib ile kıyaslandığı çalışmada gefitinib'in çok farklı kanser hücrelerinde farklı düzeylerde etkinlik göstermesine rağmen PHA-665752'nin sadece bir gastrik kanser hücre serisine özgü ve bu seride çok hassas inhibisyon yaptığı gösterilmiştir [45,46,47,48] (şekil 1.20). Bu bağlamda PHA-665752 gefitinib'e kıyasla çok daha seçici bir kinaz inhibitörü olarak ortaya çıkmıştır, çünkü inhibisyon yaptığı hücreler Met reseptör tirozin kinaz'ın yüksek miktarda ve stabil üretildiği hücreler olarak belirlenmiştir [45,46,47,48].

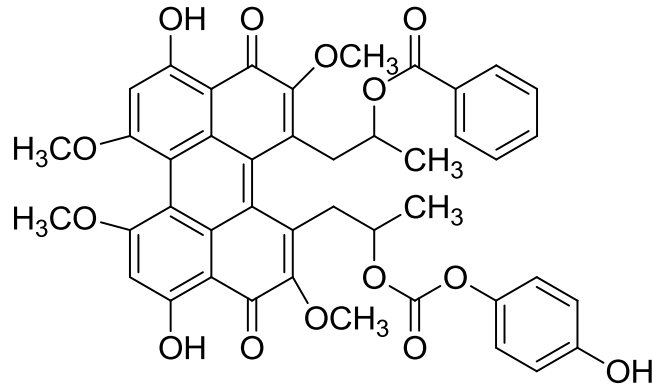
Bir perilen bileşiği olan hiperisin'in (7,14-dione-1,3,4,6,8,13-hexahydroxy 10,11-dimethyl-phenanthrol [1,10,9,8-opgra]Perylene) reseptör tirozin kinazlar üzerine etkisinin olduğunun gösterilmesiyle perilen türevlerinin bugüne dek bilinen indol türevlerine ek olarak özel bir kinaz inhibisyonu yapabildiği gösterilmiştir [49].



Şekil 1.16. Hiperisin'in üç boyutlu yapısı [50]

Ancak yapılan çalışmalarda hiperisin'in reseptör protein tirozin kinazlara özgü inhibisyon yaptığı ve reseptörsüz protein tirozin kinazlar üzerine etkili olmadığı gösterilmiştir.

Perilen quinone'un (Calphostin C) Protein Kinaz C (PKC) inhibisyonu yaptığı bilinmekte olup diğer perilen türevlerinin kinazlar üzerine olan etkinlikleri halen çalışılmaktadır.[51].



Şekil 1.17 Calphostin C

1.3 Terapötik Hedef Olarak Glutatyon S-Transferaz

1.3.1 Ksenobiyotikler ve Ksenobiyotik Metabolizması

Ksenobiyotik (Yunanca xenos = yabancı) vücuda yabancı olan bir bileşiktir. Kimyasal karsinojenler, ilaçlar ve çeşitli toksik bileşikler bu grup altında incelenmektedir. Bu bileşiklerin çoğu insan vücudunda metabolize olurlar [52].

Çizelge 1.1 Ksenobiyotiklerin türleri, vücuda giriş yolları ve vücuttaki değişim biçimleri

Ksenobiyotik türleri	Vücuda giriş yolları	Değişim şekilleri
İlaçlar ve kozmetikler	GIS yoluyla (oral)	Spontan değişim
Katkı maddeleri, renklendirici ve tatlandırıcılar	GIS yoluyla İnhalasyon	Değişmeden atılım
İnsektisidler ve fungusid Artıkları	Deriden emilim	Biyotransformasyon
Endüstriyel kimyasallar ve Atıklar	Parenteral enjeksiyon (i.m., i.v., s.c.)	Biyotransformasyon
Bakteriyel ve bitkisel maddeler	GIS yoluyla, deriden emilim, inhalasyon	Biyotransformasyon

Toksik maddelerle mücadelede organizmalar farklı savunma mekanizmaları geliştirmiştir. Bunlar arasında ilaç atılım pompaları, ilaç ayırımları, ve ilaç-hedef bölgelerinin onarımı sayılabilir. Kimyasal savunma sisteminin en hayati rolü detoksifikasyondur ve karaciğer tarafından gerçekleştirilir. Bir diğer detoksifikasyon bölgeleride akciğer, gastrointestinal organlar, böbrek ve deri gibi diğer dokularda bulunurlar [53].

Ksenobiyotiklerin vücuttan atılımları, bu kimyasalların lipofilik yapıdan hidrofilik yapıya dönüştürülmeleri ile ilgili olup bu dönüşüme biyotransformasyon denir. Biyotransformasyon enzimleri ksenobiyotiklerin metabolizmasında önemli rol oynarlar dolayısı ile ya biyolojik olarak aktive ya da inaktive edilirler [53].

Biyotransformasyon enzimlerinin gerçekleştirdiği reaksiyonlar Faz I ve Faz II olmak üzere iki grupta incelenir. Faz I reaksiyonlarında yükseltgenme, indirgeme, ve hidroliz gibi reaksiyonlar gerçekleşir ve substrata aktif gruplar eklenir, faz II konjugasyon reaksiyonlarına substrat hazırlanır. Faz II'de konjugasyon reaksiyonları sulfat, asetat, glukronik asit, glutatyon ve glisin gibi endojen maddeler ile gerçekleşir. Bu yolla ara metabolitlerin hidrofilik özellikleri artırılır ve böbrek veya gastrointestinal sistemden atılımları sağlanır [54].

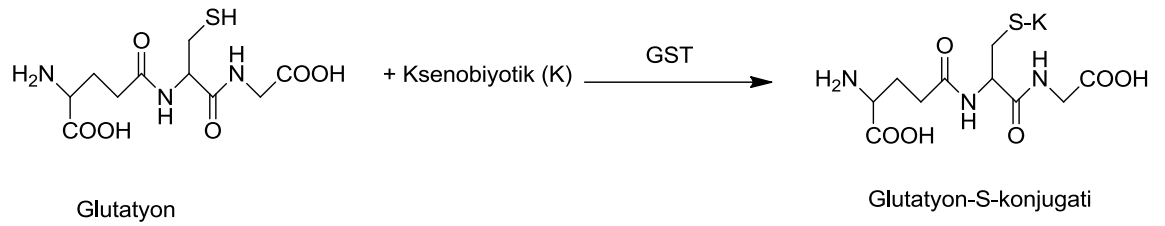
Antikanser ilaçların çoğu sitotoksik etkileri ile malign hücrelerin büyüme ve çoğalmalarını önlerler ve onların ölümüne yol açarlar. Radikal bir tedavi vücutta tek bir malign hücre kalmaksızın tüm hücrelerin yok edilmesi ile mümkündür. Ancak böyle bir durum az sayıdaki istisnalar dışında halen varolan ilaçlarla sağlanamamaktadır. Antineoplastik ilacın terapötik etkinliğini kısıtlayan önemli bir faktör, tümör hücrelerinin ilaca azalmış hassasiyeti, bir başka deyişle ilaca karşı direnç gelişimidir. Bu durum bazı kanser türünde kendiliğinden olabildiği gibi (doğal veya primer rezistans), kemoterapiden sonra da gelişebilir (kazanılmış veya sekonder rezistans) [9].

Son zamanlarda ilaç rezistansı mekanizmaları üzerindeki çalışmalar oldukça yoğunluk kazanmış ve kanser hücrelerinin kemorezistansında çeşitli faktörlerin rol oynadığı saptanmıştır. Bunlar arasında glutatyon S-transferazlar (GST) ler önemli faktörlerden birisidir [55].

1.3.2 Glutatyon-S-transferazlar

Glutatyon ile ksenobiyotiklerin reaksiyonlarını katalizleyen enzimlere "glutatyon- S-transferazlar", kısaca "GST" denir [56]. Glutatyon-s-transferazlar elektrofilik ksenobiyotikleri inaktive ederek vücuttan atılmak üzere konjugasyonunu

sağlayan dimerik enzimlerdir. GST, elektrofilik merkez içeren bileşiklerle GSH'ü bağlama kabiliyetindedir. Konjugasyon reaksiyonu için gerekli elektrofilik fonksiyonel grupta bir C, bir N veya bir S atomu yer almalıdır. GST aynı zamanda pestisidlerin, çevresel kirleticilerin, oksidatif stres ürünlerinin, kemoterapide kullanılan ilaçların detoksifikasyonunda yer alır. GSH ve elektrofiller arasında bir bağ oluşumu ana bileşikten daha az reaktif bir konjugat oluşturur ve böylece detoksifikasyon gerçekleşir [52].



Şekil 1.18. Glutatyonun (γ -L-Glutamil-L-Sisteinil-Glisin, GSH) ksenobiyotiklere glutatyon transferaz (GST) katalizli reaksiyonu

GST'ler ilk olarak sıçan dokularında gösterilmiştir [57]. Pek çok GST izozimleri geniş substrat sipesifitesi gösterirler ve substrat olmayan ilaçların ve hormonların vücuttan atılması gibi birçok katalitik aktiviteleri olması açısından da oldukça nadirdirler [58]. GST'ler peroksidaz ve izomeraz olarak da görev yapar ve kovalent olan ya da olmayan bağlarla çok geniş spektrumlu kimyasallara bağlanırlar [59].

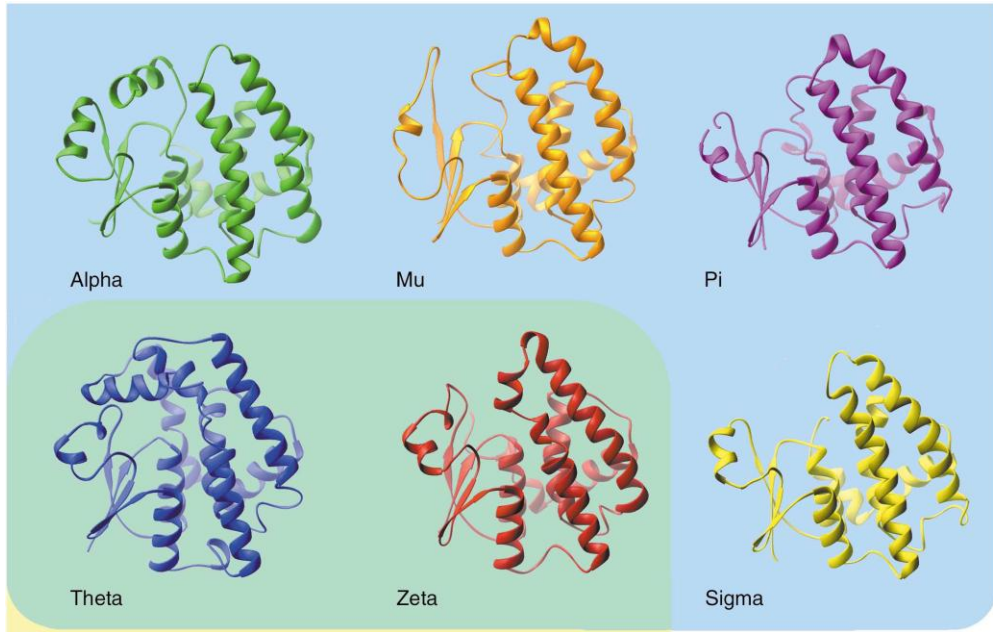
Omurgalılardaki sitozolik GST'ler iki alt birime (subunit) sahiptirler ve homo ya da heterodimer olarak bulunurlar. GST'lerin subunitleri 21000 – 29000 Da arasında değişir fakat amino asit dizilişleri gerçek molekül ağırlıklarının 25000 Da civarında olduğunu göstermiştir [60].

Bu enzimin hücredeki görevleri şu şekilde özetlenebilir:

- ksenobiotikler ve belirli endojen bileşikleri içeren elektrofillerin glutasyon ile kovalent bağlanmasını sağlayarak detoksifikasyona yardımcı olma,
- prostoglandinlerin izomerizasyonu, Hem ve bilirubin gibi substrat ligandların glutatyona bağlanması
- çeşitli antikanser ilaçlar ,hormon ve hidrokarbonlar bu enzim tarafından glutatyona bağlanarak suda daha çok çözünür hale getirilerek idrar ve safrayla atılımı kolaylaştırılır [61]

1.3.2.1 GST'lerin Adlandırılması ve Sınıflandırılması:

GST'lerin gen ifadesinin memeli karaciğerinde hayli yüksek olduğu ve ilgili dokudaki sentezlenen çözünür (aköz, solubl) proteinlerin tamamının yüzde dördünü oluşturduğu tespit edilmiştir. Aköz GST'ler bu güne kadar substrat spesifisitesi, kimyasal afinitesi, yapısal özellikleri, amino asit dizilimi ve kinetik özelliklere dayanılarak yapılan sınıflandırmaya göre alfa , mu, pi [62], sigma, kappa, zeta ve teta [63,64], olarak yedi farklı grupta toplanmıştır.



Şekil 1.19. Memeli karaciğerindeki GST yapılar: alfa, mu, pi,teta, zeta, sigma [65]

1.3.3 Glutatyon-S-transferazlar ve Sinyal İletimi

GST izozimlerinden GSTP1-1'in çok farklı insan kaynaklı tümörde (akciğer, kolon, böbrek, over, ösefagus ve mide) fazla miktarda salgılandığı bildirilmiştir [66, 67,68]. Artmış GSH/GST seviyelerinin kemoterapi tedavisinde bu sistemle metabolize olan pek çok ilacın (adriamisin, klorambusil, melfalan ve diğer nitrojen mustard vs.) metabolizmasını hızlandırarak; ilaçla hedeflenen etkiye ulaşılamamasına, bir başka deyişle ilaca kazanılmış direnç gelişimine sebep olduğu gösterilmiştir [69,70]. Bu bilgilere ilave olarak son yıllarda yapılan çalışmalar, π ve μ sınıf GST'ların, hücresel yaşam ve ölüm sinyal iletimine katılan, mitojen ile aktive edilmiş protein kinaz (mitogen-activated protein kinase-MAP kinase) yolağındaki düzenleyici rolünün de kemoterapötik ilaçlara direnç gelişmesinde etkili olduğunu göstermiştir [71,72].

1.3.4 Glutatyon-S-transferaz İnhibitörleri

GSTP'nin MAP kinazlardan biri olan ve istemli hücre ölümü yolağında anahtar enzim olan JNK ile (c-Jun N-terminal kinase 1) JNK-GSTP kompleksi oluşturarak JNK1'i inhibe ettiği ve böylece nihai etkisi istemli hücre ölümü olan JNK'nın etkisini ortadan kaldırdığı bildirilmiştir [71,72]. Pekçok antikanser bileşik, MAP-kinaz yolaklarını, özellikle JNK ve p38 yolaklarını, aktive ederek istemli hücre ölümüne sebep olmaktadır [73,74].

Bu nedenle kemoterapide, geleneksel elektrofilik kanser ilaçlarının (alkilleyici bileşiklerin) etkinliğinin düzenlenmesinde, GST inhibitörlerinin kullanımının faydalı olabileceği düşüncesi doğmuştur. Bu amaçla bu sistemi hedef alan çeşitli bileşikler geliştirilmiş ve hem deneysel olarak hem de klinikte denenmiştir [72, 75, 76].

GST'lerin tümör tedavisinde kullanılan alternatif yöntem "fotodinamik terapi (PDT)"nin etkinliğinin belirlenmesinde etkili olabileceği belirtilmektedir. Fotodinamik terapi (PDT), ışığa duyarlı bir maddenin tümör dokusunda veya damarsal yapılarında birikmesi, ışığa bağımlı olarak, doku hedefli oksidatif stres

oluşturması esasına dayanmaktadır. Işıkla aktive olan duyarlılık arttırıcı maddeler singlet oksijen, OH radikali ve süperoksit anyonu gibi reaktif oksijen bileşenlerinin (ROS) oluşumuna yol açarak nekroz veya apoptozla tümör hücrelerinin ölümünü sağlamaktadır [77,78]. GST'lerin oksidatif strese karşı düzenleyici etkisi bu tedavinin etkinliğini belirlemede önemli bir gösterge olabilir [79].

Bir perilen bileşiği olan hiperisin fotodinamik terapi (PDT)'de tümör hücrelerinin ışığa duyarlılığını arttırıcı olarak önerilmektedir. GST'lerin de hiperisin gibi prooksidan boyalar olan porfirin, aromatik boyalar ve ışığa duyarlılığı arttıran maddelerle bağlanma özelliğinin olduğu belirtilmektedir [79]. Tümör dokularında başta GSTP1 izoenzimi olmak üzere GST'lerin üretimini arttığı belirlenmiştir. Hiperisinin GST'ye bağlanması GST'nin katalitik aktivitesinde inhibisyona neden olmaktadır [80,81].

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 MATERYALLER

2.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

2.1.1.1 Maddelerin Sentezinde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneyisel çalışmalarda kullanılan 1,7-dibromo-3,4:9,10 perilentetrakarboksilik asid dianhidrit, sıvı Br₂, sikloheksilamin Sigma-Aldrich Co. LLC'den, H₂SO₄, %95-97, I₂, NMP, CH₃COOH, %100 Morfolin, C₄H₉NO silikajel 60 (0,040-0,063mm), silikajel 60 HF₂₅₄, Merck Chemicals'dan, %99,5 metilalkol, CH₂CL₂, %99,5 CHCL₃, Tekkim Kimya San. ve Tic.Ltd. Şti.'den sağlandı.

2.1.1.2 Aktivite Ölçüm Ve Tayin Aşamasında Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneyisel çalışmalarda kullanılan indirgenmiş glutatyon, etilendiamintetraasetik asit, bovine serum albümin, sodyum dodesil sülfat, 1-kloro-2,4-dinitrobenzen, Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, USA'den satın alınmıştır. The ProFluor(R) Src-Family Kinase Assay reaksiyon sistemi ve src enzimi Promega corporation, Wisconsin USA'den satın alınmıştır.

2.1.2. Kullanılan Alet Ve Cihazlar

2.1.2.1 Sentez Aşamasında Kullanılan Alet ve Cihazlar

Bu çalışmada aşağıdaki alet ve cihazlardan yararlanılmıştır.

Buchi Rotavapor R-200 (Evaporatör)
Buchi Heating Bath B-490 (Isıtma banyosu)
Wisetherm Heating Mantle (Isıtıcı manto)
Heidolph MR-3001K (Manyetik karıştırıcı)
DragonLab MS-H-S (Manyetik karıştırıcı)
Rocker 300 (Vakum pompası)

Siemens KD40NV-03-NE (Buzdolabı)

Mettler Toledo XS6 (Hassas Terazi)

UVGL-58 Handheld UV Lamp (Uv El Lambası)

T80 UV/VIS Spectrometer PG Instruments Ltd. (UV Spektrometresi)

LC-MS Q-TOF Agilent 6500 (Kütle Spektrometresi)

Bruker Instruments Avance Series-Spectrospin DPX-400 Ultra shield (400 MHz)

High Performance Digital NMR Spektrometer (NMR Spektrometresi)

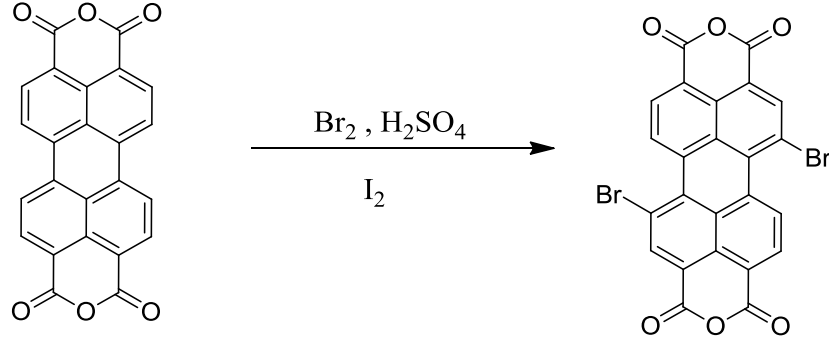
2.1.2.2 Aktivite Ölçüm Ve Tayin Aşamasında Kullanılan Alet ve Cihazlar

SpectraMax M2e Multi-Mode Microplate Reader (Spektrofotometrik Ve Floresan Ölçümler)

2.2. Deneysel çalışmalar

2.2.1. 1,7-dibromo-3,4:9,10-perilentetrakarboksilikasit dianhidrit Sentezi

(FA1)



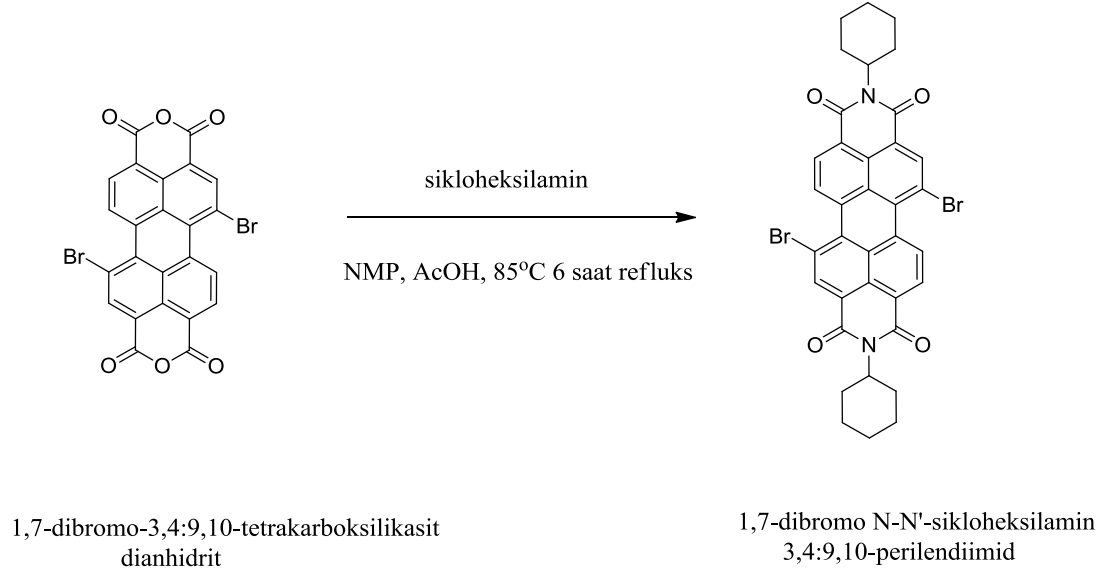
Perilen-3,4:9,10-tetrakarboksilikasit
dianhidrit

1,7-dibromo-3,4:9,10-tetrakarboksilikasit
dianhidrit

Şekil 2.1 FA1 sentezi

1,47 g ($3,74 \times 10^{-3}$ mol) 3,4:9,10-perilentetrakarboksilik asit dianhidrit 12,01 ml H₂SO₄ ve 0,032 g ($5,73 \times 10^{-4}$ mol) I₂ 24 saat boyunca basınç tüpünde karıştırıldı. 30 dakika 85°C’de ısıtıldı ve oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra 7 ml Br₂ eklenerek 24 saat boyunca karıştırıldı. Karışım 85°C’ye kadar ısıtıldı ve 5 ml Br₂ eklenerek 24 saat boyunca karıştırıldı. H₂SO₄ konsantrasyonu düşürmek için 1,67 ml saf su 200 µl halinde yaklaşık 7 dakika aralıklarla eklendi. Oda sıcaklığına gelen karışım 15 ml %86’lık H₂O- H₂SO₄ karışımı ile filtrel cam hunide yıkandı. Daha sonra çökelti 25 ml saf su içinde konarak 30 dakika karıştırıldı ve filtre kâğıdından geçirilerek kurutuldu.

2.2.2. 1,7-dibromo N-N'-sikloheksilamin 3,4:9,10-perilendiimid Sentezi (FA2)

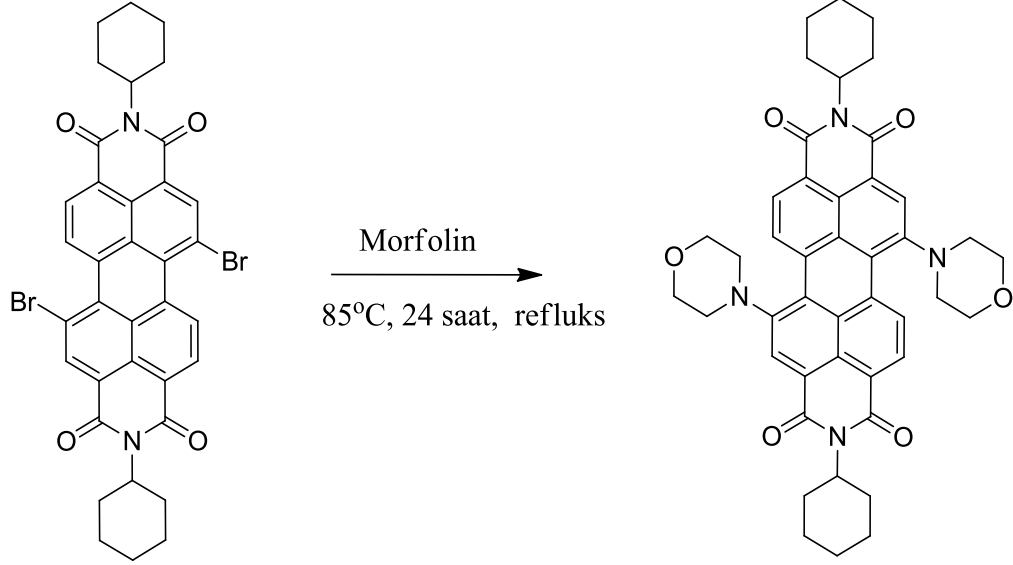


Şekil 2.2 FA2 sentezi

1,1514g (0,0021 mol) 1,7-dibromo 3-4:9,10-tetrakarboxilik asit dianhidrit 20 ml NMP (N-metil pyrolidin) ile karıştırılarak 1,5 ml CH₃COOH (asetikasit) eklendi. Daha sonra 0,479 ml (0,0042 mol) sikloheksilamin karışıma eklendi ve bir süre karıştırıldı. Reaksiyon karışımı 85°C ısıtılarak 6 saat refluks yapıldı. Sonra çöken kısım filtre yapılarak alınarak 25 ml metilalkol ile yıkandı. Sonuçta elde edilen portakal renkli madde vakumda kurutuldu. Elde edilen madde diklorometan çözeltisinde kolon kromatografisi yöntemiyle saflaştırılarak 1,7-dibromo N-N'-sikloheksilamin 3,4:9,10-perilendiimid (A.Bahm, H.Arms, G.Henning and P.Blaschka, US Pat. 6 184, 378, 2001) elde edildi.

2.2.3. 1,7-dimorfolin-N-N'-sikloheksilamin 3,4:9,10-perilendiimid

Sentezi (FA3)



1,7-dibromo N-N'-sikloheksilamin
3,4:9,10-perilendiimid

1,7-dimorfolin N-N'-sikloheksilamin
3,4:9,10-perilendiimid

Şekil 2.3 FA3 sentezi

60 mg 1,7-dibromo N-N'-sikloheksilamin 3,4:9,10-perilendiimid ile 20 ml morfolin 1 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Daha sonra yağ banyosunda 85°C'de 24 saat reflüks yapıldı. Reaksiyonun tamamlandığı %5'lik kloroform/metanol çözücü sistemiyle TLC yapılarak kontrol edildi. Oluşan ürün reaksiyona girmeyen morfolinin vakum yardımıyla uzaklaştırılmasıyla elde edildi.

Elde edilen yeşil renkli katı madde %3'lük kloroform/metanol çözücü sistemiyle kolon kromatografisiyle saflaştırıldı. Kolon kromatografisiyle ayrılmayan safsızlıklar aynı çözücü sistemiyle preparatif TLC yapılarak uzaklaştırıldı.

Saf madde kurutulduktan sonra CDCl₃ içinde NMR analizleri yapıldı. Kütle spektrumu alındı.

(1) ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃), δ[ppm], 1.5-1.9(m, 20 H, -CH₂), 2.6(m, 4H, N-CH₂), 3.05(t, 4H, N-CH₂), 3.35(m, 8H, -CH₂), 3.9(m, 8H, -CH₂), 5(t, 2H, -N-C=O), 8.3(s, 2H, -CH-arom), 8.35(d, *J*=8.24 Hz, 2H, -CH-arom), 9.65(d, *J*=8.24Hz, 2H, -CH-arom). [Şekil5.1]

(2) ¹³C-NMR (100MHz, CDCl₃),δ[ppm], 26.54, 29.05, 51.42, 53.82, 122.01, 122.71, 122.92, 123.75, 124.71, 128.19, 134.56, 149.81, 163.31.
[Şekil.5.2]

(3) ESI-MS (m/z) 724.780 [Şekil.5.3]

2.2.4 c-Src Enzim Aktivitesinin Tayini

Src kinaz enzim aktivitesi “Promega profluor Src assay” kiti kullanılarak standardize edilmiş olan rhodamine (R110) bağlı peptidlerin Src kinaz tarafından fosfatlanmasını takiben oluşan fosfoürünlerin bağlı oldukları florojenik rodamin yapılarından bir proteaz enzimince koparılmaları sonucu oluşan ışımının takibiyle gerçekleştirilmiştir.

Bu metotta enzim kontrol grubu olarak sadece DMSO ile etkileşirken test edilecek moleküllerin farklı dozları aynı şartlar altında enzim-substrat (R110-peptid) ve proteaz varlığında kademeli olarak reaksiyona sokulmuştur. Analiz süreci için gerekli reaksiyon süreleri farklı test bileşikleri için ayrı ayrı belirlenmiş olup ortalama her aşama için 45 dakika ile 1 saat arasında değişim göstermiştir.

Deney sonucunda kontrol substratı olan peptidsiz bir kumarin türevinin (AMC) ışması takip edilerek test edilen bileşiklerin protokolde kullanılan diğer bir enzim olan Proteaz ile etkileşimi olup olmadığı belirlenmiştir. Deneysel sonuç ise proteazda etki göstermeksizin R110 substratındaki fosforilasyon düzeyine bağlı olarak azalan Floresan ışımının takibiyle elde edilmiştir.

Hesaplamalar Floresan Işımanın doza karşılık çizilen grafiklerinin 4-parametrelili sigmoid doz-cevap eğrisine çevrimi sonucunda;

$$Y = \text{en düşük ışım düzeyi} + \frac{(\text{Enyüksek düzey} - \text{En düşük düzey})}{(1 + 10^{(\log LC50 - x)})}$$

Formülünün her bir data için tek tek uygulanmasıyla elde edilmiştir.

X, konsantrasyon (molarite)'un logaritması, Y ise Doza karşılık cevabı temsil etmektedir.

Hesaplamalar işlem GraphPad Prism4.0 programı kullanılmış olup, ön çalışmalarla çözünürlük, arka plan ışımaları ve benzeri problem yaratacak parametreler nötralize edildikten sonra deneysel ölçümler hem c-Src hem GST enzim aktiviteleri birbirinden bağımsız çift okumalı üç farklı deney olarak gerçekleştirilmiştir.

2.2.5 Glutasyon S-Transferaz Aktivite Ölçümleri

Habig ve arkadaşlarının kullandığı kinetik metodun bazı düzenlemelerle mikropalakaya uyumlu hale getirilerek sığır karaciğer homejenatlarında Glutasyon S-transferaz enziminin GSH (glutasyon) kullanımını 340 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

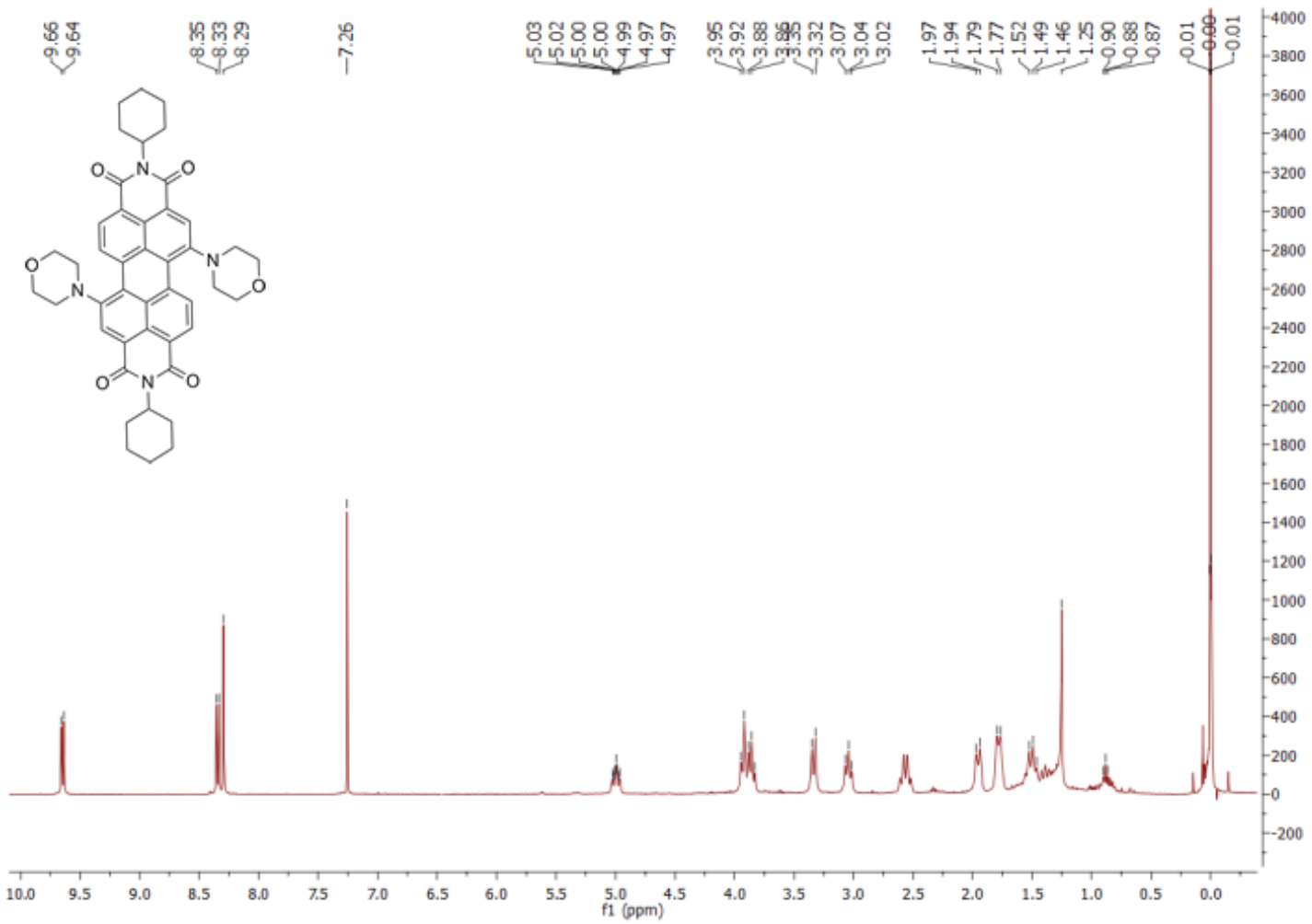
Bu metodda kinetik ölçümler için kullanılan reaksiyon tamponu 100 mM potasyum fosfat (pH 6.5) tamponuna 2.4 mM CDNB (1-klorodinitro benzen) ve 3.2 mM GSH ile hazırlanmış ve reaksiyon 22-25°C aralığında homojenat eklenerek başlatılmıştır. Test edilecek bileşikler DMSO içerisinde çözüldüğünden kontrol olarak ilaç yerine DMSO kullanılmıştır. Reaksiyon kinetiği 340nm'de 240 saniye boyunca takip edilmiştir.

Ölçüm sonuçları Graphpad Prism 4.0 kullanılarak doza karşılık çizilen grafiklerinin 4-parametrelili sigmoid doz-cevap eğrisine çevrimi sonucunda aşağıda belirtildiği gibi hesaplanmıştır.

3. BULGULAR

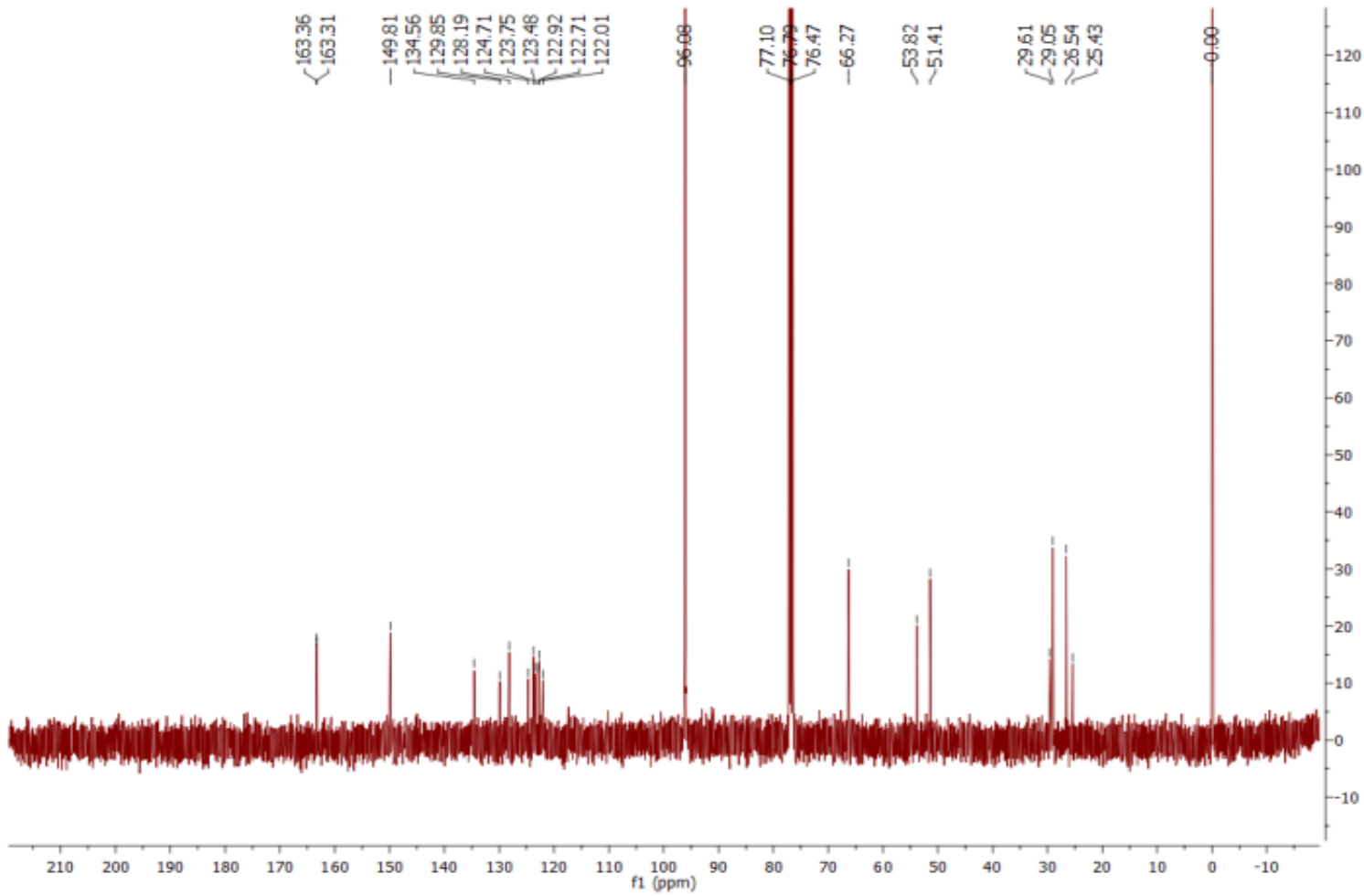
3.1.FA3 Maddesinin Spekturum Verileri

3.1.1.FA3 Maddesinin 1H-NMR Spekturumu Verileri

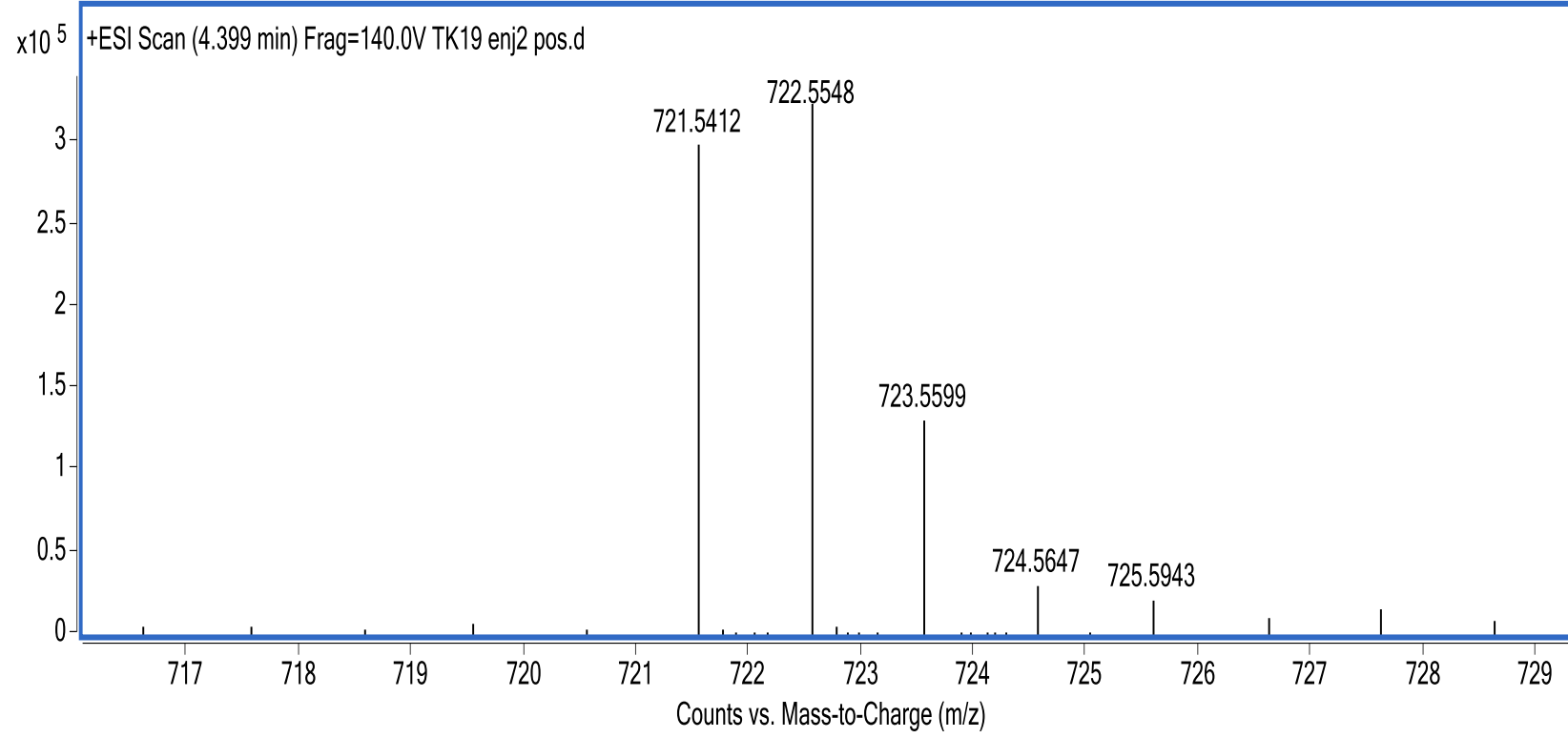


Şekil 3.1 FA3 Maddesinin 1H-NMR Spekturumu

3.1.2.FA3 Maddesinin ¹³C-NMR Spekturum Verileri

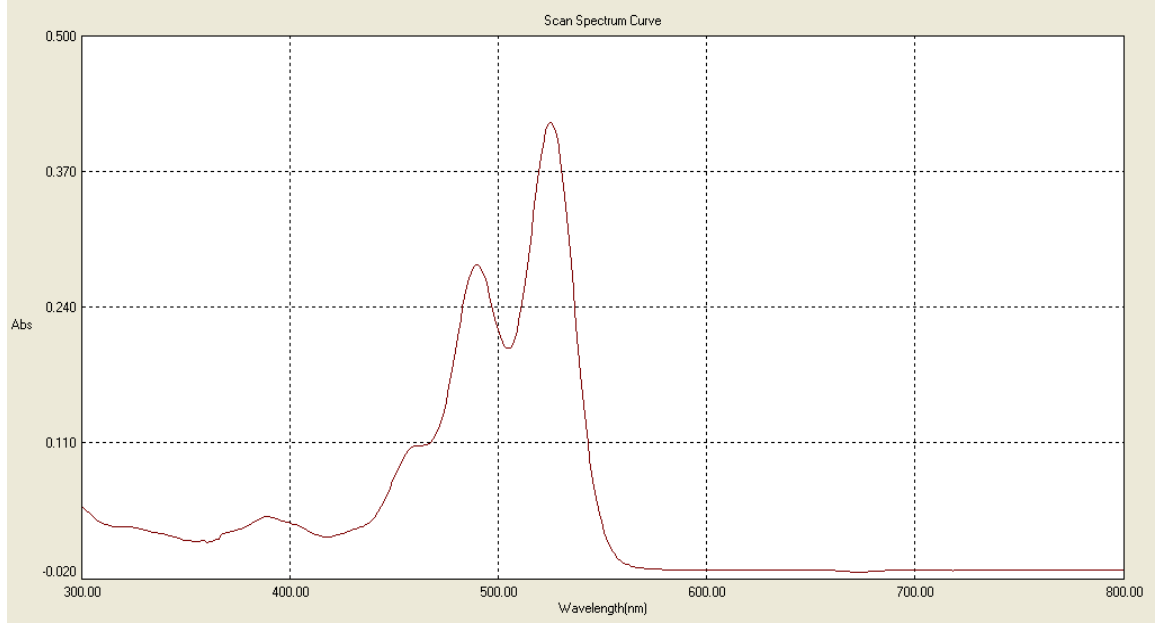


Şekil 3.2 FA3 Maddesinin ¹³C-NMR Spekturumu

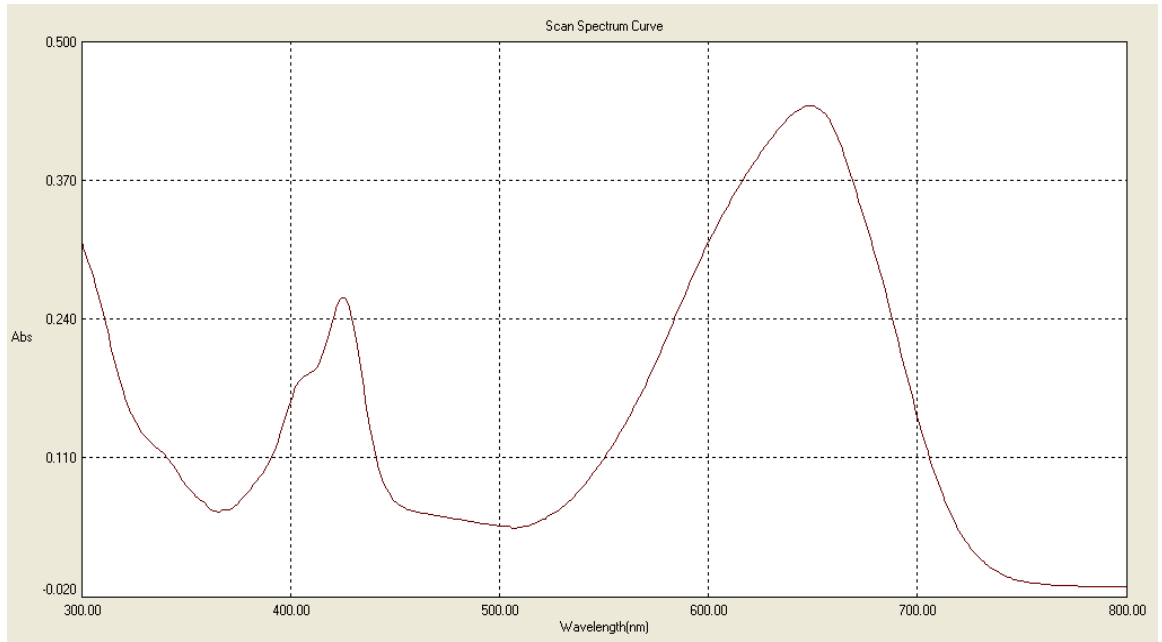


Şekil 3.3 FA3 Maddesinin Mass Spekturumu

3.1.4 FA2 ve FA3 Maddesinin UV-VIS Spektrumları

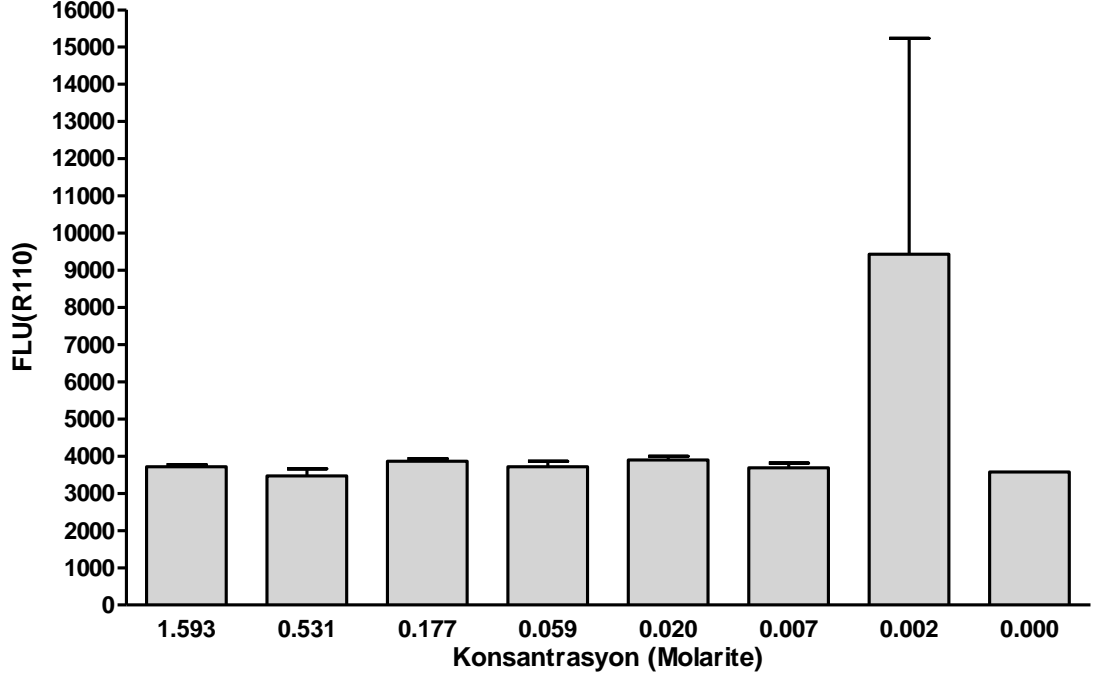


Şekil 3.4 FA2 Maddesinin UV-VIS Spektrumu



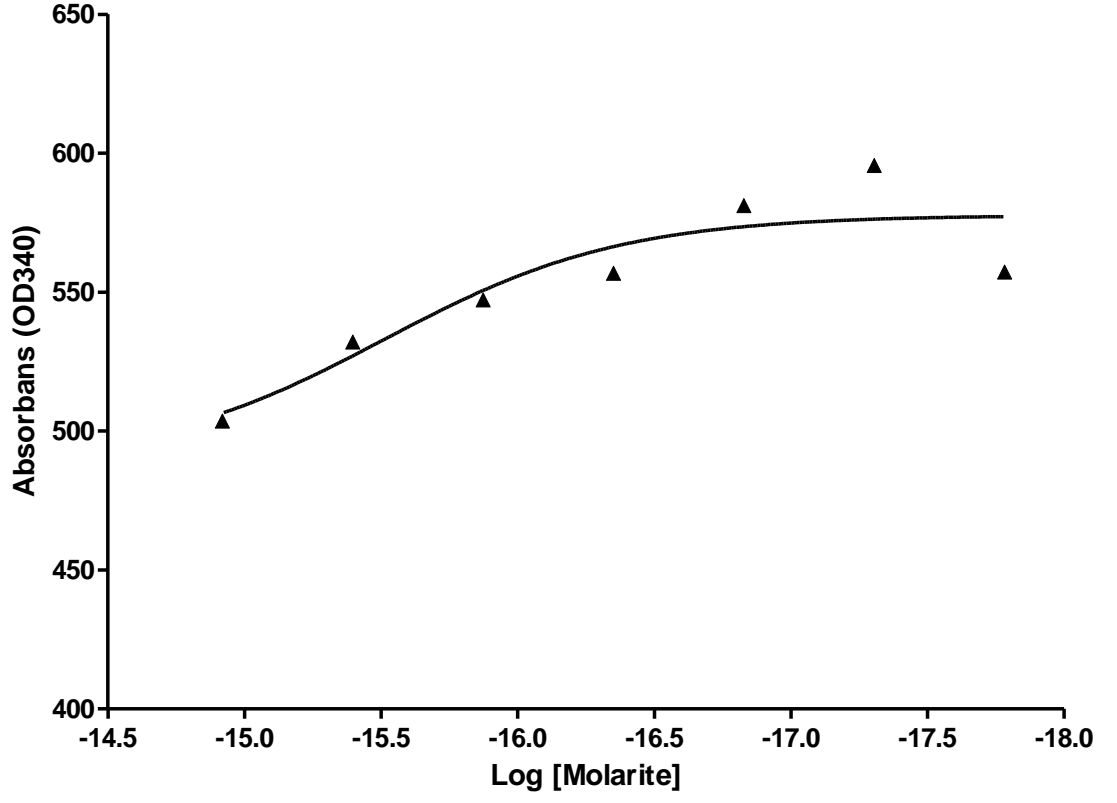
Şekil 3.5 FA3 Maddesinin UV-VIS spekturumu

3.1.5 c-Src Enzim İnhibisyonu Çalışmaları



Şekil 3.6 FA3 Maddesinin c-Src enzimine karşı bir inhibisyon grafiği

3.1.6 Glutatyon-S-transferaz Enzim İnhibisyon Sonuçları



Şekil 3.7 FA3 GST inhibisyon eğrisi

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada yeni yeşil perilendiimid türevi molekül sentezlenmiştir. Elde edilen molekülün yapısı ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve kütle spektrumları ile aydınlatılmıştır.

Perilen molekülü perilendianhidrit haline getirildikten sonra perilenin çözünürlük sorununu gidermek için "imid" bölgesine N-substituent, körfez bölgesine bis substituent bağlanarak çözünürlüğü artırılmış oldu.

Elde edilen yeni yeşil perilendiimidin çeşitli biyolojik hedeflere etkileri olabileceği düşünülmüştür. Kanser hücrelerinde aktivasyon kontrolünün ortadan kalkmasına ve tümörün büyümesine neden olan c-Src tirozin kinaz enzimi ve ilaç direnç mekanizmasına yola açan Faz II detoksifikasyon enzimlerinden olan Glutatyon-S-transferaz enzimi üzerindeki inhibisyonları çalışılmıştır.

FA3 Maddesi %80 aktif c-Src enzimine karşı bir inhibisyon eğilimi göstermemiştir. Her doz için çift analiz içeren birbirinden bağımsız üç deney gerçekleştirilmiş olup grafikte verilen değerler bu üç deneyin ortalamasını göstermektedir.

Kontrol grubunda maksimum sinyal 4500 floresan birimi (FLU) olup inhibisyona bağlı olarak enzim inhibisyonu yapmadığı bu ışımda inhibisyona bağlı azalmanın maksimum 3960 FLU olarak gözlenmesiyle belirlenmiştir. Dolayısıyla FA3 için enzimi %50 inhibe eden doz veya % inhibisyonu gösteren doz-cevap eğrisi oluşturulamamıştır.

FA3 Maddesinin Glutatyon-S-transferaz için bileşik düşük dozlarda çok az GST inhibisyonu yaparken, yüksek dozlarında, yani 1.2 mikromolar ve üzeri konsantrasyonlarda enzimin substratına olan ilgisini arttırdığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, yeni yeşil perilendiimid türevi sentezledik ve biyolojik aktivite karakterizasyonlarını yaptık. Biyolojik aktivite sonuçlarından ilaç direnç mekanizmasına yol açan Faz II detoksifikasyon enzimlerinden Glutatyon-S-

transferaz enzim inhibisyonunda etkili fakat c-Src tirozin kinaz enzim inhibisyonunda etkili olmadığını gördük.

Bu yeni yeşil perilendiimid türevi molekül bir miktarda olsa suda çözünebilir hale getirildi. UV spektrumlarında 510nm'den 650nm'ye doğru kayma tespit edildi.

FA3'n sadece yüksek dozlarında GST aktivasyonuna neden olması uzun vadede fotodinamik terapide kullanılmak üzere bu molekül geliştirildiğinde genellikle ilaç terapilerinde bir dezavantajdır ve GST enzim sistemine bağlı olarak çıkan molekül etkinliğindeki azalmanın bu tez çalışmamızda sentezlemiş olduğumuz FA3 için olasılık dahilinde olmadığı görülmüştür.

Diğer taraftan GST enzimi ile olan etkileşiminin artması belki de fotodinamik terapide uygulanacak olan ışımaya eşliğinde daha yüksek oranlarda reaktif oksijen bileşikleri üretilmesine ve böylece molekülün etkinliğindeki artışa neden olabileceğini tahmin etmekteyiz. Uzun vadede bu molekülün fotodinamik terapiye uygunluğunu incelemeyi düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

- [1] Langhals, H. "Control of the Interactions in Multichromophores: Novel Concepts. Perylene Bis-imides as Components for Larger Functional Units", *Helvetica Chimica Acta* **88**,(2005) 1309–1343.
- [2] Herbst, H.; Hunger, K. "Industrial Organic Pigments", WILEY-VCH, 3rd edition Weinheim, (2004) 474-477.
- [3] Bavdek, G., "Study of Structural and Electronic Properties of Thin Metallic and Organic Films", Doctoral Thesis, University of Ljubljana Faculty of Mathematics and Physics Department of Physics, Kranj, (2006) 101–103.
- [4] Dincalp, H., Icli S., "Photoinduced electron transfer-catalyzed processes of sulfoaminoperylene diimide under concentrated sun light", *Solar Energy* **80**, (2006) 332-346.
- [5] Dincalp H., Icli S., "Photosynthesis of rose oxide by concentrated sunlight in the absence of singlet oxygen", *Journal of Photochemistry and Photobiology A:Chemistry*, **141**, (2001) 147-151.
- [6] Malenfant P.R.L., Dimitrakopoulos C.D., Gelorme J.D., Kosbar L.L., Graham T.O., Curioni A., Andreoni W., "n-Type Organic Thin Film Transistor with High Field Effect Mobility Based on a N,N"-Dialkyl-3,4,9,10-perylene tetracarboxylic Diimide Derivative" *Appl. Phys. Lett.* **80**, (2002) 2517–2519.
- [7] Müller S., Müllen K., "Facile synthetic approach to novel core-extended perylene carboximide dyes" *Chem. Commun.*, (2005) 4045-4046
- [9] Langhals, H., Karolin, J., Johansson, L.B.A., *J. Chem. Soc., Faraday Trans*, **94**, (1998) 1219.

- [8] Türker, F.A., Kayaalp, S.O., "Kanser kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar", ed. Kayaalp, S.O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Feryal Matbaacılık Ankara, (2002) 380-415.
- [9] Gate, L., Tew, K.D. "Glutathione S-transferases as emerging targets", *Expert Opin. Ther. Targets*, **5/4**, (2001) 477-489.
- [10] Dhanabal, M., Jeffers, M., Larochelle, W. J. "Anti-angiogenic therapy as a cancer treatment paradigm", *Curr. Med. Chem.- Anti-Cancer Agents*, **5**, (2005) 115-130.
- [11] Calabresi, P., Welch, A.D. "Chemotherapy of neoplastic diseases", *Annu. Rev. Med*, **13**, (1962) 147-202.
- [12] Arkeneu, H., Carden, C.P., Bono, J.S. "Targeted agents in cancer therapy" *Medicine*, **36/1** (2007) 33-37.
- [13] Noonberg, S.B., Benz, C.C. "Tyrosine kinase inhibitors targeted to the epidermal growth factor receptor subfamily: role as anticancer agents", *Drugs*, **59/4** (2000) 753-767.
- [14] Bennisroune, A., Gardin, A., Aunis, D., Cremèl, G., Hubert, P. "Tyrosine kinase receptors as attractive targets of cancer therapy", *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, **50**, (2004) 23-38.
- [15] Blume-Jensen P, Hunter T. "Oncogenic kinase signaling", *Nature*, **411**, (2001) 355-365.
- [16] Doğan A.L, Güç D. "Sinyal iletim mekanizmaları ve kanser" *Hacettepe Tıp Dergisi* **35**, (2004) 34-42.
- [17] Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, "Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia", *N Engl J Med*;

344, (2001)1031.

- [18] Pawson T, Raina M, Nash P. "Interaction domains: From simple binding events to complex cellular behavior", *FEBS Letters*, **513**: (2002) 2-10.
- [19] Pawson, T. "Regulation and targets of receptor tyrosine kinases", *European Journal of Cancer*, **38**, (2002) 3-10.
- [20] Roskoski, R. JR. "Src kinase regulation by phosphorylation and dephosphorylation", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **331**, (2005) 1-14.
- [21] Mazitschek, R., Giannis, A. "Inhibitors of angiogenesis and cancer-related receptor tyrosine kinases", *Current Opinion in Chemical Biology*, **8**, (2004) 432-441.
- [22] Arora, A., Scholar, E.M. "Role of tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy" *Perspectives in Pharmacology*, **315 /3**, (2005) 971-979.
- [23] Reinmuth, N., Mesters, R.M., Bieker, R., Hoffnecht, P., Berdel, W.E., Thomas, M. "Signal transduction pathways as novel therapy targets in lung cancer", *Lung Cancer*, **45**, (2004) 177-186.
- [24] Konukoğlu, D., Turhan, M.S. "Anjiyogenezin temel moleküler mekanizmaları ve tümör anjiyogenezi" *Cerrahpasa Tıp Dergisi*, **36 /1**, (2005) 42-48.
- [25] Paul, M.K., Mukhopadhyay, A.K. "Tyrosine kinases- role and significance in cancer", *Int. J. Med. Sci*, **1/2**, (2004) 101-115.
- [26] Madhusudan, S., Ganesan, T.S. "Tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy", *Clinical Biochemistry*, **37**, (2004). 618-635.
- [27] Jones RJ, Brunton VG, Frame MC. "Adhesion-linked kinase in cancer;

- emphasis on Src, focal adhesion kinase and PI 3- kinase", *Eur J Cancer* **36**, (2000) 1595-1606.
- [28] Frame MC. "Src in cancer: Deregulation and consequences for cell behavior", *Biochim Biophys Acta*, **1602**, (2002) 114-130.
- [29] Susa, M., Missbach, M., Green, J. "Src inhibitors: drugs for the treatment of osteoporosis, cancer or both?", *TIPS*, **21** (2000) 489-495.
- [30] Hu, Guochang, Place, A.T., Minshall, R.D. "Regulation of endothelial permeability by src kinase signaling: vascular leakage versus transcellular transport of drugs and macromolecules", *Chemico-Biological Interactions*, **171**, (2008) 177-189.
- [31] Ingleby, E. "Src family kinases: Regulation of their activities, levels and identification of new pathways", *Biochimica et Biophysica Acta*, **1784**: (2008) 56-65.
- [32] Chong, Y., Kui IA, K., Mulhern, T.D., Cheng, H. "Endogenous and synthetic inhibitors of the src-family protein tyrosine kinases", *Biochimica et Biophysica Acta*, **1754**, (2005) 210-220.
- [33] Buolamwini, J.K. "Novel anticancer drug discovery", *Current Opinion in Chemical Biology*, **3**, (1999) 500-509.
- [34] Frame, M.C. "Src in cancer: deregulation and consequences for cell behaviour", *Biochimica et Biophysica Acta*, **1602**, (2002) 114-130.
- [35] Savage DG, Antman KH. "Imatinib mesylate- A new oral targeted therapy", *N Engl J Med*, **346**, (2002) 683-693.
- [36] Hirsch FR, Scagliotti GV, Langer CJ., "Epidermal growth factor family of receptors in preneoplasia and lung cancer", *Perspectives for targeted therapies*

Lung Cancer, **41**, (2003) 29-42.

- [37] Kim JA. "Targeted therapies for the treatment of cancer". *Am J Surg* **186**, (2003) 264-268.
- [38] Fabbro, D., Ruetz, S., Buchdunger, E., Cowan-Jacob, SW., Fendrich, G., Liebetanz, J., Mestan, J., O'Reilley, T., Traxler, P., Chaudhuri, B., Fretz, H., Zimmermann, J., Meyer, T., Caravatti, G., Furet, P., and Manley, PW. "Protein kinases as targets for anticancer agents: from inhibitors to useful drugs", *Pharmacol Ther*, **93**, (2002) 79-98.
- [39] Fabbro, D., Parkinson, D., and Matter, A. "Protein tyrosine kinase inhibitors: new treatment modalities?", *Curr Opin Pharmacol*, **2**, (2002) 374-381.
- [40] Druker, BJ. "STI571 (GleevecTM) as a paradigm for cancer therapy", *Trends Mol Med*, **8**, (2002) 14-18.
- [41] Peggs K, Mackinnon S. "Imatinib mesylate-The new gold standard for treatment of chronic myeloid leukemia", *N Engl J Med*, **348**, (2003) 1048-1050.
- [42] Morotti A, Mila S, Accornero P, Tagliabue E, Ponzetto C "K252a inhibits the oncogenic properties of Met, the HGF receptor", *Oncogene* **21/32**: (July 2002) 4885-4893.
- [43] Berthou S, Aebbersold DM, Schmidt LS, Stroka D, Heigl C, Streit B, Stalder D, Gruber G, Liang C, Howlett AR, Candinas D, Greiner RH, Lipson KE, Zimmer Y "The Met kinase inhibitor SU11274 exhibits a selective inhibition pattern toward different receptor mutated variants", *Oncogene*, **23/31**, (July 2004) 5387-5393.
- [44] Wang X, Le P, Liang C, Chan J, Kiewlich D, Miller T, Harris D, Sun L, Rice A, Vasile S, Blake RA, Howlett AR, Patel N, McMahon G, Lipson KE "Potent

and selective inhibitors of the Met [hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF/SF) receptor] tyrosine kinase block HGF/SF-induced tumor cell growth and invasion". *Mol. Cancer Ther*, **2 /11**, (November 2003). 1085–1092.

- [45] Sordella, R., Bell, D.W., Haber, D.A., Settleman, J. "Gefitinib-sensitizing EGFR mutations in lung cancer activate anti-apoptotic pathways", *Science* **305** (2004) 1163–1167
- [46] Christensen J. G., Schreck R., Burrows J., Kuruganti P., Chan E., Le P., Chen J., Wang X., Ruslim L., Blake R., "A Selective Small Molecule Inhibitor of c-Met Kinase Inhibits c-Met-Dependent Phenotypes in Vitro and Exhibits Cyto-reductive Antitumor Activity in Vivo", *Cancer Res*, **63**, (2003) 7345–7355.
- [47] Rege-Cambrin G., Scaravaglio P., Carozzi F., Giordano S., Ponzetto C., Comoglio P. M., Saglio G., "Karyotypic analysis of gastric carcinoma cell lines carrying an amplified c-met oncogene", *Cancer Genet. Cytogenet*, **64**, (1992) 170–173.
- [48] Smolen G.A, Sordella R., Muir B., Mohapatra G., Barmettler A., Archibald H., Kim W.J., Okimoto R.A., Bell D.W., Sgroi D.C., Christensen J.G., Settleman J., Haber D.A., "Amplification of MET may identify a subset of cancers with extreme sensitivity to the selective tyrosine kinase inhibitor PHA-665752", *Proc Natl Acad Sci U S A*. **14**; 103(7): (2006 February) 2316–2321.
- [50] Kocanova S., Laigle A., and Miskovsky P., "Inhibition of Protein Kinase C Activity in 3T3 Mouse Fibroblasts by Photoactive Drug Hypericin: Fluorescence Imaging Study", *Laser Physics*, Vol. **13**, No. **1**, (2003) 30–34.
- [51] Bruns R.F., Miller F.D., Merriman R.L., Howbert J.J, Heath W.F, Kobayashi E., "Inhibition of protein kinase C by calphostin C is light-dependent". *Biochem Biophys Res Commun*; **176(1)**: (1991), 288-93.

- [52] Ekinci M., "Bronşiyal astımlı çocuklarda Glutasyon-S-tranferaz gen polimorfizminin bir risk faktörü olarak belirlenmesi",Uzmanlık tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, İstanbul, (2006)
- [53] Belgin S. B., "Isolation and immunological characterization of theta class Glutathione-S-transferase GSTT2-2 frombovine liver" Middle East Technical University
- [54] Eren M., İnci N., Temizel S., Koçak N., "İlaca bağlı hepatoksisite", *Çocuk sağlığı ve hastalıkları dergisi* **47**, (2004) 222-227
- [55] İşcan M., "Akciğer kanserinde Metabolik (GSTP1) Polmorfizminin ilaç rezistansındaki rolü" Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Proje No: 20060803002HPD, Ankara, (2007)
- [56] Hayes J.D, Pulford D.J. "The Glutathione S-Transferase Supergene Family:Regulation of GST and the Contribution of the Isoenzymes to Cancer Chemoprotection and Drug Resistance", *Crit Rev Biochem Mol Biol*, **30(6)**, (1995) 445-600.
- [57] Booth J.,Boyland E. and Sims P., *Biochem. J*, **79**: (1961) 516-524.
- [58] Listowsky, I., Abramovitz, M., Homma, H., and Niitsu, Y.,. "Intracellular binding and transport of hormones and xenobiotics by glutathione S-transferases", *Drug Met. Rev.*, Vol.**19**, (1988) 305-318.
- [59] Mannervik, B., and Danielson, U.H.,. "Glutathione transferases- Structure and catalytic activity", *CRC Crit. Rev.Biochem.Mol.Biol.*, Vol.**23**, (1988) 283-337.
- [60] Hayes, J.D., and Mantle, T.J., "Use of immunoblot techniques to discriminate

between the glutathione S-transferase Yf, Yk, Yg, Yn/Yb and Yc subunits and to study their distribution in extra-hepatic tissues", *Biochem.J.*, Vol.**233**, (1986) 779-788.

- [61] Tüken, F., Bazı Nitrozaminlerin glutatyon-S-transferaz enzimi üzerindeki in vitro etkileri ve bağlanma özellikleri Doktora tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, Sivas, 1993.
- [62] Mannervik, B., "The isoenzymes of glutathione transferase", *Adv.Enzymol. Rel.Areas Mol.Biol.*, Vol.**57**, (1985) 357-417.
- [63] Meyer, D.J., Coles, B., Pemble, S.E., Gilmore, K.S., Fraser, G.M., and Ketterer, B.. "Theta, a new class of glutathione transferases purified from rat and man", *Biochem.J.*, Vol.**274**, (1991) 409-414.
- [64] Zhang, Y., Cho, C.-G.H. and Talalay, P., "Spectroscopic quantitation of organic isothiocyanates by cyclocondensation with vicinal dithiols" *Anal.Biochem*, Vol.**205**, (1992) 100-107.
- [65] Dixon D. P., Laphorn A., and Edwards R., "Protein family review Plant glutathione transferases", *Genome Biology* Vol 3, (2002) 3004.1–3004.10
- [66] Tew, K.D., "Glutathione-associated enzymes in anticancer drug resistance, *Cancer Res*", **54** , (1994) 4313-4320
- [67] Harrison, D.J., Kharbanda, R., Bishop, D., McLelland, L.I., Hayes, J.D., "Glutathione-S-transferases isoenzymes in human renal carcinoma demonstrated by immunohistochemistry", *Carcinogenesis*, **10**, (1989) 1257.
- [68] Yang, P., Ebbert, J.O., Sun, Z., Weinshilboum, R.M., "Role of glutathione metabolic pathway in lung cancer treatment and prognosis", *A review, J. of Clin. Oncology*, **24/11** (2006) 1761-1769.

- [69] O'Brien, M.L., Tew, K.D., "Glutathione and related enzymes in multidrug resistance", *Eur. J. Cancer*, **6**, (1996) 967-978.
- [70] Tew, K.D., Dutta, S., Schultz, M., "Inhibitors of glutathione S-transferases as therapeutic agents", *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **26**, (1997) 91-104.
- [71] Adler, V., Yin, Z., Fuchs, S.Y., Benerza, M., Rosario, L., Tew, K.D., Pincus, M.R., Sardana, M., Henderson, C.J., Wolf, C.R., Davis, R.J., Ronai, Z., "Regulation of JNK signaling by GSTp", *EMBO J.*, **18**, (1999) 1321-1334.
- [72] Townsend, D.M., Tew, K.D., "The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance", *Oncogene*, **22**, (2003) 7369-7375.
- [73] Davis, R.J., "Signal transduction by the JNK group of MAP kinases", *Cell*, **103**, (2000) 239-252.
- [74] Ono, K., Han, J., "The p38 signal transduction pathway: activation and function", *Cell Signal.*, **12**, (2000) 1-13.
- [75] Mahajan, S., Atkins, W.M., "The chemistry and biology of inhibitors and pro-drugs targeted to glutathione S-transferases", *Cell. Mol. Life Sci.*, **62/11**, (2005) 1221-1233.
- [76] Zhao, G., Wang, X., "Advance in Antitumor Agents Targeting Glutathione-S-Transferase", *Curr. Med. Chem.*, **13**, (2006) 1461-1471.
- [77] Dougherty, T.J., Gomer, C.J., Henderson, B.W. ve ark., "Photodynamic therapy", *J. Natl. Cancer Inst.*, **90**, (1998) 889-905.
- [78] Ali, S.M., Chee, S.K., Yuen, G.Y. ve Olivo, M., "Hypocrellins and hypericin induced apoptosis in human tumor cells: a possible role of hydrogen

peroxide", *Int. J. Mol. Med.*, **9**, (2002) 461–472.

- [79] Zhimin, Y., Ivanov, N.V., Habelhah, H., Tew, K. ve Ronai, Z., "Glutathion S-transferase P elicits protection against H₂O₂- induced cell death via coordinated regulation of stress kinases", *Cancer Research.*, **60**, (2000) 4053-4057.
- [80] Halder, M., Chowdhury, P.K., Das, R., Mukherjee, P., Atkins W.M. ve Petrich, J.W., "Interaction of Glutathione S-Transferase with Hypericin: A Photophysical Study", *J. Phys. Chem. B*, **109**, (2005) 19484-19489.
- [81] Lu W.D. ve Atkins, W.M., "A Novel Antioxidant Role for Ligandin Behavior of Glutathione S-Transferases: Attenuation of the Photodynamic Effects of Hypericin", *Biochemistry* , **43**, (2004) 12761-12769.
- [82] Hubbard S. R., Mohammadi M., and Schlessinger J.," Autoregulatory Mechanisms in Protein-tyrosine Kinases", *The Journal of Biological Chemistry* Vol. **273**, (1998) 11987–11990