



TC.

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**GHRELİN O-AÇIL TRANSFERAZ İNHİBİSYONUNUN
OBEZİTE ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

ŞERİFE BETÜL BURUL

BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. Mustafa GÜZEL

İSTANBUL-2019

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin planlanıp yürütülmesinde maddi ve manevi emeği geçenlere teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Araştırmanın her aşamasında beni yönlendiren, yardım ve desteğini esirgemeyen gece gündüz yazdığım mail ve mesajlara cevap veren danışman hocam Doç. Dr. Mustafa GÜZEL'e, laboratuvar çalışmalarında bana hep destek olan ve yol gösteren Yrd. Doç. Bilgesu Onur SUCU hocama, moleküler modelleme çalışmalarında desteklerini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Özge ŞENSOY hocama, tezim ile ilgili beni yönlendiren ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Nihal Büyüksulu hocama, *in silico* yöntemlerle moleküllerimin aktivite çalışmasını yapan Hanife Pekel'e, sentez yöntemleri konusunda beni aydınlatan Özgecan ŞAVLUĞ'a ve Güzel Araştırma Grubu içerisinde yer alan diğer arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmamı gerçekleştirebilmem için, maddi destek sağlayan okuluma ve bünyesindeki Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi'ne teşekkür ederim.

Aileme;

Yüksek lisansa başlamam konusunda beni ikna eden, her aşamasında yanımda olan, her sıkıntımı dinleyen ve bitirmem konusunda benden daha fazla endişelenen canım babam Uzm. Öğr. Esat BURUL'a, benim derdimle dertlenen sevincimle sevinen, motivasyon kaynağım ve beni her konuda destekleyen canım annem Öğr. Huriye BURUL'a, neşe kaynağım ve küçüğüm canım kardeşim Ahmet Yasin BURUL'a çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY FORMU	i
BEYAN	ii
TEŞEKKÜR	iii
KISALTMALAR LİSTESİ	vi
TABLolar LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1. Obezitenin Tanımı ve Sınıflandırılması.....	5
4. 2. Obezitenin Dünyadaki Durumu.....	5
4. 3. Obezitenin Ülkemizdeki Durumu.....	6
4. 4. Obezitenin Güncel Tedavi Seçenekleri.....	7
4. 5. Geçmişten Günümüze Obezite Farmakoterapisi.....	8
4. 6. Obezitenin Güncel Farmakolojik Tedavi Mekanizmaları.....	10
4. 7. Ghrelin İnhibisyonunun Obezite Tedavisi Açısından Önemi.....	13
4. 8. Ghrelin ve Ghrelin O-Açıl Transferaz İlişkisi.....	14
4. 9. Ghrelin ve İştah Mekanizması.....	16
4. 10. Ghrelin ile İlgili Literatürde Yer Alan Çalışmalar.....	17
4. 11. GOAT İnhibisyonu ve Obezite.....	18
4. 12. Beslenmenin Ghrelin Sekresyonuna Etkisi.....	20
4. 13. Obezite ve Bazı Hastalıkların Ghrelin Sekresyonuna Etkisi.....	22

4. 14. Moleküler Doklama ve İlaç Keşfi.....	23
4. 14. 1. Moleküler Doklama Nedir?.....	23
4. 14. 2. Moleküler Doklama ve İlaç Keşfi.....	24
4. 14. 3. Doklama Programı Autodock Vina.....	24
4. 14. 4. Aynı Aileden Gelen İki Protein: GOAT ve DLTB.....	24
5. MATERYAL VE METOD	27
5. 1. Materyal.....	27
5. 1. 1. Kullanılan Cihazlar.....	27
5. 1. 2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözücüler.....	27
5. 2. Metod.....	28
5. 2. 1. Sentezlenen Özgün Moleküllerin Sentez Metodları.....	30
5. 2. 2. Homoloji Modelin Oluşturulması.....	39
5. 2. 3. Ligandın Hazırlanması.....	41
5. 2. 4. Enzimin Hazırlanması.....	41
5. 2. 5. Moleküler Doklama.....	41
6. BULGULAR.....	44
7. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	47
8. KAYNAKLAR.....	50
9. EKLER.....	57
10. ÖZGEÇMİŞ.....	69

KISALTMALAR LİSTESİ

- BKİ: Beden Kitle İndeksi
- DCC: N, N'-Disikloheksilkarbodiimid
- DCM: Diklorometan
- DIPA: Diizopropilamin
- DIC: N, N'-Diizopropilkarbodiimid
- DltB: D-Alanil Transferaz
- DltC: D-Alanil Taşıyıcı Protein
- DM: Diabetes Mellitus
- DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü
- ER: Endoplazmik Retikulum
- GOAT: Ghrelin O-Açıl Transferaz
- GSH-R1a: Büyüme Hormonu Salgılatıcı Reseptör 1a
- IC50: Yarı Maksimum İnhibisyon Konsantrasyon Değeri
- hGOAT: İnsan Ghrelin O-Açıl Transferaz Enzimi
- HT: Hipertansiyon
- MA: Molekül Ağırlığı
- MBOAT: Membran Bağımlı O-Açıl Transferaz
- MCFA: Orta Zincirli Yağ Asitleri
- mCPBA: Metakloroperoksibenzoikasit
- MCT: Orta Zincirli Trigliseritler
- MeOH: Metanol
- PFP: Pentaflorofenol
- THF: Tetrahidrofur

TABLolar LİSTESİ

Tablo 4. 1. Beden kitle indeksi değerlerine göre obezite sınıflaması.....	5
Tablo 4. 2. Türkiye’de kadın ve erkeklerde BKİ değerlerinin yıllara göre dağılımı.....	7
Tablo 4. 3. Geçmişten günümüze kilo vermek için kullanılan hormon ve ilaçlar.....	8
Tablo 4. 4. Güncel obezite ilaçları ve etki mekanizmaları.....	12
Tablo 4. 5. Ghrelin hormonunun mideden sekresyonuna etki eden faktörler.....	21
Tablo 5. 1. DltB proteininde tunnel ve funnel formunu oluşturan rezidülerin hGOAT enzim modelindeki birimler ile kıyaslanması.....	40
Tablo 6. 1. Referans moleküllerin ve doklanan yeni ve özgün moleküllerin farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerinin değerlendirilmesi.....	44
Tablo 6. 2. Referans moleküllerin ve doklanan novel moleküllerin lipinski kurallarına uyumu ve fizikokimyasal özellikleri.....	44
Tablo 6. 3. Doklama çalışması yapılan moleküllerin funnel içerisinde bulunma sıklığı ve ortalama enerji değerleri.....	45

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 4. 1. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü üye ülkelerin nüfusa göre obezite yüzdeleri.....	6
Şekil 4. 2. Orlistat (Gastrik ve pankreatik lipaz inhibitörü)	10
Şekil 4. 3. Lorkaserin (Serotonin agonisti).....	11
Şekil 4. 4. Fentermin ve topiramamat (Fentermin ve topiramamat birlikte iştah baskılayıcı).....	11
Şekil 4. 5. İnsan ve sıçan ghrelinlerinin yapıları.....	14
Şekil 4. 6. Ghrelinin biyosentetik yolağı.....	14
Şekil 4. 7. Beyin ve bağırsak arasındaki ghrelin iletimi.....	15
Şekil 4. 8. Literatürde bulunan peptit tabanlı GOAT antagonistleri.....	19
Şekil 4. 9. Literatürde bulunan GOAT inhibitörleri kimyasal yapıları.....	20
Şekil 4. 10. Yemek öncesi ve yemek sonrası kan plazma ghrelin seviyelerindeki değişim.....	21
Şekil 4. 11. hGOAT enzim modeli ve DltB kristal yapısı (ekstraselüler membrandan görünüş).....	25
Şekil 5. 1. Referans 1 ve özgün ŞRPT 1 ve ŞRPT 3 moleküllerinin kimyasal yapıları.....	28
Şekil 5. 2. Referans 2 ve özgün ŞRBT 1 ve ŞRBT 2 moleküllerinin kimyasal yapıları.....	29
Şekil 5. 3. Referans 3 ve özgün ŞBB 1, ŞBB 3, ŞBB 5, ŞBB 6 moleküllerinin kimyasal yapıları.....	29
Şekil 5. 4. 6-kloro-5-iodo-2-metilpirimidin-4-amin bileşiğinin sentez şeması.....	30

Şekil 5. 5. Ters-bütül 4- ((4-amino-6-kloro-2 metilpirimidin-5-il) etinil) piperidin-1-karboksilat bileşiğinin sentez şeması.....	30
Şekil 5. 6. Ters-bütül 4- ((4-amino-2-metil-6- (metiltiyo) pirimidin-5-il) etinil) piperidin-1-karboksilat bileşiğinin sentez şeması.....	31
Şekil 5. 7. Ters-bütül 4- ((4-amino-2-metil-6- (metilsülfonil) pirimidin-5-il) etinil) piperidin-1-karboksilat bileşiğinin sentez şeması.....	32
Şekil 5. 8. N- (2- (ters-bütülamino) -1- (4-metoksifenil) -2-oksoetil) -N- (sikloheksilmetil) siklopropankarboksamid bileşiğinin sentez şeması.....	33
Şekil 5. 9. (9H-fluoren-9-il) metil 2- ((2- (ters-bütülamino) -1- (4-metoksifenil) -2-oksoetil) ((3S) -1-metoksi-3-metil-1-okso-2-oksopentan-2-il) karbamoil) pirrolidin-1-karboksilat bileşiğinin sentez şeması.....	34
Şekil 5. 10. Metil 2- ((2S) -2- (((9H-fluoren-9-il) metoksi) karbonil) amino) -N- (2- (sikloheksilamino)-1- (4-metoksifenil) -2-oksoetil) -3- (4-metoksifenil) propanamido) -3- (4-hidroksifenil) propanoat bileşiğinin sentez şeması.....	35
Şekil 5. 11. Metil 2- (2- (((9H-fluoren-9-il) metoksi) karbonil) amino) -3- (4- (ters-bütoksi) fenil) - N- (2- (sikloheksilamino) -2-okso-1-feniletıl) propanamido)-3- (3H-indol-3-il) propanoat bileşiğinin sentez şeması.....	36
Şekil 5. 12. (2S, 3S) -metil 2- ((S) -2- (((9H-fluoren-9-il) metoksi) karbonil) amino)-3- (4- (ters-bütoksi) fenil) propanamido) -3-metilpentanoat bileşiğinin sentez şeması.....	37
Şekil 5. 13. (S) -2- (((9H-fluoren-9-il) metoksi) karbonil) amino) -3- (3-fenil-1, 2, 4-oksadiazol-5-il) propanoik asit bileşiğinin sentez şeması.....	38
Şekil 5. 14. hGOAT aktif bölgesinde substrat-bağlanma bölgesi etkileşimleri.....	40
Şekil 6. 1. ŞRPT-3 molekülünden elde edilen funnel içinde bulunan pozlardan enzim-ligand etkileşiminin representative gösterimi.....	46

1. ÖZET

GHRELİN O-AÇIL TRANSFERAZ İNHİBİSYONUNUN OBEZİTE ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Obezite, hiperlipidemi, Tip-2 DM, hipertansiyon ve koroner kalp hastalıklarına sebep olan kronik bir hastalıktır ve son yıllarda dünyada ve ülkemizde hasta sayısı hızlı bir şekilde artmaktadır. Obezite, beraberinde ekonomik problemleri de getirmektedir. Tüm bu nedenlerden dolayı araştırmacılar, obezitede farmakoterapiye odaklanmıştır. Güncel olarak Amerikan Besin ve İlaç Dairesi'nin onayladığı, Orlistat, Lorcaserin, Fentermin/Topiramet isimli obezite ilaçları mevcuttur. Ancak bu ilaçların kardiyovasküler ve gastrointestinal yan etkileri olduğu bildirilmiştir. Bu araştırmada, GOAT (Ghrelin O-Açıl Transferaz) enziminin obezite üzerine etkisi araştırılmıştır. GOAT enzimini inhibe edecek kimyasal molekül sentezlenmesi, moleküllerin bilgisayar ortamında moleküler modelleme aktivite çalışmaları sonuçlarının değerlendirilmesi, bu sayede obezite ile mücadele etmek için diyet ve egzersize ek olarak GOAT inhibitörlerinin kullanılması ve kilo kontrolü sağlanması amaçlanmıştır. Obezite tedavisi için önemli bir hedef olan ghrelin, kısa süreli olarak iştahı baskılamakta ve kilo kazanımını önlemektedir. Diğer obezite ilaçlarında görülen merkezi sinir sistemi ile ilgili yan etkileri önlemek için, doğrudan ghrelin reseptörü yerine ghrelini aktif hale getiren enzim hedef alınmıştır. Piyasada ghrelin tabanlı bir obezite ilacının bulunmaması bu hormon üzerinde odaklanmamızı sağlamıştır. Tez kapsamında GOAT enzimini inhibe edebilmek için 8 kimyasal molekül laboratuvar ortamında sentezlenmiş, moleküllerin analizi ve karakterizasyonu LC-MS ve NMR ile yapılabildiği yapıları aydınlatılmıştır. Sentezlenen bu moleküllerin GOAT reseptörüne bağlanma afinitesi moleküler modelleme yöntemleriyle test edilmiştir. Moleküler modelleme sonuçlarına göre laboratuvarımızda sentezlediğimiz ŞRPT-3 kodlu molekül GOAT inhibisyonu gösterebilecek özgün bir ilaç adayı olabileceği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antiobezite, Ghrelin, Ghrelin O-Açıl Transferaz İnhibitörleri, Obezite, Özgün İlaç Keşif ve Geliştirme

Bu tez İstanbul Medipol üniversitesi Restoratif ve Rejeneratif Araştırmalar Merkezi tarafından 2017-03 no'lu BAP projesi ile desteklenmiştir.

2. ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF GHRELIN O-ACYL TRANSFERASE INHIBITION ON OBESITY

Obesity is a chronic disease that causes hyperlipidemia, Type-2 DM, hypertension and coronary heart diseases and the number of patients in the world and in our country has been increasing rapidly in recent years. Obesity brings with it economic problems. For all these reasons, researchers have focused on pharmacotherapy in obesity. Currently, there are obesity medicines named Orlistat, Lorcaserin, Phentermine/Topiramate, approved by the American Food and Drug Administration. However, these drugs have been reported to have cardiovascular and gastrointestinal side effects. In this study, the effect of GOAT (Ghrelin O-Acyl Transferase) enzyme on obesity was investigated. It is aimed to synthesize chemical molecules that will inhibit GOAT enzyme, to evaluate the results of molecular modeling activity studies in the computer environment, to use GOAT inhibitors in addition to diet and exercise to control obesity and to provide weight control. As an important target for the treatment of obesity, ghrelin suppresses appetite and prevents weight gain for a short time. In order to prevent central nervous system side effects seen in other obesity drugs, the enzyme activating ghrelin was targeted directly instead of ghrelin receptor. The lack of a ghrelin-based obesity drug on the market has enabled us to focus on this hormone. In order to inhibit the GOAT enzyme, 8 chemical molecules were synthesized in the laboratory. Analysis and characterization of the molecules were carried out by LC-MS and NMR. The binding affinity of these synthesized molecules to GOAT receptor was tested by molecular modeling methods. According to the results of molecular modeling, it is determined that the SRPT-3 encoded molecule synthesized in our laboratory may be a unique drug candidate that can show GOAT inhibition.

Keywords: Antiobesity, Ghrelin, Ghrelin O-Acyl Transferase Inhibitors, Novel Drug Discovery and Development, Obesity

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Obezite, vücuda besinler ile alınan enerjinin, harcanan enerjiden fazla olması ve vücuttaki yağ kütlesinin, yağsız vücut kütlesine oranla artması ile karakterize olan kronik bir hastalıktır. Obezite'nin oluşmasında en önemli risk faktörlerini, sedanter yaşam, aşırı ve yanlış beslenme alışkanlıkları, yaş, cinsiyet, eğitim düzeyi ve genetik oluşturmaktadır. (1) Kalıtsal olarak da geçebilen obezite, çevresel faktörlerin de etkisiyle özellikle gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde hızla artmaktadır. (1, 2) Obezite tedavisi için birçok ilaç mevcuttur. Ancak bu ilaçlar düşük etki, (yaklaşık %5 kilo kaybı) zayıf tolerans ve/veya yan etkiler ile karakterize edilmektedir. (3) Wortley E. ve arkadaşları yaptıkları çalışma sonunda ghrelin hormonunun erken obezite riskini önleyip/önlemediğini araştırmışlardır. Çalışma sonunda, ghrelin hormonu olmayan farelerin yüksek yağlı diyetle maruz bırakıldığı halde hızlı kilo alımından korunduğu görülmüştür. Bu koruma adipozitenin azalması, artmış enerji harcaması ve hayvanların yaşına göre lokomotor aktivitesi ile ilişkilendirilmiştir. Yapılan bu çalışmaya göre dışarıdan alınan besin öğelerine adaptasyonda endojen ghrelin önemli rol oynamaktadır. (4) İnsanlarda ghrelin hormonunun farmakolojik olarak inhibisyonu obezite araştırmaları için yeni bir yol sağlamaktadır. Dolaşımdaki ghrelin seviyeleri açlık durumunda yükselmekte, beslenme sonrasında baskılanmaktadır. Ghrelin sinyalinin inhibe edilmesi, obezite tedavileri için önemlidir. (5) Ghrelin, GHS-R1a (Growth Hormone Secretagogue Receptor 1a) için endojen ligand olarak görev yapan 28 amino asitli bir peptid hormondur. (6) Ghrelin, gastrointestinal sistemde özellikle mideden salgılanır. Ghrelin, plazmada açillenmiş ve açillenmemiş olarak iki formda bulunur. (7) Ghrelin hormonunun 3.aminoasidi serin oktanoil grubu ile modifiye edildiğinde, n-oktanoil ghrelin (açillenmiş ghrelin) olarak adlandırılır. (8) Açillenmiş ghrelin, hipofiz bezinde ve hipotalamusta bulunan GHS-R1a'ya bağlanarak büyüme hormonunun salgılanması, iştah ve gıda alımının uyarılması, mide asidi salgılanmasının düzenlenmesi, mide motilitesi, glukoz homeostazı ve adipozite dahil olmak üzere birçok ilgili biyolojik işlemi düzenler. Bu nedenle, oktanoil kısmının varlığı ghrelin hormonunun endokrin fonksiyonları için çok önemlidir. (7)

Bu modifikasyon, MBOAT (Membran Bounding O-acyl Transferase) enzim ailesinin bir üyesi olan GOAT ile katalize edilir. (6) Ghrelin geni, açillenmiş ghreliden başka, açillenmemiş ghrelin, C-ghrelin, obestatin ve des-Gln14 ghrelin de dahil olmak üzere çeşitli peptitler üretir. Açillenmemiş ghrelin veya obestatin ghrelin ile ilişkili diğer peptitler, GHS-R1a ile etkileşime giremez ve reseptörü doğrudan uyaramaz. (8) Ayrıca açillenmiş ghrelin, oreksijenik etkiye sahip olduğu bilinen tek peptid hormondur. (7) Bu nedenle açillenmiş ghrelin sisteminin inhibe edilmesi obezite tedavisinde önemli bir hedefdir. Ghrelinin etkisini inhibe etmenin yollarından birisi de GOAT'ı inhibe etmektir. (9)

Son 10 yıl içinde piyasaya ghrelin kaynaklı obezite ilacı çıkarılmamıştır. (10) Yapılan çalışmalar gösteriyor ki, ghrelin aşırı beslenme, metabolizma ve enerji dengesi ile ilgili farklı bozuklukların tedavisinde iyi bir adaydır ve klinik olarak önemlidir. Bu bozuklukların etkili tedavilerini geliştirmek için, ghrelin hormonu ve sinyal mekanizmalarının tam olarak anlaşılması gerekir. (11) Bu araştırmada, GOAT enziminin obezite üzerine etkisi araştırılmıştır. Diğer obezite ilaçlarında görülen merkezi sinir sistemi ile ilgili yan etkileri önlemek için, doğrudan ghrelin reseptörü yerine ghrelini aktif hale getiren enzim hedef alınmıştır. (5) Ayrıca piyasada ghrelin tabanlı bir obezite ilacının bulunmaması bu hormon üzerinde odaklanmamıza sebep olmuştur. GOAT enzimini inhibe edecek kimyasal molekül sentezlenmesi, moleküllerin bilgisayar ortamında moleküler modelleme aktivite çalışmaları sonuçlarının değerlendirilmesi bu sayede obezite ile mücadele etmek için diyet ve egzersiz ek olarak GOAT inhibitörlerinin kullanılması ve kilo kontrolü sağlanması amaçlanmıştır. Araştırma sonucunda sentezlenen GOAT inhibitörü özgün moleküllerin biyolojik aktivite testlerinin yapılarak makale olarak bildirilmesi düşünülmektedir. Bu araştırmada sentezlenen moleküllerin daha da geliştirilerek ghrelin inhibisyonu yoluyla obeziteye karşı yeni bir umut kaynağı olabileceği düşünülmektedir. Tez çalışmamız bu konu ile ilgili literatürdeki bir boşluğu doldurmak ve tıbbi değeri olan moleküllerin sentezine ve geliştirilmesi konularında katkı sağlayacaktır.

4. GENEL BİLGİLER

4. 1. Obezitenin Tanımı ve Sınıflandırılması

Obezite, bireyin aktivitesini kısıtlayan ve kalp hastalığı, belirli kanserler, tip 2 diyabet, inme, artrit gibi hastalıklarla ilişkilendirilen morbid bir durumdur. (12)

Obezite, DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) tarafından BKİ (Beden Kitle İndeksi) değerlerine göre sınıflandırılır. (13)

Dünya Sağlık Örgütü' nün BKİ sınıflamasına göre;

Tablo 4. 1. Beden Kitle İndeksi değerlerine göre obezite sınıflaması (14)

Sınıflama	BKİ Değeri
Zayıf	<18,5
Normal	18,5-24,9
Fazla Kilolu	25-29,9
Obez	>30
Obez sınıf 1 (hafif)	30-34,9
Obez sınıf 2 (orta)	35-39,9
Obez sınıf 3 (ağır=morbid obez)	>40

4. 2. Obezitenin Dünyadaki Durumu

Obezite, dünya çapında her geçen gün artmakla birlikte 21. yüzyılın en büyük halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. (3, 15) Yapılan bir çalışmada, 2015 yılında, dünyada toplam 107,7 milyon çocuk ve 603,7 milyon yetişkinin obez olduğu bildirilmiştir. Çocuklar arasında obezite prevalansı erişkinlerdekinden daha düşük olmasına rağmen, birçok ülkede çocukluk çağında obezite artış oranı yetişkin obezitesi artış oranından daha fazla olmuştur. Ayrıca yüksek BKİ, dünya genelinde 4.0 milyon kişinin ölümü ile ilişkili bulunmuştur. (16) DSÖ verilerine göre, 2016 yılında, 18 yaş ve üstü 1,9 milyardan fazla yetişkinin aşırı kilolu olduğu ve bunların 650 milyondan fazlasının obez olduğu bildirilmiştir.

Dünya nüfusunun çoğunda, fazla kilo ve obeziteden ölen insan sayısının, zayıflıktan ölen insan sayısından daha fazla olduğu rapor edilmiştir. (17)



Şekil 4. 1. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü üye ülkelerin nüfusa göre obezite yüzdeleri* (18)

*2015 veya en yakın yıla ait veriler kullanılmış ve çalışmaya 15 yaş ve üzeri dahil edilmiştir.

4. 3. Obezitenin Ülkemizdeki Durumu

Dünyada olduğu gibi ülkemizde de obezite oranları giderek artmaktadır. “Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması 2010” ön çalışma raporuna göre Türkiye’de çocuklarda ve adölesanlarda obezite sıklığı, 0-5 yaşta %8,5 (erkek %10,1, kız %6,8), 6-18 yaşta %8,2 (erkek %9,1, kız %7,3), yetişkinlerde obezite sıklığı, erkeklerde %20,5, kadınlarda ise %41,0 toplamda %30,3 olarak bulunmuştur. (19)

Türk İstatistik kurumu Türkiye Sağlık Araştırması, 2014 verilerine göre Türkiye’deki obezite oranı 2008 yılında %15,2 iken 2014 yılında artış göstererek %19,9’a ulaşmıştır. 2016 yılında DSÖ, Türkiye’de 16.092.644 obez birey bulunduğunu ve %29,5 obezite prevalansı ile Türkiye’nin, Avrupa’da obezitenin en sık görüldüğü ülke olduğunu bildirmiştir. (20)

Tablo 4. 2. Türkiye’de kadın ve erkeklerde BKİ değerlerinin yıllara göre dağılımı* (21)

Yıl	Düşük kilolu (%)	Normal kilolu (%)	Fazla kilolu (%)	Obez (%)	
2008	Toplam	4,2	48,2	32,4	15,2
	Erkek	2,7	48,1	36,9	12,3
	Kadın	5,9	48,2	27,4	18,5
2010	Toplam	4,7	45,5	33,0	16,9
	Erkek	3,5	46,1	37,3	13,2
	Kadın	5,9	44,7	28,4	21,0
2012	Toplam	3,9	44,2	34,8	17,2
	Erkek	2,7	44,7	39,0	13,7
	Kadın	5,1	43,6	30,4	20,9
2014	Toplam	4,2	42,2	33,7	19,9
	Erkek	2,8	43,7	38,2	15,3
	Kadın	5,5	40,7	29,3	24,5

* 15 yaş üzeri dahil edilmiştir.

4. 4. Obezitenin Güncel Tedavi Seçenekleri

DSÖ’ nün belirlediği BKİ sınıflamasına göre, 25 ve üzerindeki BKİ değerleri obeziteyi ve beraberinde HT, tip 2 DM, kardiyovasküler hastalıklar gibi kronik hastalık risklerini artırmaktadır. (22) Bu nedenle obezitenin tedavisi önem kazanmaktadır. Obezite tedavisi için güncel tedavi seçenekleri, sağlıklı beslenme ve yaşam tarzı değişikliği, egzersiz, ilaç tedavisi ve bariatrik cerrahi ameliyatlardır. Bu tedaviler tek başına ya da birlikte uygulanmaktadır. (15) Sağlıklı beslenme ve yaşam tarzı değişikliği, enerji alımı ve harcanması arasındaki dengelerin kontrolünü sağlar. (23) Obezitede ilaç tedavisi, BKİ değeri 27,0-29,9 veya 30 kg/m² olduğunda ve obezite ile ilgili komorbidite (örn., hipertansiyon, diyabet, obstrüktif uyku apnesi) durumunda önerilmektedir. (15) Güncel olarak obezitenin uzun süreli tedavisi için Orlistat, Lorkaserin, Fentermin/Topiramet ilaçları Amerikan Besin ve İlaç Dairesi tarafından onaylanmış ve kullanılmaktadır. (24, 25, 26) Ancak bu ilaçların

kardiyovasküler ve gastrointestinal yan etkileri olduğu rapor edilmiştir. (24, 26) Obezite tedavisi için, tercih edilen diğer bir tedavi şekli bariatrik cerrahidir. Cerrahi girişimler genellikle morbid obez (BKİ 40 kg/m²) ve obezite ile ilişkili komplikasyonları olan hastalara uygulanmaktadır. Gastrik bantlama veya gastrik bypass gibi bariatrik cerrahi işlemleri, sürekli kilo kaybı için etkili ancak invaziv ve B9, B12, anemi, rabdomiyaliz, kemik kaybı, A vitamini eksikliği, beslenmeyle ilişkili nöropati, Wernicke ensefalopatisi gibi komplikasyonlara neden olmaktadır. (15, 27) Tüm bu nedenlerden dolayı güvenilir ve etkili obezite ilaçlarına talep artmaktadır. Günümüzde obeziteyi engellemek için 100'den fazla ilaç adayını molekül üzerinde prelinik ve klinik aşamalarda çalışmalar yapılmaktadır. (15)

4. 5. Geçmişten Günümüze Obezite Farmakoterapisi

Tablo 4. 3. Geçmişten günümüze kilo vermek için kullanılan hormon ve ilaçlar (24)

İlaç/ Etkin MaddeAdı	En popüler kullanım zamanı	Advers etkileri
Tiroid hormonu	1900-1980ler	Azalmış yağsız vücut kütlesi, kardiyak aritmi, kardiyak arrest
Dinitrofenol	1930lar	Agronulositoz, dermatit, katarakt, fetal hipotermi
Rainbow pills	1940-1960lar	Miyokardial toksisite, ani ölüm
Aminoreks	1960lar	Pulmoner hipertansiyon
Fenfluramin/ Dexfenfluramin	1990lar	Pulmoner hipertansiyon, kalp kapağı hastalığı
Fenilpropanolamin	1970ler-1990lar	İntrakranial kanama, hemorajik inme
Efedra	1990lar-2000ler	Çarpıntı, hipertansiyon, kalp krizi, inme, ani ölüm
Rimonobant	2000ler	Depresyon, intihar düşüncesi

Obezitede ilaç tedavisi, on dokuzuncu yüzyılın sonlarında koyun tiroid hormonu özütünün metabolik hızı arttırma ve kilo kaybına sağlama etkilerinin keşfedilmesiyle başlamıştır. 1930'larda, 2,4-dinitrofenol, metabolik hızı arttıran, popüler bir obezite

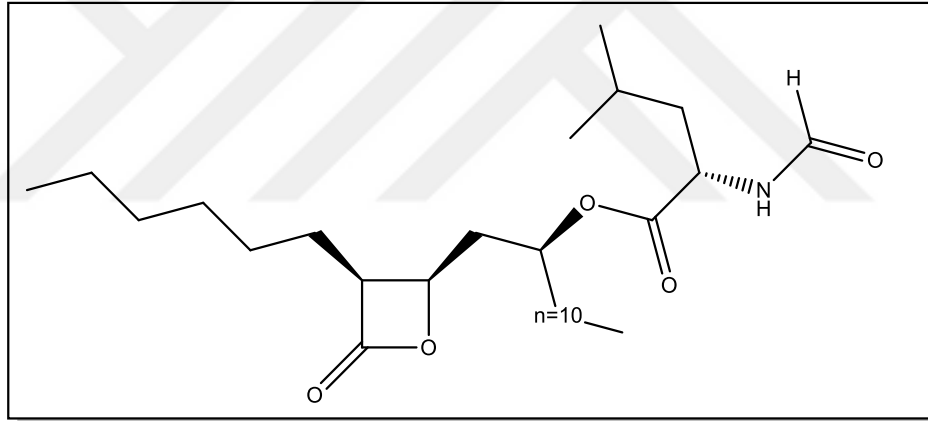
ilacı haline gelmiş ancak agranülositoz, dermatit, kataraktlar ve ölümcül hipertermi gibi advers etkileri nedeniyle kullanımını durdurulmuştur. 1940'lı yıllardan 1960'lı yıllara kadar, amfetaminler, dijitalis, tiroid hormonu, diüretik ve müşil kombinasyonları, barbitüratlar kullanılarak oluşturulan zayıflama ilaçları sinirlilik, hiperaktivite, miyokard toksisitesi ve ani ölüm ile ilişkilendirilmiştir. Daha sonrasında kafein ve/veya guarana ile birlikte efedra alkaloidleri içeren besin takviyeleri, obezite tedavisi için kullanılmaya başlanmış ve çok popüler olmuştur. Bu preparatların yapılan çalışmalar sonucunda çarpıntı, hipertansiyon, kalp krizi, felç ve ani ölüm gibi advers etkilere neden olduğu bildirilmiş ve ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından 2004'te efedra satışı yasaklanmıştır. Son zamanlarda, piyasada kilo kaybı için reçetesiz satılan çok fazla ürün bulunmaktadır. Bu ürünlerin, karbonhidrat metabolizmasını düzenlediği (örneğin, krom, ginseng), tok kalma süresini uzattığı (örneğin, çözünür lif içerikli takviyeleri-guar sakızı, glukomannan, psyllium) ve yağ oksidasyonunu sağladığı (hidroksisitrik asit, konjuge linoleik asit, yeşil çay, meyan kökü , piruvat, vitamin B6, l-karnitin) ve lipid absorpsiyonunu bloke ettiği iddia edilmektedir. Bu ürünlerin, aşırı kilolu veya obez olan hastalarda kilo kaybına etkisi klinik çalışmalarla desteklenmemiş ve uzun vadeli güvenilirlikleri ile ilgili hiçbir kanıt bulunmamıştır. 2006 yılında piyasaya çıkan güçlü ve seçici bir endokannabinoid (CB1 reseptörü) antagonisti olan rimonabant ilacı, uzun vadeli obezite tedavisinde FDA onayı alması beklenen umut verici bir ilaçtı. Ancak rimonabant tedavisinin depresyon ve intihar riskinde artış göstermesi gibi psikiyatrik yan etkilerinden dolayı ilaç onaylanmamıştır. Geçmişten günümüze obeziteyi önlemek veya tedavi etmek amacıyla çok fazla ilaç kullanılmıştır. Ancak bunların birçoğu hayal kırıklıkları, güvensiz uygulamalar, kötüye kullanımlar, sınırlı etkinlik ve ciddi yan etkilerle sonuçlanmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, ghrelinin serin aminoasidine oktanoil molekülünü ekleyen bu sayede hormonun iştah mekanizmasına etkisini sağlayan GOAT enzimi yeni bir moleküler hedef olarak tanımlanmıştır. (24)

2018 yılında, Rhythm Pharmaceuticals firması, T-3525770 orjinal kodlu GOAT inhibitörü molekülü, RM-853 kodu ile PraderWilli Sendromu tedavisinde kullanılmak üzere prelinik aşamaya getirmiştir. (28)

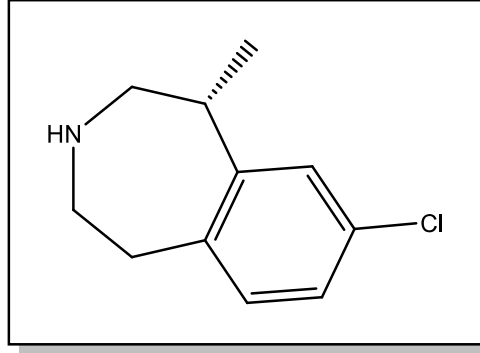
4. 6. Obezitenin Güncel Farmakolojik Tedavi Mekanizmaları

Güncel olarak obezitenin uzun süreli tedavisi için Orlistat, Lorkaserin, Fentermin/Topiramet adındaki ilaç etken maddeleri Amerikan Besin ve İlaç Dairesi tarafından onaylanmış ve kullanılmaktadır. (24, 25, 26) Orlistat, periferal sinir sistemine etki eden gastrik ve pankreatik lipaz inhibitörü bir ilaçtır. Lorkaserin, serotonin veya 5-HT (5-Hidroksitriptamin) agonistidir. Yağ ve kalori alımını kontrol eden 5-HT_{2C} reseptörlerini seçici olarak aktive eder. Fentermin ve topiramet birlikte kullanılmaktadır. Fentermin, sempatomimetik aminler olarak adlandırılan bir ilaç sınıfına aittir. Topiramet, antikonvülsan veya anti epileptik ilaç olarak bilinir. (29) Fentermin ve topiramet birlikte iştahı baskırlar.

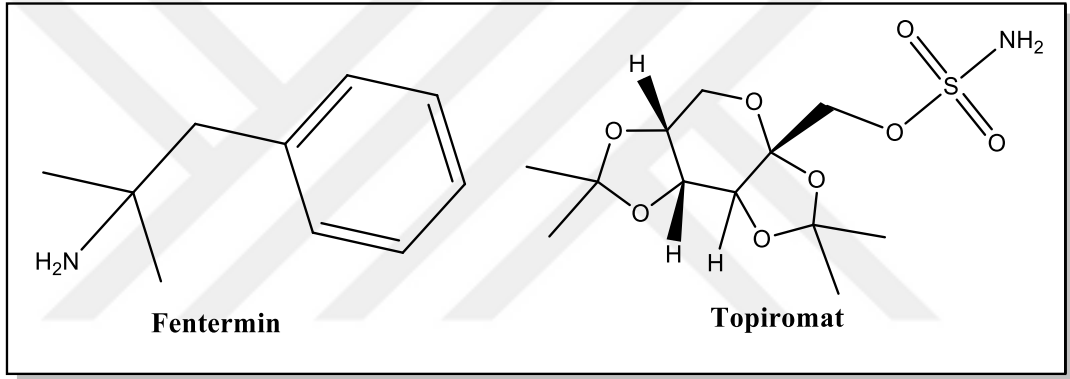
Yukarıda bahsi geçen ilaçların kimyasal yapıları aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 4. 2. Orlistat (Gastrik ve pankreatik lipaz inhibitörü) (30)



Şekil 4. 3. Lorkaserin (Serotonin agonisti) (30)



Şekil 4. 4. Fentermin ve topiramate (Fentermin ve topiramate birlikte iştah baskılayıcı) (30)

Tablo 4. 4. Güncel Obezite İlaçları ve Etki Mekanizmaları (25)

İlaç/ Etkin Madde Adı	Aksiyon mekanizması	Tanımlanmış-gerçekleşmiş	Yan etkiler
Contrave (Naltrekson+ Bupropiyon)	Nöradrenalin/dopamin gerilim inhibitörü ve opioid reseptör antagonisti	2011’de reddedildi.	Kardiyovasküler yan etkiler
Empatic (Zonisamid+ Bupropiyon)	Nöradrenalin/dopamin gerilim inhibitörü ve antikonvülsan	Faz 3 aşaması	Bulantı, baş ağrısı, insomnia, anksiyete
Fen-Phen (Fenfluramin+ Fentermin)	Serotonin/nöradrenalin salgılayıcı	1992-1997 (sadece USA)	Kalp kapağı hastalığı, pulmoner hipertansiyon
Belviq (Lorkaserin HCl)	5-HT _{2C} agonisti	2012-günümüz (sadece USA)	Baş dönmesi, baş ağrısı, insomnia
Xenical (Orlistat)	Gastrik ve pankreatik lipaz inhibitörü	1999-günümüz	Yağlı gaita
Phentermin (Fentermin)	Nöradrenalin salgılayıcı, sempatomimetik	1959-günümüz (sadece USA)	Sadece hipertansiyon dışı hastalıklarda kısa süreli kullanılır.
Qsymia (Topiramate+ Fentermin)	Nöradrenalin salgılayıcı, anti-convülsan	2012-günümüz (sadece USA)	Baş dönmesi, baş ağrısı, insomnia
Rimonobant (Rimonobant HCl)	CB ₁ reseptör antagonisti	2006-2008 (sadece Avrupa)	Depresyon ve anksiyete
Sibutramin (Sibutramin HCl Monohidrat)	Serotonin/nöradrenalin gerilim inhibitörü	1997-2010	Artmış inme ve miyokard infarktüsü riski
Tesofensin	Serotonin/nöradrenalin/dopamin gerilim inhibitörü	Faz 3 aşaması	Depresif mod, kardiyovasküler yan etkiler

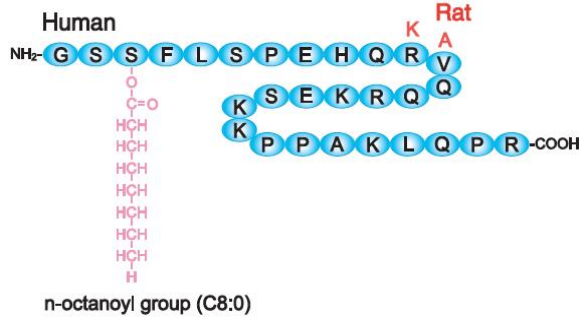
4. 7. Ghrelin İnhibisyonunun Obezite Tedavisi Açısından Önemi

Ghrelin, periferik sinir sisteminde ve beyin farklı bölgelerinde özellikle hipotalamustan köken almaktadır. Hipotalamusta ghrelin reseptörlerinin aktivasyonu farklı sinyal yollarıyla başlamakta ve besin alımındaki değişikliklere yol açmaktadır. (31) Bu konuda yapılan araştırmaların amacı bu moleküler yolları karakterize etmek ve tanımlamaktır. (32)

Vücut ağırlığı periferik ve santral faktörleri içeren kompleks bir sistem tarafından düzenlenmektedir. (31) Vücudumuzda, enerji harcanması ve iştah kontrolünde birçok mekanizma görevlidir. (32) Ghrelin, metabolizmada besin alımı ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle ghrelin, vücut ağırlığı düzenlemesi için potansiyel bir ilaç hedefi olarak tanımlanmaktadır. Obez bireyler kilo verdiklerinde, bu kilo kaybını telafi etmek için ghrelin düzeyleri artmaktadır. Sıkı bir diyet ve beraberinde ghrelin antagonistlerini kullanması, obez bireylerin kan ghrelin seviyelerini düzenleyerek daha kolay kilo vermelerini sağlayabilir. (31) Dolaşımdaki ghrelin seviyeleri açlık durumunda yükselmekte, beslenme sonrasında baskılanmaktadır. Bu nedenle ghrelin sinyalinin inhibe edilmesi obezite tedavileri için önemli bir hedefdir. Obezite tedavisinde, ghrelin sinyalinin baskılanması için, ghrelin reseptörünün antagonize edilmesi, ghrelinin nötralize edilmesi ve GOAT enziminin inhibisyonu gibi yöntemler hakkında pek çok araştırma yapılmıştır. (5) Kemirgenlerde ve insanlarda, obezite tedavisi için birkaç ghrelin reseptörü antagonisti geliştirilmiş ve test edilmiştir. Ghrelin reseptörü antagonistlerinin yapısı, çoğunlukla peptid yapısında büyük moleküllerdir. Yapılan çalışmalar, ghrelin reseptörü antagonistlerinin gıda alımını ve vücut ağırlığını azaltması için intraserebroventriküler olarak verilmesi ve KBB (Kan Beyin Bariyeri)'yi geçmesi gerektiğini bildirmiştir. Buna ek olarak, ghrelin'e karşı aşılama ve ghrelin geni transkripsiyonu inhibisyonu içeren ghrelin nötralize etme stratejileri geliştirilmiştir. Bununla birlikte, ghrelin hormonunu antagonize etmek için kullanılan bu yaklaşımlar obezitenin önlenmesinde ve tedavisinde çok sınırlı bir başarıya sahiptir. (33) Ghrelinin etkisini inhibe etmenin diğer bir yolu da GOAT'ı inhibe etmektir. Bu enzim cazip bir hedefdir. Çünkü ghrelin oktanoillenmiş olduğu bilinen tek proteindir. Dolayısıyla, GOAT inhibisyonunun yalnızca bir proteini değiştireceği

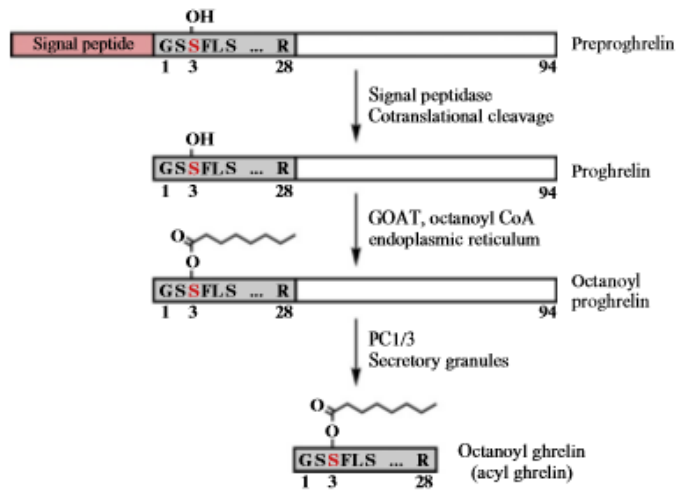
düşünülmektedir. (9) Yapılan birçok araştırmaya, ghrelinin keşfinden sonraki 10 yıl içinde piyasaya ghrelin tabanlı bir obezite ilacı ulaşmamıştır. (5)

4. 8. Ghrelin ve Ghrelin O-Açıl Transferaz İlişkisi



Şekil 4. 5. İnsan ve sıçan ghrelinlerinin yapıları (34)

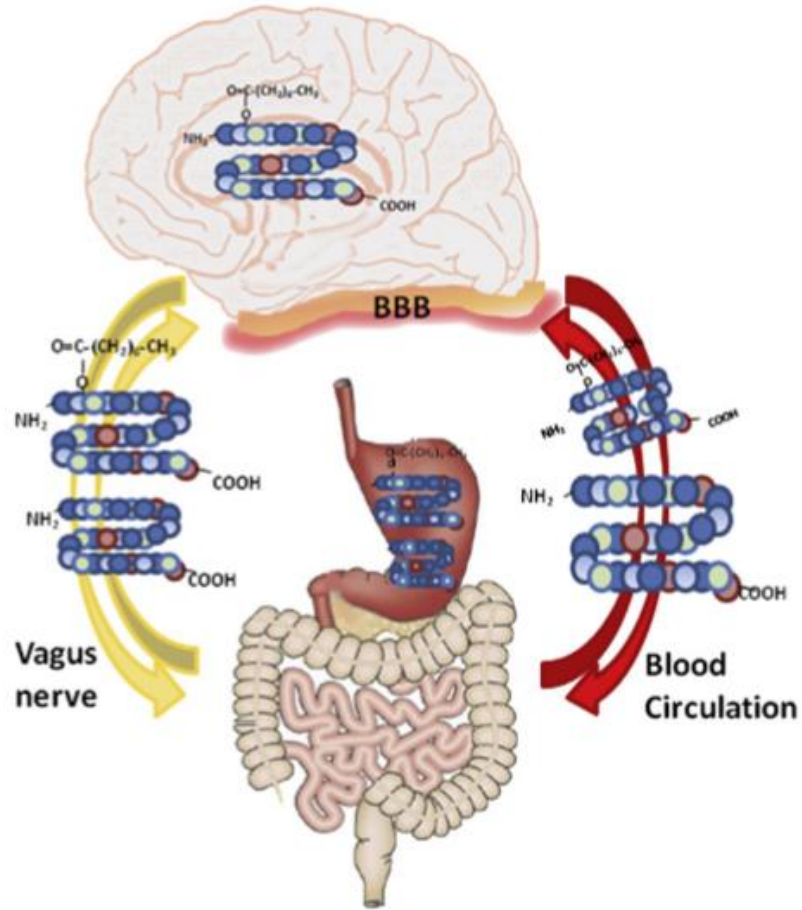
Ghrelin, mideden salgılanan 28 aminoasitli bir peptid hormondur. (5) Ghrelinin N ucundan 3.aminoasidine 'serin' adı verilmektedir. (35) Ghrelinin 3. aminoasidi serin'e GOAT adlı enzim tarafından oktanoil grubu kovalent bağlanır ve ghrelin hormonu aktif formuna dönüşerek açlık sinyali olarak hareket etmektedir. (5, 36) Ghrelin, oktanoil grubu olmadan önce aktif halde değildir. (37) Ghrelin, GSH-R1a izoformunun endojen ligandıdır. Ghrelin, direkt olarak hipofiz hücrelerinden büyüme hormonunun serbest bırakılmasını stimüle etmekte ve dolaylı olarak büyüme hormonu salgılanması için büyüme hormonu salgılatıcı hormon ile sinerjik etki yapmaktadır. (33)



Şekil 4.6. Ghrelinin biosentetik yolağı: Ghrelin ilk olarak, bir sinyal peptidi, 28 amino asitli ghrelin dizisi ve 66 amino asitli C-terminal peptid içeren 117 amino asitli preproghrelin

olarak sentezlenmiştir. Sinyal peptidi, 94 amino asitli progrelini endoplazmik retikulum (ER) lümenine salarak kotranslasyonel olarak bölünmüştür. Oktanoil grubunun progrelin'in Ser3'üne bağlanması GOAT kataliziyle ER'de gerçekleşmiştir. Daha sonra salgı granüllerinde, prohormon konvertaz 1/3 (PC1/3), açıl ghrelin oluşturacak şekilde açıl proghrelin C-ucundan bölünmüştür. (35)

Ghrelin hormonunun açillenmiş ve açillenmemiş ghrelin adında iki formu vardır. Açlık sinyali olarak hareket eden ghrelin formu, dolaşımda %10-15 oranında bulunan açillenmiş ghrelindir. (38) Bu oktanoyilleme, ghrelinin GHS-R1a'ya bağlanması ve aktivasyonu için şarttır. (3, 39)



Şekil 4. 7. Beyin ve bağırsak arasındaki ghrelin yolağı: Mide, ghrelin üretiminin en önemli yeridir. Ancak ghrelin, merkezi olarak da beyinde üretilmektedir. Des- açıl ghrelin, endojen ghrelinin dolaşımdaki önemli bir formudur. Açillenmiş ve açillenmemiş ghrelin her ikisi de vagus siniri vasıtasıyla, transmembran difüzyon yoluyla veya aktif taşıma ile BBB'yi geçerek beyne girebilir. (40)

Yapılan son çalışmalara göre, ghrelinin oktanoillenmesinden yani aktifleşmesinden sorumlu enzim GOAT'dır. (3) GOAT, membran bağımlı bir enzimdir ve serin aminoasidinin oktanoillenmesinden sorumludur. Yani, GOAT, ghrelinin iştah ve diğer nöroendokrin fonksiyonları için elzemdir. Dolayısıyla bu enzimi inhibe etmek, ghrelin hormon salgılanmasını engellemek ve bu sayede obeziteyi tedavi etmek için önem arz etmektedir. (9)

4. 9. Ghrelin ve İştah Mekanizması

Hipotalamik arkuat nükleus merkezi sinir sistemindeki ghrelin aktivitesinin ana bölgesidir. Bu lokalizasyon, gıda alımı kontrolünde ghrelinin rolü olduğunu düşündürmektedir. Ghrelin, vagal afferentler yoluyla veya kan dolaşımı yoluyla, çeşitli merkezi hedeflerde hareket ederek besin alımını uyarmaktadır. (32) Ayrıca yapılan çalışmalar ghrelinin, dorsal, ventral, paraventriküler ve arkuat hipotalamik çekirdekler arasındaki hipotalamik nöronlarda eksprese edildiğini göstermiştir. (34) Yetişkin memelilerde, ghrelinin en fazla bulunduğu doku midedir. Midede, ghrelini sentezleyen ve salgılayan hücreler, fundustaki X/A enteroendokrin hücreleridir. Dolaşımdaki ghrelinin üçte ikisi midenin X/A hücreleri tarafından, kalan kısmı çoğunlukla ince bağırsağın X/ A hücrelerinden üretilmektedir. (3)

Ghrelin, enerji homeostazını uzun dönemde ve kısa dönemde olmak üzere iki şekilde düzenlemektedir. Ghrelin, uzun vadede vücut ağırlığı ve yağlanmayı, kısa dönemde gıda alımını düzenlemektedir. Dolaşımdaki ghrelin seviyesi, iştah ve yemek alımını teşvik etmek için yemeklerden önce artmakta, yemeklerden sonra azalmaktadır. Yapılan çalışmalarda, ghrelinin gastrik boşalma oranını ve motilitesini arttırarak iştahı artırma mekanizması olduğu gösterilmiştir. (32) Korbonits ve ark. ghrelin'in bu mekanizmasını üç farklı yolak üzerinden değerlendirmiştir. İlk olarak, mide tarafından kan dolaşımına bırakıldıktan sonra, ghrelin KBB'yi geçebilmekte ve hipotalamustaki reseptörlerine bağlanabilmektedir. İkinci olarak, ghrelin beyine vagal sinir ve çekirdek traktüs solitarus vasıtasıyla ulaşabilmektedir. Üçüncüsü, ghrelinin hipotalamusta lokal olarak üretilmesi, burada hipotalamik çekirdeği doğrudan etkileyebilmektedir. Ghrelin, bu mekanizmalarla çeşitli hipotalamik

peptitlerin ekspresyonunu sağlayarak besin alımı ve vücut ağırlığını artırmaktadır.
(31)

4. 10. Ghrelin ile İlgili Literatürde Yer Alan Çalışmalar

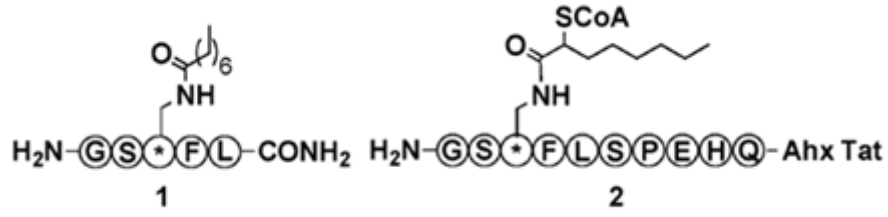
Ghrelini ya da reseptörünü kodlayan genin inaktivasyonu, yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde obezite oluşumunu engellemiştir. Bu çalışma, ghrelin inaktivasyonunun insanlarda obeziteye karşı koruyucu olabileceği hipotezine yol açmıştır. (9) Hayvanlarda ve insanlarda, ghrelinin infüzyonu iştahı ve besin alımını arttırmıştır. Ayrıca hayvanlarda kronik, periferik veya merkezi olarak ghrelin uygulanması, vücut ağırlığı ve yağlanmayı arttırmıştır. Uzun vadeli ghrelin uygulaması, sadece yiyecek alımını teşvik etmekle değil, enerji harcamasını da düzenleyerek kilo alımını ve adipoziteyi arttırmıştır. Ghrelin, doğrudan adipogenezi teşvik etmekle birlikte lipoliz, adiposit apoptozu, enerji harcaması ve sempatik sinir sistemi aktivitesi, vücut sıcaklığı, pro-inflamatuvar sitokin üretimi ve lokomotor aktiviteyi de azaltabilmektedir. (32) Ghrelin, sıçanların serebral ventriküllerine enjekte edildiğinde, besin alımları potansiyel olarak uyarılmıştır. Ghrelin'in kronik intraserebroventriküler enjeksiyonu ile sıçanlarda enerji harcaması azalmış, kümülatif yiyecek alımı ve vücut ağırlığı artmıştır. Ghrelin enjekte edilen farelerde, hem yağ kütesinin hem de toplam vücut ağırlığının arttığı görülmüştür. Ghrelinin sadece intraserebroventriküler enjeksiyonu değil, aynı zamanda intravenöz ve subkutan enjeksiyonu da besin alımını arttırmıştır. Ghrelin, önce gastrointestinal organlarda açlığa tepki olarak üretilmekte ve sonra kan dolaşımıyla periferik sinyaller vererek merkezi sinir sistemine beslenilmesi gerektiğini söylemektedir. Keşfedilen oreksijenik peptitler arasında, ghrelinin en güçlü olduğu bulunmuştur.
(34)

Rodentlerde, ghrelin uygulanması büyüme hormonu salgısını, besin alımını ve adipoziteyi uyarmaktadır. Bu etkilerinden dolayı, obezite tedavisi için ghrelinin inhibe edilmesi geniş çapta araştırılmıştır. Yapılan bir çalışmada Spiegelmer NOX-B11'in ghreline bağlanan sentetik bir L-oligonükleotid olduğu kanıtlanmıştır. Kobelt ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada NOX-B11'in ghrelin kaynaklı

nöronal aktivasyon ve besin alımı üzerine etkisi araştırılmıştır. NOX-B11'i çeşitli dozlarda alan sıçanların besin alımı ölçülmüştür. Spiegelmer NOX-B11 ghrelin antagonisti'nin, sıçanlarda, arkuat nükleusta, ghrelin kaynaklı besin alımını baskıladığı ve periferik ghrelinin oreksijenik ve nörostimulatör etkilerini inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu yüzden ghrelin antagonisti Spiegelmer NOX-B11'in kullanımının, dolaşımdaki ghrelinin işlevlerini inhibe etmek için yeni inovatif bir yaklaşım olabileceği belirtilmiştir. (41) Kemirgenlerde, merkezi ve periferik ghrelin uygulanması gıda alımını ve vücut ağırlığını artırmıştır. Aksine, intraserebroventriküler anti-ghrelin IgG uygulaması güçlü bir şekilde beslenmeyi bastırmıştır. (42) Ghreline karşı geliştirilen bu aşı, domuzlar ve sıçanlar üzerinde yapılan prelinik çalışmalarda vücut ağırlığının azaltılmasını sağlayarak oldukça umut verici sonuçlar vermiştir. Bununla birlikte, yüksek yağlı bir diyetle beslenen farelerde, anti-ghrelin aşısı, gıda alımını akut olarak azaltsa da, vücut ağırlığını azaltmada başarısız olmuştur. (43) Yapılan bir çalışmada, ghrelinin farelerde ve sıçanlarda uzun süreli uygulanmasının kilo ve yağlanmayı arttırdığı gösterilmiştir. Kemirgenlerde, ghrelinin periferik sinir sistemine uygulanmasından sonra oreksijenik etkilerinin, sırasıyla c-Fos pozitif nöronlarında artış, hipotalamustaki arkuat nükleus nöronlarını uyarma, son olarak iştah mekanizmasını uyarma şeklinde gerçekleştiği bildirilmiştir. İnsanlarda, ghrelin'in intravenöz uygulanması iştahı tetiklemiş ve açık büfe bir yemekte besin alımında %28' lik bir artışa neden olmuştur. İnsanlarda ekzojen ghrelin verilmesi, lipolizi uyarmış ve serbest yağ asitlerini artırmıştır. (11)

4. 11. GOAT İnhibisyonu ve Obezite

GOAT, MBOAT enzim ailesine aittir. Kemirgenlerde GOAT'u kodlayan gen olan MBOAT4'ün ekspresyon yerleri mide, bağırsak, kolon ve testis iken, insanlarda mide, bağırsak ve pankreasır. GOAT, ghrelinin ER içerisinde oktanoilasyonunu katalize etmektedir. (11) Oktanoil grubunun progrelin Ser3'üne eklenmesi ER'de gerçekleşir ve ghrelin ile katalize edilir. GOAT, moleküler olarak 2008'de tanımlanmıştır. GOAT, 45 kDa'lık bir transmembran proteindir.



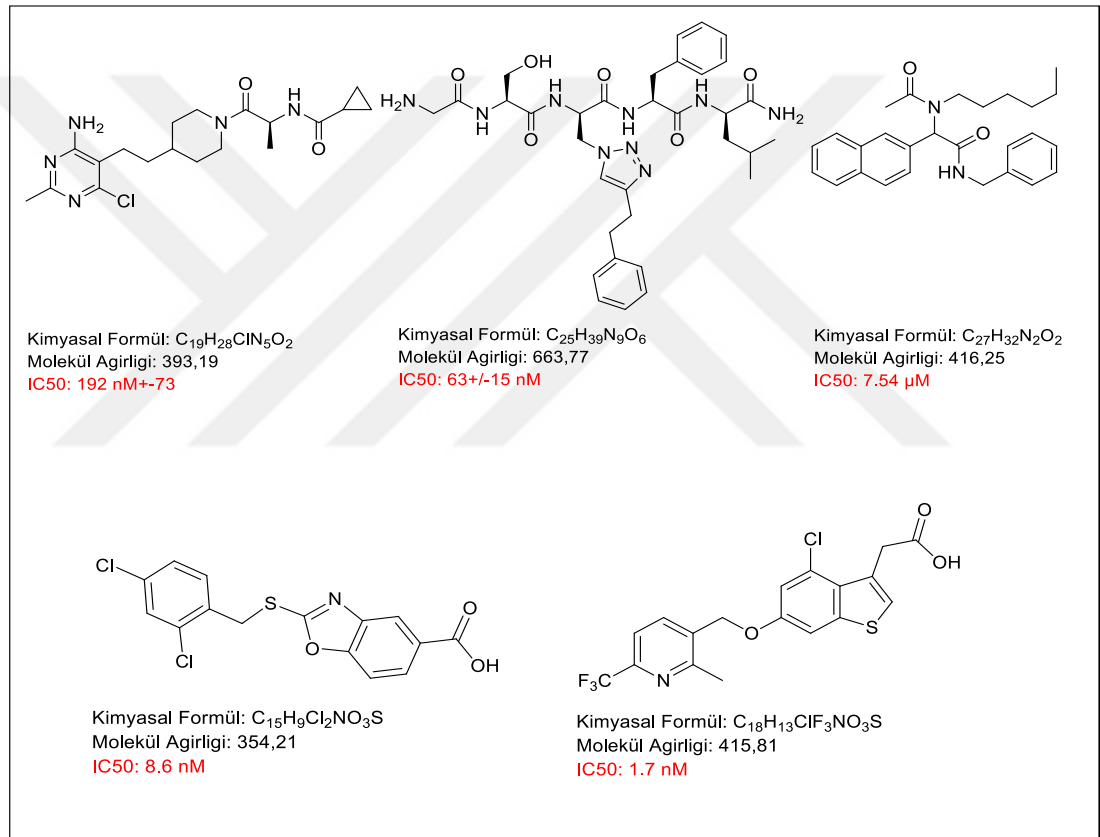
Şekil 4. 8. Literatürde bulunan peptit tabanlı GOAT antagonistleri, * =Diaminopropionik asit. Ahx=aminohekzaanoat. (44)

Yapılan çalışmalarda, GOAT enzimi inhibe edilmek istendiğinde iki mekanizmadan yararlanılmıştır. Bunlardan birincisi, Asetil CoA'ya bağlanmış uzun zincirli yağ asidi kalıntılarının değiştirilmesi, ikincisi, GOAT'ın substrat tanıma dizisi olan glisin-1, serin-3 ve fenilalanin-4 aminoasitlerinin değiştirilmesi şeklindedir. Bu iki mekanizma muhtemel GOAT agonistleri ve antagonistlerinin gelişimi için çok önemlidir. Çünkü bu amino asitlerin birinin değiştirilmesi GOAT üzerinde inhibe edici etkilere yol açmaktadır. (9) Barnett PB ve arkadaşları peptit bazlı bisubstrat analogu “GO-CoA-Tat” isimli GOAT inhibitörünün dizaynı, sentezi ve karakterizasyonunu açıklamışlardır. GO-CoA-Tat, hücre kültürü ve fareler üzerinde GOAT’ı inhibe etmiştir. Farelerde GO-CoA-Tat’ın intraperitoneal uygulanması, glukoz toleransını iyileştirmiş ve kilo kazanımını azaltmıştır. Sonuç olarak GO-CoA-Tat’ın tanımlanması GOAT’ın metabolik hastalıklar için klinikte hedef haline gelmesine katkı sağlayabileceği belirtilmiştir. (45) Başka bir çalışmada GO-CoA-Tat’ın (Şekil 4. 8, bileşik 2) *in vivo* enerji ve glikoz homeostazı üzerine olumlu etkileri olduğu rapor edilmiştir. GO- CoA-Tat' ın GOAT inhibisyonu üzerindeki etkileri, yabani tip farelerde test edilmiş, GO-CoA-Tat uygulanmasından 6 saat sonra maksimum GOAT inhibisyonu gerçekleşmiş ve serumda açıl ghrelin konsantrasyonları azalmıştır.

GO-CoA-Tat farelerde açillenmemiş ghrelin konsantrasyonlarını değiştirmemiştir. (32) Yang ve arkadaşları, GOAT tanıma dizisine tekabül eden, ghrelinin serin-3 oktanoillenmiş kısmının, (S) -2,3-diaminopropiyonik asit ile değiştirilmesiyle C-ucunda amitleşmiş, bir GOAT inhibitörü pentapeptit (Şekil 4. 8, bileşik 1) elde etmişlerdir. (9)

Garner ve arkadaşları çalışmalarında ugi çok bileşenli reaksiyonuna göre, alifatik karboksilik asitler, çeşitli aminler ve benzilizonitril kullanarak naftalen türevi GOAT antagonisti, küçük moleküller sentezlemişlerdir. Bu bileşiklerin agonizm veya antagonizm analizleri yapılmıştır. Sonuçta obezite ve diyabete karşı umut vadeden ilaç hedefi GOAT antagonisti bir küçük molekül elde etmişlerdir. (44)

Literatürde küçük molekül olarak bilinen GOAT inhibitörlerinin kimyasal yapıları ve IC₅₀ değerleri aşağıda Şekil 4. 9'da gösterilmektedir. (44, 46, 47, 48)



Şekil 4. 9. Literatürde bulunan GOAT inhibitörleri kimyasal yapıları

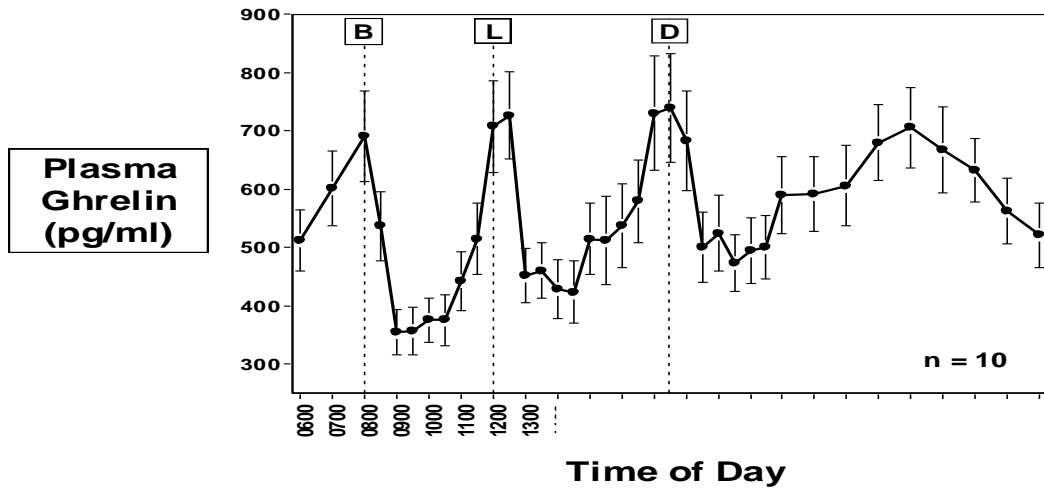
4. 12. Beslenmenin Ghrelin Sekresyonuna Etkisi

Kan ghrelin seviyeleri, büyük oranda vücudun akut ve kronik beslenme durumlarına göre belirlenmektedir. Ghrelin seviyeleri, sığırlarda ve insanlarda yemek öncesi artış ve yemek sonrası azalma göstermektedir. Açlık, plazma ghrelin düzeylerini arttırırken, besin alımı plazma ghrelin seviyesini düşürmektedir.

Tablo 4. 5. Ghrelin hormonunun mideden sekresyonuna etki eden faktörler

Faktör	Ghrelin hormonu üzerine etkisi
Besin alımı	Azaltır
Yaş	Azaltır
Cinsiyet	Kadınlarda daha yüksek
BKİ	Azaltır
Büyüme hormonu	Azaltır
Glukoz	Azaltır
İnsülin	Azaltır

Leptin hormonunun, dolaşımdaki ghrelin seviyelerinde etkisi olduğu ileri sürülmüştür. Leptinin enerji homeostazındaki etkileri, ghrelininkilerle ters orantılıdır (tamamlayıcı olmamakla birlikte); leptin, besin alımının bastırılmasıyla kilo kaybına neden olurken, ghrelin iştah uyarıcı bir sinyal olarak işlev görmektedir. (31)



Şekil 4. 10. Yemek Öncesi ve Yemek Sonrası Kan Plazma Ghrelin Seviyelerindeki Değişim (49)

Kan plazma ghrelin konsantrasyonu, açlık durumunda artarken besin alımından sonra azalmaktadır. Plazma ghrelin seviyeleri, her yemekten önce artmakta ve yemekten sonra 1 saat içinde minimum seviyelere düşmektedir. Plazma ghrelin seviyelerindeki beslenmeye bağlı bu değişimler, ghrelinin besin alımı için başlangıç sinyali olduğu

görülmektedir. Yapılan bir çalışmada ghrelin düzeylerindeki preprandiyal artış, beslenmeyi başlatmıştır. Son zamanlarda orta zincirli yağ asitleri veya MCT alımının, toplam (açillenmiş ve açillenmemiş) ghrelin seviyesini değiştirmeden açil ghrelin üretimini spesifik olarak artırdığı bildirilmiştir. Bu bulgular, alınan yağ asitlerinin ghrelinin açillenmesi için doğrudan kullanıldığını göstermiştir. (34) Oral veya intravenöz glukoz uygulaması plazma ghrelin konsantrasyonunu düşürmektedir. Plazma ghrelin konsantrasyonu bir öğün içeriğine de bağlıdır. Ghrelin seviyeleri, yüksek yağlı bir yemekle azalmış, diyetle MCT'nin eklenmesi, dolaşımdaki açil ghrelinin miktarını önemli ölçüde arttırmıştır. Transgenik fareler üzerinde yapılan çalışmalarda, fareler standart diyetle beslendiğinde, yabani tip farelerle benzer şekilde normal açil ghrelin konsantrasyonu bulunmuştur. Transgenik fareler, MCT içeren diyetle beslendiklerinde dolaşımda açil ghrelin seviyesi artmış ve bu da yabani tipli farelere kıyasla vücut ağırlığının ve yağ kütlelerinin artmasına neden olmuştur. Bu veriler, GOAT'ın ve açil ghrelinin düzenlenmesinin, besin alımına bağlı olduğunu açıkça göstermiştir. (33) Bir çalışmada düşük yağ/yüksek karbonhidratlı bir diyetin plazma ghrelin düzeylerinde bir artış olmaksızın kilo kaybıyla sonuçlandığından, düşük yağlı bir diyetin ghrelin düzeylerinde inhibe edici bir etkiye sahip olduğu düşünülmüştür. Bir başka çalışmada, sağlıklı kadınlarda yüksek karbonhidratlı bir diyetin ghrelin düzeylerinde yüksek yağlı diyetlere göre daha büyük bir düşüşe neden olduğu gösterilmiştir. Protein sindiriminin ghrelin seviyelerine etkisi, çelişkili sonuçlar vermektedir. Sağlıklı kadınlarda, Psyllium lifi kullanımı plazma ghrelin düzeylerinin düşmesine neden olmuştur. Bu veriler, obez kişiler için, besin alımını ve vücut ağırlığını düzenlemek için belirli bir diyet takibinin önemli olduğunu göstermektedir.

4. 13. Obezite ve Bazı Hastalıkların Ghrelin Sekresyonuna Etkisi

Ghrelin seviyeleri, enerji depoları ile ters orantılıdır ve vücut ağırlığı değişikliklerine yanıt olarak kilo kaybıyla yükselmekte, kilo kazanımıyla düşmektedir. (32) Dolaşımdaki ghrelin seviyeleri, obezite ile azalmaktadır. Ghrelinin bu etkisinde bazı istisnalar vardır. Bunlar, mide baypas ameliyatı sonrasında kilo vermiş olan hastalar ve hiperfaji ve obezite ile karakterize genetik bir hastalık olan Prader-Willi sendromu hastalarıdır. Bu bireylerde ghrelin seviyeleri yüksektir. Özellikle ghrelin, Arg-51-

Gln, prepro-grelin ve prepro-grelin Leu-72-Met genleri obezite ile ilişkili bulunmuştur. (42)

Plazma ghrelin konsantrasyonu obez bireylerde düşük iken zayıf bireylerde yüksektir. Bu duruma bağlı olarak, plazma ghrelin seviyesi anoreksiya nervoza hastalarında yüksekken, kilo alımı ve hastalığın iyileşmesiyle normal seviyelere dönmektedir. Bulimiya nervoza hastalarında da ghrelin seviyeleri yüksektir. Gastrik baypas ameliyatının, çok düşük plazma ghrelin düzeylerine neden olduğu gösterilmiştir; bu durum, besinlerin alımını azaltmada prosedürün başarısına katkıda bulunduğunu düşündürmektedir. (41) Mide baypası olan hastalar kilolarını kaybettikleri için ameliyat sonrasında ghrelin düzeyleri azaltmaktadır. Kısa bağırsak sendromlu hastalarda, plazma ghrelin konsantrasyonu ghrelin üreten dokuların kaybından dolayı azalmaktadır. (34)

4. 14. Moleküler Doklama ve İlaç Keşfi

4. 14. 1. Moleküler Doklama Nedir?

Moleküler doklama, iki molekülün etkileşimini belirlemek ve minimum enerji ile bir kompleks oluşturacak en iyi ligand oryantasyonunu bulmak için kullanılır. Ligand olarak bilinen küçük molekül, genellikle arama algoritması ile tahmin edilen proteinin cebine uyar. (50) Küçük moleküllü bir ligand ve protein arasındaki bağlanma etkileşimi bir enzimin aktivasyonu veya inhibisyonu ile sonuçlanabilir. Protein bir reseptör ise, ligand bağlanması agonizm veya antagonizma ile sonuçlanabilir. (51) Doklama uygulamasının temelini, moleküller arasındaki elektrostatik kuvvetler (dipol dipol etkileşimleri), elektrodinamik kuvvetler (van der waals etkileşimleri), sterik kuvvetler solvent ile ilgili kuvvetler (hidrojen bağları (hidrofilik ve hidrofobik etkileşimler) oluşturur. Doklama, küçük moleküllerin protein hedeflerine bağlanmasını, afinitesini ve aktivitesini tahmin etmek için iyi bir yöntemdir. Bu nedenle, doklama rasyonel ilaç tasarımında önemli bir rol oynar. Sonuçlar, etkileşen enerjiyi hesaplayan ve doklama puanı olarak adlandırılan sayısal değerlere dönüştüren istatistiksel bir puanlama fonksiyonu ile analiz edilir. (50)

4. 14. 2. Moleküler Doklama ve İlaç Keşfi

İlaç keşfinde amaç, belirli bir protein hedefine doğal substrattan daha güçlü bir şekilde bağlanan ilaçları elde etmektir. Moleküler doklama uygulaması ile proteinlere karşı hedeflenen öncü molekül adaylarını optimize ederek *in siliko* olarak ilaç adayı tasarlanır. (52)

Doklama, ilgili protein hedefine bağlanması muhtemel molekülleri tanımlamak için *in siliko*'daki potansiyel ilaçların veritabanlarını hızla taramak ve bir protein bağlanan ligandın (bağlama modu veya pozü) nispi yönünü tahmin etmek için kullanılabilir. Bu tahmin daha güçlü ve seçici analoglar tasarlamak için önemlidir. (51)

4. 14. 3. Doklama Programı Autodock Vina

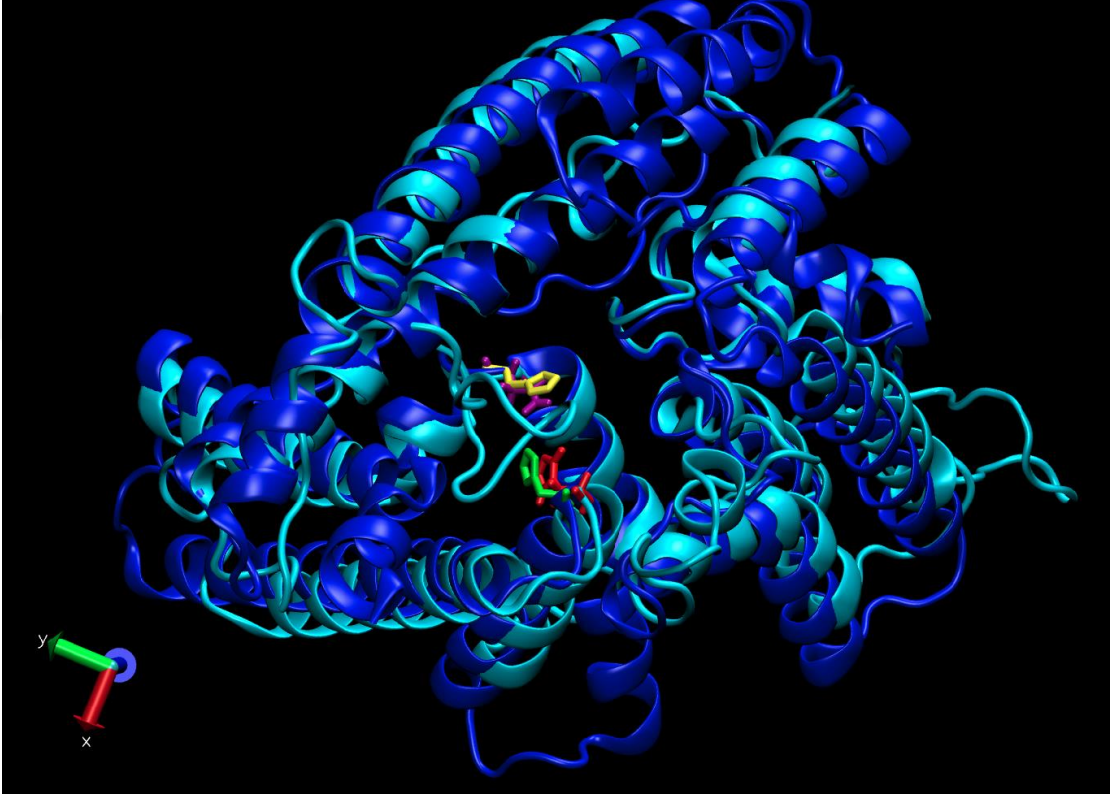
AutoDock Vina, Scripps Araştırma Enstitüsü Moleküler Grafik Laboratuvarında Dr. Oleg Trott (2010) tarafından tasarlanmış, yüksek performanslı, gelişmiş doğruluğa sahip ve kullanım kolaylığı olan yeni bir programdır. Bu nedenle ilaç keşfi, moleküler doklama ve sanal tarama açısından önem arz eder. (50)

Moleküler doklama ve sanal tarama için yeni bir program olan AutoDock Vina, grid haritalarını otomatik olarak hesaplar ve sonuçları kullanıcıya şeffaf bir şekilde yansıtır. Küçük moleküllerin proteinlere bağlanmasının öngörülmesi, ilaç benzeri moleküllerin sanal kütüphanelerini taramak için önemlidir ve yeni ilaç keşfine yol açar. (51)

4. 14. 4. Aynı Aileden Gelen İki Protein: GOAT ve DLTB

MBOAT ailesinden, DltB proteini bakterilerde bulunan gram pozitif bakterilerin hücre duvarındaki teikoik asidin D-alanilasyon reaksiyonundan sorumludur. Bu protein, tek başına ya da D-alanil donör protein DltC ile kompleks halinde bulunmaktadır. DltB, lipid membranın ortasına doğru uzanan korunmuş ekstraselüler bir funnel (huni) şeklinde bulunan 11 periferel transmembran heliks içermektedir. Korunmuş katalitik histidin rezidüsü funnel'ın dibindedir ve dar bir tunnel boyunca

intraselüler DltC ile bağlıdır. DltB ve omurgalı MBOAT yapısı korunmuştur ve farklı organizmalardaki MBOAT'ların benzer katalitik aktiviteye sahip olacağı öngörülmektedir.



Şekil 4. 11. hGOAT enzim modeli ve DltB kristal yapısı (ekstraselüler membrandan görünüş) DltB protein-C zinciri (PDBID: 6BUI), mavi; 336 Histidin, yeşil; 289 Histidin, sarı GOAT-model, cam göbeği; 338 Histidin kırmızı; 307 Asparajin, mor

DltB kristal yapısı, 3.3 angstrom çözünürlük ile *Streptococcus thermophilus*'dan elde edilmiştir. DltB, 17 heliksten oluşan 415 rezidüden oluşmaktadır. N ve C terminuslar ekstraselüler boşlukta bulunmaktadır. N ve C terminus heliksler hariç, helikslerin çoğu membrana gömülüdür. 11 heliks beraber eksternal bir halka şeklinde bir araya gelerek, ekstraselüler yapısal funnel olarak anılan, konkav bir yüzey halini almaktadır. Funnel şeklindeki bu alan MBOAT proteinleri arasında eksternal halkayı oluşturan helikslerden daha çok korunmuştur ve muhtemelen katalitik aktiviteden sorumludur. **H338 bütün MBOAT proteinleri arasında korunmuştur. DltB 3 boyutlu yapısı 3 kısımdan oluşur: N-ucu, merkez, C-ucu.

Yapısal funnel, lipid membranına içine doğru uzanmaktadır ve funnel'ın iç yüzeyi birtakım transmembran heliks ve loop'lardan oluşmaktadır. 10 farklı gram pozitiften alınan DltB sekansları karşılaştırıldığında halkanın dış kısmındaki rezidüleri korunmazken iç kısmındaki rezidüleri korunmuştur. (53)



5. MATERİYAL VE METOD

5. 1. Materyal

5. 1. 1. Kullanılan Cihazlar

Bileşiklerin elde edilmesi ve kolondan ayırma işlemleri sırasında çözücülerin geri kazanılmasında, “Heidolph” marka “Hei-VAP Precision” ve “BUCHI” marka “R-300” döner buharlaştırıcılar kullanıldı.

Kolon kromatografisinde “Merck Silikajel 60” (70-230 mesh), ince tabaka kromatografisinde (TLC) fluoresans indikatörlü Merck 5554 silikajel tabakalar ile “CAMAG” marka “UVP 254/366 nm” UV lamba kullanıldı. Renklendirme reaktifleri olarak anisaldehit ve ninhidrin çözeltileri kullanıldı.

Nükleer magnetik rezonans spektrumları (^1H NMR ve ^{13}C NMR) Yıldız Teknik Üniversitesi’nde “Bruker-500 MHz NMR” ve CDCl_3 çözücüsüyle TMS standartına karşı alındı. LC-MS (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry) spektrumları, LC kısmı “SHIMADZU” marka “LC-2040C 3D” model MS kısmı “MS-2020” model cihazı ile ölçüldü.

5. 1. 2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözücüler

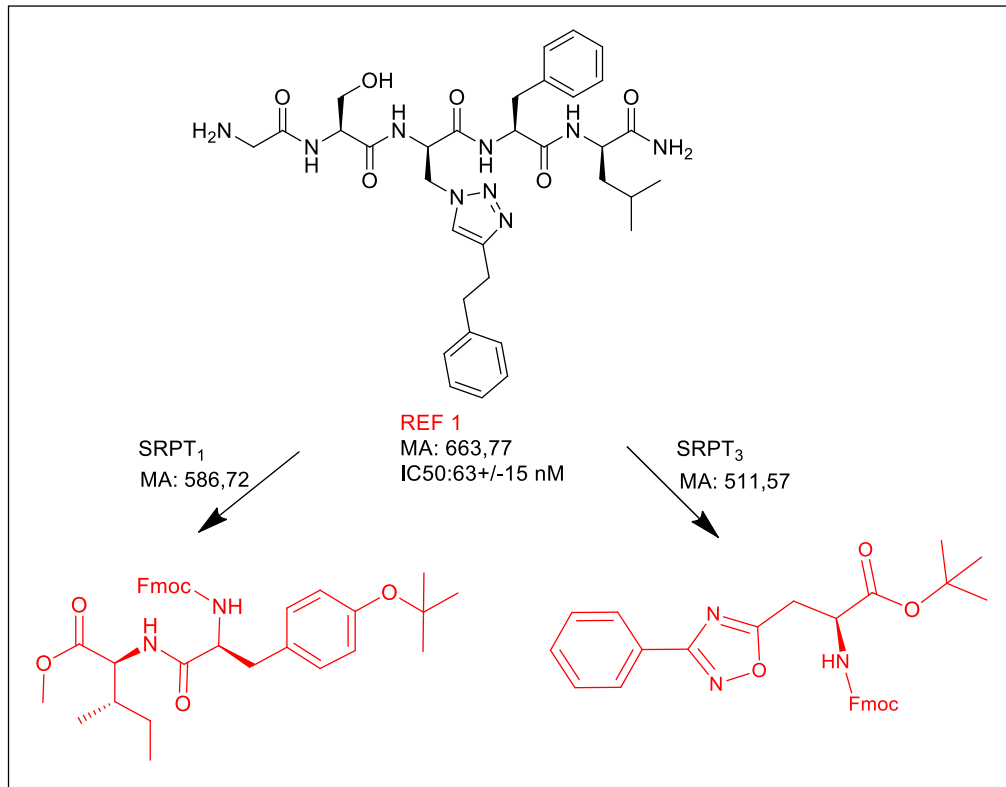
Bu çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Merck ve Aldrich firmalarından temin edilmiştir. 6-kloro-2-metilpirimidin-4-amin, iyot monoklorür, 1-boc-4-etinilpiperidin, %99 diizopropilamin, %98 bakır (I) iyodür, \geq %99 bis (trifenilfosfin) palladyum (II) klorid metal, %95 saf sodyum tiyometoksit, %70-75 meta-kloroperoksibenzoik asit, %99 dietilkarbamil klorid, N, N'-diizopropilkarbodiimit, sikloheksanmetilamin, siklopropan karboksilik asit, sikloheksil izosiyamid, ters-bütül izosiyamid, p-anisaldehit, L-izolösin metil ester HCl, Fmoc-pro-OH, N-alfa-Fmoc-L-histidin, trietilamin, HOBT, L-tirosin metil ester HCl, N-Fmoc-4-metoksi-L-fenilalanin, Fmoc-asp (tbu) -OH, pentaflorofenol, benzamidoksim, benzaldehit,

L-triptofan metil ester hidroklorid, Fmoc-tyr (tbu) -OH, magnezyum sülfat (analiz için), sodyum hidrojen karbonat (analiz için), sodyum klorür, moleküler sieve.

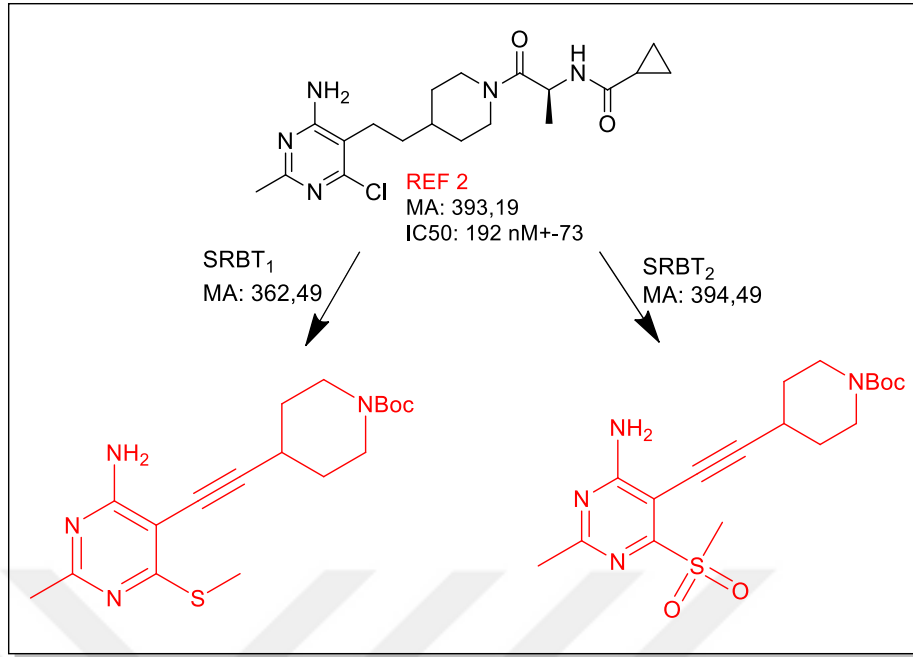
Bu çalışmada kullanılan çözücüler, diklorometan, dimetilformamit, etilasetat, hekzan, metanol, tetrahidrofuran, toluen ekstra saf olarak satın alındı. Ayrıca saflaştırma yapılmadı. Ayrıca gerekli olan bazı ara maddeler laboratuvar şartlarında sentezlenmiştir. Elde edilen ürünler preparatif ince tabaka kromatografisi, kolon kromatografisi ve silikajel filtresi ile saflaştırıldı. Kolon kromatografisi için silikajel 230-400 mesh dolgu maddesi kullanıldı.

5. 2. Metod

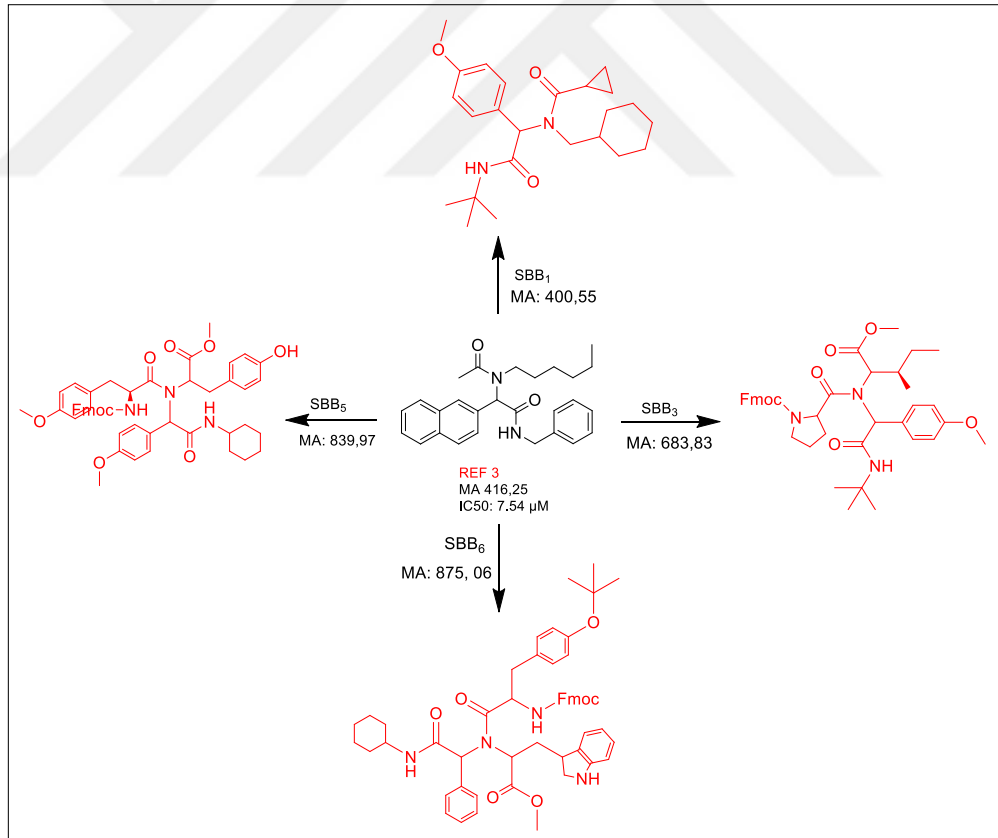
Referans aldığımız ve sentezlediğimiz özgün moleküllerin kimyasal yapıları, sentez metodu ve LC-MS, ¹H NMR, ¹³C NMR analiz sonuçları aşağıda belirtilmiştir. Yapı ve analiz sonuçları aşağıda belirtilen, referans moleküllere REF 1, REF 2, REF 3, ara maddelere BP₂, BP₃, sentezlenen ve yapıları aydınlatılan yeni ve özgün moleküllere ŞRPT₁, ŞRPT₃, ŞRBT₁, ŞRBT₂, ŞBB₁, ŞBB₃, ŞBB₅, ŞBB₆ kodları verilmiştir.



Şekil 5. 1. Referans 1 ve özgün ŞRPT 1 ve ŞRPT 3 moleküllerinin kimyasal yapıları



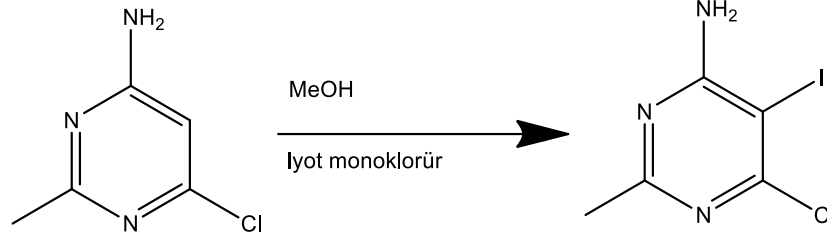
Şekil 5. 2. Referans 2 ve özgün ŞRBT 1 ve ŞRBT 2 moleküllerinin kimyasal yapıları



Şekil 5. 3. Referans 3 ve özgün ŞBB 1, ŞBB 3, ŞBB 5, ŞBB 6 moleküllerinin kimyasal yapıları

5. 2. 1. Sentezlenen Özgün Moleküllerin Sentez Metodları

5. 2. 1. 1. 6-kloro-5-iodo-2-metilpirimidin-4-amin bileşiğinin sentezi, (C₅H₅ClIN₃), Bileşik 1 (BP₂)



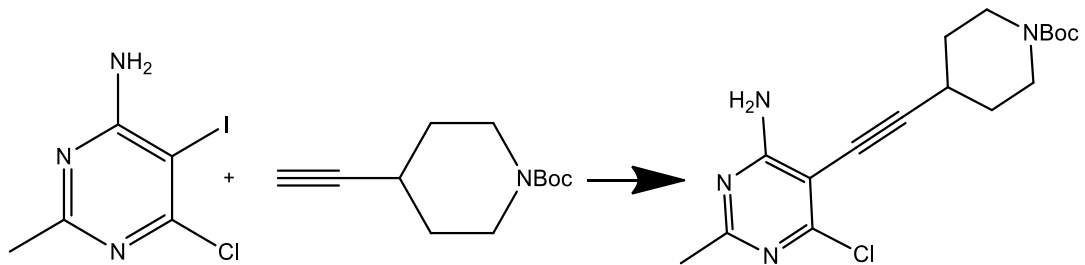
Şekil 5. 4. 6 kloro-5 iodo-2-metilpirimidin-4-amin bileşiğinin sentez şeması

6-kloro-2-metilpirimidin-4-amin (1 mmol)'in N₂ altında MeOH içerisindeki çözeltisine iyodin monoklorür (4 mmol) eklenerek 0-5°C sıcaklıkta (buz içerisinde), karanlık ortamda 1 saat karışması sağlandı. 1 saat sonrasında oda sıcaklığına getirilerek, 16 saat boyunca oda sıcaklığında karanlık ortamda karışması sağlandı. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra sodyum klorür eklenerek DCM ile ekstraksiyon yapıldı. Kolon kromatografisi ile saflaştırma işlemi için etil asetat/hekzan (2/1) çözücü sistemi kullanıldı. Beyaz katı bileşik elde edildi. (%85) (46)

LC/MS: m/z, hesaplanan=269,47, bulunan=270 (M+1)

5. 2. 1. 2. Ters-bütül 4- ((4-amino-6-kloro-2-metilpirimidin-5-il) etinil)

piperidin-1-karboksilat bileşiğinin sentezi, (C₁₇H₂₃ClN₄O₂), Bileşik 2 (BP₃)

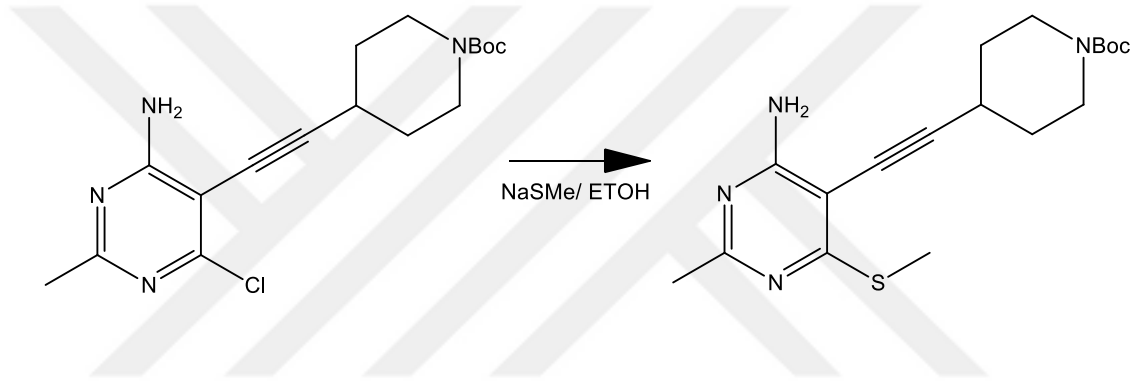


Şekil 5. 5. Ters- bütül 4- ((4-amino-6-kloro-2-metilpirimidin-5-il) etinil) piperidin-1-karboksilat bileşiğinin sentez şeması

Bileşik 1 (BP₂) (1 mmol) ve 1-boc-4-etinil piperidin (1,3 mmol)'in kuru THF içerisindeki çözeltisine DIPA (1 mmol) eklenerek 10 dk karışması sağlandı.

Ardından ortama bis (trifenilfosfin) palladyum (II) klorid (0,07 mmol) ve bakır iyodür (0,07 mmol) eklendi. Reaksiyonun, 50-55°C’de N₂ atmosferinde 20 saat boyunca karışması sağlandı. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra sodyum klorür eklenerek DCM ile ekstraksiyon yapıldı. Kolon kromatografisi ile saflaştırma işlemi için etil asetat/hekzan (1/1,5) çözücü sistemi kullanıldı. Turuncu toz bileşik elde edildi. (%80) (46) LC/MS: m/z (³⁵Cl/³⁷Cl) hesaplanan=350,84, 352,84 bulunan=351 (M+1), 353 (M+1)

5. 2. 1. 3. Ters-bütül 4- ((4-amino-2-metil-6- (metiltiy) pirimidin-5-il) etinil) piperidin-1-karboksilat sentezi, (C₁₈H₂₆N₄O₂S), Bileşik 3 (ŞRBT₁)



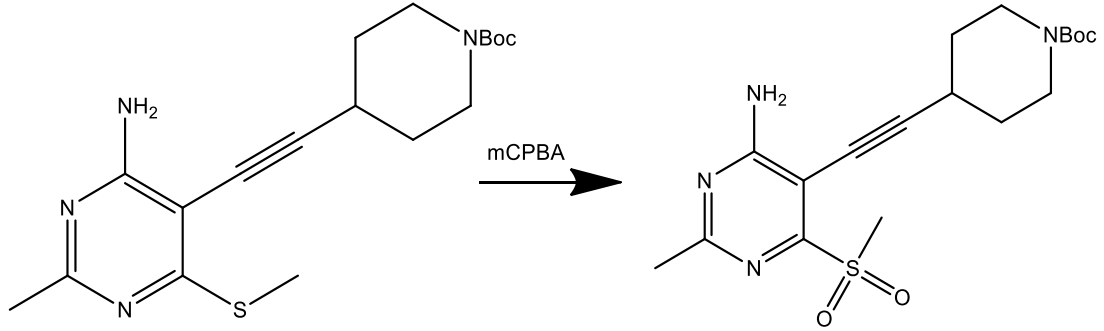
Şekil 5. 6. Ters-bütül 4- ((4-amino-2-metil-6- (metiltiy) pirimidin-5-il) etinil) piperidin-1-karboksilat bileşiğinin sentez şeması

Bileşik 2(BP3) (1 mmol)’ye N₂ gazı altında, oda sıcaklığında, etanolde çözülmüş NaSMe (5 mmol) damla damla eklendi. Sodyum tiyometoksit eklemesi tamamlandıktan sonra, geri soğutucuda kaynama noktasına kadar ısıtma yapıldı. Reaksiyonun gece boyunca karışması sağlandı. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra eterle ekstraksiyon işlemi yapıldı. Kolon kromatografisi ile saflaştırma işlemi için etil asetat/hekzan (1/2) çözücü sistemi kullanıldı. Koyu sarı renkli yağimsı bileşik elde edildi. (%78) (54) LC/MS: m/z, hesaplanan=362,49, bulunan=363 (M+1)

Bileşik 3’ün NMR Spektroskopisi verileri

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 1,40 (9H, s, 3-O-CH-CH₃), 1,62-1,67 (2H, m), 1,79-1,83 (2H, m), 2,40 (3H, s, -CH₃), 2,46 (3H, s, S-CH₃), 2,86-2,91(1H, m), 3,27-3,32 (2H, m), 3,62-3,66 (2H, m)

5. 2. 1. 4. Ters-bütül 4- ((4-amino-2-metil-6- (metilsülfolil) pirimidin-5-il) etinil) piperidin-1-karboksilat sentezi, (C₁₈H₂₆N₄O₄S), Bileşik 4 (ŞRBT₂)



Şekil 5. 7. Ters-bütül 4- ((4-amino-2-metil-6- (metilsülfolil) pirimidin-5-il) etinil) piperidin-1-karboksilat bileşiminin sentez şeması

Reaksiyon için karanlık ortam oluşturuldu. ŞRBT-1 üzerine hesaplı miktar mCPBA eklendi. Reaksiyon oda sıcaklığında gece boyunca döndü. 16 saat sonunda ŞRBT-2 oluştu. Reaksiyonun sonlandırıldıktan sonra DCM ile ekstraksiyon işlemi yapıldı. Kolon kromatografisi ile saflaştırma işlemi için etilasetat/hekzan (8/1) çözücü sistemi kullanıldı. Beyaz toz bileşik elde edildi. (%61) (55)

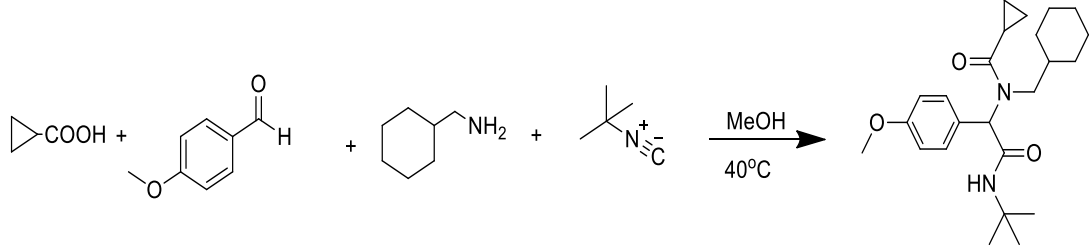
LC/MS: m/z, hesaplanan=394,49, bulunan=395 (M+1)

Bileşik 4'ün NMR Spektroskopisi verileri

¹H-NMR (500 MHz;CDCl₃), δ (ppm): 1,39 (9H, s, 3-O-CH-CH₃), 1,64-1,70 (2H, m), 1,80-1,85 (2H, m), 2,46 (3H, s,-CH₃), 2,87-2,92 (1H, m), 3,21 (3H, s,-SO₂-CH₃), 3,22-3,27 (2H, m), 3,62-3,66 (2H, m)

¹³C-NMR, δ (ppm): 25.88, 28.22, 28.48 (3xCH₃), 29.73, 31.00, 39.43, 70.78, 79.61, 94.83, 108.41, 154.73, 164.06, 164.46, 165.65

5. 2. 1. 5. N- (2- (ters-bütülamino) -1- (4-metoksifenil) -2-oksoetil) -N- (sikloheksilmetil) siklopropan karboksamid sentezi, (C₂₄H₃₆N₂O₃), Bileşik 5 (ŞBB₁)



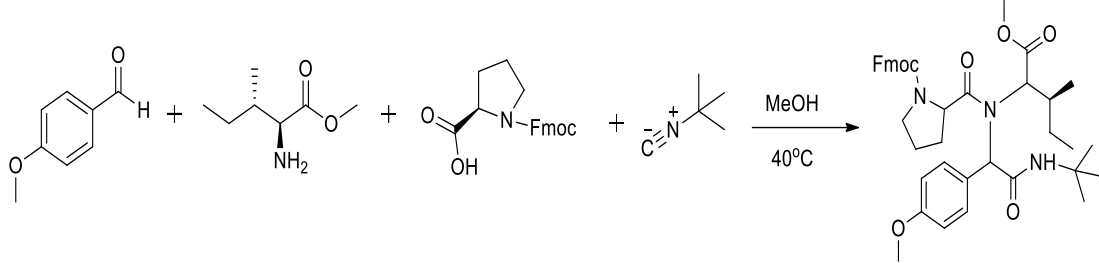
Şekil 5. 8. N- (2- (ters-bütülamino)-1- (4-metoksifenil) -2-oksoetil) -N- (sikloheksilmetil) siklopropan karboksamid bileşiğinin sentez şeması

P-Anisaldehit (1 mmol), sikloheksanmetil amin (1,25 mmol) metanolde ayrı ayrı çözümlenerek N₂ ortamında 40°C'ye ısıtıldı. Reaksiyonun 10 dk karışması sağlandı. Sonrasında siklopropan karboksilik asit (1 mmol) reaksiyon ortamına eklendi. 2 dk sonra t-bütül izosiyanid (1 mmol) eklenerek gece boyunca karıştırıldı. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra DCM ile ekstraksiyon yapıldı. Kolon kromatografisi ile saflaştırma işlemi için etilasetat/hekzan (1/2) çözücü sistemi kullanıldı. Beyaz kristal bileşik elde edildi. (%56) (44, 56) LC/MS: m/z, hesaplanan=400,55, bulunan=402 (M+1)

Bileşik 5'in NMR Spektroskopisi verileri

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 0.70-0.72 (4H, m), 0.94 (2H, t, J=5 Hz), 1.02 (2H, t, J=8.8 Hz), 1.24 (9H, s, 3-O-CH-CH₃), 1.49-1.62 (6H, m), 1.74 (1H, m), 3.23 (1H, m), 3.36-3.41 (1H, m), 3.74 (3H, s, O-CH₃), 5.33 (1H, s, Ar-CH), 6.26 (1H, s), 6.80 (2H, d, J=8.66 Hz), 7.23 (2H, d, J=8.59 Hz)

5. 2. 1. 6. (9H-fluoren-9-il) metil 2- ((2- (ters-bütilamino) -1- (4-metoksifenil) -2-oksoetil) ((3S) -1-metoksi-3-metil-1-oksopentan-2-il) karbamoil) pirrolidin-1-karboksilat sentezi, (C₄₀H₄₉N₃O₇), Bileşik 6 (ŞBB₃)



Şekil 5. 9. (9H-fluoren-9-il) metil 2- ((2- (ters-bütilamino) -1- (4-metoksifenil) -2-oksoetil) ((3S) -1-metoksi-3-metil-1-oksopentan-2-il) karbamoil) pirrolidin-1-karboksilat bileşiğinin sentez şeması

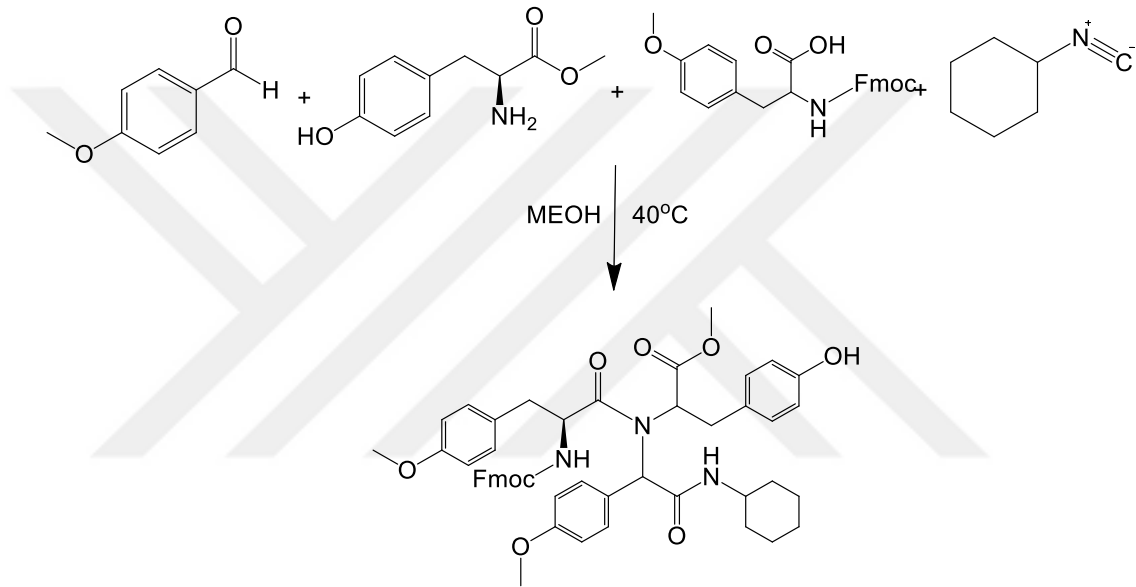
P-Anisaldehit (1 mmol) ve L-İzolösin metil ester hidroklorid'in (1,25 mmol) N₂ ortamında ayrı ayrı metanolde çözüldü. Reaksiyon 40°C'ye ısıtılarak 10 dk karışması sağlandı. Sonrasında Fmoc-Pro-OH (1 mmol) reaksiyon ortamına eklendi. 2 dk sonra t-bütil izosiyanid (1 mmol) eklenerek gece boyunca karıştırması sağlandı. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra DCM ile ekstraksiyon yapıldı. Kolon kromatografisi ile saflaştırma işlemi için gradient olarak etilasetat/hekzan (1/3, 1/2, 1/1,5, 1/1) çözücü sistemi kullanıldı. Ardından preparatif ince tabaka kromatografisi ile etilasetat/hekzan (1/2) çözücü sistemi kullanılarak saflaştırma işlemi yapıldı. Açık sarı renkli kristal bileşik elde edildi. (%50) (44, 56) LC/MS: m/z, hesaplanan=683,83, bulunan=684 (M+1)

Bileşik 6'nın NMR Spektroskopisi verileri

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ (ppm):0.88 (3H, d, -CH₃), 0.92-0.96 (3H, m, -CH₃), 1.21 (9H, s, -CH₃), 1.37 (2H, s), 1.56 (2H, m), 1.91-2.11 (2H, m), 2.14-2.35 (1H, m), 3.43 (2H, s), 3.49-3.59 (3H, m, O-CH₃), 3.63 (3H, s, O-CH₃), 4.12-4.21 (1H, m), 4.66-4.69 (1H, q, J=5 Hz), 4.97 (1H, dd, J=2.66, 8.42 Hz), 5.02 (1H, dd, J=2.78, 8.46 Hz), 5.67 (1H, s), 6.71-6.73 (2H, m), 7.07 (2H, d, 8.56 Hz), 7.21-7.27 (2H, m), 7.31-7.35 (2H, q, J=10 Hz), 7.47-7.58 (2H, m), 7.69-7.70 (2H, m)

^{13}C NMR, $\delta(\text{ppm})$: 10.26, 14.54, 23.31, 24.50, 27.32, 28.55, 28.84, 33.65, 45.87, 46.16, 49.77, 53.94, 56.62, 64.81, 65.35, 66.57, 112.62, 118.89, 124.18, 124.38, 126.03, 126.58, 126.77, 140.24, 142.91, 143.27, 153.61, 157.44, 168.42, 168.73, 173.59

5. 2. 1. 7. Metil 2- ((2S)-2-(((9H-fluoren-9-il) metoksi) karbonil) amino) -N- (2-(sikloheksilamino) -1- (4-metoksifenil) -2-oksoetil) -3- (4-metoksifenil) propanamido) -3- (4-hidroksifenil) propanoat sentezi, ($\text{C}_{50}\text{H}_{53}\text{N}_3\text{O}_9$), Bileşik 7 (ŞBB₅)



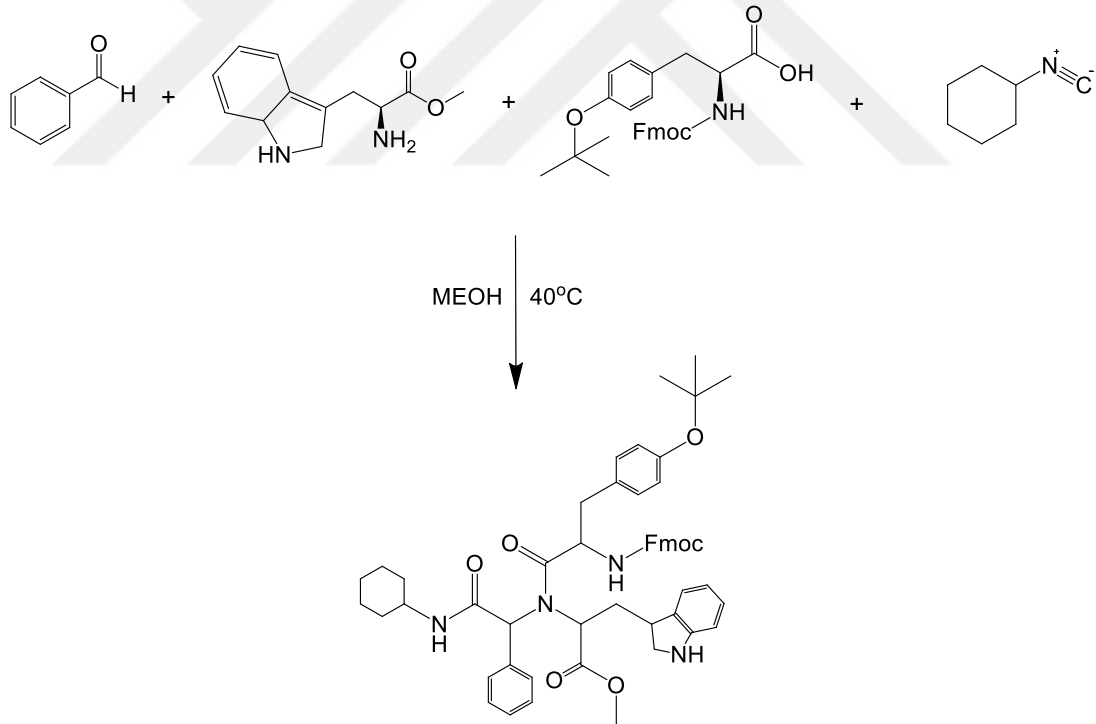
Şekil 5. 10. Metil 2- ((2S)-2-(((9H-fluoren-9-il) metoksi) karbonil) amino) -N- (2-(sikloheksilamino) -1- (4-metoksifenil) -2-oksoetil) -3- (4-metoksifenil) propanamido) -3- (4-hidroksifenil) propanoat bileşiğinin sentez şeması

P-Anisaldehit (1 mmol), L-Tirosin metil ester hidroklorid (1,25 mmol) metanolde çözülerek N_2 ortamında reaksiyon balonuna eklendi. Reaksiyon 40°C 'ye ısıtılarak 10 dk karışması sağlandı. Sonrasında N-Fmoc-4-Metoksi-L-Fenilalanin (1 mmol) reaksiyon ortamına eklendi. 2 dk sonra sikloheksil izosiyamid (1 mmol) eklenerek gece boyunca karışması sağlandı. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra DCM ile ekstraksiyon yapıldı. Kolon kromatografisi ile saflaştırma işlemi için etil asetat/hekzan (2/1) çözücü sistemi kullanıldı. Beyaz kristal bileşik elde edildi. (%45) (44, 56) LC/MS: m/z^+ , hesaplanan=839,97, bulunan=840 (M+1)

Bileşik 7'nin NMR Spektroskopisi verileri

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 0.82 (1H, t, *J*=5 Hz), 0.85 (1H, d, 7.47 Hz), 0.95-1.11 (2H, m), 1.20-1.41 (3H, m), 1.49- 1.65 (3H, m), 1.77-1.82 (1H, m), 2.71-2.79 (1H, m), 2.83-3.19 (2H, m), 3.34 (2H, s), 3.61 (3H, s, CO-O-CH₃), 3.65 (6H, d, *J* =9.50 Hz, 2-O-CH₃), 3.69 (2H, d, 4.97 Hz), 4.03-4.34 (2H, m), 4.73-4.79 (1H, p, *J*=7.5 Hz), 5.30 (1H,d, *J*=9.4 Hz), 5.49 (1H,d, *J*=9.4 Hz), 5.69 (1H,d, *J*=8.1 Hz), 6.00 (1H,d, *J*=8.1 Hz), 6.66 (1H, d, *J*=8.45 Hz), 6.70 (3H, m, -CH₃), 6.76 (1H, d, *J*=8.71 Hz), 6.95 (1H, d, *J*=8.37 Hz), 7.00 (1H, d, *J*=8.66 Hz), 7.10 (1H, d, *J*=8.13 Hz), 7.16-7.18 (4H, m), 7.24 (2H, t, *J*=7.44, 7.44 Hz), 7.30-7.36 (2H, m), 7.40-7.49 (2H, m), 7.62-7.65 (1H, dd, *J*=3.20, 5.56 Hz), 7.69 (2H, t, *J*=7.51, 7.51 Hz)

5. 2. 1. 8. Metil 2- (2- (((9H-fluoren-9-il) metoksi) karbonil) amino) –3- (4- (ters-bütoksi) fenil) -N- (2- (sikloheksilamino) -2-okso-1-feniletıl) propanamido) -3- (3H-indol-3-il) propanoat, (C₅₄H₅₈N₄O₇), Bileşik 8 (ŞBB₆)



Şekil 5. 11. Metil 2- (2- (((9H-fluoren-9-il) metoksi) karbonil) amino) –3- (4- (ters-bütoksi) fenil) -N- (2- (sikloheksilamino) -2-okso-1-feniletıl) propanamido) -3- (3H-indol-3-il) propanoat bileşiğinin sentez şeması

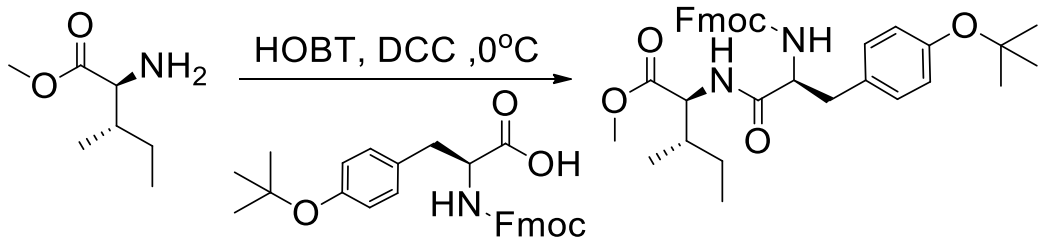
Benzaldehit (1 mmol), L-Triptofan metil ester hidroklorid (1,25 mmol) metanolde çözülerek N₂ ortamında reaksiyona eklendi. Reaksiyon 40°C'ye ısıtılarak 10 dk

karışması sağlandı. Sonrasında Fmoc-Tyr (tbu) -OH (1 mmol) reaksiyon ortamına eklendi. 2 dk sonra sikloheksil izosiyamid (1 mmol) ortama eklenerek gece boyunca karışması sağlandı. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra DCM ile ekstraksiyon yapıldı. Preparatif ince tabaka kromatografisi ile saflaştırma işlemi için etil asetat/hekzan (1/2) çözücü sistemi kullanıldı. Beyaz kristal bileşik elde edildi. (%40) (44, 56) LC/MS: m/z, hesaplanan=875,06, bulunan=875 (M+1)

Bileşik 8' in NMR Spektroskopisi verileri

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 0.91-0.98 (2H, m), 1.17 (2H, d, J=8.61 Hz), 1.26 (9H, s, O-C-3CH₃), 1.38-1.59 (2H, m), 1.78-1.87 (2H, dd, J=33.5, 11.7 Hz), 3.03-3.12 (2H, m), 3.57 (3H,s, O-CH₃), 3.66-3.71 (2H, m), 3.74-3.83 (2H,m), 4.13 (1H, t, J=7.0 Hz), 4.18 (1H,t, J=5. 1 Hz), 4.37-4.41 (1H, q, J=10.3, 7.1 Hz), 4.91-4.95 (1H,q), 5.47 (1H, d, J=8.72 Hz), 5.76 (1H, s), 6.66 (2H, d, J=7.4 Hz), 6.91-6.93 (2H, m), 7.02-7.11 (2H, q, J=10 Hz), 7.16 (3H, t, J=7.5 Hz), 7.20-7.23 (3H, m), 7.27 (2H, t, J=7.5 Hz), 7.33-7.37 (3H, m), 7.55 (2H, t, J=7.2 Hz), 8.79 (1H, d, J=7.72 Hz)

5. 2. 1. 9. (2S, 3S) -metil 2- ((S) -2- (((9H-fluoren-9-il) metoksi) karbonil) amino)-3- (4- (ters-bütoksi) fenil) propanamido) -3-metilpentanoat sentezi, (C₃₅H₄₂N₂O₆), Bileşik 9 (ŞRPT₁)



Şekil 5. 12. (2S, 3S) -metil 2- ((S)-2- (((9H-fluoren-9-il) metoksi) karbonil) amino) -3- (4- (ters-bütoksi) fenil) propanamido) -3-metilpentanoat bileşiğinin sentez şeması

L-izolösin metil ester hidroklorid (1,02 mmol) TEA (2,04 mmol) ve THF ile 30 dk karıştırıldı. Reaksiyon ortamına N₂ altında, 0-5°C sıcaklıkta DCC (0,92 mmol), eklendi. Reaksiyonun 15 dk karışması sağlandı. Ardından HOBT (0,92 mmol) eklendi. 1 saat reaksiyonun karışması sağlandı. Reaksiyon ortamına Fmoc-Tyr (tbu) -

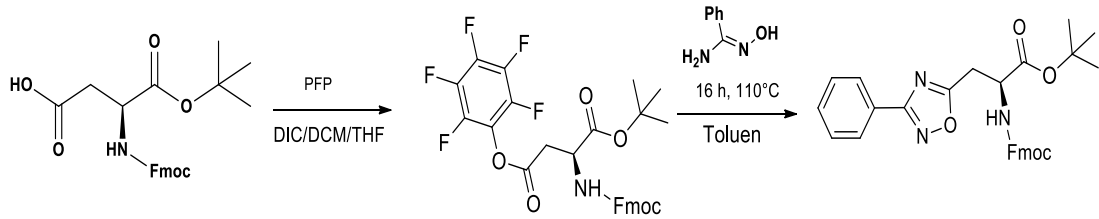
OH (0,92 mmol) eklenerek gece boyunca karışması sağlandı. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra DCM ile ekstraksiyon yapıldı. Reaksiyonun ilerleyişi ve kolon kromatografisi ile saflaştırma işlemi için etil asetat/hekzan (1/3) çözücü sistemi kullanıldı. Açık sarı renkli toz bileşik elde edildi. (%74) (57) LC/MS: m/z, hesaplanan=586,72, bulunan=587 (M+1)

Bileşik 9' un NMR Spektroskopisi verileri

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 1.25 (s, 6H), 1.32 (s, 9H, O-C-3CH₃), 2.90-3.03 (m, 1H), 3.05-3.16 (m, 1H), 3.70 (s, 3H, O-CH₃), 4.21 (t, J=7.0 Hz, 1H), 4.31-4.45 (m, 3H), 4.49 (dd, J=8.3, 5.0 Hz, 1H), 5.31-5.42 (m, 1H), 6.12-6.23 (m, 1H), 6.91 (d, J=8.3 Hz, 2H), 7.10 (d, J=7.0 Hz, 2H), 7.31 (t, J=7.4 Hz, 2H), 7.40 (t, J=7.4 Hz, 2H), 7.56 (d, J=7.5 Hz, 2H), 7.77 (d, J=7.5 Hz, 2H)

¹³C NMR, δ (ppm): 11.50, 15.33, 25.13, 28.81, 29.70, 37.79, 37.83, 47.11, 52.10, 56.27, 56.58, 67.12, 120.01(2x C_{ar}), 124.37, 125.03, 127.10, 127.76, 129.83, 141.30, 143.68, 143.79, 154.51 (C_{ar}), 170.57 (C=O), 171.62 (2x C=O)

5. 2. 1. 10. (S) -2- (((9H-fluoren-9-il) metoksi) karbonil) amino) -3- (3-fenil-1, 2, 4-oksadiazol-5-il) propanoik asit sentezi, (C₂₆H₂₁N₃O₅), Bileşik 10 (ŞRPT₃)



Şekil 5. 13. (S) -2- (((9H-fluoren-9-il) metoksi) karbonil) amino) -3- (3-fenil-1, 2, 4-oksadiazol-5-il) propanoik asit bileşiğinin sentez şeması

Fmoc-Asp (tbu) -OH (2,5 mmol), 1:1 oranında DCM/THF ile çözümlenerek, reaksiyon ortamına DIC (3 mmol) eklemesi yapıldı. Ardından pentaflorofenol (3 mmol) eklenerek reaksiyonun oda sıcaklığında 1 saat karışması sağlandı.

Sonrasında silikajel filtresi yapıp çözücü uçuruldu. Balona toluen, moleküler sieve ve benzamidoksim (7,5 mmol) eklendi. Reaksiyon 110°C'ye ısıtılarak 16 saat

karişması sağlandı. Sonrasında silikajel filtresi yapılıp çözücü uçuruldu. Kolon kromatografisi ile saflaştırma işlemi için gradient olarak etilasetat/hekzan (1:8, 1:6, 1:4) çözücü sistemi kullanıldı. Beyaz renkli toz bileşik elde edildi. (%60) LC/MS: m/z, hesaplanan=511, 57 bulunan=512 (M+1)

Bileşik 10'un NMR Spektroskopisi verileri

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 1.43 (s, 9H, O-C-CH₃), 3.00 (dd, $J=16.8$, 5.0 Hz, 1H), 3.17 (dd, $J=16.8$, 5.0 Hz, 1H), 4.29 (t, $J=7.1$ Hz, 1H), 4.41 (dd, $J=10.5$, 7.4 Hz, 1H), 4.52 (dd, $J=10.6$, 7.0 Hz, 1H), 5.45 (dt, $J=9.5$, 5.0 Hz, 1H), 6.11 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 7.33 (t, $J=7.4$ Hz, 2H), 7.41 (t, $J=7.4$ Hz, 2H), 7.45–7.52 (m, 3H), 7.64 (t, $J=7.9$ Hz, 2H), 7.78 (d, $J=7.5$ Hz, 2H), 8.06–8.10 (m, 2H),

¹³C NMR, δ (ppm): 27.99, 38.65, 45.85, 47.09, 67.55, 82.39, 120.04, 125.10, 126.48, 127.12, 127.14, 127.53, 127.79, 128.85, 131.33, 141.32, 143.62, 143.77, 155.75, 168.44, 169.22, 178.09

5. 2. 2. Homoloji Modelin Oluşturulması

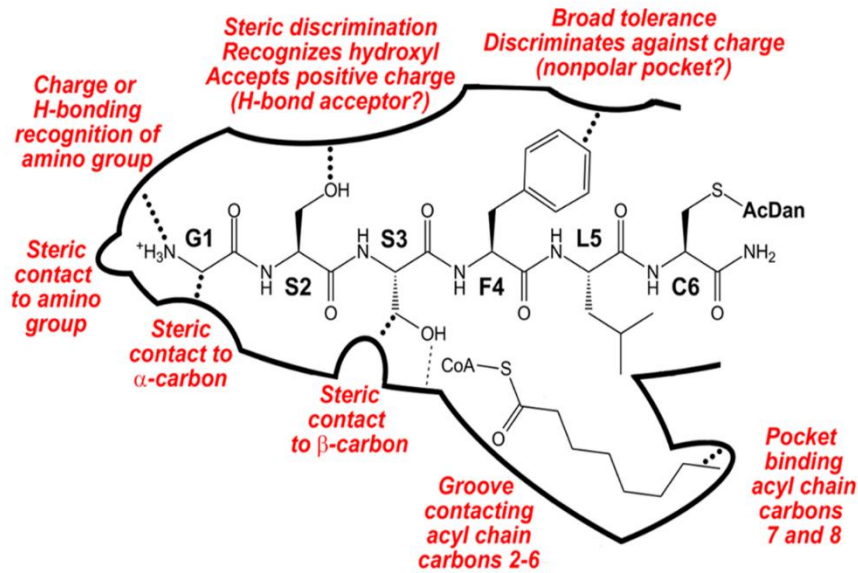
SWISS-MODEL (58) ile hGOAT enziminin homoloji modeli DltB proteini (PDBID: 6BUI) kullanılarak %28.3 benzerlik ile oluşturuldu.

Aşağıdaki tabloda *S. thermophilus*'da funnel ve tunnel'ı oluşturduğu bilinen rezidülerin hGOAT modelindeki denk geldikleri rezidüler ve özellikleri verilmiştir. Funnel'ı oluşturduğu bilinen 17 rezidünün 5 tanesi benzer iken, 4 tanesi aynen korunmuştur. Tunnel'ı oluşturan 15 rezidünün ise 1 tanesi benzer iken, 4 tanesi aynen korunmuştur. Bunlardan katalitik aktiviteden sorumlu olduğu bilinen *S.thermophilus* organizmasına ait DltB protein H336 rezidüsü hem tunnel hem de funnel oluşumuna katılmaktadır. Bu rezidünün yerini hGOAT proteininde katalizden sorumlu olduğu bilinen H338 rezidüsü almıştır. Ayrıca katalizden sorumlu olduğu bilinen H338'in öncesi ve sonrasındaki triptofan (tunnel) ve glisin (funnel) rezidüleri de her iki tür arasında korunmuştur. MBOAT ailesinde korunmuş olan N307 rezidüsü (35) DltB proteinindeki H289 ile denk düşmektedir. Böylece MBOAT

ailesinin katalizden sorumlu olduğu bilinen His338 ve oldukça korunmuş olan Asn307 rezidülerinin kristal yapı ve model arasında korunduğu gösterilmiştir.

Tablo 5. 1. DltB proteininde tunnel ve funnel formunu oluşturan rezidülerin hGOAT enzim modelindeki rezidüler ile kıyaslanması

location	Streptococcus thermophilus			İnsan ghrelin o-açıl transferaz			benzerlik
	rezidü numarası	rezidü tipi	yan zincir özelliği	hGOAT tipi	hGOAT	rezidü numara	
funnel	109	K-lizin	pozitif yüklü				
funnel	127	S-serin	polar yüksüz	hidrofobik	M-metiyonin	124	
funnel	128	Y-tirosin	hidrofobik	hidrofobik	L-lösin	125	benzer
funnel	164	T-threonin	polar yüksüz	hidrofobik	L-lösin	176	
funnel	165	S-serin	polar yüksüz	SPECIAL	G-glisin	177	
funnel	205	K-lizin	pozitif yüklü				
funnel	242	Y-tirozin	hidrofobik	hidrofobik	V-valin	244	benzer
funnel	246	L-lösin	hidrofobik	hidrofobik	A-alanin	248	benzer
funnel	249	D-aspartik asit	negatif yüklü	pozitif yüklü	K-lizin	252	
funnel	250	F-fenilalanin	hidrofobik	hidrofobik	L-lösin	253	benzer
funnel	253	Y-tirozin	hidrofobik	hidrofobik	Y-tirozin	256	aynı
tunnel	282	K-lizin	pozitif yüklü	polar yüksüz	S-serin	300	
tunnel	285	W-triptofan	hidrofobik	polar yüksüz	S-serin	303	
tunnel	286	N-asparajin	polar yüksüz	pozitif yüklü	R-arjinin	304	
funnel	288	W-triptofan	hidrofobik	hidrofobik	W-triptofan	306	aynı
funnel	289	H-histidin	pozitif yüklü	polar yüksüz	N-asparajin	307	
tunnel	293	S-serin	polar yüksüz	hidrofobik	A-alanin	311	
tunnel	294	F-fenilalanin	hidrofobik	pozitif yüklü	R-arjinin	312	
tunnel	296	F-fenilalanin	hydrophobic	hidrofobik	L-lösin	314	
tunnel	297	R-arjinin	positive yüklü	pozitif yüklü	R-arjinin	315	aynı
tunnel	301	F-fenilalanin	hidrofobik	hidrofobik	F-fenilalanin	319	aynı
tunnel	302	M-metiyonin	hidrofobik	polar yüksüz	Q-glutamin	320	
tunnel	325	Y-tirozin	hidrofobik				
tunnel	329	M-metiyonin	hidrofobik				
tunnel	332	M-metiyonin	hidrofobik				
tunnel	335	W-triptofan	hidrofobik	hidrofobik	W-triptofan	337	aynı
tunnel/funnel	336	H-histidin	pozitif yüklü	pozitif yüklü	H-histidin	338	aynı
funnel	337	G-glisin	özel	özel	G-glisin	339	aynı
funnel	342	Y-tirozin	hidrofobik	hidrofobik	F-fenilalanin	348	benzer
tunnel	353	L-lösin	hidrofobik	hidrofobik	Y-tirozin	259	benzer



Şekil 5. 14. hGOAT aktif bölgesinde substrat-bağlanma bölgesi etkileşimleri (59)

Enzim-substrat etkileşimi *in vitro* çalışmalar ile tanımlanmış ve Şekil 5. 14'te gösterilmiş olan SUBSTRAT molekülü (59), IC₅₀ değeri bilinen referans moleküller

ve sentezi laboratuvarımızda gerçekleştirilen novel moleküllerin moleküler doklama çalışmaları aşağıdaki prosedüre göre yapılmıştır.

5. 2. 3. Ligandın hazırlanması

Moleküller, Schrödinger programının 2D Sketcher aracı kullanılarak çizilmiştir ve 3D formuna dönüştürülerek tüm atomlara minimanizasyon yapıldı. Çizimler yapılırken moleküllerin stereokimyasına dikkat edildi.

Aynı programın Ligand Preparation aracı ile pH 7.0 ± 2.0 'de OPLS_2005 kuvvet alanı kullanılarak 3D yapıdaki belirlenen stereokimya korunarak ligandlar farklı iyonizasyon derecelerinde hazırlandı.

Confgen aracı kullanılarak LigPrep'den elde edilen moleküllerin maksimum 100 adet olacak şekilde konformerleri minimize edilerek üretildi ve pdb dosyası olarak kaydedildi.

Mgltools aracı kullanılarak ligandlara non-polar hidrojenler ve Gasteiger yükler eklenerek pdbqt formatında kaydedildi.

5. 2. 4. Enzimin hazırlanması

hGOAT model proteini VMD programında automatic psf builder kullanılarak hidrojenler eklendi. Elde edilen pdb dosyası tekrar MGLTools programında hidrojenler eklenerek pdbqt formatında kaydedildi.

Proteinde funnel içerisinde olduğu bilinen rezidülerin protonasyon dereceleri propKa ile kontrol edildi.

5. 2. 5. Moleküler Doklama

Aktiviteden sorumlu olduğu bilinen His338 ve yüksek oranda korunmuş olan Asn307 temel alınarak 4 farklı gridbox oluşturuldu.

Grid1: Merkez H338, N307, C235 (C235 ve C350 dahil) rezidülerine göre belirlenmiştir. Box merkez koordinatları (x:-34,44 y:17.82, z:-27.53) /box boyutu (x:80, y:86, z:78) kör doklama

Grid2: Merkez H338, N307, C235 (C235 ve C350 dahil) rezidülerine göre belirlenmiştir. Box merkezi (x: -34,44 y:17.82,z: -27.53) /box boyutu (x:36, y:42, z:30)

Grid3: Merkez H338, N307, C350 (C235 ve C350 dahil) rezidülerine göre belirlenmiştir. Box merkezi (x: -33. 81 y:15. 12, z: -20.91) /box boyutu (x: 36, y: 48, z: 30)

Grid4: Merkez H338, N307, C350 (sadece C350 dahil) rezidülerine göre belirlenmiştir. Box merkezi (x:-33.81 y:15.12, z:-20.91) /box boyutu (x:24, y:48, z:30)

Enzim-substrat etkileşimi *in vitro* çalışma ile tespit edilen substrat molekülü bu gridbox'lar *Autodock Vina* ile *Lamarckian Genetic Algorithm* kullanılarak doklandı.

Herbir doklama sonucu 2000 poz üretildi. Enzim-substrat etkileşim şeması verilen SUBSTRAT molekülünün pozitif yüklü amino grubundaki nitrojenin katalizden sorumlu olduğu bilinen H338 rezidüsüne 7 angstrom mesafedeki poz sayısı sırasıyla şöyledir:

Gridbox1, Gridbox2, Gridbox3; 78, 217, 72. Gridbox4 ise bu mesafede herhangi bir poz içermemektedir. Bu nedenle Gridbox2'deki etkileşen poz sayısı diğerlerine göre daha fazla olduğu için çalışmalara Gridbox2 kullanılarak devam edildi.

SUBSTRAT molekülünün Gridbox2'deki moleküler doklama sonucu elde edilen pozlar Şekil 5. 14'te de belirtilen enzim-substrat etkileşimlerine göre incelendiğinde olası etkileşimlerin H338 ve N307 rezidüleri ve onların çevresinde yer alan rezidüler ile olduğu düşünülmektedir.

H338 çevresinde yerleşen ve ligand pozları ile H-bağı etkileşimi olan rezidüler: Asp262 ve Asp263.N307 çevresinde yerleşen ve ligand pozları ile H-bağı etkileşimi olan rezidüler: Ser309 ve Glu274. Bu rezidülere ilave olarak Tyr256 (DltB proteininde funnel içerisinde bulunup hGOAT modelinde aynen korunmuş olan rezidü) elde edilen pozlarda sıklıkla Hidrojen bağı etkileşimi görülen rezidülerden birisidir ve model proteinde H338 ile N307 rezidülerinin arasında yer almaktadır.



6. BULGULAR

Sentezlediğimiz özgün ilaç adayı olabilecek moleküllerin sentez reaksiyonlarından yola çıkarak hesaplanan pratik verimleri %40-%56 aralığındadır. Bu moleküllerin farmakokinetik, farmakodinamik fizikokimyasal özellikleri değerlendirildi. Moleküllerin Lipinski kurallarına uyumu ve moleküler modelleme çalışmalarının sonuçları değerlendirilerek ilaç adayı olabilecek moleküller belirlendi.

Tablo 6. 1. Referans moleküllerin ve doklanan novel moleküllerin farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerinin değerlendirilmesi:

Molekül Adı	MA(g/mol)	Lipinski'nin 5 Kuralı	Jorgene'nin 3 Kuralı	Metabolit sayısı	Oral Emilim Değeri	QPPCaco	QplogHERG
REF-1	662,78	3	2	13	1	3,815	-2,580
ŞRPT-1	586,72	2	1	5	1	722,762	-4,700
ŞRPT-3	511,57	0	0	3	3	112,652	-4,44
REF-2	393,91	0	0	3	2	229,418	-2,368
ŞRBT-2	394,48	0	0	2	3	190,380	-4,272
REF-3	416,56	1	1	2	3	1515,930	-4,384
ŞBB-1	400,56	0	0	2	3	2794,012	-2,300
ŞBB-3	683,83	2	1	5	1	2422,093	-4,239
ŞBB-5	839,97	3	2	9	1	471,604	-5,603

MA (Molekül Ağırlığı), Lipinski'nin 5 kuralı (maks. 4), Jorgene'nin 3 kuralı (maks. 3), Metabolit sayısı(1-8), İnsan oral emilim değeri 1(düşük) 2(orta) 3(yüksek), QPCaco<25 zayıf, >500 harika, QplogHERG– <5 istenmez

Tablo 6. 2. Referans moleküllerin ve doklanan novel moleküllerin Lipinski kurallarına uyumu ve fizikokimyasal özellikleri

Molekül Adı	QPlogPo/w	AcceptHB	DonörHB	Mol_MA	QPlogS
REF-1	1,38	13,95	4,75	662,787	-2,949
ŞRPT-1	7,169	6,25	0,5	586,727	-7,37
ŞRPT-3	4,754	6,75	1,25	511, 57	-5,328
REF-2	2,193	7,25	2,25	393,915	-4,538
ŞRBT-2	2,216	9	2	394,488	-5,265
REF-3(S)	5,009	5,5	1	416,562	-5,872
ŞBB-5(R*)	8,44	11,5	2,25	839,983	-9,7
ŞBB-3(S*)	6,697	10,75	1	683,843	-8,502
ŞBB-1(S)	4,034	6,25	1	400,56	-5,396

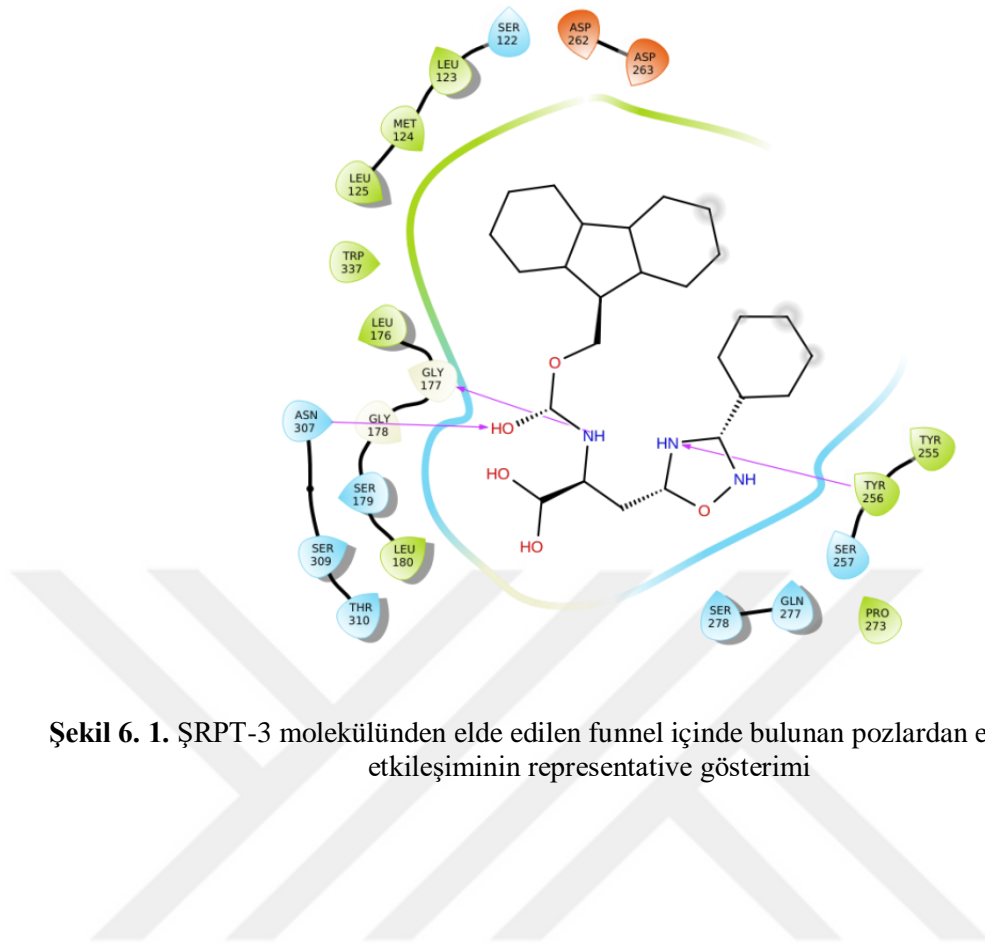
*Moleküllerin R ve S konfigürasyonları

Sentezlenen moleküllerin farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri analiz edildi. Bu analize göre ligandın farmakokinetik özellikleri, Qikprop kullanılarak değerlendirildi.

Yukarıdaki 6 öncü molekül, Lipinski'nin beş kuralına (Tablo 6. 1) dayanarak sentezlenen tüm moleküller ilaç benzeri özellikleri göstermektedir. Jorgene'nin üç kuralına dayanarak sentezlenen tüm moleküller ilaç benzeri özellikleri göstermektedir. Moleküllerin metabolitlerine bakıldığında ŞRBT- 1, ŞRBT- 2, REF- 3 ve örnek alınarak sentezlenen ŞBB- 1 en düşük metabolit (2) değerine sahip iken, REF-1 ve ŞBB-5 moleküllerinin metabolit sayısı kabul edilebilir (1-8) aralıktadır. Absorpsiyon, özellikle ilaç uygulamasının en uygun yolu oral tüketim olduğunda, önemli farmakokinetik faktörlerden biridir. ŞRPT-3, ŞRBT-1, ŞRBT- 2, REF- 3, ŞBB- 1 ve ŞBB- 2 moleküllerinin oral emilim değeri en yüksek değer olan 3 iken, diğer moleküllerin oral emilim değeri kabul edilebilir (1-3) aralık içindedir. İlaç metabolizmasından ve biyolojik zara erişiminden sorumlu olan bir faktör olan hücre geçirgenliği (QPPCaco), ŞRPT-3, REF-2, ŞRBT-1, ŞRBT-2, ŞRBT-5, ŞRBT-6 ve ŞBB-5 molekülleri için kabul edilebilir (25-500) bir aralıktadır. HERG K + kanallarının (QPlogHERG) tıkanması için öngörülen IC₅₀ değeri REF-1, ŞRPT-1, ŞRPT-3, ŞRPT-4, REF-2, ŞRBT-2, REF-3, ŞBB-1, ŞBB-2, ŞBB-3 ve ŞBB-4 molekülleri için kabul edilebilir (>-5) aralıktadır.

Tablo 6. 3. Doklama çalışması yapılan moleküllerin funnel içerisinde bulunma sıklığı ve ortalama enerji değerleri

Molekül Kodu	%Frekans (funnel)	Ortalama Enerji (kcal/mol)	Standart Hata
SUBSTRAT	45,70	-7,527	0,024
REF-1 (63±15 nM)	55,35	-7,805	0,011
ŞRPT-1	35,85	-8,230	0,021
ŞRPT-3	62,62	-8,570	0,028
REF-2 (192±73 nM)	48,97	-7,150	0,017
ŞRBT-1	38,00	-5,815	0,019
ŞRBT-2	43,01	-6,590	0,015
REF3 (7.54µM)	42,67	-7,340	0,013
ŞBB-1	45,25	-6,449	0,010
ŞBB-3	34,88	-7,064	0,014
ŞBB-5	38,10	-7,830	0,013



Şekil 6. 1. ŞRPT-3 molekülünden elde edilen funnel içinde bulunan pozlardan enzim-ligand etkileşiminin representative gösterimi

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

DSÖ tarafından en riskli 10 hastalıktan biri olarak kabul edilen obezite, başta kardiovasküler ve endokrin sistem olmak üzere vücudun tüm organ ve sistemlerini etkileyerek çeşitli bozukluklara ve hatta ölümlere yol açabilen önemli bir sağlık problemidir. Bu nedenle obezitenin etkenlerinin ve tedavi seçeneklerinin iyi bilinmesi, obezite ve komplikasyonlarının ideal tedavisinin tespit edilebilmesi açısından önemlidir. (1) Ghrelin, beslenme davranışının merkezi sinir sistemiyle bağlantısını sağlamasından ve iştahı düzenlemesinden dolayı obeziteyi önleme ve tedavi etme açısından önemli hale gelmiştir. (60)

Salome ve arkadaşları sıçanlar üzerinde yeni GHS-R1a antagonistlerinin anoreksijenik etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada, yeni bir GHS-R1a ligandı tanımlanmıştır. GHS-R1a ligandları, merkezi sinir sisteminde, ekzojen ghrelin kaynaklı ve açlık kaynaklı besin alımını bir seviyede bastırmıştır. Ghrelin reseptör ligandları aç bırakılmış sıçanlarda besin alımını azaltarak obeziteyi azaltmıştır. Sonuçta, merkezi ghrelin sinyalizasyon sistemi önemli bir pro-obezite hedefi olarak ortaya çıkmıştır. (61) Yapılan bir çalışmada, ghrelinin vücut ağırlığı modülasyonunda da rol oynadığı görülmüştür. Kemirgenlerde, ghrelinin kronik olarak uygulanması, iştah artışı ile değil, beyaz adipoz dokudaki yağ depolamasını teşvik ederek daha belirgin bir şekilde vücut ağırlığında artışa neden olmuştur. İştahı, büyümeyi, yağ birikimini ve glukoneogenezi artırarak beyin ve periferal dokularda enerjinin harcanması ve depolanmasında görevlidir. Tüm bu özellikleriyle ghrelin, en son keşfedilen anabolik hormon olarak değerlendirilmiştir. (37) Obezite için ilaç tedavisi seçenekleri çok sınırlıdır. Ghrelinin, sadece GHS-R1a ile sınırlı kalarak, GHS-R1a aracılı besin tüketimini ve vücut ağırlığı artırması, hormon inhibe edilmek istendiğinde de sınırlı bir inhibisyon olacağını düşündürmüştür ve bu sayede obezite için ilgi çeken bir hedef olmuştur. (43)

Garner ve arkadaşları çalışmalarında GOAT antagonisti küçük bir molekül sentezlemek için ugi reaksiyonunu kullanmışlardır. Reaksiyon sonucu elde ettikleri bileşiklerde GOAT enzimi için agonizm ve antagonizm analizleri yapılmıştır.

Çalışma sonucunda, obezite ve diyabete karşı umut vadeden ilaç hedefi GOAT antagonist bir küçük molekül sentezlemişlerdir. (44)

Ugi reaksiyonu gibi çok bileşenli reaksiyonlar, karmaşık organik molekülleri düşük maliyetlerle ve hızlı reaksiyon süreleriyle sentezleme potansiyelleri nedeniyle geleneksel çok aşamalı reaksiyonlara göre önemli avantajlara sahiptir. (62) Ugi dört bileşenli reaksiyonu, bir aldehit, bir amin, bir karboksilik asit ve bir izosiyamid içeren kapta iki amit bağı oluşturmak için en önemli yöntemlerden biridir. (63)

Bu bilgiler ışığında tez çalışmamız süresince, ghrelin hormonunu inhibe edebilmek için 4 tanesi ugi dört bileşenli reaksiyonu ile sentezlenmiş, 8 adet özgün ilaç adayı molekül sentezi laboratuvar ortamında sentezlenmiş ve sentezlenen bu özgün ilaç adayı moleküllerin analizi ve karakterizasyonu LC-MS ve NMR gibi analitik metodlarla yapılmış ve yapıları aydınlatılmıştır. GOAT inhibitörü molekül adaylarının sentezinden sonra, GOAT enzimi ile nasıl etkileştiğini anlayabilmek için bir enzim model oluşturup bu modele göre değerlendirmeleri yapılmıştır.

Houglund ve ekibi 2014 ve 2018 yıllarında yayınladıkları çalışmalarında, substrat reaktivitesi ve inhibitör bağlanmasını ölçerek enzim aktif bölgesindeki olası rezidülerin özelliklerini tanımlamışlardır. (58, 59) Bu bilgilerden yola çıkarak SWISS-MODEL kullanılarak GOAT enziminin homoloji modeli oluşturulmuştur. *In vitro* çalışmalarda gösterilen enzim-substrat etkileşiminde önemli rol oynadığı tahmin edilen rezidülerin özellikleri (59) ile Autodock Vina'dan (51) elde edilen pozlardaki etkileşimler uyumlu bulunmuştur. Hedeflediğimiz GOAT enziminin 3 boyutlu kristal yapısı bilinmediğinden, molekül adaylarının bu enzime çok yakın olabilecek başka bir transferaz proteini olan DltB proteinine bağlanma affinitesi ölçülmüştür. Elde ettiğimiz moleküler modelleme sonuçlarına göre sentezlediğimiz ŞRPT-3 moleküllerinden elde edilen funnel içindeki pozların kendi içinde daha tutarlı biçimde üstüste çakıştığı görülmüştür. Özellikle ŞRPT-3 molekülündeki imidazol halkasının nitrojeni Tyr256 rezidüye yakınlık göstermiştir. ŞRPT-3'e göre daha düşük frekanslı olan ŞBB-1 molekülünden elde edilen funnel içindeki pozlar daha kararsız davranıp farklı konformasyonlara daha fazla eğilim göstermiştir.

Moleküler modelleme sonuçları gösteriyor ki sentezlediğimiz ŞRPT-3 molekülü GOAT inhibitörü ilaç adayı olarak tespit edilmiştir.

Tez çalışmamız, GOAT inhibitörlerinin keşif ve geliştirilmesinin obezite tedavisinde ümit vadeden bir alan olması açısından, literatürde GOAT inhibitörü analoglarının çok az olmasından, ghrelin tabanlı bir obezite ilacı bulunmadığından, keşif ve geliştirilmesi hedeflenen bu özgün ilaç adayları patentleri alındıktan sonra büyük ilaç firmalarının dikkatini çekebilecek olmasından ve sentezlenen, doklanan bu ilaç adayı moleküllerin dünya literatüründe henüz bulunmamasından, bilimsel ve klinik açıdan yüksek önem arz etmektedir.

Tez çalışmamızda tasarlanan tüm moleküller dünyada hiçbir araştırmacı tarafından sentezlenmediği ve ilaç adayı olarak literatürde (Scifinder, Scopus, Web of Science, PubMed gibi veri tabanlarında yapılan literatür araştırmaları) bile olmadığı uzun yapılan taramalar neticesinde tespit edilmiştir bu yüzden oldukça özgündür. Ayrıca literatürde bilinen tüm GOAT inhibitörleri incelenmiş olup bu moleküllerin modifikasyonu ile yeni ve özgün moleküller tasarlanmıştır. Bu moleküller tasarlanırken ilaç adayında olması gereken fizikokimyasal parametreler ve Lipinski kuralları dikkate alınarak tasarlanıp sentezlenmiştir.

Tez çalışmamız için, biyolojik aktivite testlerinin yapılması amacıyla yurt içinden ve yurt dışından bu alanda çalışan araştırmacılarla işbirliği ile GOAT inhibisyonuna bakılması hedeflenmiş, ancak ülkemizde bu konuda çalışan araştırmacı bulunmaması nedeniyle *in vitro* aktivite çalışmaları henüz yapılamamıştır. Sentezlediğimiz ilaç adayı olabilecek moleküllerin biyolojik aktivite çalışmaları ve *in vitro* testlerinin ileride hazırlanacak diğer projelerle yapılması moleküllerimizin ilaç adayı olarak değerlendirilmesi açısından daha kesin sonuçlar verecektir. Tez çalışmamız kapsamında sentezlediğimiz 8 adet molekülün moleküler modelleme sonuçları ile biyolojik aktivite çalışmaları sonuçlarının birbirine uyuşmasının projemizin obezite ile ilgili yeni ilaçlar keşfinde bir ümit olabileceğini düşünmekteyiz. Bu yaptığımız çalışmaların devamı ile ülkemizde de ciddi oranda artan metabolik hastalıklarla ilgili yeni ilaçların keşfine ilham kaynağı olmasını ümit ediyoruz.

8. KAYNAKLAR

1. Altunkaynak BZ, Özbek E. Obezite: Nedenleri ve Tedavi Seçenekleri. Van Tıp Dergisi; 13 (4); 138-142, 2006
2. Yetkin İ, Çimen AR. Obezite ve Güncel Tedavi Yöntemleri. Mised: 23–24;68-77, 2010
3. Chollet C, Meyer K, Beck-Sickinger AG. Ghrelin- A novel generation of anti-obesity drug: Design, pharmacomodulation and biological activity of ghrelin analogues. J. Pept. Sci.; 15 (11); 711–730, 2009
4. Wortley, KE, Del Rincon PJ, Murray JD, Garcia K, Lida K, Thorner MO et al. Absence of ghrelin protects against early-onset obesity. J. Clin. Invest.; 115 (12); 3573–3578, 2005
5. Patterson M, Bloom SR, Gardiner JV. Ghrelin and appetite control in humans- Potential application in the treatment of obesity. Peptides; 32 (11); 2290–2294, 2011.
6. Hougland JL. Ghrelin octanoylation by ghrelin O -acyltransferase : Unique protein biochemistry underlying metabolic signaling, 1–10, 2019
7. Lemarié F, Beauchamp E, Drouin G, Legrand P, Rioux V. Dietary caprylic acid and ghrelin O-acyltransferase activity to modulate octanoylated ghrelin functions: What is new in this nutritional field?, Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. ; 135; 121–127, 2018 <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2018.07.009>
8. Murtuza MI, Isokawa M. (2017). Endogenous ghrelin-O-acyltransferase (GOAT) acylates local ghrelin in the hippocampus. J Neurochem.; 144 (1); 58–67, 2017 <https://doi.org/10.1111/ijlh.12426>
9. Yang J, Zhao TJ, Goldstein JL, Brown MS. Inhibition of ghrelin O -acyltransferase (GOAT) by octanoylated pentapeptides, Proc Natl Acad Sci USA. ;105 (31); 10750-5, 2008 doi: 10.1073/pnas.0805353105

10. Patterson M, Bloom SR, Gardiner JV. “Ghrelin and appetite control in humans- Potential application in the treatment of obesity”, *Peptides*, 32 (11); 2290–2294, 2011
11. Rodríguez A, Gómez-Ambrosi J, Catalán V, Colina I, Rotellar F, Valenti V et al. The ghrelin o-acyltransferase–ghrelin system reduces TNF- α -induced apoptosis and autophagy in human visceral adipocytes. *Diabetologia*; 55 (11); 3038–3050, 2012 <https://doi.org/10.1007/s00125-012-2671-5>
12. Gualillo O, Lago F, Dieguez C. Introducing GOAT: a target for obesity and anti-diabetic drugs? *Trends Pharmacol. Sci.*, 29(8), 398–401, 2008
13. Bulut B, Mihmanli V. Obesity and Pregnancy. *The Medical Journal of Okmeydani Training and Research Hospital*; 30(Supplement 1); 24–28, 2014
14. Tam AA, Çakir B. Birinci Basamakta Obeziteye Yaklaşım Approach Of Obesity In Primary Health Care. *Ankara Medical Journal*; 12 (1); 37–41, 2012
15. Elangbam CS. Review paper: Current strategies in the development of anti-obesity drugs and their safety concerns. *Vet. Pathol.*; 46 (1); 10–24, 2009
16. The GBD 2015 Obesity Collaborators. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *N Engl J Med*; 377 (1); 13–27, 2017 <http://doi.org/10.1056/NEJMoa1614362>
17. World Health Organization, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>, Son Güncelleme Tarihi: 16 Ocak 2018
18. OECD (2017), OECD Health Statistics, 2017, www.oecd.org/health/health-data.htm, Son Güncelleme Tarihi: 8 Kasım 2018
19. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Türkiyede Obezitenin Görülme Sıklığı. <http://beslenme.gov.tr/index.php?lang=tr&page=40>. Son Güncelleme Tarihi: 26 Mayıs 2019
20. Kilavuzu T, Tani O. Obezite Tanı ve Tedavi Kılavuzu. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2018

- 21.** Türkiye İstatistik Kurumu. Bireylerin vücut kitle indeksinin cinsiyete göre dağılımı, 2008, 2010, 2012, 2014.
http://www.tuik.gov.tr/basinOdasi/haberler/2015_58_20151008.pdf. Son Erişim Tarihi: 8 Ekim 2015
- 22.** Kalan I, Yeşil Y. Obezite ile ilişkili Kronik Hastalıklar. *Mised*; 23–24, 78–81, 2010
- 23.** Sato T, Ida T, Nakamura Y, Shiimura Y, Kangawa K, Kojima M. Physiological roles of ghrelin on obesity. *Obes Res Clin Pract*; 8 (5); e405–e413, 2014
- 24.** Valentino, M.A. et al. Central and peripheral molecular targets for antiobesity pharmacotherapy. *Clin Pharmacol Ther.*; 87 (6), 652- 62, 2010
- 25.** Yanovski, S. Z., & Yanovski, J. A. Long-term drug treatment for obesity: A systematic and clinical review. *JAMA*;311 (1); 74–86, 2014
<http://doi.org/10.1001/jama.2013.281361>
- 26.** Adan AHR. Mechanism underlying current and future anti-obesity drugs. *Trends Neurosci*; 36 (2) ;133-4, 2013 doi: 10.1016/j.tins.2012.12.001.
- 27.** Mason ME, Jalagani H, Vinik AI. Metabolic complications of bariatric surgery: Diagnosis and management issues. *Gastroenterol Clin North Am*; 34 (1), 25–33, 2005 <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2004.12.008>
- 28.** <https://adisinsight.springer.com/drugs/800051610>, 9 Nisan 2018
- 29.** Daneschvar HL, Aronson MD, Smetana GW. FDA-Approved Anti-Obesity Drugs in the United States. *Am J Med*; 129 (8); 879.e1-879.e6, 2016
<https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2016.02.009>
- 30.** <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01083/DB04871/DB00273/DB00191>
- 31.** Klok MD, Jakobsdottir S, Drent ML. The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: A review. *Obes Rev*; 8 (1); 21–34, 2007

- 32.** Soares JB, Roncon-Albuquerque Jr R, Leite – Moreira A. Ghrelin and ghrelin receptor inhibitors: Agents in the treatment of obesity, *Expert Opin Ther Targets*; 12 (9); 1177- 1189, 2008
- 33.** Kirchner H, Heppner KM, Tschöp MH. The role of ghrelin in the control of energy balance. *Handb Exp Pharmacol.*; 258 (209); 161-184, 2012 doi: 10.1007/978-3-642-24716-3_7.
- 34.** Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: Structure and Function. *Physiol Rev*; 85 (2); 495–522, 2005 <https://doi.org/10.1152/physrev.00012.2004>.
- 35.** Taylor MS, Hwang Y, Hsiao PY, Boeke JD, Cole PA. Ghrelin O-Acyltransferase Assays and Inhibition, *Methods Enzymol.*; 514; 205–228, 2012
- 36.** Costantino L. Methods for synthesis and uses of inhibitors of ghrelin O-acyltransferase inhibitors as potential therapeutic agents for obesity and diabetes, *Expert Opin Ther Pat*, 20 (11); 1603-7, 2010
- 37.** Aydın S, Özkan Y, Caylak E, Aydın S. Ghrelin ve biyokimyasal fonksiyonları. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.*; 26 (3); 272–283, 2006
- 38.** Kang K, Schmahl J, Lee JM, Garcia K, Patil K, Chen A et al. Mouse ghrelin- O -acyltransferase (GOAT) plays a critical role in bile acid reabsorption. *The FASEB Journal*;26 (1); 259–271, 2011 <https://doi.org/10.1096/fj.11-191460>
- 39.** Waseem T, Duxbury M, Ito H, Ashley SW, Robinson MK. Exogenous ghrelin modulates release of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in LPS-stimulated macrophages through distinct signaling pathways. *Surgery*; 143 (3); 334–342, 2008 <https://doi.org/10.1016/j.surg.2007.09.039>
- 40.** Schellekens H, Dinan TG, Cryan JF. Lean mean fat reducing “ghrelin” machine: Hypothalamic ghrelin and ghrelin receptors as therapeutic targets in obesity. *Neuropharmacology*; 58 (1); 2–16, 2010 <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.06.024>

- 41.** Kobelt P, Helmling S, Stengel A, Wlotzka B, Andresen V, Klapp BF et al. Anti-ghrelin Spiegelmer NOX-B11 inhibits neurostimulatory and orexigenic effects of peripheral ghrelin in rats. *Gut*; 55 (6); 788–792, 2006
- 42.** Shiiya T, Nakazato M, Mizuta M, Date Y, Mondal MS, Tanaka M et al. Plasma Ghrelin Levels in Lean and Obese Humans and the Effect of Glucose on Ghrelin Secretion. *The J Clin Endocrinol Metab*; 87 (1), 240–244, 2014 <https://doi.org/10.1210/jcem.87.1.8129>
- 43.** Stengel A, Goebel M, Wang L, Taché Y. Ghrelin, des-acyl ghrelin and nesfatin-1 in gastric X/A-like cells: Role as regulators of food intake and body weight. *Peptides*; 31 (2); 357–369, 2010 <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2009.11.019>
- 44.** Garner AL, Janda KD. A small molecule antagonist of ghrelin O-acyltransferase (GOAT). *Chem Commun (Camb)*; 47 (26); 7512–7514, 2011 <https://doi.org/10.1039/c1cc11817j>
- 45.** Barnett PB, Hwang Y, Taylor MS, Kirchner H, Pfluger PT, Bernard V et al. Glucose and weight control in mice with a designed ghrelin o-acyltransferase inhibitor, *Science*; 330 (6011); 1689-1692, 2010
- 46.** Martinez-Grau MA, inventor; Eli Lilly and Company, assignee Ghrelin o-acyltransferase inhibitor. United States Patent US 9,035,051 B1. May 19 2015.
- 47.** Hougland J, inventor; Syracuse University, assignee, Inhibitors targeting human ghrelin o-acyltransferase. United States Patent US 2015/0018520 A1, January 15 2015
- 48.** Yoneyama-Hirozane M, Deguchi K, Hirakawa T, Ishii T, Odani T, Matsui J et al. Identification and Characterization of a New Series of Ghrelin O-Acyl Transferase Inhibitors. *SLAS Discovery*; 23 (2); 154–163, 2018 <https://doi.org/10.1177/2472555217727097>

49. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A Preprandial Rise in Plasma Ghrelin Levels Suggests a Role in Meal Initiation in Humans. *Diabetes*; 50 (8); 1714-9, 2001

50. CHAPTER -5, MOLECULAR DOCKING STUDIES,

<https://shodhganga.inflibnet.ac.in/bitstream/10603/23480/7/07.%20chapter%20-%20v.pdf>

51. Trott O, Olso AJ, Software News and Update AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Doklama with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. *J Comput Chem*; 31 (2); 455–461, 2010

52. Thomsen R, Christensen MH. MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Doklama. *J. Med. Chem.*; 49 (11); 3315-3321, 2006

53. Ma D, Wang Z, Meriikh CN, Lang KS, Lu P, Li X et al. *Nature*; 562 (7726) ; 286-290, 2018 doi: 10.1038/s41586-018-0568-2

54. Woll MG, Chen G, Choi S, Dakka A, Huang S, Karp GM et al. Inventors; PTC Therapeutics, Inc., F. Hofmann- La Roche AG, assignee. Compounds for treating spinal muscular atroph. World Intellectual Property Organization. WO/2013/101974 A1. July 4 2013

55. Herrera A, Martínez-Alvarez R, Chioua M, Chatt R, Chioua R, Sanchez A et al. The reaction of tetralones with nitriles: A simple approach to the synthesis of new substituted benzo[h]quinazolines, benzo[f]quinazolines and dibenzo[a,i]phenanthridines. *Tetrahedron*; 62 (12); 2799–2811, 2006 <https://doi.org/10.1016/j.tet.2006.01.010>

56. Keating TA, Armstrong, RW. A remarkable two-step synthesis of diverse 1,4-benzodiazepine-2,5-diones using the Ugi four-component condensation. *J Org Chem.* ; 61 (25); 8935–8939, 1996 <https://doi.org/10.1021/jo961517p>

57. Akindele T, Gise B, Sunaba T, Kita M, Hidego K. Total synthesis of stylissatin A, a cyclic peptide that inhibits nitric oxide production. *Bull Chem Soc Jpn.*; 88 (4); 600–609, 2015 <https://doi.org/10.1246/bcsj.20150003>

- 58.** Cleverdon ER, Davis TR, Hougland JL. *Bioorganic Chemistry*; 79; 98-106, 2018
<https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.04.009>
- 59.** Darling JE, Zhao F, Loftus RJ, Patton LM, Gibbs RA, Hougland JL. *Biochemistry*; 54 (4); 1100-10, 2015 doi: 10.1021/bi5010359
- 60.** Schellekens H, Finger, BC, Dinan TG, Cryan JF. Ghrelin signalling and obesity: At the interface of stress, mood and food reward. *Pharmacol. Ther*; 135 (3); 316–326, 2012 <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.06.004>
- 61.** Salome N, Haage D, Perrissoud D, Moulin A, Demange L, Egecioglu E et al. Anorexigenic and electrophysiological actions of novel ghrelin receptor (GHS-R1A) antagonists in rats. *Eur J Pharmacol.*; 612(1–3); pp.167–173, 2009
- 62.** Prent-Peñaloza L, De La Torre AF, Velázquez-Libera JL, Gutiérrez M, Caballero J. Synthesis of DiN-substituted glycyl-phenylalanine derivatives by using Ugi four component reaction and their potential as acetylcholinesterase inhibitors. *Molecules*, 24 (1), 2019 <https://doi.org/10.3390/molecules24010189>
- 63.** Namia M, Salehib P., Dabiri M, Bararjanian M, Gharaghani S, Khoramjouy M et al. Synthesis of Novel Norsufentanil Analogues via a Four-component Ugi Reaction and in Vivo, Doklama, and QSAR Studies of Their Analgesic Activity. *Chem Biol Drug Des.* ; 91 (4); 902-914, 2018 doi: 10.1111/cbdd.13157.

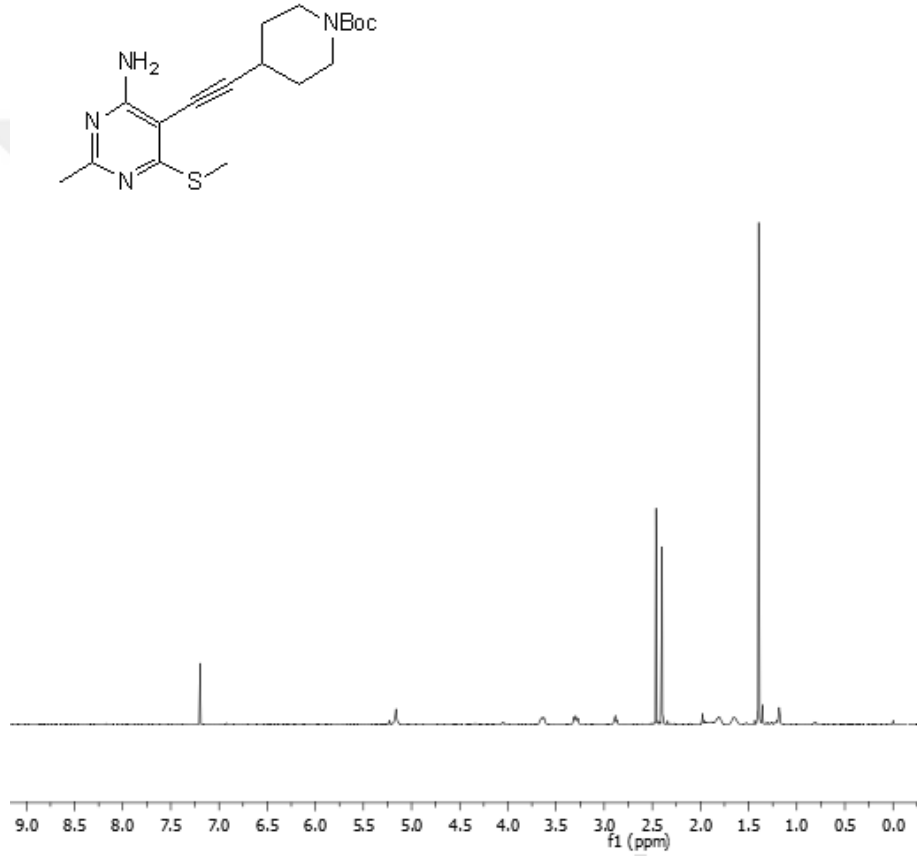
9. EKLER

9. 1. Ek 1 ^1H - NMR ve ^{13}C - NMR Spektrumları

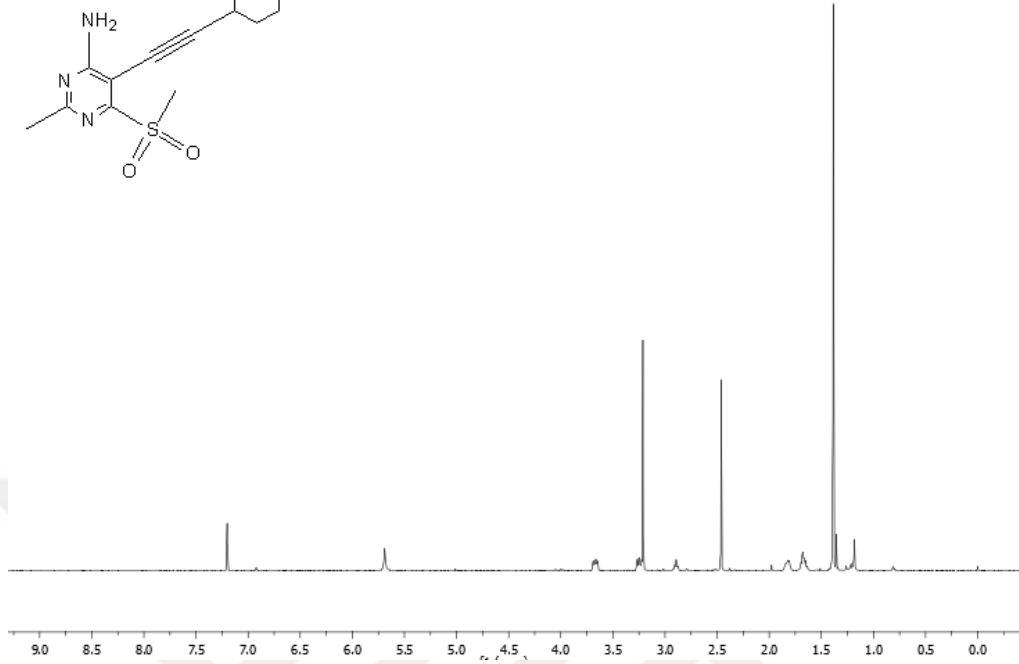
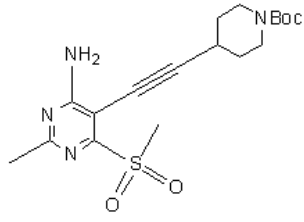
9. 2. Ek 2 Kütle Spektrumları

9.1. EK 1 ^1H - NMR ve ^{13}C - NMR Spektrumları

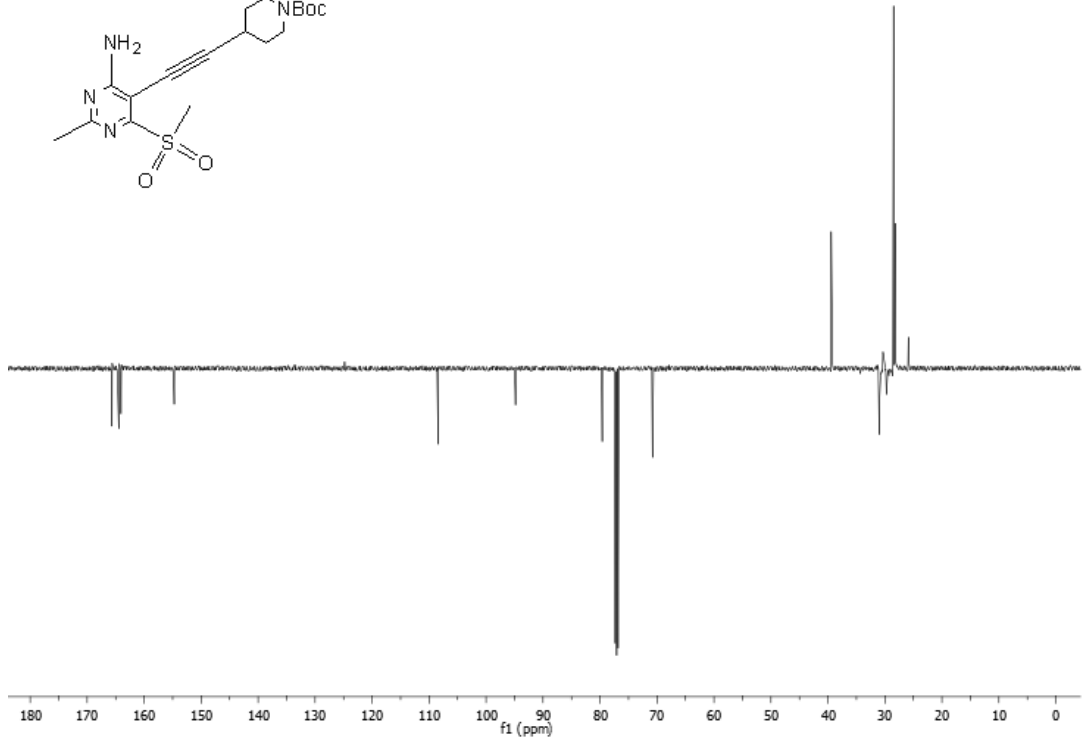
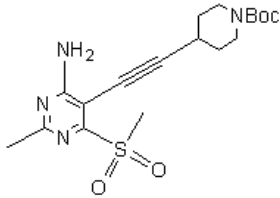
Bileşik 3'ün ^1H -NMR Spektrumu (ŞRBT 1)



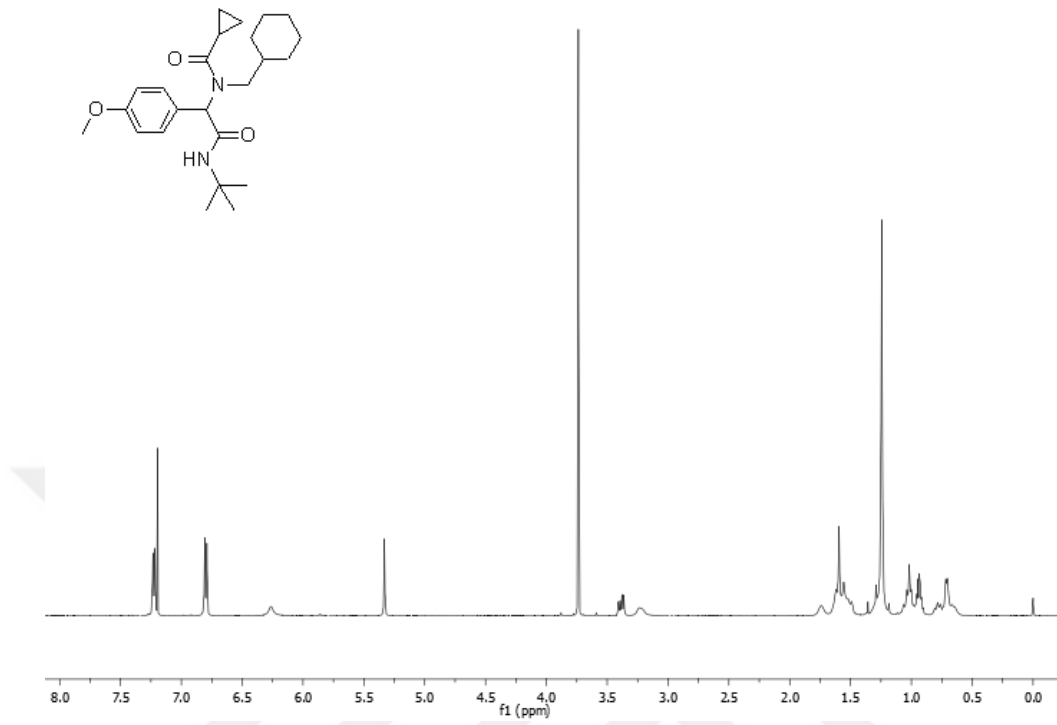
Bileşik 4'ün ^1H -NMR Spektrumu (ŞRBT 2)



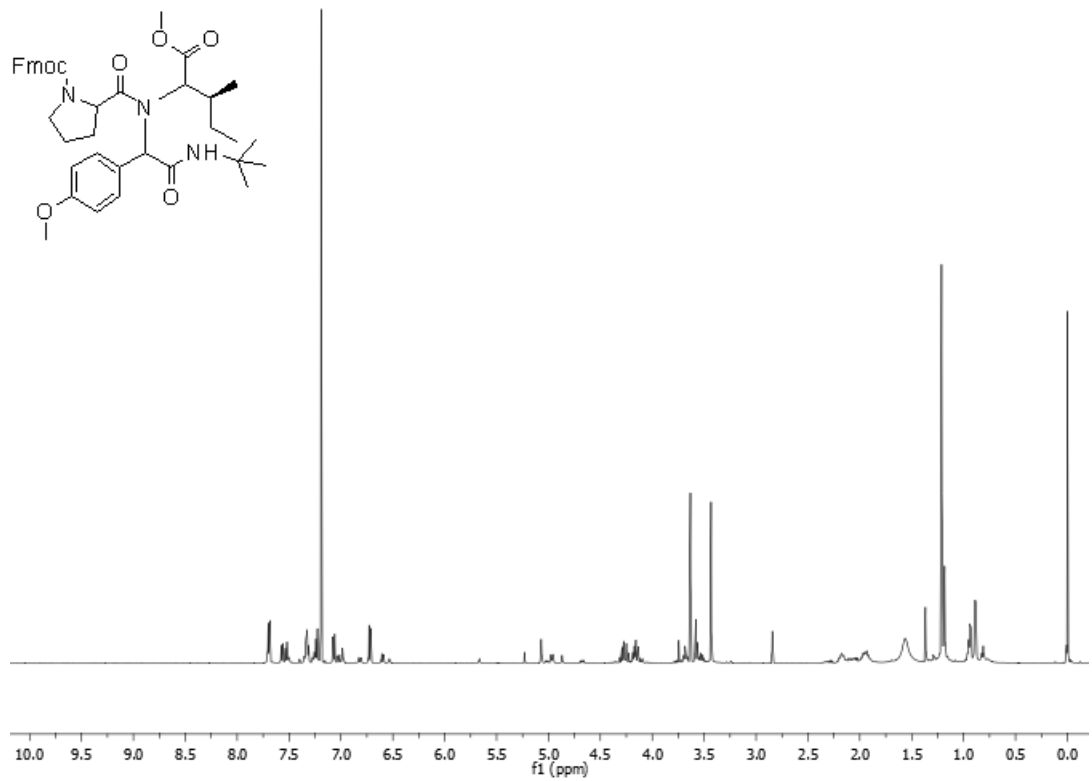
Bileşik 4'ün ^{13}C -NMR Spektrumu (ŞRBT 2)



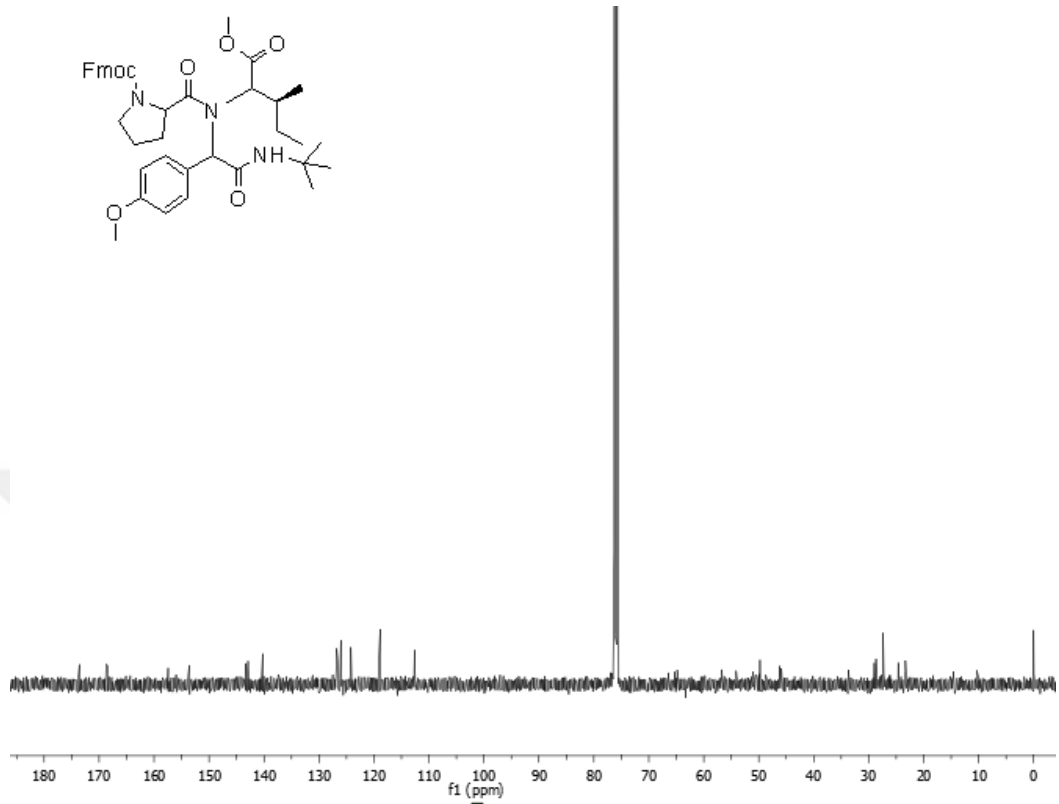
Bileşik 5'in $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (ŞBB 1)



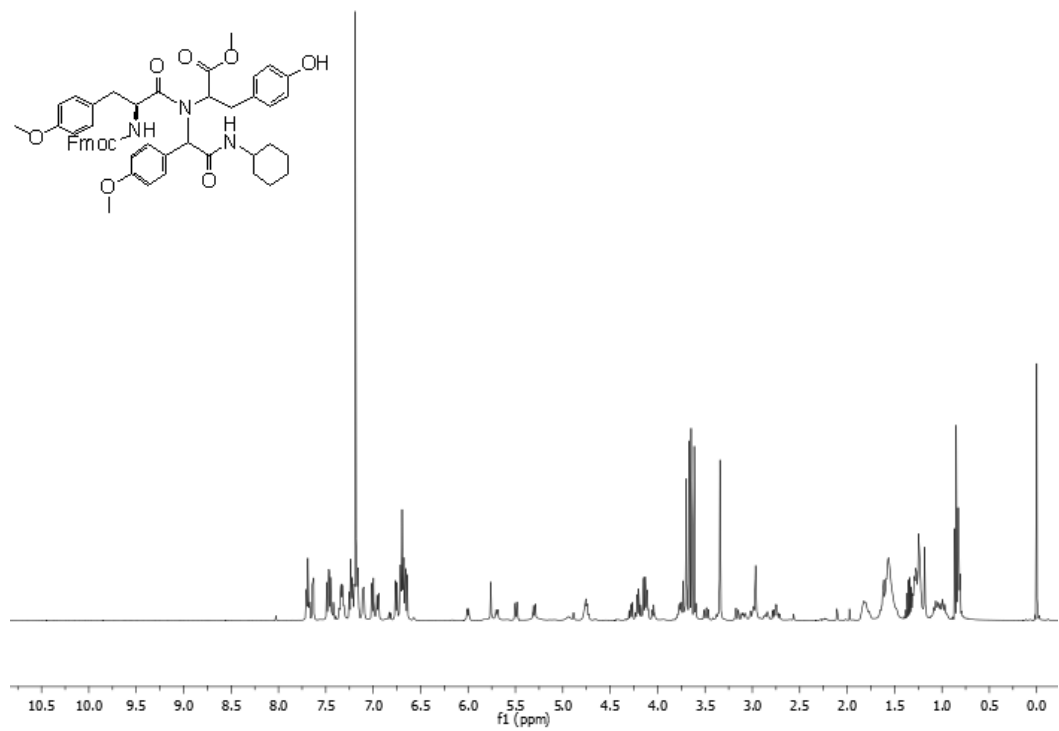
Bileşik 6'nın $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (ŞBB 3)



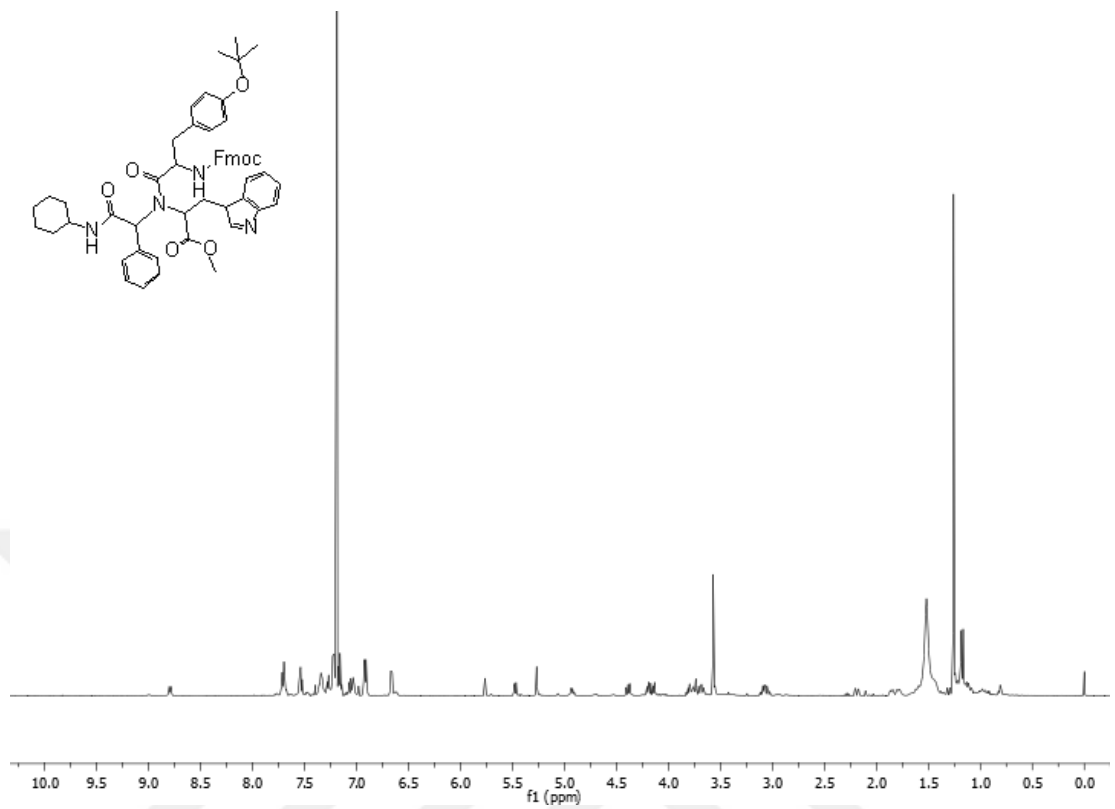
Bileşik 6'nin ^{13}C -NMR Spektrumu (ŞBB 3)



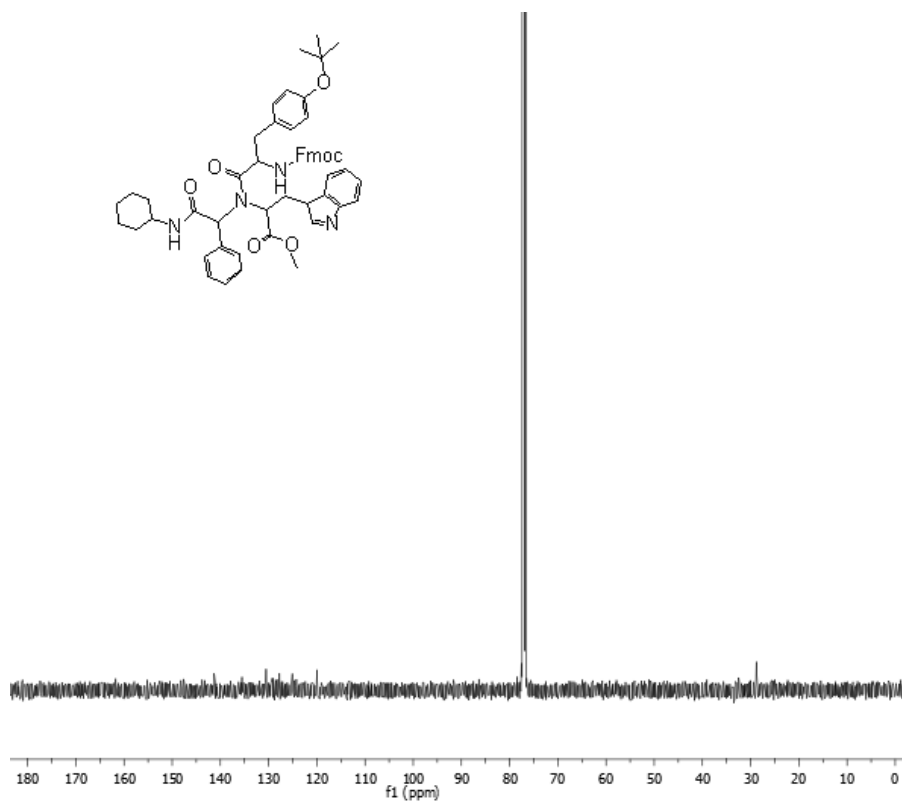
Bileşik 7'nin ^1H -NMR Spektrumu (ŞBB 5)



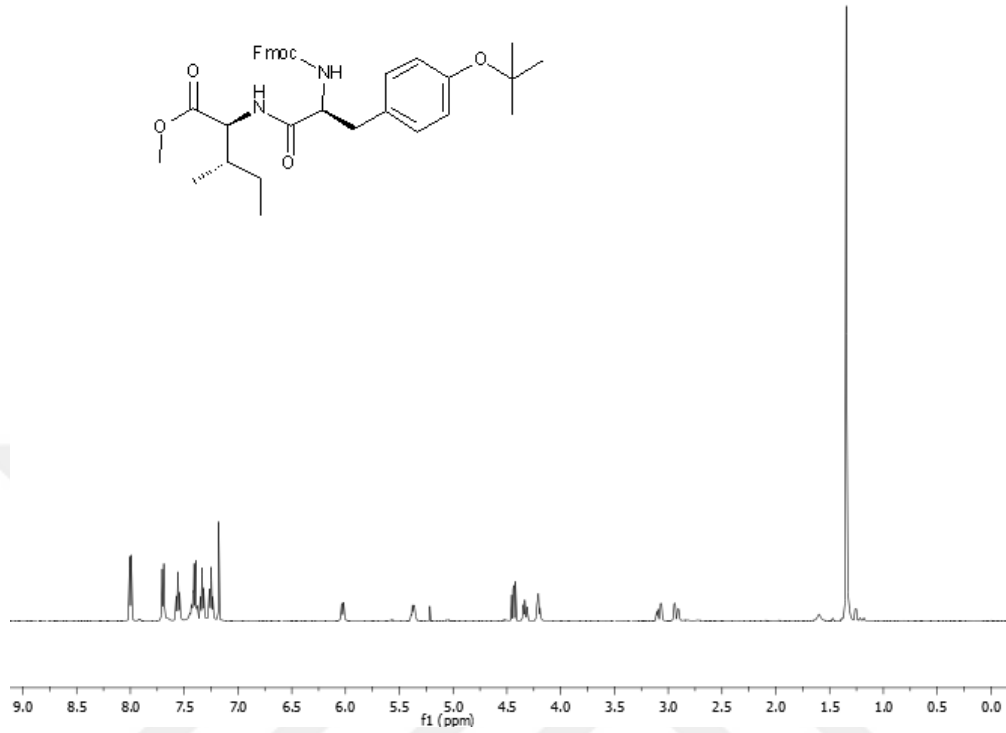
Bileşik 8'in $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (ŞBB 6)



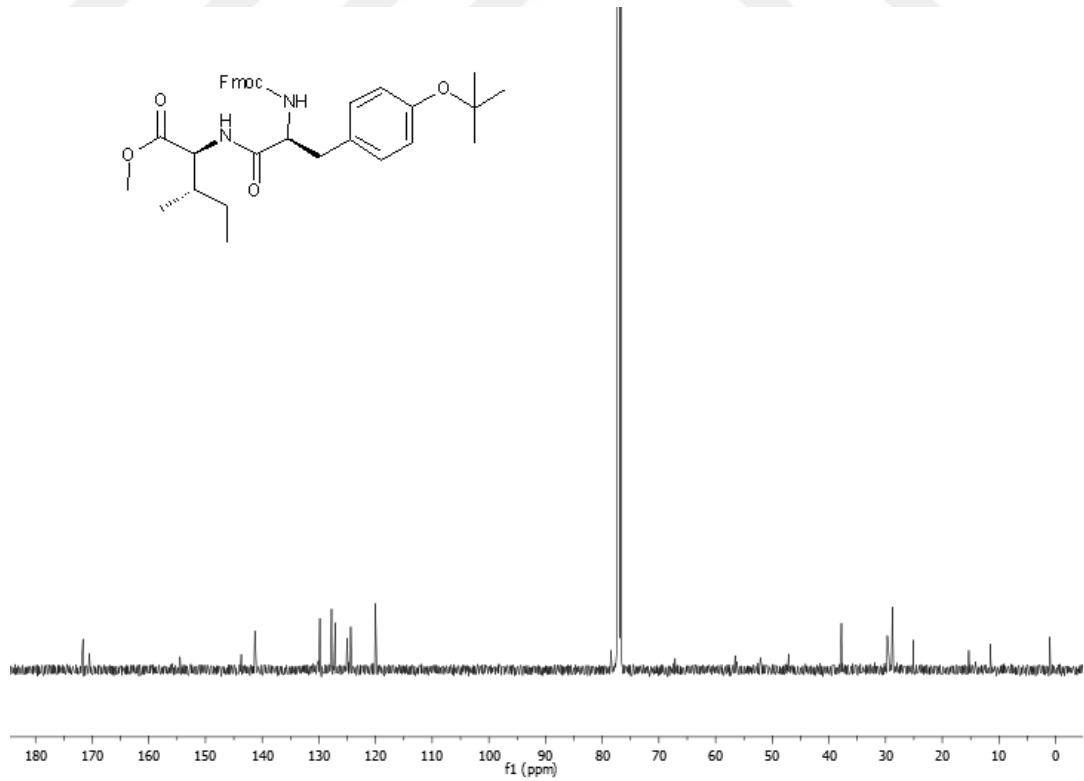
Bileşik 8'in $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrumu (ŞBB 6)



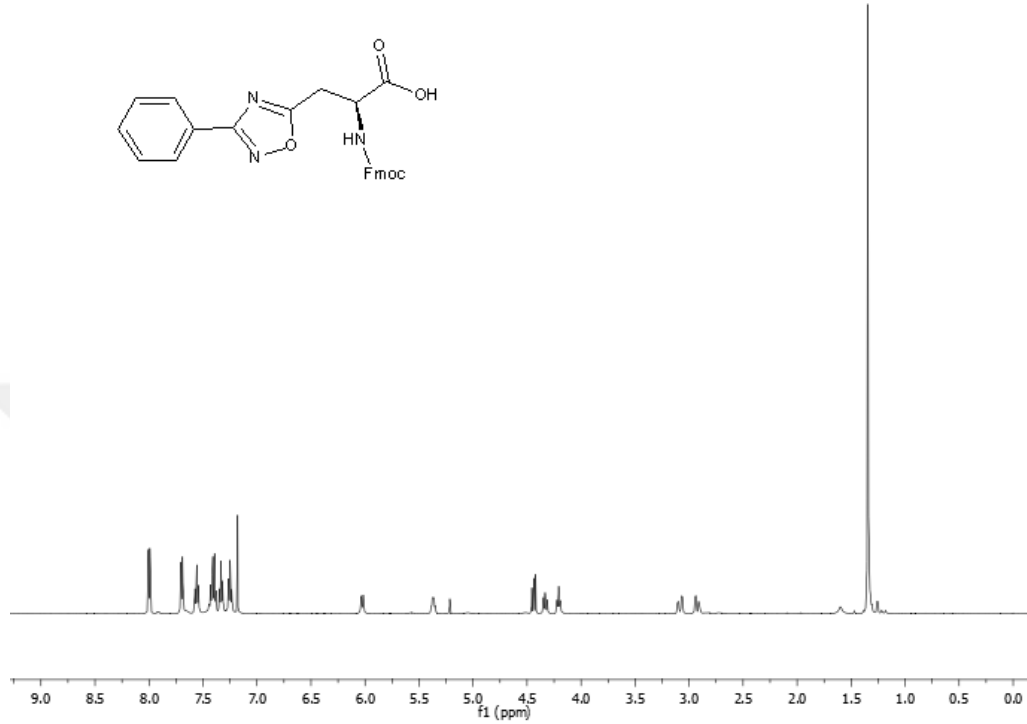
Bileşik 9'un ^1H -NMR Spektrumu (ŞRPT 1)



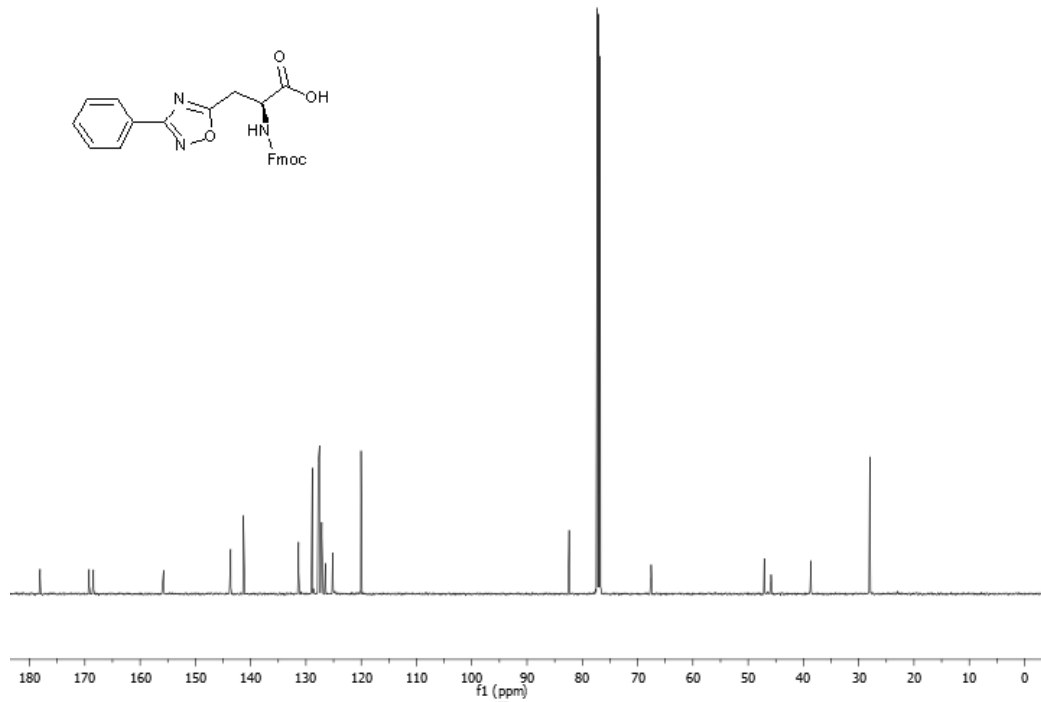
Bileşik 9'un ^{13}C -NMR Spektrumu (ŞRPT 1)



Bileşik 10'un $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (ŞRPT 3)



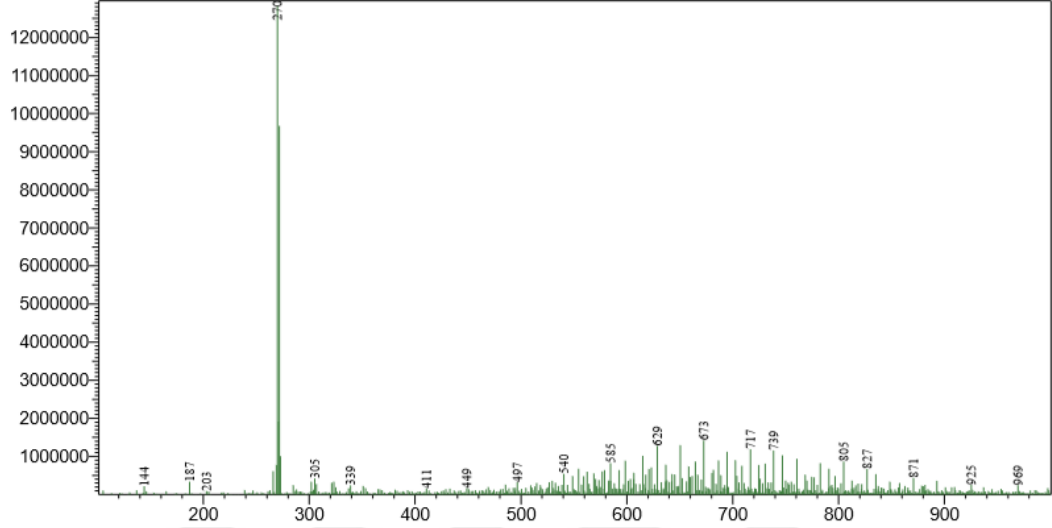
Bileşik 10'un $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrumu (ŞRPT 3)



9. 2. Ek 2 Kütle Spektrumları

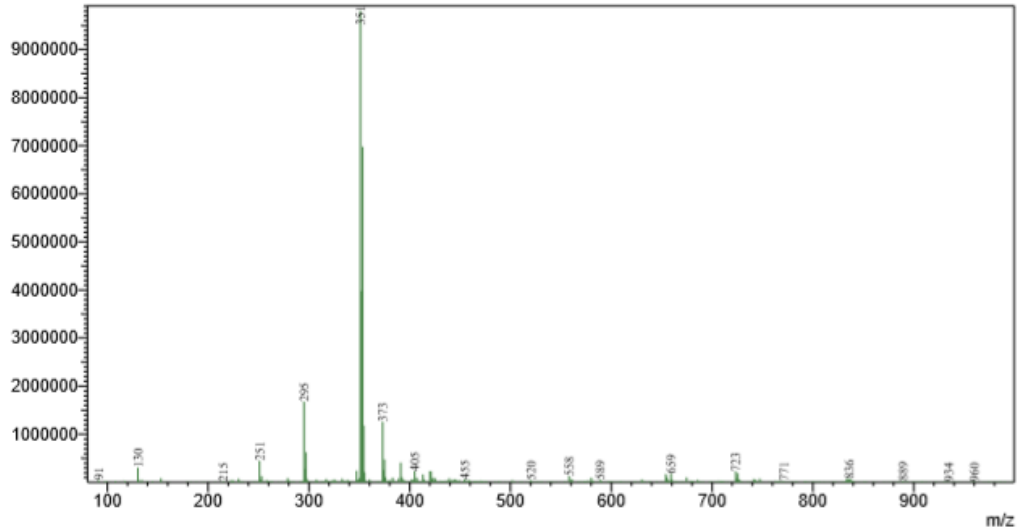
Bileşik 1'in Kütle Spektrumu

Line#:2 R.Time:----(Scan#:----)
MassPeaks:767
RawMode:Averaged 0,143-0,157(44-48) BasePeak:270(12836510)
BG Mode:Calc Segment 1 - Event 2



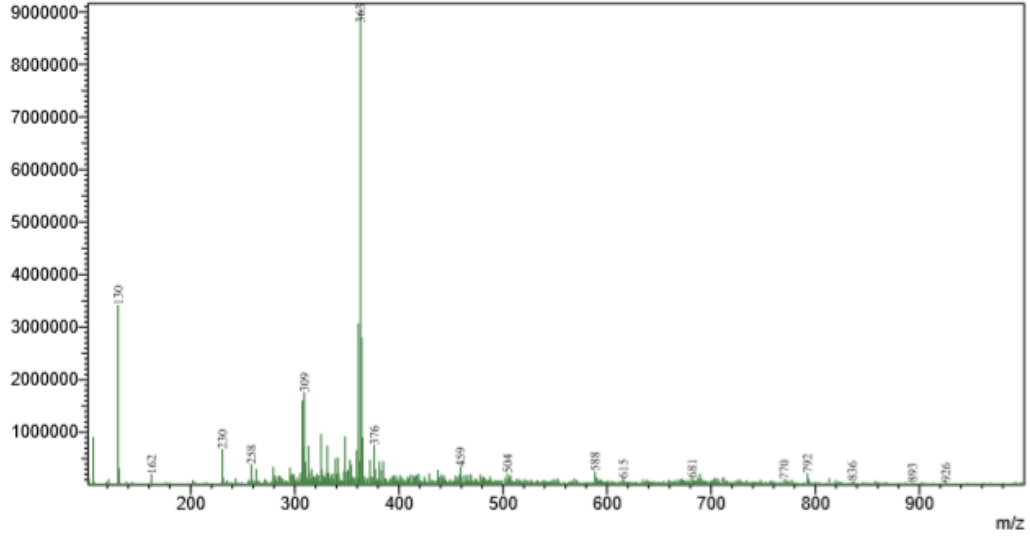
Bileşik 2'nin Kütle Spektrumu

Line#:2 R.Time:----(Scan#:----)
MassPeaks:670
RawMode:Averaged 0,143-0,157(44-48) BasePeak:351(9809369)
BG Mode:Calc Segment 1 - Event 2



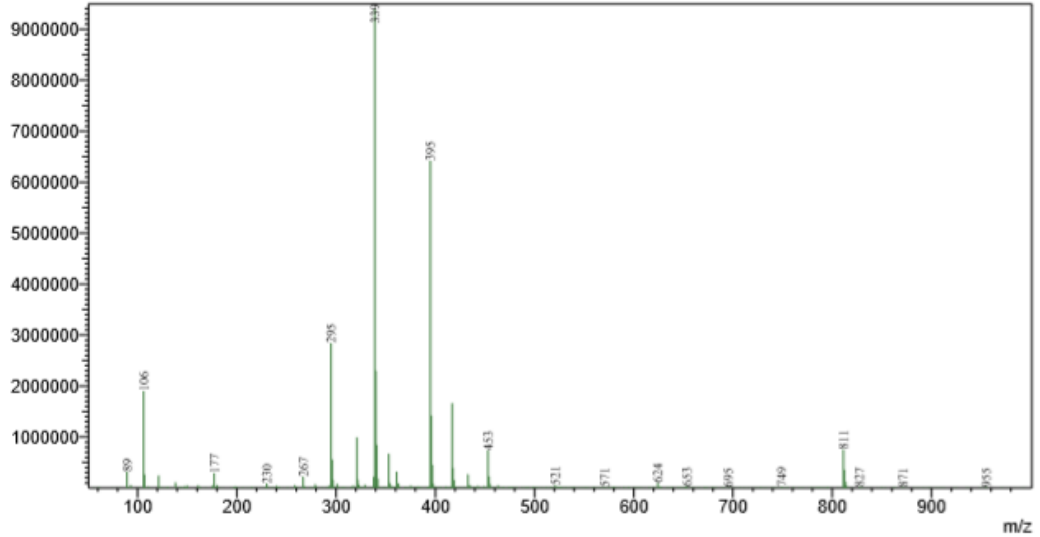
Bileşik 3'ün Kütle Spektrumu

Line#:2 R.Time:----(Scan#:----)
MassPeaks:856
RawMode:Averaged 0,130-0,143(40-44) BasePeak:363(9066941)
BG Mode:Calc Segment 1 - Event 2



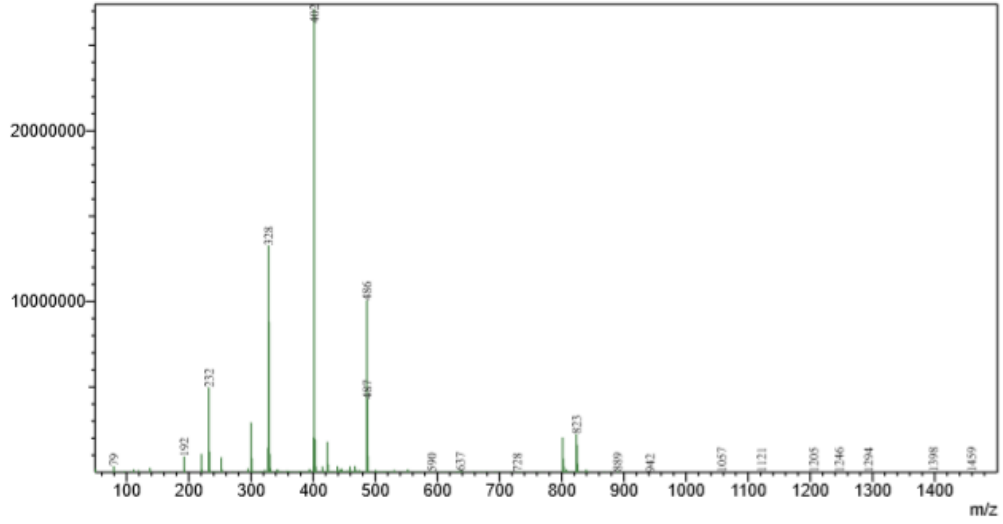
Bileşik 4'ün Kütle Spektrumu

Line#:2 R.Time:----(Scan#:----)
MassPeaks:804
RawMode:Averaged 0,122-0,136(38-42) BasePeak:339(9401010)
BG Mode:Calc Segment 1 - Event 2



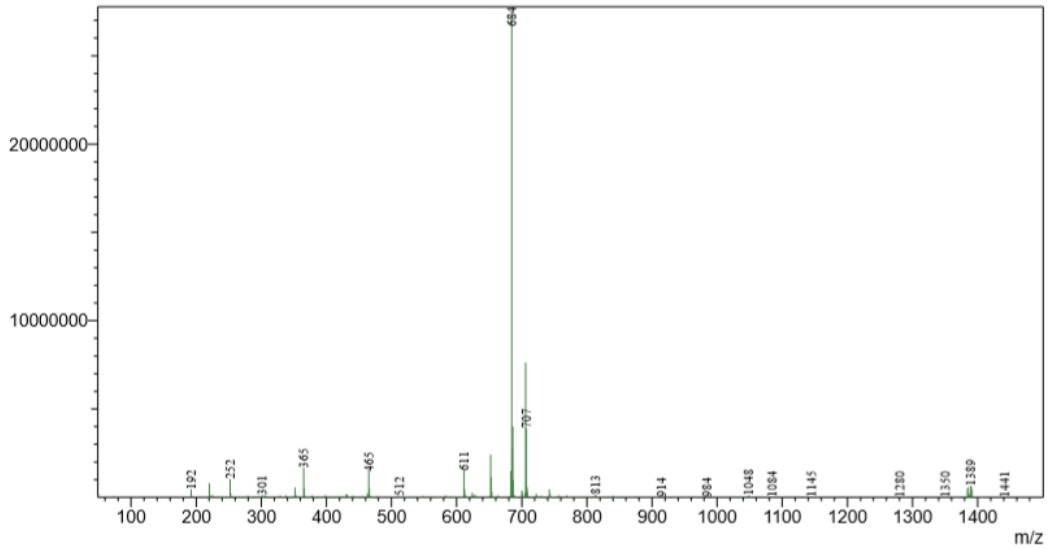
Bileşik 5'in Kütle Spektrumu

Line#:2 R.Time:----(Scan#:----)
MassPeaks:1129
RawMode:Averaged 0,203-0,216(62-66) BasePeak:402(27135308)
BG Mode:Calc Segment 1 - Event 2



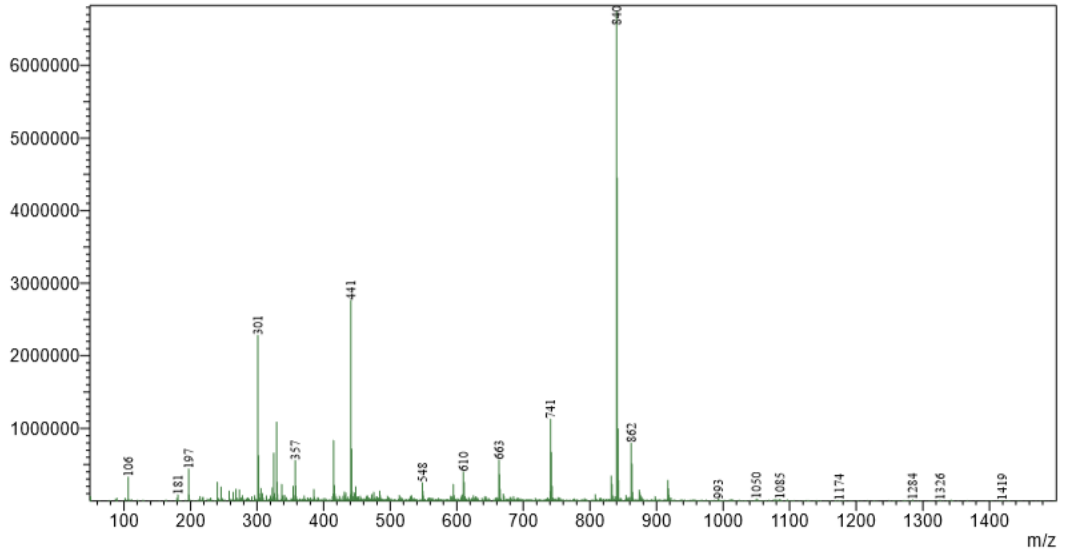
Bileşik 6'nın Kütle Spektrumu

Line#:2 R.Time:----(Scan#:----)
MassPeaks:1256
RawMode:Averaged 0,083-0,096(26-30) BasePeak:684(27499978)
BG Mode:Calc Segment 1 - Event 2



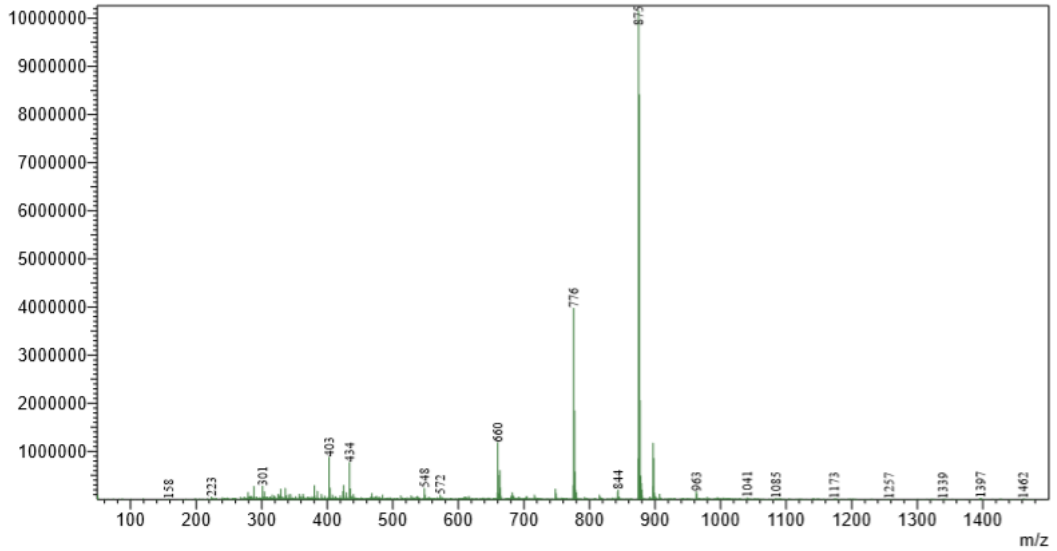
Bileşik 7'nin Kütle Spektrumu

Line#:2 R.Time:----(Scan#:----)
MassPeaks:1287
RawMode:Averaged 0,076-0,089(24-28) BasePeak:840(6758720)
BG Mode:Calc Segment 1 - Event 2



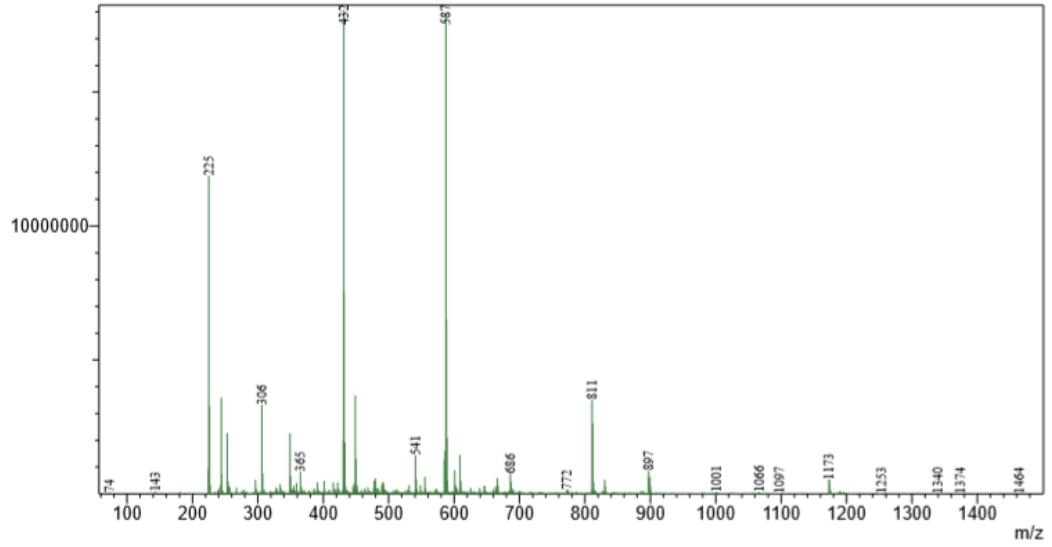
Bileşik 8'in Kütle Spektrumu

Line#:2 R.Time:----(Scan#:----)
MassPeaks:1324
RawMode:Averaged 0,089-0,103(28-32) BasePeak:875(10160361)
BG Mode:Calc Segment 1 - Event 2



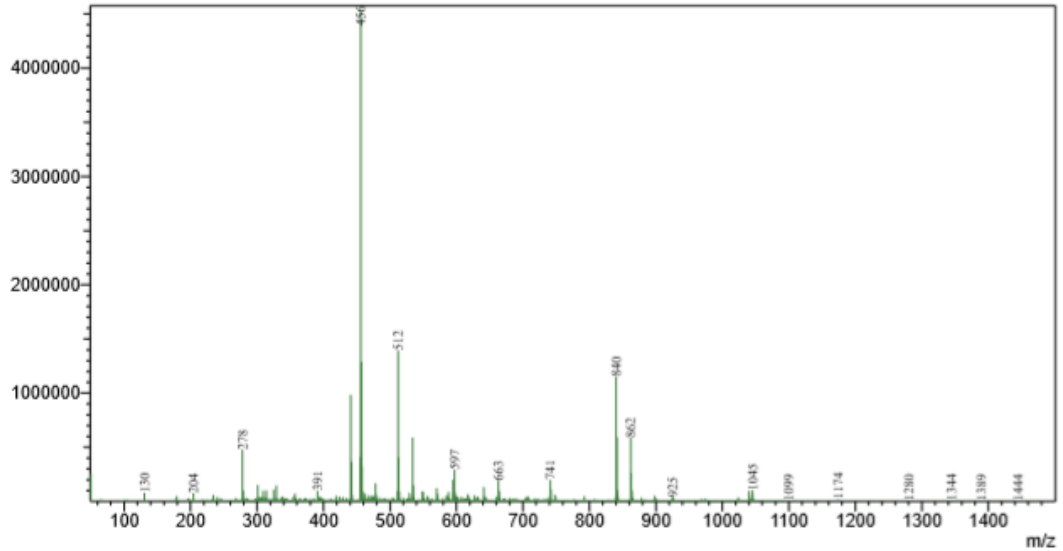
Bileşik 9'un Kütle Spektrumu

Line#:2 R.Time:----(Scan#:----)
MassPeaks:1347
RawMode:Averaged 0,083-0,096(26-30) BasePeak:432(18069774)
BG Mode:Calc Segment 1 - Event 2



Bileşik 10'un Kütle Spektrumu

Line#:2 R.Time:----(Scan#:----)
MassPeaks:1297
RawMode:Averaged 0,083-0,096(26-30) BasePeak:456(4529459)
BG Mode:Calc Segment 1 - Event 2



10. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Şerife Betül	Soyadı	BURUL
Doğum Yeri	Melikgazi/KAYSERİ	Doğum Tarihi	09. 03. 1993
Uyruğu	T. C	TC Kimlik No	---
E- mail	serifebetul.burul@gmail.com	Tel	0 507 990 34 90

Eğitim Düzeyi

Derece	Bölüm	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Beslenme ve Diyetetik	İstanbul Medipol Üniversitesi	2019
Lisans	Eczacılık	İstanbul Medipol Üniversitesi	2018
Lisans	Beslenme ve Diyetetik	İstanbul Medipol Üniversitesi	2015
Lise	----	Necdet Taş Anadolu Lisesi	2010

İş Deneyimi	Görevi	Kurum	Süre
1	Mesul Müdür Eczacı	Sabiha Gökçen Nuray Eczanesi	5,5 Ay
2			

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama	Konuşma	Yazma
İngilizce	Çok iyi	İyi	İyi
Almanca	Orta	Orta	Zayıf
İtalyanca	Zayıf	Zayıf	Zayıf

Yabancı Dil Sınav Notu	
YÖK DİL	72,500

	ALES- Say	ALES- Söz	ALES- EA
ALES Puanı (2019)	73,47361	54,77679	65,20454

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma Becerisi
Microsoft Office 2010 (Word Excel, PowerPoint, Access – Advanced),	Çok iyi

Yayınlar

Yayın Adı	Yıl	Yayınlandığı Yer	Yayın Şekli	Yazarlar
Ghrelin O-Açıl Transferaz Enzim İnhibisyonunun Obezite Üzerine Etkisi	22-25 Mart 2018	Uluslararası 6. İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi	Poster	Şerife Betül BURUL , Mustafa GÜZEL, Özgecan Şavluğ
Özgün GOAT İnhibitör Adaylarının Dizaynı ve Sentezlenmesi	14-17 Mart 2019	Uluslararası 7. İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi	Poster, Kısa Sözel Sunum	Hanife PEKEL, Şerife Betül BURUL , Özge ŞENSOY, Mustafa GÜZEL