

T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ  
ENSTİTÜSÜ

**BİR GRUP AÇILAMİNOALKANAMİT BİLEŞİĞİNİN  
SENTEZİ VE BİYOAKTİVİTELERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

Farmasötik Kimya Programı  
DOKTORA TEZİ

**Uzm.Ecz. Güneş ÇOBAN**

İZMİR - 2011



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ  
ENSTİTÜSÜ

**BİR GRUP AÇILAMİNOALKANAMİT BİLEŞİĞİNİN  
SENTEZİ VE BİYOAKTİVİTELERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

Farmasötik Kimya Programı

DOKTORA TEZİ

**Uzm.Ecz. Güneş ÇOBAN**

Danışman Öğretim Üyesi

Prof. Dr. Varol PABUÇCUOĞLU

İZMİR - 2011

*Bu çalışmayı planlayan, başlatan ve daha sonra tezimin danışmanlığını üstlenerek, değerli bilgi ve yardımları ile yöneten hocam Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof.Dr.Varol PABUÇCUOĞLU'na,*

*Her konuda değerli destek ve yardımını gördüğüm Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi ve Başkanı Prof.Dr.Erçin ERCİYAS ve Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi ve Başkanı Prof.Dr.Aysun PABUÇCUOĞLU'na,*

*Biyolojik aktivite çalışmalarında katkıları bulunan Yrd.Doç.Dr. Petek BALLAR ve Arş.Gör. Fadime AYDIN KÖSE'ye,*

*Elementel analiz ve Kütle spektrumlarının alınmasında katkı sağlayan Prof.Dr.Hakan GÖKER ve Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarına,*

*NMR spektrumlarının alınmasında katkı sağlayan Ege Üniversitesi NMR EBİLTEM Uydu Laboratuvarına*

*Çalışmalarına mali destek sağlayan E. Ü. Araştırma Fonu'na (Proje No: : 09/ECZ/015),*

*İlgi, yardım ve sabırlarından dolayı aileme en içten teşekkürlerimi, sevgilerimi ve saygılarımı sunuyorum*

# İÇİNDEKİLER

<b>GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>TEORİK BÖLÜM</b> .....	<b>6</b>
<b>I. SİKLOOKSİJENAZ İZOENZİMLERİ HAKKINDA GENEL BİLGİLER</b>	<b>6</b>
A. Araşidonik Asit Kaskatı .....	6
B. Siklooksijenaz Yolağı .....	9
C. Siklooksijenaz İzoenzimleri .....	12
1. Siklooksijenaz -1 İzofomu .....	13
2. Siklooksijenaz -2 İzofomu .....	13
3. Siklooksijenaz -1 ve Siklooksijenaz -2 İzoenzimlerine Bağlanma .....	14
D. Siklooksijenaz İzoenzimleri İle İlişkilendirilen Hastalıklar .....	18
1. Nörolojik Rahatsızlıklar .....	18
2. Çeşitli Kanser Türleri .....	23
3. Kardiyovasküler Sistem Hastalıkları .....	28
4. Kemikler ve Artritler .....	30
E. Antiinflamatuvar İlaçlar .....	31
1. Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçların Sınıflandırılması .....	31
2. Selektif Siklooksijenaz-1 İnhibitörleri .....	32
3. Nonselektif Siklooksijenaz İnhibitörleri .....	33
4. Tercihli Siklooksijenaz-2 İnhibitörleri .....	34
5. Yüksek Selektiviteli Siklooksijenaz-2 İnhibitörleri .....	34
a. Visinal Diaril Heterosiklikler .....	35
b. Diaril- ve Aril-Heteroaril Eterler .....	38

c. Siklooksijenaz-2 Selektivitesini Arttırmak İçin NSAİİ'lerin Modifikasyonu İle Elde Edilen Bileşikler.....	39
d. 1,2-Diariletilen Türevleri .....	41
e. Antioksidan Etkili Bileşikler.....	42
F. Talidomit .....	43
<b>II. YENİ SIKLOOKSİJENAZ İNHİBİTÖRÜ BİLEŞİKLERİN</b>	
<b>GELİŞTİRMESİ AMACIYLA YAPILAN ÇALIŞMALAR.....48</b>	
A. 2005 Yılında Yayınlanmış Çalışmalar.....	48
B. 2006 Yılında Yayınlanmış Çalışmalar.....	54
C. 2007 Yılında Yayınlanmış Çalışmalar.....	61
D. 2008 Yılında Yayınlanmış Çalışmalar.....	69
E. 2009 Yılında Yayınlanmış Çalışmalar.....	76
F. 2010 Yılında Yayınlanmış Çalışmalar.....	81
<b>DENEYSEL BÖLÜM .....</b>	<b>87</b>
<b>I. SENTEZLER VE SPEKTRAL BULGULAR.....</b>	<b>87</b>
A. Materyal.....	87
B. Yöntemler.....	87
1. Kromatografik Yöntemler.....	87
2. Spektral Analizler .....	88
3. Erime Derecesi Tayinleri .....	88
4. Elementel Analizler.....	89
C. Bileşiklerin Sentezi.....	89
1. Benzoil Klorür ve Tiyofen-2-karbonil Klorür Bileşiklerinin Sentezi.....	89
2. Hippürik Asit ve 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetik Asit Bileşiklerinin Sentezi.....	89

3. Hippürük Asit Metil Esteri ve 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetik Asit Metil Esteri Bileşiklerinin Sentezi .....	90
4. 2-Benzamidoasetamit Türevi Bileşiklerin Sentezi.....	90
5. 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamit Türevi Bileşiklerin Sentezi .....	91
6. Metil Glisinat Hidroklorür Bileşiğinin Sentezi .....	92
7. 2/3/4-Pikolinoil Klorür Hidroklorür Bileşiklerinin Sentezi.....	93
8. N-2/3/4-Pikolinamidoasetik Asit Metil Esteri Bileşiklerinin Sentezi .....	93
9. 2/3/4-Pikolinamidoasetamit Türevi Bileşiklerin Sentezi .....	94
D. Spektral Bulgular.....	96
NBG-A Bileşiğinin Spektral Bulguları .....	96
NBG-P Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	101
NBG-M Bileşiğinin Spektral Bulguları .....	106
NBG-Piro Bileşiğinin Spektral Bulguları .....	111
NBG-Isp Bileşiğinin Spektral Bulguları .....	116
NBG-DM Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	121
NTG-A Bileşiğinin Spektral Bulguları .....	126
NTG-P Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	131
NTG-M Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	136
NTG-Piro Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	141
NTG-Isp Bileşiğinin Spektral Bulguları .....	146
NTG-DM Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	151
NNG-A Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	156
NNG-P Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	161
NNG-M Bileşiğinin Spektral Bulguları .....	166
NNG-Piro Bileşiğinin Spektral Bulguları .....	171

NNG-Isp Bileşiminin Spektral Bulguları.....	176
NNG-DM Bileşiminin Spektral Bulguları .....	181
NING-A Bileşiminin Spektral Bulguları.....	186
NING-P Bileşiminin Spektral Bulguları .....	191
NING-M Bileşiminin Spektral Bulguları.....	196
NING-Piro Bileşiminin Spektral Bulguları.....	201
NING-Isp Bileşiminin Spektral Bulguları.....	206
NING-DM Bileşiminin Spektral Bulguları.....	211
NPG-A Bileşiminin Spektral Bulguları.....	216
NPG-P Bileşiminin Spektral Bulguları .....	221
NPG-M Bileşiminin Spektral Bulguları.....	226
NPG-Piro Bileşiminin Spektral Bulguları.....	231
NPG-Isp Bileşiminin Spektral Bulguları .....	236
NPG-DM Bileşiminin Spektral Bulguları.....	241

## **II. BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI VE ELDE EDİLEN**

<b>BULGULAR.....</b>	<b>246</b>
A. Materyal.....	246
1. Biyolojik Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Kitler, Malzemeler ve Kimyasallar .....	246
2. Biyolojik Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Gereçler.....	247
3. Biyolojik Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Çözeltiler.....	247
a. 1 mg/ ml İnterlökin-1 $\beta$ Çözeltisinin Hazırlanması .....	247
b. Örneklerin Hazırlanması .....	248
c. Hücre Kültürü Çalışmalarında Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması .	248



d. SDS-PAGE İşlemi Sırasında Kullanılan Çözeltiler .....	249
e. Western Blotlamada Kullanılan Çözeltiler .....	250
B. Yöntem.....	251
1. Hücre Kültürü .....	251
a. Hücre Hattının Seçimi.....	251
b. Pasajlama .....	251
c. İlaç Uygulama .....	252
2. Hücre Lizatının Hazırlanması Ve Protein Miktar Tayini.....	252
a. Protein Miktar Tayini.....	253
3. Western Blotlama.....	255
a. Western Blotlama Protokolü.....	255
b. SDS-PAGE.....	255
c. Transfer .....	257
d. Membrandaki Proteinlerin Görülmesi ve Bloklama .....	257
e. İmmüno blotlama .....	258
4. Prostaglandin E <sub>2</sub> miktar tayini .....	259
a. Örneklerin Hazırlanması .....	259
b. Çözeltilerin Hazırlanması .....	260
c. Deneyin Yapılışı .....	262
C. Biyolojik Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular.....	264
<b>TARTIŞMA .....</b>	<b>278</b>
<b>I. SENTEZ ÇALIŞMALARI.....</b>	<b>282</b>
A. 2-Benzamidoasetamit Türevi Bileşiklerin Sentezi .....	282
B. 2-(Tiyofen-2-Karboksamido)Asetamit Türevi Bileşiklerin Sentezi.....	283

C.	2-Nikotinamidoasetamit, 2-İzonikotinamidoasetamit ve 2-(2-Pikolinamido)asetamit Türevi Bileşiklerin Sentezi .....	284
<b>II.</b>	<b>SPEKTRAL BULGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ.....</b>	<b>286</b>
A.	UV Bulgularının Değerlendirilmesi.....	286
B.	IR Bulguların Değerlendirilmesi .....	287
C.	<sup>1</sup> H NMR Bulgularının Değerlendirilmesi .....	290
1.	2-Benzamidoasetamit Türevi Bileşiklerin <sup>1</sup> H NMR Bulgularının Değerlendirilmesi.....	290
2.	2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamit Türevi Bileşiklerin <sup>1</sup> H NMR Bulgularının Değerlendirilmesi.....	293
3.	2-Nikotinamidoasetamit Türevi Bileşiklerin <sup>1</sup> H NMR Bulgularının Değerlendirilmesi.....	297
4.	2-İzonikotinamidoasetamit Türevleri Bileşiklerin <sup>1</sup> H NMR Bulgularının Değerlendirilmesi.....	300
5.	2-(2-Pikolinamido)asetamit Türevi Bileşiklerin <sup>1</sup> H NMR Bulgularının Değerlendirilmesi.....	303
D.	MASS Bulguların Değerlendirilmesi.....	306
<b>III.</b>	<b>BİLEŞİKLERİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİN VE YAPI-AKTİVİTE İLİŞKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....</b>	<b>308</b>
A.	Sentezi Gerçekleştirilen Bileşiklerin COX-2 İzoenzim Ekspresyonu Üzerine Olan Etkileri.....	308
B.	Sentezi Gerçekleştirilen Bileşiklerin PGE <sub>2</sub> Biyosentezi Üzerine Olan İnhibitör Etkileri.....	309
C.	Sentezi Gerçekleştirilen Bileşiklerin Biyolojik Aktivitelerinin Yapısal	

Özelliklerle İlişkilendirilerek Değerlendirilmesi.....	310
<b>SONUÇ</b> .....	<b>317</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>319</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>323</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>327</b>

# TABLolar, ŞEMALAR, ŞEKİLLER VE SPEKTRUMLAR

## TABLolar

Tablo 1. 2-Benzamidoasetamit ve 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamit Türevi Bileşiklerin Erime Derecesi, % Verim, Kristallendirme Solvanları ve Kullanılan Aminler .....	92
Tablo 2. 2-Nikotinamidoasetamit, 2-İzonikotinamidoasetamit ve 2-(2-Pikolinamido)asetamit Türevi Bileşiklerin Erime Derecesi, % Verim, Kristallendirme Solvanları ve Kullanılan Aminler .....	95
Tablo 3. Standart Albümin Çözeltilerinin Hazırlanması.....	254
Tablo 4. SDS-PAGE Ayırma Jeli Hazırlanması .....	256
Tablo 5. SDS-PAGE Yığınlama Jeli Hazırlanması .....	256
Tablo 6. 2-Benzamidoasetamit, 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamit, 2-Nikotinamidoasetamit, 2-İzonikotinamidoasetamit ve 2-(2-Pikolinamido)asetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE <sub>2</sub> Düzeyine Etkisi .....	264
Tablo 7. 2-Benzamidoasetamit, 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamit, 2-Nikotinamidoasetamit, 2-İzonikotinamidoasetamit ve 2-(2-Pikolinamido)asetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi .....	266
Tablo 8. 2-Benzamidoasetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi .....	268
Tablo 9. 2-Benzamidoasetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE <sub>2</sub> Düzeyine Etkisi .....	269

Tablo 10. 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamid Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi.....	270
Tablo 11. 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamid Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE <sub>2</sub> Düzeyine Etkisi .....	271
Tablo 12. 2-Nikotinamidoasetamid Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi .....	272
Tablo 13. 2-Nikotinamidoasetamid Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE <sub>2</sub> Düzeyine Etkisi .....	273
Tablo 14. 2-İzonikotinamidoasetamid Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi .....	274
Tablo 15. 2-İzonikotinamidoasetamid Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE <sub>2</sub> Düzeyine Etkisi .....	275
Tablo 16. 2-(2-Pikolinamido)asetamid Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi .....	276
Tablo 17. 2-(2-Pikolinamido)asetamid Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE <sub>2</sub> Düzeyine Etkisi .....	277

## ŞEMALAR

Şema 1. Talidomit Üzerinde Yapılan Modifikasyonlar .....	282
Şema 2. 2-Benzamidoasetamid, 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamid, 2-Nikotinamidoasetamid, 2-İzonikotinamidoasetamid ve 2-(2-Pikolinamido)asetamid Türevi Bileşiklerin Sentez Basamakları.....	285
Şema 3. 2-Benzamidoasetamid, 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamid, 2-Nikotinamidoasetamid, 2-İzonikotinamidoasetamid ve 2-(2-Pikolinamido)asetamid Türevi Bileşiklerin Ana Fragmantasyon Yolağı.....	308

## ŞEKİLLER

Şekil 1. Talidomit Üzerinde Yapılan Modifikasyonlar.....	5
Şekil 2. Araşidonik Asit Kaskatı.....	8
Şekil 3. Siklooksijenaz Yolağı.....	11
Şekil 4. Siklooksijenaz-1 ve Siklooksijenaz-2 İzoenzimlerinin Substrat Bağlanma Bölgeleri Arasındaki Yapısal Farklılıklar.....	17
Şekil 5. Farklı Siklooksijenaz İnhibitörlerinin Kimyasal Yapıları.....	18
Şekil 6. DFU Bileşiğı.....	20
Şekil 7. Selektif Siklooksijenaz-1 İnhibitörleri.....	33
Şekil 8. Nonselektif Siklooksijenaz İnhibitörleri.....	33
Şekil 9. Tercihli Siklooksijenaz-2 İnhibitörleri.....	34
Şekil 10. Visinal Diaril Heterosiklikler.....	38
Şekil 11. Diaril- ve Aril-Heteroaril Eterler.....	39
Şekil 12. Siklooksijenaz-2 Selektivitesini Arttırmak İçin NSAİİ'lerin Modifikasyonu İle Elde Edilen Bileşikler.....	41
Şekil 13. 1,2-Diariletlen Türevleri.....	42
Şekil 14. Antioksidan Etkili Bileşikler.....	42
Şekil 15. Talidomit Bileşiğı ve Analogları.....	47
Şekil 16. % PGE <sub>2</sub> Düzeyi.....	265
Şekil 17. COX-2 Düzeyi.....	267
Şekil 18. 2-Benzamidoasetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi.....	268
Şekil 19. 2-Benzamidoasetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE <sub>2</sub> Düzeyine Etkisi.....	269

Şekil 20. 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamid Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi.....	270
Şekil 21. 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamid Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE <sub>2</sub> Düzeyine Etkisi .....	271
Şekil 22. 2-Nikotinamidoasetamid Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi .....	272
Şekil 23. 2-Nikotinamidoasetamid Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE <sub>2</sub> Düzeyine Etkisi .....	273
Şekil 24. 2-İzonikotinamidoasetamid Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi .....	274
Şekil 25. 2-İzonikotinamidoasetamid Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE <sub>2</sub> Düzeyine Etkisi .....	275
Şekil 26. 2-(2-Pikolinamido)asetamid Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi .....	276
Şekil 27. 2-(2-Pikolinamido)asetamid Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE <sub>2</sub> Düzeyine Etkisi .....	277

## **SPEKTRUMLAR**

Spektrum No 1. NBG-A Bileşiğinin IR Spektrumu .....	98
Spektrum No 2. NBG-A Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu .....	98
Spektrum No 3. NBG-A Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) .....	99
Spektrum No 4. NBG-A Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) .....	99
Spektrum No 5. NBG-A Bileşiğinin MS (ESI+) Spektrumu .....	100
Spektrum No 6. NBG-P Bileşiğinin IR Spektrumu .....	103
Spektrum No 7. NBG-P Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu .....	103

Spektrum No 8. NBG-P Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	104
Spektrum No 9. NBG-P Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	104
Spektrum No 10. NBG-P Bileşığının MS (ESI+) Spektrumu .....	105
Spektrum No 11. NBG-M Bileşığının IR Spektrumu.....	108
Spektrum No 12. NBG-M Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu .....	108
Spektrum No 13. NBG-M Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) .....	109
Spektrum No 14. NBG-M Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) .....	109
Spektrum No 15. NBG-M Bileşığının MS (ESI+) Spektrumu .....	110
Spektrum No 16. NBG-Piro Bileşığının IR Spektrumu.....	113
Spektrum No 17. NBG-Piro Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu .....	113
Spektrum No 18. NBG-Piro Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) .....	114
Spektrum No 19. NBG-Piro Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) .....	114
Spektrum No 20. NBG-Piro Bileşığının MS (ESI+) Spektrumu.....	115
Spektrum No 21. NBG-Isp Bileşığının IR Spektrumu .....	118
Spektrum No 22. NBG-Isp Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu .....	118
Spektrum No 23. NBG-Isp Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	119
Spektrum No 24. NBG-Isp Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	119
Spektrum No 25. NBG-Isp Bileşığının MS (ESI+) Spektrumu.....	120
Spektrum No 26. NBG-DM Bileşığının IR Spektrumu.....	123
Spektrum No 27. NBG-DM Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu.....	123
Spektrum No 28. NBG-DM Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	124
Spektrum No 29. NBG-DM Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	124
Spektrum No 30. NBG-DM Bileşığının MS (ESI+) Spektrumu .....	125
Spektrum No 31. NTG-A Bileşığının IR Spektrumu.....	128
Spektrum No 32. NTG-A Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu .....	128



Spektrum No 33. NTG-A Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) .....	129
Spektrum No 34. NTG-A Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) .....	129
Spektrum No 35. NTG-A Bileşığının MS (ESI+) Spektrumu .....	130
Spektrum No 36. NTG-P Bileşığının IR Spektrumu .....	133
Spektrum No 37. NTG-P Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu .....	133
Spektrum No 38. NTG-P Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) .....	134
Spektrum No 39. NTG-P Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) .....	134
Spektrum No 40. NTG-P Bileşığının MS (ESI+) Spektrumu.....	135
Spektrum No 41. NTG-M Bileşığının IR Spektrumu .....	138
Spektrum No 42. NTG-M Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu.....	138
Spektrum No 43. NTG-M Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	139
Spektrum No 44. NTG-M Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	139
Spektrum No 45. NTG-M Bileşığının MS (ESI+) Spektrumu .....	140
Spektrum No 46. NTG-Piro Bileşığının IR Spektrumu .....	143
Spektrum No 47. NTG-Piro Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu.....	143
Spektrum No 48. NTG-Piro Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	144
Spektrum No 49. NTG-Piro Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	144
Spektrum No 50. NTG-Piro Bileşığının MS (ESI+) Spektrumu .....	145
Spektrum No 51. NTG-Isp Bileşığının IR Spektrumu.....	148
Spektrum No 52. NTG-Isp Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu .....	148
Spektrum No 53. NTG-Isp Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) .....	149
Spektrum No 54. NTG-Isp Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) .....	149
Spektrum No 55. NTG-Isp Bileşığının MS (ESI+) Spektrumu .....	150
Spektrum No 56. NTG-DM Bileşığının IR Spektrumu .....	153
Spektrum No 57. NTG-DM Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu.....	153

Spektrum No 58. NTG-DM Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	154
Spektrum No 59. NTG-DM Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	154
Spektrum No 60. NTG-DM Bileşığının MS (ESI+) Spektrumu .....	155
Spektrum No 61. NNG-A Bileşığının IR Spektrumu .....	158
Spektrum No 62. NNG-A Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu .....	158
Spektrum No 63. NNG-A Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	159
Spektrum No 64. NNG-A Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	159
Spektrum No 65. NNG-A Bileşığının MS (ESI+) Spektrumu.....	160
Spektrum No 66. NNG-P Bileşığının IR Spektrumu.....	163
Spektrum No 67. NNG-P Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu.....	163
Spektrum No 68. NNG-P Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	164
Spektrum No 69. NNG-P Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	164
Spektrum No 70. NNG-P Bileşığının MS (ESI+) Spektrumu .....	165
Spektrum No 71. NNG-M Bileşığının IR Spektrumu.....	168
Spektrum No 72. NNG-M Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu .....	168
Spektrum No 73. NNG-M Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) .....	169
Spektrum No 74. NNG-M Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) .....	169
Spektrum No 75. NNG-M Bileşığının MS (ESI+) Spektrumu .....	170
Spektrum No 76. NNG-Piro Bileşığının IR Spektrumu .....	173
Spektrum No 77. NNG-Piro Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu .....	173
Spektrum No 78. NNG-Piro Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	174
Spektrum No 79. NNG-Piro Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	174
Spektrum No 80. NNG-Piro Bileşığının MS (ESI+) Spektrumu.....	175
Spektrum No 81. NNG-Isp Bileşığının IR Spektrumu .....	178
Spektrum No 82. NNG-Isp Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu .....	178

Spektrum No 83. NNG-Isp Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	179
Spektrum No 84. NNG-Isp Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	179
Spektrum No 85. NNG-Isp Bileşiğinin MS (ESI+) Spektrumu.....	180
Spektrum No 86. NNG-DM Bileşiğinin IR Spektrumu.....	183
Spektrum No 87. NNG-DM Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu .....	183
Spektrum No 88. NNG-DM Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) .....	184
Spektrum No 89. NNG-DM Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) .....	184
Spektrum No 90. NNG-DM Bileşiğinin MS (ESI+) Spektrumu .....	185
Spektrum No 91. NING-A Bileşiğinin IR Spektrumu.....	188
Spektrum No 92. NING-A Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu.....	188
Spektrum No 93. NING-A Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	189
Spektrum No 94. NING-A Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	189
Spektrum No 95. NING-A Bileşiğinin MS (ESI+) Spektrumu .....	190
Spektrum No 96. NING-P Bileşiğinin IR Spektrumu.....	193
Spektrum No 97. NING-P Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu .....	193
Spektrum No 98. NING-P Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) .....	194
Spektrum No 99. NING-P Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) .....	194
Spektrum No 100. NING-P Bileşiğinin MS (ESI+) Spektrumu .....	195
Spektrum No 101. NING-M Bileşiğinin IR Spektrumu .....	198
Spektrum No 102. NING-M Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu .....	198
Spektrum No 103. NING-M Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	199
Spektrum No 104. NING-M Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	199
Spektrum No 105. NING-M Bileşiğinin MS (ESI+) Spektrumu.....	200
Spektrum No 106. NING-Piro Bileşiğinin IR Spektrumu .....	203
Spektrum No 107. NING-Piro Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu.....	203

Spektrum No 108. NING-Piro Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)....	204
Spektrum No 109. NING-Piro Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)....	204
Spektrum No 110. NING-Piro Bileşiğinin MS (ESI+) Spektrumu .....	205
Spektrum No 111. NING-Isp Bileşiğinin IR Spektrumu .....	208
Spektrum No 112. NING-Isp Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu.....	208
Spektrum No 113. NING-Isp Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	209
Spektrum No 114. NING-Isp Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	209
Spektrum No 115. NING-Isp Bileşiğinin MS (ESI+) Spektrumu .....	210
Spektrum No 116. NING-DM Bileşiğinin IR Spektrumu .....	213
Spektrum No 117. NING-DM Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu .....	213
Spektrum No 118. NING-DM Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) ....	214
Spektrum No 119. NING-DM Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) ....	214
Spektrum No 120. NING-DM Bileşiğinin MS (ESI+) Spektrumu.....	215
Spektrum No 121. NPG-A Bileşiğinin IR Spektrumu .....	218
Spektrum No 122. NPG-A Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu.....	218
Spektrum No 123. NPG-A Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	219
Spektrum No 124. NPG-A Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	219
Spektrum No 125. NPG-A Bileşiğinin MS (ESI+) Spektrumu .....	220
Spektrum No 126. NPG-P Bileşiğinin IR Spektrumu.....	223
Spektrum No 127. NPG-P Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu .....	223
Spektrum No 128. NPG-P Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) .....	224
Spektrum No 129. NPG-P Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş) .....	224
Spektrum No 130. NPG-P Bileşiğinin MS (ESI+) Spektrumu .....	225
Spektrum No 131. NPG-M Bileşiğinin IR Spektrumu .....	228
Spektrum No 132. NPG-M Bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR Spektrumu .....	228

Spektrum No 133. NPG-M Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	229
Spektrum No 134. NPG-M Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	229
Spektrum No 135. NPG-M Bileşığının MS (ESI+) Spektrumu.....	230
Spektrum No 136. NPG-Piro Bileşığının IR Spektrumu .....	233
Spektrum No 137. NPG-Piro Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu.....	233
Spektrum No 138. NPG-Piro Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	234
Spektrum No 139. NPG-Piro Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	234
Spektrum No 140. NPG-Piro Bileşığının MS (ESI+) Spektrumu .....	235
Spektrum No 141. NPG-Isp Bileşığının IR Spektrumu.....	238
Spektrum No 142. NPG-Isp Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu.....	238
Spektrum No 143. NPG-Isp Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	239
Spektrum No 144. NPG-Isp Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	239
Spektrum No 145. NPG-Isp Bileşığının MS (ESI+) Spektrumu .....	240
Spektrum No 146. NPG-DM Bileşığının IR Spektrumu .....	243
Spektrum No 147. NPG-DM Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu .....	243
Spektrum No 148. NPG-DM Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	244
Spektrum No 149. NPG-DM Bileşığının <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	244
Spektrum No 150. NPG-DM Bileşığının MS (ESI+) Spektrumu.....	245

## GİRİŞ

İnflamasyon, farklı hücre tiplerine ve faktörlerine gereksinim duyan, patojenik, travmatik ya da toksik yaralanmalara karşı doku hasarını kontrol eden kompleks bir süreçtir. İnflamasyon süreci, hücre kemotaksisini, hücre migrasyonunu ve hücre proliferasyonunu düzenleyen proinflamatuvar ve antiinflamatuvar moleküllerle kontrol edilmektedir (27). İnflamasyon her ne kadar vücudun bir savunma mekanizması olsa da kronik inflamasyon, kanser, diabet, kardiyovasküler, pulmoner, nörolojik ve otoimmün hastalıklarda etkili olabilmektedir (2, 27, 70, 77, 93, 114). İnflamasyon oluşumuna araşidonik asit kaskatı ile oluşan eikosanoid olarak isimlendirilen araşidonik asit metabolitleri tarafından aracılık edilmektedir (61).

Araşidonik asit birçok memeli için gerekli olan bir esansiyel yağ asitidir. Eikosanoidler siklooksijenaz (COX), lipoksioksijenaz (LOX) ve sitokrom P450 epoksijenaz (CYP 450) enzimlerinin katalitik aktiviteleri ile araşidonik asitten oluşmaktadırlar (61, 92). Eikosanoidler, hücre içi fizyolojik ve patofizyolojik olaylarla ilgili sinyal kaskatında merkezi bir rol oynamaktadırlar (42, 61, 92). Eikosanoidler sadece hücre içi sinyal kaskatının düzenlenmesinde değil aynı zamanda inflamatuvar yanıtların indüklenmesine de katkıda bulunmaktadırlar (61). İnflamasyondan sorumlu eikosanoidlerden olan prostaglandinler, araşidonik asit kaskatında etkili olan siklooksijenaz enzimleri tarafından sentezlenmektedirler. Bu nedenle siklooksijenaz enzimleri antiinflamatuvar ilaçlar için önemli bir hedef oluşturmaktadır (64).

COX enzimlerinin 3 izoformu vardır. Bunlar COX-1, COX-2 ve COX-3'tür. COX-1 vücutta birçok dokuda yaygın olarak bulunan, memeli hücre ve dokularında prostaglandinlerin temel seviyesini düzenlemek için üretilen bir enzimdir (61). COX-2 enzimi ise proinflamatuvar ve mitojenik uyarılar olan sitokinler, büyüme faktörleri ve bakteriyel endotoksinler tarafından indüklenerek inflamasyonlu ve neoplastik dokularda eksprese olmaktadır (46, 93). COX-1 ve COX-2 izoformları benzer yapı ve kinetik özelliklere sahiptirler (93). Bununla birlikte bu iki izoenzim bağımsız proteinlerdir. İnsanlarda her iki izoenzime ait genler farklı kromozomlarda bulunmaktadır. Ayrıca bu iki izoform farklı özellikler göstermektedirler. COX-2 izoformu nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) için daha büyük bir bağlanma cebine sahiptir (30).

COX-2 enzimi özellikle kanserli dokularda eksprese olmaktadır. COX-2 enzimi göğüs kanseri, kolon kanseri, prostat kanseri, özafögal adenokarsinom ve akciğer kanserinin apoptozis, proliferasyon, anjiyogenez, istila ve metastaz süreçlerine katkıda bulunmaktadır (2, 61, 70, 77). Ayrıca COX-2 izoenzimi, Alzheimer, Parkinson, Creutzfeldt-Jakob hastalığı ve amiotropik lateral sklerozis (ALS) gibi inflamasyon sonucunda nöron kaybı görülen nörodejeneratif hastalıklarda inflamasyonu ve oksidatif stresi indükleyerek hastalık patojenezinde etkili olmaktadır (93).

NSAİİ'lar inflamasyon görülen hastalıkların tedavisinde önemli rol oynamaktadırlar. NSAİİ'lar antiinflamatuvar etkilerini siklooksijenaz enzimlerini bloke ederek prostaglandin sentezini durdurmak suretiyle göstermektedirler. NSAİİ'lar siklooksijenaz enziminin izoformlarına karşı gösterdikleri selektiviteye göre sınıflandırılmaktadırlar. Sınıflandırmada COX-2/COX-1 IC<sub>50</sub> değerinin oranı kullanılmaktadır. Bu oran enzim selektivitesinin tayini için kabul gören ve yaygın

olarak kullanılmakta olan bir parametredir. NSAİİ'lar selektif COX-1 inhibitörleri, non-selektif COX inhibitörleri, tercihli COX-2 inhibitörleri ve yüksek selektiviteli COX-2 inhibitörleri olarak sınıflandırılmaktadırlar (29). Tercihli COX-2 inhibitörleri bütün hücre sistemlerinde düşük COX-2/COX-1 IC<sub>50</sub> oranına sahiptirler. Selektif COX-2 inhibitörlerinde ise bütün hücre sistemlerinde görülmekte olan COX-2/COX-1 IC<sub>50</sub> oranı 0.001'den daha küçüktür (40).

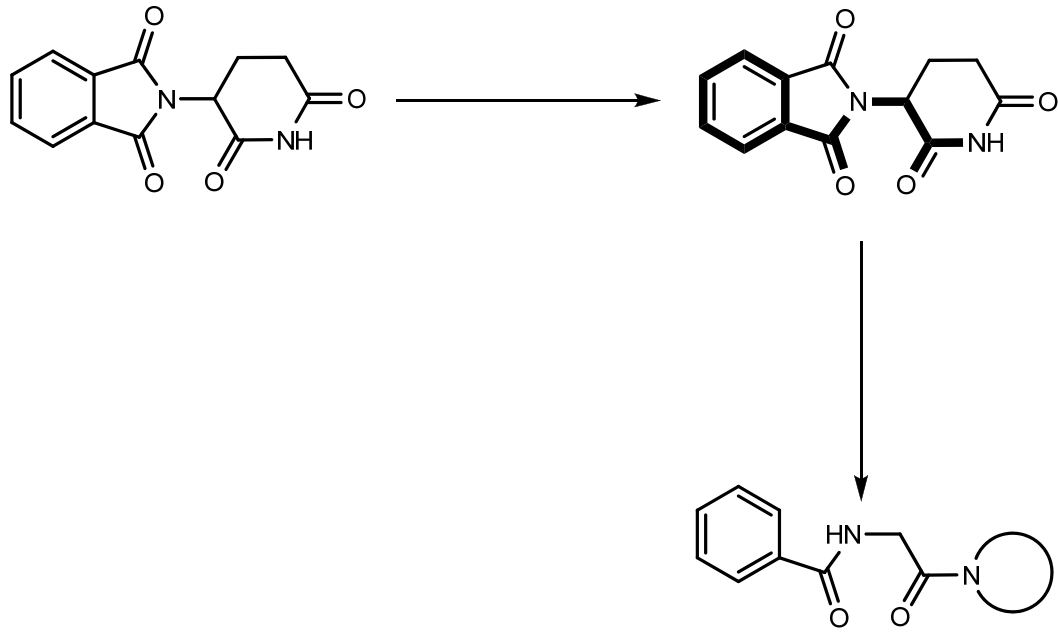
Talidomit 1950'lerden 1960'lara kadar sedatif-hipnotik ve antiemetik olarak kullanılmış, daha sonra ise teratojenik etkisinden dolayı 1960'larda tedaviden kaldırılmış bir bileşiktir (33, 53, 90, 103). Talidomit için immünomodulatör ve antiinflammatuvar aktivitesi sebebiyle Hansen hastalığı tedavisinde kullanılmak üzere 1998 yılında ve antianjiyogenik etkisi sebebiyle multiple miyelom tedavisinde kullanılmak üzere 2006 yılında FDA'dan onay alınmıştır (50, 53, 101, 103). Talidomitin romatoid artrit, fotodermatit, Behçet sendromu, sistemik lupus eritematozuz, graft-versus host hastalığı, akciğer kanseri multiple miyelomu, kolon kanseri, prostat tümörü, AIDS, malarya, tüberküloz, miyeloma displastik sendrom, Crohn hastalığı, diyabet ve glioblastma gibi hastalıklar üzerine teropötik etki gösterdiği rapor edilmiştir (33, 53, 103). Talidomit çeşitli yararlı farmakolojik etkiler göstermektedir. Bunlar antikaşesik, antiinflammatuvar, antitümöral, antianjiyogenik, tümör hücreleri istilasını inhibe edici, antiviral ve hipoglisemik etkilerdir. Talidomit bileşiğinin yapısı temel alınarak antianjiyogenik ajanlar, hücre farklılaşmasını indükleyiciler, TNF- $\alpha$  düzenleyicileri, androjen antagonistleri, karaciğer X reseptör antagonistleri, aminopeptidaz inhibitörleri,  $\alpha$ -glukozidaz inhibitörleri, timidin fosforilaz inhibitorleri, siklooksijenaz inhibitörleri, nitrik oksit inhibitörleri, histon deasetilaz inhibitörleri ve tübülün polimerasyon inhibitörleri olan birçok biyolojik aktif bileşik geliştirilmiştir (53).



Çalışmamızda talidomit bileşiği model olarak alınmıştır. Doğal ya da sentetik yapıların biyolojik aktiviteleri korunarak veya geliştirilerek moleküler yapının küçültülmesi ya da basitleştirilmesini amaçlayan bir ilaç tasarım yöntemi olan moleküler basitleştirme yaklaşımı kullanılarak talidomitin rijit olmayan analogların sentezi düşünülmüştür (28, 45). Bu amaçla talidomit bileşiği kimyasal yapısında yer alan ftalimit halkası ve piperidin-2,6-dion yapısı üzerinde çeşitli modifikasyonlara gidilmiştir (Şekil 1). Gerçekleştirilen modifikasyonlar;

- a. Ftalimit halkasının benzen, 2-piridin, 3-piridin, 4-piridin ve 2-tiyofen halkalarını içeren bir açıl grubu ile değiştirilmesi,
- b. Piperidin-2,6-dion yapısında halkanın açılması sonucunda amit azotu üzerine küçük alkil grupları ile bir aromatik halkanın yerleştirilmesi ve amit azotun halka içerisine alınması şeklindedir.

Bu yaklaşımlarla tasarlanan 30 adet bileşiğin sentezleri gerçekleştirilip yapıları spektral analiz yöntemlerinden UV, IR, MASS ve <sup>1</sup>H NMR ve elementel analiz yöntemi ile teyit edilmiştir. Bileşiklerimizin biyolojik aktiviteleri COX-2 izoenzimine karşı biyolojik inhibitör etkinlikleri ve prostaglandin üretimi üzerine etkileri tayin edilerek değerlendirilmiştir. Çalışmamızda elde edilen bu veriler rapor edilmektedir.



**Şekil 1. Talidomit Üzerinde Yapılan Modifikasyonlar**

# TEORİK BÖLÜM

## I. SİKLOOKSİJENAZ İZOENZİMLERİ HAKKINDA GENEL BİLGİLER

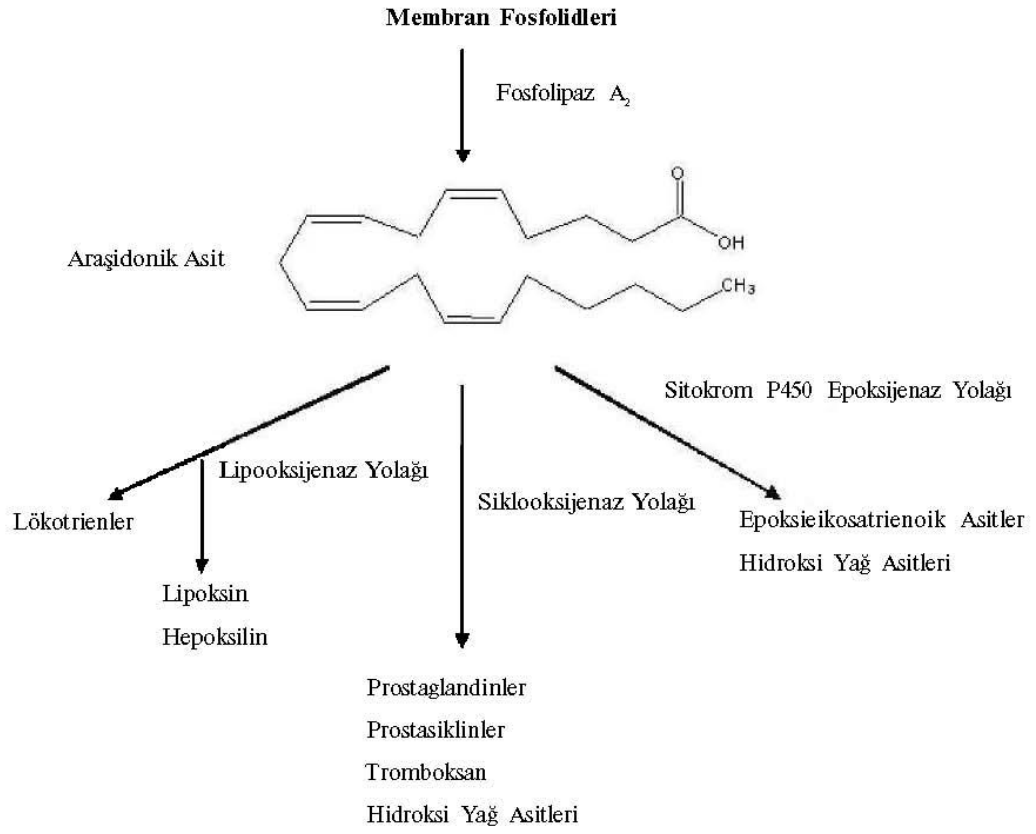
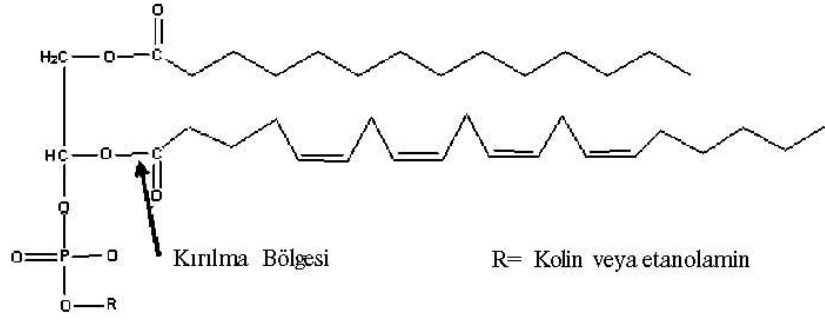
### A. Araşidonik Asit Kaskatı

Araşidonik asit 20 karbonlu poli doymamış yağ asidi olup memeli hücrelerinde bulunan eikosanoid prekürsörüdür (61). Araşidonik asit ve metabolitleri olan eikosanoidler çeşitli faktörlere cevap olarak canlı hücrelerde inflamasyon modülatörleri olarak sentezlenmekte ya da salınmaktadır (12). Bu nedenle araşidonik asitin metabolitlerine dönüşümünü sağlayan araşidonik asit kaskatı inflamasyon sürecinde kilit bir rol oynamaktadır.

Araşidonik asit hücre dışı membranında bulunan fosfolipitler ile ester oluşturmaktadır. Her bir membran fosfolipidi 2 yağ asidi içermektedir. Bu esansiyel yağ asitlerinden biri araşidonik asit diğeri ise eikosapentaenoik asit ya da dihomog- $\gamma$ -linoleik asittir (61).

Araşidonik asit kaskatında ilk basamakta araşidonik asit fosfolipide bağlı formundan kırılmakta ve serbest kalmaktadır (Şekil 2). Burada üç farklı enzim olan fosfolipaz A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), fosfolipaz C (PLC) ve fosfolipaz D (PLD)'den en az bir tanesinin yardımı ile kırılma gerçekleşmektedir. PLA<sub>2</sub> fosfolipitlerin 2 konumundaki ester bağının hidrolizi ile serbest araşidonik asit oluşumunu tek basamaklı bir reaksiyonla sağlayan tek fosfolipazdır. Memeli hücrelerinde inflamatuvar sinyaller,

sitokinler, büyüme faktörleri ve hormonlardan gelen uyarıcı sinyalleri alan PLA<sub>2</sub> enziminin çeşitli izoformlarını bulunmaktadırlar. Araşidonik asit metabolitlerinin büyük bir kısmı proinflamatuvar mediyatörleri ve antiinflamatuvar mediyatörleri etkileyebilmekte, bu sayede gen ekspresyonu, sitokin sinyalizasyonu ve diğer immün düzenleyici faktörleri modüle etmektedirler. Araşidonik kaskatının modülasyonu ya da inhibisyonu sonucunda antiinflamatuvar ve antikarsinojenik etkiler görülmektedir. Bu durumu daha iyi anlayabilmek için araşidonik asit türevleri ve türevlerin özel etkilerinden sorumlu üç anahtar metabolik yolak olan COX, LOX ve CYP 450 yolaklarını yakından incelemek gerekmektedir (61). COX yolağı ile prostaglandinler, prostasiklin, tromboksan ve hidroksi yağ asitleri, LOX yolağı ile lökotrienler, lipoksinler ve hepoksilinler ve son olarak CYP 450 yolağı ile epoksieikosatrienoik asitler ve hidroksi yağ asitleri oluşmaktadır (61). COX yolağı ile oluşan prostaglandinler inflamatuvar mediyatörler olarak, LOX yolağı ile oluşan lökotrienler proinflamatuvar mediyatör olarak inflamasyon sürecine katkıda bulunurlarken, CYP 450 yolağı ile oluşan epoksieikosatrienoik asitler ise karsinojenik olarak etki göstermektedirler (61).



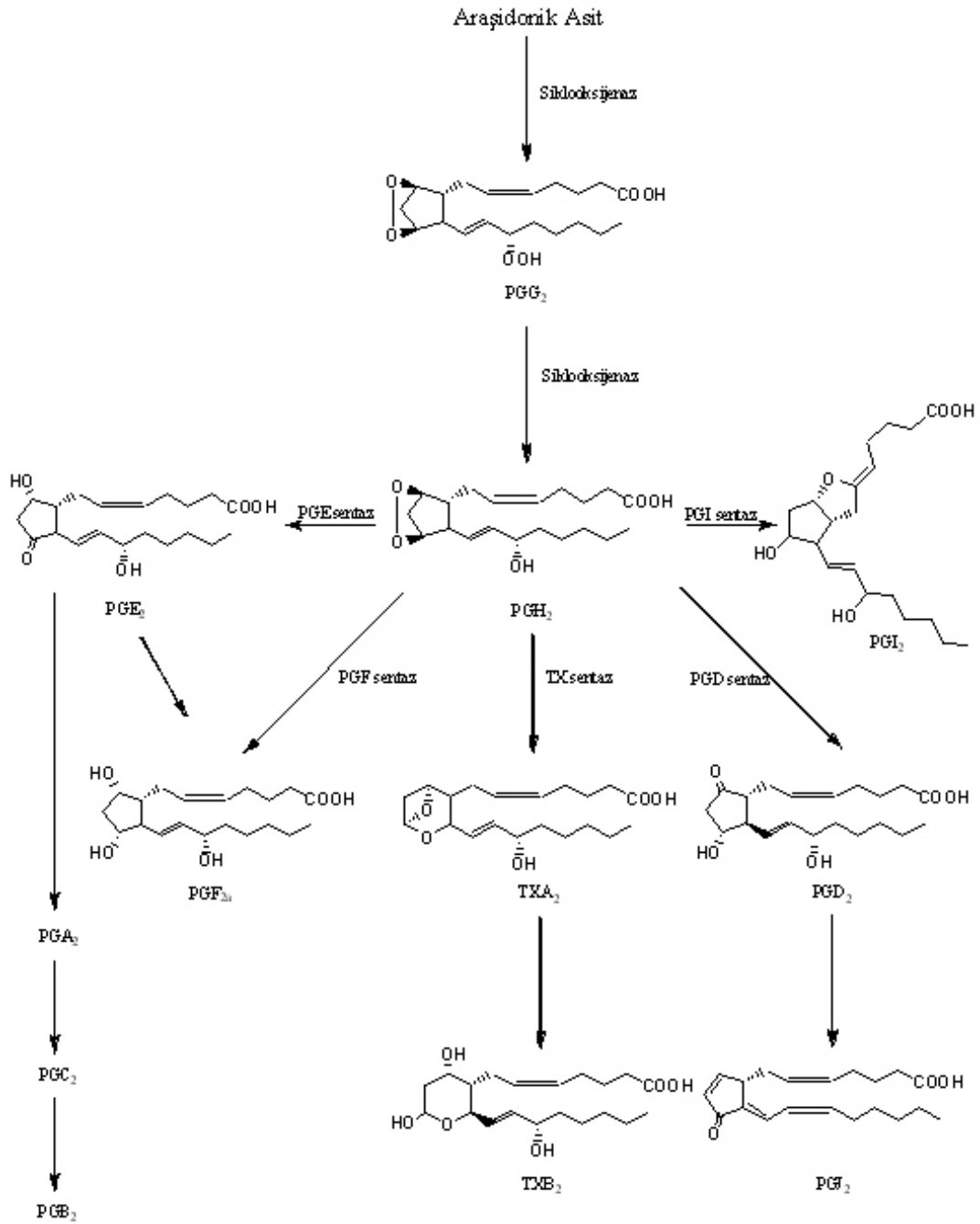
**Şekil 2. Araşidonik Asit Kaskadı**

## B. Siklooksijenaz Yolağı

COX enzimi, COX-1, COX-2 ve COX-3 izoformları olarak tespit edilmiştir (61, 93). COX izoformları insan hücrelerinde ekspresyon şekillerine ve dokulardaki dağılımlarına göre farklılıklar göstermektedirler. Bununla birlikte COX izoformları, COX yolağı vasıtasıyla araşidonik asitin prostaglandinler, prostasiklinler ve tromboksana dönüşümünden sorumludurlar (Şekil 3). COX-1 izoenzimi vücut dokularında yaygın halde bulunan, memeli hücreleri ve dokularında prostaglandin temel seviyesini düzenleyen bir enzimdir. COX-2 izoformunun ekspresyonu, inflamasyon yöresinde sitokinler, inflamatuvar uyarılar ve glukokortikoidler gibi faktörler tarafından indüklenmektedir. Bu sebeple COX-2 izoformuna indüklenebilir ya da düzenlenebilir COX izoformu denilmektedir (42, 93). COX metabolik yolağının ilk basamağında COX izoenzimleri, prostaglandin  $G_2$  ( $PGG_2$ ) vermek üzere siklooksijenaz aktivitelerini kullanarak araşidonik asit bileşiğinin oksijenasyonunu gerçekleştirirler. Devamında ise COX izoenzimleri peroksidaz aktiviteleri ile  $PGG_2$ 'den prostaglandin  $H_2$  ( $PGH_2$ ) 'ye olan dönüşümü gerçekleştirirler.  $PGH_2$  stabil olmayan bir endoperoksittir. COX yolağında bulunan enzimler (Şekil 3), prostasiklin  $D_2$  ( $PGD_2$ ), prostasiklin  $E_2$  ( $PGE_2$ ), prostasiklin  $PGF_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ), prostasiklin  $I_2$  ( $PGI_2$ ) ve tromboksan  $A_2$ 'nin ( $TXA_2$ ) sentez basamaklarını katalizleyerek  $PGH_2$ 'den bu prostaglandinlerin elde edilmesini sağlamaktadırlar (61).

COX yolağı ürünleri olan prostaglandinler (PG) vücutta birçok fizyolojik ve patofizyolojik olayda etkilidir. PG'ler, doku hasarına ya da inflamasyona karşı vücudun göstermiş oldukları karakteristik cevapların yayılmasına katkıda bulunmaktadır. En önemli prostaglandin olan  $PGE_2$ 'nin görevi inflamasyonun tipik semptomları olan kızarıklık, sıcaklık artışı, şişme, ağrı ve fonksiyon kaybından

sorumludur. Prostaglandinlerden PGE<sub>2</sub> ve PGI<sub>2</sub>, en önemli etkilerini gastrointestinal kanalda sitoprotektif etki ve renal fonksiyonun kontrolü ile göstermektedirler (30, 59, 78). PG'ler gastrointestinal sistemde inflamasyon görülmesi durumunda hem stimülatör etki hem de sitoprotektif etki göstermektedirler. Mukozal PG'lerin ekspresyonu, gastrointestinal yaralanmalar ve ülserle birlikte akut ve kronik enterokolite karşı koruyucu etki göstermek amacıyla artmaktadır. Gastrik tümörlerde PGE<sub>2</sub> artışı, tümör istilası, lenf nodu metastazı ve karsinogenez ile ilgili bulunmakta ve PGE<sub>2</sub> artışının vasküler endotelial büyüme faktörünün sinyalizasyonunu etkilediği düşünülmektedir (61). PG'ler deri inflamasyonları gibi durumlarda, artrit ve astım gibi hastalıklarda etkisi görülen inflamatuvar mediyatörlerdir (61). COX-2 izoenzimi önemli bir nöroinflamasyon mediyatörüdür. COX-2'nin iskemiye takip eden beyin yaralanmalarında belirgin bir rol oynadığı düşünülmektedir. Oluşumuna COX-2'nin aracılık ettiği PGE<sub>2</sub>, EP<sub>2</sub> reseptörleri etkileyerek kortikal hücrelerde görülen inflamasyonda ve kortikal hücrelerin apoptozisinde etki göstermektedir (93). Osteoartrit ya da romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıkların NSAİİ'ler ile tedavisi PG'lerin fizyolojik fonksiyonlarını da etkilemektedir (30).



**Şekil 3. Siklooksijenaz Yolu**



### C. Siklooksijenaz İzoenzimleri

Siklooksijenazlar iki katalitik merkeze sahip bifonksiyonel enzimlerdir. COX izoenzimlerinin siklooksijenaz merkezi prostaglandin G<sub>2</sub> (PGG<sub>2</sub>)'yi oluşturmak üzere araşidonik aside 2 oksijen atomu ilave etmektedir. Enzimler üzerindeki peroksidaz aktif merkez ise PGG<sub>2</sub>'yi PGH<sub>2</sub>'ye dönüştürmektedir. PGG<sub>2</sub>'den siklooksijenaz izoenzimlerinin peroksidaz aktivitesiyle oluşan PGH<sub>2</sub>, çeşitli prostaglandinlerin, tromboksanların (örnek TXA<sub>2</sub>) ve PGI<sub>2</sub> prekürsörüdür. Bu prostanoidler ve bunların türevleri olan diğer COX yolağı metabolitleri spesifik reseptörlerle etkileşerek hücre fonksiyonlarının düzenlemektedirler (93).

COX enzimlerinin 3 izoformu vardır. Bunlar COX-1, COX-2 ve COX-3 izoenzimleridir. COX-1 vücutta birçok dokuda yaygın olarak bulunan, memeli hücre ve dokularında prostaglandinlerin temel seviyesini düzenlemek için üretilen bir enzimdir (61). COX-2 enzimi ise inflamatuvar mediyatörler olan sitokinler, büyüme faktörleri ve bakteriyel endotoksinler tarafından hızlıca indüklenir. COX-2 izoenzimi genellikle inflamasyon bulunan dokularda görülmektedir (93). Bu iki izoform siklik DNA (cDNA) ve aminoasit düzeyinde % 60 oranında homologlardır, aynı zamanda benzer yapısal ve kinetik özelliklere de sahiptirler. Her iki izoenzimin substrata bağlanma yörelerinin ve katalitik alanlarının konformasyonları benzerlik gösterebilir bu iki izoform birbirinden farklıdır (93). COX-1 izoenziminde 434 ve 523 konumlarında izolösin amino asiti bulunmakta iken COX-2 izoenziminde aynı konumlarda valin amino asiti bulunmaktadır. Bu nedenle COX-2 izoformu nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) için daha büyük bir bağlanma cebine sahiptir (30). İnsanlarda her iki izoenzime ait genler farklı kromozomlarda bulunmaktadır. COX-1 geni kromozom 9, COX-2 geni ise kromozom 1'in üzerindedir. COX-3 enzimi ise COX ailesinin asetaminofene duyarlı izoformudur.

Diğer iki izoformuna göre farklı farmakolojik özelliğe sahip olduğu belirtilmiştir. COX-3 izoformu bir glikoproteindir (93).

### **1. Siklooksijenaz -1 İzofomu**

COX-1 izoenzimi prostagladin H sentetaz (PGHS-1) adıyla bilinen, siklooksijenaz enziminin katalizlediği peroksidaz ve siklooksijenaz reaksiyonları ile araşidonik asitten PGE, PGD, PGF<sub>2</sub> $\alpha$  ve TXA<sub>2</sub> gibi prostaglandinlerin prekürsörü olan PGH'nin oluşumuna aracılık ederek etki gösteren siklooksijenaz enziminin izoformudur. COX-1 izoenzimi, 1967 koyun seminal veziküllerde enzimatik bir aktivite olarak tanımlanmış ve 1976 yılında ise koyundan saflaştırılmıştır (10). Aktif enzim 74,000 Da alt birimiyle birlikte bir homodimerdir. Koyun COX-1'nin kristal yapısı 1994'te aydınlatılmış ve bunu takip eden süreçte çok sayıda biyokimyasal çalışma ve yöreye yönelen mutajenez çalışmaları gerçekleştirilmiştir (11).

### **2. Siklooksijenaz -2 İzofomu**

1980'lerde bazı çalışma grupları trombositlerde ve seminal veziküllerdeki siklooksijenazın karakteristiği ile ilgili bir birbirine uyuşmayan veriler elde etmişlerdir. Fibroblastlar ve makrofajlar gibi hücrelerde prostaglandinlerin hormonal kontrolünün sadece bir enzim tarafından gerçekleştirilemeyeceği düşünülmüştür. Bu çalışmalarda iki farklı siklooksijenaz enziminin var olduğu iddia edilmiştir (71, 124). COX-2 adlı verilen bu ikinci bir siklooksijenaz enziminin bulunması sonucunda bu konu üzerine yapılan araştırma sayısı artmıştır. Bu araştırmaların sonuçlarına göre ise COX-2'nin COX-1'den daha büyük molekül ağırlığına sahip olduğu, COX-2'nin mRNA ekspresyonunun seyrek olduğu, COX-2'nin büyüme faktörleri ve sitokinler tarafından indüklendiği ve COX-2'nin COX-1'den daha büyük bir bağlanma cebine

sahip olduğu belirlenmiştir (11, 44). COX-2 izoenziminin ekspresyonu sitokinler, interlökin 4 (IL 4) ve interlökin 12 (IL 12) ve glukokortikoidler ile indüklenebilmekteyken, COX-1 izoenziminin ekspresyonu üzerine bu moleküllerin etkileri görülmemektedir (44). Daha ileri çalışmalarda biyokimyasal, hücrenel, farmakolojik ve iki enzim arasındaki yapısal farklılıkların belirgin detayları ile ilgili bilgiler elde edilmiştir (44).

### **3. Siklooksijenaz -1 ve Siklooksijenaz -2 İzoenzimlerine Bağlanma**

Yapılan araştırmalar COX-1 ve COX-2 izoenzimleri arasında belirgin bir düzeyde benzerliklerin var olduğunu ortaya koymuştur. COX-2 izoformu 18 aminoasit fazlasıyla COX-1 izoformundan biraz daha büyüktür. Aminoasit dizisindeki bu farklılıklar membran bağlanma bölgesinde belirgin olarak görülmektedir. Bu iki izoenzim 3 yapısal alana sahip dimerlerdir. Bu izoenzimlerde bir N-terminal epidermal büyüme faktörü (EGF) alanı, bir membrana bağlanma bölgesi ve katalitik alanı içeren geniş bir C-terminal globular alan mevcuttur (11, 44).

Lipofilitte, NSAİİ'ların etkinliği için en önemli fizikokimyasal parametredir. COX izoenzimlerin farklı bağlanma yöreleri olmasına rağmen COX-1 ve COX-2 izoenzimlerinin protein yapılarıyla ilaçların arasındaki etkileşme, ilaçların farmakolojik etkilerinin ve ilaç spesifikliğinin aydınlatılması ve anlaşılması konusunda katkıda bulunmaktadır. Dannhardt çalışmasında, ilk kez Picot tarafından COX-1 izoenzimin üç boyutlu kristal yapısının X-Ray yöntemi sayesinde bir nonselektif COX inhibitörü olan flurbiprofen ile COX-1 izoenziminin oluşturduğu kompleksten faydalanılarak belirlendiğini bildirmiştir. İnsan COX-2 enziminin yapısı ise X-Ray difraksiyonu ya da homoloji modellemesi ile tespit edilmiştir (30).

Siklooksijenazın aktif yöresi NSAİİ'lerin bağlanabildiği uzun hidrofobik kanal Őeklindeki yre olarak tarif edilmektedir. Kanal flurbiprofenin aromatik sistemi ile etkileŐen yüksek elektron yoğunluğu sahip alanları içermektedir. Flurbiprofenin (Şekil 5) karboksil grubu kanalın ağzına yönelir ve arginin 120'nin guanidinyum grubu ile etkileŐmek için en uygun pozisyonu alır. Glutamik asit 524 (GLU 524) arginin 120 (ARG 120)'nin yakınında bulunur ve bu iki artık enzimin ağız kısmının blokajı için bir tuz köprüsü oluŐturur. ARG 120 ve GLU 524 hidrofobik kanalda bulunan yegane polar artıklardır. Flurbiprofenin kanala yerleŐerek araŐidonic asitin siklooksijenaz reaksiyonunu inhibe ettiği düşünülmektedir (30).

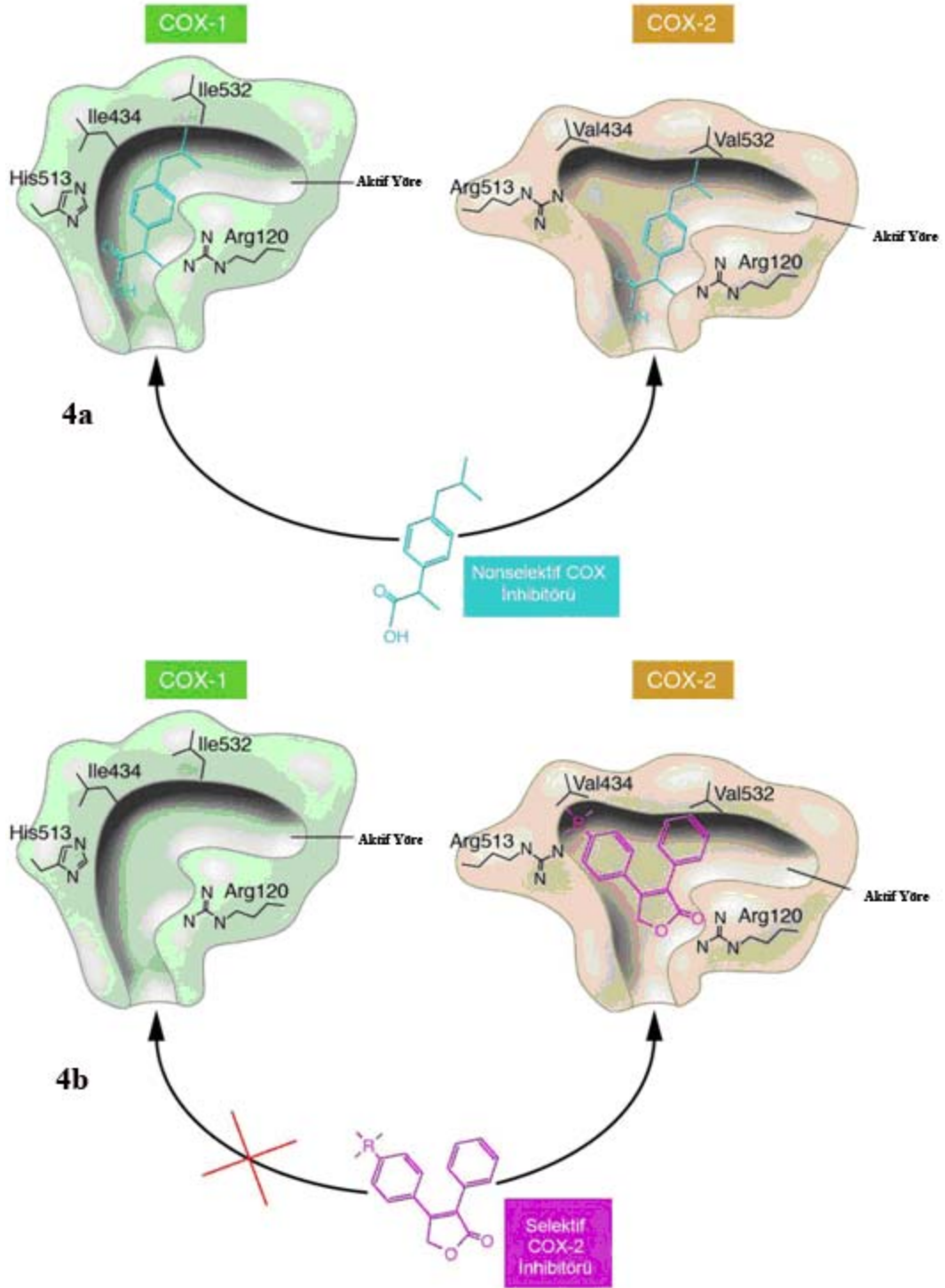
İndometazin (Şekil 5), COX-1 ve COX-2 izoenzimlerini yavaŐ, zamana bağımlı Şekilde inhibe eden bir nonselektif COX inhibitörüdür. İndometazin COX-2 izoenzimi üzerine güçlü etkisinden bağımsız olarak hidrofobik kanalın içine kolaylıkla girebilmektedir. İndometazinin benzoil grubu flurbiprofenin bu fenil halkasına benzer Şekilde kanalı iŐgal etmekte ve hidrofobik etkileşme ile stabilize olmaktadır. İndometazin, zamana bağımlı inhibisyon etkisini molekülün konformasyonel değişimi sonrasında molekül üzerinde bulunan asit grubu ile uzun hidrofobik siklooksijenaz kanalının ağız kısmında bulunan ARG 120 arasında bir tuz köprüsü oluŐturarak meydana getirmektedir (30).

COX-1 ile COX-2 izoenzimleri benzer yapı ve kinetik özelliklere sahip olmalarına rağmen, bu iki izoenzim arasındaki en belirgin genetik farklılık, izoenzimlerin protein yapılarındaki bir aminoasit deėiŐiminden kaynaklanmaktadır. COX-1 izoenziminde enzimin hidrofobik siklooksijenaz kanalının 523 pozisyonunda bulunan hacimli izolsinin, COX-2 izoenziminin aynı pozisyonunda bulunan valin ile değişimi sonucunda enzimde gerçekleşen yapısal modifikasyon, enzim üzerinde COX-2 izoenzimine karşı ilaç selektivitesinin tayini için gerekli olan ikinci cebe

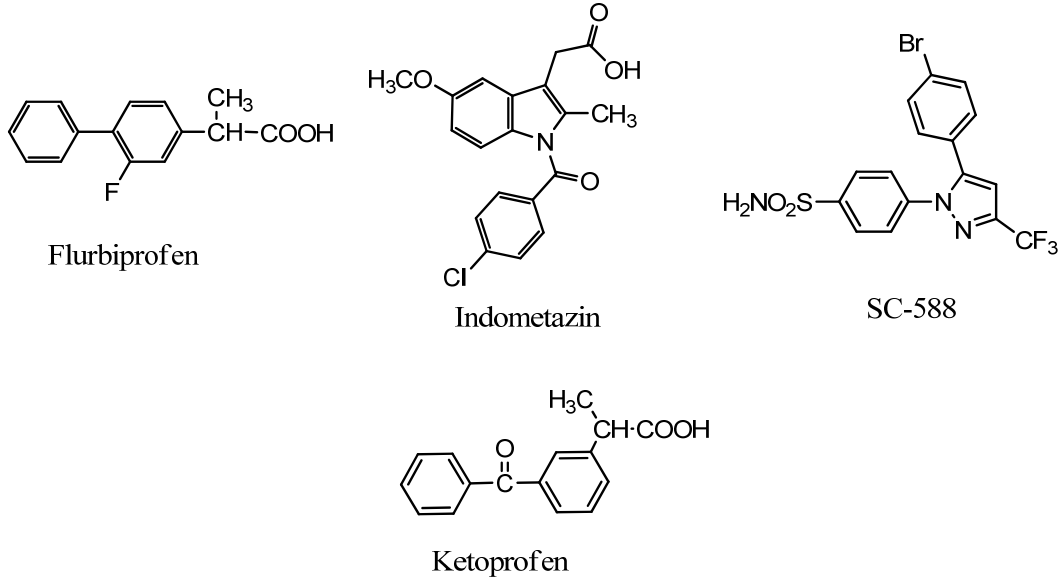
ulaşmaya imkan sağlamaktadır. Ayrıca 434 pozisyonundaki valin/izolösin değişimi de kanal girişinin şeklinden sorumludur. COX-2’de daha az hacimli valin daha az sterik engelleme sağlayacağı için kanal girişinin şeklinin değişimine neden olmakta ve hacimli süstitüentlere sahip bileşiklerin kanala girişi için yeterli boşluk oluşmaktadır (11, 30, 44) (Şekil 4).

SC-588 (Şekil 5) yüksek selektiviteli COX-2 inhibitörü bir bileşiktir. Visinal diaril heterosiklik yapıdaki 1,5-diarilpirazol türevi bu inhibitör bileşik COX-2 enzimine karşı COX-1 enziminden 1900 kat daha selektiftir. COX-2 izoenziminde SC-588 bileşiği membran bağlanma yöresinden siklooksijenaz aktif yörenin kollarına doğru yönelim göstermektedir. Bileşiğin fenil sülfonamit artığı siklooksijenaz aktif yörenin COX-2 selektif cebine girmektedirken bileşiğin bromofenil artığı ise siklooksijenaz aktif yörenin katalitik yöresinin bulunduğu diğer kola girmektedir. Polar özellikteki sülfonamit grubu COX-2 izoenziminin yüzeyine yakın bir bölgeye erişmekte ve büyük olasılıkla histidin 90 (HIS 90), glutamin 192 (GLN 192) ve arginin 513 (ARG 513) amino asitleri ile etkileşmektedir (30).

COX-2 izoenzimin inhibisyon mekanistiğini belirlemeye ve COX-2 izoenzimini hedef alan ilaç tasarımına yönelik çalışmalarda izoenzimin statik olan üç boyutlu yapısı kullanılmakta, fakat izoenzimin dinamik bir yapıda olduğunu göz ardı edilmektedir. Enzimin esnek yapısı ve siklooksijenaz aktif yöreye girişte bulunan hidrojen bağı bölgesinin yer değişimi gibi dinamik faktörler de enzim inhibisyonu hakkında yapılan değerlendirmede gözönünde bulundurulması gereken önemli bir parametredir. Örneğin ketoprofen (Şekil 5) ve analoglarının COX izoenzimlerine karşı selektivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada, proteinin ligand bağlanma yöresinde bulunan su molekülünün ligand-protein etkileşmesinde önemli bir rol oynadığı tespit edilmiştir (30, 91).



**Şekil 4. Siklooksijenaz-1 ve Siklooksijenaz-2 İzoenzimlerinin Substrat Bağlanma Bölgeleri Arasındaki Yapısal Farklılıklar**



**Şekil 5. Farklı Siklooksijenaz İnhibitörlerinin Kimyasal Yapıları**

## D. Siklooksijenaz İzoenzimleri İle İlişkilendirilen Hastalıklar

### 1. Nörolojik Rahatsızlıklar

Prostaglandinler merkezi sinir sisteminde yaygın bir şekilde bulunmaktadır. 1960'larda prostaglandinlerin nörohümorale olabilecekleri fikri ortaya çıkmıştır. Aynı yıllarda yapılan çalışmalarda prostaglandinlerin sıçanların merkezi sinir sistemlerinde ve serebral kortekslerinde yaygın olarak ve sinaptik veziküllerde ise lokalize olarak buldukları belirlenmiştir. Prostaglandinlerin, kedigillerde serebral kortekste ve kurbağalarda omurilik soğanının ekstraselüler ortamında tespit edilmesi prostaglandinlerin nörohümorale olduklarını düşündürmüştür. Prostaglandinlerin, kedilerin, tavukların ve kara kurbağalarının merkezi sinir sisteminde etkili olduğu belirtilmiştir (58). Daha sonraki çalışmalarda ise merkezi sinir sisteminde bulunan prostaglandinlerin nosiseptif transmisyonadaki etkileri üzerine odaklanılmıştır. Periferel doku yaralanmaları ve bunu takip eden inflamasyon sürecinde omurilik soğanında COX 2 izoenziminin ekspresyonu ve PGE<sub>2</sub> üretimi artmıştır. Bu sonuçlar

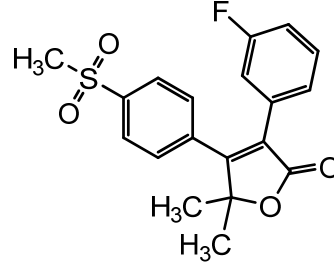
PGE<sub>2</sub>'in omurilik soğanında nosiseptif transmisyonu gerçekleştirdiğini işaret etmektedir (63, 93).

COX-2 izoenzimi önemli bir nöroinflamasyon mediyatörüdür. İskemiye takip eden beyin hasarlarında belirgin bir rolü olduğu düşünülmektedir (88). Beyin hasarlarında, COX-2 izoenzimi tarafından üretilen PGE<sub>2</sub>, inflamasyon oluşumuna katkıda bulunmakta ve bir proapoptotik ajan olan kaspase-3'ü aktive eden prostaglandin EP<sub>2</sub> (EP<sub>2</sub>) reseptörlerini etkileyerek kortikal hücrelerin apoptozis sürecinde görev almaktadır (116). COX-1 ve COX-2 genleri üzerine yapılan çalışmalarda, felç sonucunda oluşan hasarlarda bu enzimlerin rolleri olabileceği konusunda bazı bilgiler elde edilmiştir. COX-1 geni bulunmayan farelerde yapılan bir çalışmada serebral kan akımının azaldığı ve beyin iskemisi sonucu oluşan hasarın arttığı bulunmuş ve iskemik beyin hasarının ve nörotoksisitenin azalmakta olduğu tespit edilmiştir (62, 88). Başka bir çalışma COX-2 izoenziminin nörotoksik etkisinden PGE<sub>2</sub>'nin sorumlu olabileceğini ortaya koymaktadır. Ayrıca prostaglandin EP<sub>1</sub>(EP<sub>1</sub>) reseptörlerinin COX-2 türevi PGE<sub>2</sub>'nin nörotoksik etkileri için gerekli olabileceği düşünülmektedir (76, 93).

PGE<sub>2</sub>'nin aktive ettiği EP<sub>1</sub> reseptörleri bozulan sodyum/kalsiyum değişimi ile nöronal kalsiyum homeostazını engellemektedir. Bunun sonucunda eksitotoksik yaralanmayı takip eden iyileşme süreci engellenmektedir. EP<sub>1</sub> reseptörlerinin farmakolojik inhibisyonu ya da gen inaktivasyonu, serebral arter tıkanması, oksijen/glükoz yoksunluğu ya da *N*-metil-D-aspartik asit gibi eksitotoksik amino asitlere maruz kalmanın sebep olduğu beyin hasarlarını azaltmaktadır (70). Yüksek selektiviteli COX-2 inhibitörlerinin serebroprotektif etkilerini araştırmak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır (88). Bu inhibitörlerden DFU bileşiğinin (Şekil 6) kemirgenlerde serebral iskeminin oluşumundan birkaç saat sonra bile nöroprotektif



etki gösterdiği tespit edilmiştir (13). Diğer yüksek selektiviteli COX-2 inhibitörlerinin de sıçanlarda uygulanan modellerde serebral iskemiye karşı nöroprotektif olduğu rapor edilmiştir (93).



**Şekil 6. DFU Bileşiği**

Eksitotoksisite, fazla miktardaki glutamat ve glutamat analoglarının nöronları uyardığı ve nöronların ölümüne neden olduğu bir süreç olarak tanımlanmaktadır. Eksitotoksisite, PLA<sub>2</sub>, COX-2, LOX ve EPOX enzimlerinin aktivasyonu, serbest radikal üretimi ve mitokondrial disfonksiyon sonucu oluşan kalsiyum akınıyla yayılmaktadır. COX-2 ve 5-LOX'un eksitotoksisitedeki rolünü sıçanlar üzerinde yapılan mikrodializ çalışmaları desteklemektedir. *N*-metil-D-aspartat (NMDA) antagonistleri, PGE<sub>2</sub> ve 8-epi-PGF<sub>2α</sub> üretimini COX-1 ve COX-2 inhibitörleri ile birlikte uygulandıklarında engelleyebilmekte bu sonuç ise eksitotoksisitede görülen prostaglandin sentezine ve oksidatif hasarın oluşmasına, COX-1 ve COX-2 izoenzimlerin birlikte katkı gösterdiğini işaret etmektedir (93).

Araşidonik asit, membran fosfolipidlerinden epilepsi nöbeti sürecinde salınmakta ve hastalık patojenezinde etkili olmaktadır. Nöbetler sitosolik PLA<sub>2</sub>'yi aktive etmekte ve COX-2 ekspresyonunu indüklemektedir. Sıçan kortiko hippokampal nöronlarının primer kültüründeki glutamat eksitotoksisitesinin COX-2 ekspresyonun artışı ile yayıldığı rapor edilmiştir (119). Yapılan çalışmalarda

kemirgenlerdeki spontan nöbetlerin serebral kortekste, hippokampusta ve stratumda PGD<sub>2</sub> konsantrasyonunun artışı ile ortaya çıktığı belirtilmiştir (93).

Yaşlanma süreciyle ilgili en yaygın nörodejeneratif hastalık olan Alzheimer hastalığı dünya üzerinde yaklaşık 30 milyon kişide görülmektedir. Alzheimer hastalığı patolojisi, kognitif fonksiyon kaybı ve beyin hasarı sonucu yaygın nöron kaybı, nörofibriller düğümler ve beynin hassas bölgesindeki amiloid- $\beta$  plaklarının hücre dışında birikmesi ile karakterize kronik inflamatuvar cevap olarak görülmektedir. Amiloid birikmesi ile sonuçlanan muhtemel bir reaksiyon sonucu yaygın bir oksidatif hasar görülür. Alzheimer hastalığını başlatan olgu henüz bilinmemesine rağmen amiloid  $\beta$  ( $A\beta$ ) plağın kontrolsüz üretiminin Alzheimer hastalığına neden olduğu düşünülmektedir (123). COX-1 ve COX-2 izoenzimleri,  $\gamma$ -sekretaz aktiviteyi kapsayan mekanizmayla  $\beta$ -amiloid peptid üretimini etkin hale getirmektedirler. PGE<sub>2</sub> artışı ile  $\gamma$ -sekretaz aktivite arasındaki ilişkinin sadece  $A\beta$  birikmesini module etmediği aynı zamanda da Alzheimer hastalığında beyinde nöroinflamasyonu indüklediği bilinmektedir. Ayrıca COX-2 ekspresyonu, hücre siklusu aktivitesinin düzenlenmesine ve Alzheimer hastalığının patojeneziyle yayılan hücre siklusu anomalilerin düzenlenmesine dahil olmaktadır. COX-2 izoenziminin hücre siklusuna girmesi Alzheimer hastalığındaki COX-2 izoenziminin aracılık ettiği nöronal hasara sebep olmaktadır (93).

Yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre her ne kadar nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların (NSAİİ) Alzheimer hastalığında birincil farmakolojik aktivitesi inflamatuvar prostaglandinlerin üretiminden sorumlu siklooksijenaz enzim inhibisyonu olmakla birlikte, NSAİİ'lar  $\gamma$ -sekretaz aktivitesini doğrudan düzenleyerek selektif olarak amilogenik  $A\beta$ -42 peptidlerin azalmasını sağladıkları rapor edilmiştir (123).

Amiotropik lateral sklerozis (ALS) beyinde ve omurilikte motor nöronların hasar görmesi sonucu oluşan bir nörolojik hastalıktır. ALS hastalığının nedeni bilinmemesine rağmen, ALS hastalığının patojenezinde görülen glutamat eksitotoksitesi ve oksidatif stresin, motor nöronlar ve bunları saran glia hücreleri arasındaki ileti transferini bozduğu tespit edilmiştir. ALS vakalarının %10'unu ailevi kökenlidir. ALS'nin ailevi olmayan türü nöroinflamasyon, COX-2 izoenziminin mRNA'sının artışı ve oksidatif stresle karakterizedir. ALS'de hücre kültürü modeli kullanılarak yapılan bir çalışmada selektif COX-2 inhibitörü SC 236 kullanılmış ve bu bileşiğin motor nöronların yıkımını önlediği rapor edilmiştir. Bu kanıt ALS'de COX-2'nin inflamatuvar süreçte önemli bir rolü olabileceğini düşündürmektedir. COX-2 ve PGE<sub>2</sub> miktarının artması hastalığın oluşumu açısından asıl neden olmamakla birlikte bu parametrelerdeki değişimler ALS hastalığında inflamasyonun katkısını ortaya koymaktadır (93).

Parkinson hastalığı, patojenezi kesin olarak bilinmeyen ve substantia nigrada aşamalı olarak dopaminerjik nöron kaybının görüldüğü nörodejeneratif bir hastalıktır. Hastalık esnasında substantia nigrada lipid peroksidasyonu, demir seviyesi ve süperoksik dismutaz aktivite (SOD) artmıştır. Parkinson hastalığında dopaminerjik nöronlarda gelişen dejenerasyon ile eksitotoksik yaralanmaların yayıldığı rapor edilmiştir. Parkinson hastalığı bulunan kişilerde COX-2 ekspresyonu hakkında bir bilgi olmamasına rağmen COX-2 izoenziminin hastalığın patojenezine katkısı hayvan modellerinde araştırılmıştır. Feng ve Teismann'ın ayrı ayrı yaptıkları çalışmalarda COX-2 geni bulunan ve bulunmayan farelere MPTP(1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin) uygulamaları sonucunda COX-2 geni bulunmayan farelerde daha düşük ölüm oranı tespit etmişlerdir (39, 117). COX-2 ekspresyonu inhibisyonunun, MPTP kaynaklı lezyonların azalmasını ve substantia nigrada ise

dopaminerjik nöronların korunmasını sağladığı rapor edilmiştir (117). Hayvan modellerinde de COX-2 kaynaklı nörodejenerasyon tam olarak bilinmemektedir (93, 117).

Creutzfeldt-Jakob hastalığı insanlarda prion hastalıklarının en yaygın türüdür. Nöron kaybı, gliosis ve abnormal ekstrasellüler  $\beta$ - heliks zengini prion protein ( $\text{PrP}^{\text{sc}}$ ) birikmesi ile karakterize bir hastalıktır. Bu abnormal proteinler fonksiyonları tam olarak bilinmeyen  $\alpha$ -heliks zengini prion proteinlerinin ( $\text{PrP}^{\text{c}}$ ) izoformlarıdır.  $\text{PrP}^{\text{c}}$ , sinaptik fonksiyon, sirkadiyen ritm regülasyonu ve bakır transportuyla ilişkilidir. Bakır, redoks iletimini sağlayan bir metaldir.  $\text{PrP}^{\text{c}}$   $\text{Cu}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$  süperoksit dismutazı regüle etmekte ve bu sayede  $\text{PrP}^{\text{c}}$  redoks dengesine katkıda bulunmaktadır. Elde edilen çalışma sonuçlarına göre redoks değişimi ve oksidatif stres Creutzfeldt-Jakob hastalığı patojeneziyle yakından ilgilidir (14). RT-PCR ve immunoblotlama tekniği kullanılan çalışmalarda COX-1 ve COX-2'nin Creutzfeldt-Jakob hastalığı bulunan hastaların beyinde arttığı tespit edilmiştir. Creutzfeldt-Jakob hastalığında beyin omurilik sıvısında ve scrapie enfekte olmuş farelerin beyinlerinde COX-1 ve COX-2 artışının,  $\text{PGE}_2$  ve F2-isoprostaz 8-epi-prostaglandin  $\text{F}_2\alpha$  (8-epi-PGF $_{2\alpha}$ ) konsantrasyonunu birkaç kat arttırdığı tespit edilmiştir (80). Bulunan bu sonuçlar siklooksijenaz aktivitenin inflamatuvar sürece katkıda bulunduğunu ve Creutzfeldt-Jakob hastalığı patojenezinde de etkili olduğunu göstermektedir. Hastalık patojenezinde görülen nöroinflamasyon, nöron ölümüne sebep olmaktadır (93).

## 2. Çeşitli Kanser Türleri

Kronik inflamasyon, hücre dönüşümü, hücre artışı, hücrenin hayatta kalması, hücre proliferasyonu, hücre istilası, hücre angiyojenezi ve metaztazının dahil olduğu tümorojenez sürecindeki çeşitli basamaklarla bağlantılıdır. Bu sebeple inflamasyon

çeşitli kanser türleri açısından önemli bir risk faktörüdür. COX-2 izoenziminin tümör hücresinde hücrenin homeostazı, anjiyogenezi ve tümorojenizde önemli bir rol oynaması, tümör ve inflamasyon arasındaki bağlantıyı ortaya koymaktadır. COX-2 izoenzimi nükleer faktör kappa  $\beta$  (NF- $\kappa\beta$ ) tarafından ekspresyonu düzenlenen indükleyici bir enzimdir ve tümorojenizin yayılmasına katkıda bulunur (2). COX-2, PGH sentetazın indüklenebilir izoformu olarak çeşitli insan kanser türlerinde büyüme ve gelişme süreçlerine etki etmektedir. Endotelial büyüme faktörü reseptörü (EGFR) sinyalizasyonu ve COX-2 aktivitesi, premalignant ve malignant hastalıkların gelişiminde önemli rol oynamaktadırlar. EGFR ve COX-2 arasındaki moleküler sinyal ileti yolağı, EGFR sinyalizasyonu ve COX-2 aktivite arasındaki direk etkileşmenin kanıtlanması ile açığa kavuşmaya başlamaktadır. PGE<sub>2</sub>, EGFR'yi transaktive etmekte ve fosforillemektedir. PGE<sub>2</sub> ekstrasellüler sinyal regüle kinaz (ERK) 2-mitojenik sinyalizasyon yolağını tetiklemektedir. PGE<sub>2</sub> ayrıca fosfotidil inositol 3-kinaz/Akt yolağını aktive eder ve kanser hücrelerinin migrasyon, invazyon ve proliferasyonuna neden olur. Endotelial büyüme faktörü (EGF) ve anjiyogenik faktör olan transforming büyüme faktörü- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ) COX-2 ekspresyonu tarafından indüklenmektedir. PGE<sub>2</sub> tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )'yı inhibe etmekte ve bir immünoşüpresif sitokin olan interlökin-10 (IL-10)'u indüklemektedir. COX-2 ekspresyonu ortadan kalktığında *in vivo* IL-10 ve IL-12 arasındaki dengenin restore edilmesiyle antitümör reaktivitenin arttığı görülmüştür (5).

Yakın zamanda yapılan epidemiyolojik çalışmalar düzenli olarak NSAİİ kullanan bireylerin kullanmayan bireylere göre kolorektal kanserde görülen ölüm oranının % 40-50 oranında daha düşük olduğunu göstermektedir. Klinik olarak kolorektal teşhisi konmuş kişilerden alınan kolorektal kanserli dokularda COX-2 ekspresyonunun artmış olduğu tespit edilmiştir. Siklooksijenaz enzimi kolon kanseri

tarafından indüklenmiş angiyojenezi iki mekanizma ile düzenlemektedir. COX-2 kolon kanserli hücreler ile angiyojenik faktörlerin üretimini module ederken, COX-1 de endotel hücrelerde anjiyogenezi düzenlemektedir. COX-2 ve mPGES'in ailevi adenomatus polipozis poliplerinde COX-1 eksprese fibroblastlardan indüklenmekte olduğu rapor edilmiştir. İnsan tümörlerinde COX-2 ekspresyonu çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler, onkogenler ve diğer faktörler tarafından indüklenmektedir. İnterlokkin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )'nin insan kolorektal kanser hücrelerinde çoklu sinyal yolları ile COX-2 ekspresyonunu arttırdığı rapor edilmiştir (2).

Serum estradiol seviyesi, göğüs kanseri riskini önemli oranda arttıran bir faktördür. Serum estradiol, östrojen reseptörleri bulunan göğüs kanserleri tümörlerinde görülmektedir. COX-2'nin aşırı ekspresyonu, angiyojenez, mutajenez, apoptozis inhibisyonu ve aromatazin katalizlediği östrojen biyosentezinde immunosüpresyonla birlikte tümör büyümesinde önemli bir etkidir. COX-2 enzimi tarafından katalizlendiği bilinen PGE<sub>2</sub>, aromataz gen ekspresyonunu arttırmaktadır. Hayvan çalışmalarında farelerde COX-2'nin baskıladığı durumda aromataz aktivite düşerken, transemik COX-2 izoenziminin aşırı ekspresyonu sonucunda aromataz aktivitenin arttığı görülmektedir. COX inhibitörleri göğüs kanser hücrelerinde aromataz aktiviteyi düşürmekte ve bunu transkripsiyonel seviyede gerçekleştirmektedir (57).

Tümör hücrelerinden eksprese olan PGE<sub>2</sub>, bağışıklık modülatörü sitokinlerin üretiminin dengesinin bozulması sürecini yönlendiren bir mediyatördür. Huang ve diğerleri yaptığı çalışmalarda IL-10 ve IL-12 dengesini değiştirerek küçük hücreli olmayan akciğer kanser hücrelerinde antitümör bağışıklığı baskılamış, COX-2 izoenziminin aşırı eksprese olduğunu ve bunun sonucunda yüksek miktarda PGE<sub>2</sub> üretiminin gerçekleştiğini rapor etmiştir (60). Küçük hücreli olmayan akciğer

kanserinde COX-2'nin *in vitro* ve *in vivo* olarak angiyojenezi arttırdığı rapor edilmiştir. Aynı zamanda fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF-2) 'nin indüklediği angiyojenezin de COX-2 ekspresyonuna bağlı olduğu bildirilmiştir. COX-2 inhibisyonu, akciğer kanserinde antitümör cevaba katkıda bulunarak angiyojenik aktivitenin azalmasını sağlamaktadır. COX-2 ekspresyonu akciğer kanserinde invazyon sürecinde de etkilidir. COX-2-S ve COX-2-As klonları üzerine yapılan çalışmada COX-2-S klonunun PGE<sub>2</sub> seviyesini 10 kat arttırdığı, bunun sonucunda ise kanser hücrelerinin istila kapasitesinin arttığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda kanser gelişiminde COX-2 ile insan epidermal büyüme faktörü sinyalizasyonu arasında bir etkileşme olduğu tespit edilmiştir. Mao ve diğerleri çalışmalarında Tsujii ve Du Bois'in COX-2 ekspresyonunu zorladığını ve sonucunda ise apoptozise direncin azaldığını tespit ettiğini bildirmişlerdir (77).

COX-2 ekspresyonu insan over tümörlerinde de tespit edilmiştir. COX-2 melanomlarda da görülen bir enzimdir. COX-2 ekspresyonun artışı malignant epitelyal kanserin gelişim ve ilerleme sürecinde etkilidir. COX-2 enziminin gastrik ve pankreas kanserlerinde de önemli bir rolü vardır. COX-2 aşırı ekspresyonu özofagal adenokarsinom ve Barrett özofagusunun metaplastik epitelyumunda da tespit edilmiştir. Özofagal, mide ve pankreas kanserlerine yakalanma riski, Barrett metaplazili özofajit, intestinal metaplazili kronik atropik gastrit ve kronik pankreatit gibi inflamatuvar hastalıklar ile artabilmektedir. PG'ler gastrointestinal sistemde bulunan kolon, intestinal, gastrik ve özofagal hücrelerin farklı hücre proliferasyonlarını stimüle etmektedirler. Kanser hücrelerinin sinyal ileti sisteminin bir parçası olan Ras-mitojen aktive protein kinaz (Ras-MAPK) yolağının aktivasyonu ile indüklenen COX-2 kaynaklı PGE<sub>2</sub>, insan kanser hücresinin büyümesini arttırmaktadır (25).

Prostat karsinomlarında COX-2'nin aşırı ekspresyonu ile ilgili süreç henüz çözülememiştir. Bazı araştırmacılar prostat tümör dokusunu normal prostat dokusuyla kıyasladıklarında COX-2 izoenziminin ekspresyonunun arttığına ilişkin bir belirti bulamadıklarını, diğer araştırmacılar ise prostat tümörü içerisinde ve farklılaşmış prostat kanserinde COX-2 izoenziminin mevcut olduğunu rapor etmişlerdir. Androjenden bağımsız prostat kanserinde, otokrin ve parakrin mekanizmalarının tümör hücrelerinin proliferasyonunu stimülasyonunu doğrudan, prostaglandini regüle eden lokal androjen sentezini ise dolaylı yoldan etkiledikleri düşünülmektedir. İnsan kanser hücreleri hatları PC-3 nm ve LNCaP ile yapılan bir çalışmada COX-2 mRNA ekspresyonunda artış görüldüğü ve hücre proliferasyonun, total DNA içeriği ve endojen PGE<sub>2</sub> üretiminin eksojen dimetil prostaglandin E<sub>2</sub>'ye cevap olarak arttığı rapor edilmiştir. Başka bir çalışmada prostat kanseri bulunan dokuda COX-1 izoenziminin ekspresyonuna rastlanmıştır. COX-2 izoenziminin ekspresyonu ise adenokarsinom farklılaşmasının derecesini düzenlemektedir (5).

COX-2 izoenziminin aşırı ekspresyonunun baş ve boyun skuamoz hücre kanserlerinde görüldüğü rapor edilmiştir (79). İmmünohistokimyasal analizlerde baş ve boyun skuamoz hücreleri karsinomu bulunan 10 vakada güçlü COX-2 izoenziminin eksprese olduğu tespit edilmiştir. COX-2 ekspresyonun, oral mukozal lezyonlarda, hiperplazi ve displazi'de oluşan lekelerde COX-2 artışıyla immünohistokimyasal olarak kanıtlandığı bildirilmiştir. COX-2 izoenzimi baş ve boyun kanserinde hücre proliferasyonu, apoptozis ve anjiyogeneze katkıda bulunmaktadır (79).



### 3. Kardiyovasküler Sistem Hastalıkları

Trombozis, miyokard infarktüsü ve felç gibi iskemik kardiyovasküler hastalıklara neden olan, büyük arter duvarlarında lipid infiltrasyonu olarak tanımlanan aterosklerozis plakları ile karakterize inflamatuvar bir hastalık olan aterosklerozisin ilerlemiş safhası olan bir patolojik durumdur. Trombozis, aterosklerotik lezyonlar ve trombositlerin oluşumunu sağlayan önemli bir oluşumdur. Araşidonik kaskatı ürünü olan tromboksan kardiyovasküler rahatsızlıklarda önemli bir rol oynamaktadır (32). COX-2 izoenziminin ekspresyonunun insan trombositlerinde gerçekleştiği rapor edilmiştir. COX-2 izoenzimi fizyolojik olarak çok az bir oranda trombositlerde bulunmasına rağmen COX-2 izoenziminin eksprese olduğu trombositler yüksek trombosit rejenerasyonunu arttırmaktadır. İnflamasyon, aterosklerotik plak erozyonu ve yırtılmasıyla sonuçlanan süreçte etkin bir rol oynamaktadır. İnflamasyonla kardiyovasküler hastalık riski arasında bir ilişki mevcuttur. Yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre inflamasyonun semptomatik plaklarda, makrofajların büyük çoğunluğunda ve semptomatik plakların baş kısmında bulunan T hücrelerinde yaygın bir şekilde bulunduğu tespit edilmiştir. Plak bozulması plaklardaki inflamasyon artışıyla ilişkilidir (29).

COX-2/mPGES-1 enzim çifti patofizyolojik olarak aterojenez sürecinde etkilidirler. Vasküler hücrelerde pro-inflamatuvar uyarı ile mPGES-1 ekspresyonu belirgin bir şekilde artmaktadır. COX-2/mPGES-1 çiftinin makrofajlardaki aşırı ekspresyonu insan aterojenezindeki PGE<sub>2</sub> ve PGE<sub>2</sub> bağımlı MMP'lerin biyosentezinin artmasını yöneten araşidonik asit metabolizma yolağı üzerinde belirgin bir şekilde etkilidir (29).

COX-2 izoenziminin plak düzensizliğinde kritik bir rolü vardır. Stabil olmayan plaklarda stabil plaklara göre prostaglandin E sentaz (mPGES-1) ile COX-2 seviyesi

artmaktadır. Bu iki enzimin aşırı ekspresyonu ile metaloproteinler olan MMP-2 ve MMP-9'un ekspresyonu arasında ilişki vardır. Matriks degrade enzimler plak fibril yapısını zayıflatabilmektedir. Bunu da PGE<sub>2</sub> ile gerçekleştirmektedirler. Elde edilen verilere göre COX-2, PGE<sub>2</sub> bağımlı metaloproteinler ile plak düzensizliğini arttırabilmektedir (24).

COX-2'nin aterotrombozisteki rolü kompleks bir süreçtir. COX-2 araşidonik asit kaskatında sadece pro-inflamatuvar prostanoidlerin değil aynı zamanda anti-inflamatuvar prostanoidlerin üretilmesinde de etkilidir. PGI<sub>2</sub> kardiyovasküler hastalıklarda COX-prostanoid kaskadını tamamlayan ve COX-2 izoenzimi tarafından üretilen majör bir antiaterojenik prostanoiddir. TXA<sub>2</sub> ve diğer aterojenik prostanoidlerin aksine PGI<sub>2</sub> kardiyovasküler sistemin homeostazının düzenlenmesinde en önemli prostanoiddir. PGI<sub>2</sub>, aterojenik süreçte de trombosit aktivasyonunu, endotelyumda lökosit adezyonunu ve vasküler düz kas hücrelerinin plaktaki proliferasyonunu sınırlayarak koruyucu etkisini göstermektedir (69).

COX-2 ekspresyonunun ve COX-2 türevi prostanoidlerin aterojenezin farklı fazlarında etkileri tartışmalıdır. COX-2, belirgin olarak plak lezyonları ile birlikte makrofajlarda bulunmaktadır ve COX-2 ekspresyonun artışına paralel olarak PGE<sub>2</sub> ekspresyonu artmaktadır. PGE<sub>2</sub> diğer pro-inflamatuvar mediyatörler ve adezyon moleküllerinin indüksiyonu gibi çeşitli mekanizmalarla aterojenez gelişimini yayan ve makrofaj ve diğer immün hücrelerinin göçünü kolaylaştıran aterojenik prostanoidlerden bir tanesidir. PGI<sub>2</sub>, vasküler endotelial büyüme faktörlerinin üretimini vasküler hücrelerinde dahil olduğu çeşitli hücre tiplerinde indüklemektedir. PGI<sub>2</sub> proanjyogenik faktörlerin biyolojik etkilerini arttırmaktadır. COX-2, sadece pro-inflamatuvar prostanoidlerin değil, aynı zamanda antiaterojenik PGI<sub>2</sub> sentezinde görev almaktadır. COX-2, aterotrombotik patolojinin belirlenmesi önemli olan PGI<sub>2</sub>

ile diğler aterojenik prostanoidler arasındaki dengeyi de sağlamaktadır. Endotelyal hücreler, vasküler düz kasların dahil olduğu diğler vasküler hücreler ve endotelyal projenitör hücreler PGI<sub>2</sub> için aterosklerotik lezyonlarda önemli bir kaynaktır (69).

#### 4. Kemikler ve Artritler

Prostaglandinler insan ve hayvanlardaki kemik rezorpsiyonu stimüle etmektedirler. Osteoblastlar tarafından sentezlenen kollajen, prostaglandinler tarafından hem stimüle hem de inhibe edilmektedir. Kemik hücrelerinde görülen mekanik stres de prostaglandin sentezini arttırmaktadır. İmmobilizasyon sürecinde görülen kemik kaybı prostaglandinler tarafından yayılmaktadır. Prostaglandinler kemik modellemelerinde birkaç yolla etki göstermektedirler. Prostaglandinler osteoklastların ve osteoblastların prekürsörlerinin farklılaşmasını, *in vitro* olarak kemik resorpsiyonunu ve *in vivo* ortama eksojen olarak verildiklerinde kemik büyümesini stimüle etmektedirler. Prostaglandin sentezinin kemik kaybı ve şekillenmesi üzerine etkileri hakkında çok fazla bilgi bulunmamaktadır. Osteoblastlarda gerçekleştirilen kemik yeniden modellemelerinde, COX-2 indüksiyonunun akut stres cevaba karşı esansiyel olduğu rapor edilmiştir. Kemik kaybı peridontal hastalıktaki inflamasyonla ortaya çıkmaktadır. Sitokinlerin, COX-2 ve prostaglandin üretiminin artışını kemik iliği hücre kültüründe indükledikleri tespit edilmiştir. Prostaglandinlerin kemiklerdeki resorpsiyon ve formasyonun eşgüdüm içinde gerçekleşmesinden ve bu iki süreç arasındaki dengenin korunmasından sorumlu oldukları düşünölmektedir (104).

İnflamatuvar artritlerle ilgili hayvan modellerinden elde edilen kanıtlara göre COX-2 ekspresyonunun artması inflamasyon dokularında prostaglandin üretiminin artmasına sebep olmaktadır. COX-2 indüksiyonu hem insan osteoartritlerinden

etkilenmiş kıkırdakta hem de romatoid artritli hastalardan alınan sinoviyal dokularda görülmektedir. İnsan sinoviyal dokuları ya da monositlerden türevlendirilen primer hücreler üzerinde yürütülen hücre kültürü deneylerinde inflamatuvar süreçle ilgili indüksiyonun modülasyonu üzerine etkili faktörlerin anlaşılması açısından önemli bilgiler elde edilmiştir. Pro-inflamatuvar ajanlardan interlökin-1 (IL-1), tümör nekroz faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ve lipopolisakkaritle büyüme faktörlerinin bu sistemde COX-2 ekspresyonunu indükledikleri, anti-inflamatuvar sitokinlerden interlökin-4 (IL-4) ve interlökin-3 (IL-3) ile immünosüpresif glukokortikoidlerin COX-2 seviyesini düşürdükleri rapor edilmiştir. Osteoartritli hastalardan alınan sinoviyal dokularda ise az miktarda COX-2 izoenzimi, insan osteoartritinden etkilenmiş kıkırdaktan elde edilen primer *in vitro* kültürlerde yüksek miktarda COX-2 izoenzimi ve prostaglandin eksprese edildiği rapor edilmiştir. Nitrik oksit ve diğer önemli inflamatuvar modülatörlerin osteoartritik kıkırdakta prostaglandin üretimini düzenledikleri belirlenmiş, buna rağmen nitrik oksit ile inflamatuvar modülatörlerin sinoviyal hücrelerde tespit edilemediği bildirilmiştir (104).

## **E. Antiinflamatuvar İlaçlar**

### **1. Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçların Sınıflandırılması**

Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), ağrının, inflamasyonun ve özellikle romatoid artrit ve osteoartrit gibi hastalıkların tedavisinde önceliğe ve çok yaygın kullanıma sahip terapötik ajanlardır. NSAİİ olarak kullanılan ilk ilaç aspirindir. 1970'lerde NSAİİ'lar açısından gerçekleşen en önemli bilimsel ilerleme, aspirin ve diğer NSAİİ'ların moleküler mekanizmasının aydınlatılmasıdır. Dannhardt ve Kiefer çalışmalarında Vane, Samuelson ve Bergstrom'un çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik fonksiyonları bulunan prostaglandinlerin (PG) biyosentezinin

engellenmesinin antiinflamatuvar etkiyi ortaya çıkardığını rapor ettiklerini bildirmiştir (30).

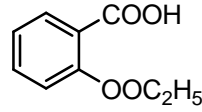
NSAİİ'lar siklooksijenaz enzimi ile etkileşerek PG sentezinin inhibisyonunu gerçekleştirmek suretiyle terapötik etkilerini göstermektedirler. Birçok *in vitro* ve *in vivo* test modeli, ilaçlarla araziidonik asit metabolizması arasındaki etkileşmeyi ortaya koymak için geliştirilmiştir. Antiinflamatuvar bileşikler bu modeller kullanılarak biyolojik aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir. COX-1 ve COX-2 izoenzimlerinin belirlenmesinden sonra enzim selektivitesi de dikkate alınmaya başlamıştır. COX-2/COX-1 IC<sub>50</sub> değerlerinin oranı enzim selektivitesinin değerlendirilmesi için kabul edilen ve yaygın olarak kullanılan bir parametredir. Enzim selektivitesinin değerlendirilmesinde kullanılan bu oran değeri, selektivite teşhisi açısından sınırlamaları bulunmaktadır. Bu durumun sebebi ise COX-2/COX-1 IC<sub>50</sub> değerlerinin oranının, kullanılan test sistemlerine, hücre tiplerine, stimüle eden ajanlara ve kullanılan kültürün durumuna kuvvetli bir biçimde bağlı olmasından kaynaklanmaktadır (30).

NSAİİ'lar COX-2/COX-1 IC<sub>50</sub> değerlerinin oranı kullanılarak enzimler üzerindeki selektif etkileri açısından sınıflandırılmışlardır. Buna göre NSAİİ'lar, nonselektif COX inhibitörleri, selektif COX-1 inhibitörleri, tercihi COX-2 inhibitörleri ve yüksek selektiviteli COX-2 inhibitörleri olarak sınıflandırılmaktadırlar (30).

## **2. Selektif Siklooksijenaz-1 İnhibitörleri**

Aspirin bu gruba üye olan çok etkin bir COX-1 inhibitörüdür (Şekil 7). Aspirin, düşük dozda kardiyovasküler sistem ile ilgili hastalıklarda trombosit

agregasyonunu önlemek amacıyla selektif COX-1 inhibitörü olarak kullanılmaktadır (40).

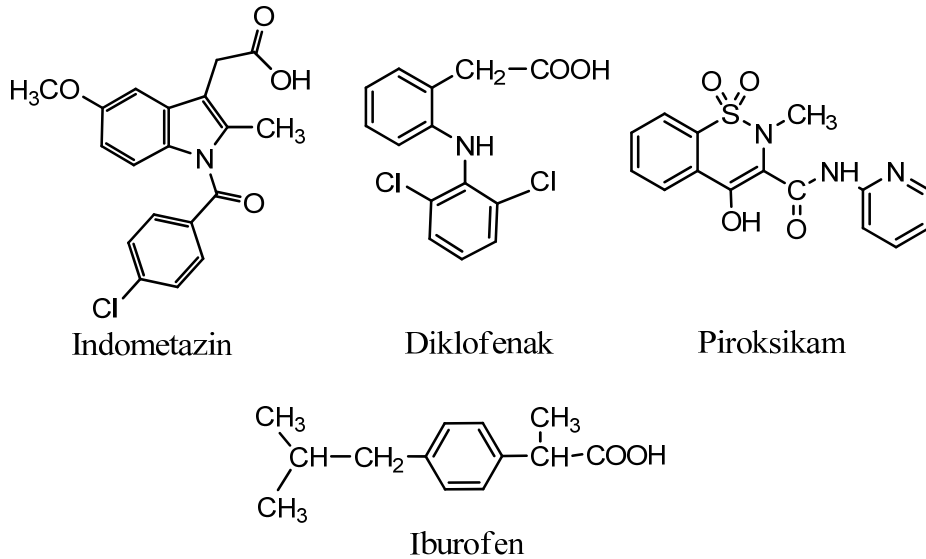


Aspirin

Şekil 7. Selektif Siklooksijenaz-1 İnhibitörleri

### 3. Nonselektif Siklooksijenaz İnhibitörleri

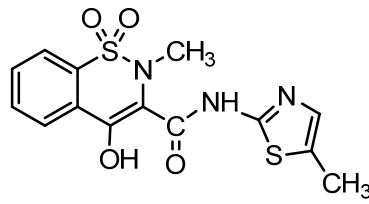
Bu ilaçlar COX-1 ve COX-2 izoenzimlerinin ikisini birden inhibe etmektedirler. Bu gruba yüksek dozda kullanılan aspirin ile indometazin, piroksikam, diklofenak ve ibuprofen girmektedir (40) (Şekil 7 ve 8).



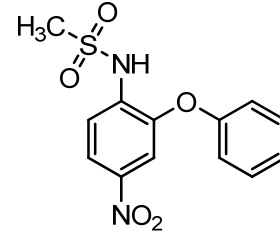
Şekil 8. Nonselektif Siklooksijenaz İnhibitörleri

#### 4. Tercihli Siklooksijenaz-2 İnhibitörleri

Meloksikam ve nimesulid (Şekil 9) bu gruba ait ilaçların örnekleridir. Bu ilaçlar bütün hücre sistemlerinde 1'den düşük COX-2/COX-1 IC<sub>50</sub> oranına sahiptirler. Nimesulid bütün hücre analizinde hem COX-1 hemde COX-2 üzerinde eşit potansiyel etki gösterirken, insan COX-1 ve COX-2'sinin mikrozomal analizinde COX-2 üzerine 5 kat fazla selektif etki göstermektedir. Meloksikam ise bütün hücre analizlerinde COX-2 üzerine selektif etki göstermektedir. Mikrozomal analizde ise COX-2 üzerinde 75 kat fazla selektiviteye sahiptir. Klinik çalışmalarda meloksikam molekülünün antiinflamatuar dozda trombosit agregasyonu ve renal prostaglandin sentezi üzerine etki göstermediği tespit edilmiştir (40).



Meloksikam



Nimesulid

Şekil 9. Tercihli Siklooksijenaz-2 İnhibitörleri

#### 5. Yüksek Selektiviteli Siklooksijenaz-2 İnhibitörleri

Yeni geliştirilen yüksek selektiviteli COX-2 inhibitörlerinde COX-2/COX-1 IC<sub>50</sub> oranı tüm hücre sistemlerinde 0.001'den küçüktür. Bu gruba selekoksib, rofekoksib, DUP-697 (Şekil 10) gibi bileşikler dahildir (40). Bu gruba ait bileşikler klasik NSAİİ'lerden farklı olarak karboksilik grup içermemelerine rağmen enzimin hidrofobik kanalında bir tuz formu oluşturmaksızın enzimle farklı oryantasyonlarla etkileşerek etkili COX-2 affinitesi göstermektedirler. Selektif COX-2 inhibitörleri

farklı yapısal sınıflara ayrılmaktadırlar. Bunlar diaril ya da arilheteroaril eterler, visinal diaril heterosiklikler, NSAİİ'lerin modifikasyonu sonucunda elde edilen bileşikler, 1,2-diariletelen türevleri ve antioksidatif etkili bileşiklerdir (30, 40).

#### **a. Visinal Diaril Heterosiklikler**

Geleneksel NSAİİ'lerin gastrointestinal sistemde neden oldukları yan etkilerden dolayı bu yan etkileri giderilmesi amacıyla selektif COX-2 inhibitörü bileşikler geliştirilmiştir. 1999 yılında selektif COX-2 inhibitörü olan rofekoksib bileşiğine FDA tarafından onay verilmiştir. Zaman içerisinde selektif COX-2 inhibitörü bileşiklerin kullanımı, gastrointestinal sistemde yan etkilerinin geleneksel NSAİİ'lere göre çok az olması sebebiyle yaygınlaşmıştır. Fakat bu yaygın kullanım sonucunda kardiyovasküler hasarların oluşumunda artış olduğu tespit edilmiş ve bu hasarların selektif COX-2 inhibitörü NSAİİ'ler tarafından gerçekleştirildiği belirlenmiştir. Klinik çalışmalar sonucunda koksibler olarak adlandırılan selektif COX-2 inhibitörü NSAİİ'lerden rofekoksib, valdekoksib, parekoksib ve etorikoksib bileşiklerinin (Şekil 10) kardiyovasküler hastalık riskini arttırdığı bulunmuştur. Bu gruba ait selekoksib bileşiğinin ise plaseboyla aynı düzeyde risk içerdiği bulunmasına rağmen bu bileşiğin de diğer selektif COX-2 inhibitörü NSAİİ'ler gibi tedavide kullanılışı 2004 yılında durdurulmuştur (37). Koksiblerin tedavide kullanılışı durdurulmasına rağmen bu bileşiklerle ilgili araştırmalar devam etmekte ve koksiblere yönelik olarak çeşitli nörodejeneratif hastalıkların ve kanser türlerinin tedavisine yönelik klinik çalışmalar yapılmaktadır (46, 57, 123). 2009 yılında akciğer, göğüs ve pankreas neoplazilerinin tedavisinde kullanılması amacıyla aprikoksib adlı bileşik geliştirilmiştir (98).



COX-2 üzerine yapılan çalışmaların büyük bir bölümü bu gruba ait bileşikler üzerinde yapılmıştır. Bu bileşikler merkezlerinde karbosiklik ya da heterosiklik halka sistemi ve bu halka sistemlerinin üzerinde iki visinal aril artığı taşımaktadır. Bu bileşikler, COX-2 inhibitörleri bileşiklerin en önemli grubunu teşkil etmektedirler. Bu gruba ait birçok bileşik potansiyel ilaç adayı olarak geliştirilmiştir (30).

Heterosiklik yapı aromatik halkaların uzayda oryantasyonunu sağlamak ve bileşiklerin enzime bağlanmalarını gerçekleştirmek için gereklidir. Pirol, tiyazol, oksazol, furan, imidazol, izoksazol, pirimidin ve tiyofen gibi çok çeşitli heterosiklik yapılar bu gruba ait COX-2 inhibitörlerin temel yapılarını oluşturmaktadırlar. Pirazol ve siklopentanon halkaları ise COX-2 izoenzimi için daha uygun bulunmaktadır. Optimum aktivite için aromatik halkaların bir tanesinde para konumunda bir metilsülfonil ya da bir sülfonamit süstitüenti gerekmektedir. Metilsülfonil grubunun sülfonamit grubu ile yer değiştirmesi COX-2 selektivitesini azaltmış olsa da oral biyoyararlılığı arttırmaktadır. Aktivitenin COX-2'ye yönelmesi açısından yapısal bu değişimler zorunlu olmakta ve simetrik olmayan süstitüe analogların oluşmasını sağlamaktadır. Brom süstitüe tiyofen halkası içeren DUP-697 bileşiğinde bu gereklilik yerine getirilmiştir (Şekil 10). DUP-697 bileşiğinden elde edilen klinik verilere göre bileşik 242 saat gibi çok uzun plazma yarılanma ömrüne sahip olduğu rapor edilmiştir (30).

Visinal diaril heterosiklikler arasından özellikle 1,5 diarilpirazol türevi selekoksib ve 3,4-diarilfuranon türevi rofekoksibe özel bir ilgi duyulmuş ve bu bileşiklere ait yapılar üzerinde çeşitli süstitüsyonlara gidilerek selektif COX-2 inhibitörü bileşikler geliştirilmiştir (Şekil 10). Selekoksib için 1998 yılında osteoartrit ve poliartritin tedavisinde kullanılması amacıyla FDA'den onay alınmıştır. Selekoksib optimal *in vitro* ve *in vivo* profile sahiptir. Rofekoksib ise osteoartrit,

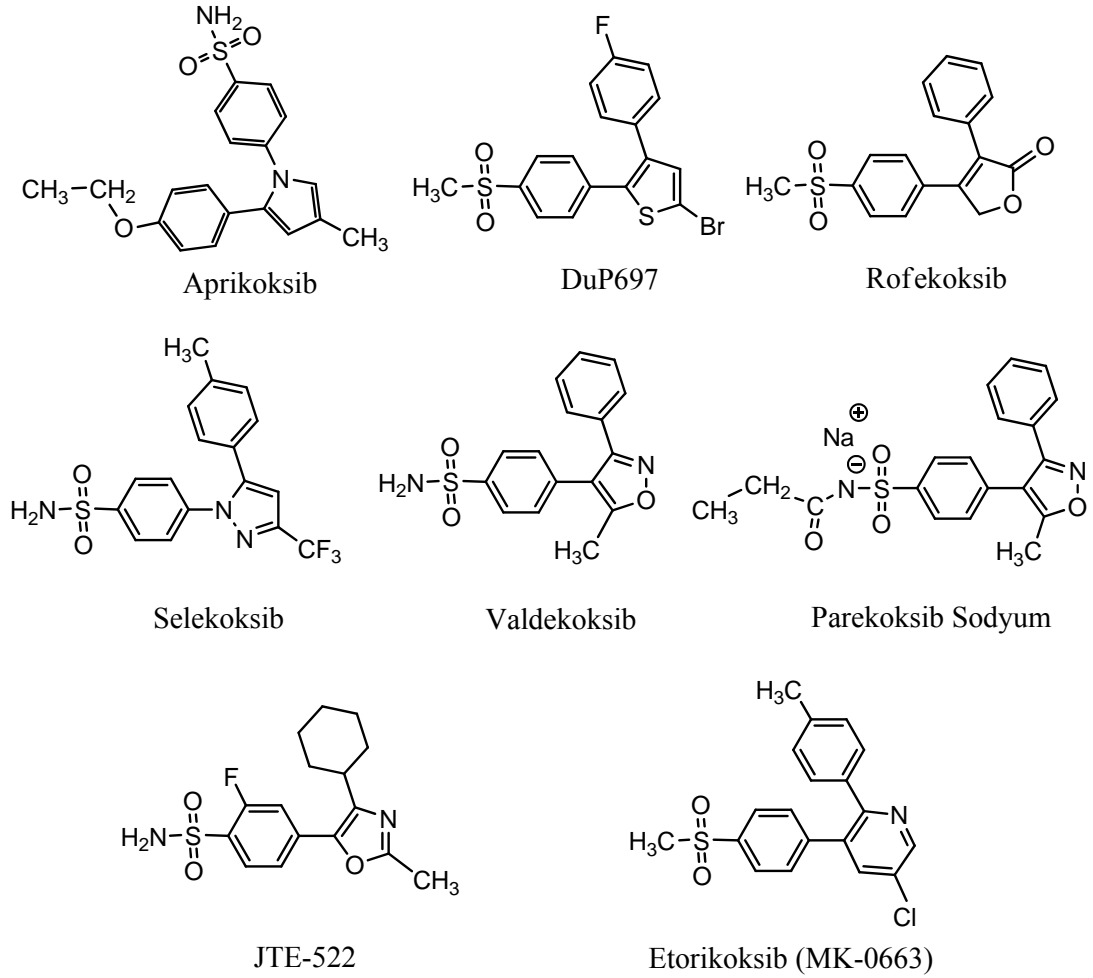
akut ağrının ve primer dismonorenin tedavisi amacıyla Amerika Birleşik Devletlerinde kullanılmaya başlamıştır. Valdekoksib, parekoksib ve JTE-522 bileşikleri son olarak geliştirilen aynı kimyasal gruba ait COX-2 inhibitörleridir (30) (Şekil 10).

Valdekoksib yüksek selektivitesi ile ağrı ve inflamasyonun tedavisi için klinik olarak değerlendirilmiş diarilizoksazol türevi bir bileşiktir. Valdekoksib COX-1'e karşı çok zayıf inhibitör aktivite göstermektedir. Valdekoksibin kemirgenlerde ve köpeklerde yapılan *in vivo* çalışmalarda elde edilen metabolitlerinden hidrosimetil türevinin antiinflamatuvar aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Selekoksisib ve rofekoksibin suda çözünürlüğü düşük olduğu için parenteral kullanımı mevcut değildir. Koksiblerin suda çözünme güçlüğünden kaynaklı parenteral kullanım zorluğunu gidermek için parekoksib sodyum bileşiği geliştirilmiştir. Valdekoksib için ön ilaç olan bu bileşik akut ağrının ve postoperatif ağrının tedavisi amacıyla geliştirilmiş bir enjektabl COX-2 inhibitörüdür.

JTE-522 bileşiği (Şekil 10) romatoid artrit ve osteoartrit tedavisi amacıyla faz 2 klinik çalışmalarına sokulmuş bir bileşiktir. Bu bileşik hem koyun hem de insan rekombinant COX-2 izoenzimini IC<sub>50</sub> değeri 0.64 ve 0.085 µmol ile inhibe eden aynı zamanda koyun ve insan trombosit COX-1'ini 100 µmol konsantrasyonun üzerinde inhibe etmeyen tek spesifik COX-2 inhibitörü bileşiktir. JTE-522 terapötik dozda gastrik mukozadaki COX-1 türevi PGE<sub>2</sub> üretimini etkilemeyerek gastrik ülser oluşturmeyen bir bileşiktir.

Koksiblerde merkezdeki beş üyeli halkanın farklı sayıda atoma sahip halka sistemleriyle değiştirilmesi aktivite açısından tolere edilebilmektedir. Siklobutenler gibi küçük karbosikliklerin de, altı üyeli karbosiklikler ve heterosiklilere sahip bileşiklerin de COX-2 inhibitör etkiye sahip oldukları tespit edilmiştir. Bis-piridinil

bileşiklerine ait MK-0663 bileşiğinin (Şekil 10) tam kan analiziyle COX-1 ve COX-2 üzerine selektif olarak etkisi değerlendirilmiştir. Bu bileşiğin çok iyi selektif COX-2 inhibitör etki gösterdiği rapor edilmiştir (30).

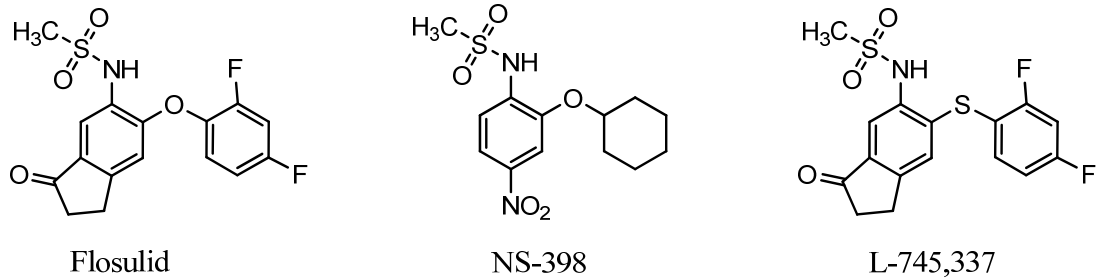


**Şekil 10. Visinal Diaril Heterosiklikler**

#### **b. Diaril- ve Aril-Heteroaril Eterler**

Klasik NSAİİ'lerden farklı bir yapıya sahip olan NS-398 bileşiği selektif COX-2 inhibitörüdür (Şekil 11). Bileşik inflamasyon hücrelerinde PG sentezini inhibe etmiş ve bileşiğin hayvan modellerinde gastrointestinal sistemde istenmeyen yan etkiler taşımadığı anlaşılmıştır. NS-398 bileşiğinin mide ve böbrekte fizyolojik

olaylar için gerekli olan PG'lerin üretimini etkilemediği tespit edilmiştir. NS-398, tercihli COX-2 inhibitörü olarak kabul edilmiştir. NS-398 bileşiğiyle yapısal olarak ilişkili iki bileşik olan nimesulid (Şekil 9)ve flosulid (Şekil 11) bir diaril eter ve tiyoeter yapıları ile bağlı metansülfonanilit artığı taşımaktadırlar. Bu bileşikler için sülfonamid yapısında yer alan N-H asiditesi zorunludur. Bu gruba ait ilk bileşik nimesuliddir. Flosulid bileşiği ise nimesulidle benzer yapıdadır. Moleküller arasındaki en önemli fark ise nimesulid bileşiğindeki elektron çekici nitro süstitüenti yerine flosulid bileşiğinde benzen halkasına kaynaşmış beş üyeli bir karbosiklik halka olmasıdır. L-745,337 (Şekil 11), flosulid bileşiğinin tiyoeter analogudur. L-745,337 bileşiği flosulidden biyoyararlılık, *in vivo* potansiyel ve gastrointestinal sistem güvenliği açısından daha etkili bulunmuştur (30).



**Şekil 11. Diaril- ve Aril-Heteroaril Eterler**

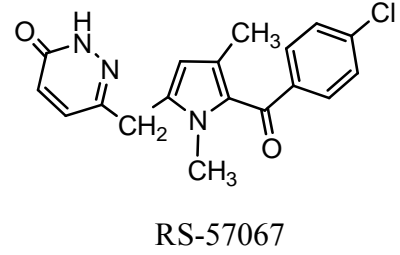
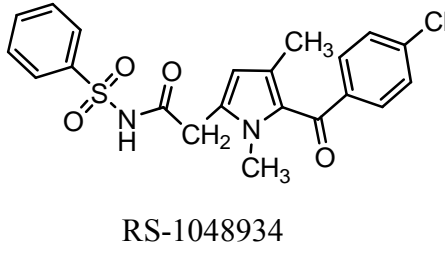
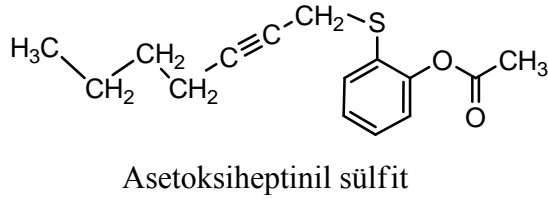
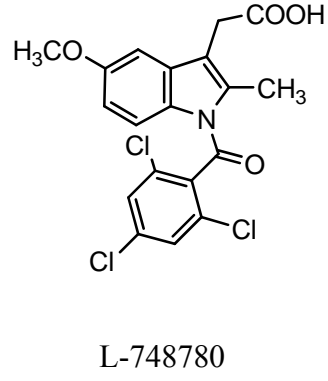
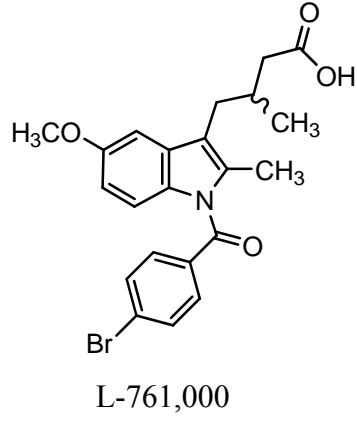
**c. Siklooksijenaz-2 Selektivitesini Arttırmak İçin NSAİİ'lerin Modifikasyonu İle Elde Edilen Bileşikler**

NSAİİ olarak kullanılan bazı bileşiklerin modifiye edilerek selektif COX-2 inhibitörü olarak sunulması iyi bir strateji olarak düşünülmüştür. Bu amaçla bazı NSAİİ'ler üzerinde modifikasyonlar yapılmıştır (30). Nonselektif COX inhibitörü indometazin bileşiği üzerinde enzim selektivitesini COX-1'den COX-2'ye doğru

kaydıran aynı zamanda potansiyel aktiviteyi aynı seviyede tutarken istenmeyen yan etkileri azaltmayı amaçlayan çeşitli modifikasyonlar düşünülmüştür. İndometazin bileşiğinde klorobenzoil grubunun triklorobenzoil grubuyla değişimi COX-2 selektivitesini optimize etmektedir. Bu modifikasyonla L-748780 (Şekil 12) bileşiği elde edilmiştir. Diğer bir modifikasyonda ise indometazin bileşiğinin yan zinciri üzerinde bulunan asetik asitin beta-dallanmış bütirik asitle ve bileşiğin 4-klorobenzoil artığının 4-bromobenzoil artığıyla yer değiştirilmesi ile L-761,000 (Şekil 12) bileşiği elde edilmiştir. L-748780 ve L-761,000 bileşikleri yüksek potansiyel etkiye ve belirgin bir selektiviteye sahiptirler. İndometazin bileşiği üzerindeki aril asetik asit artığının esteri ve amitine dönüştürülmesi molekülün sadece COX-2'ye bağlanma kapasitesini değiştirmektedir. İndometazinin ester ve amit türevlerinin insan COX-2 enzimi üzerine düşük dozda etki gösterdiği, koyun COX-1 enzimine ise bu türevlerin etkilerinin zayıf olduğu tespit edilmiştir.

COX-1 selektif bir ilaç olan zomepirak da benzer bir strateji ile modifikasyona tabii tutulmuştur. Bileşik üzerindeki karboksil grubu piridazinon halkası veya *N*-fenilsülfonilamit haline dönüştürülerek COX-2 selektivitesine sahip RS-57067 ve RS-1048934 bileşikleri elde edilmiştir (Şekil 12).

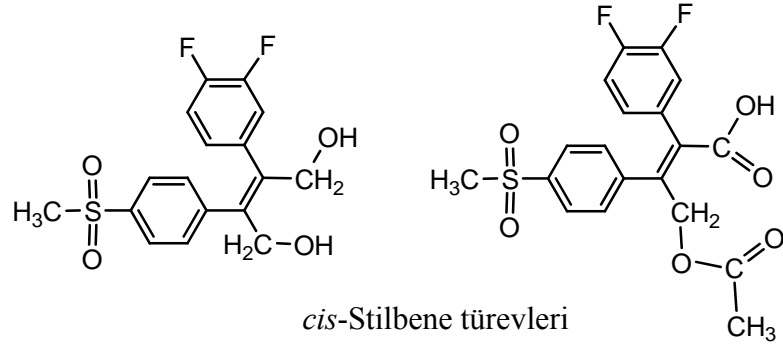
Aspirin, COX-1 izoenzimi üzerindeki 530 nolu serinle kovalen bağ yaparak enzimi inhibe eden ve düşük dozda COX-1 izoenzimini, yüksek dozda ise her iki izoenzimi de inhibe ettiği bilinen tek NSAİİ'dir. Çeşitli modifikasyonlar sonucunda elde edilen asetoksiheptinil sülfid (APHS)'in (Şekil 12) aspirinden 60 kez daha yüksek ve 100 kez daha selektif COX-2 aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. APHS, COX-2 izoenzimini üzerindeki 530 nolu serini asetilleyerek COX-2 inhibisyonu gerçekleştiren ve COX-2 izoenzimi ile kovalen bağ yapan ilk selektif COX-2 inhibitörü bileşiktir (30).



**Şekil 12. Siklooksijenaz-2 Seletivitesini Arttırmak İçin NSAİİ'lerin Modifikasyonu İle Elde Edilen Bileşikler**

#### d. 1,2-Diariletilen Türevleri

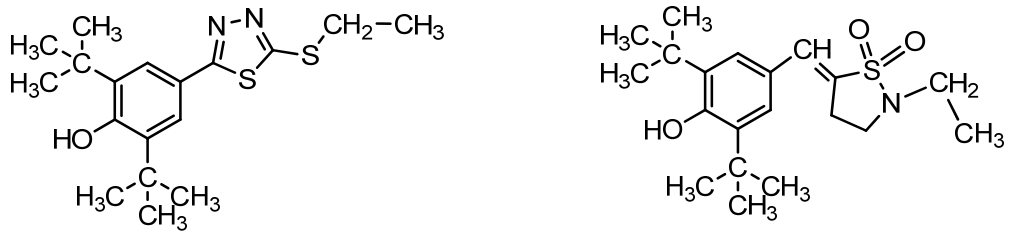
Furanon halkasının redüksiyonu sonrasında halka açılması sonucu oluşan diol yapısına sahip aktif inhibitörler elde edilmiştir. Halka açılması ve heteroatomun elimine edilmesiyle aril artıklarından bir tanesinin üzerine metilsülfonil grubu ve diğerinin üzerinde halojen süstitüentleri bulunan birbirleriyle visinal olan iki aromatik halkaya sahip ve COX-2 izoenzimini inhibe eden *cis*-stilbene türevleri elde edilmiştir (30) (Şekil 13).



**Şekil 13. 1,2-Diariletilen Türevleri**

**e. Antioksidan Etkili Bileşikler**

Bu gruba ait bileşiklerde bileşiklere ait antioksidan mekanizmaları destekleyecek yapısal modifikasyonlar geliştirilmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Di-*tert*-bütilfenol gibi yapıları bulunduran bileşikler COX-2 izoenziminin siklooksijenaz reaksiyonuna saldırarak oluşan radikalik ara ürünlerin meydana gelmesini engellemektedir. Fenolik yapının tiyazol, oksazol, tiyadiazol ya da oksadiyazole bağlanmasıyla ise non-ülserojenik ve oral aktif antiinflamatuvar COX-2 inhibitörü bileşikler elde edilmiştir (Şekil 14). Bu gruba ait en etkili ve yüksek COX-2 selektivitesine sahip bileşik tiyadiazol türevidir (30).



**Şekil 14. Antioksidan Etkili Bileşikler**

## F. Talidomit

Talidomit 1950'lerden 1960'lara kadar sedatif-hipnotik ve antiemetik olarak kullanılmış, daha sonra ise teratojenik etkisinden dolayı 1960'larda tedaviden kaldırılmış bir bileşiktir (33, 53, 90, 103) (Şekil 15). Talidomit için FDA'den 1998 yılında Hansen hastalığı ve 2006 yılında ise multiple miyelom tedavisinde kullanılmak üzere onay alınmıştır (53, 103). Talidomitin romatoit artrit, fotodermatit, Behçet sendromu, sistemik lupus eritematozuz, graft-versus host hastalığı, göğüs kanseri, multipl miyeloma, kolon kanseri, prostat tümörü, AIDS, malarya, tüberküloz, miyeloma displastik sendrom, Crohn hastalığı, diyabet ve glioblastma gibi hastalıklar üzerine teropötik etki gösterdiği rapor edilmiştir (33, 53, 103). Talidomit çeşitli yararlı farmakolojik etkiler göstermektedir. Bunlar antikaşetik, antiinflamatuvar, antitümöral, antianjiyogenik, antiviral, hipoglisemik ve tümör hücreleri istilasını inhibe edici etkilerdir. Talidomit bileşiğinin yapısı temel alınarak TNF- $\alpha$  regülörleri, hücre farklılaşmasını indükleyiciler, karaciğer X reseptör antagonistleri, androjen antagonistleri, antiangiyojenik ajanlar, aminopeptidaz inhibitörleri,  $\alpha$ -glukozidaz inhibitörleri, timidin fosforilaz inhibitörleri, siklooksijenaz inhibitörleri, nitrik oksit inhibitörleri, histon deasetilaz inhibitörleri ve tübülün polimerasyon inhibitörleri olan birçok biyolojik aktif bileşik geliştirilmiştir (53).

Talidomitin, TNF- $\alpha$ , çeşitli interlökinler ve interferon- $\alpha$  gibi sitokinlerin üretimini düzenlenmesinde etkili olduğu bildirilmiştir. TNF- $\alpha$ , hücre yüzeyinde savunma ve bağışıklık mekanizmasından sorumlu olan, çeşitli uyarılarla makrofajlar ve T hücreleri tarafından üretilen inflamatuvar/somogenik bir sitokindir. Transmembran proteini ve homotrimerik olarak her iki şekilde de biyoaktif olup aktivitesini geniş bir alanda göstermektedir. TNF- $\alpha$ , hücrel farklılaşma, çoğalma ve



ölüm için uyarıların ayrılmasını içeren pleitropik proinflamatuvar özelliklerle karakterizedir. Bilinen en etkili kaşesik ve anjiogenez faktörüdür. Talidomitin anti-kaşesik ve antianjiogenik etkileri TNF- $\alpha$  üzerindeki düzenleyici etkisinden kaynaklanmaktadır. TNF- $\alpha$ , insülden bağımsız tip II diabet/obezite ve AIDS'deki HIV'in gen ekspresyonunun artmasına sebep olmaktadır. Aynı zamanda antitümör ajandır ve çeşitli tümör türlerine karşı potansiyel sitotoksik etkiye sahiptir (52).

Talidomit üzerinde yapılan moleküler modifikasyon çalışmaları sonucunda elde edilen analogları *N*-süstitüe ftalimit türevlerinin, anti-androjenik aktiviteye sahip oldukları bunu da sitokin/büyüme faktörü üretiminin düzenlenmesi ile ilgili immunomodulatör aktivite ile sağladıkları düşünülmektedir. Bu nedenle *N*-süstitüe ftalimitlerin TNF- $\alpha$  düzenleyici aktiviteleri bulunmaktadır (52).

*N*-alkil süstitüe ftalimitin analoglarının incelenmesi sonucunda ftalimit molekülü üzerinde adamantil grubu gibi küresel alkil gruplarının ve bir karbonil grubunun varlığının potansiyel bi-direksiyonel TNF- $\alpha$  üretimi modulatörü aktiviteyi sağladığı bildirilmiştir. *N*-arilsüstitüe ftalimit türevleri incelendiğinde özellikle süstitüe *N*-fenil analoglarının potansiyel TNF- $\alpha$  üretimi modulatörü aktiviteye sahip oldukları bulunmuştur. Bunlardan *N*-(2,6-diizopropilfenil)ftalimitin talidomitten daha aktif bir bileşik olduğu tespit edilmiştir (52) (Şekil 15).

TNF- $\alpha$  üretiminin artması ya da azalması ile ilgili talidomit türevlerinin düzlemsel yapıları arasında ilişki vardır. Bu iki aktivitede yapı-etki ilişkileri arasındaki temel fark ftaloil artığını üzerinde farklı süstitüentilerin bulunmasıdır. Ftalimit halkası üzerinde elektron çeken bir yapı olan nitro grubunun varlığı TNF- $\alpha$  üretiminin artışına sebep olur. Halka üzerinde elektron veren amino ve hidroksil gruplarının varlığı ise TNF- $\alpha$  üretiminin azalmasına sebep olur. S ve R izoformları arasında da biyolojik aktivite farklılığı tespit edilmiştir. TNF- $\alpha$  üretiminin

düzenlenmesi üzerine talidomit bileşiğinin S ve R izoformlarının biyolojik aktiviteleri arasındaki farklılıkları incelenmek amacıyla S- ve R- metiltalidomit bileşikleri sentezlenmiş, S izoformunun TNF- $\alpha$  artışına sebep olduğu, R izoformunun ise TNF- $\alpha$  üretimini inhibisyona uğrattığı tespit edilmiştir (52) (Şekil 15).

Hashimoto ve arkadaşları, talidomit ve analoglarının siklooksijenaz inhibitör aktivite gösterdiğini de tespit etmişlerdir. Rasem talidomitin non-selektif ya da zayıf COX-2 selektivitesi gösteren COX inhibitör etkinliği taşıdığı tespit edilmiştir. (R)-metiltalidomit bileşiği talidomite göre zayıf COX-1 inhibisyonuna ve kuvvetli COX-2 inhibisyonu ile yüksek COX-2 selektivitesine sahiptir. S- formunun ise inaktif olduğu belirtilmiştir. (R)-metiltalidomit bileşiği üzerine yapılan çalışmada bileşiğin ftaloil artığının 5 konumuna elektron çekici grup olan nitro yapısının süstitüsüyonu COX-1 ve COX-2 inhibisyonunu arttırmakta, aynı konuma elektron verici grup olan amino girişinin ise her iki inhibisyonu da azaltmakta olduğu belirlenmiştir (Şekil 15). (R)-metiltalidomit bileşiğinin ftaloil artığının 4 konumuna elektron çekici grup olan nitro girişi COX-1 inhibisyonunu arttırmakta ve COX-2 inhibisyonunu ise zayıflatarak aktivitenin COX-1 selektif olmasını sağlamıştır (Şekil 15). Aynı konuma elektron verici grup olan amino girişi ise etkiyi tersine çevirmiş bunun sonucunda COX-2 inhibisyonu artmış ve COX-1 inhibisyonu ise azalarak COX-2 selektif inhibitör etkinin ortaya çıkmasına yol açmıştır (89).

Talidomit bileşiğinin bazı analogları sentezlenmiş, bu analoglardan 2-(2,4-diokso-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-5-il)izoindolin-1,3-dion bileşiğinin (Şekil 15) COX-2 selektif inhibitörü olarak aspirinden daha etkili olduğu bildirilmiştir (89).

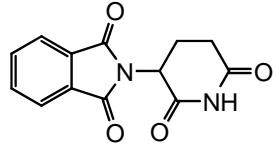
Talidomit bileşiğinin ftalimit halkasının azot atomu üzerinde çeşitli konumlarından süstitüe ya da nonsüstitüe fenil halkasını bulunduran çeşitli fenil analogları sentezlenmiş ve bu bileşiklerin COX izoenzimlerine karşı biyolojik

aktiviteleri değerlendirilmiştir. *N*-fenilftalimit bileşiği inaktif bulunmuştur. *N*-fenil grubu üzerinde metil sübstitüentleri taşıyan bileşiklerde bu sbstitsyonların COX inhibisyonları üzerinde önemli rol oynadığı belirtilmiştir. Bu sbstitsyona sahip çeşitli talidomit analoglarından *N*-(3,5-dimetilfenil)ftalimit bileşiğinin aspirinden sırasıyla COX-1 ve COX-2 izoenzimleri üzerine 7.4 ve 13.2 kez daha aktif olduğu grlmştir (şekil 15). *N*-(2,3,6-trimetilfenil)ftalimit ve *N*-(2,3,5,6-tetrametilfenil)ftalimit bileşikleri ise *N*-(3,5-dimetilfenil)ftalimit bileşiğinden daha yüksek COX-2 selektivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir (89) (şekil 15).

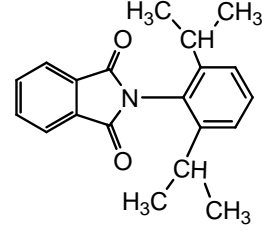
Biyolojik aktiviteleri değerlendirmek üzere çeşitli homoftalimit analogları sentezlenmiştir. Bu analoglar ftaloil artığında bulunan azot atomun üzerine 3 ve 5 konumlarından sübstitüe bir aromatik halkanın yerleştirilmesi ile elde edilmişlerdir. Bu bileşiklerden *N*-(3,5-dimetilfenil)homoftalimit COX-1 ve COX-2 izoenzimleri üzerine aspirinden daha fazla etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (89) (şekil 15).

Talidomit doza bağımlı olarak baskılayıcı etki ile lipopolisakkarit (LPS) kaynaklı PGE<sub>2</sub> biyosentezinin indüklenmesini inhibe etmektedir. Geliştirilen çeşitli talidomit analoglarının da LPS kaynaklı COX-2 izoenziminin ekspresyonunu ve PG biyosentezini indüklenmesini inhibe ettiği bulunmuştur (41).

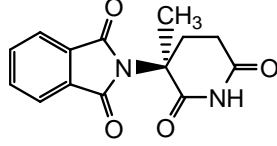
COX-2 bifonksiyonel bir enzim olup COX ve peroksidaz aktiviteyi birlikte gösterir. NSAİİ'ler kanserin yayılmasında rol oynayan PG biyosentezini inhibe ederken COX'un peroksidaz aktivitesini inhibe edemezler. NSAİİ'lerin bu sınırlı etkilerini gidermek için selektif bir COX-2 inhibitörü ya da NSAİİ'lerin talidomitte kullanımı PG biyosentezinin inhibe edilmesinde daha etkili sonuç vermektedir. Talidomitin metastatik kolorektal kanserli hastalarda doza bağımlı gastrointestinal yan etkileri azalttığı gözlenmiştir (41).



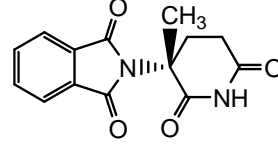
2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)izoindolin-1,3-dion  
(Talidomit)



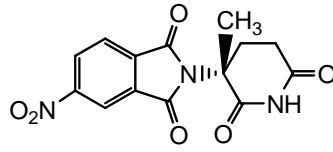
*N*-(2,6-diizopropilfenil)ftalimit



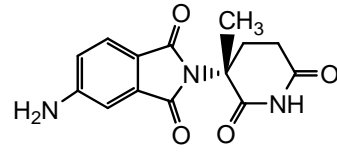
(*S*)-metiltalidomit



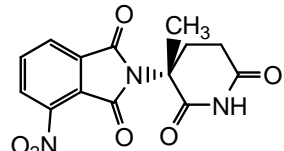
(*R*)-metiltalidomit



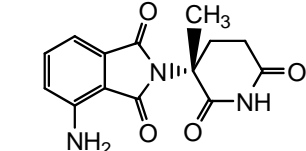
5-nitro-(*R*)-metiltalidomit



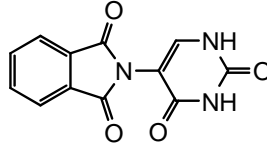
5-amino-(*R*)-metiltalidomit



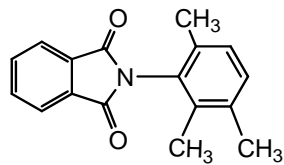
4-nitro-(*R*)-metiltalidomit



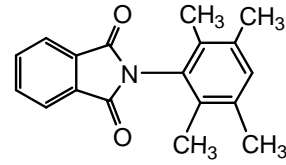
4-amino-(*R*)-metiltalidomit



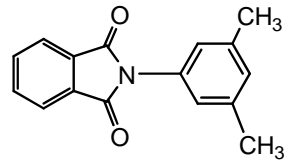
2-(2,4-diokso-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-5-il)izoindolin-1,3-dion



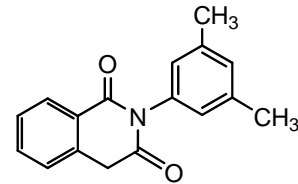
*N*-(2,3,6-trimetilfenil)ftalimit



*N*-(2,3,5,6-tetrametilfenil)ftalimit



*N*-(3,5-dimetilfenil)ftalimit



*N*-(3,5-dimetilfenil)homoftalimit

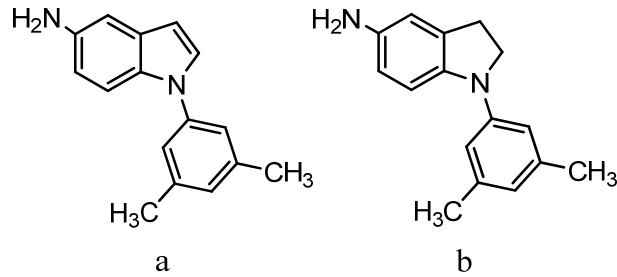
**Şekil 15. Talidomit Bileşiği ve Analogları**

## II. YENİ SİKLOOKSİJENAZ İNHİBİTÖRÜ BİLEŞİKLERİN GELİŞTİRMESİ AMACIYLA YAPILAN ÇALIŞMALAR

Bu bölümde siklooksijenaz enzim inhibitörlerinin geliştirilmesine yönelik olarak 2005-2010 yılları arasında yapılan ve Web of Science kapsamında yer alan dergilerde yayınlanan araştırmalar özetlenecektir.

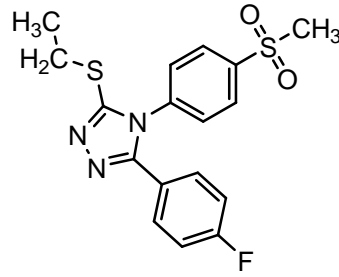
### A. 2005 Yılında Yayınlanmış Çalışmalar

Sano ve arkadaşları talidomit bileşiğini lider bileşik seçerek bu bileşiğin iskelet yapısını temel alıp COX-1 inhibitör aktiviteye sahip bir seri süstitüe indolin ve indol türevi bileşik sentezlemişlerdir. İndolin ve indol yapılarının benzen halkası azot atomu üzerinden geliştirilen süstitüe türevlerin yapı etki ilişkileri ile biyolojik aktiviteleri değerlendirilmiştir. 1-(3,5-dimetilfenil)indol-5-amin (**1a.**) ve 1-(3,5-dimetilfenil)indolin-5-amin (**1b.**) bileşiklerinin çalışma kapsamında sentezlenmiş olan bütün bileşikler arasında en iyi potansiyel aktif COX-1 inhibitör etkiye sahip oldukları belirlenmiştir (103).



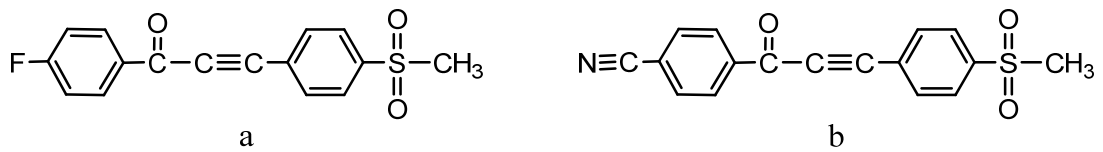
1.

Navidpour ve arkadaşları tarafından 3 konumunda tiyo ve alkiltiyo sübstitüentleri bulunan bir seri 4,5-diaril-4*H*-1,2,4-triazol türevi bileşik tasarlanmış, sentezlenmiş ve selektif COX-2 inhibitör aktiviteleri değerlendirilmiştir. Sentezlenmiş bileşiklerden 3-etiltiyo-5-(4-florofenil)-4-(4-metilsülfonilfenil)-4*H*-1,2,4-triazol'ün (**2.**) referans bileşik olan selekoksible kıyaslanacak oranda yüksek *in vitro* selektiviteye ve iyi antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (86).



**2.**

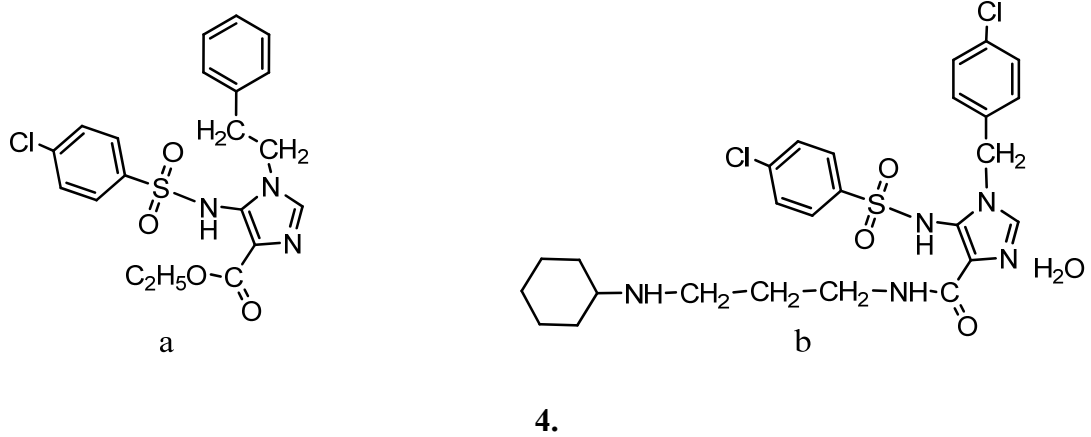
Rao ve arkadaşları propanon zincirinin 3 konumunda COX-2 farmakoforu *para*-metilsülfonil'i taşıyan fenil halkası bulunan bir seri 1,3-difenilprop-2-in-1-on'un türevi bileşiği COX ve LOX inhibitör aktivitelerini değerlendirmek için tasarlamışlardır. Tasarlanan bileşiklerden 1-(4-florofenil)-3-(4-metansülfonilfenil)prop-2-in-1-on bileşiğinin (**3a.**) çok iyi COX-2 inhibitör potansiyel ve selektiviteye sahip olduğu ve bununla birlikte 1-(4-siyanofenil)-3-(4-metansülfonilfenil)prop-2-in-1-on bileşiğinin (**3b.**) ise COX ve LOX inhibisyonu gösterdiği rapor edilmiştir (95).



**3.**

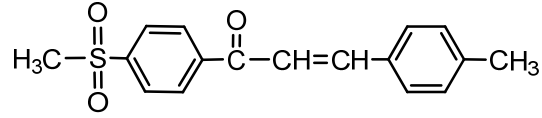
Gauthier ve arkadaşları, yeni COX-2 inhibitörlerini tasarlamak amacıyla süstitüe (+)-3,5-difenil-2-tiyoksoimidazolin-4-on türevi bir seri bileşik sentezlemişlerdir. Bu seriye ait bileşiklerin inhibitör aktivitelerinin insan kanındaki lipopolisakkarit tarafından indüklenen COX-2 ekspresyonuna karşı düşük olduğu bulunmuştur. Bu durumun bileşiklerin sudaki stabiliteilerinin düşük olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür (47).

Rehse ve Steege 1-(arilalkil)-5-(fenilsülfonilamino)-1*H*-imidazol-4-karboksilik asit esterleri ve karboksamitlerini sentezleyip bu bileşiklerin antitrombosit ajan olarak aktivitelerini incelemişlerdir. Bileşiklerden 5-(4-klorofenilsülfonilamino)-1-(2-feniletıl)-1*H*-imidazol-4-karboksilik asit etil esterinin (**4a.**) PAF antagonist aktiviteye, karboksamit türevlerinden 1-(4-klorofenilmetıl)-5-(4-klorofenilsülfonilamino)-1*H*-imidazol-*N*-(3-sikloheksilaminopropıl)-4-karboksamit monohidrat bileşğinin (**4b.**) ise PAF antagonist ve COX-1 inhibitör aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (98).



Zarghi ve arkadaşları metansülfonil farmakoforunu propen yapısının 1 nolu karbonu üzerindeki fenil halkasının *para* konumunda bulunduran regioizomerik (*E*)-1,3-diarılprop-2-en-1-on türevi bileşikleri selektif COX-2 inhibitör aktivitelerini

değerlendirmek için tasarlamışlardır. Bu bileşiklerden (*E*)-1-(4-metansülfonilfenil)-3-(4-metillfenil)prop-2-en-1-on'un (5.) referans bileşik rofekoksib ile karşılaştırılabilecek oranda selektif COX-2 inhibitör etkiye sahip oldukları belirtilmiştir (126).

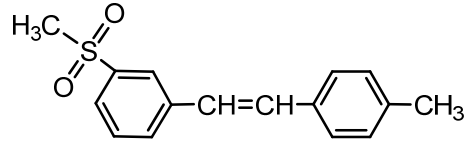


5.

Selvam ve arkadaşları *Curcuma longa* bitkisinde bulunan kurkuminoidleri izole edip bunların pirazol ve izoksazol türevlerini antioksidan, COX-1/COX-2 inhibitör ve antiinflamatuvar aktivitelerini değerlendirmek amacıyla sentezlemişlerdir. Sentezlenen analogların belirgin bir şekilde COX-2/COX-1 selektivitelerinin ve antiinflamatuvar aktivitelerinin arttığı belirtilmiştir (107).

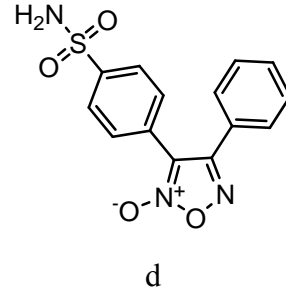
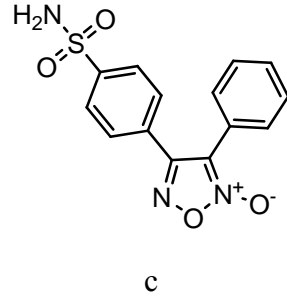
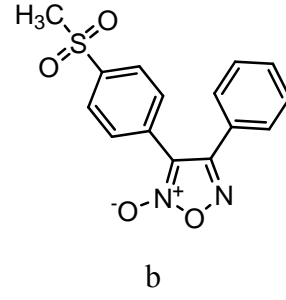
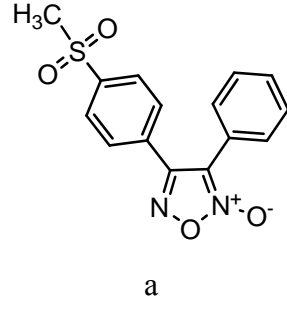
Chen ve arkadaşları asetilenin 1 nolu karbonu üzerindeki fenil halkasının *para*, *meta* ve *orto* konumlarında metilsülfonil farmakoforu bulunduran ve 2 nolu karbonu üzerinde ise fenil ve süstitüe fenil halkası bulunan regioizomerik 1-(metilsülfonilfenil)-2-fenilasetilen türevi bileşikleri selektif COX-2 inhibitör aktivitelerini değerlendirmek üzere sentezlemişlerdir. Bu bileşiklerden 1-(3-metilsülfonilfenil)-2-(4-metilfenil)asetilen (6.) referans bileşik olan rofekoksible karşılaştırılabilecek düzeyde COX-2 selektivitesine sahip potansiyel COX-2 inhibitörü olarak bulunmuştur (17).





6.

Velazquez ve arkadaşları tarafından hibrit siklooksijenaz inhibitör/nitrik oksit donörü ajan olarak *in vitro* ortamda biyolojik aktivitelerini değerlendirmek amacıyla bir grup 3,4-difenil-1,2,5-oksadiazol-2-oksit ve *N*-dezoksi-3,4-difenil-1,2,5-oksadiazol türevi bileşikleri sentezlenmişlerdir. 4-[4-(metilsülfonil)fenil]-3-fenil-1,2,5-oksadiazol-2-oksit (**7a.**) ve 3-[4-(metilsülfonil)fenil]-4-fenil-1,2,5-oksadiazol-2-oksit (**7b.**) ile 4-[4-(aminosülfonil)fenil]-3-fenil-1,2,5-oksadiazol-2-oksit (**7c.**) ve 3-[4-(aminosülfonil)fenil]-4-fenil-1,2,5-oksadiazol-2-oksit (**7d.**) bileşikleri referans bileşik selekoksibe göre daha iyi COX-2 selektivite ve *in vitro* COX-2 inhibitör etki göstermiştir. Moleküler modelleme çalışmalarında metansülfonil kromoforu bulunan regioizomerler COX-2'nin ikinci cebine yerleşmişlerdir. Sentezlenmiş moleküller üzerine yapılan yapı-etki ilişkileri çalışmaları ve moleküler modelleme çalışmaları sonucunda elde edilen veriler yeni hibrit COX-2 inhibitörü / NO donörü bileşiklerin tasarımında 1,2,5-oksadiazol-2-oksit halkasının kullanılmasının faydalı olabileceğini ortaya koymuştur (121).

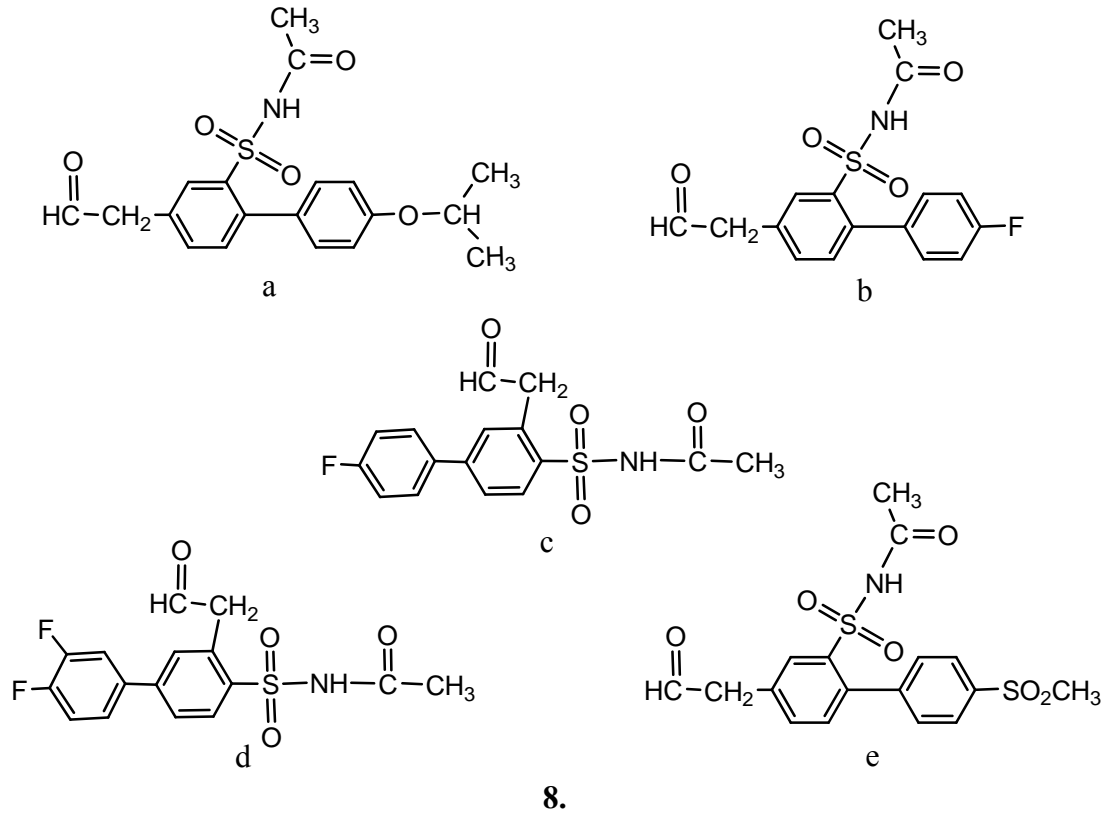


7.

Kalgutkar ve arkadaşları klasik bir NSAİİ olan indometazin bileşiğinin ester ve amit türevlerini sentezleyip bu bileşiklerin selektif COX-2 inhibitör aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Sentezlenmiş bileşiklerin büyük çoğunluğu nanomolar düzeyde düşük IC<sub>50</sub> değerine sahip olup zamana bağımlı olarak COX-2 inhibisyonu göstermişlerdir. İndol azotundaki 4-klorobenzoil grubunun 4-bromobenzoil artığı ile yer değiştirmesi sonucunda selektif COX-2 potansiyele sahip bileşikler elde edilmiştir. *In vitro* olarak esterler ve amitler RAW264.1 hücre hattında COX-2 aktivitesini inhibe etmişlerdir (68).

Chen ve arkadaşları selektif COX-2 inhibitörü olarak değerlendirmek amacıyla 4 ya da 6 pozisyonunda flor ya da substitüe fenil halkası substitüenti bulunan bir grup *N*-asetil-2-(ya da 3-)karboksimetilbenzensülfonamid türevi bileşikler sentezlemişlerdir. Bu bileşiklerden *N*-asetil-3-karboksimetil-6-(4-izopropoksifenil)benzensülfonamid (**8a.**) ve *N*-asetil-3-karboksimetil-6-

florobenzensulfonamid (**8b.**) bileşikleri *in vitro* COX-2 inhibitör aktivite ve yüksek COX-2 selektivitesine sahip olmasına rağmen her iki bileşiginde karagen ile indüklenmiş pençe ödemi analizine göre antiinflamatuvar olarak inaktif oldukları belirtilmiştir. Düşük selektif COX inhibitör etkiye sahip oldukları belirlenmiş *N*-asetil-2-karboksimetil-4-(florofenil)benzensulfonamid (**8c.**), *N*-asetil-2-karboksimetil-4-(3,4-florofenil)benzensulfonamid (**8d.**) ve *N*-asetil-3-karboksimetil-6-(4-metansulfonilfenil)benzensulfonamid (**8e.**) bileşiklerinin ise iyi seviyede antiinflamatuvar etkiye sahip oldukları bulunmuştur (19).

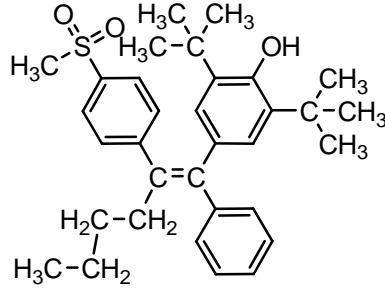


## B. 2006 Yılında Yayımlanmış Çalışmalar

Banekovich ve arkadaşları, riboflavinin çeşitli uzunluğa sahip alkilenlerle tetraasetillenmesi sonucunda elde ettikleri yapıları taşıyan yeni bir seri deksibuprofen

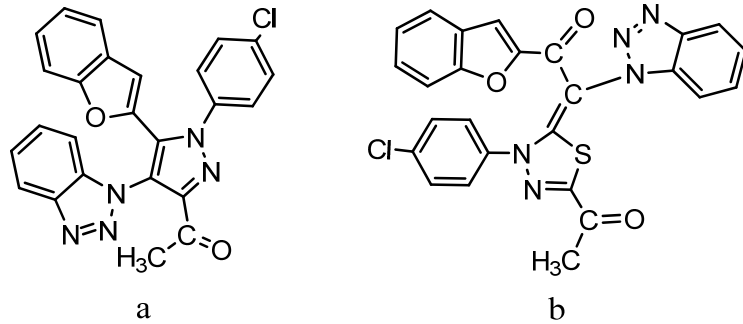
türevi bileşik geliştirmişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin MCF-7 göğüs kanseri ve HT-29 kolon kanseri hücrelerinde antiproliferatif etkileri biyolojik olarak analiz edilmiştir. Enzimatik çalışmalar, bu bileşiklerin insan trombosit hücrelerinde bileşiklerin belirgin şekilde COX-1 inhibitör aktiviteye sahip oldukları göstermektedir (6).

Moreau ve arkadaşları, 5-lipoksijenaz farmakoforu olan 3,5-di-*tert*-bütil-4-hidroksifenil ve COX-2 farmakoforu *p*-metansülfonilfenil süstitüentlerinin visinal olduğu bir seri yeni asiklik triaril(*Z*)-olefinleri selektif COX-2 ve/veya 5-LOX inhibitör aktivitelerini değerlendirmek amacıyla tasarlanmışlardır. Yapı aktivite çalışmalarında kullanılan (*Z*)-1-(3,5-di-*tert*-bütil-4-hidroksifenil)-2-(4-metansülfonilfenil)-1-fenilalk-1-en regioizomerlerinin düşük COX-1 inhibitör etkinliğe ve yüksek COX-2 inhibitör etkinliğe sahip oldukları tespit edilmiştir. Olefinik çifte bağa bağlı süstitüe alkil zincirinin uzunluğunun artmasının ise COX-2 selektivitesini arttırdığı bulunmuştur. *n*-Bütil süstitüentine sahip heks-1-en ile süstitüe olan türev ise 5-LOX ve 15-LOX inhibisyonunun alkil uzunluğu ile ilişkili olduğunu göstermiştir (9.). Aynı bileşik COX izoenzimleri üzerinde de inhibitör etkiye sahiptir. Regioizomerlerden birbirine yakın aktiviteye sahip iki grup kıyaslandığında olefinik karbon atomuna bağlı alkil grubu ile *p*-metansülfonilfenil artığı karşılaştırıldığında alkil grubu taşıyan türevin beklenenden daha fazla COX-2 inhibisyon potansiyeline sahip olduğu anlaşılmıştır. COX ve LOX inhibisyonu için 3,5-di-*tert*-bütil-4-hidroksifenil artığının 4-hidroksi süstitüentinin esansiyel olduğu bulunmuştur (83).



9.

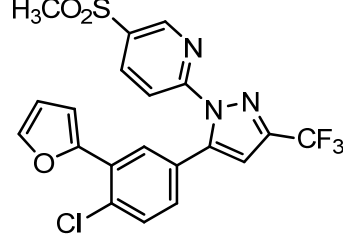
Dawood ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda benzofuran ve benzotriazolün kullanıldığı heterosiklik bileşikler hazırlanıp bu bileşiklerin biyolojik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Pirazol türevi 3-asetil-4-(1-benzotriazolil)-5-(2-benzofuril)-1-(p-klorofenil)pirazol (**10a.**) bileşiği en yüksek antinosesitif etki göstermiş, tiyadiazol türevi 2-(5-asetil-3-fenil-1,3,4-tiyadiazol-2-iliden)-1-(2-benzofuril)-2-(1-benzotriazolil)etanon (**10b.**) bileşiği ise en yüksek etkiye sahip antiinflamatuvar bileşik olarak tespit edilmiştir (31).



10.

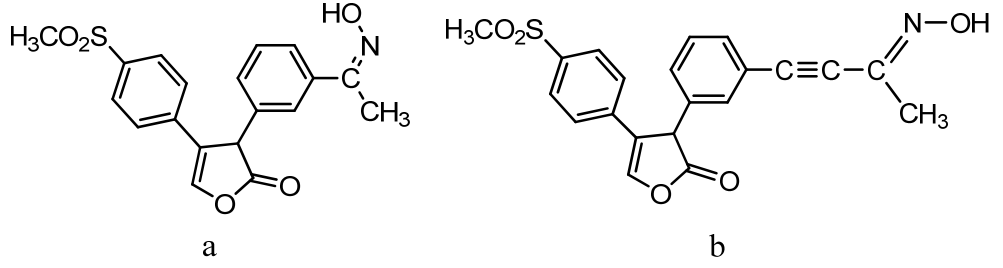
Cheng ve arkadaşları, heteroaril-fenil-sübstitüepirazol türevi selektif COX-2 inhibitör adayları bileşikler sentezlemişlerdir. Sentezlemiş bileşiklerden 2-[5-(3-kloro-4-(furan-2-il)fenil]-3-(triflorometil)-1*H*-pirazol-1-il-5-(metilsülfonil)piridin'in (**11.**)

yapı etki çalışmaları sonucunda 12nM IC<sub>50</sub> ile COX-2 inhibitör etki gösterdiği rapor edilmiştir (30).



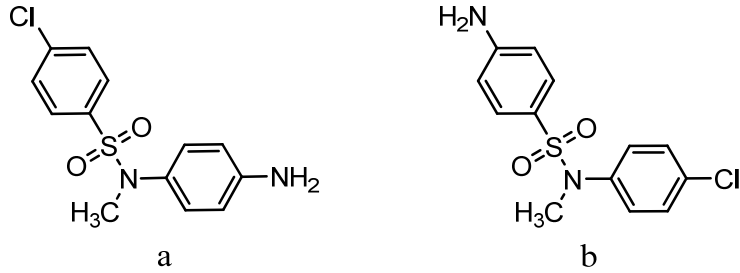
11.

Chen ve arkadaşları, bir grup 4-(4-metilsülfonilfenil)-3-(süstitüefenil)-2(5H)furanon türevi bileşikler sentezlemişlerdir. Bu bileşiklerin COX/LOX dual inhibitör etkileri ve *in vivo* antiinflamatuvar ve analjezik etkileri değerlendirilmiştir. *In vitro* COX-1/COX-2 ve 5-LOX/15-LOX izoenzim inhibisyonları ile yapı etki ilişkileri incelenmiş, 3-[4-(1-hidroksiimino)etilfenil]-4-(4-metansülfonilfenil)-2(5H)furanon (**12a.**) bileşiğinin COX-2, 5-LOX ve 15-LOX üzerinde inhibitör etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bir diğer bileşik olan 3-[4-(3-hidroksiimino)-1-bütinil)fenil]-4-(4-metansülfonilfenil)-2(5H)furanon'un (**12b.**) ise dual COX-2 ve 5-LOX inhibitör etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Bu iki bileşik üzerinde yapılan *in vivo* antiinflamatuvar çalışmalarda bileşiklerin 5-LOX inhibitörü kafeik asit ve 15-LOX inhibitörü norhidroguaiaretik asitten daha fazla, selektif COX-2 inhibitörü selekoksibden ise daha düşük aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir (18).



**12.**

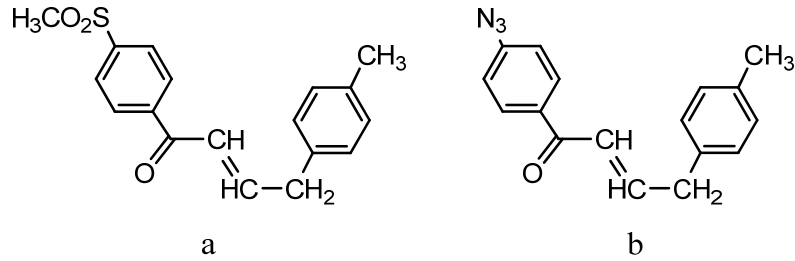
Zheng ve arkadaşları, COX-1 inhibitörü olarak benzensülfonanilit iskeletini temel alarak gastrik yan etki içermemesi amaçlanan yeni analjezik ajanlar tasarlamışlar ve bunları sentezlemişlerdir. Bileşiklerden *N*-(4-aminofenil)-4-kloro-*N*-metilbensülfonamit (**13a.**) ve 4-amino-*N*-(4-klorofenil)-*N*-metilbensülfonamit (**13b.**) selektif COX-1 inhibisyonu göstermiştir. 4-amino-*N*-(4-klorofenil)-*N*-metilbensülfonamit bileşiğinin aspirinden daha fazla analjezik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Bileşiğin antiinflamatuar özelliği ve gastrik hasar etkisi incelendiğinde ise aspirinden ayırt edici bir fark bulunamamıştır (133).



**13.**

Zarghi ve arkadaşları, propen zincirinin birinci karbonu üzerindeki fenil halkasının *para* konumundan COX-2 farmakoforları olan metansülfonamit ya da azid ile süstitüe bir grup (*E*)-1,3-difenilprop-2-en-1-on türevi bileşik sentezlemişlerdir.

Bileşiklerde propen zincirinin 3 nolu karbonundaki fenil halkası üzerindeki çeşitli sübstituentlerin varlığının yapı etki ilişkileri açısından *in vitro* COX-1/COX-2 inhibisyonu üzerine etkileri incelenmiştir. Sentezlenmiş bileşiklerden (*E*)-1-(4-metansülfonamidofenil)-3-(4-metilfenil)prop-2-en-1-on (**14a.**) referans bileşik rofekoksibden daha az etkili olmasına rağmen selektif COX-2 inhibitör etkiye sahip olduğu bulunmuştur. (*E*)-1-(4-azidofenil)-3-(4-metilfenil)prop-2-en-1-on (**14b.**) bileşiği ise selektif COX-2 inhibisyonu göstermiştir. Modelleme çalışmalarında *para*- metansülfonamid ve azid gruplarının bulunduğu fenil halkasının COX-2 izoenziminin ikinci cebine girdiği görülmüştür. Yapı etki ilişkisi çalışmalarından elde edilen sonuçlara göre propenon yapısının selektif COX-1 ya da COX-2 inhibitör aktiviteye sahip yeni asiklik 1,3-difenilprop-2-en-1-on'ların tasarlanmasında aktivitenin sağlanması için gerekli olduğu rapor edilmiştir (131).

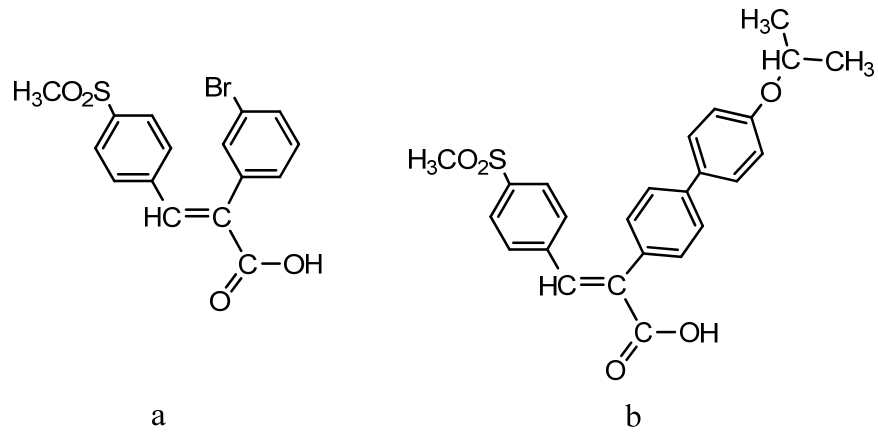


#### 14.

Moreau ve arkadaşları, akrilik asitin 2 nolu karbonu üzerinde sübstitüe fenil halkası bulunan bir grup (*E*)-3-(4-metansülfonilfenil)akrilik asit türevi bileşik sentezlemişlerdir. Sentezlenen bu bileşikler dual COX-2/5-LOX inhibitör etkinin tespiti için değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden (*E*)-2-(3-bromofenil-3-(4-metansülfonilfenil) akrilik asit (**15a.**) ve akrilik asitin 2 nolu karbonu üzerindeki 4-(4-izopropiloksifenil- (**15b.**), 2,4diflorofenil- ya da (4-metilsülfonilfenil)fenil

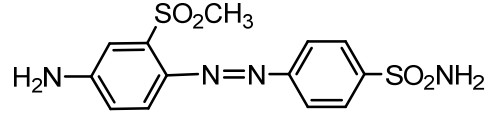


artıklarını bulunduran türevler referans bileşik rofekoksible kıyaslandığında yüksek COX-2 selektivitesine sahip COX-2 inhibitörleri olarak kabul edilmiştir. Akrilik asitin 2 nolu karbonundan süstitüe 4-hidroksifenil ve 4-asetamidofenil analogları 5-LOX inhibitörleri olarak belirlenmiştir. Akrilik asitin 2 nolu karbonu üzerinde 4-bromo, 4-floro ve 4-hidroksi süstitüe fenil ve 4 ya da 3-(2,4-diflorofenil)fenil artığı bulunan analogları referans bileşik luteoline yakın 15-LOX inhibitör etki göstermiştir. 4-asetamidofenil ya da 4-(2,4-diflorofenil)fenil artığı taşıyan türevlerin ise aspirine eşit fakat selekoksib den daha az antiinflamatuvar etkiye sahip oldukları belirlenmiştir (82).



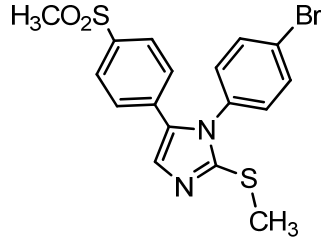
## 15.

Tsai ve arkadaşları, bir seri fenilazobenzensülfonamid türevi bileşiği selektif COX-2 inhibitör etkilerini değerlendirmek amacıyla sentezlemişlerdir. Tam kan analizi ve enzimatik analizler kullanılarak sentezlenen bileşiklerin selektif COX-2 inhibitör etkilerini değerlendirilmiştir. 4-(4-amino-2-metilsülfonil-fenilazo)benzensülfonamid (**16.**) COX enzimlerine karşı inhibitör aktivite göstermiş fakat COX-2 selektivitesi selekoksibden düşük bulunmuştur (120).



16.

Navidpour ve arkadaşları, *in vivo* antiinflamatuar aktiviteyle birlikte selektif COX-2 inhibitör etkilerini değerlendirmek amacıyla imidazol halkasının 2 konumundan alkil grupta ile süstitüe bir seri 1-aril-5-(4-metilsülfonilfenil)imidazol türevi bileşik sentezlemişlerdir. Sentezlenmiş bileşiklerden 1-(4-bromofenil)-5-(4-metilsülfonilfenil)-2-metiltioimidazol referans bileşik selekoksibe yakın selektiviteye ve COX-2 inhibitör etkiye sahip bileşik olarak bulunmuştur (17.). Bu bileşiğin aynı zamanda selekoksibe kıyaslanabilecek oranda antiinflamatuar etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (85).



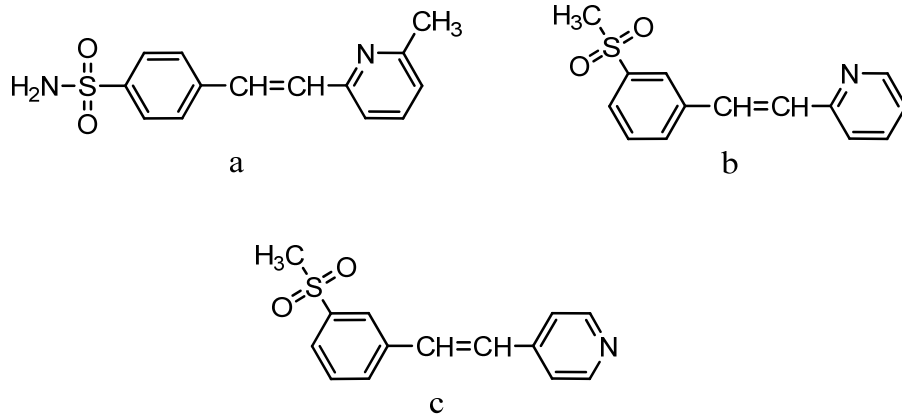
17.

### C. 2007 Yılında Yayınlanmış Çalışmalar

Shamshina ve arkadaşları, doğal bir bileşik olan COX-2 inhibitörü etkili inotilonu altı basamaklı sentez yolağı ile %50 verimle ilk kez sentezlemişlerdir (108).

Chowdhury ve arkadaşları, merkezlerinde asetilen yapısı bulunan bir grup 1-(aminosülfonilfenil) ve 1-(metilsülfonilfenil)-2-piridilasetilen regioizomerlerini

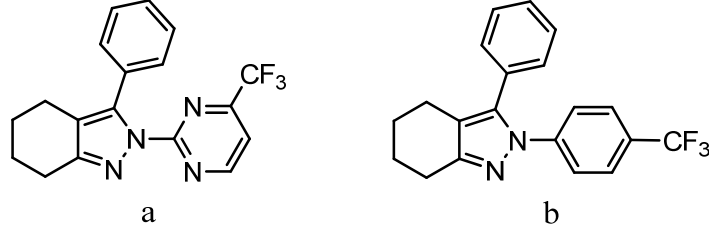
tasarlamıştır. COX-1 ve COX-2 inhibitör etki ve COX izoenzim selektivitesi üzerine sterik ve elektronik süstitüent etkisinin belirlenmesi amacıyla asetilen süstitüenti piridin halkasının çeşitli konumlarından halkaya bağlanmıştır. Bileşiklerden 1-(4-aminosülfonilfenil)-2-(3-metil-2-piridil)asetilen (**18a.**), 1-(3-metansülfonilfenil)-2-(2-piridil)asetilen (**18b.**), 1-(3-metilsülfonilfenil)-2-(4-piridil)asetilen (**18c.**) bileşiklerinin referans bileşik selekoksib ile kıyaslanabilecek oranda COX-2 inhibitör aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. Sülfonamit ve metilsülfonil süstitüenti bulunduran bileşiklerin aspirin ile selekoksib arasında orta düzeyde antiinflamatuvar etkiye sahip oldukları bulunmuştur (22).



**18.**

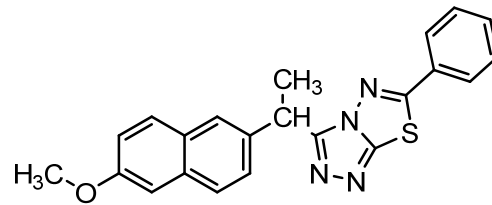
Rosati ve arkadaşları, regioselektif 2,3-disüstitüetetrahidro-2*H*-indazol türevi bileşikler sentezlemiştir. Docking çalışmaları ile COX-2'nin katalitik yöresiyle etkileşebilecek antiinflamatuvar etkiye sahip bileşikler belirlenmiştir. İyi bağlanma enerjisine ve iyi ADME profiline sahip iki türev seçilip *in vivo* olarak antiinflamatuvar aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bileşikler yüksek dozlarında bile gastrik hasar oluşturmamıştır. Bunlar 3-fenil-2-[4-(triflorometil)pirimidin-2-il]-

4,5,6,7-tetrahidro-2*H*-indazol (19a.)ve 3-fenil-2-[4-(triflorometil)fenil]-4,5,6,7-tetrahidro-2*H*-indazol (19b.) bileşikleridir (100).



19.

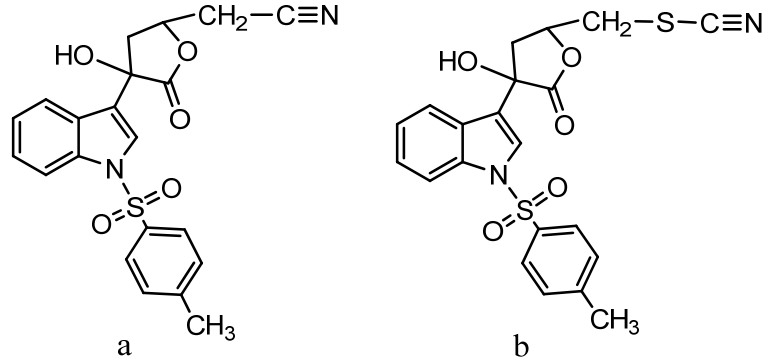
Amir ve arkadaşları, antiinflamatuvar ve analjezik potansiyellerini değerlendirmek amacıyla bir grup 6-sübstitüe-1,2,4-triazolo[3,4-*b*]-1,3,4-tiyadiazol türevi bileşik sentezlemişlerdir. Sentezlenmiş bileşiklerden 6-fenil-3-[1-(6-metoksi-2-naftil)etil]-[1,2,4]-triazolo[3,4-*b*]-[1,3,4]-tiyadiazol bileşiğinin (20.) maksimum antiinflamatuvar ve analjezik aktiviteye sahip olduğunu bulunmuştur (3).



20.

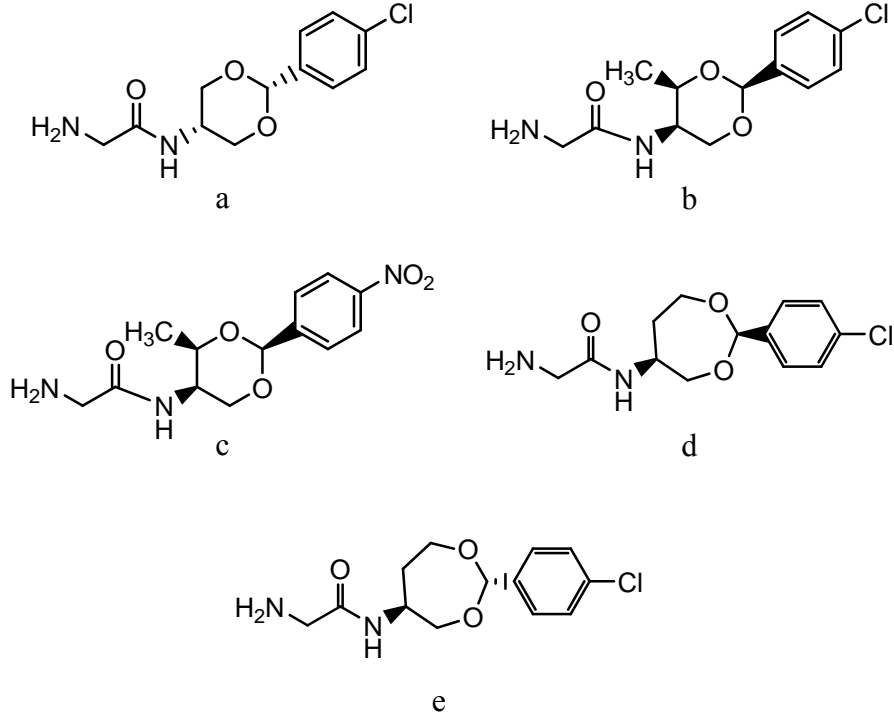
Singh ve arkadaşları, 3 nolu karbon üzerinde siklik ester bulunan bir grup indol türevi bileşik sentezlemişlerdir. Sentezlenmiş bileşiklerin COX-2 inhibisyonları ve antikanser aktiviteleri değerlendirilmiş, bu bileşiklerden 1-toluen-sülfonil-3-[(3'-hidroksi-5'-siyanometil)- $\gamma$ -bütirolakton]indol (21a.)ve 1-toluen-sülfonil-3-[(3'-hidroksi-5'-tiyasiyanometil)- $\gamma$ -bütirolakton]indol'ün (21b.) yüksek selektiviteye ve

COX-2 inhibitör etkiye sahip oldukları ve indometazinden daha iyi antikanser etki gösterdikleri bulunmuştur (113).



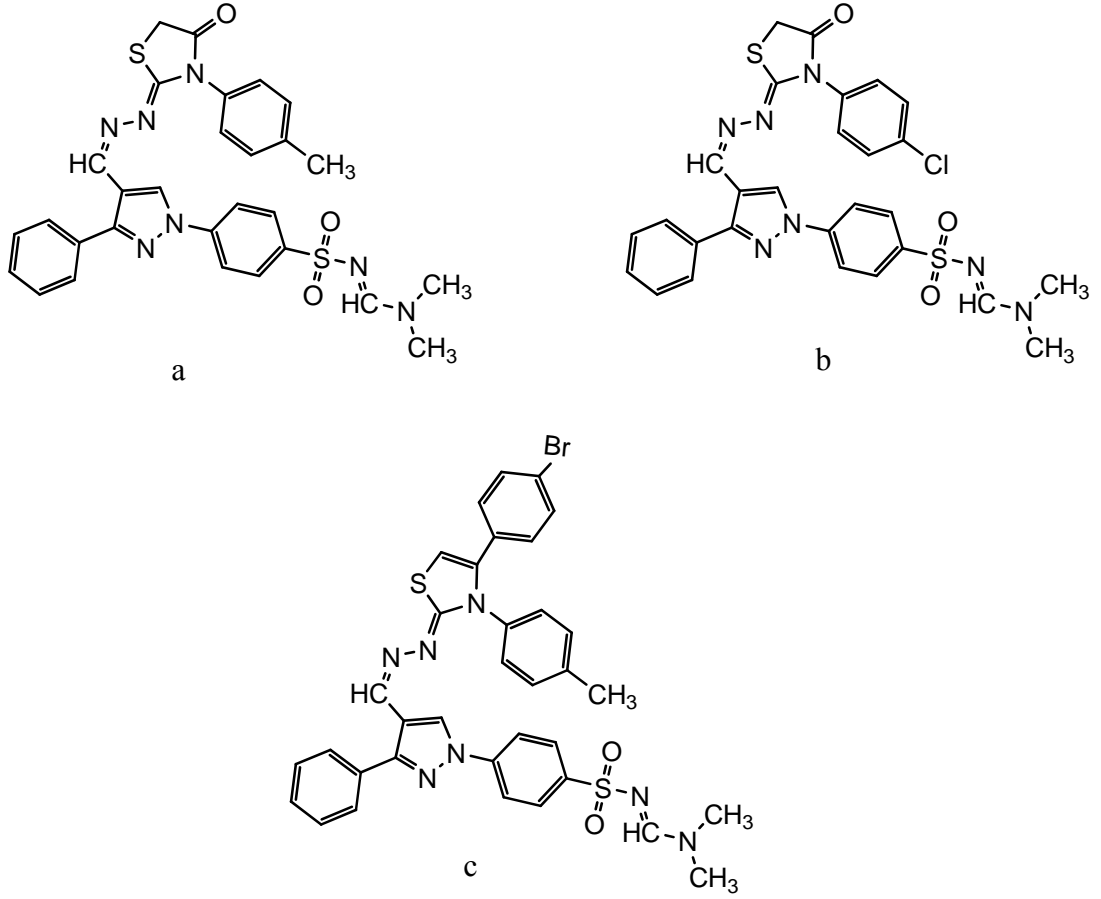
## 21.

Bi ve arkadaşları, bir seri 5-glisilamino-2-sübstitüe-fenil-1,3-dioksaheptan türevi bileşik sentezlemiştir. Bileşiklerin antiinflamatuvar aktiviteleri ksilenle indüklenmiş fare kulağı ödem modeli ile değerlendirilmiştir. Bileşiklerden 16 tanesi aspirinle kıyaslanabilecek düzeyde ya da daha iyi antiinflamatuvar aktiviteye sahip bulunmuştur (9). Bu bileşiklerden en iyi aktiviteye sahip olanları (*Z*)-2-(4-klorofenil)-5-glisinilamino-1,3-dioksan (**22a.**), (*2S,4R,5R*)-2-(4-klorofenil)-4-metil-5-glisilamino-1,3-dioksan (**22b.**), (*2S,4R,5R*)-2-(4-nitrofenil)-4-metil-5-glisilamino-1,3-dioksan (**22c.**), (*2S,5S*)-2-(4-klorofenil)-5-glisilamino-1,3-dioksaheptan (**22d.**) ve (*2R,5S*)-2-(4-klorofenil)-5-glisilamino-1,3-dioksaheptan (**22e.**) bileşikleridir.



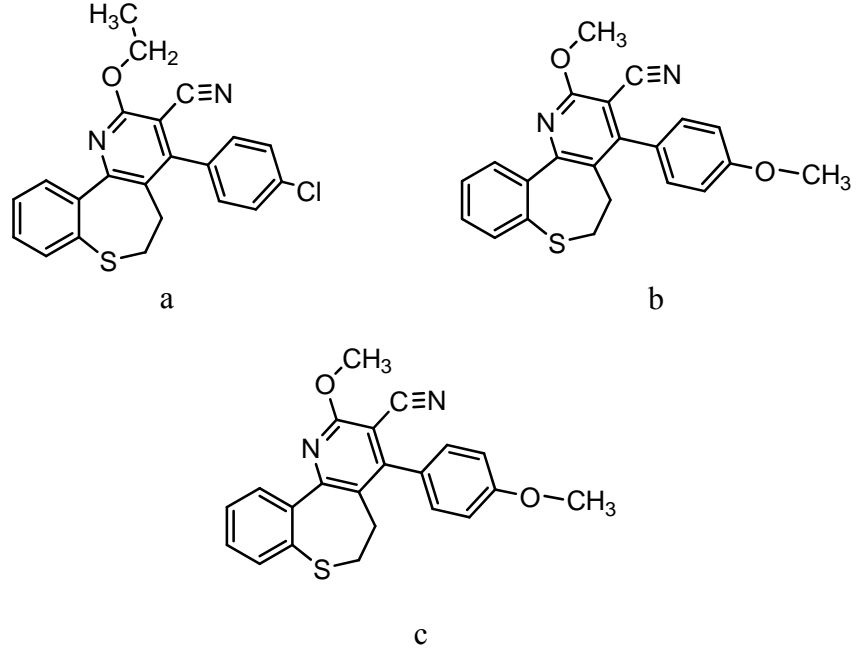
22.

Bekhit ve arkadaşları tarafından 4 seri pirazoilbensensülfonamid türevi bileşik sentezlenmiştir. Sentezlenmiş bütün bileşikler antiinflamatuar aktivite göstermiştir. Bileşiklerden 3 tanesi ise lokal ve sistemik olarak indometazinden daha fazla etki göstermiştir. Bunlar *N,N*-dimetilaminometilen-4-[3-fenil-4-(3-tolil-4-oksotiyazolidin-2-ilidenhidrazonometil)-1*H*-pirazol-1-il]bensensülfonamid (**23a.**), *N,N*-dimetilaminometilen-4-[3-fenil-4-[3-(4-klorofenil)-4-oksotiyazolidin-2-ilidenhidrazonometil]-1*H*-pirazol-1-il]bensensülfonamid (**23b.**) ve *N,N*-dimetilaminometilen-4-[3-fenil-4-[4-(4-bromofenil)-3-tolil-2,3-dihidrotiyazol-2-ilidenhidrazonometil]-1*H*-pirazol-1-il]-bensensülfonamid (**23c.**) bileşikleridir. Bütün aktif bileşiklerin COX-2'ye karşı selektif inhibitör etki gösterdikleri bulunmuştur. Test edilen bütün bileşiklerin indometazine kıyaslanmaları sonrasında daha iyi gastrointestinal güvenliğe sahip oldukları tespit edilmiştir (8).



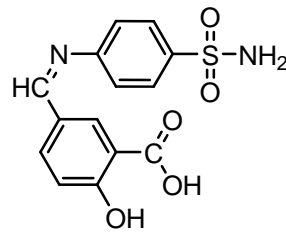
23.

Girgis ve arkadaşları, antiinflamatuar özelliklerini değerlendirmek için [1]-benzotiyapino[5,4-*b*]piridin-3-karbonitrilleri sentezlemişlerdir. Sentezlenmiş bileşiklerden 4-(4-klorofenil)-5,6-dihidro-2-etoksi-[1]-benzotiyapino[5,4-*b*]piridin-3-karbonitril (**24a.**), 5,6-dihidro-2-metoksi-4-(4-metoksifenil)-[1]-benzotiyapino[5,4-*b*]piridin-3-karbonitril (**24b.**) ve 5,6-dihidro-2-etoksi-4-(4-metoksifenil)-[1]-benzotiyapino[5,4-*b*]piridin-3-karbonitril bileşiklerinin (**24c.**) indometazin ile kıyaslanabilecek oranda antiinflamatuar etkiye sahip oldukları bulunmuştur (48).



24.

Lin ve arkadaşları 4-benzilidenamino- ve 4-(feniliminometil)benzensülfonamid türevi bileşikler sentezleyip tam kan analiziyle selektif COX-2 inhibitör aktivitelerini değerlendirmiştir. Bileşiklerden bazılarının selektif COX-2 inhibitör etkiye sahip oldukları bulunmuştur. Bileşikler arasından en etkin ve selektif olan 4-(3-karboksi-4-hidroksibenzilidenamino)benzensülfonamid (**25.**) referans bileşik selekoksik bileşğinden daha iyi COX-2 selektivitesi göstermiştir (75).

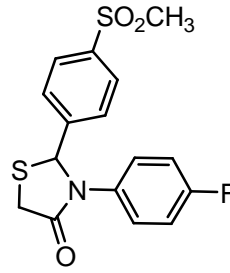


25.

Zarghi ve arkadaşları bir grup 2,3-diaril-1,3-tiyazolidin-4-on türevi bileşik



sentezlemişlerdir. Bu bileşiklerin COX-2 enzimine karşı inhibitör aktiviteleri değerlendirilmiştir. Çalışmada 3-(4-florofenil)-2-(4-(metilsülfonil)fenil)-1,3-tiyazolidin-4-on (**26.**) bileşiğinin en iyi selektif COX-2 inhibitör etki gösteren bileşik olduğu belirlenmiş ve bu bileşik COX-2 izoenzimi üzerine selekoksibden daha selektif bulunmuştur (129).

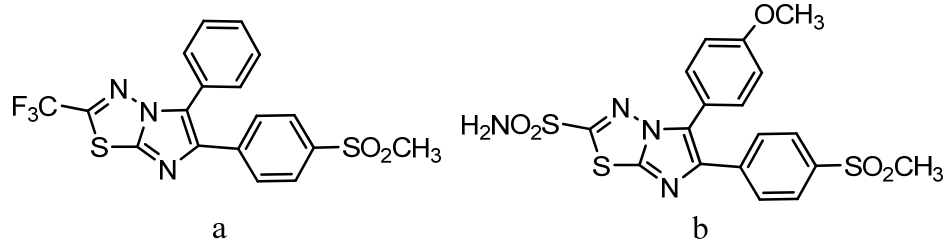


**26.**

Bauer ve arkadaşları, COX inhibitör etkilerini araştırmak üzere bir seri *m*-terpenilamin türevi bileşiği sentezlemişlerdir. Molekölün merkezinde bulunan aromatik halkanın 1 ve 2 konumundan süstitüe olan fenillerin *para* konumlarındaki fonksiyonel grupların biyolojik aktiviteye etkileri, yapı etki ilişkisi çalışmalarıyla araştırılmıştır. Fenil halkalarından bir tanesi üzerinde metil, kloro ve metoksi süstitüentleri bulunduran ve nonsüstitüe olan anilin bileşikleri nonselektif COX inhibisyonu göstermiştir. Fenil halkalarının *para* konumlarında metil ve kloro bulunduran türevler ise tercihi COX-2 inhibitör etki gösterdikleri belirlenmiştir (7).

Gadad ve arkadaşları tarafından bir seri 2-triflorometil/sülfonilamido-5,6-diarilsüstitüeimidazo[2,1-*b*]-1,3,4-tiyadiazol türevi bileşik sentezlenmiştir. Sentezlenmiş bileşiklerin COX-1 ve COX-2 izoenzimlerine karşı COX inhibitör aktiviteleri kolorimetrik metodla değerlendirilmiştir. Seriyeye ait bileşiklerin çoğunun COX-2 üzerine inhibitör aktivitelerinin COX-1'den daha fazla olduğu bulunmuştur.

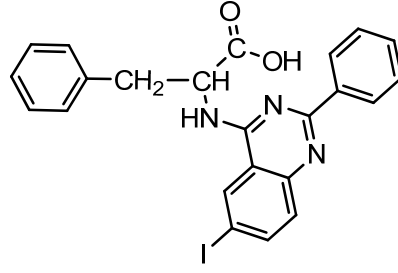
2-Triflorometil-5-fenil-6-[4'-(metilsülfonil)fenil]imidazo[2,1-*b*]-1,3,4-tiyadiazol (**27a.**) ve 2-sülfonamido-5-(4'-metoksifenil-6-[4''-(metilsülfonil)fenil]imidazo[2,1-*b*]-1,3,4-tiyadiazol (**27b.**) bileşiklerinin iyi düzeyde COX-2 selektif inhibitör etkiye sahip oldukları rapor edilmiştir. Aynı bileşiklerin selekoksib ile kıyaslanabilecek oranda antiinflamatuvar etkiye de sahip oldukları belirlenmiştir (43).



27.

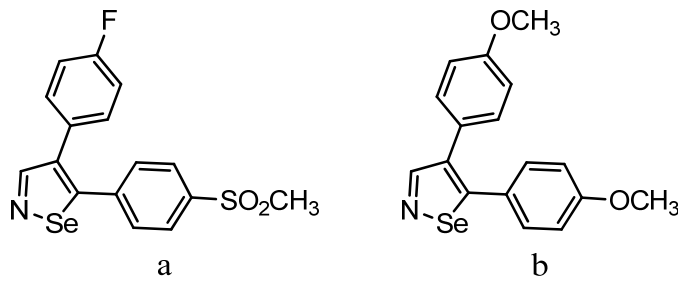
#### D. 2008 Yılında Yayımlanmış Çalışmalar

Chandrika ve arkadaşları, U937 lösemi hücre hattında antiinflamatuvar ve antikanser aktivitelerini değerlendirmek üzere bir grup 4,6-disüstitüe kinazolin türevi bileşik sentezlemişlerdir. Sentezlenmiş bileşiklerin karagen tarafından indüklenmiş sıçan pençe ödemi modeli kullanılarak antiinflamatuvar aktiviteleri test edilmiştir. Bileşiklerin arasında en iyi aktivite gösteren bileşik % 9.3 oranında inhibisyon göstermiş, referans bileşik indometazin ise % 48 oranında inhibisyon göstermiştir. Sentezlenmiş bileşiklerden bazılarının referans bileşik etopositle kıyaslandıklarında antikanser aktiviteye sahip oldukları görülmüştür. En aktif bileşiğin ise 2-(6-iyodo-2-fenilkinazolin-4-ilamino)-3-fenilpropanoik asit (**28.**) olduğu bulunmuştur (15).



28.

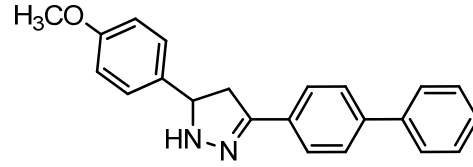
Scholz ve arkadaşları, COX ve 5-LOX inhibisyonunu incelemek amacıyla yeni 4,5-diarilizoselenazol türevi bileşik sentezlemişlerdir. Sentezlenmiş bileşiklerden 4-(4-florofenil)-5-(4-(metilsülfonil)fenil)-1,2-selenazol bileşiği (**29a.**) dengeli bir biçimde COX-1, COX-2 ve 5-LOX inhibitör aktiviteye ve zayıf olarak ise hidroksi radikalini uzaklaştırma etkisine sahip olduğu belirtilmiştir. 4,5-bis(4-metoksifenil)-1,2-selenazol bileşiğinin (**29b.**) selekoksibe eş COX-2 inhibitör etkiye sahip olduğu bulunmuş fakat bileşiğin COX-1 inhibisyonunun ise daha etkin olduğu belirtilmiştir. Bu bileşiğin 5-LOX inhibitör etkisi ise referans bileşik likofelona göre daha düşük olduğu rapor edilmiştir (105).



29.

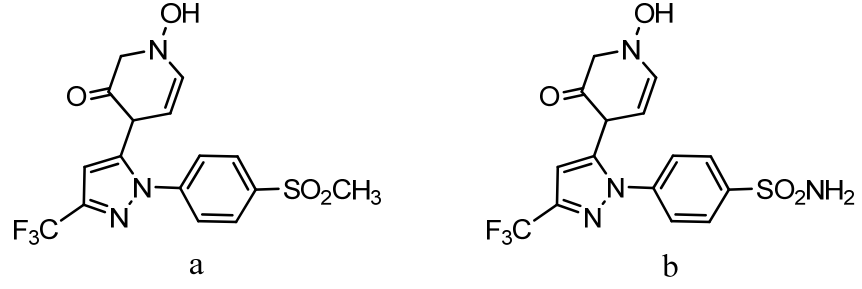
Amir ve arkadaşları, bir seri 3-(4-bifenil)-5-süstitüefenil-2-pirazolin ve 1-benzoil-3-(4-bifenil)-5-süstitüefenil-2-pirazolin türevi bileşiği antiinflamatuvar ve

analjezik etkilerini değerlendirmek üzere sentez etmişlerdir. 3-(4-bifenil)-5-(4'-metilfenil)-2-pirazolin bileşigi (**30.**) maksimum antiinflamatuvar ve analjezik etkiyi gösteren bileşik olarak tespit edilmiştir (4).



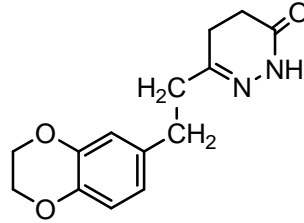
**30.**

Chowdhury ve arkadaşları, antiinflamatuvar aktiviteyle birlikte siklooksijenaz ve 5-lipoksijenaz dual inhibitör etkilerini değerlendirmek amacıyla selekoksib analogu bir grup bileşik sentezlenmişlerdir. Bu bileşiklerden 1-[4-(metilsülfonil)fenil]-3-triflorometil-5-[4-(1-hidroksi)-1,2-dihidropirid-2-on]-1*H*-pirazol (**31a.**) ve 1-[4-(aminosülfonil)fenil]-3-triflorometil-5-[4-(1-hidroksi)-1,2-dihidropirid-2-on]-1*H*-pirazolün (**31b.**) zayıf COX-1 ve COX-2 inhibitörü etkiye sahip oldukları buna rağmen referans bileşik olan kafeik asitle kıyaslanabilecek düzeyde 5-LOX inhibitörü etkili oldukları belirtilmiştir. Aynı zamanda bu iki bileşigin non selektif COX inhibitörü olan aspirinle kıyaslandıklarında daha fazla, selektif COX-2 inhibitörü selekoksible kıyaslandıklarında ise daha az oral antiinflamatuvar aktiviteye sahip oldukları bulunmuştur (21).



**31.**

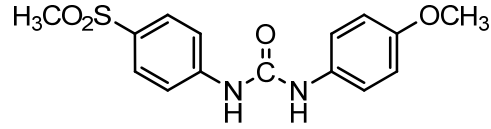
Abouzid ve arkadaşları bir seri ariletenilpiridazinon ve ariletilpiridazinon türevi bileşiği farmakolojik aktivelelerini değerlendirmek üzere tasarlamışlar ve sentezlemişlerdir. Sentezlenmiş bileşiklerin karagen tarafından indüklenmiş sıçan pençe ödemi modeli kullanılarak antiinflamatuvar aktiviteleri test edilmiştir. 6-[2-(2,3-dihydrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-yl)etil]-4,5-dihidropiridazin-3(2*H*)-on bileşiği (**32.**) ise serideki bileşikler arasında selekoksib ile kıyaslanabilecek düzeyde en iyi *in vivo* antiinflamatuvar aktiviteye sahip türev olarak bulunmuştur (1).



**32.**

Zarghi ve arkadaşları, ürenin 1 nolu azotu üzerindeki fenilin *para* konumunda metilsülfolil farmakoforu ve 3 nolu azot üzerinde süstitüe fenil halkası bulunan bir grup 1,3-diarilüre türevi bileşik sentezlemiş ve bu bileşiklerin selektif COX-2 inhibitör etkilerini değerlendirmişlerdir. Çalışmalarında 1-(4-metilsülfolilfenil)-3-(4-metoksifenil)üre bileşiğinin (**33.**) yüksek COX-2 selektivitesi ile referans bileşik

rofekoksib ile kıyaslanabilecek oranda COX-2 inhibitörü etkili olduğu bulunmuştur (128).



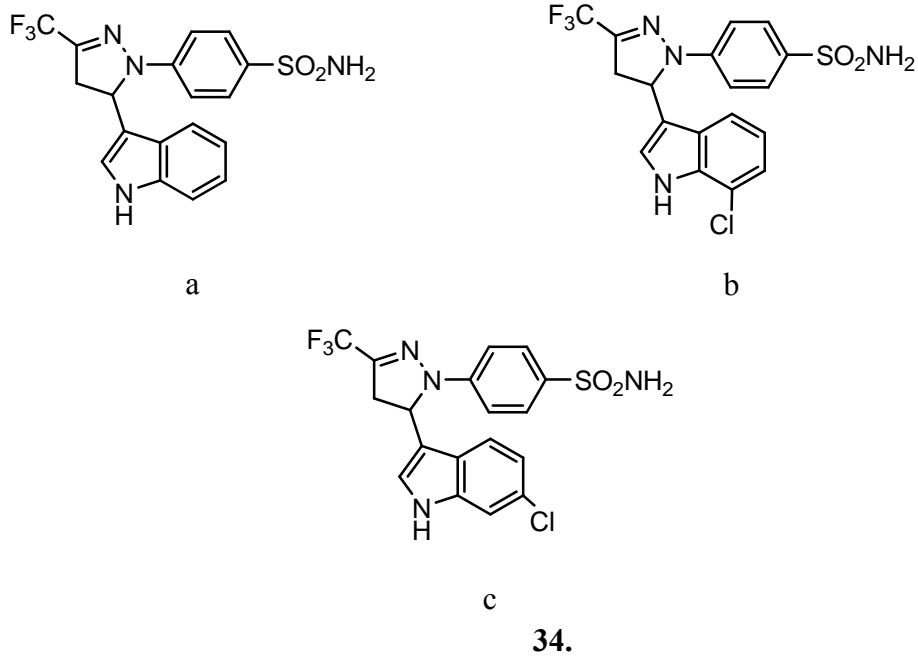
33.

Lim ve arkadaşları, *Cirsium chanroenicum* bitkisindeki antiinflamatuvar bileşikleri belirlemek amacıyla izolasyon çalışması gerçekleştirmişlerdir. Bu işlem sonrasında elde ettikleri doğal bileşiklerin lipopolisakkarit ile muamele edilmiş RAW 264.7 ve A23187 sıçan bazofilik lösemi hücrelerinde COX-2 tarafından sentezlenen PGE<sub>2</sub> ve 5-LOX tarafından sentezlenen lökotrien üretimine karşı inhibisyonları değerlendirilmiştir. İzolasyonla elde edilen pekolarigenin dual COX-2/5-LOX inhibitör etki göstermiştir. Bu bileşiğin COX-2 izoenziminin ekspresyonunu ya da NFκβ aktivasyonu üzerinde etkili olmadığı bildirmiştir. İzolasyonla elde edilen diğer bileşik olan pektolarinin ile pekolarigenin bileşiğinin araşidonik asitin indüklediği fare kulağı ödemi, karagenin indüklediği fare pençesi ödemi ve pasif kütanoz anafilaksisi modelleri kullanılarak inflamatuvar ve alerjik inhibisyonu aktivitelerini değerlendirilmiştir. Her iki bileşiğinde antiinflamatuvar etkili olduğu bulunmuştur (74).

Reddy ve arkadaşları, bir seri 1-(4-sülfonilfenil)-3-trifloro-metil-5-indolil pirazol türevi bileşikleri tasarlamışlar, sentezlenmişler ve *in vitro* antiinflamatuvar aktivitelerini değerlendirilmişlerdir. Bu seriye ait bileşikler dual COX ve LOX inhibitörü olarak tasarlanmışlardır. Optikçe aktif olan bu bileşiklerden 4-[5-(1H-indol-3-il)-3-triflorometil-4,5-dihidropirazol-1-il]-benzensülfonamid (**34a.**) ve 4-[5-

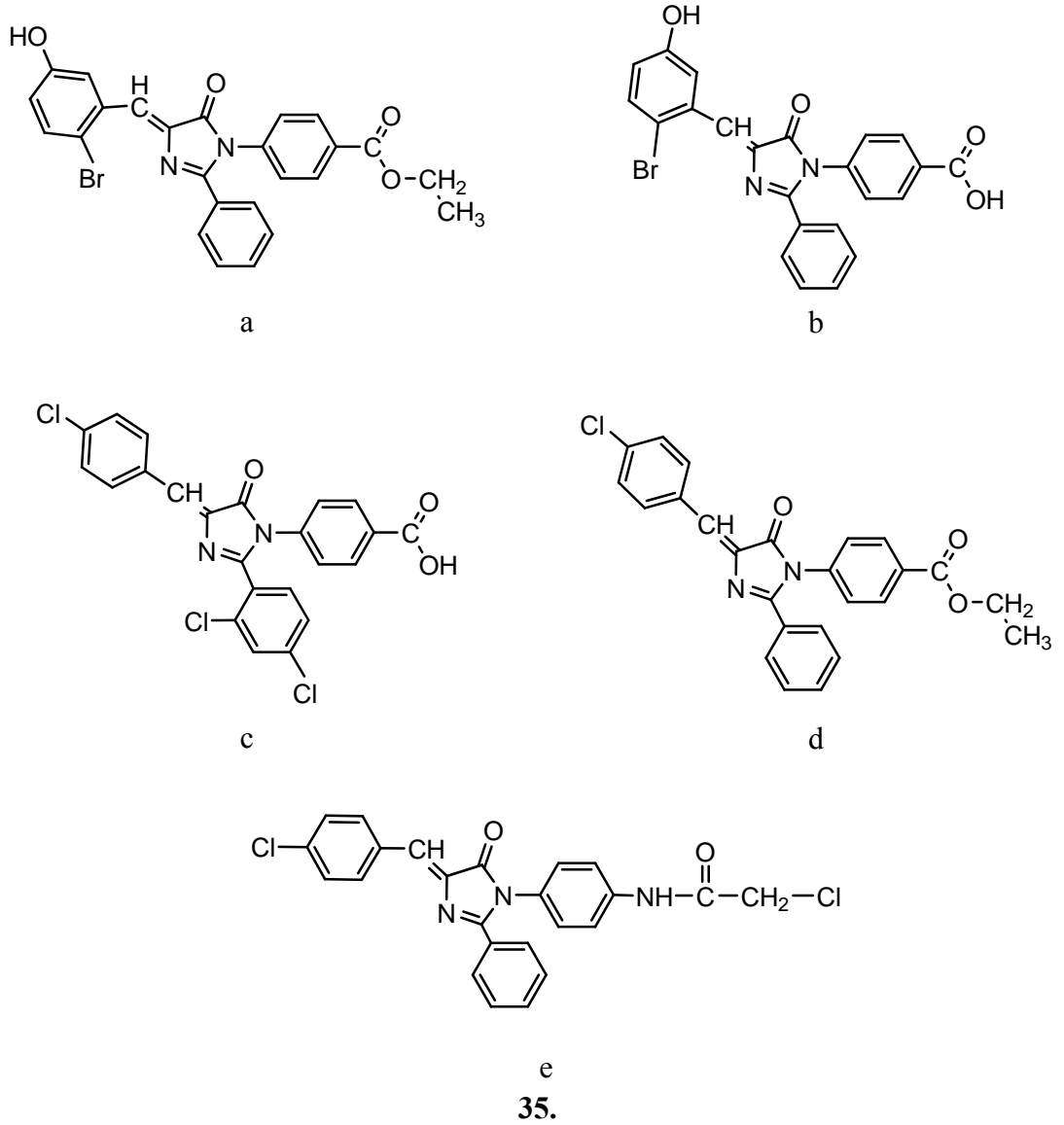
(7-kloro-1*H*-indol-3-il)-3-triflorometil-4,5-dihidropirazol-1-il]-benzensülfonamid

(**34b.**) bileşiklerinin COX-2 inhibitör aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir. Aynı zamanda iki bileşik ve 4-[5-(6-kloro-1*H*-indol-3-il)-3-triflorometil-4,5-dihidropirazol-1-il]-benzensülfonamidin (**34c.**) iyi derecede 5-LOX ve 15-LOX inhibitör aktiviteye sahip oldukları da bulunmuştur (97).



Hassanein ve arkadaşları üç seri 2-(süstitüefenil)-4-(süstitüeariliden)-imidazolon-5-(4*H*)-on türevi bileşikleri sentezlemişlerdir. Sentezlenmiş bileşiklerden 11 tanesinin karagenle indüklenmiş sıçan pençesi ödemi modeli ile antiinflamatuvar aktiviteleri değerlendirilmiştir. Etil 4-(2-fenil-4-(2-bromo-5-hidroksibenziliden)-4,5-dihidro-5-okso-imidazol-1-il)benzoat bileşiği (**35a.**) indometazine eşit antiinflamatuvar aktivite, 4-(4-(2-bromo-5-hidroksibenziliden)-2-fenil-4,5-dihidro-5-okso-imidazol-1-il)benzoik asit (**35b.**), 4-(2-(2,4-diklorofenil)-4-(4-klorobenziliden)-4,5-dihidro-5-okso-imidazol-1-il)benzoik asit (**35c.**), etil 4-((2-fenil)-(4-klorobenziliden)-4,5-dihidro-5-okso-imidazol-1-il)benzoat (**35d.**) ve 1-(4-

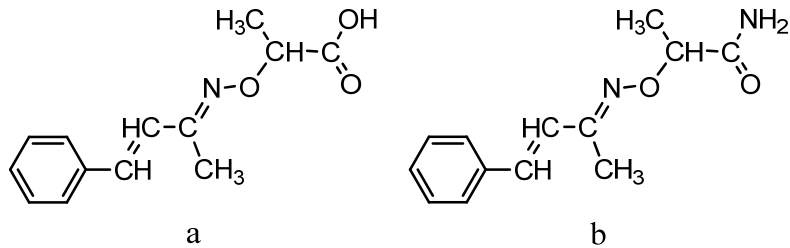
kloroasetamidofenil)-2-fenil-4-(4-klorobenziliden)-4,5-dihidro-1*H*-imidazol-5(4*H*)-on (35e.) bileşikleri ise çok iyi antiinflamatuvar aktivite göstermişlerdir. COX-2'nin katalizlediği PGE<sub>2</sub> üretimine karşı etil 4-(2-fenil-4-(4-klorobenziliden)-4,5-dihidro-5-okso-imidazol-1-il)benzoat, etil 4-(4-(2-bromo-5-hidroksibenziliden)-2-fenil-4,5-dihidro-5-okso-imidazol-1-il)benzoat ve 4-(2-(2,4-diklorofenil)-4-(4-klorobenziliden)-4,5-dihidro-5-okso-imidazol-1-il)benzoik asit bileşiklerinin ise çok iyi inhibitör aktivite gösterdikleri belirtilmiştir (54).





## E. 2009 Yılında Yayınlanmış Çalışmalar

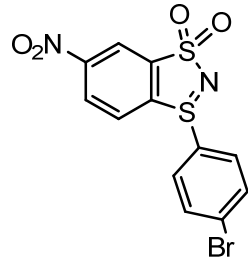
El-Gamal ve arkadaşları, bir seri süstitüe benziliden aseton oksim eter türevi bileşiği tasarlamış, sentezlemiş ve farmakolojik özelliklerini değerlendirmişlerdir. Yeni sentezlenmiş bileşiklerin *in vivo* antiinflamatuvar aktiviteleri karagenle indüklenmiş sıçan pençe ödemi modeliyle araştırılmıştır. Sentezlenmiş olan bileşiklerden (*E*)-2-{{(4-fenilbüt-3-en-2-iliden)amino}oksi}propanoik asit (**36a.**) ve (*E*)-2-{{(4-fenilbüt-3-en-2-iliden)amino}oksi}propanamitin (**36b.**) serideki bileşikler arasında en yüksek aktivite gösteren iki bileşik oldukları rapor edilmiştir. Bu bileşiklerin antiinflamatuvar aktiviteleri diklofenak sodyuma yakın bulunmuştur. Bileşiklerin analjezik aktiviteleri ise asetik asitle indüklenmiş farelerdeki ağrı modelleri ile değerlendirilmiş ve aynı zamanda bileşiklerin ülserojenik etkileri üzerine de çalışma yapılmıştır. (*E*)-2-{{(4-fenilbüt-3-en-2-iliden)amino}oksi}propanamitin ihmal edilebilecek düzeyde ülserojenik etki ile belirgin antiinflamatuvar ve analjezik aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (35).



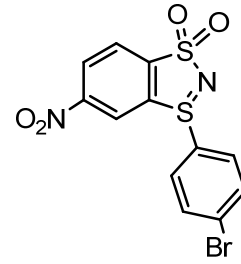
36.

Chen ve arkadaşları bir benzo[1.3.2]ditiyazoliyumlid temelli bileşik olan 3-(4-bromofenil)-6-nitrobenzo[1.3.2]ditiyazoliyumlid-1,1-dioksiti (**37a.**) yeni bir COX/5-LOX dual inhibitör prototipi olarak sentezlenmiştir. Bu bileşik ve 3-(4-bromofenil)-5-nitrobenzo[1.3.2]ditiyazoliyumlid-1,1-dioksit (**37b.**) fare makrofajlarındaki COX-

1 ve COX-2'yi inhibe etmişlerdir. Aynı zamanda bu iki bileşik potansiyel 5-LOX inhibitörleri olarak bulunmuştur. 6-Nitro türevi TNF- $\alpha$  üzerinde inhibitör etkiye sahip iken 5-nitro türevinde ise bu etki görülmemiştir. Docking çalışmalarında 6-nitro türevinin (*S*) enantiyomerinin COX-2 izoenzimine bağlandığı rapor edilmiştir (16).



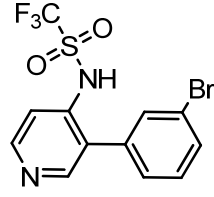
a



b

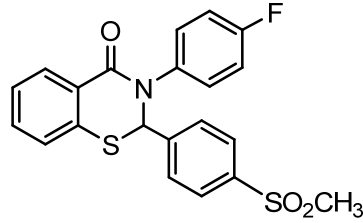
37.

Renard ve arkadaşları, tercihli COX-2 inhibitörü olan nimesulidin bir seri piridin analogunu sentezlemiş ve farmakolojik olarak değerlendirmişlerdir. Sentezlenmiş bileşiklerin COX-2 inhibitör aktiviteleri ise tam kan analizi ile belirlenmiştir. Analiz için seçilen bileşiklerin orta seviyeden yükseğe doğru artış gösteren COX-2/COX-1 selektivite oranına sahip oldukları bulunmuştur. Bazı bileşikler nimesulid ve selekoksib ile kıyaslandıklarında benzer ya da daha iyi antiinflamatuvar özellik göstermiştir. *N*-[3-(3-bromofenilamino)-4-piridinil]triflorometansülfonamid bileşiğinin (38.) sentezlenen bileşikler arasında en iyi COX-2 selektivitesine ve antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (99).



38.

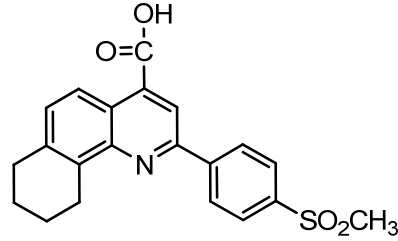
Zarghi ve arkadaşları, metilsülfonil farmakoforu bulunduran bir grup 1,3-benzotiyazinan-4-on türevi bileşik sentezleyip COX-2 inhibitör aktivitelerini değerlendirmişlerdir. *In vitro* COX-1/COX-2 inhibisyon çalışmaları sonucunda 3-(*p*-florofenil)-2-(4-metilsülfonilfenil)-1,3-benzotiyazinan-4-on (**39.**) bileşiğinin en etkili ve selektif COX-2 inhibitörü türev olduğu bulunmuştur (130).



39.

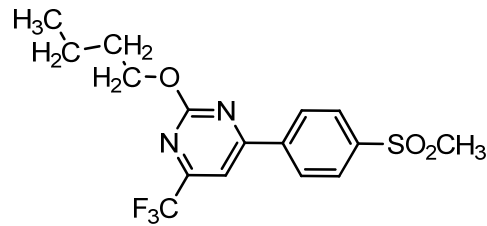
Zarghi ve arkadaşlarının diğer bir çalışmasında ise bir grup kinolin-4-karboksilik asit türevi bileşik tasarlanmış ve selektif COX-2 inhibitörü olarak sentezlenmiştir. *In vitro* COX-1/COX-2 çalışmaları sonucunda saptanan yapı etki ilişkileri, kinolin halkasının 7 ve 8 nolu karbonları üzerindeki çeşitli sübstitüentlerin yardımıyla belirlenmiştir. Dört kinolin-4-karboksilik asit türevlerinden 7,8,9,10-tetrahidro-2-(4-(metilsülfonil)fenilbenzo[*h*]kinolin-4-karboksilik asit (**40.**) etkin ve yüksek selektiviteli COX-2 inhibitörü olarak tespit edilmiştir. Ayrıca bu bileşik referans bileşik selekoksibden daha etkin bulunmuştur. Kinolin halkasının 7 ve 8

konumunda lipofilik sübstitüent varlığının COX-2 inhibitör aktivite için önemli olduğu belirtilmiştir (127).



40.

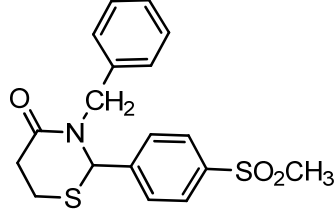
Swarbrick ve arkadaşları, bir seri 4-[4-(metilsülfonil)fenil]-6-(triflorometil)-2-pirimidin genel yapısına sahip COX-2 inhibitör adayı bileşik sentezlemişlerdir. Bileşiklerden 2-(butiloksi)-4-[4-(metilsülfonil)fenil]-6-(triflorometil)pirimidin (**41.**) bileşiğinin üyesi olduğu 2-pirimidil eterleri, iyi farmakokinetik profil ve yüksek beyin penetrasyonuna sahip, aşırı duyarlı sıçan modellerinde iyi etki gösteren, etkin ve selektif inhibitör olarak bulunmuştur (115).



41.

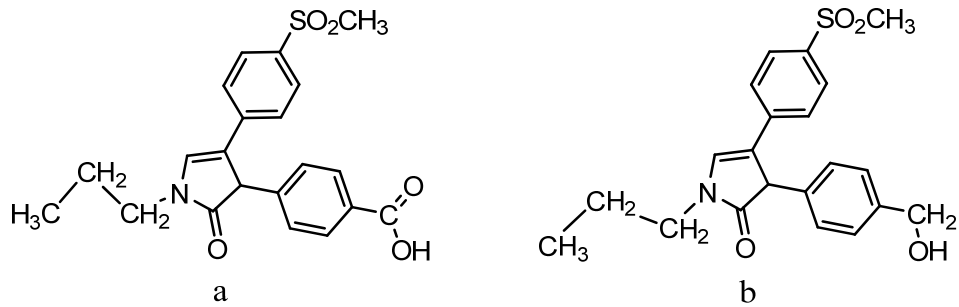
Zebardast ve arkadaşları, bir grup metilsülfonil farmakoforu bulunduran 3-alkil-2-aril-1,3-tiyazinan-4-on türevi bileşiği sentezleyip COX-2 inhibitör aktivitelerini değerlendirmişlerdir. *In vitro* COX-1/COX-2 inhibisyon çalışmaları

sonucunda 3-benzil-2-(4-(metilsülfonil)fenil)-1,3-tiyazinan-4-on (42.) bileşiğinin potansiyel ve selektif COX-2 inhibitörü olduğu bulunmuştur (132).



42.

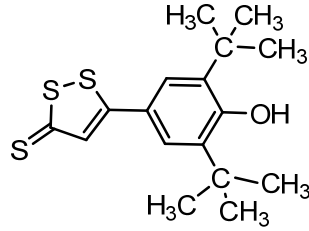
Feng ve arkadaşları, selektif COX-2 inhibitör bileşik olan imrekoksibin iki majör metabolitini hazırlayıp *in vivo* ve *in vitro* aktivitelerini değerlendirmişlerdir. 3-(4'-karboksifenil)-4-[4'-(metilsülfonil)fenil]-1-propil-3-pirolin-2-on (43a.) ve 3-(4'-hidroksimetilfenil)-4-[4'-(metilsülfonil)fenil]-1-propil-3-pirolin-2-on (43b.) bileşiklerinin kısmi selektif COX-2 inhibitörleri oldukları ve aynı zamanda selekoksible eşit ya da biraz daha fazla *in vivo* antiinflamatuvar aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir (38).



43.

Zanatta ve arkadaşları, 3,5-di-*tert*-bütil-4-hidroksifenil ya da 3,5-di-*tert*-bütil-4-metoksifenil grubu ile süstitüe 3*H*-1,2-ditiyol-3-tiyanon türevi bileşik sentezlemiş

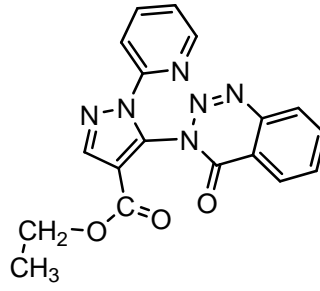
ve bu bileşiklerin COX-1 ve COX-2 izoenzimine karşı siklooksijenaz inhibitör aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Sentezlenmiş bütün bileşikler COX-2'ye karşı inhibitör etkili bulunmuştur. Fenol yapıları içeren bileşiklerin zayıf COX-1 inhibitör etki gösterdiği, metileter süstitüenti bulunduran yapıların ise ölçülebilecek düzeyde inhibitör etkiye sahip olmadıkları bulunmuştur (44.). Docking çalışmalarında fenol grubunun COX-2 ve COX-1'e bağlandığı metileter yapısının ise sadece COX-2'ye bağlandığı tespit edilmiştir (125).



44.

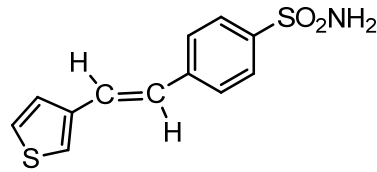
#### F. 2010 Yılında Yayınlanmış Çalışmalar

Raffa ve arkadaşları, selektif COX-2 inhibitörü selekoksibin analogu bir grup pirazolilbenzotriazinon türevi bileşiği sentezlemişlerdir. Biyolojik çalışmalar sonucunda rapor edilen pirazoilbenzotriazinon türevlerinin bazılarının iyi farmakolojik profile sahip oldukları bulunmuştur. Bileşiklerden etil 5-(4-okso-1,2,3-benzotriazinon)-3-(4*H*)-il)-1-piridin-2-il-1*H*-pirazol-4-karboksilat (45.) en etkin COX-2 selektivitesine sahip bileşik olarak bulunmuştur (94).



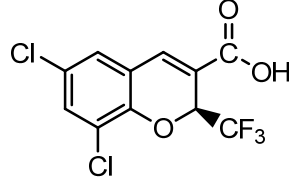
45.

Lim ve arkadaşları, *p*-sülfonamid ya da *p*-metilsülfonil grubu taşıyan bir seri stirilheterosiklik türevi bileşiği sentezleyip lipopolisakkaritin stimüle ettiği RAW264.7 mürin makrofajlarında COX-2 izoenziminin aracılık ettiği PGE<sub>2</sub> üretimine karşı bileşiklerin inhibisyon potansiyellerini değerlendirmiştir. (*E*)-4-(2-(tiyofen-3-il)vinil)benzensülfonamidin (46.) potansiyel inhibitör aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (73).



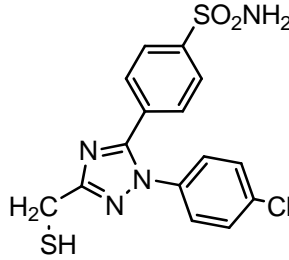
46.

Wang ve arkadaşları, bir grup süstitüe 2-triflorometil-2*H*-benzopiran-3-karboksilik asit türevi bileşik sentezleyip selektif COX-2 inhibitör aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Bileşiklerden (*S*)-6,8-dikloro-2-(triflorometil)-2*H*-kromen-3-karboksilik asit (47.) klinik çalışmalarda en iyi *in vivo* etkiye sahip bileşik olarak bulunmuştur (122).



47.

Jiang ve arkadaşları, bir seri 1,5-diaril-1,2,4-triazol türevi bileşiği sentezleyip COX-2 inhibitör aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Biyolojik çalışmalar sonucunda 8 tane bileşiğin potansiyel antiinflamatuvar aktivite gösterdikleri bulunmuştur. *In vitro* COX inhibisyon çalışmalarında 4-(1-(4-klorofenil)-3-(metiltiyo)-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)benzensülfonamid bileşiğinin (48.) selekoksibe eşdeğer etkinliğe ve selektif COX-2 inhibitör etkisine sahip olduğu belirlenmiştir. Antiinflamatuvar aktivite testlerinde bu bileşiğin orta dereceli antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Docking çalışmalarında ise aynı bileşiğin selektif COX-2 inhibitörü SC-558 ile izoenzime benzer bağlanma profiline sahip olduğu rapor edilmiştir (65).

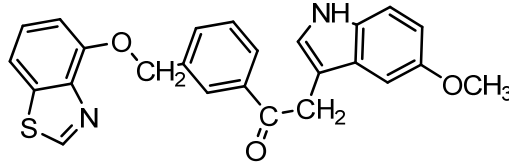


48.

Jin ve arkadaşları, bir seri benzotiyazol türevi bileşiği sentezleyip nitrik oksit (NO) üretimine karşı inhibitör aktivitelerini lipopolisakkarit tarafından aktive edilmiş makrofajlarda incelenmişlerdir. En etkin bileşiğin ise indol içeren benzotiyol türevi 1-[3-[(benzo[*d*]tiazol-4-iloksi)metil]fenil]-2-(5-metoksi-1*H*-indol-3-il)etanon (49.)

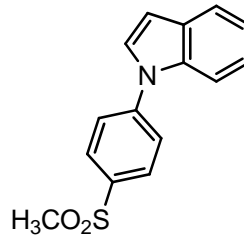


olduğu bulunmuştur. Benzotiyazollerin iNOS protein ve mRNA ekspresyonunun süpresyonu ile NO üretimini inhibe etmekte oldukları belirlenmiştir. Bu durumun sonucu olarak benzotiyazollerin COX-2 ekspresyonunu baskıladığı rapor edilmiştir (67).



49.

Harrak ve arkadaşları bir seri 4-(ariloil)fenilmetilslfon bileşini tasarlamışlardır. Bu bileşiklerin siklooksijenaz inhibitör kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir. 1-(4-(metilsülfonil)fenil-1*H*-indol (**50.**) serideki bileşikler arasında en yüksek COX-2 inhibitör etkiye ve en iyi COX-2 selektivitesine sahip olan bileşik olarak bulunmuştur. Aynı zamanda bileşiğin antiinflamatuvar aktivitesi test edilmiş ve ibuprofenden daha yüksek olduğu belirlenmiştir (51).

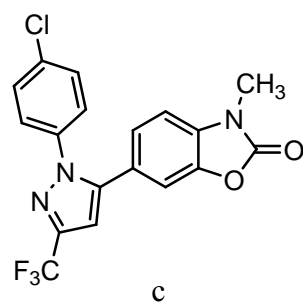
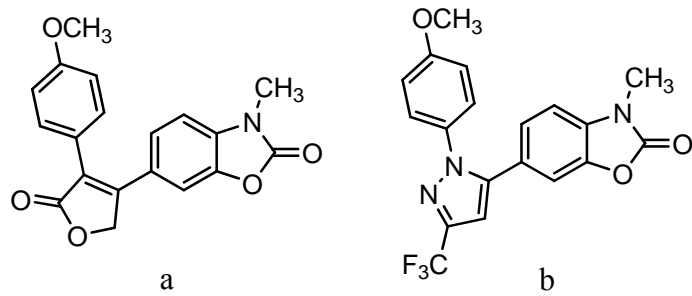


50.

Chowdhury ve arkadaşları, indol halkasının 4 ve 5 konumlarında karbonil veya metilenle bağlı *N*-diflorometil-1,2-dihidropiridin-2-on artığı bulunan bir seri

indometazin analogu olan bileşigi sentezlemişlerdir. İndometazindeki 4-klorobenzoil grubu *N*-diflorometil-1,2-dihidropirid-2-on-4-karbonil, *N*-diflorometil-1,2-dihidropirid-2-on-4-karbonil, *N*-diflorometil-1,2-dihidropirid-2-on-4-metilenil ve *N*-diflorometil-1,2-dihidropirid-2-on-5-metilenil artıkları ile yer değiştirilerek elde edilen bileşikler COX-2/5-LOX enzimlerine karşı inhibitör aktivite göstermedikleri, fakat *in vivo* olarak orta seviyede antiinflamatuvar aktivitelerinin mevcut olduğu rapor edilmiştir (23).

Eren ve arkadaşları, 3 seri 2-okso-5*H*-furan, 2-okso-3*H*-1,3-oksazol ve 1*H*-pirazol yapılarını molekülün merkezinde bulunduran diaril heterosiklik türevi bileşikleri sentezlemiş ve bu bileşiklerin COX-1 ve COX-2 izoenzimlerine karşı inhibitör aktivitelerini değerlendirmişlerdir. 2-okso-5*H*-furan türevi 3-(4-metoksifenil)-4-(3-metil-2-okso-3*H*-benzooksazol-6-il)-2-okso-5*H*-furan bileşiğinin (**51a.**) COX-1 selektif inhibitör etkili olduğu bulunmuştur. 1*H*-pirazol türevi 1-(4-metoksifenil)-3-triflorometil-5-(3-metil-2-okso-3*H*-benzoksazol-6-il)-1*H*-pirazol bileşiğinin (**51b.**) ise COX-2 inhibitörü etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Bu bileşik rofekoksibden 38 kat etkin olmasına rağmen COX-2 selektivitesi göstermemiştir. 1-(4-klorofenil)-3-triflorometil-5-(3-metil-2-okso-3*H*-benzoksazol-6-il)-1*H*-pirazol bileşiğinin (**51c.**) ise kuvvetli ve selektif COX-2 inhibitör aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (36).



51.

# DENEYSEL BÖLÜM

## I. SENTEZLER VE SPEKTRAL BULGULAR

### A. Materyal

Sentez çalışmalarında kullanılan benzoik asit, izonikotinik asit, 2-pikolik asit, anilin, morfolin, piperidin, pirolidin, izopropilamin, dimetilamin, trietilamin, sodyum hidroksit, sodyum bikarbonat, tiyonil klorür, deniz kumu, TLC Silica gel 60 F<sub>254</sub>, Silica gel 60 ve sülfürik asit Merck firmasından, nikotinik asit, glisin ve aktif kömür Fluka firmasından, tiyofen-2-karboksilik asit Sigma firmasından, hidroklorik asit Carlo Erba firmasından temin edilmiştir. Çalışmamızda kullanılan çözücüler analitik saflıkta olup metanol, tetrahidrofuran, petrol eteri Merck firmasından, kloroform, etanol ve etil asetat Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. IR analizleri için kullanılan potasyum bromür, <sup>1</sup>H NMR analizleri için kullanılan D<sub>6</sub>-dimetilsülfoksit ve D<sub>1</sub>-kloroform Merck firmasından temin edilmiştir.

### B. Yöntemler

#### 1. Kromatografik Yöntemler

Sentez çalışmaları sırasında tepkimeyi izlemek ve sentezlenen bileşiklerin saflıklarını kontrol etmek amacıyla ince tabaka kromatografisinden (İ.T.K.) yararlanıldı. İnce tabaka kromatografisi için Merck firmasına ait TLC Silica gel 60 F<sub>254</sub> hazır kromatografi plakları kullanıldı. İnce tabaka kromatografisi çalışmaları oda

sıcaklığında yapıldı, sürükleme işleminden sonra plaklar açık havada kurutuldu ve plakların üzerindeki lekeler 254 nm dalga boyundaki UV ışığı ile tespit edildi. İnce tabaka kromatografisinde kullanılan çözücü sistemi kloroform:metanol (11:1) dür. Sentezlenen bileşiklerin önemli bir kısmının saflaştırmasında sütun kromatografisi yöntemi kullanıldı. Sütun kromatografisinde sabit faz olarak Merck firmasına ait Silica gel 60 kullanıldı. Sütun kromatografisinde mobil faz olarak ise NBG-P, NBG-M, NBG-Piro ve NBG-DM bileşikleri için kloroform, diğer bileşikler için ise kloroform:metanol (11:1) kullanıldı.

## **2. Spektral Analizler**

Bileşiklerin UV Spektrumları,  $5 \cdot 10^{-6}$  M konsantrasyonda metanoldeki çözeltileri halinde 1cm'lik kuvarz küvet içinde Shimadzu UV1601 Spektrofotometresinde alındı.

Bileşiklerin IR spektrumları almak amacıyla, 1 mg bileşik ve 100 mg potasyum bromür kullanılarak potasyum bromür pelletleri oluşturuldu. IR spektrumları pelletler halinde Jasco FT/IR-400 spektrofotometresinde alındı.

$^1\text{H}$  NMR spektrumları, Varian AS 400 Mercury Plus NMR cihazında alındı.

API-ES MS (Atmospheric Pressure Ionization Electrospray Mass) analizleri Waters 2695 Alliance Micromass ZQ LC/MS cihazıyla gerçekleştirildi.

## **3. Erime Derecesi Tayinleri**

Bileşiklerin erime dereceleri tayinleri, Barnstead/Electrothermal 9100 erime tayini cihazında tespit edildi.

#### **4. Elementel Analizler**

Final bileşiklerinin elementel analizleri LECO CHNS 932 Elementel Analiz cihazı kullanılarak yapıldı.

#### **C. Bileşiklerin Sentezi**

##### **1. Benzoil Klorür ve Tiyofen-2-karbonil Klorür Bileşiklerinin Sentezi**

0,02 mol benzoik asit 5 ml tiyonil klorür içerisinde 80°C 'de 1 saat geri çeviren soğutucu altında kaynatıldı. Reaksiyon sonunda tiyonil klorür aşırısı rotavapor yardımıyla ortamdan uzaklaştırıldı. Aynı yöntem tiyofen-2-karbonil klorür bileşiğinin sentezinde de kullanıldı. Benzoil klorür ve tiyofen-2-karbonil klorür bileşikleri ham halde %95 verimle elde edildi.

##### **2. Hippürik Asit ve 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetik Asit Bileşiklerinin Sentezi**

0,02 mol glisin ve 0,02 mol benzoil klorür 0-5°C arasında ayrı ayrı 15 ml 2M sodyum hidroksit çözeltisi içerisinde çözdürüldü. Benzoil klorürün 2M sodyum hidroksit içerisindeki çözeltisi glisinin 2M sodyum hidroksit içerisindeki çözeltisi içerisine 30 dakika süresince porsiyonlar halinde kuvvetli çalkalanarak ilave edildi ve oda sıcaklığında 30 dakika daha karıştırıldı. Reaksiyon sonunda derişik hidroklorür çözeltisi ile ortam asitlendirildi. Hippürik asit bileşiği çöktü, çöken ham ürün süzöldü ve sudan kristallendirildi. 2-(Tiyofen-2-karboksiamido)asetik asit bileşiği de aynı yöntemle sentezlendi. Sentez esnasında benzoil klorür yerine tiyofen-2-karbonil klorür bileşiği kullanıldı ve ham ürün sudan kristallendirildi. Hippürik asit ve 2-(tiyofen-2-karboksamido)asetik asit sırasıyla % 81 ve % 80 verimle elde edildi.

### **3. Hippürük Asit Metil Esteri ve 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetik Asit Metil Esteri Bileşiklerinin Sentezi**

0,01 mol hippürük asit 15ml metanol içerisinde 0,25ml derişik sülfürük asit ile 2 saat geri çeviren soğutucu altında kaynatıldı. Reaksiyon sonunda metanolün aşırısı rotavapor yardımıyla ortamdan uzaklaştırıldı. Kalan bakiye üzerine 30 ml su eklendi ve 30 ml kloroform çözeltisi ile 3 kez ekstraksiyona tabi tutuldu. Kloroformlu kısımlar toplandı ve 20 ml 1M sodyum hidroksit çözeltisi ile yıkandı. Kloroformlu kısım susuz sodyum sülfat ile suyunda kurtarıldı. Kloroform rotavapor yardımıyla ortamdan uzaklaştırıldı ve bakiye etil asetat ile kristallendirildi. 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetik asit metil esterini de aynı yöntemle sentezlendi. Sentez esnasında hippürük asit yerine 2-(tiyofen-2-karboksamido)asetik asit kullanıldı ve ham ürün etil asetat ile kristallendirildi. Hippürük asit metil esterini ve 2-(tiyofen-2-karboksamido)asetik asit metil esterini sırasıyla %84 ve %70 verim ile elde edildi.

### **4. 2-Benzamidoasetamit Türevi Bileşiklerin Sentezi**

0,005 mol hippürük asit metil esterini ile 0,03 mol piperidin, 5 ml metanol içerisinde 4 saat geri çeviren soğutucu altında kaynatıldı. Piperidin ve metanolün fazlası rotavapor yardımıyla ortamdan uzaklaştırıldı. Bileşik sütun kromatografisi ile temizlendi, mobil faz olarak kloroform kullanıldı. Elde edilen ham ürün etil asetatla kristallendirildi.

Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin erime derecesi, % verim ve kristallendirme solvanları tablo 1’de verilmiştir.

## 5. 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamid Türevi Bileşiklerin Sentezi

0,005 mol 2-(tiyofen-2-karboksamido)asetik asit metil esteri ile 0,03 mol piperidin, 5 ml metanol çözeltisi içerisinde 2 saat geri çeviren soğutucu altında kaynatıldı. Piperidin ve metanolün fazlası rotavapor yardımıyla ortamdan uzaklaştırıldı. Bileşik sütun kromatografisi ile temizlendi, mobil faz olarak kloroform-etanol(11:1) karışımı kullanıldı. Elde edilen ham ürün etil asetattan kristallendirildi.

Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin erime derecesi, % verim ve kristallendirme solvanları Tablo 1’de verilmiştir.



KOD	Erime Derecesi	% Verim	Kristallendirme Solvanı	Kullanılan Amin
NBG-A	221°C (a)	40	Etanol-su (1:9) karışımı	Anilin
NBG-P	97°C (b)	35	Etil asetat	Piperidin
NBG-M	163°C (c)	37	Etil asetat	Morfolin
NBG-Piro	109°C	35	Etil asetat	Pirolidin
NBG-Isp	194°C (d)	50	Etanol-su (1:9) karışımı	İzopropilamin
NBG-DM	122°C (e)	35	Etil asetat	Dimetilamin
NTG-A	251°C	48	Etanol-su (1:9) karışımı	Anilin
NTG-P	138°C	42	Etil asetat	Piperidin
NTG-M	156°C	32	Etil asetat	Morfolin
NTG-Piro	156°C	37	Etil asetat	Pirolidin
NTG-Isp	189°C	38	Etil asetat	İzopropilamin
NTG-DM	121°C	27	Etil asetat	Dimetilamin

**Tablo 1. 2-Benzamidoasetamit ve 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamit Türevi Bileşiklerin Erime Derecesi, % Verim, Kristallendirme Solvanları ve Kullanılan Aminler**

\* Daha önce sentezi gerçekleştirilmiş bileşiklerin literatürde kayıtlı erime dereceleri

(a) 215°C (106), (b) 91 °C (118), (c) 150°C (55), (d) 186 °C (106), (e) 113 °C (55)

## 6. Metil Glisinat Hidroklorür Bileşiğinin Sentezi

0,01 mol glisin 0,1 mol (4 ml) metanol içerisinde çözündürüldü, 0-5°C'de buz banyosunda soğutularak üzerine 0,03 mol (2 ml) tiyonil klorür damla damla ilave edildi. Daha sonra bu karışım 2 saat geri çeviren soğutucu altında kaynatıldı. Tiyonil

klorür ve metanolün fazlası rotavapor yardımıyla ortamdaki uzaklaştırıldı. Ham ürünün verimi % 90'dır.

#### **7. 2/3/4-Pikolinoil Klorür Hidroklorür Bileşiklerinin Sentezi**

0,01 mol nikotinik asit 0,09 mol (6ml) tiyonil klorür içerisinde 0-5<sup>0</sup>C'de buz banyosunda soğutularak ilave edildi ve sonrasında 4 saat geri çeviren soğutucu altında kaynatıldı. Reaksiyon sonunda tiyonil klorürün fazlası rotavapor yardımıyla ortamdaki uzaklaştırıldı. Bu yöntemle izonikotinoil klorür hidroklorür ve 2-pikolinoil klorür hidroklorür bileşiklerinin sentezleri de gerçekleştirildi. İzonikotinoil klorür hidroklorür bileşiğinin sentezinde izonikotinik asit ve 2-pikolinoil klorür hidroklorür bileşiğinin sentezinde ise 2-pikolinik asit kullanıldı. Nikotinoil klorür hidroklorür, izonikotinoil klorür hidroklorür ve 2-pikolinoil klorür hidroklorür bileşikleri ham ürün olarak sırasıyla % 95, % 93 ve % 63 verimle elde edildi.

#### **8. N-2/3/4-Pikolinamidoasetik Asit Metil Esteri Bileşiklerinin Sentezi**

0,01 mol metil glisinat hidroklorür 25ml tetrahidrofuran içerisinde ilave edildi, buz banyosunda üzerine 0,01 mol trietilamin eklendi ve 30 dakika karıştırıldı. 30 dakikanın sonunda karışımın üzerine önce 0,012 mol nikotinoil klorür hidroklorür eklendi ve bu işlem bittikten sonra tekrar 0,024 mol trietilamin eklendi. Karışım oda sıcaklığında 3 saat karıştırıldı, süzüldü ve tetrahidrofuran rotavapor yardımıyla ortamdaki uzaklaştırıldı. Bakiye üzerine 25 ml doymuş sodyum bikarbonat çözeltisi eklendi, 25 ml etil asetat ile 3 kez ekstraksiyona tabi tutuldu. Etil asetatlı kısımlar toplandı ve susuz sodyum sülfatla muamele edilerek suyundan kurtaldı, süzüldü ve etil asetat rotavapor yardımıyla ortamdaki uzaklaştırıldı. Sarı viskoz bir sıvı halinde 2-nikotinamidoasetik metil esteri elde edildi. Bu yöntemle nikotinoil klorür

hidroklorür yerine izonikotinoil klorür hidroklorür kullanılarak 2-izonikotinamidoasetik asit metil esteri ve 2-pikolinoil klorür hidroklorür kullanılarak 2-(2-pikolinamido)asetik asit metil esteri elde edildi. 2-Nikotinamidoasetik asit metil esteri, 2-izonikotinamidoasetik asit metil esteri ve 2-(2-pikolinamido)asetik asit metil esteri ham ürün olarak sırasıyla % 56, % 62, %31 verimle kazanıldı.

### **9. 2/3/4-Pikolinamidoasetamit Türevi Bileşiklerin Sentezi**

0,005 mol metil 2-nikotinamidoasetat ile 0,03 mol piperidin, 5 ml metanol içerisinde 4 saat geri çeviren soğutucu altında kaynatıldı. Piperidin ve metanolün fazlası rotavapor yardımıyla ortamdaki uzaklaştırıldı. Bileşik sütun kromatografisi ile temizlendi, mobil faz olarak kloroform-etanol (11:1) karışımı kullanıldı. Elde edilen ham ürün, etil asetat-petrol eteri (7:3) karışımı ile kristallendirildi.

Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin erime derecesi, % verim ve kristallendirme solvanları Tablo 2’de verilmiştir.

KOD	Erime Derecesi	% Verim	Kristallendirme Solvanı	Kullanılan Amin
NNG-A	231°C	45	Etanol-su (1:9) karışımı	Anilin
NNG-P	80°C	30	Petrol eteri-etil asetat (3:7)	Piperidin
NNG-M	157°C	27	Etil asetat	Morfolin
NNG-Piro	120°C	32	Etil asetat	Pirolidin
NNG-Isp	188°C (a)	30	Etil asetat	İzopropilamin
NNG-DM	91°C	28	Etil asetat	Dimetilamin
NING-A	191°C	34	Etanol-su (1:9) karışımı	Anilin
NING-P	125°C	20	Petrol eteri-etil asetat (3:7)	Piperidin
NING-M	182°C	23	Etil asetat	Morfolin
NING-Piro	157°C	42	Etil asetat	Pirolidin
NING-Isp	208°C	20	Etil asetat	İzopropilamin
NING-DM	147°C	33	Etil asetat	Dimetilamin
NPG-A	201°C	24	Etanol-su (1:9) karışımı	Anilin
NPG-P	84°C	30	Etil asetat	Piperidin
NPG-M	209°C	23	Etil asetat	Morfolin
NPG-Piro	155°C	42	Etil asetat	Pirolidin
NPG-Isp	169°C	20	Etil asetat	İzopropilamin
NPG-DM	134°C	33	Etil asetat	Dimetilamin

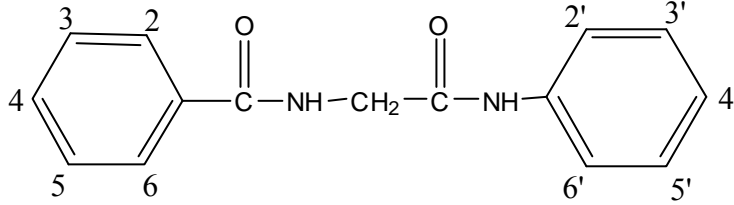
**Tablo 2. 2-Nikotinamidoasetamit, 2-İzonikotinamidoasetamit ve 2-(2-Pikolinamido)asetamit Türevi Bileşiklerin Erime Derecesi, % Verim, Kristallendirme Solvanları ve Kullanılan Aminler**

\* Daha önce sentezi gerçekleştirilmiş bileşiklerin literatürde kayıtlı erime dereceleri

(a) 182°C (10)

## D. Spektral Bulgular

### NBG-A Bileşğinin Spektral Bulguları



*N*-[2-(fenilamino)-2-oksoetil]benzamidit

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 240.5 (4.36), 205 (4.40) nm

IR (KBr) (Spektrum No 1)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3309 (N-H gerilim), 3137, 3060 (Aromatik C-H gerilim), 1681, 1639 (C=O gerilim), 1602, 1492, 1442 (C=C gerilim), 1540 (Amid II bandı), 748, 690 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 2, 3, 4)

CDCl<sub>3</sub>

$\delta$  8.80 (1H, brs, -NH-Ar), 7.89-7.86 (2H, m, H-2, H-6), 7.58-7.53 (3H, m, H-4, H-2', H-6'), 7.46 (2H, t, *J* 7.4 Hz, H-3', H-5'), 7.34-7.30 (3H, m, -NH-CH<sub>2</sub>-, H-3, H-5), 7.12 (1H, t, *J* 7.4 Hz, H-4'), 4.38 (2H, d, *J* 5.0 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-)

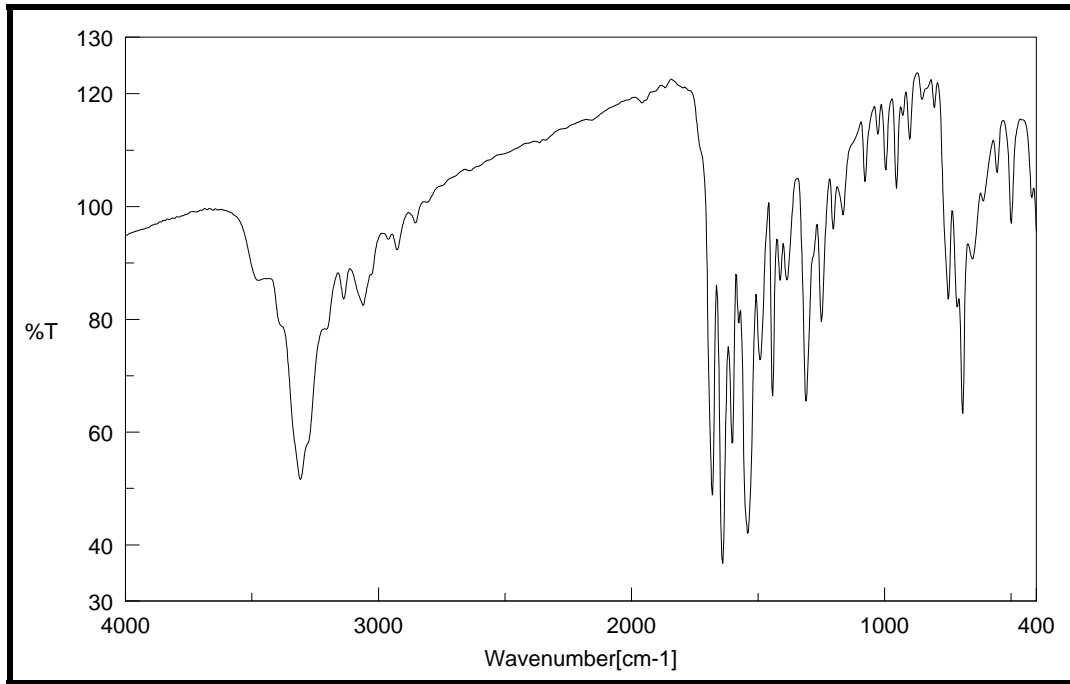
MS (ESI+) (Spektrum No 5)

*m/z* 133 (C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>NO<sup>+</sup>, 17%), 162 (C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>NO<sub>2</sub><sup>+</sup>, 100%), 163 (C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>NO<sub>2</sub><sup>+</sup>+1, 15%), 255 (M+1,60%), 256 (M+2, 12%), 277 (M+23, 97%), 278 (M+24, 15%), 318 (M+64,

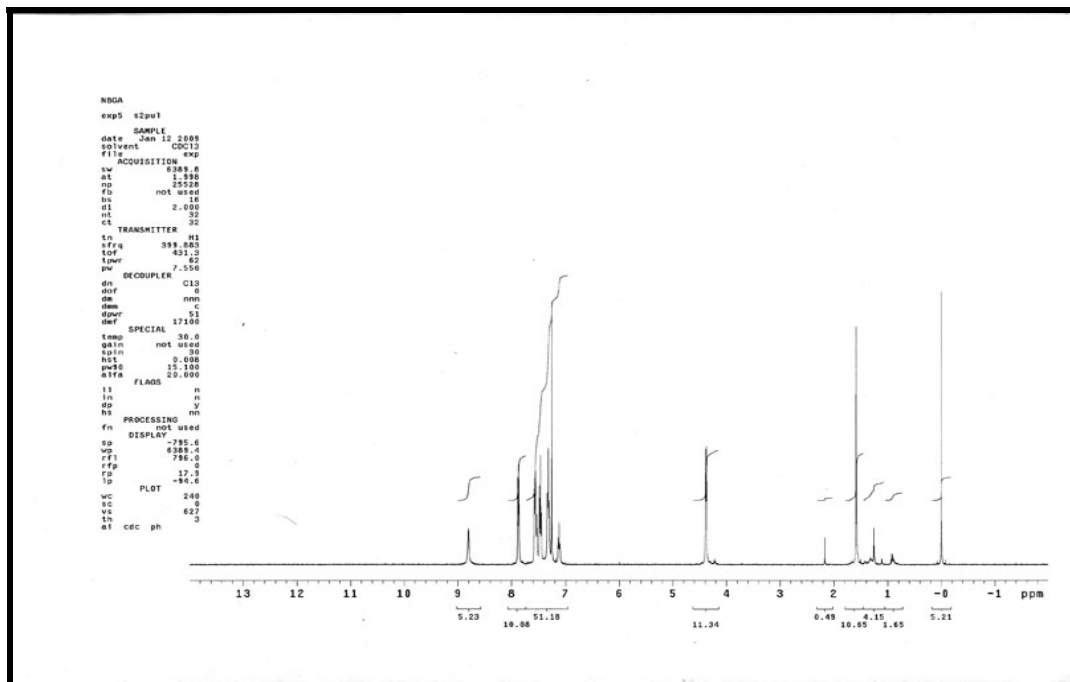
39 %), 401 (M+147, 21 %), 402 (M+148, 17 %)

**Elementel Analiz (%)**

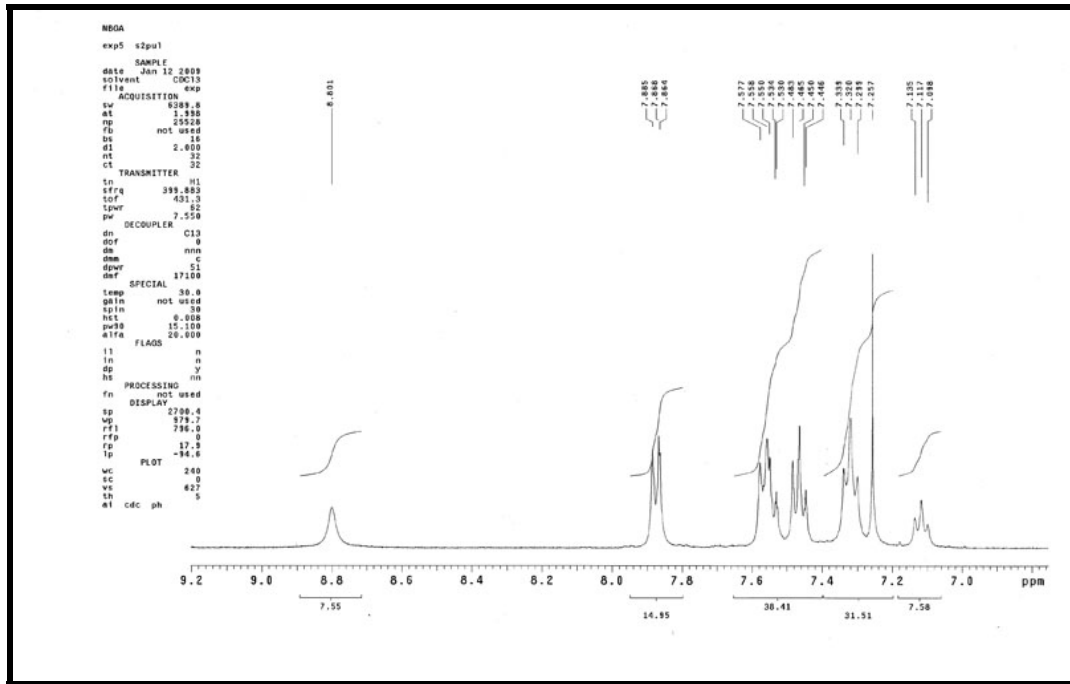
$C_{15}H_{14}N_2O_2 \cdot 0.2H_2O$	C	H	N
Hesaplanan	69,86	5,63	10,86
Bulunan	69,73	5,57	10,54



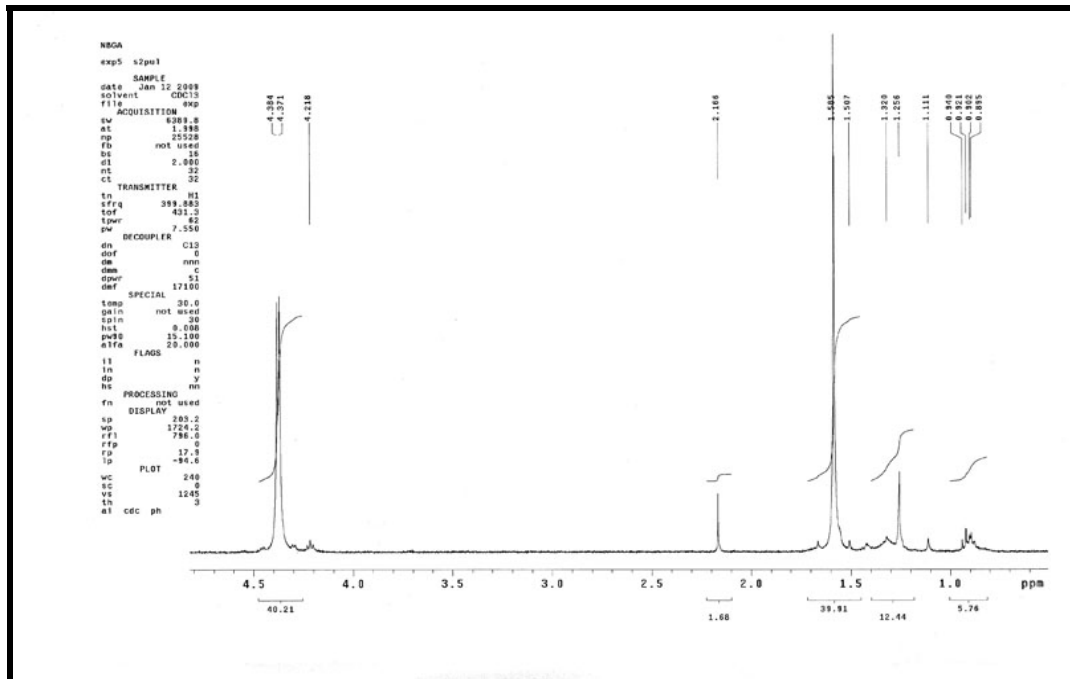
**Spektrum No 1. NBG-A Bileşğinin IR Spektrumu**



**Spektrum No 2. NBG-A Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**

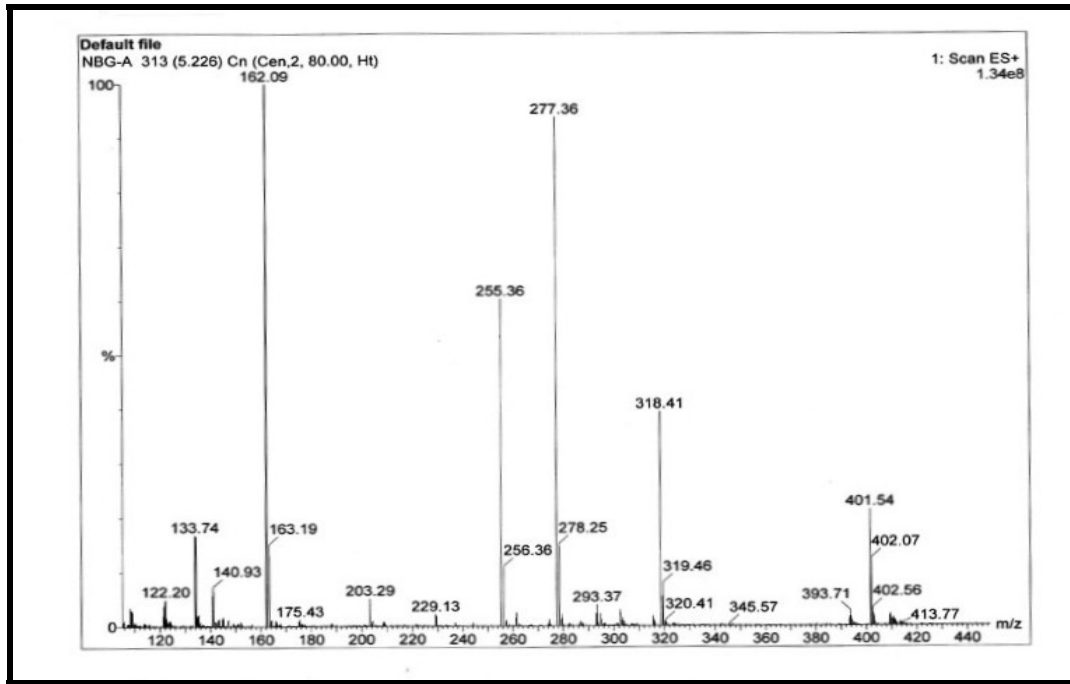


**Spektrum No 3. NBG-A Bileşiminin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



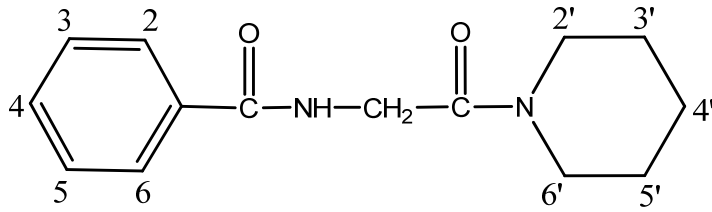
**Spektrum No 4. NBG-A Bileşiminin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**





**Spektrum No 5. NBG-A Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NBG-P Bileşiminin Spektral Bulguları



N-[2-okso-2-(piperidin-1-il)etil]benzamid

**UV** (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 224.0 (4.15), 204.0 (4.29) nm

**IR** (KBr) (Spektrum No 6)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3338 (N-H gerilim), 3060, 3006 (Aromatik C-H gerilim), 2935, 2852 (Alifatik C-H gerilim), 1660, 1633 (C=O gerilim), 1579, 1444 (C=C gerilim), 1540 (Amid II bandı), 775, 713, 692 (Düzlem dışı C-H eğilim)

**<sup>1</sup>H NMR** (Spektrum No 7, 8, 9)

CDCl<sub>3</sub>

$\delta$  7.86-7.84 ( 2H, m, H-2, H-6 ), 7.52-7.48 ( 1H, m, H-4), 7.46-7.42 ( 2H, m, H-3, H-5), 7.38 ( 1H, brs, -NH-CH<sub>2</sub>-), 4.24 ( 2H, d, *J* 3.5 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 3.62 ( 2H, t, *J* 5.5 Hz, H-2' \*, H-6' \*), 3.40 ( 2H, t, *J* 5.5 Hz, H-2' \*, H-6' \*), 1.71-1.66 ( 2H, m, H-4' ), 1.62-1.54 (4H, m, H-3' , H-5' )

\* İki protonun kimyasal kayma değerleri değişebilir

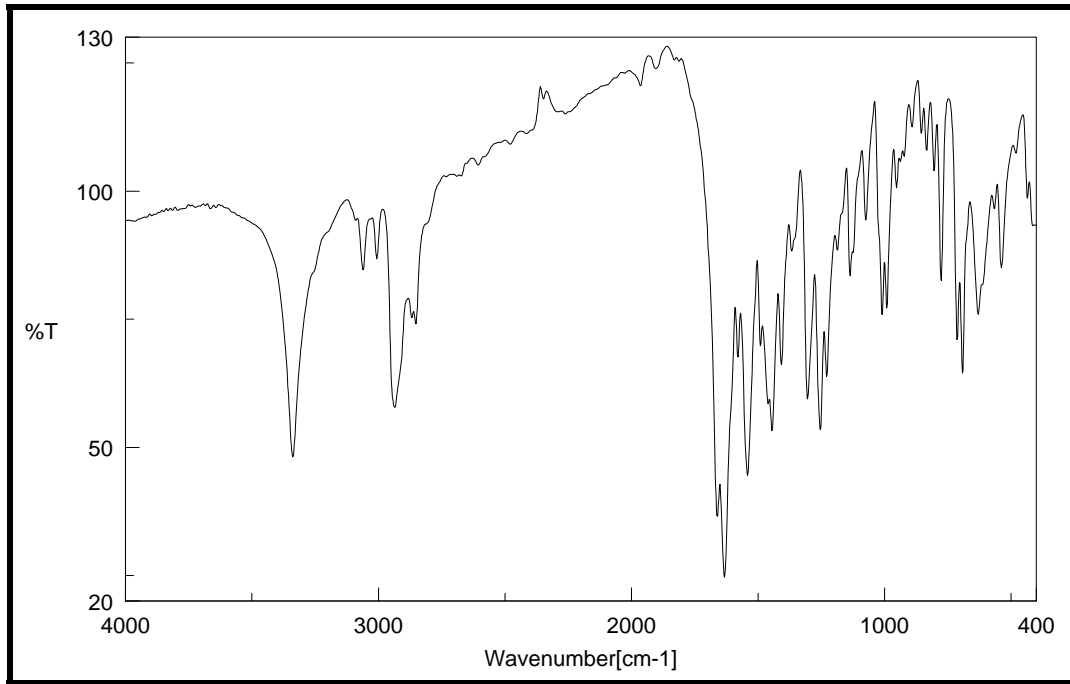
**MS (ESI+)** (Spektrum No 10)

*m/z* 247 (M+1, 60 %), 248 (M+2, 9 %), 269 (M+23, 100 %), 270 (M+24, 59 %),

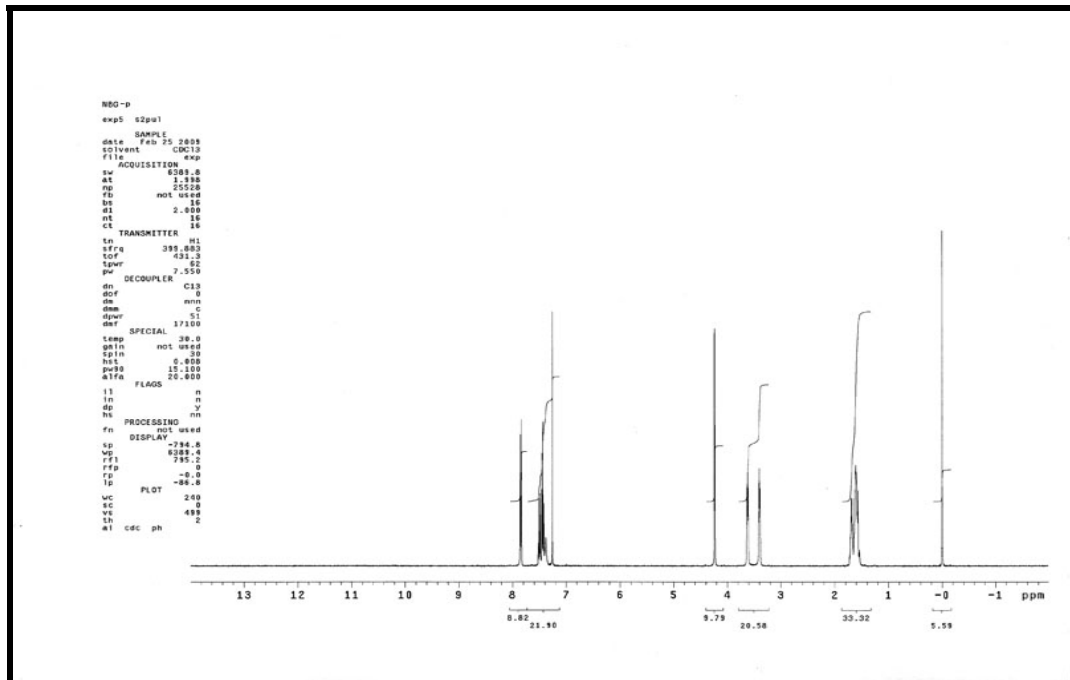
310 (M+64, 100 %), 311 (M+65, 36 %)

**Elementel Analiz (%)**

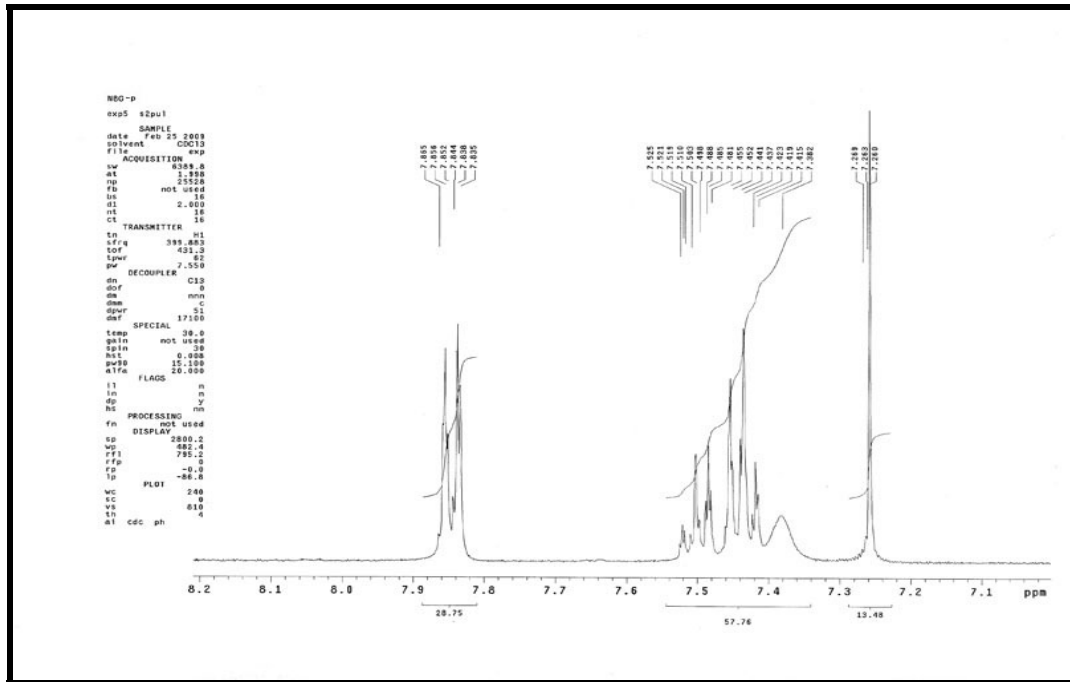
$C_{14}H_{18}N_2O_2$	C	H	N
Hesaplanan	68,27	7,37	11,37
Bulunan	68,17	7,39	11,38



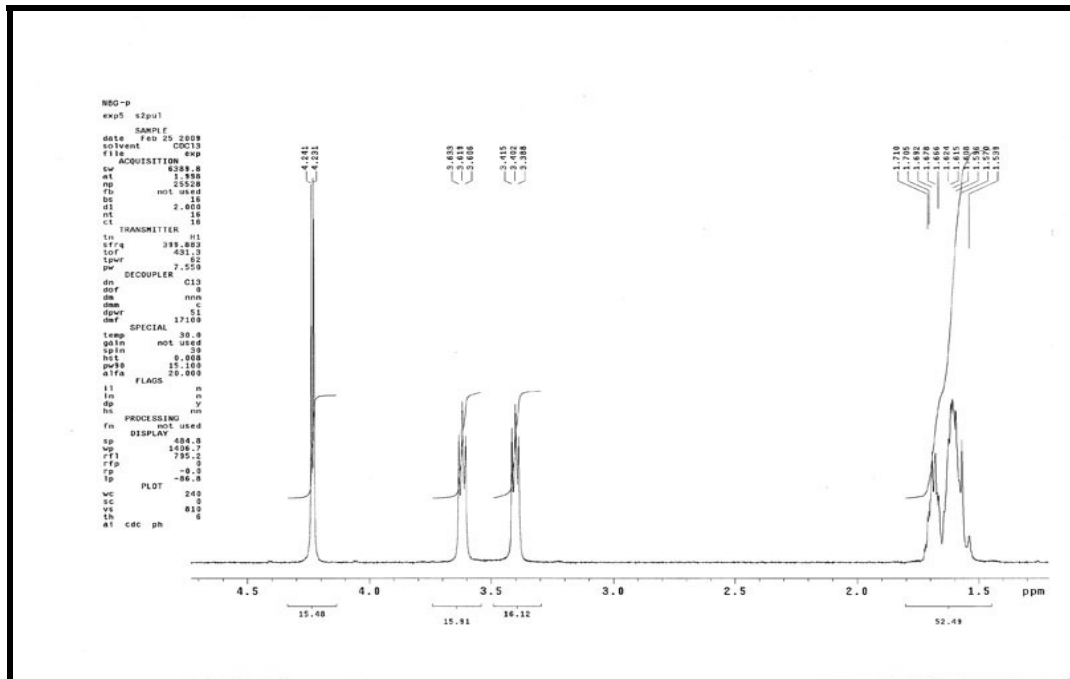
**Spektrum No 6. NBG-P Bileşğinin IR Spektrumu**



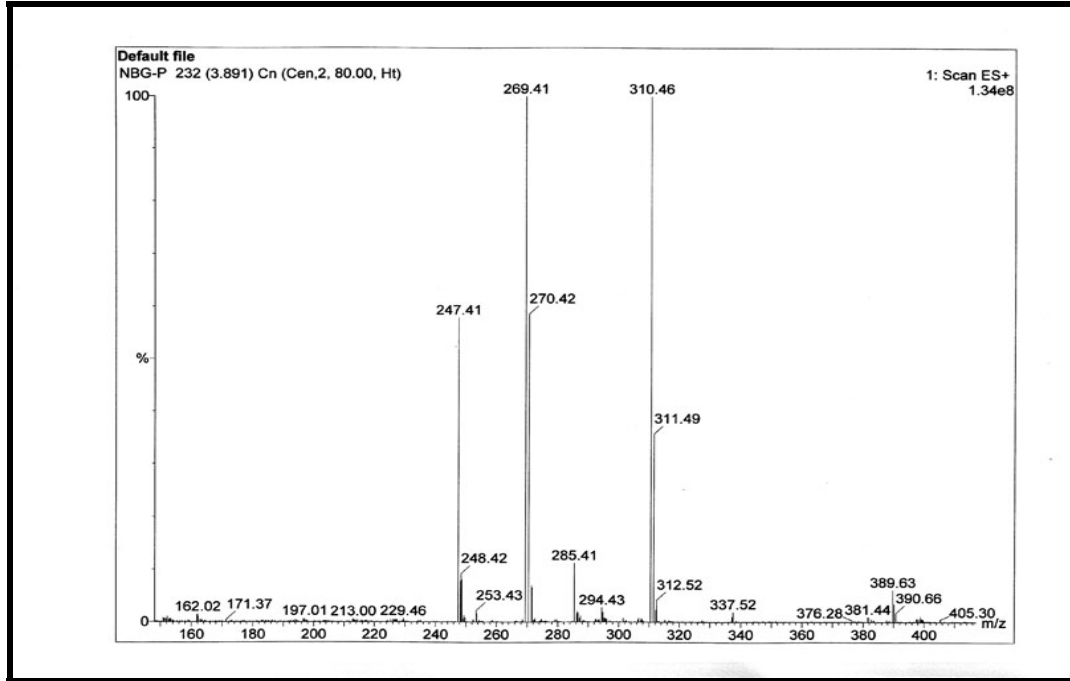
**Spektrum No 7. NBG-P Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



**Spektrum No 8. NBG-P Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**

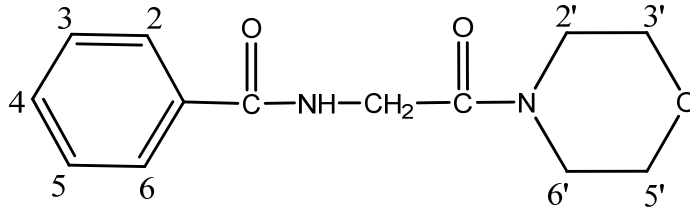


**Spektrum No 9. NBG-P Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



**Spektrum No 10. NBG-P Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NBG-M Bileşiğinin Spektral Bulguları



*N*-(2-morfolino-2-oksoetil)benzamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 224.5 (4.13), 205.0 (4.24) nm

IR (KBr) (Spektrum No 11)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3338 (N-H gerilim), 2981, 2921, 2859 (Alifatik C-H gerilim), 1664, 1643 (C=O gerilim), 1577, 1471, 1434 (C=C gerilim), 1515 (Amid II bandı), 709, 688 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 12, 13, 14)

CDCl<sub>3</sub>

$\delta$  7.85-7.83 ( 2H, m, H-2, H-6 ), 7.53-7.50 ( 1H, m, H-4), 7.46-7.42 ( 2H, m, H-3, H-5), 7.29 ( 1H, brs, -NH-CH<sub>2</sub>-), 4.25 ( 2H, d, *J* 3.9 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 3.74-3.68 ( 6H, m, H-2' \*, H-3' , H-5' , H-6' \*), 3.50-3.47 ( 2H, m, H-2' \*, H-6' \*),

\* İki protonun kimyasal kayma değerleri değişebilir

MS (ESI+) (Spektrum No 15)

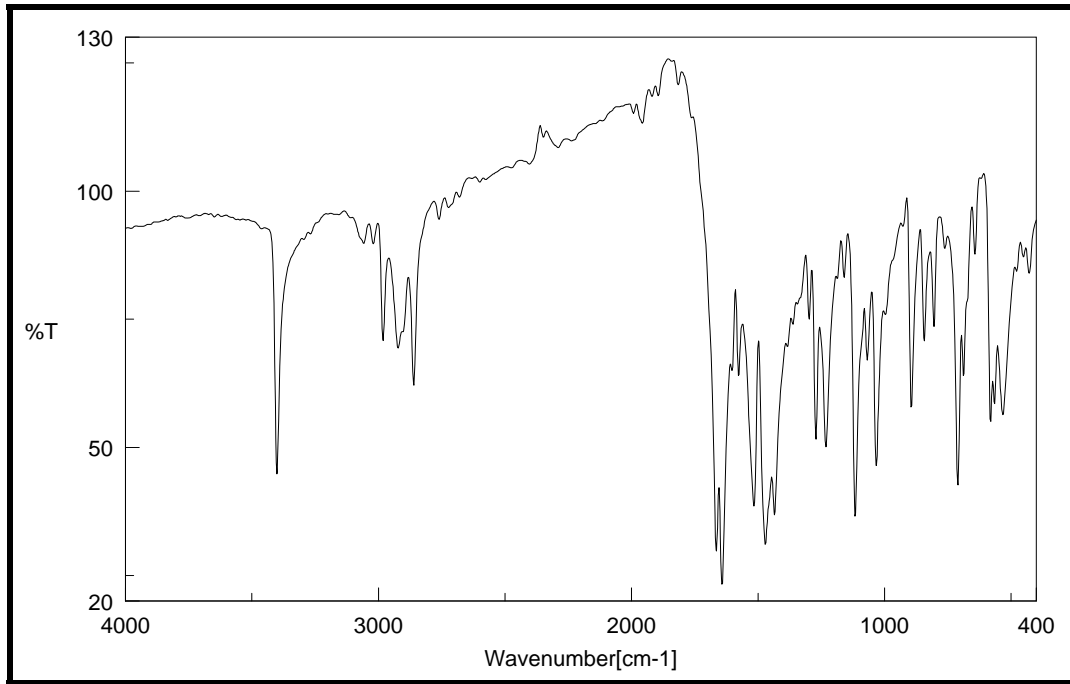
*m/z* 249 (M+1, 95 %), 250 (M+2, 14 %), 271 (M+23, 100 %), 272 (M+24, 13 %),

312 (M+64, 90 %), 313 (M+65, 16 %)

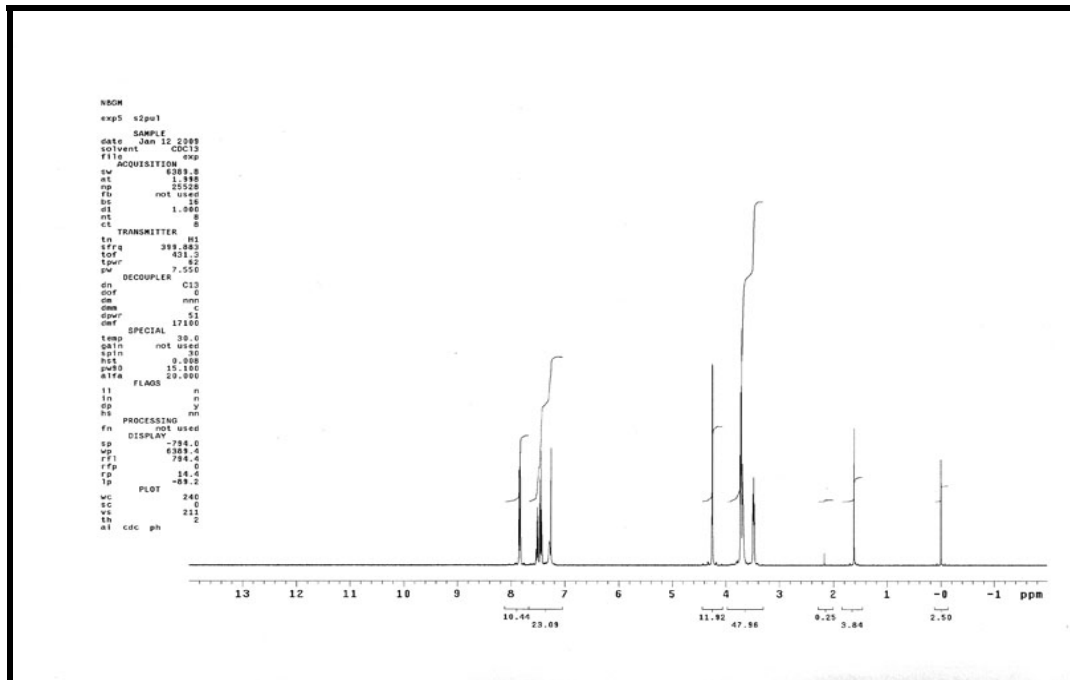
**Elementel Analiz (%)**

$C_{13}H_{16}N_2O_3$	C	H	N
Hesaplanan	62,89	6,50	11,28
Bulunan	62,73	6,33	11,20

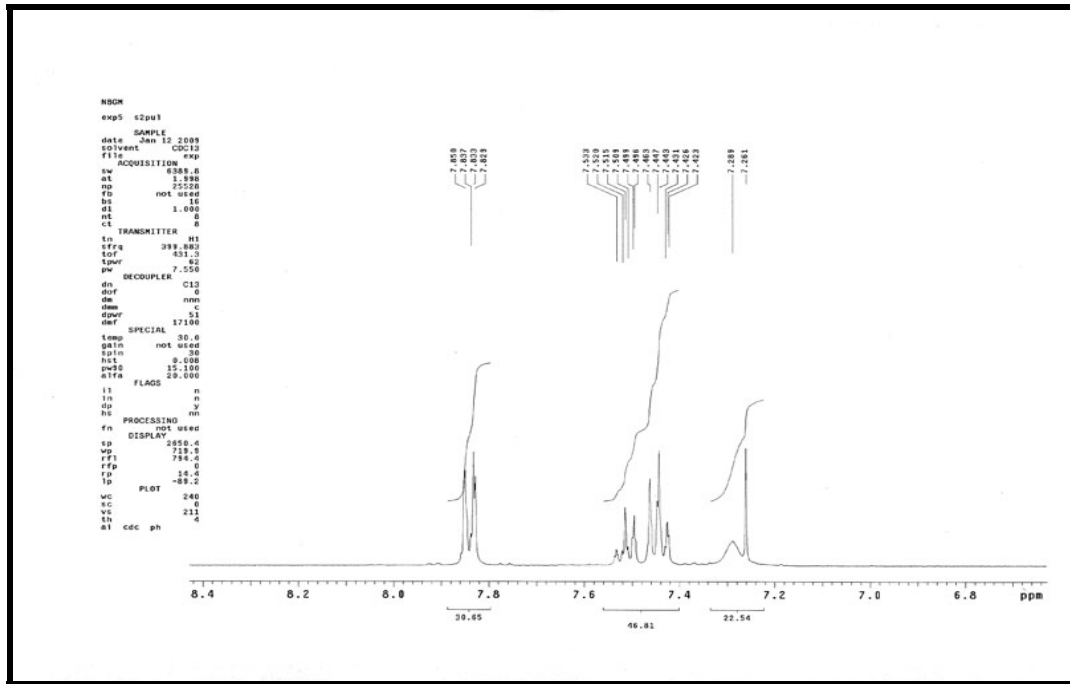




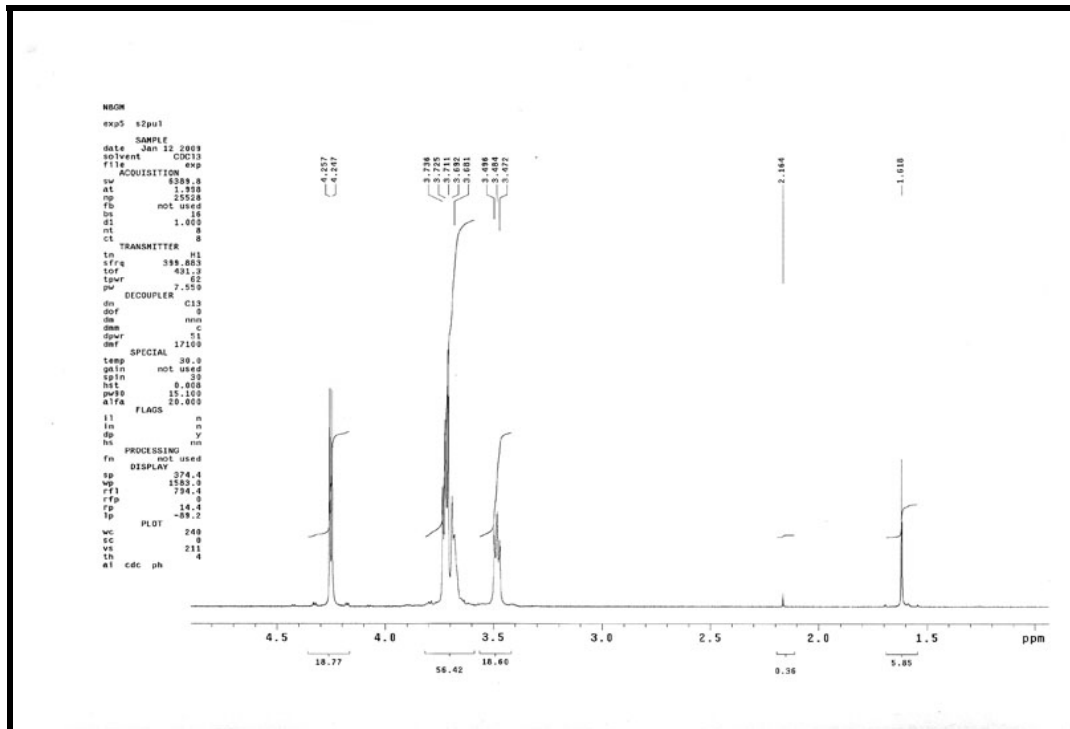
**Spektrum No 11. NBG-M Bileşğinin IR Spektrumu**



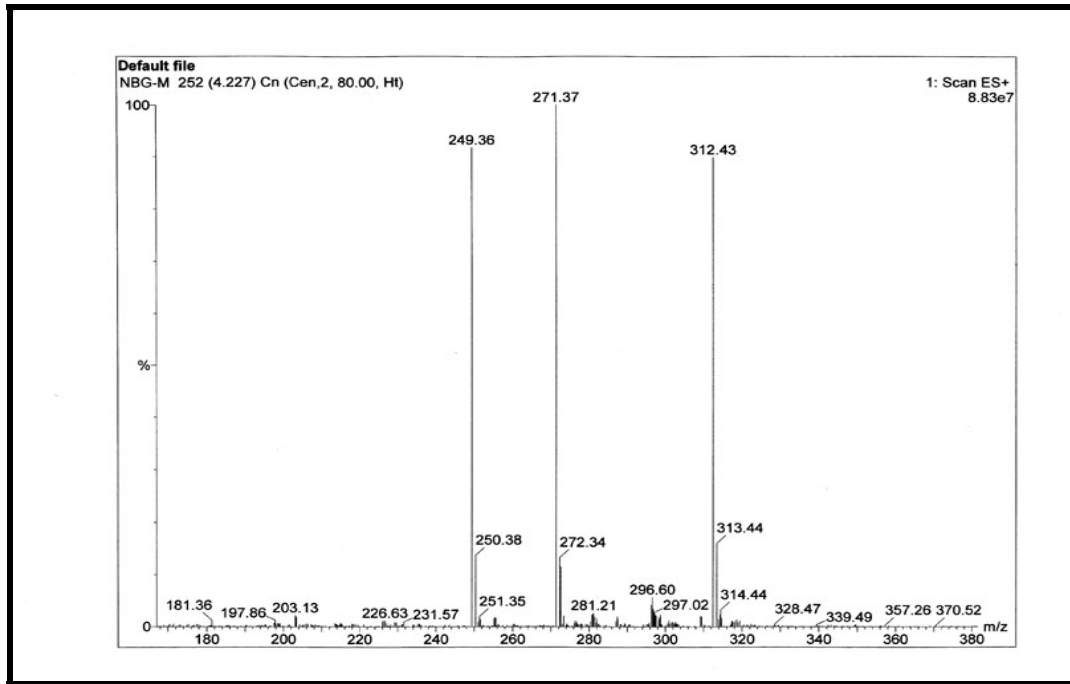
**Spektrum No 12. NBG-M Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



**Spektrum No 13. NBG-M Bileşğinin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**

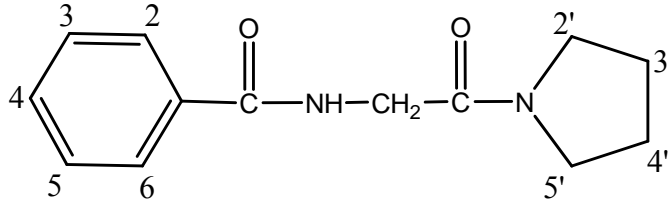


**Spektrum No 14. NBG-M Bileşğinin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



**Spektrum No 15. NBG-M Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NBG-Piro Bileşğinin Spektral Bulguları



*N*-[2-okso-2-(pirolidin-1-il)etil]benzamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 224.5 (4.05), 203.5 (4.21) nm

IR (KBr) (Spektrum No 16)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3390 (N-H gerilim), 3056 (Aromatik C-H gerilim), 2975, 2877 (Alifatik C-H gerilim), 1637 (C=O gerilim), 1515 (Amid II bandı), 1454 (C=C gerilim), 709 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 17, 18, 19)

CDCl<sub>3</sub>

$\delta$  7.86-7.82 ( 2H, m, H-2, H-6 ), 7.51-7.47 ( 1H, m, H-4), 7.46-7.41 ( 2H, m, H-3, H-5), 7.27 ( 1H, brs, -NH-CH<sub>2</sub>-), 4.16 ( 2H, d, *J* 4.3 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 3.55 ( 2H, t, *J* 6.8 Hz, H-2' \*, H-5' \*), 3.47 ( 2H, t, *J* 6.8 Hz, H-2' \*, H-5' \*), 2.07-2.01 ( 2H, m, H-3' \*, H-4' \*), 1.96-1.89 ( 2H, m, H-3' \*, H-4' \*)

\* İki protonun kimyasal kayma değerleri değişebilir

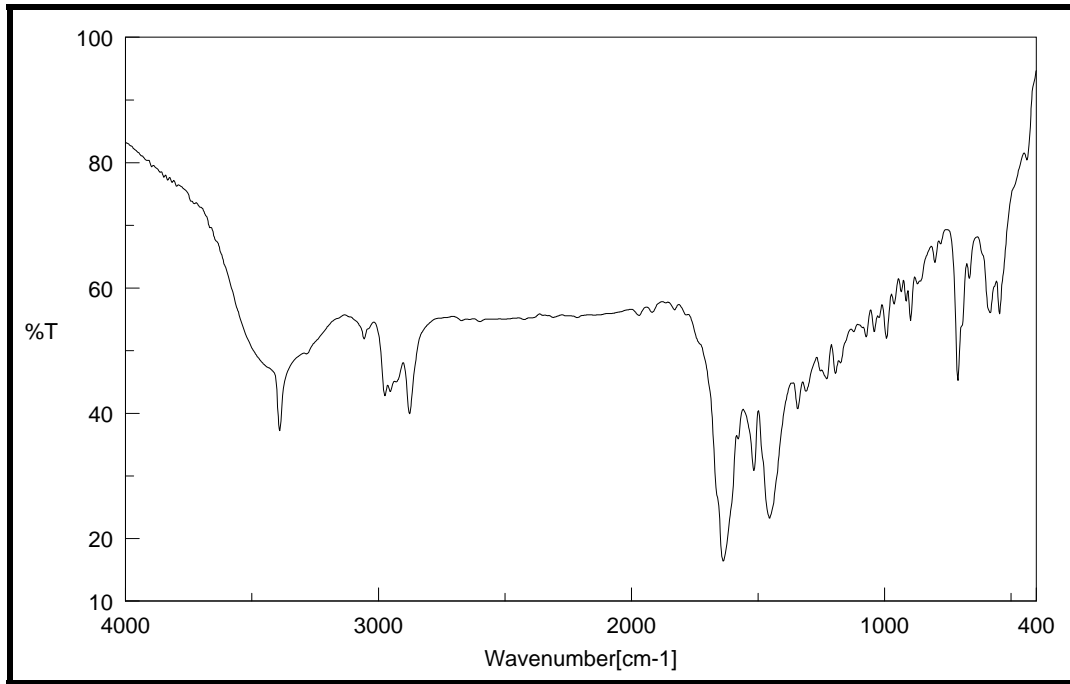
MS (ESI+) (Spektrum No 20)

*m/z* 233 (M+1, 100 %), 234 (M+2, 34 %), 255 (M+23, 100 %), 256 (M+24, 54 %),

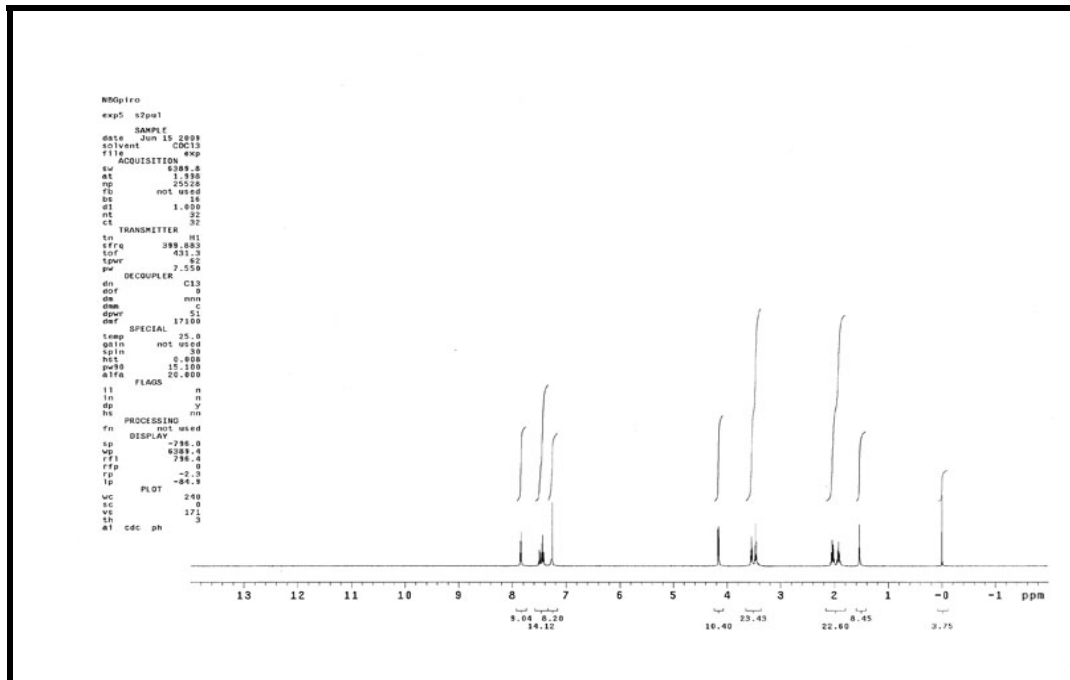
296 (M+64, 93 %), 297 (M+65, 15 %), 368 (M+146, 22 %), 369 (M+147, 12 %)

**Elementel Analiz (%)**

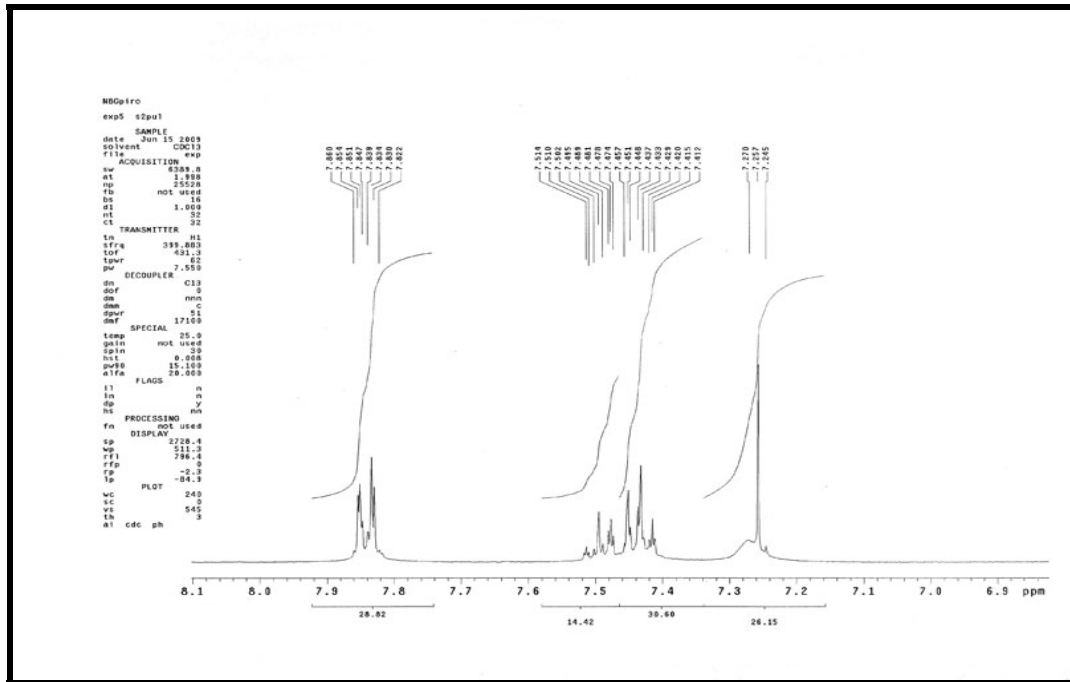
$C_{13}H_{16}N_2O_2 \cdot 0.4H_2O$	C	H	N
Hesaplanan	65,20	7,07	11,70
Bulunan	65,39	6,84	11,65



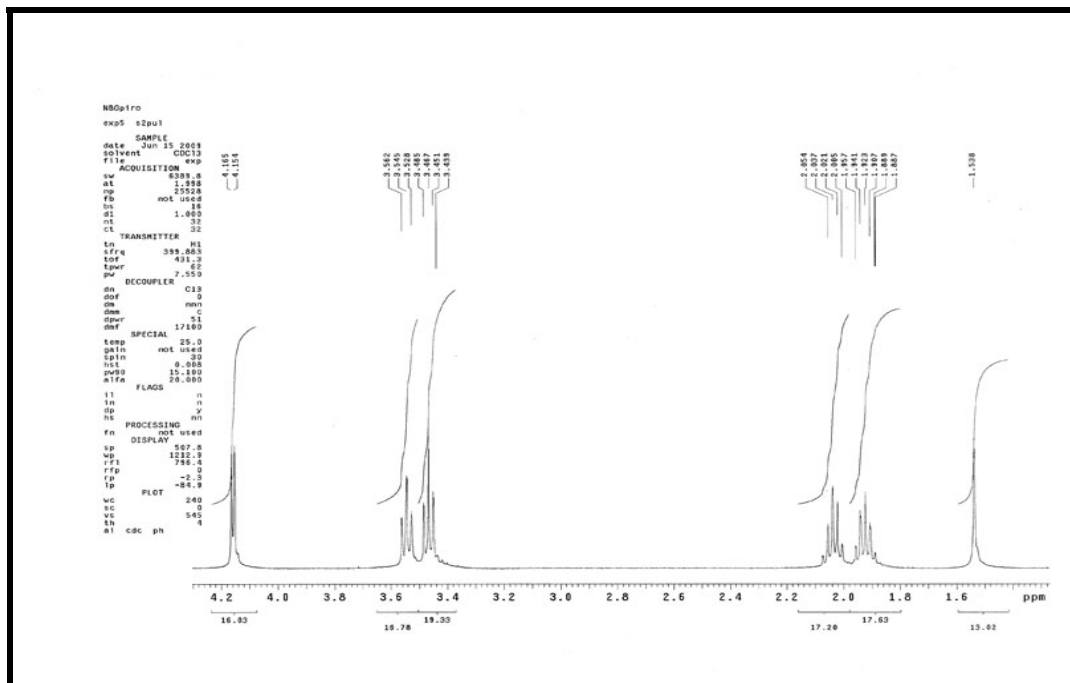
**Spektrum No 16. NBG-Piro Bileşinin IR Spektrumu**



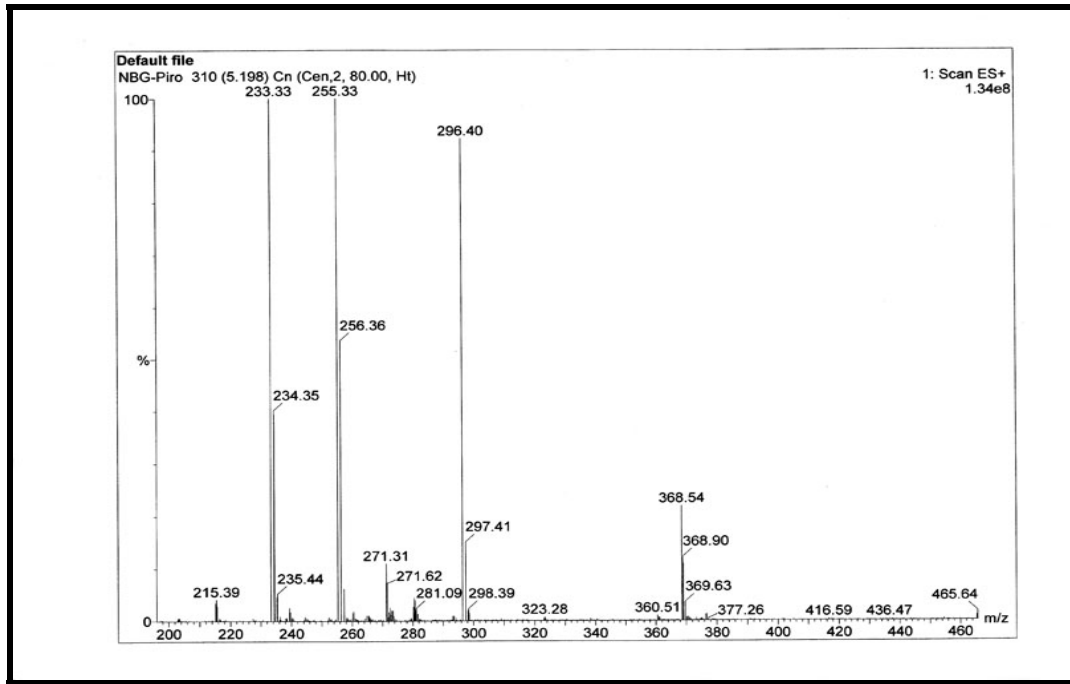
**Spektrum No 17. NBG-Piro Bileşinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



**Spektrum No 18. NBG-Piro Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



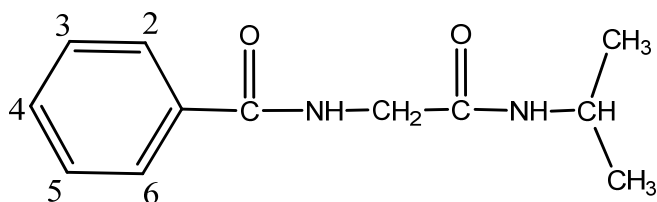
**Spektrum No 19. NBG-Piro Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



**Spektrum No 20. NBG-Piro Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**



## NBG-Isp Bileşiğinin Spektral Bulguları



*N*-[2-(izopropilamino)-2-oksoetil]benzamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 227.5 (4.05), 203.0 (4.18) nm

IR (KBr) (Spektrum No 21)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3289 (N-H gerilim), 3064 (Aromatik C-H gerilim), 2973, 2933, 2875 (Alifatik C-H gerilim), 1658, 1643 (C=O gerilim), 1548 (Amid II bandı), 1492, 1465 (C=C gerilim), 692 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 22, 23, 24)

CDCl<sub>3</sub>

$\delta$  7.84 ( 2H, d, *J* 7.4 Hz, H-2, H-6 ), 7.51 ( 1H, t, *J* 7.4 Hz, H-4), 7.46-7.42 ( 2H, m, H-3, H-5), 7.31 ( 1H, brs, NH-CH<sub>2</sub>-), 6.54 ( 1H, d, *J* 6.6 Hz, -NH-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 4.13 ( 2H, d, *J* 5.1 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 4.10-4.07 ( 1H, m, -NH-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.20 ( 6H, d, *J* 6.6 Hz, -CH<sub>3</sub> )

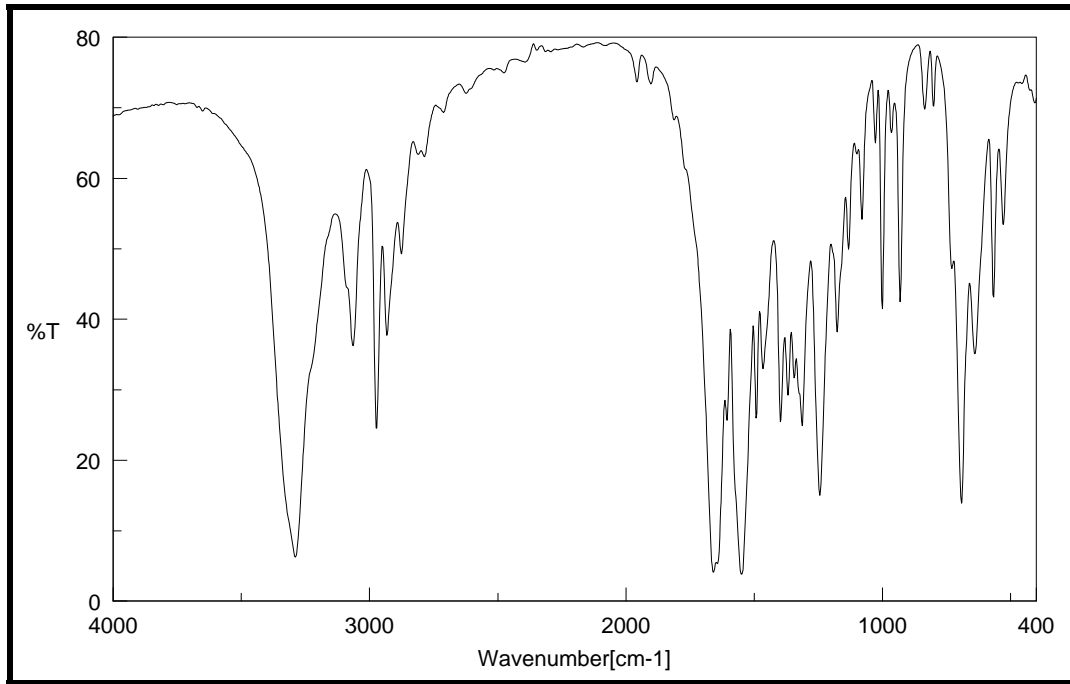
MS (ESI+) (Spektrum No 25)

*m/z* 134 (C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>NO<sup>+</sup>+1, 15 %), 162 (C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>NO<sub>2</sub><sup>+</sup>, 73 %), 221 (M+1, 100 %), 222

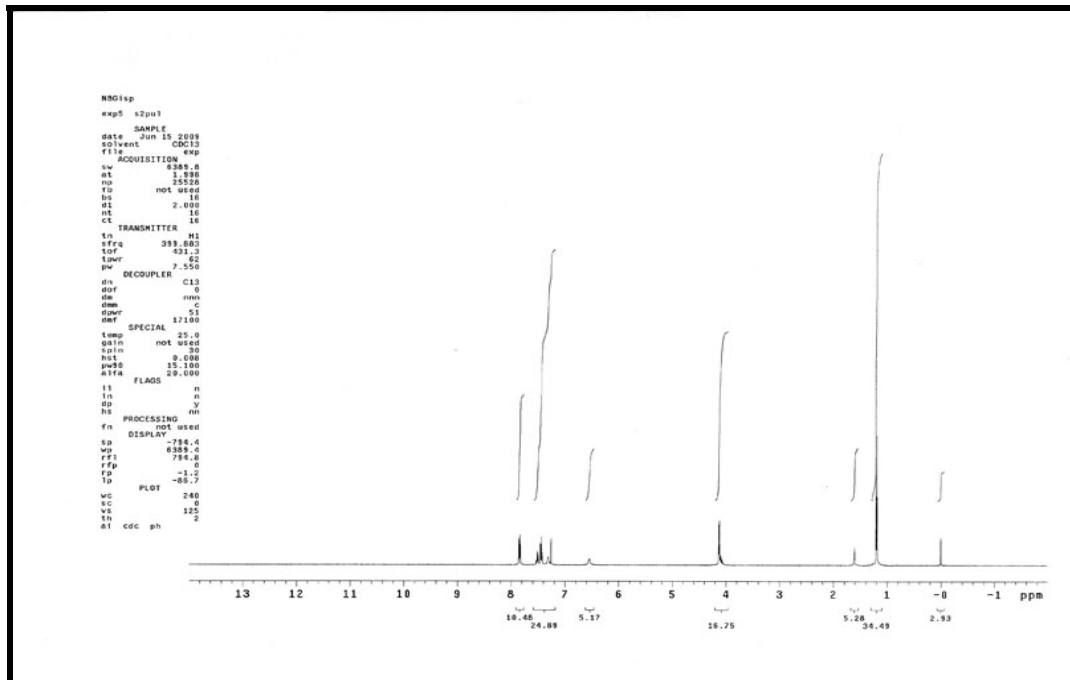
(M+2, 43 %), 243 (M+23, 100%), 244 (M+24, 32 %), 284 (M+64, 85 %), 285 (M+65, 15 %), 350 (M+130, 52 %), 351 (M+131, 22 %)

**Elementel Analiz (%)**

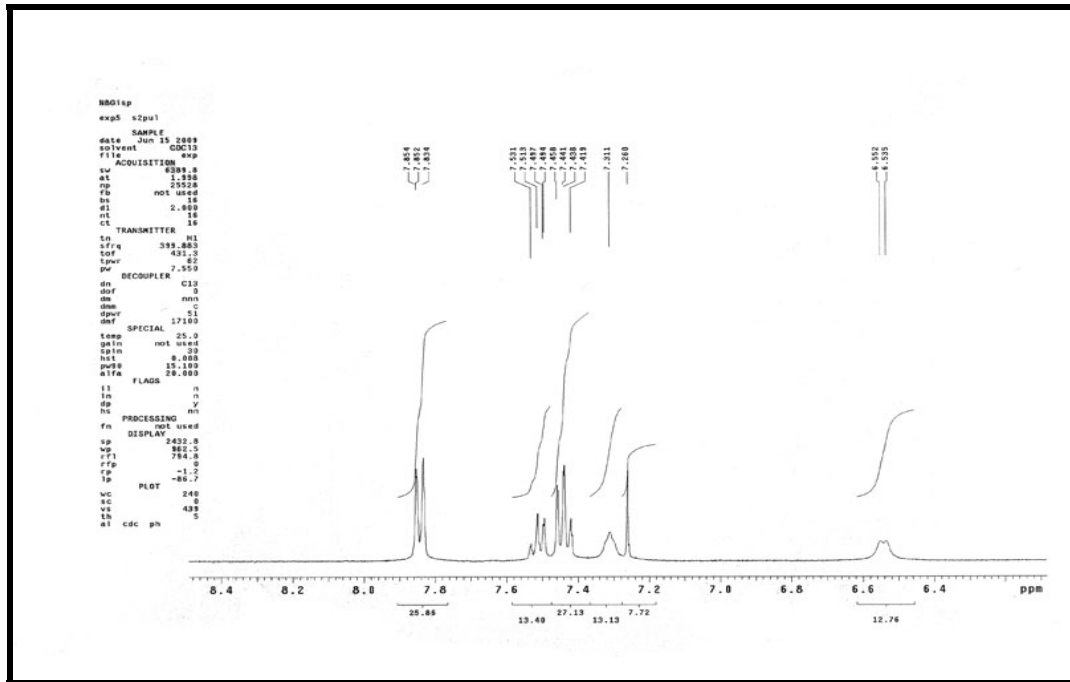
$C_{12}H_{16}N_2O_2 \cdot 0.1H_2O$	C	H	N
Hesaplanan	64,90	7,35	12,61
Bulunan	64,68	6,99	12,44



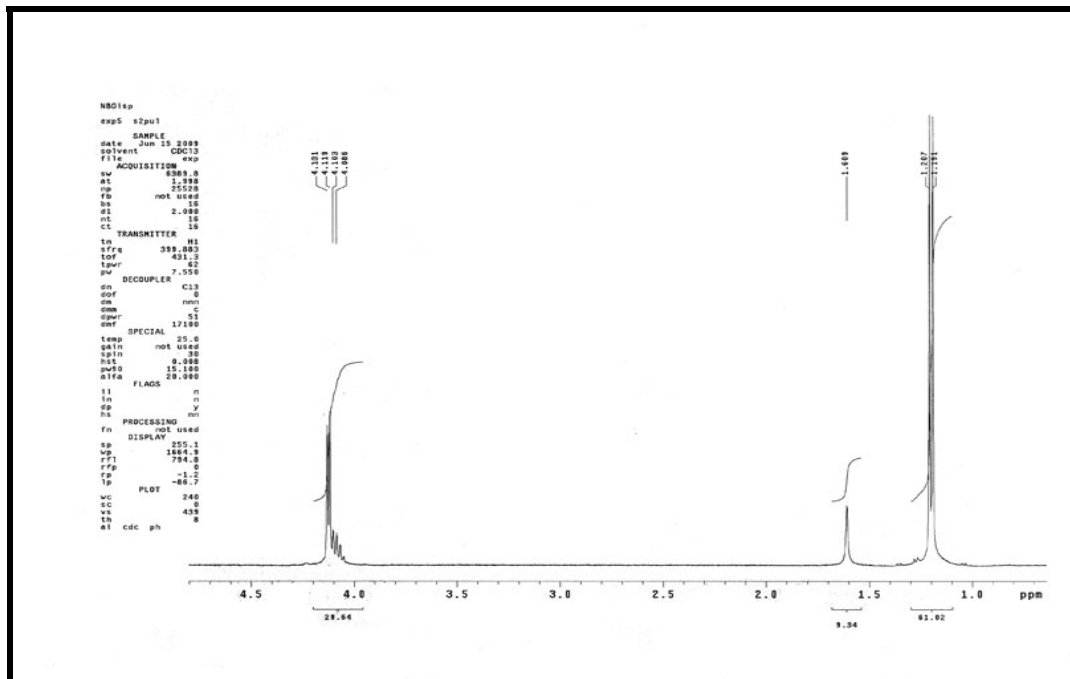
**Spektrum No 21. NBG-Isp Bileşğinin IR Spektrumu**



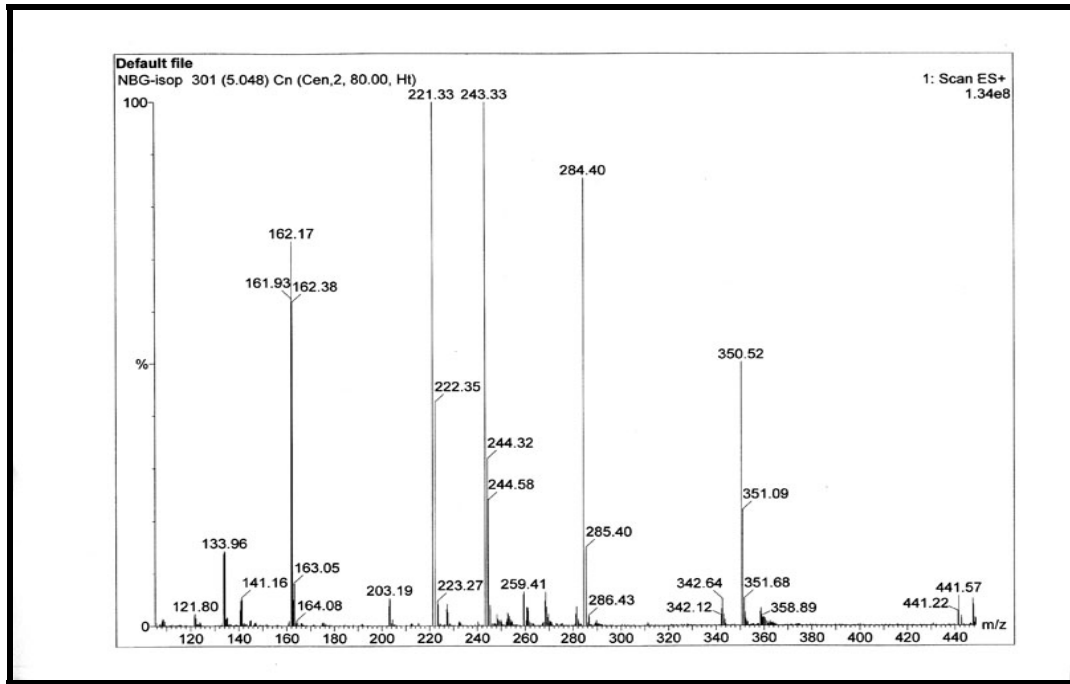
**Spektrum No 22. NBG-Isp Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



**Spektrum No 23. NBG-Isp Bileşığının <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**

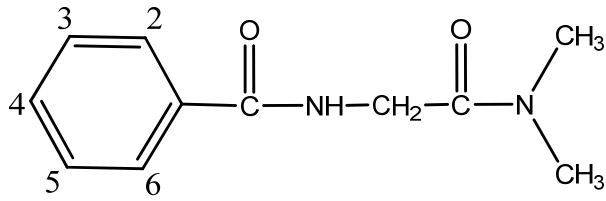


**Spektrum No 24. NBG-Isp Bileşığının <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



**Spektrum No 25. NBG-Isp Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NBG-DM Bileşğinin Spektral Bulguları



*N*-[2-(dimetilamino)-2-oksoetil]benzamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 225.5 (4.09) 205.0 (4.19) nm

IR (KBr) (Spektrum No 26)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3289 (N-H gerilim), 3060 (Aromatik C-H gerilim), 2925, 2867 (Alifatik C-H gerilim), 1668, 1646 (C=O gerilim), 1513 (Amid II bandı), 1475 (C=C gerilim), 709 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 27, 28, 29)

CDCl<sub>3</sub>

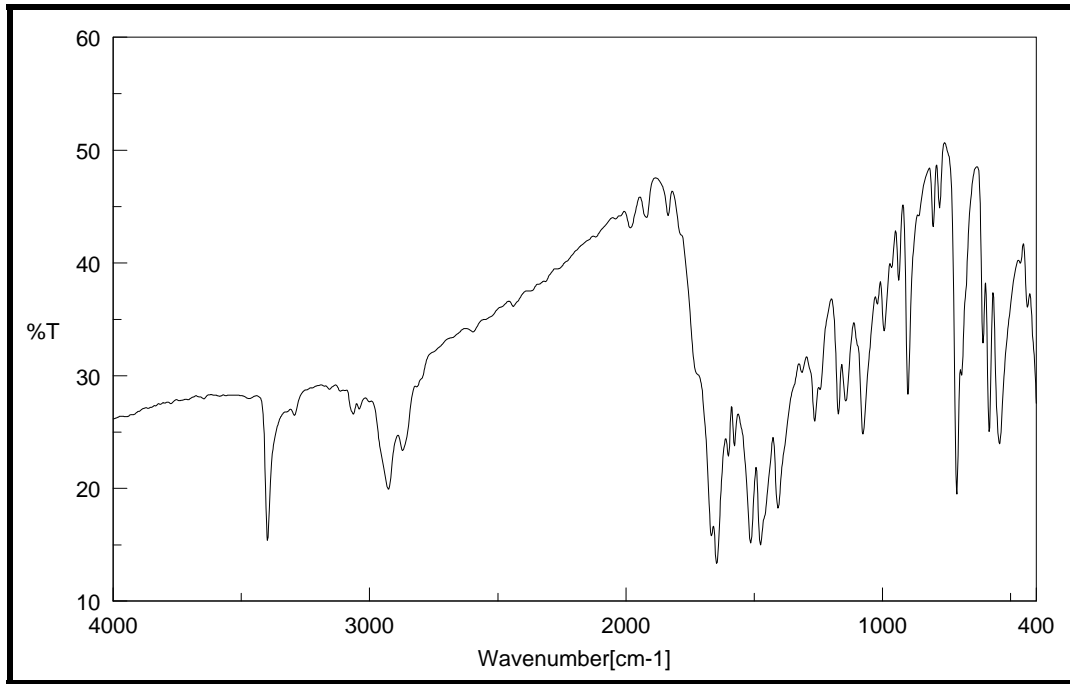
$\delta$  7.86-7.83 ( 2H, m, H-2, H-6 ), 7.52-7.48 ( 1H, m, H-4), 7.46-7.41 ( 2H, m, H-3, H-5), 7.31 ( 1H, brs, -NH-CH<sub>2</sub>-), 4.22 ( 2H, d, *J* 3.5 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 3.04 ( 6H, dd, *J* 7.8, 5.1 Hz, -CH<sub>3</sub>)

MS (ESI+) (Spektrum No 30)

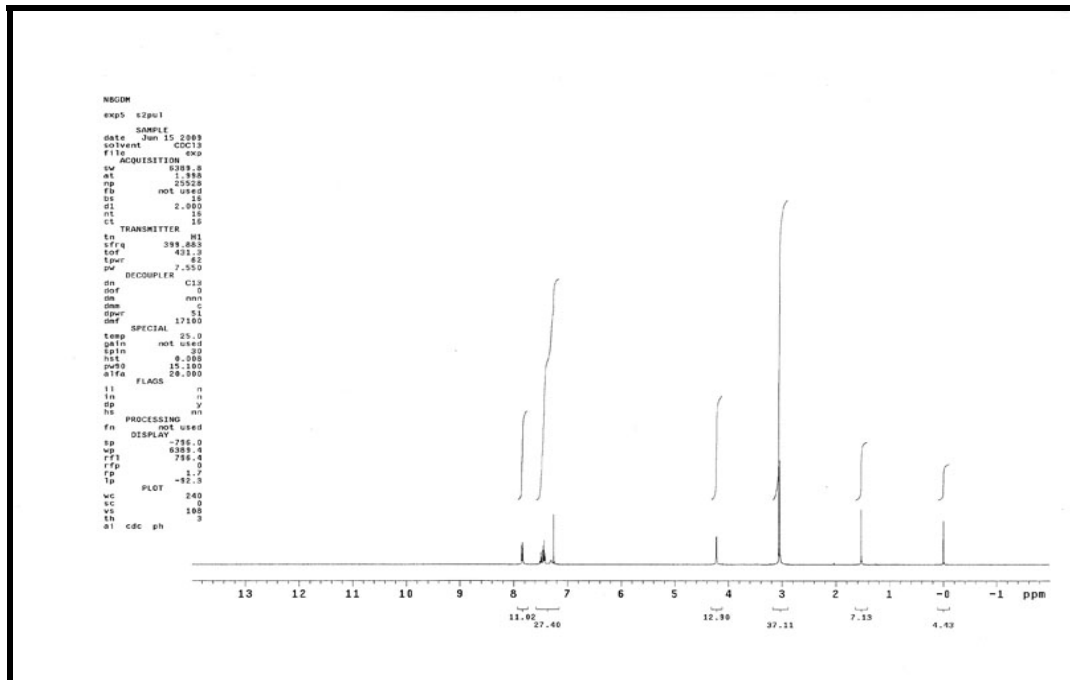
*m/z* 207 (M+1, 32 %), 229 (M+23, 100 %), 230 (M+24, 51 %), 270 (M+64, 100 %), 271 (M+65, 35 %)

**Elementel Analiz (%)**

$C_{11}H_{14}N_2O_2$	C	H	N
Hesaplanan	64,06	6,84	13,58
Bulunan	63,79	6,71	13,39

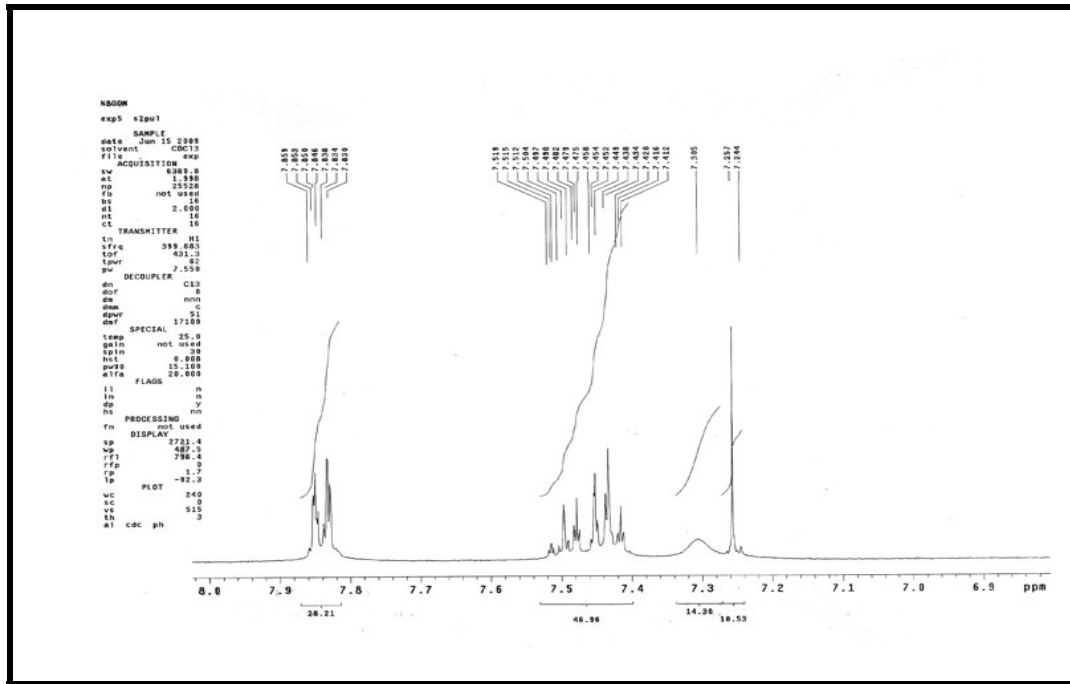


**Spektrum No 26. NBG-DM Bileşğinin IR Spektrumu**

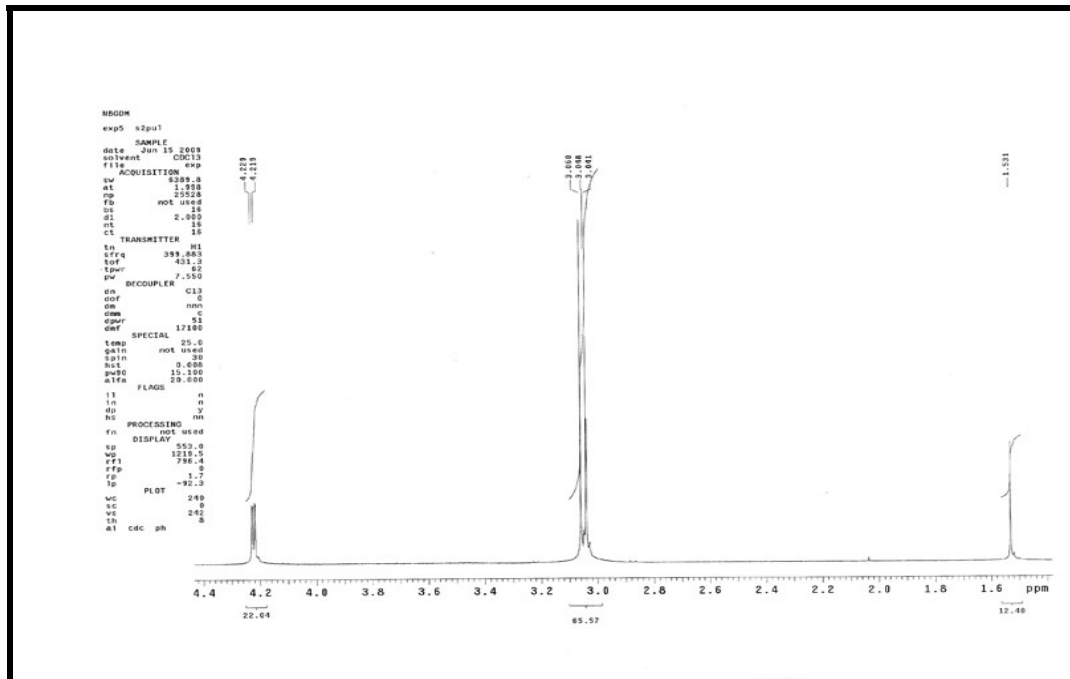


**Spektrum No 27. NBG-DM Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**

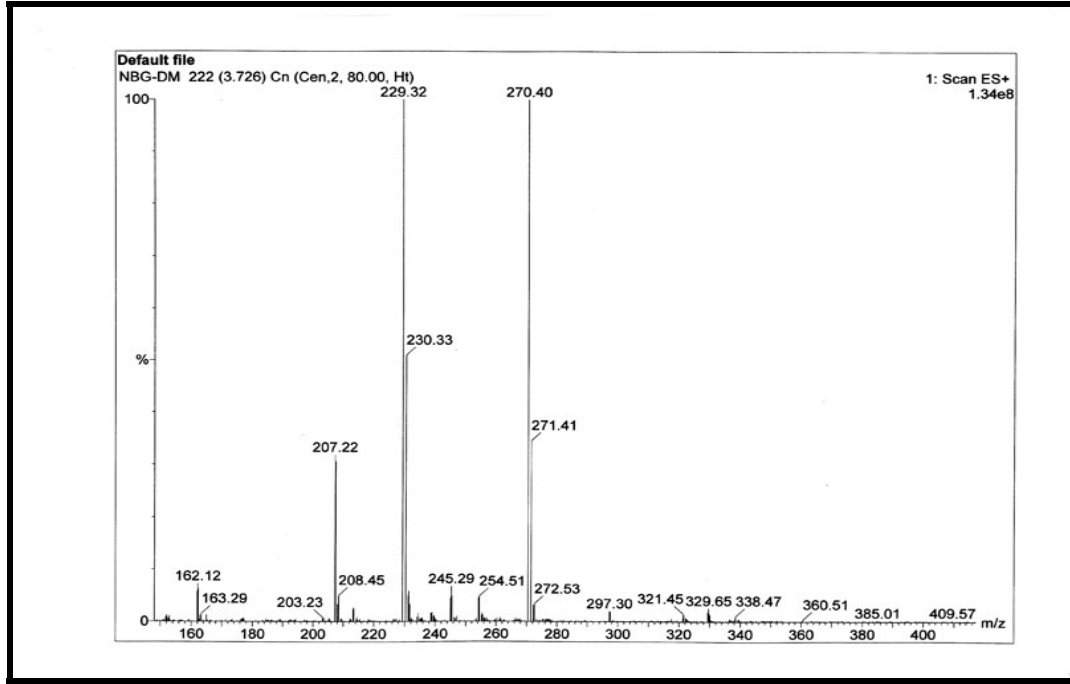




**Spektrum No 28. NBG-DM Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**

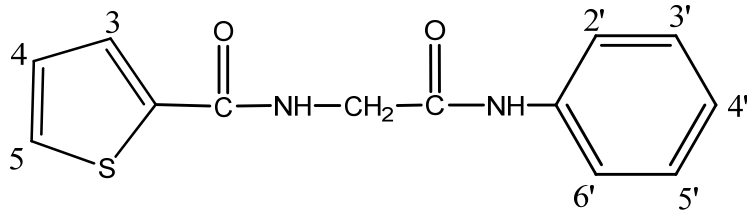


**Spektrum No 29. NBG-DM Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



**Spektrum No 30. NBG-DM Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NTG-A Bileşğinin Spektral Bulguları



*N*-[2-(fenilamino)-2-oksoetil]tiyofen-2-karboksamit

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 246.5 (4.34), 204.5 (4.30) nm

IR (KBr) (Spektrum No 31)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3307, 3278 (N-H gerilim); 3077 (Aromatik C-H gerilim), 1681, 1633 (C=O gerilim), 1550 (Amid II bandı), 1442 (C=C gerilim), 755, 719, 692 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 32, 33, 34)

DMSO<sub>6</sub>

$\delta$  10.03 (1H, brs, NH-Ar), 8.83 (1H, t, *J* 5.9 Hz, NH-CH<sub>2</sub>-), 7.83-7.82 (1H, m, H-3), 7.78-7.68 (1H, m, H-5), 7.60 (2H, d, *J* 7.8 Hz, H-2', H-6'), 7.31 (2H, t, *J* 7.8 Hz, H-3', H-5'), 7.17 (1H, dd, *J* 5.1, 3.9 Hz, H-4), 7.05 (1H, t, *J* 7.4 Hz, H-4'), 4.04 (2H, d, *J* 5.9 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>)

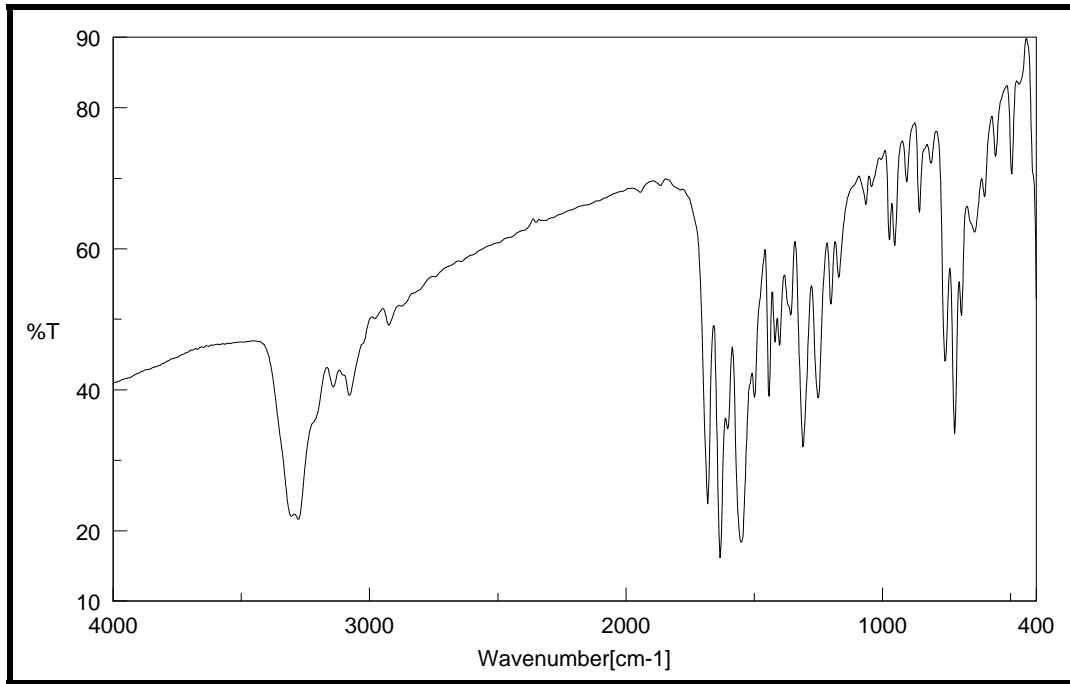
MS (ESI+) (Spektrum No 35)

*m/z* 168 (C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>NO<sub>2</sub>S<sup>+</sup>, 24 %), 261 (M+1, 19 %), 262 (M+2, 13 %), 283 (M+23, 100

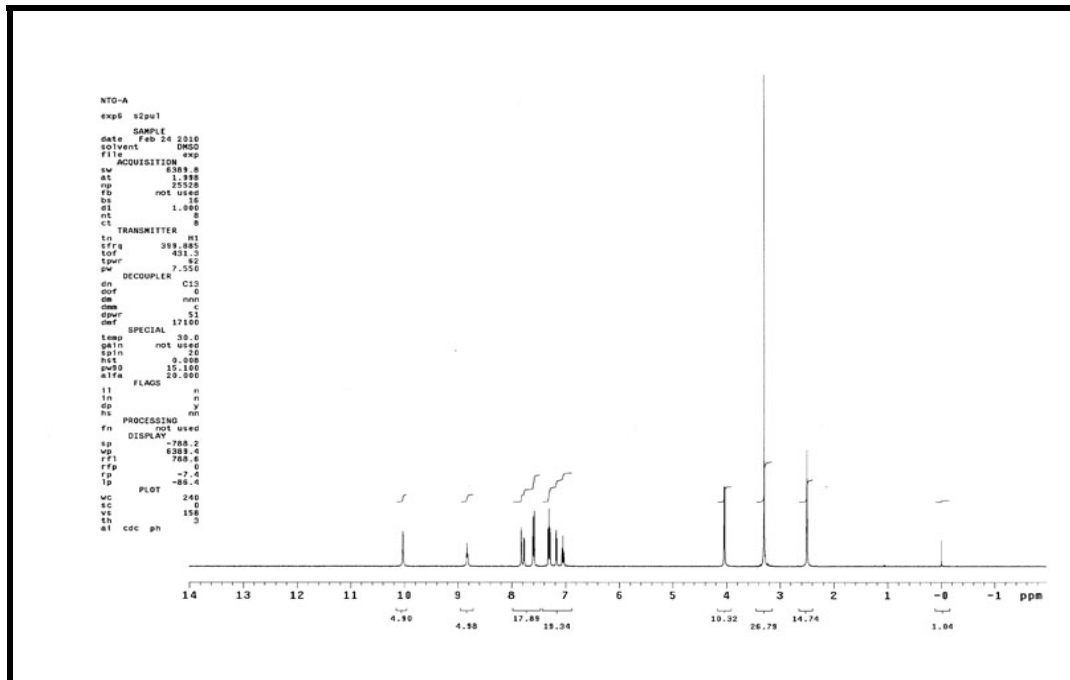
%), 284 (M+24, 17 %), 324 (M+64, 100 %), 325 (M+65, 20 %)

**Elementel Analiz (%)**

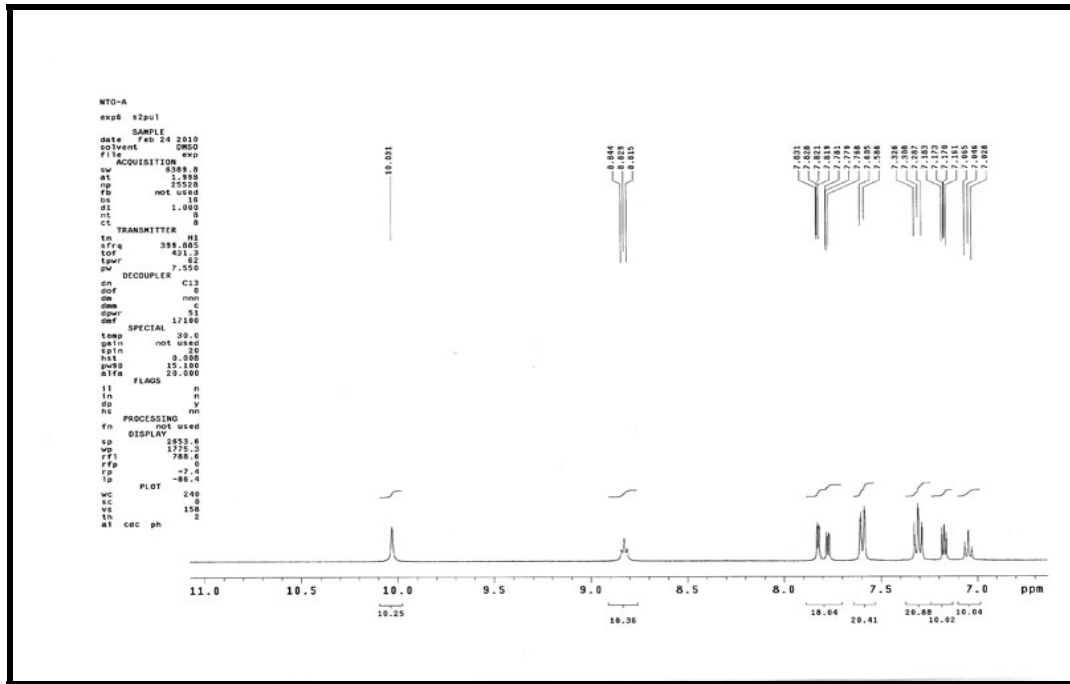
$C_{13}H_{12}N_2O_2S$	C	H	N	S
Hesaplanan	59,98	4,65	10,76	12,32
Bulunan	59,64	4,39	10,76	12,30



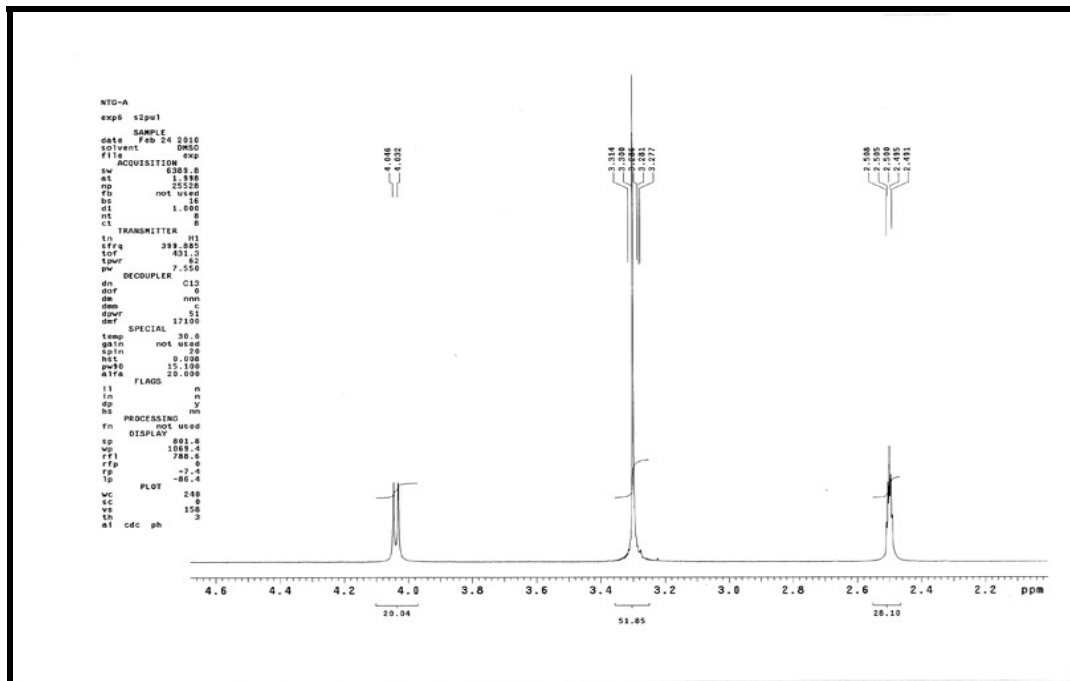
**Spektrum No 31. NTG-A Bileşğinin IR Spektrumu**



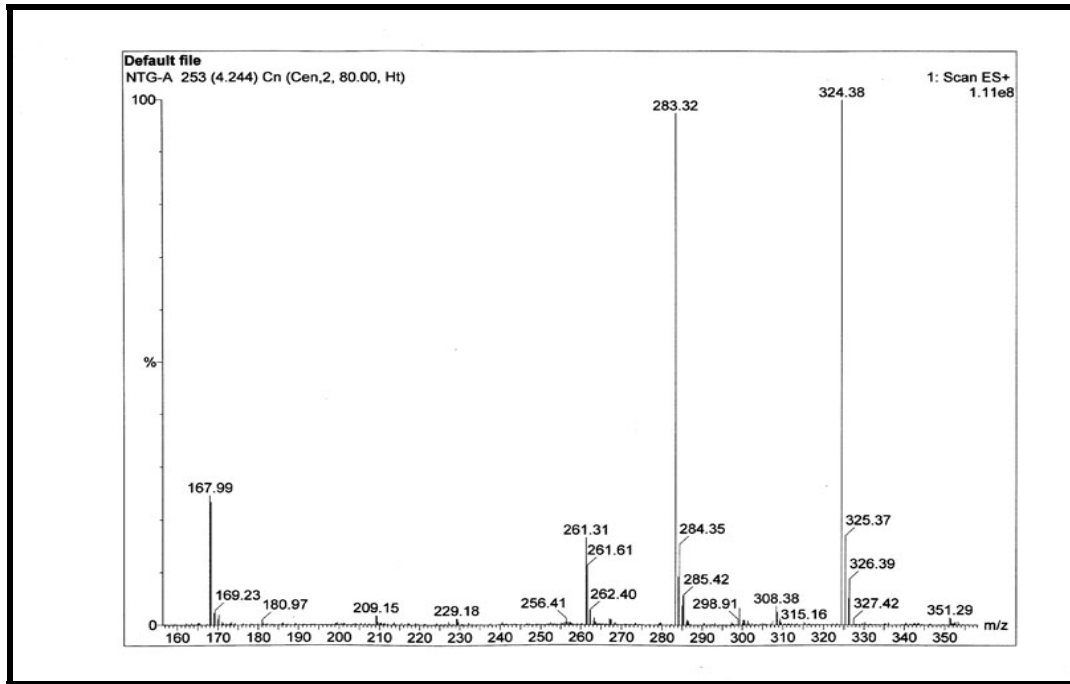
**Spektrum No 32. NTG-A Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



**Spektrum No 33. NTG-A Bileşğinin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**

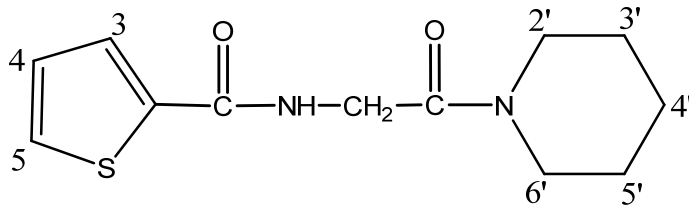


**Spektrum No 34. NTG-A Bileşğinin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



**Spektrum No 35. NTG-A Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NTG-P Bileşğinin Spektral Bulguları



*N*-[2-okso-2-(piperidin-1-il)etil]tiyofen-2-karboksamit

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 249.0 (4.04), 203.5 (4.11) nm

IR (KBr) (Spektrum No 36)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3276 (N-H gerilim), 3073 (=C-H gerilim), 2933, 2856 ( Alifatik C-H gerilim), 1635 (C=O gerilim), 1554 (Amid II bandı), 1459 (C=C gerilim), 746, 718 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 37, 38, 39)

CDCl<sub>3</sub>

$\delta$  7.58 ( 1H, dd, *J* 3.9, 1.2 Hz, H-3 ), 7.48 ( 1H, dd, *J* 5.1, 1.2 Hz, H-5 ), 7.23 ( 1H, brs, -NH-CH<sub>2</sub>-), 7.08 ( 1H, dd, *J* 5.1, 3.9 Hz, H-4 ), 4.21 ( 2H, d, *J* 3.9 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>- ), 3.63-3.60 ( 2H, m, H-2' \*, H-6' \*), 3.39 ( 2H, t, *J* 5.5 Hz, H-2' \*, H-6' \*), 1.72-1.56 (6H, m, H-3' , H-4' , H-5' )

\* İki protonun kimyasal kayma değerleri değişebilir

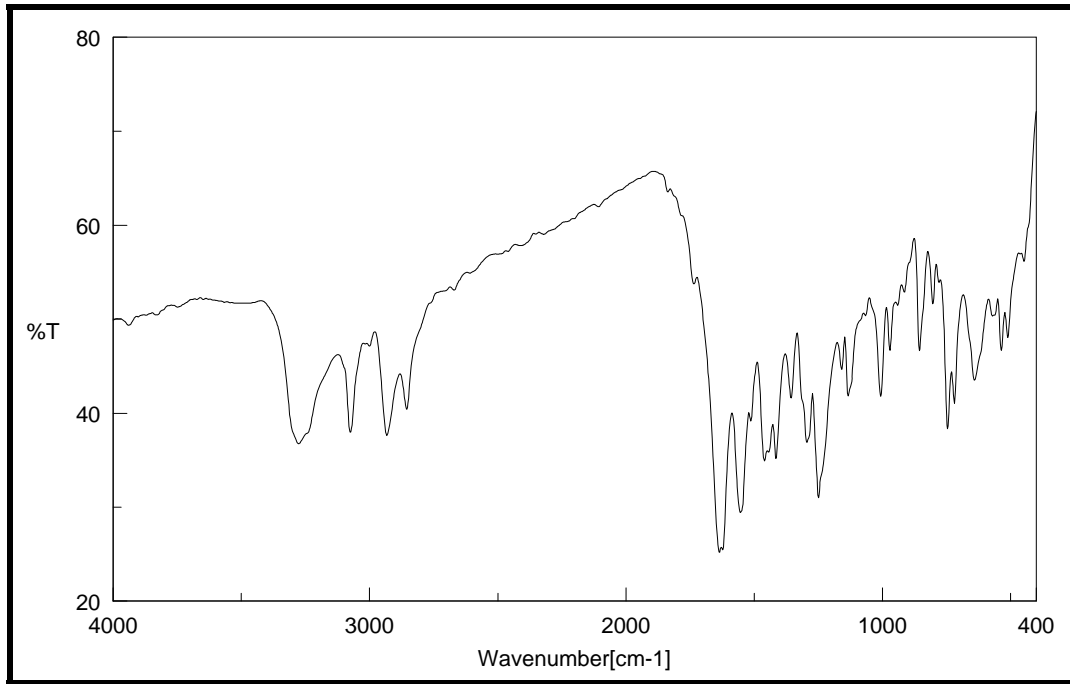


**MS (ESI+) ( Spektrum No 40)**

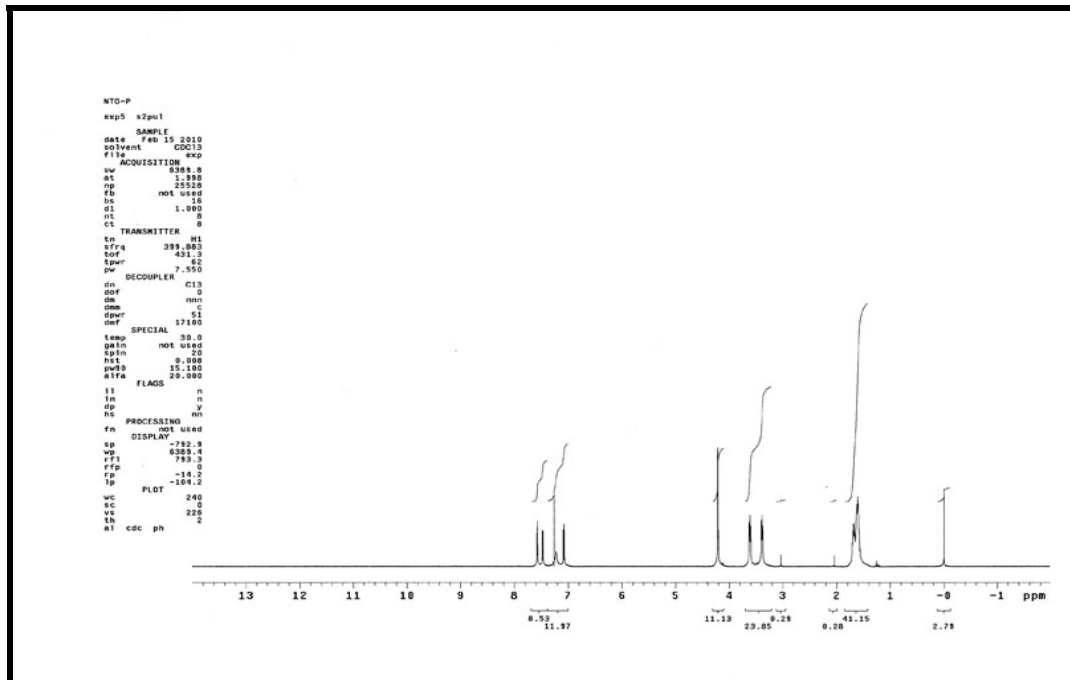
m/z 253 (M+1, 53 %), 254 (M+2, 6 %), 275 (M+23, 100 %), 276 (M+24, 58%), 277 (M+25, 26 %), 316 (M+64, 100 %), 317 (M+65, 34 %), 318 (M+66, 13 %)

**Elementel Analiz (%)**

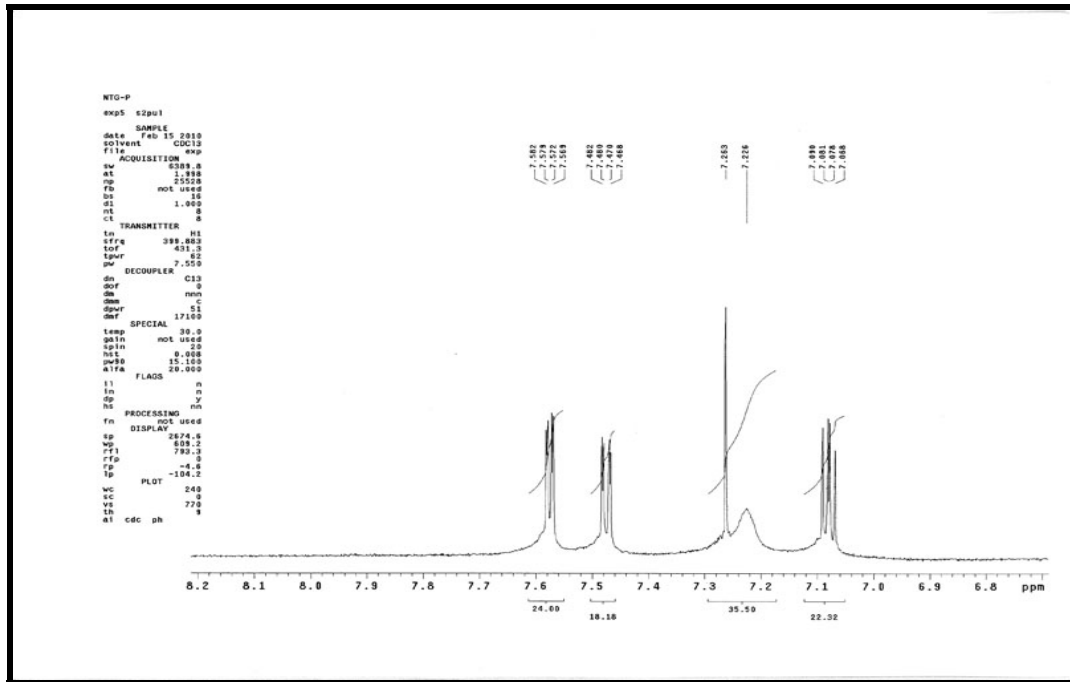
$C_{12}H_{16}N_2O_2S$	C	H	N	S
Hesaplanan	57,12	6,39	11,10	12,71
Bulunan	57,16	6,41	11,07	12,78



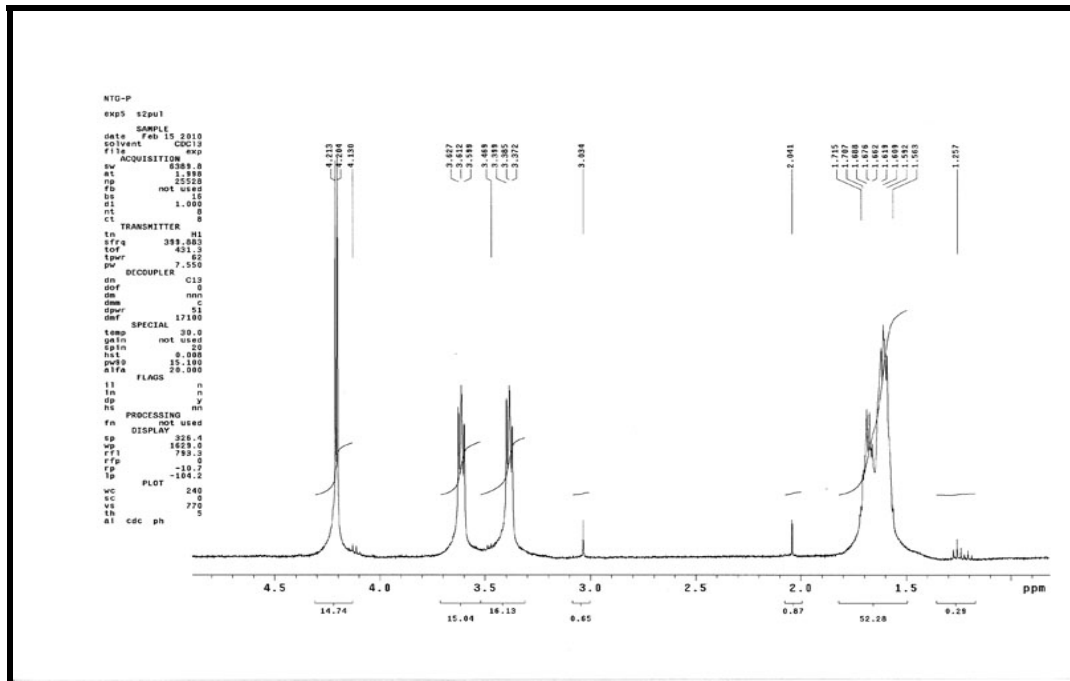
**Spektrum No 36. NTG-P Bileşğinin IR Spektrumu**



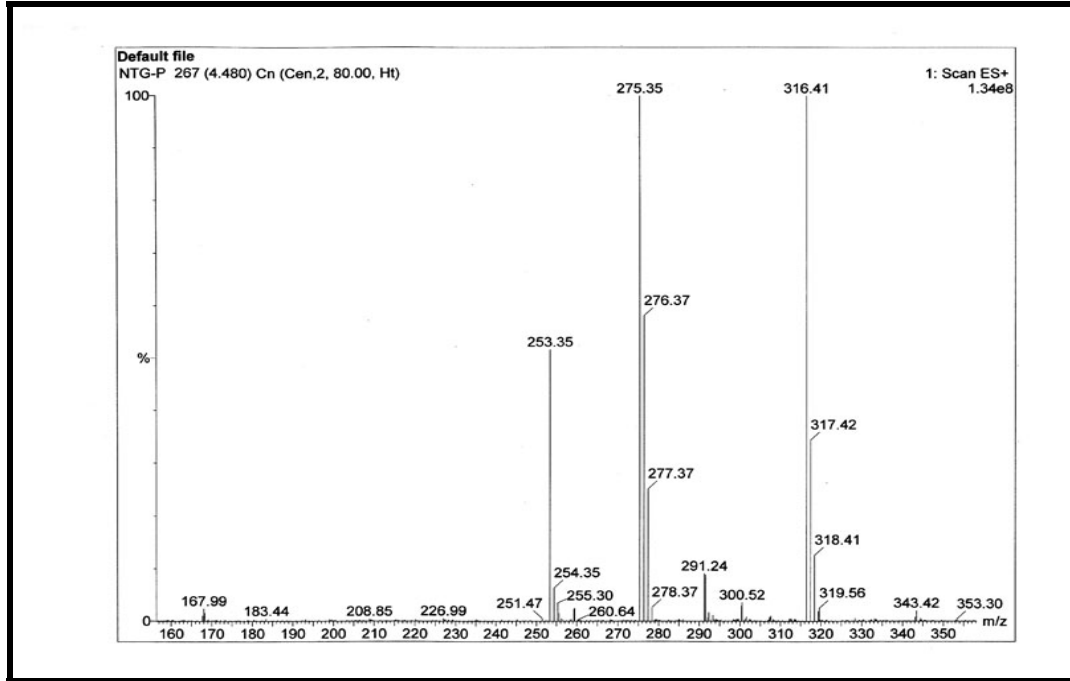
**Spektrum No 37. NTG-P Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



**Spektrum No 38. NTG-P Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**

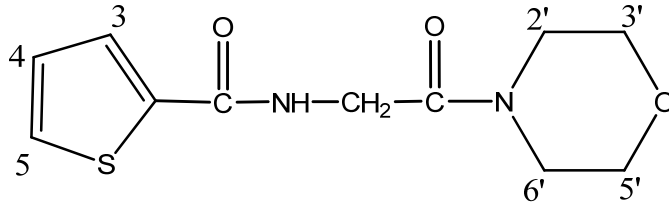


**Spektrum No 39. NTG-P Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



**Spektrum No 40. NTG-P Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NTG-M Bileşğinin Spektral Bulguları



*N*-(2-morfolino-2-oksoetil)tiyofen-2-karboksamit

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 249.0 (3.95), 204.0 (4.01) nm

IR (KBr) (Spektrum No 41)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3396, 3374 (N-H gerilim), 3089 (=C-H gerilim), 2967, 2933, 2856 (Alifatik C-H gerilim), 1641 (C=O gerilim), 1554 (Amid II bandı), 1459 (C=C gerilim), 738 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 42, 43, 44)

CDCl<sub>3</sub>

$\delta$  7.58 ( 1H, d, *J* 3.9 Hz, H-3 ), 7.49 ( 1H, d, *J* 5.1 Hz, H-5 ), 7.13 ( 1H, brs, -NH-CH<sub>2</sub>-), 7.09 ( 1H, dd, *J* 5.1, 4.3 Hz, H-4 ), 4.23 ( 2H, d, *J* 4.3 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 3.73-3.68 ( 6H, m, H-2' \*, H-3' , H-5' , H-6' \*), 3.48-3.46 ( 2H, m, H-2' \*, H-6' \*)

\* İki protonun kimyasal kayma değerleri değişebilir

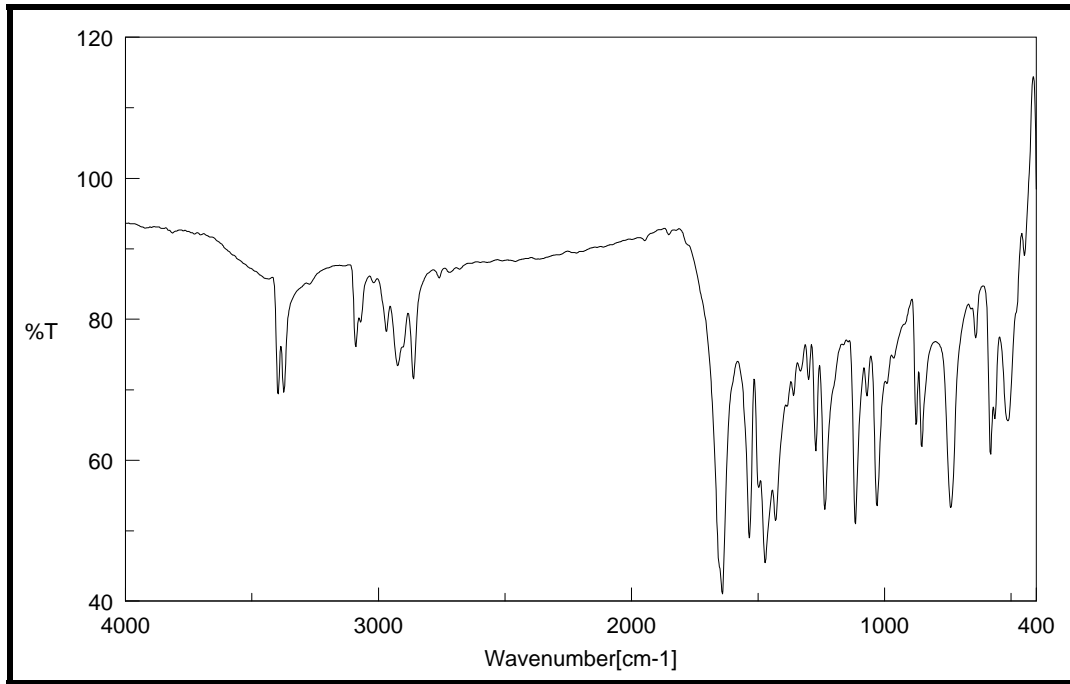
MS (ESI+) (Spektrum No 45)

*m/z* 255 (M+1, 63 %), 256 (M+2, 9 %), 277 (M+23, 100 %), 278 (M+24, 26 %),

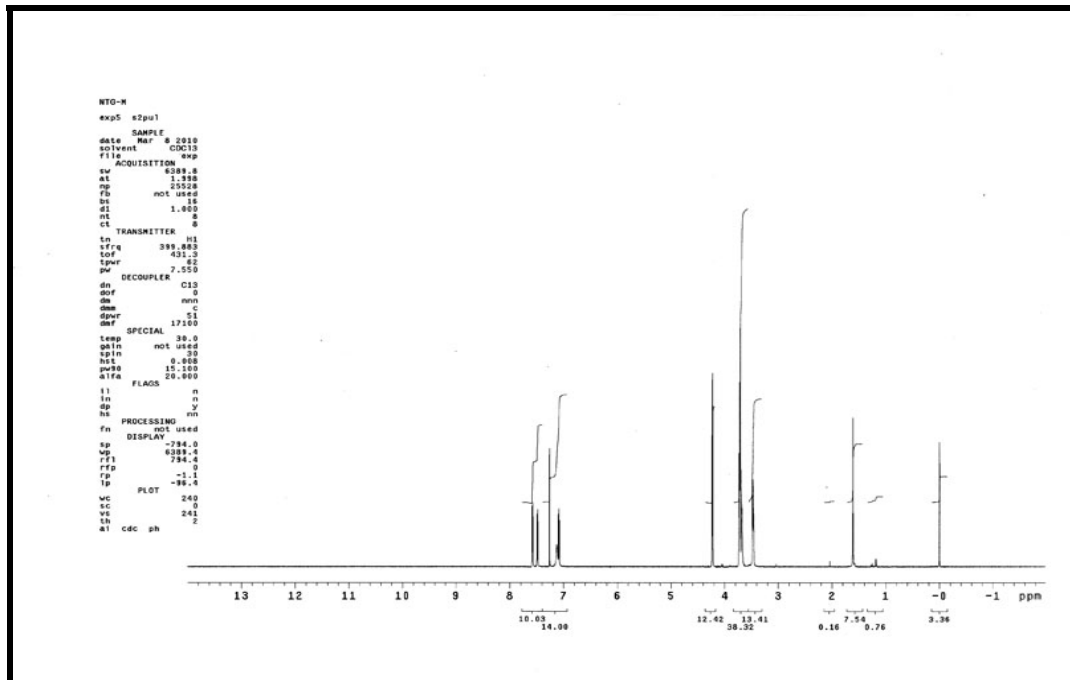
279 (M+25, 12 %), 318 (M+64, 63%), 319 (M+65, 11 %), 401 (M+147, 23 %), 402 (M+148, 10 %)

**Elementel Analiz (%)**

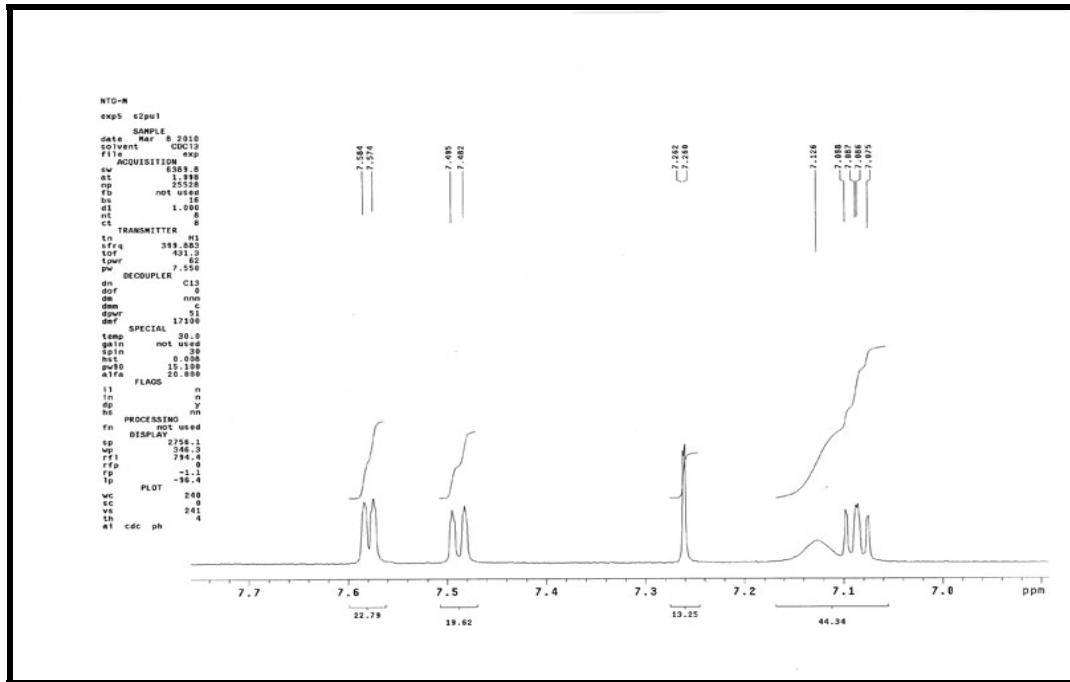
$C_{11}H_{14}N_2O_3S$	C	H	N	S
Hesaplanan	51,95	5,55	11,02	12,61
Bulunan	51,99	5,35	10,96	12,59



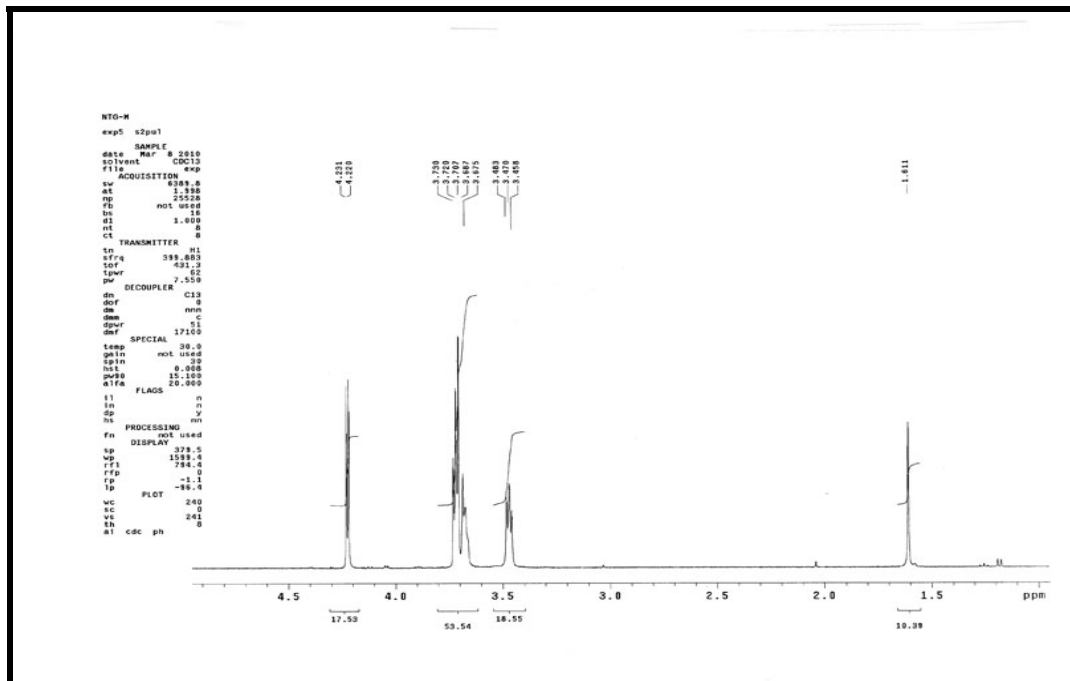
**Spektrum No 41. NTG-M Bileşğinin IR Spektrumu**



**Spektrum No 42. NTG-M Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**

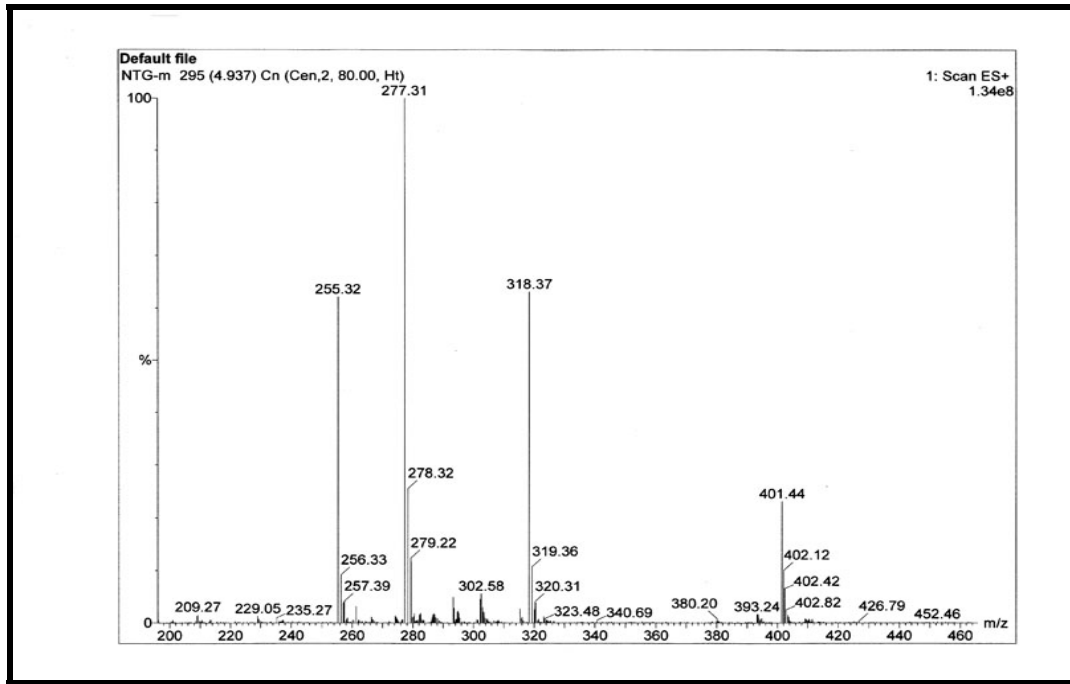


**Spektrum No 43. NTG-M Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



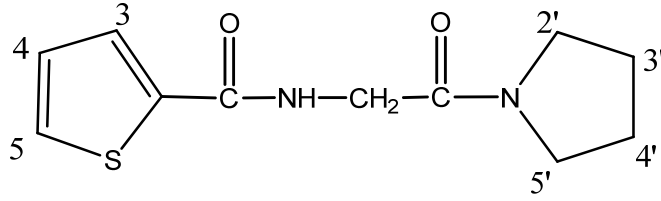
**Spektrum No 44. NTG-M Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**





**Spektrum No 45. NTG-M Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NTG-Piro Bileşğinin Spektral Bulguları



*N*-[2-okso-2-(pirolidin-1-il)etil]tiyofen-2-karboksamit

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 249.5 (4.01), 203.5 (4.05) nm

IR (KBr) (Spektrum No 46)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3295 (N-H gerilim), 3085 (=C-H gerilim), 2933, 2873 (Alifatik C-H gerilim), 1656, 1633 (C=O gerilim), 1552 (Amid II bandı), 1454 (C=C gerilim), 742 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 47, 48, 49)

CDCl<sub>3</sub>

$\delta$  7.58 ( 1H, dd, *J* 3.9, 1.2 Hz, H-3 ), 7.48-7.47 ( 1H, m, H-5 ), 7.14 ( 1H, brs, -NH-CH<sub>2</sub>-), 7.08 ( 1H, dd, *J* 5.1, 3.9 Hz, H-4 ), 4.15 ( 2H, d, *J* 3.9 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 3.54 ( 2H, t, *J* 7.0 Hz, H-2' \*, H-5' \*), 3.46-3.42 ( 2H, m, H-2' \*, H-5' \*), 2.06-1.98 ( 2H, m, H-3' \*, H-4' \*), 1.95-1.88 ( 2H, m, H-3' \*, H-4' \*)

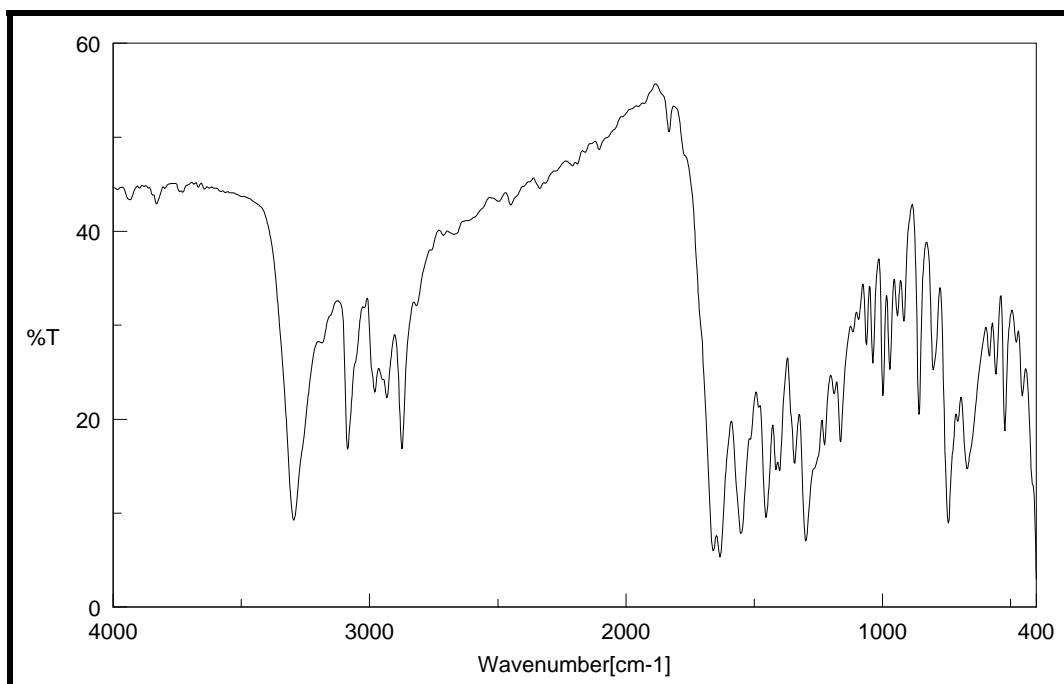
\* İki protonun kimyasal kayma değerleri değişebilir

**MS (ESI+) ( Spektrum No 50)**

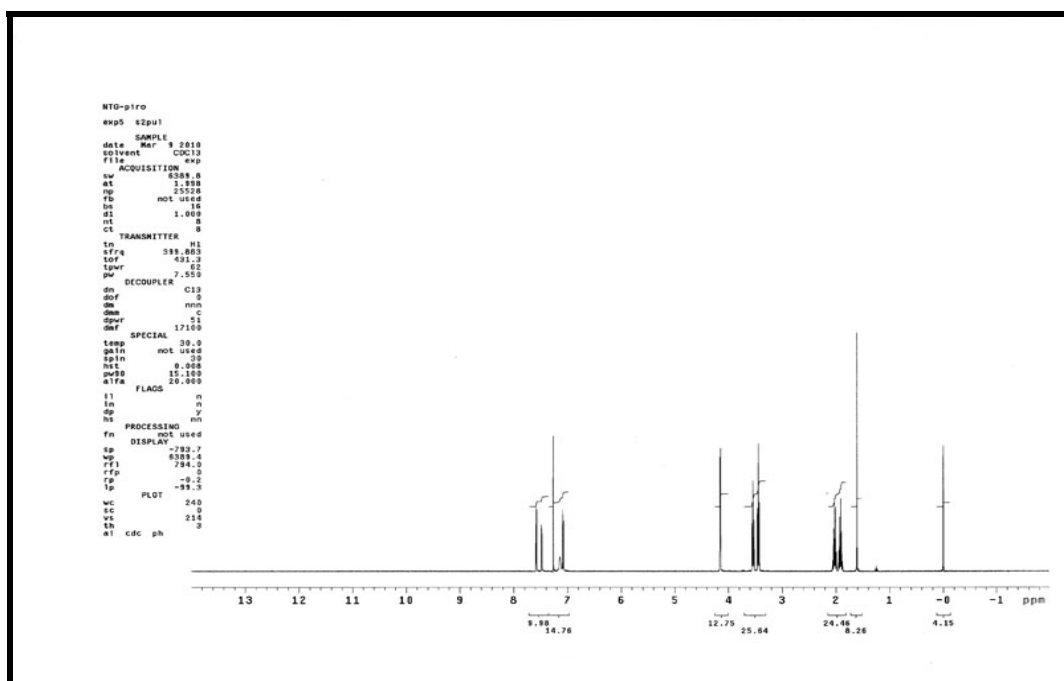
m/z 239 (M+1, 75 %), 240 (M+2, 9 %), 241 (M+3, 4 %), 261 (M+23, 100 %), 262 (M+24, 62 %), 263 (M+25, 30 %), 302 (M+64, 100 %), 303 (M+65, 24 %), 304 (M+66, 10 %)

**Elementel Analiz (%)**

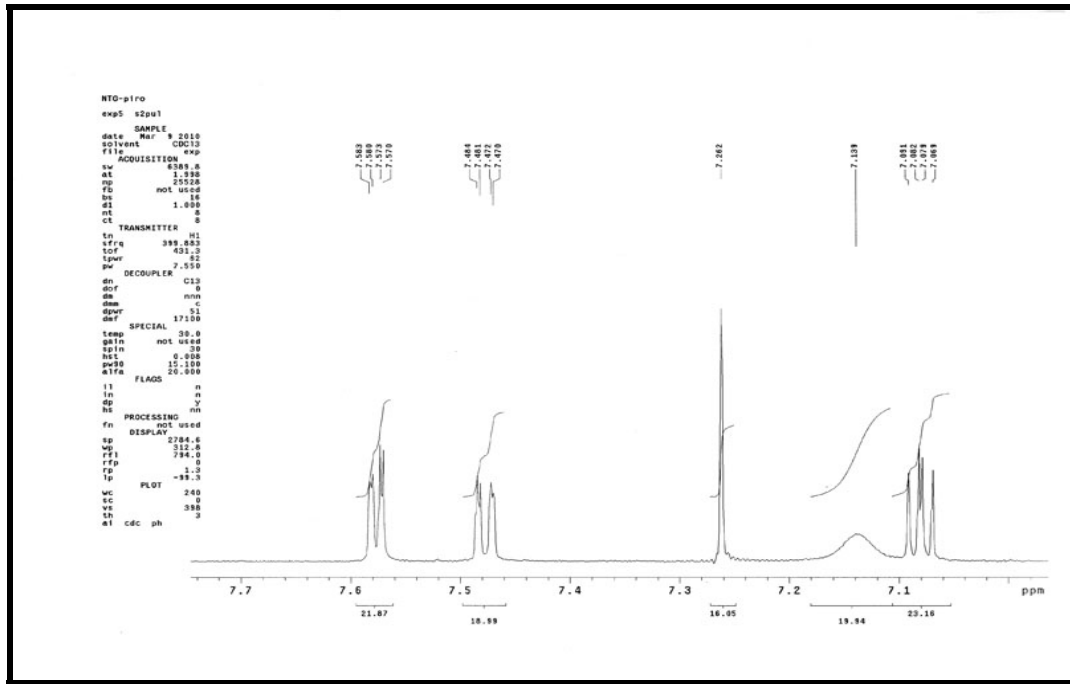
$C_{11}H_{14}N_2O_2S$	C	H	N	S
Hesaplanan	55,44	5,92	11,76	13,46
Bulunan	55,32	5,93	11,75	13,55



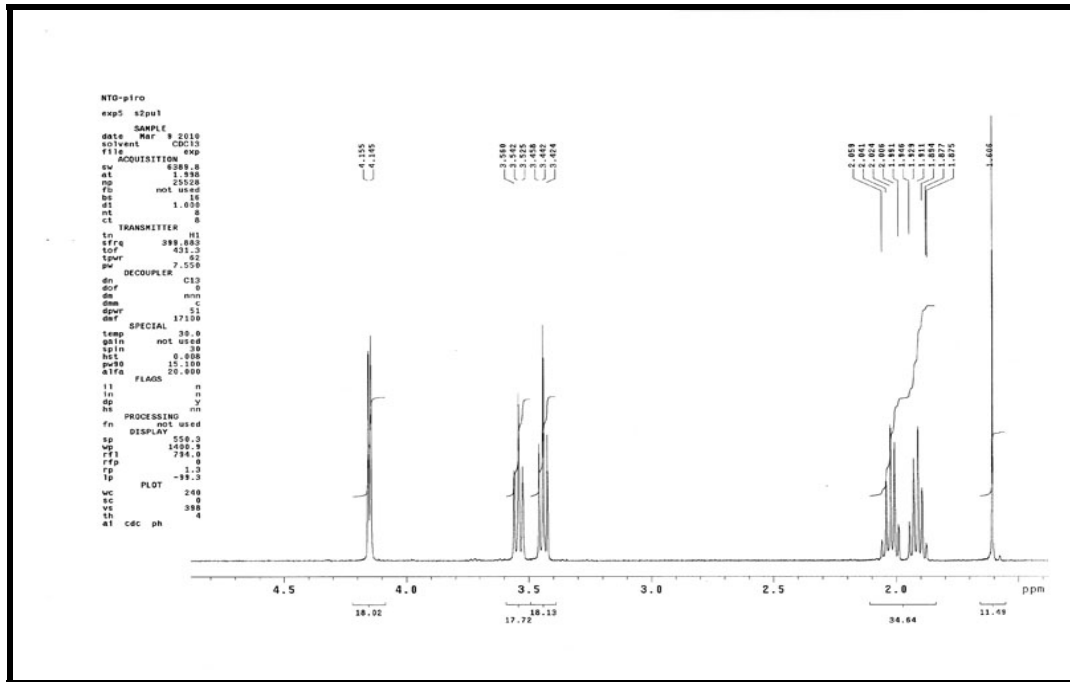
**Spektrum No 46. NTG-Piro Bileşinin IR Spektrumu**



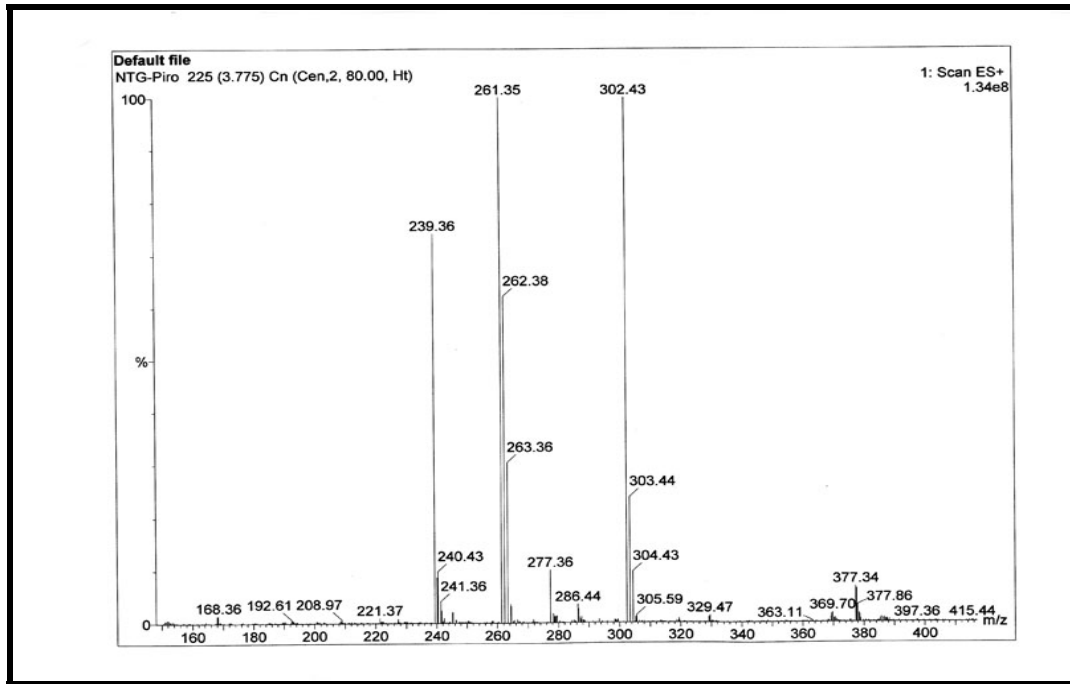
**Spektrum No 47. NTG-Piro Bileşinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



**Spektrum No 48. NTG-Piro Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**

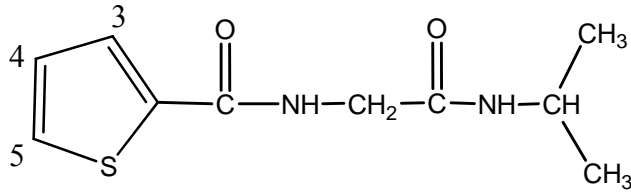


**Spektrum No 49. NTG-Piro Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



**Spektrum No 50. NTG-Piro Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NTG-Isp Bileşğinin Spektral Bulguları



*N*-[2-(izopropilamino)-2-oksoetil]tiyofen-2-karboksamit

**UV** (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 249.5 (4.09) nm

**IR** (KBr) (Spektrum No 51)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3284 (N-H gerilim), 3075 (=C-H gerilim), 2973, 2931 (Alifatik C-H gerilim), 1658, 1633 (C=O gerilim), 1548 (Amid II bandı), 1463 (C=C gerilim), 752, 709 (Düzlem dışı C-H eğilim)

**<sup>1</sup>H NMR** (Spektrum No 52, 53, 54)

DMSO<sub>6</sub>

$\delta$  8.62 ( 1H, t, *J* 5.9 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 7.78-7.76 ( 1H, m, H-3 ), 7.74-7.73 ( 2H, m, H-5, -NH-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 7.14-7.12 ( 1H, m, H-4 ), 3.87-3.81 ( 1H, m,  $\equiv$ C-H), 3.77 ( 2H, d, *J* 6.2 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 1.05 ( 6H, d, *J* 6.6 Hz, -CH<sub>3</sub> )

**MS (ESI+)** (Spektrum No 55)

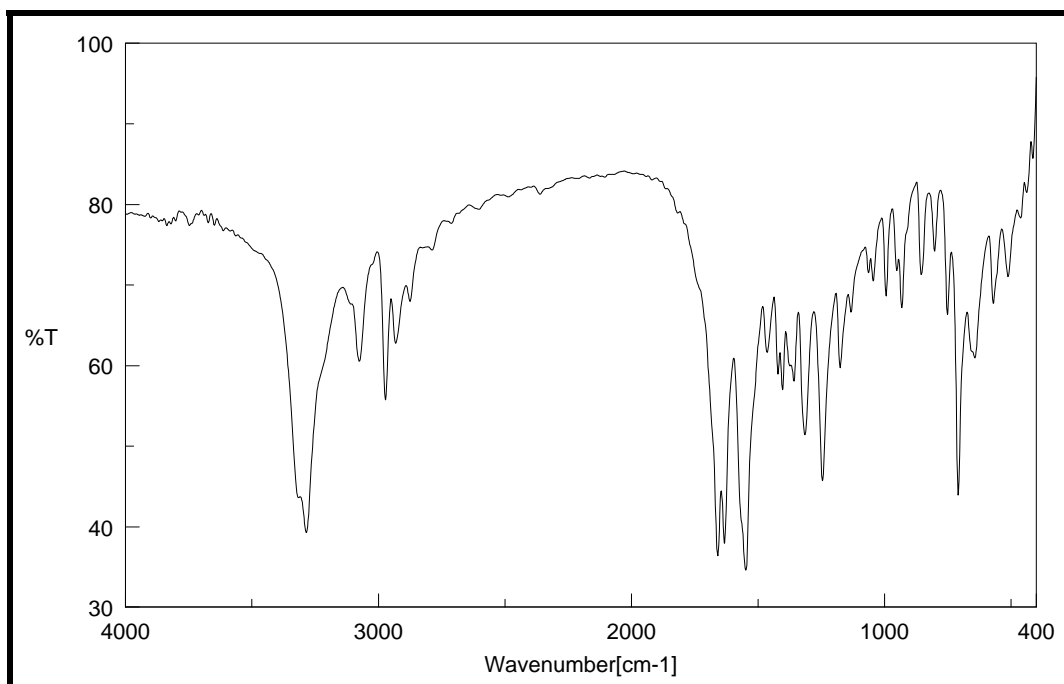
*m/z* 168 ( C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>NO<sub>2</sub>S<sup>+</sup>, 27 %), 227 (M+1, 100 %), 228 (M+2, 29 %), 229 (M+3, 13 %), 249 (M+23, 100 %), 250 (M+24, 15 %), 251 (M+25, 6 %), 290 (M+64, 65 %),

291 (M+65, 12 %), 292 (M+66, 4 %)

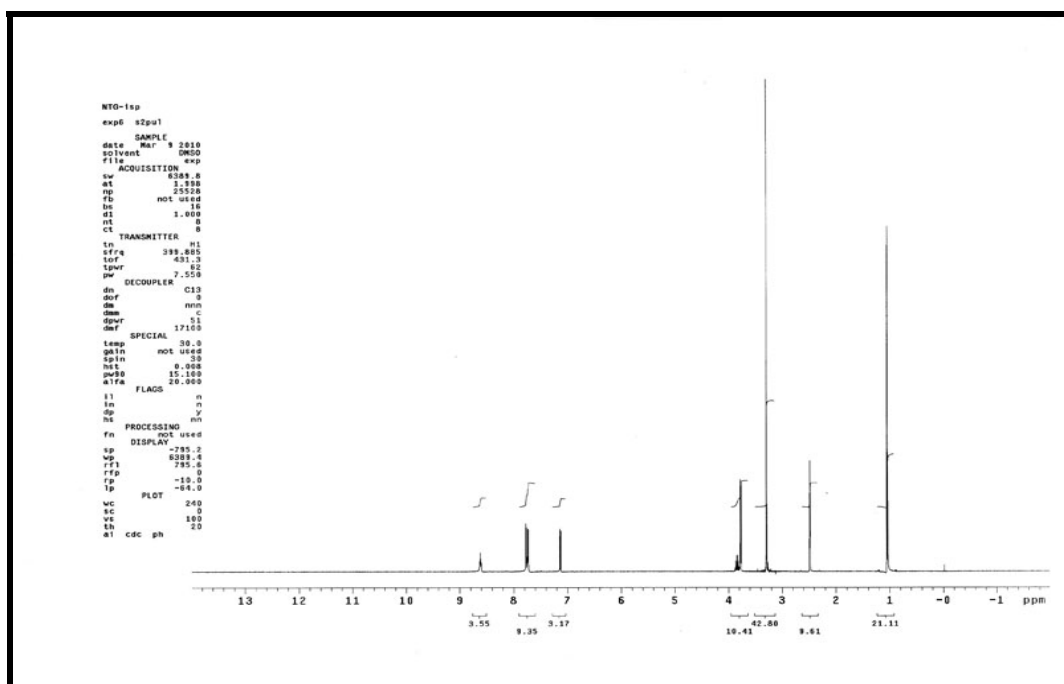
**Elementel Analiz (%)**

$C_{10}H_{14}N_2O_2S$ $0.1H_2O$	C	H	N	S
Hesaplanan	52,66	6,27	12,28	14,06
Bulunan	52,50	5,99	12,15	14,11

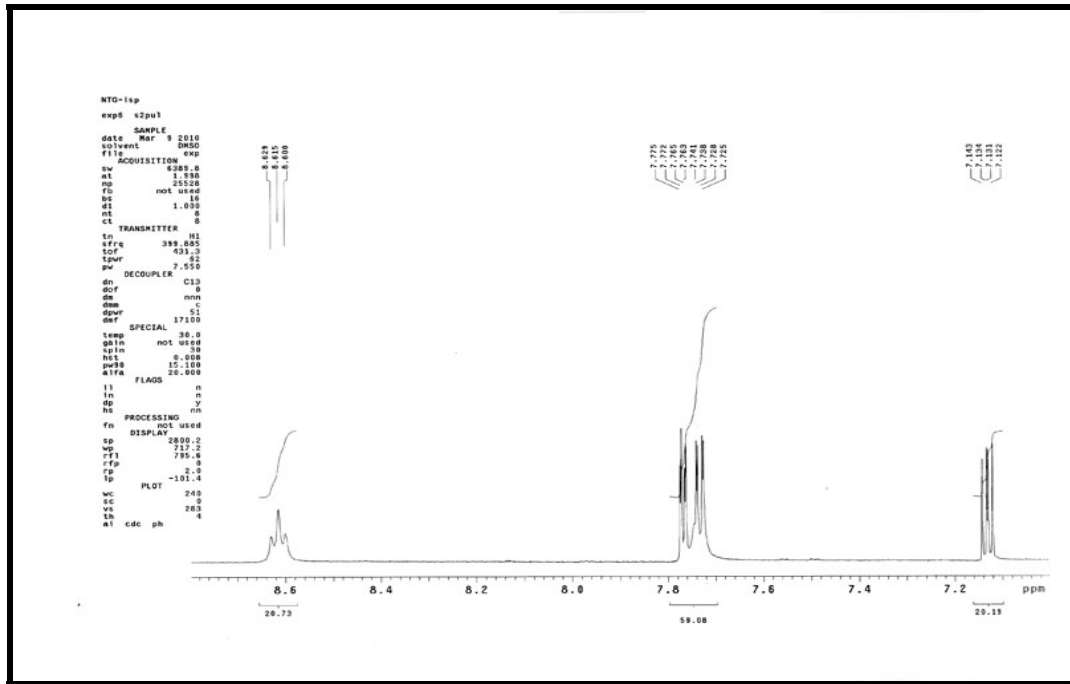




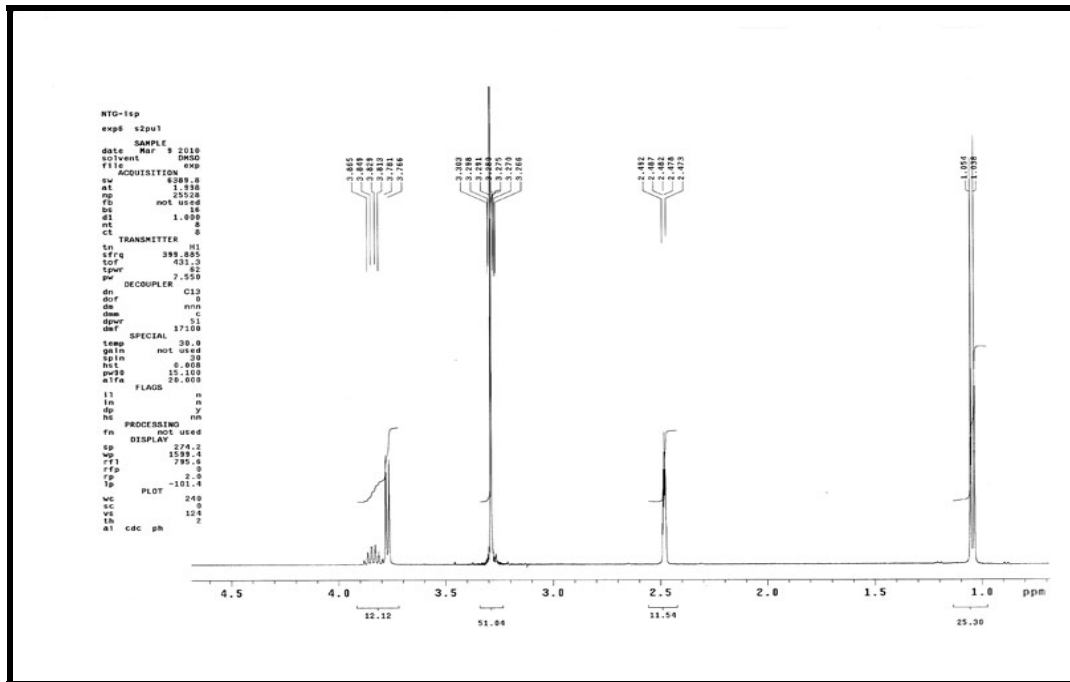
**Spektrum No 51. NTG-Isp Bileşğinin IR Spektrumu**



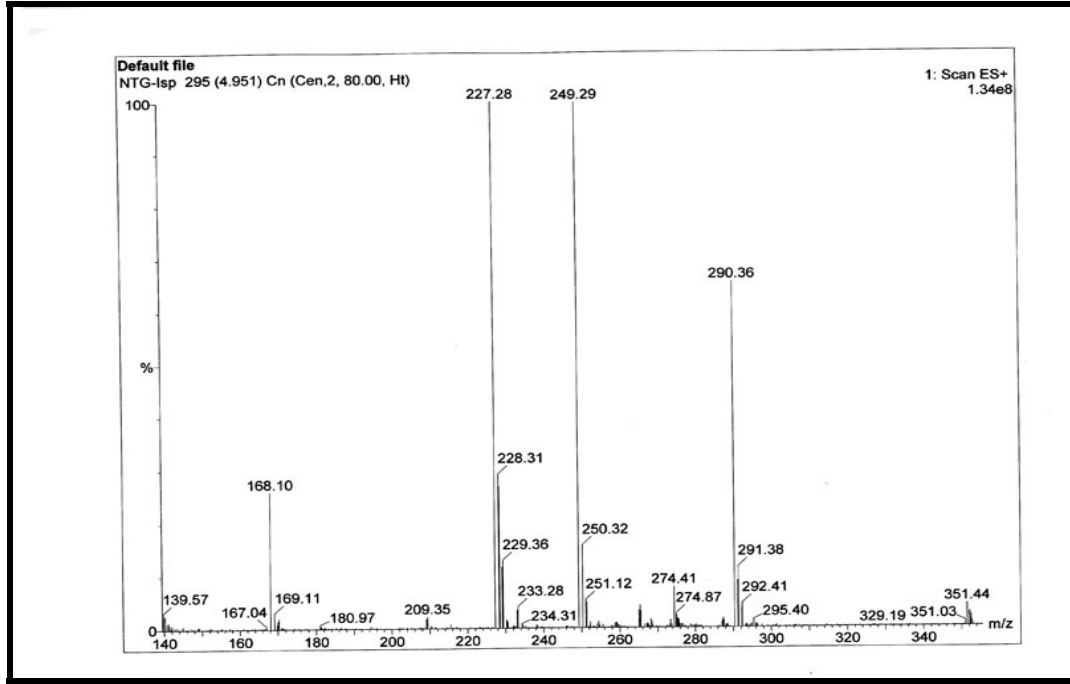
**Spektrum No 52. NTG-Isp Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



**Spektrum No 53. NTG-Isp Bileşığının <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**

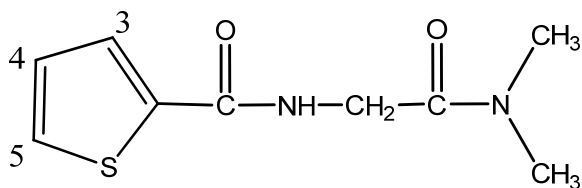


**Spektrum No 54. NTG-Isp Bileşığının <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



**Spektrum No 55. NTG-Isp Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NTG-DM Bileşğinin Spektral Bulguları



*N*-[2-(dimetilamino)-2-oksoetil]tiyofen-2-karboksamit

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 249.0 (3.96), 203.0 (3.99) nm

IR (KBr) (Spektrum No 56)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3367 (N-H gerilim), 3112, 3068 (=C-H gerilim), 2923, 2873 (Alifatik C-H gerilim), 1660, 1623 (C=O gerilim), 1533 (Amid II bandı), 1486 (C=C gerilim), 754, 717 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 57, 58, 59)

CDCl<sub>3</sub>

$\delta$  7.58 ( 1H, dd, *J* 3.9, 1.2 Hz, H-3 ), 7.49-7.47 ( 1H, m, H-5 ), 7.17 ( 1H, brs, -NH-CH<sub>2</sub>-), 7.08 ( 1H, dd, *J* 5.1, 3.9 Hz, H-4), 4.21 ( 2H, d, *J* 3.9, -NH-CH<sub>2</sub>-), 3.03 ( 6H, s, -CH<sub>3</sub> )

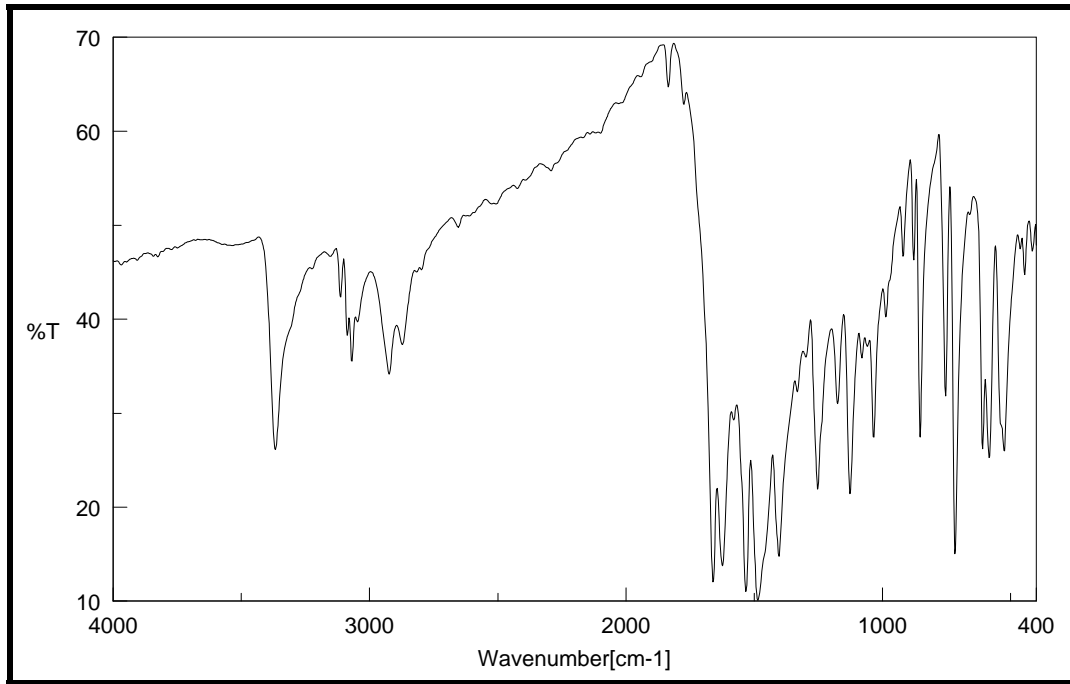
MS (ESI+) (Spektrum No 60)

*m/z* 140 ( C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>NOS<sup>+</sup>+1, 14 %), 168 ( C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>NO<sub>2</sub>S<sup>+</sup>, 40 %), 213 (M+1, 46 %), 214 (M+2, 6 %), 235 (M+23, 100 %), 236 (M+24, 27 %), 237 (M+25, 12 %), 276

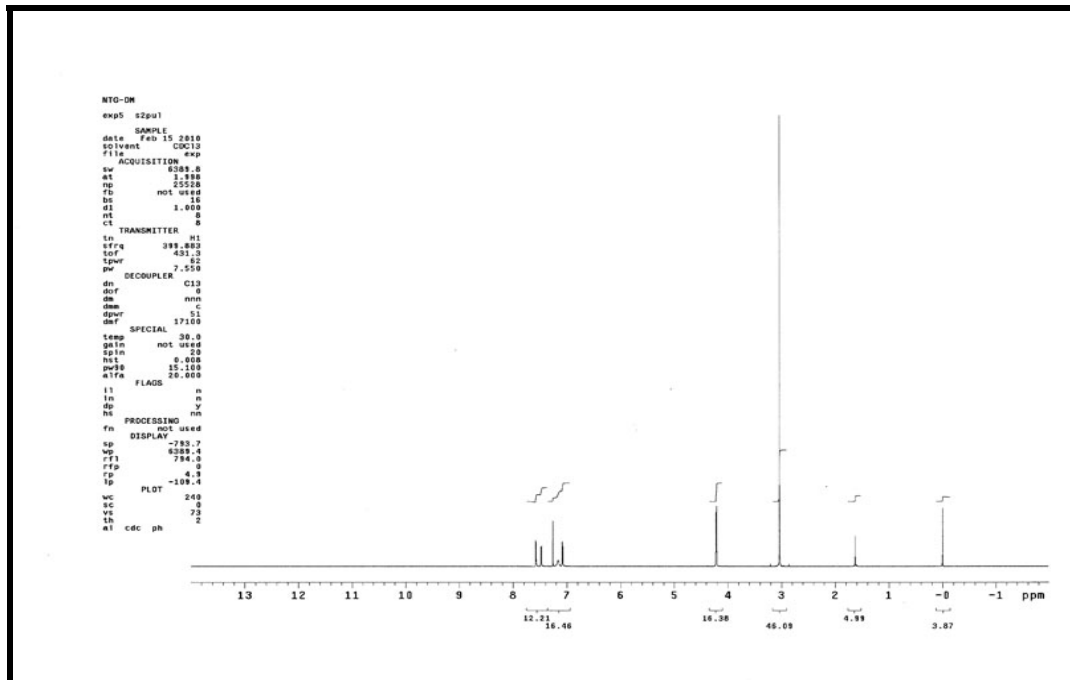
(M+64, 66 %), 277 (M+65, 12 %), 338 (M+146, 21 %), 339 (M+147, 9 %)

**Elementel Analiz(%)**

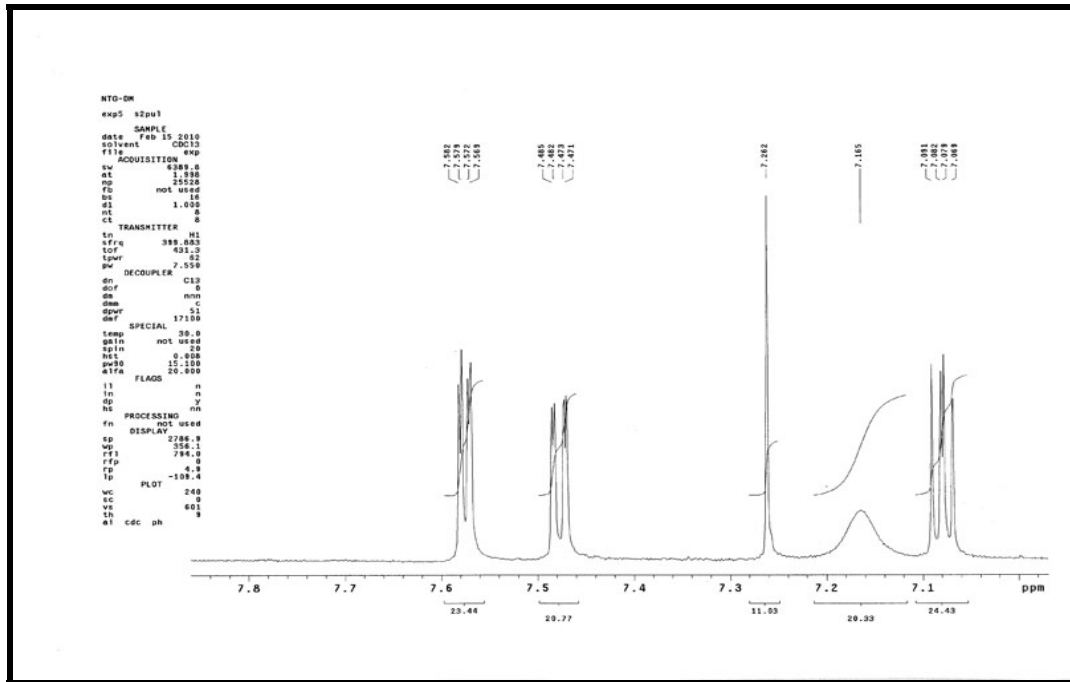
$C_9H_{12}N_2O_2S$	C	H	N	S
Hesaplanan	50,92	5,70	13,20	15,11
Bulunan	51,01	5,52	13,09	15,07



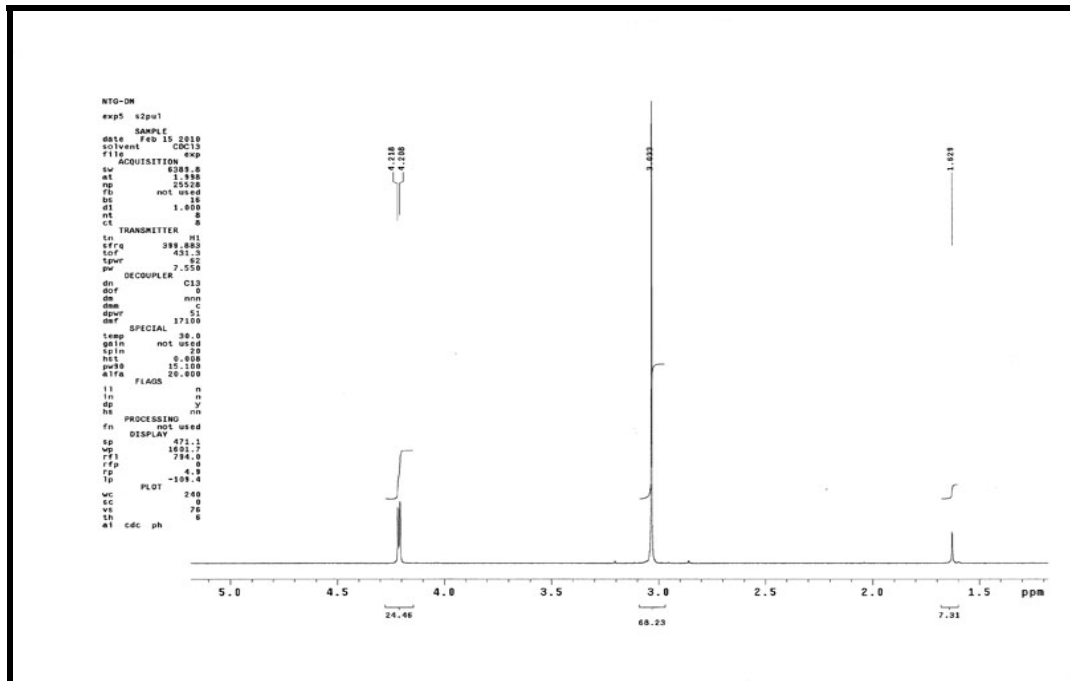
**Spektrum No 56. NTG-DM Bileşğinin IR Spektrumu**



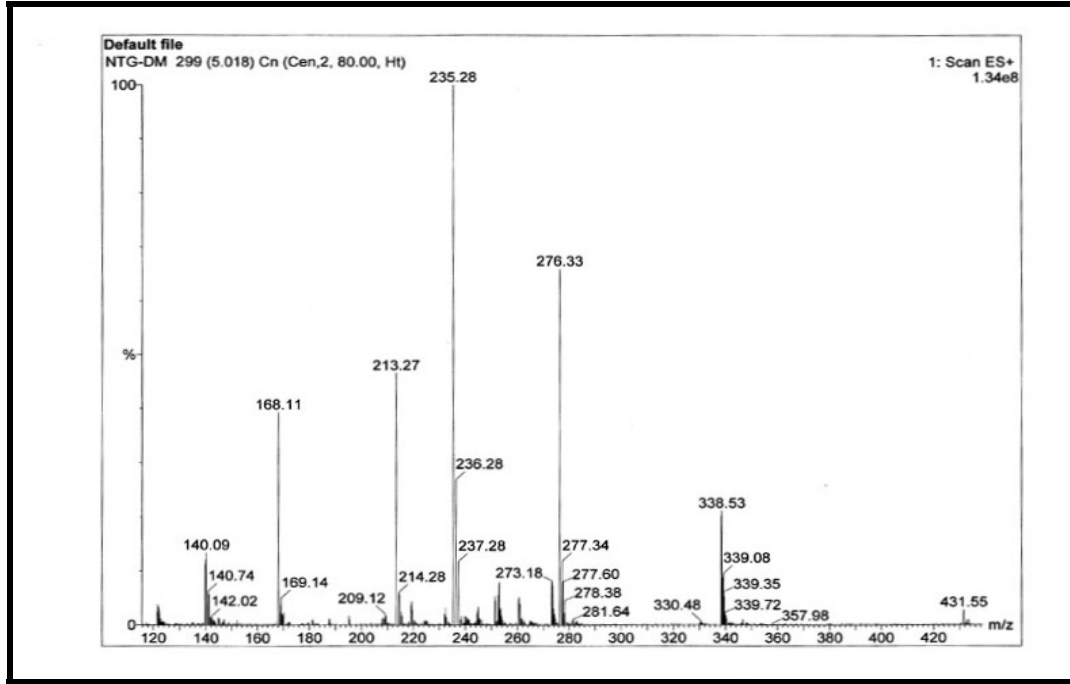
**Spektrum No 57. NTG-DM Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



Spektrum No 58. NTG-DM Bileşğinin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)



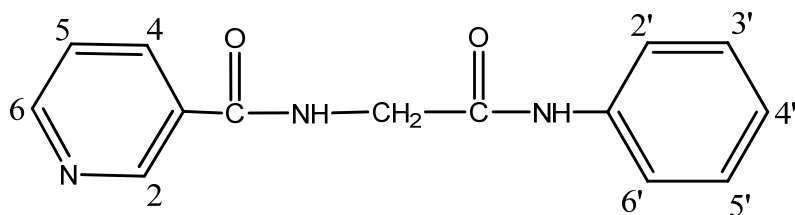
Spektrum No 59. NTG-DM Bileşğinin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)



**Spektrum No 60. NTG-DM Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**



## NNG-A Bileşğinin Spektral Bulguları



N-[2-(fenilamino)-2-oksoetil]nikotinamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 242.5 (4.30), 207.0 (4.34) nm

IR (KBr) (Spektrum No 61)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3344 (N-H gerilim), 3096 (Aromatik C-H gerilim), 1655 (C=O gerilim), 1606 (C=N gerilim), 1556 (Amid II bandı), 1474, 1449, 1415 (C=C gerilim), 728, 703 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 62, 63, 64)

DMSO<sub>6</sub>

$\delta$  10.02 (1H, brs, -NH-Ar), 9.04 (1H, t, *J* 1.2 Hz, H-2), 9.02 (1H, d, *J* 5.9 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 8.72-8.70 (1H, m, H-6), 8.24-8.20 (1H, m, H-4), 7.59-7.57 (2H, m, H-2', H-6'), 7.53-7.50 (1H, m, H-5), 7.31-7.27 (2H, m, H-3', H-5'), 7.05-7.01 (1H, m, H-4'), 4.08 (2H, d, *J* 5.9 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-)

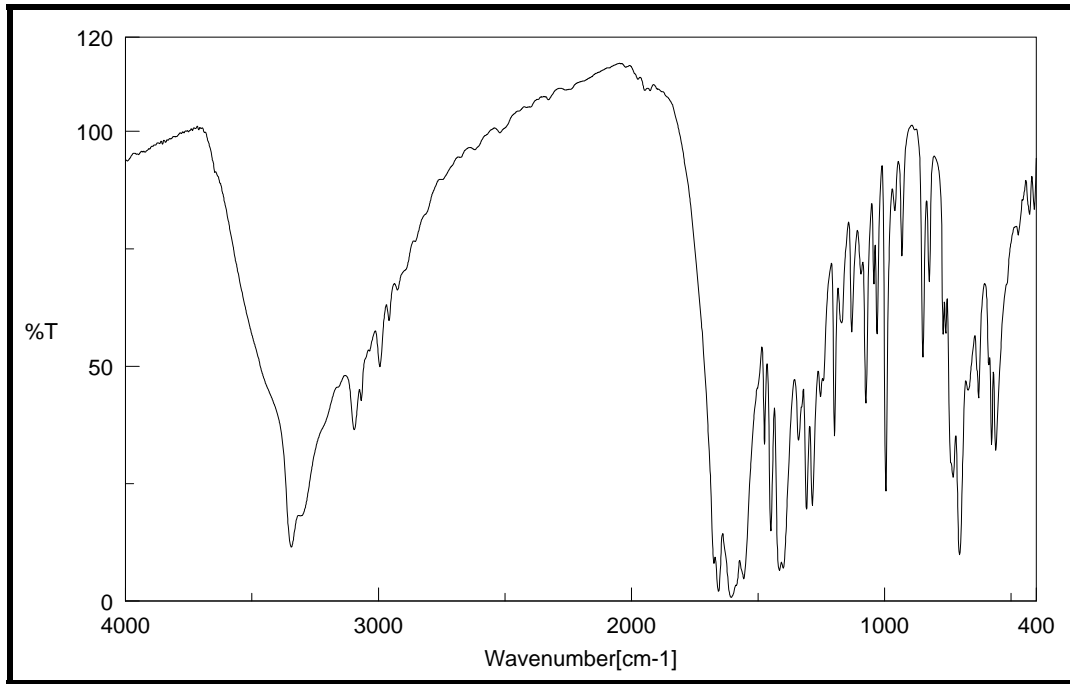
MS (ESI+) (Spektrum No 65)

*m/z* 163 (C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>, 24 %), 256 (M+1, 100 %), 257 (M+2, 60 %), 278 (M+23, 12

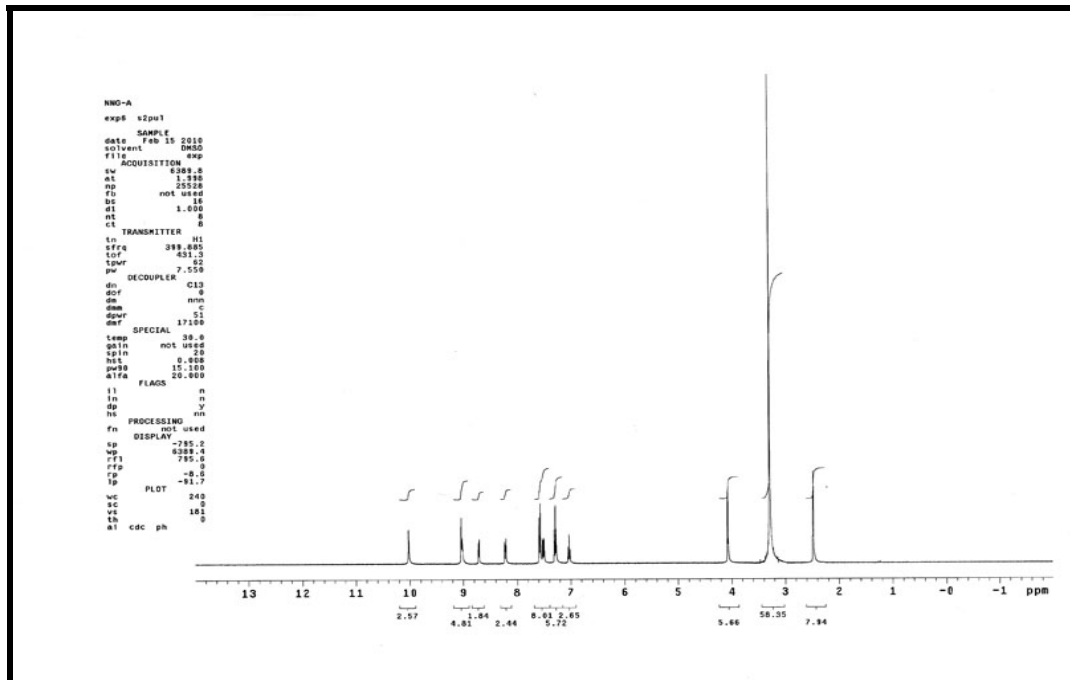
%), 297 (M+42, 100 %), 298 (M+43, 21 %), 319 (M+64, 15 %)

**Elementel Analiz (%)**

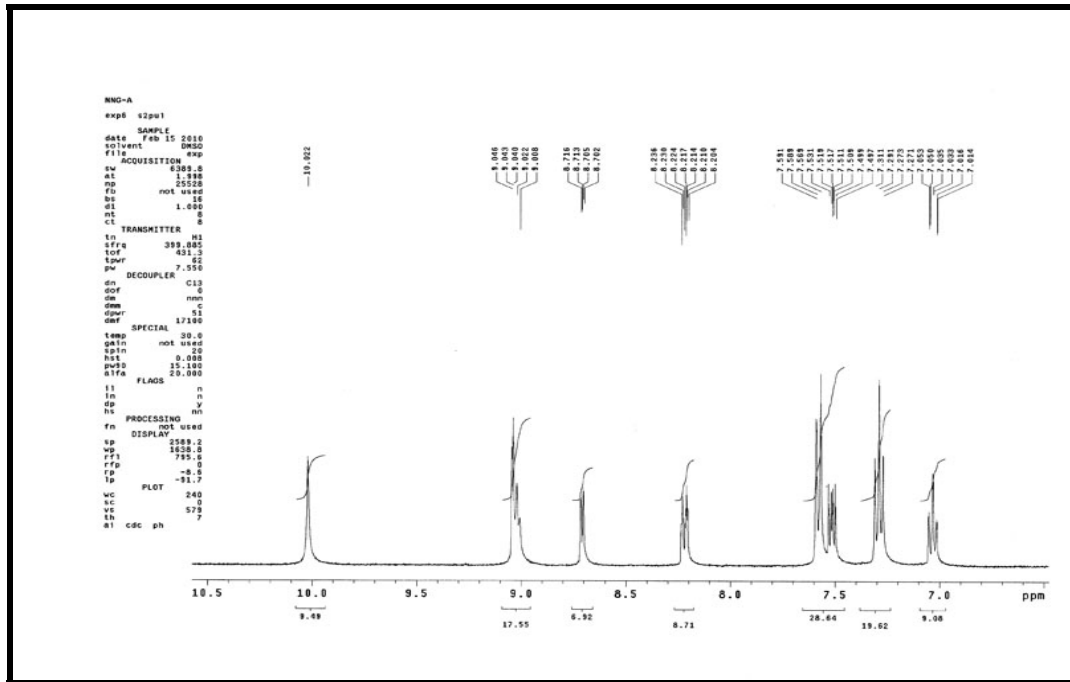
$C_{14}H_{13}N_3O_2$	C	H	N
Hesaplanan	65,87	5,13	16,46
Bulunan	66,06	5,16	16,33



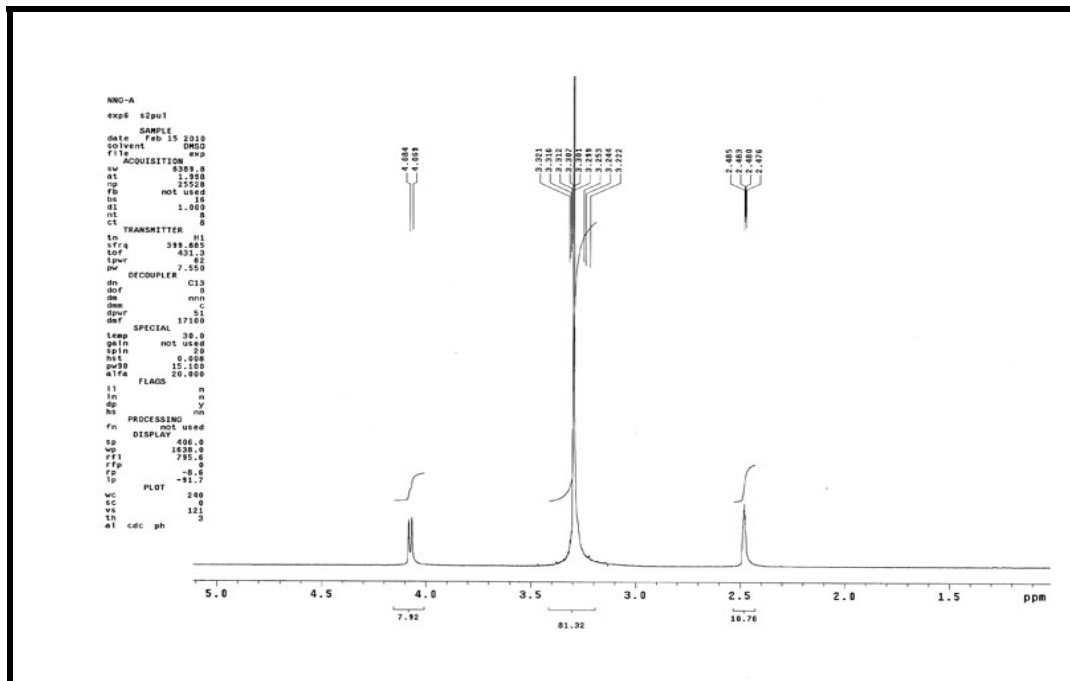
**Spektrum No 61. NNG-A Bileşiğinin IR Spektrumu**



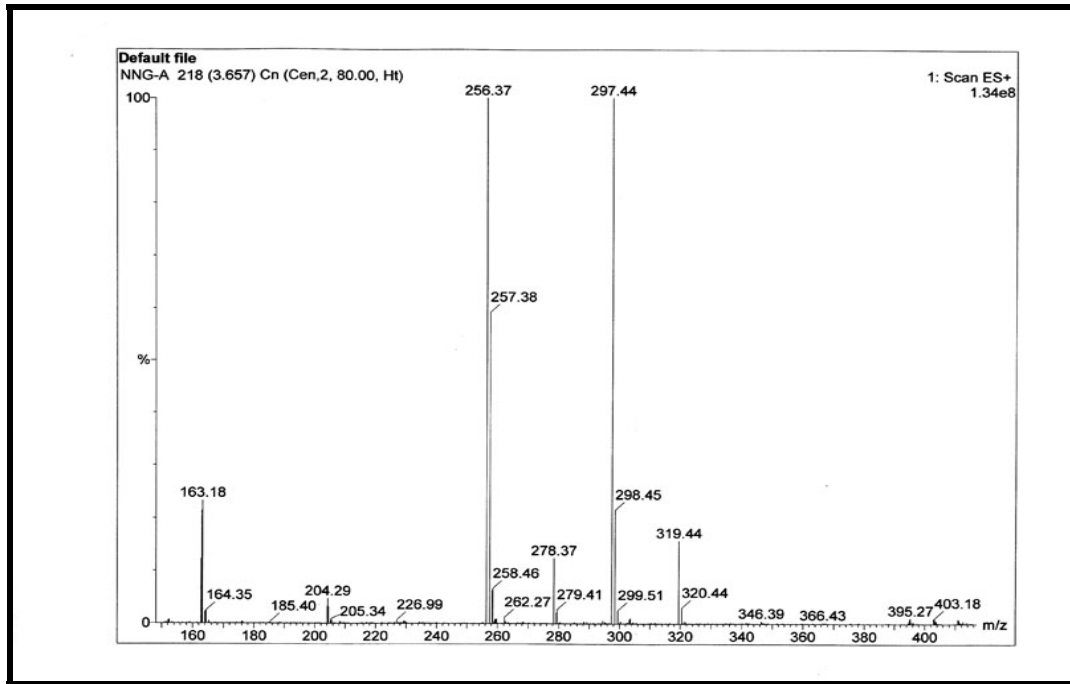
**Spektrum No 62. NNG-A Bileşiğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



**Spektrum No 63. NNG-A Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**

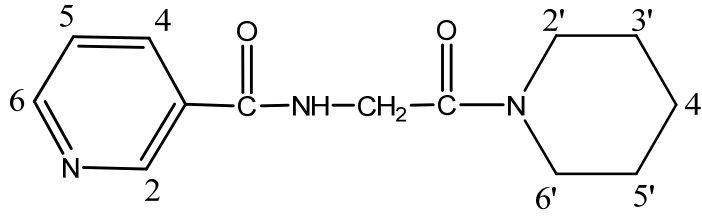


**Spektrum No 64. NNG-A Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



**Spektrum No 65. NNG-A Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NNG-P Bileşiminin Spektral Bulguları



*N*-[2-okso-2-(piperidin-1-il)etil]nikotinamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 262.5 (3.64), 257.0 (3.64), 205.0 (4.27) nm

IR (KBr) (Spektrum No 66)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3347 (N-H gerilim), 3056 (Aromatik C-H gerilim), 2938, 2856 (Alifatik C-H gerilim), 1639 (C=O gerilim), 1546 (Amid II bandı), 1444, 1419 (C=C gerilim), 740, 701 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 67, 68, 69)

CDCl<sub>3</sub>

$\delta$  9.09 ( 1H, s, H-2 ), 8.74 ( 1H, d, *J* 4.7 Hz, H-6 ), 8.15 ( 1H, d, *J* 7.8 Hz, H-4 ), 7.46 ( 1H, brs, -NH-CH<sub>2</sub>-), 7.40 ( 1H, dd, *J* 7.8, 4.7 Hz, H-5 ), 4.24 ( 2H, d, *J* 3.5 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 3.62 ( 2H, t, *J* 5.5 Hz, H-2'\*, H-6'\*), 3.42-3.39 ( 2H, m, H-2'\*, H-6'\*), 1.70-1.69 ( 2H, m, H-4' ), 1.61 ( 4H, t, *J* 5.1 Hz, H-3', H-5' )

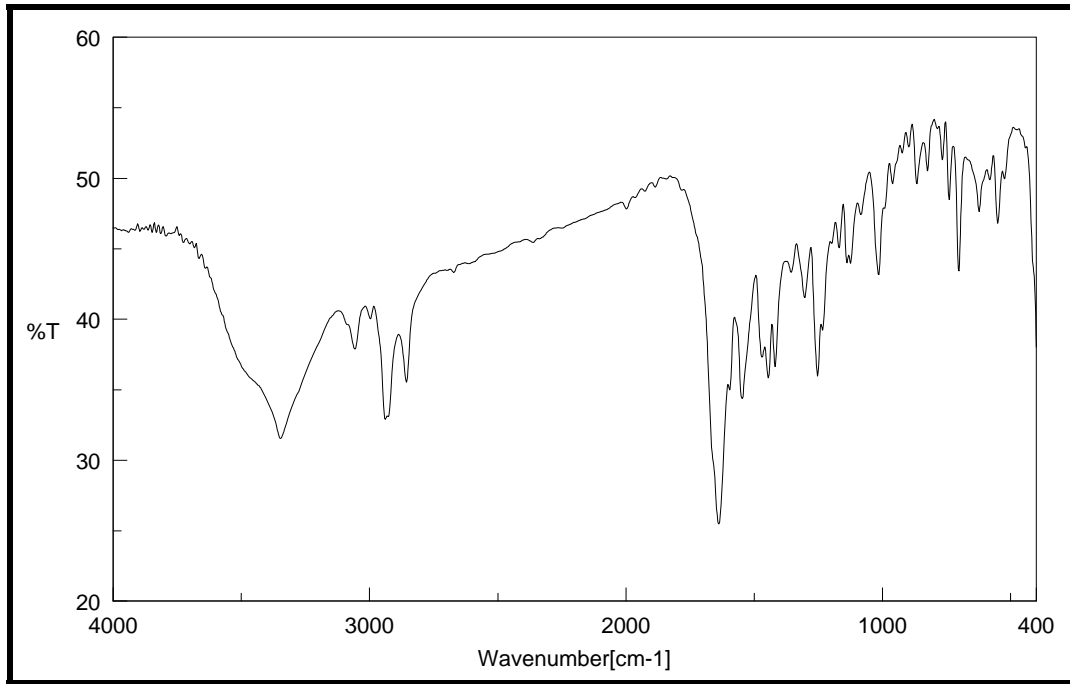
\* İki protonun kimyasal kayma değerleri değişebilir

**MS (ESI+) ( Spektrum No 70)**

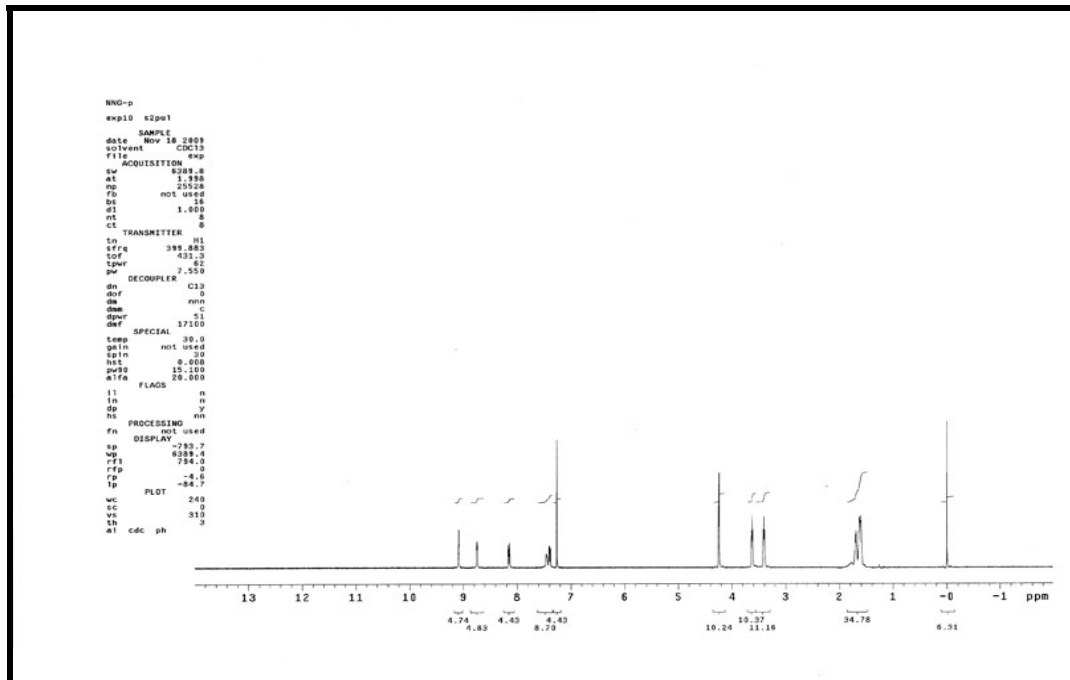
m/z 248 (M+1, 100 %), 249 (M+2, 14 %), 270 (M+23, 21 %), 289 (M+42, 23 %),  
311 (M+64, 19 %)

**Elementel Analiz (%)**

$C_{13}H_{17}N_3O_2$	C	H	N
Hesaplanan	63,14	6,93	16,99
Bulunan	62,94	6,97	16,85

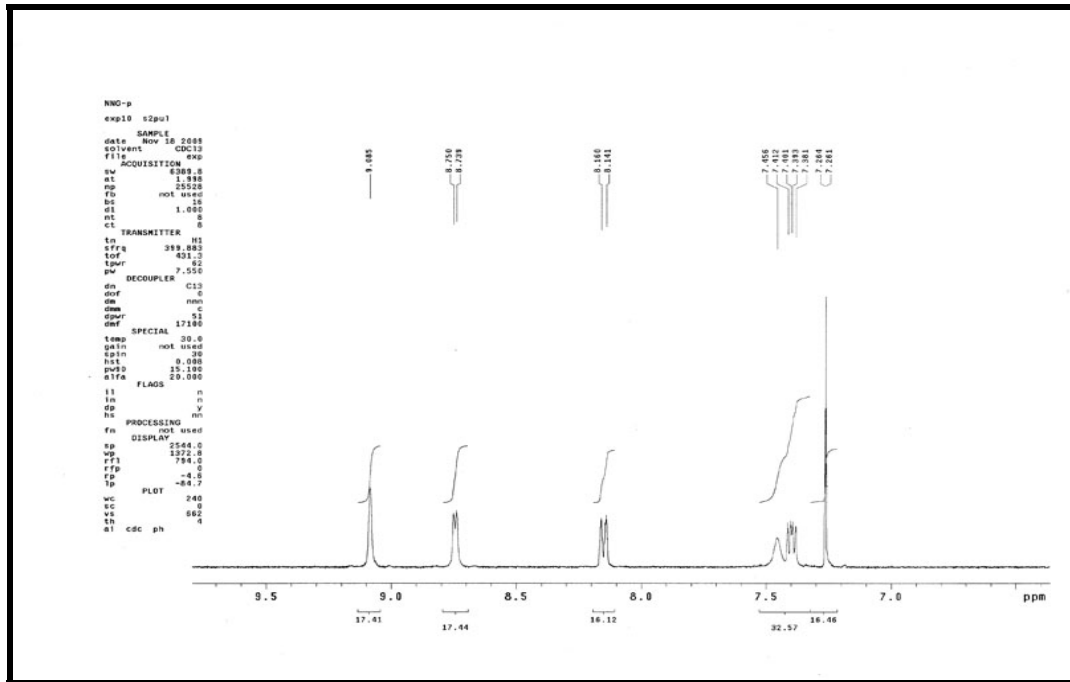


**Spektrum No 66. NNG-P Bileşğinin IR Spektrumu**

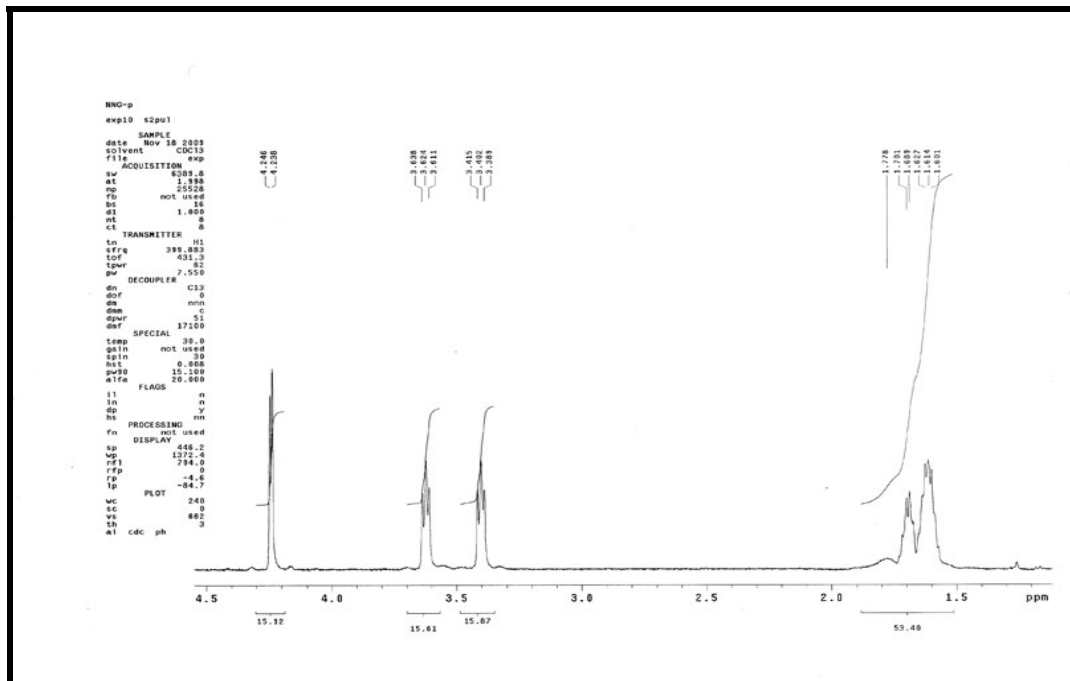


**Spektrum No 67. NNG-P Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**

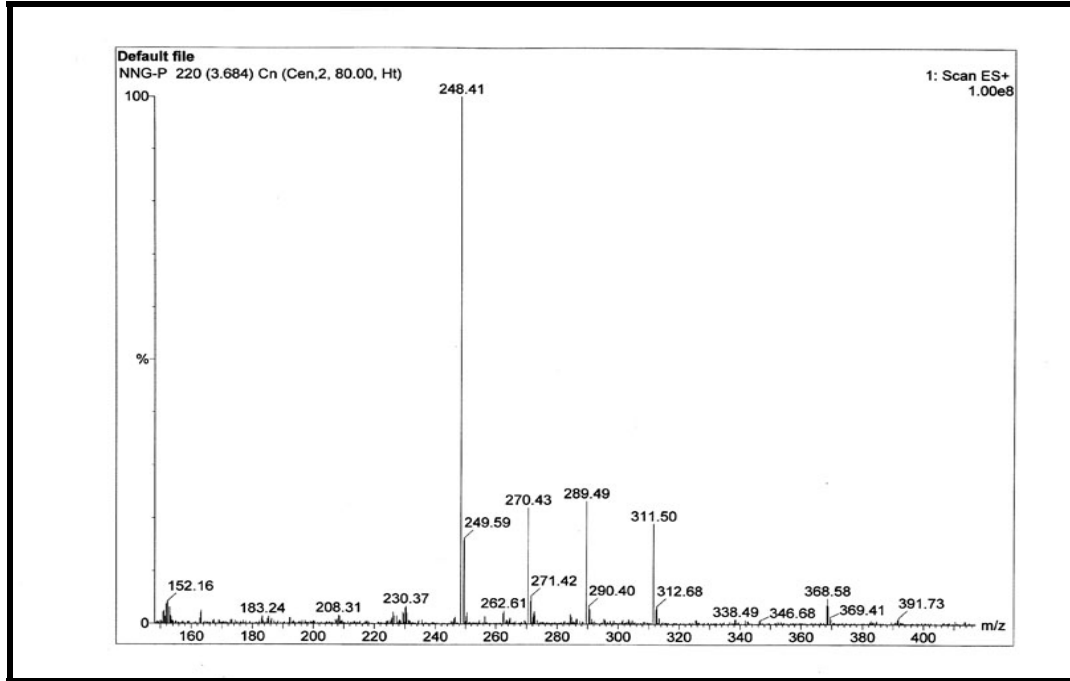




**Spektrum No 68. NNG-P Bileşığının  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**

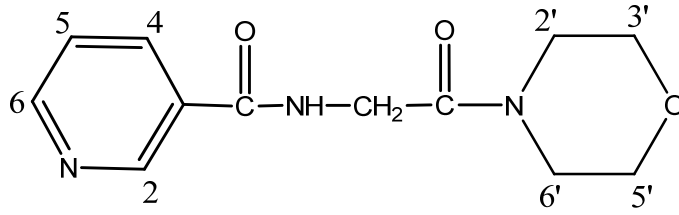


**Spektrum No 69. NNG-P Bileşığının  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



**Spektrum No 70. NNG-P Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NNG-M Bileşğinin Spektral Bulguları



*N*-(2-morfolino-2-oksoetil)nikotinamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 262.5 (3.60), 257.0 (3.61), 205.0 (4.23) nm

IR (KBr) (Spektrum No 71)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3345 (N-H gerilim), 3064 (Aromatik C-H gerilim), 2958, 2913, 2869 (Alifatik C-H gerilim), 1656, 1633 (C=O gerilim), 1589 (C=N gerilim), 1531 (Amid II bandı), 1467 (C=C gerilim), 746, 707 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 72, 73, 74)

CDCl<sub>3</sub>

$\delta$  9.06 ( 1H, d, *J* 2.3 Hz, H-2 ), 8.75-8.74 ( 1H, m, H-6 ), 8.15-8.12 ( 1H, m, H-4 ), 7.41-7.37 ( 1H, m, H-5 ), 7.36 ( 1H, brs, -NH-CH<sub>2</sub>-), 4.24 ( 2H, d, *J* 3.9 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 3.72-3.68 ( 6H, m, H-2' \*, H-3' , H-5' , H-6' \*), 3.49 ( 2H, t, *J* 4.7 Hz, H-2' \*, H-6' \*),

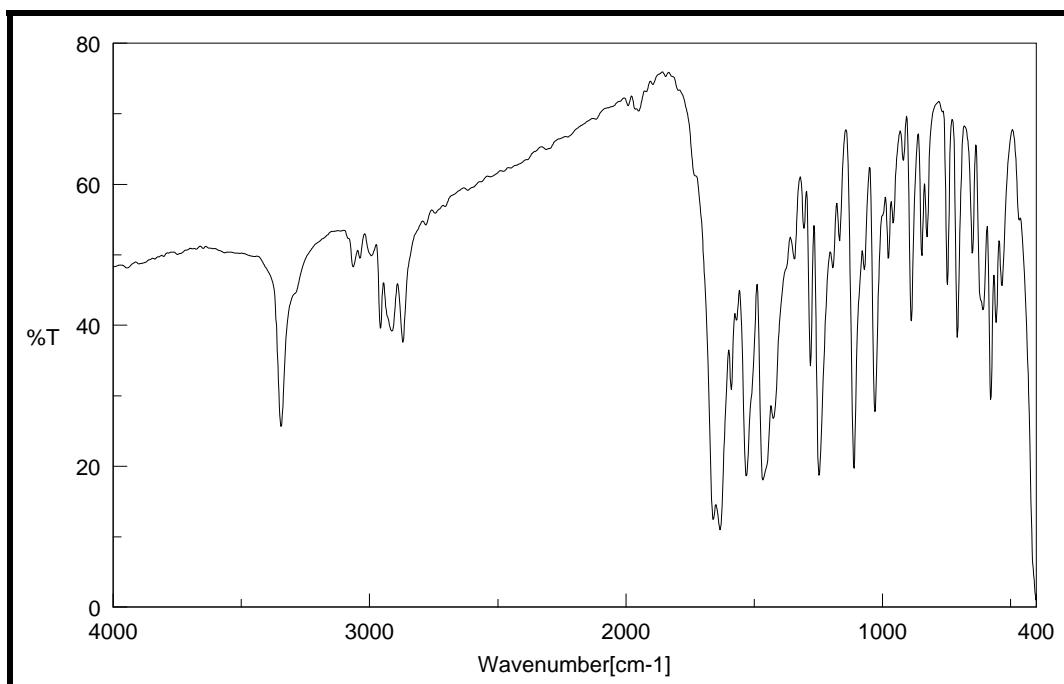
\* İki protonun kimyasal kayma değerleri değişebilir

**MS (ESI+)** ( Spektrum No 75)

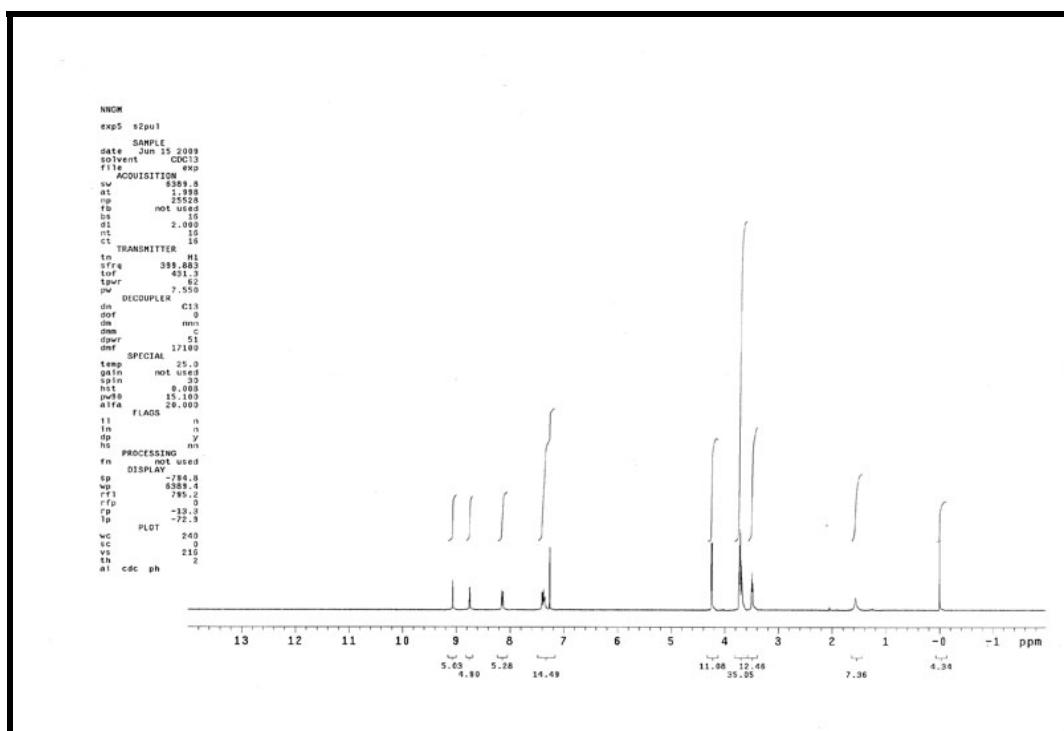
m/z 250 (M+1, 100 %), 251 (M+2, 21 %), 291 (M+42, 34 %)

**Elementel Analiz (%)**

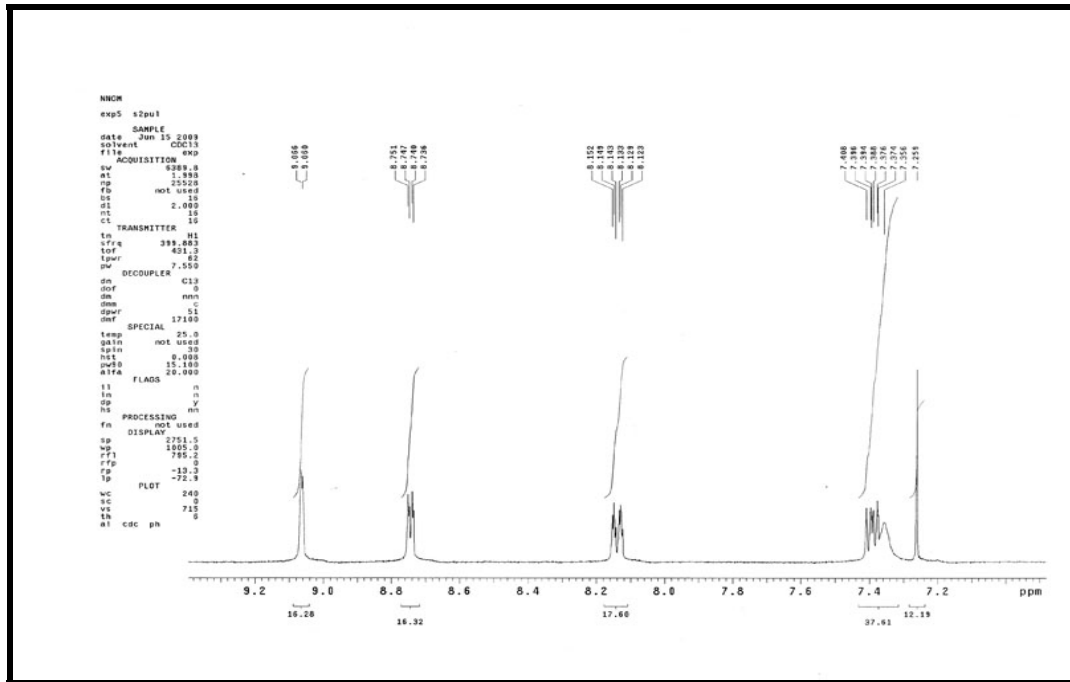
$C_{12}H_{15}N_3O_3$	C	H	N
Hesaplanan	57,82	6,07	16,86
Bulunan	57,80	6,14	16,60



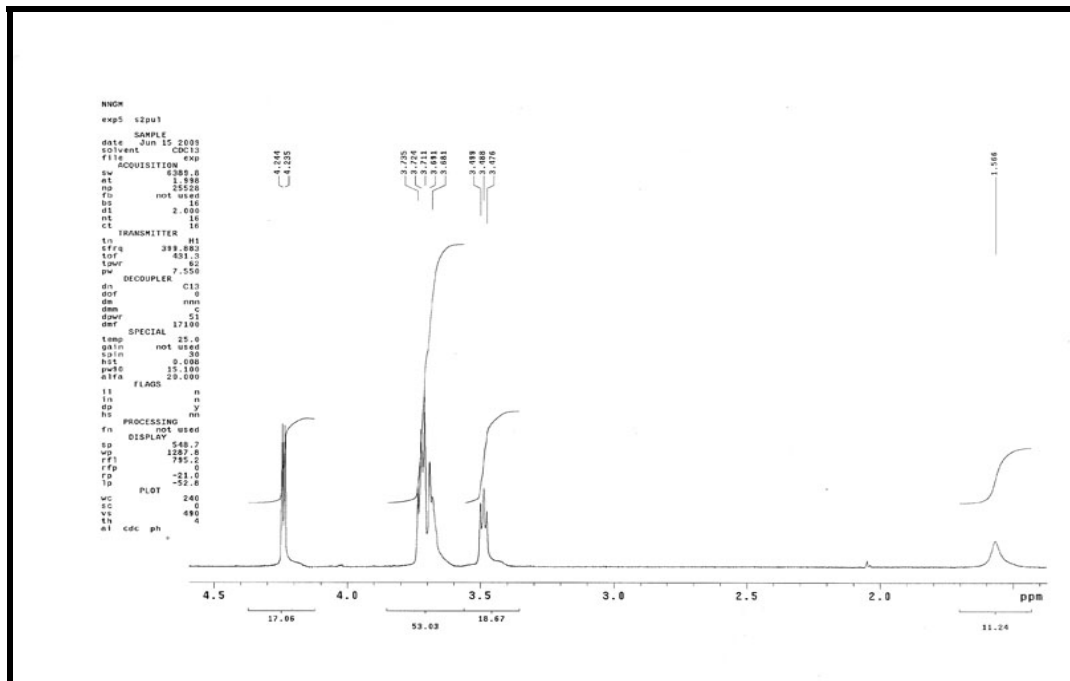
**Spektrum No 71. NNG-M Bileşğinin IR Spektrumu**



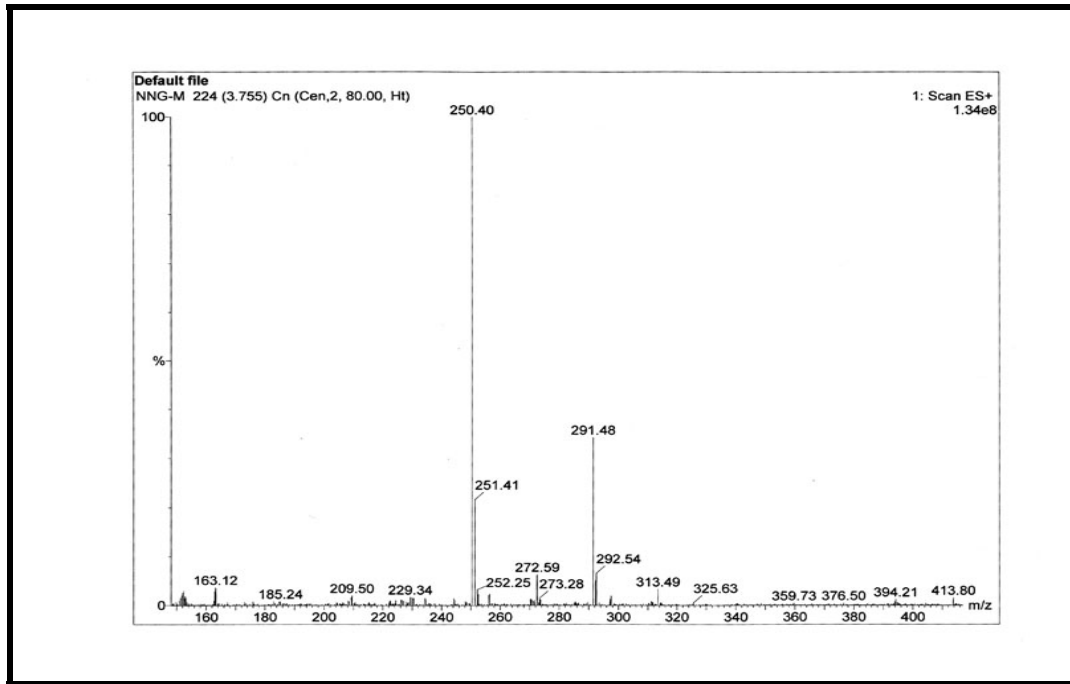
**Spektrum No 72. NNG-M Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



Spektrum No 73. NNG-M Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)

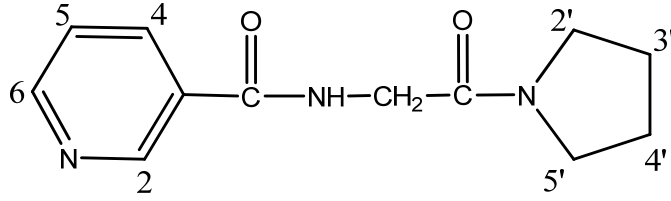


Spektrum No 74. NNG-M Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)



**Spektrum No 75. NNG-M Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NNG-Piro Bileşğinin Spektral Bulguları



*N*-[2-okso-2-(pirolidin-1-il)etil]nikotinamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 262.5 (3.65), 257.0 (3.68), 205.0 (4.27) nm

IR (KBr) (Spektrum No 76)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3276 (N-H gerilim), 3064 (Aromatik C-H gerilim), 2973, 2883 (Alifatik C-H gerilim), 1662, 1635 (C=O gerilim), 1594 (C=N gerilim), 1546 (Amid II bandı), 1452 (C=C gerilim), 736, 701 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 77, 78, 79)

CDCl<sub>3</sub>

$\delta$  9.10 ( 1H, brs, H-2 ), 8.75 ( 1H, brs, H-6 ), 8.18 ( 1H, d, *J* 8.2 Hz, H-4 ), 7.46 ( 1H, brs, -NH-CH<sub>2</sub>-), 7.44-7.40 ( 1H, m, H-5 ), 4.18 ( 2H, d, *J* 3.5, -NH-CH<sub>2</sub>-), 3.56-3.53 ( 2H, m, H-2' \*, H-5' \*), 3.47-3.44 ( 2H, m, H-2' \*, H-5' \*), 2.07-2.00 ( 2H, m, H-3' \*, H-4' \*), 1.95-1.88 ( 2H, m, H-3' \*, H-4' \*)

\* İki protonun kimyasal kayma değerleri değişebilir

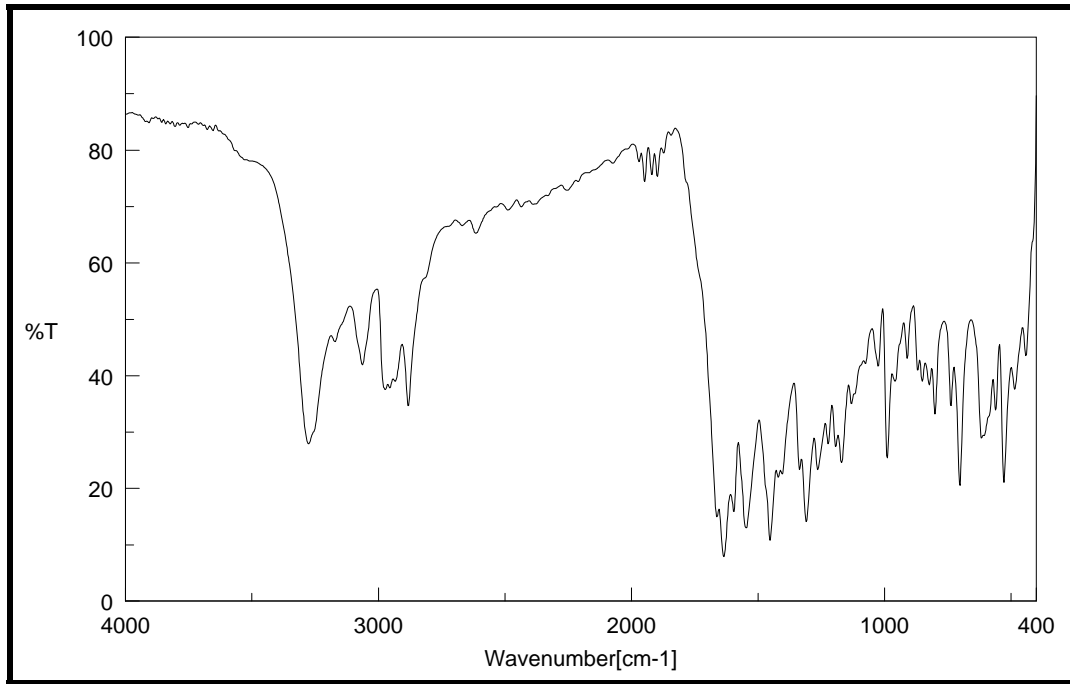


**MS (ESI+)** ( Spektrum No 80)

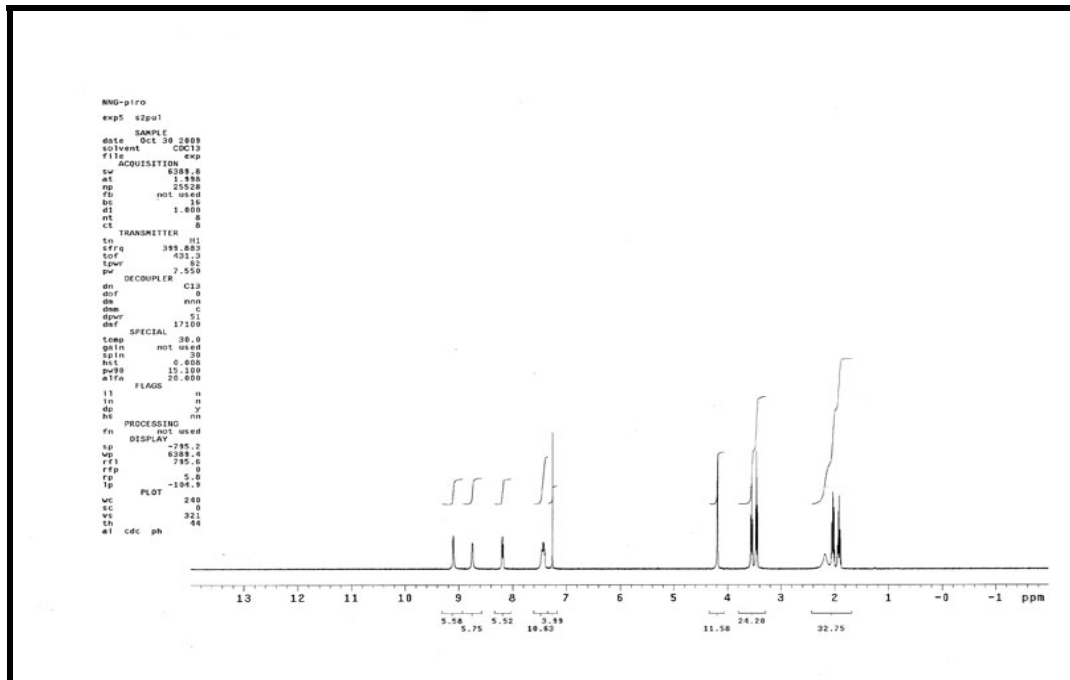
m/z 234 (M+1, 100 %), 235 (M+2, 23 %), 256 (M+23, 48 %), 275 (M+42, 21 %),  
297 (M+64, 27 %)

**Elementel Analiz (%)**

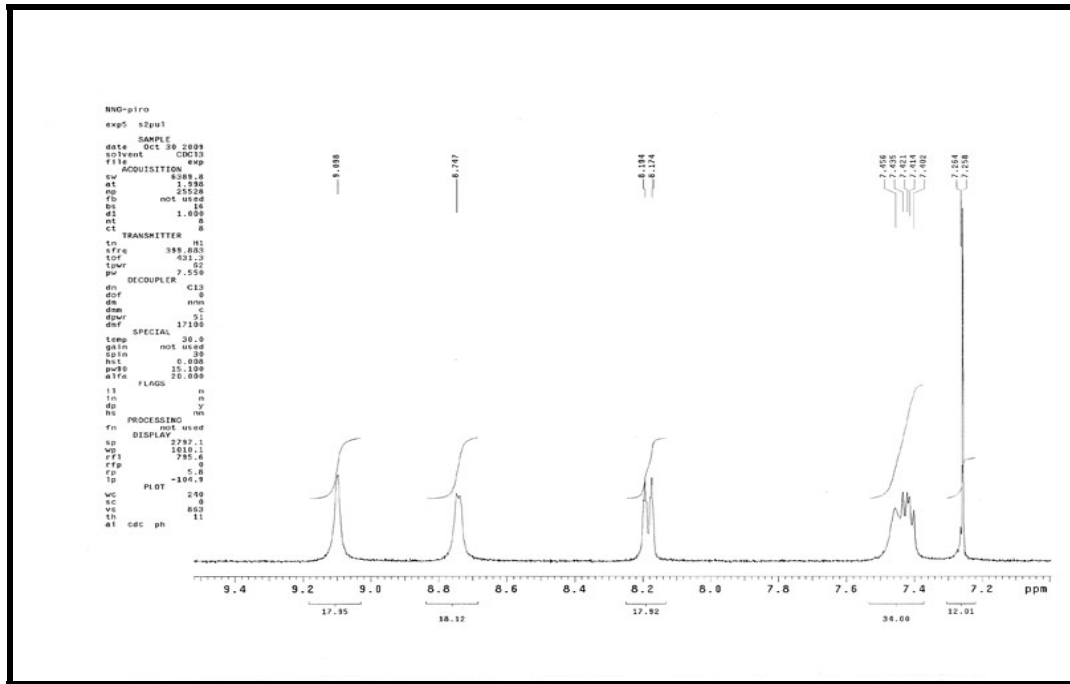
$C_{12}H_{15}N_3O_2$	C	H	N
Hesaplanan	61,79	6,48	18,01
Bulunan	62,09	6,26	17,93



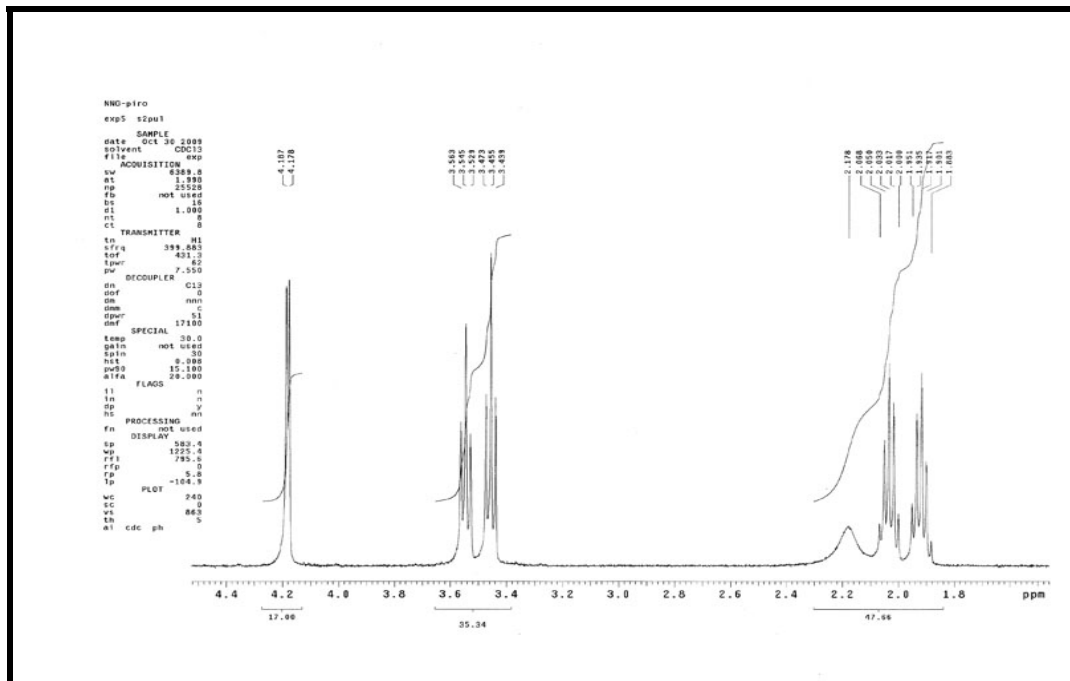
**Spektrum No 76. NNG-Piro Bileşinin IR Spektrumu**



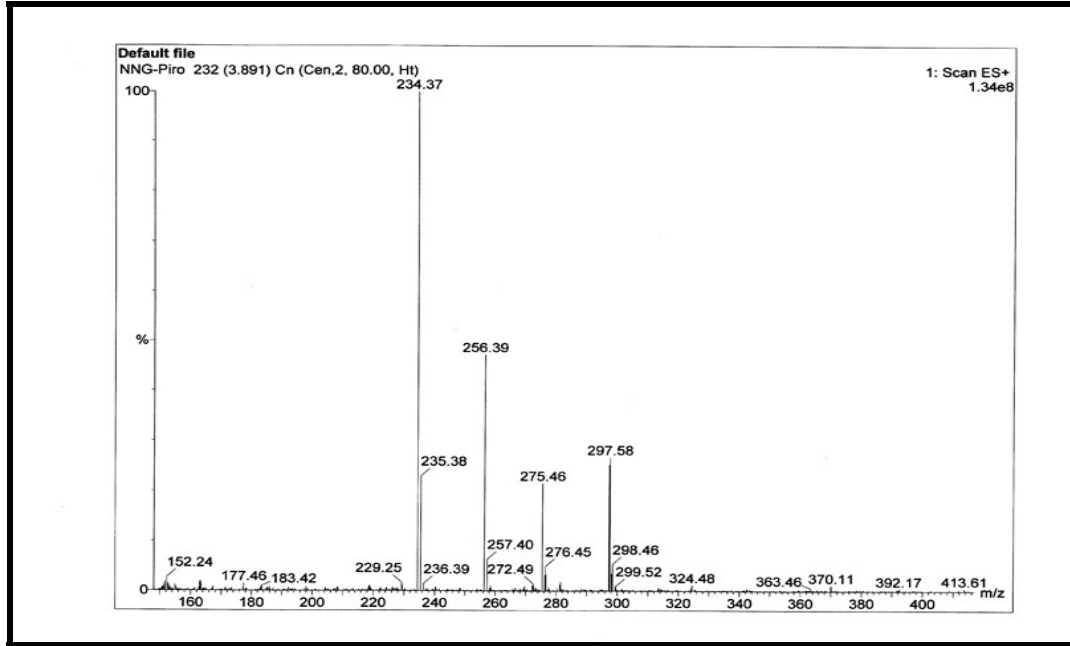
**Spektrum No 77. NNG-Piro Bileşinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



**Spektrum No 78. NNG-Piro Bileşinin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**

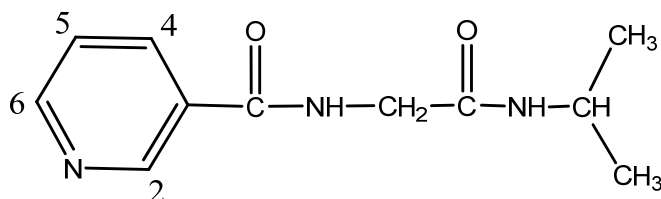


**Spektrum No 79. NNG-Piro Bileşinin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



**Spektrum No 80. NNG-Piro Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NNG-Isp Bileşiğinin Spektral Bulguları



*N*-[2-(izopropilamino)-2-oksoetil]nikotinamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 256.5 (3.67), 203.0 (4.15) nm

IR (KBr) (Spektrum No 81)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3313 (N-H gerilim), 3087 (Aromatik C-H gerilim), 2971, 2933, 2875 (Alifatik C-H gerilim), 1641 (C=O gerilim), 1594 (C=N gerilim), 1548 (Amid II bandı), 1471 (C=C gerilim), 744, 703 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 82, 83, 84)

CDCl<sub>3</sub>

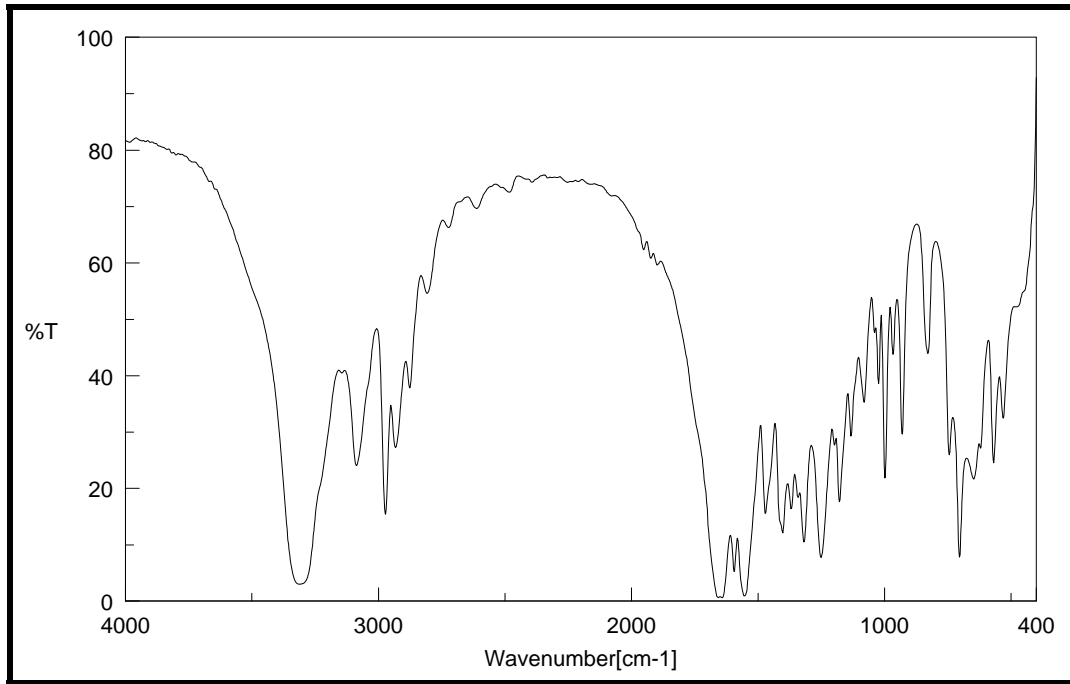
$\delta$  9.14 ( 1H, d, *J* 2 Hz, H-2 ), 8.76-8.74 ( 1H, m, H-6 ), 8.23-8.21 ( 1H, m, H-4 ), 7.46-7.43 ( 2H, m, -NH-CH<sub>2</sub>-, H-5 ), 5.94 ( 1H, brs, -NH-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ), 4.14-4.09 ( 3H, m, -NH-CH<sub>2</sub>-, -NH-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ), 1.20 ( 6H, d, *J* 6.6 Hz, -CH<sub>3</sub> )

MS (ESI+) (Spektrum No 85)

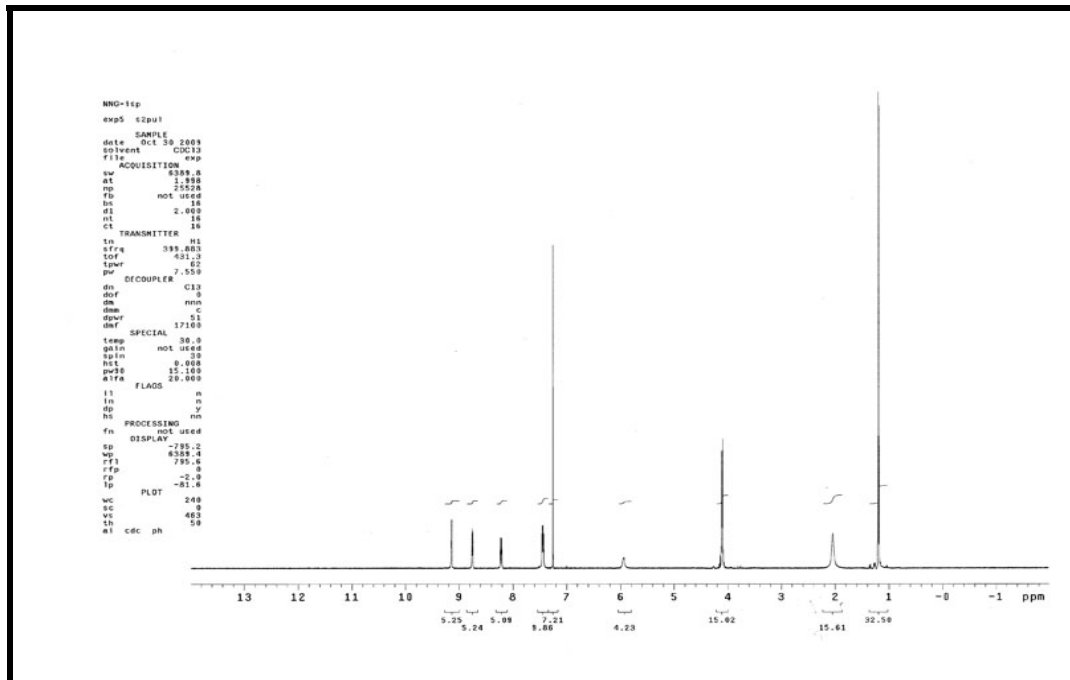
*m/z* 222 (M+1, 100 %), 223 (M+1, 29 %), 244 (M+23, 23 %), 263 (M+42, 37 %), 285 (M+64, 12 %)

**Elementel Analiz (%)**

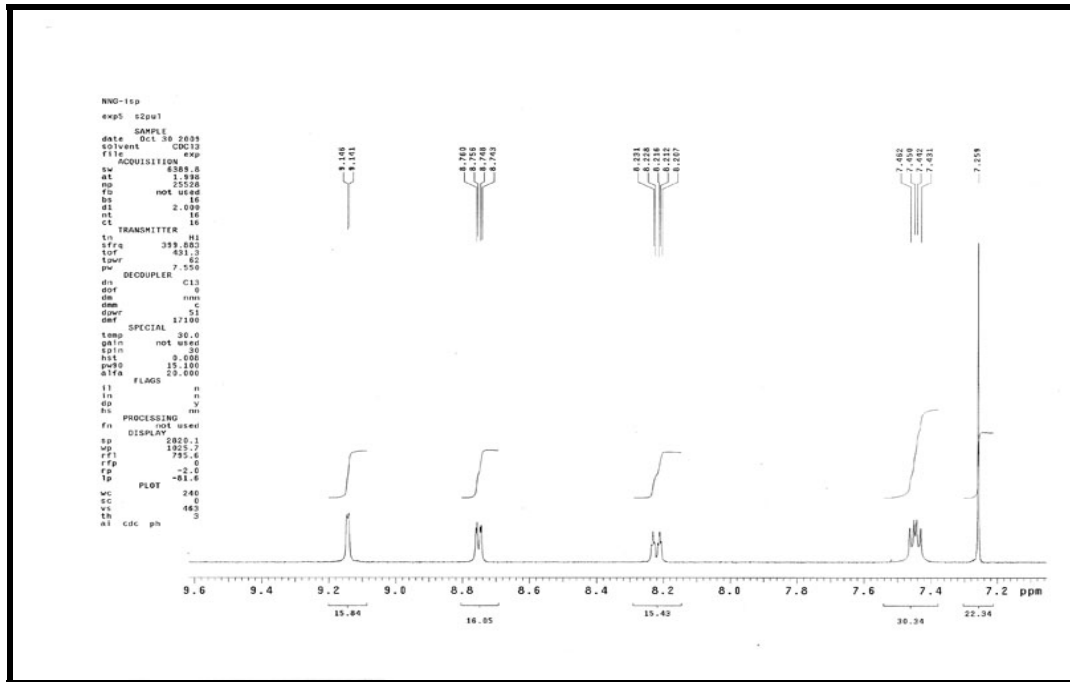
$C_{11}H_{15}N_3O_2 \cdot 0.1H_2O$	C	H	N
Hesaplanan	59,23	6,87	18,84
Bulunan	59,17	6,58	18,79



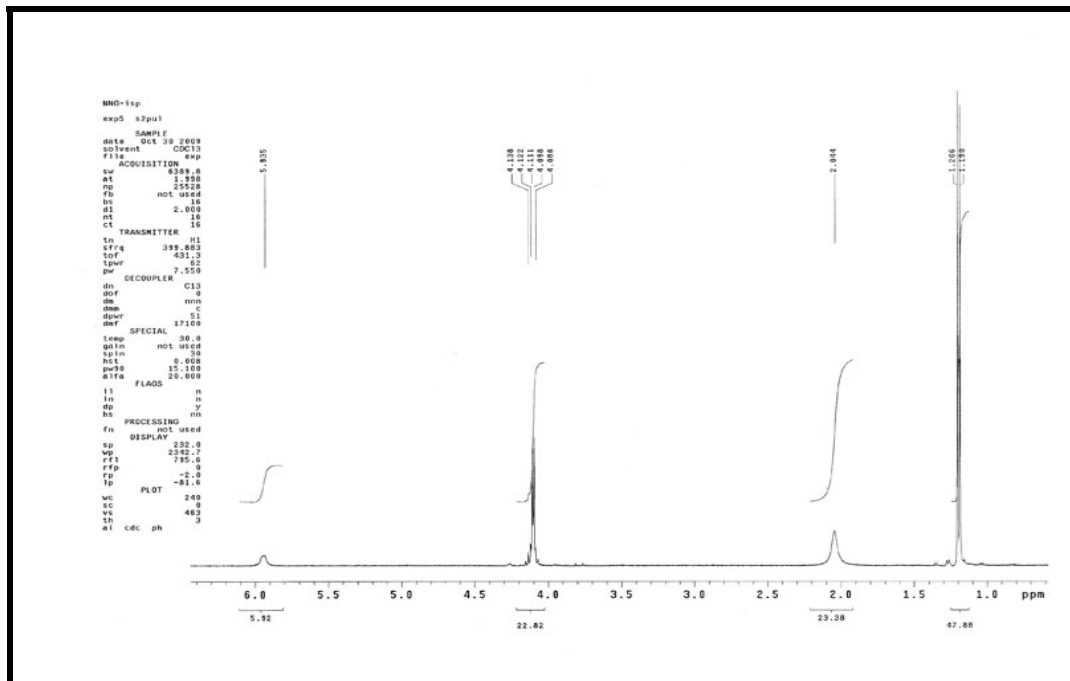
**Spektrum No 81. NNG-Isp Bileşğinin IR Spektrumu**



**Spektrum No 82. NNG-Isp Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**

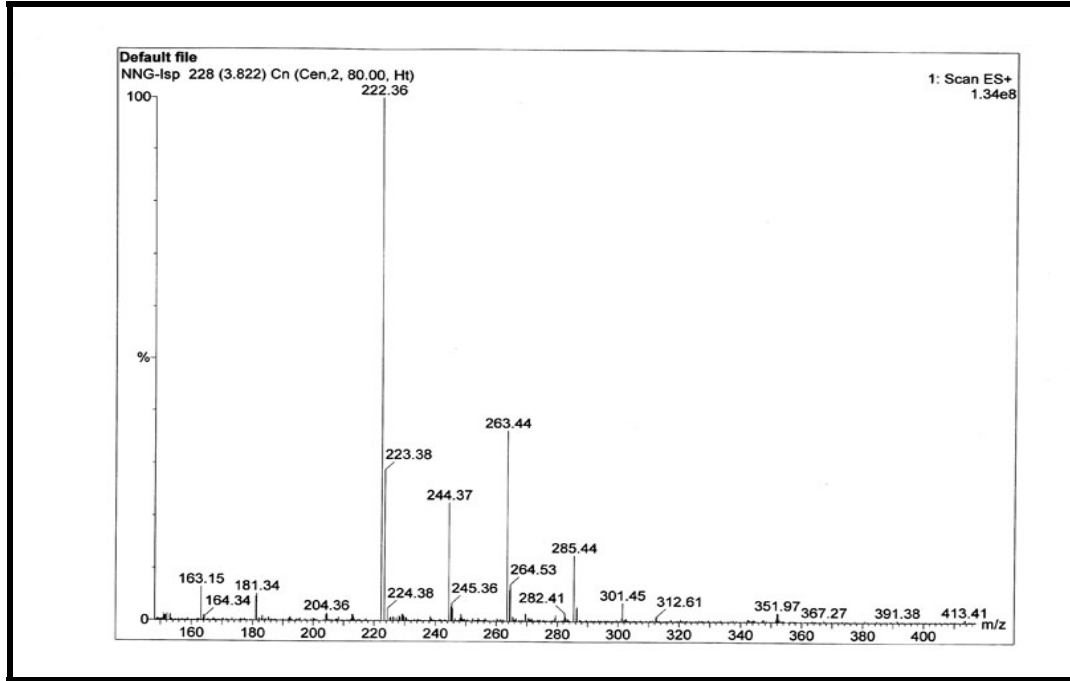


**Spektrum No 83. NNG-Isp Bileşığının  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



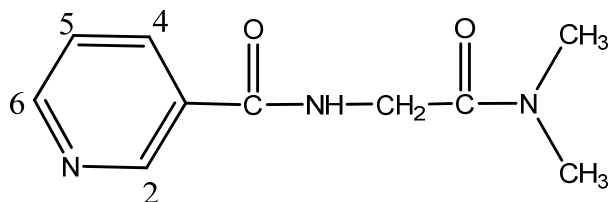
**Spektrum No 84. NNG-Isp Bileşığının  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**





**Spektrum No 85. NNG-Isp Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NNG-DM Bileşiminin Spektral Bulguları



*N*-[2-(dimetilamino)-2-oksoetil]nikotinamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 262.5 (3.59), 257.0 (3.59), 206.5 (4.17) nm

IR (KBr) (Spektrum No 86)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3332 (N-H gerilim), 3054 (Aromatik C-H gerilim), 2927 (Alifatik C-H gerilim), 1643 (C=O gerilim), 1542 (Amid II bandı), 1419 (C=C gerilim), 707 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 87, 88, 89)

CDCl<sub>3</sub>

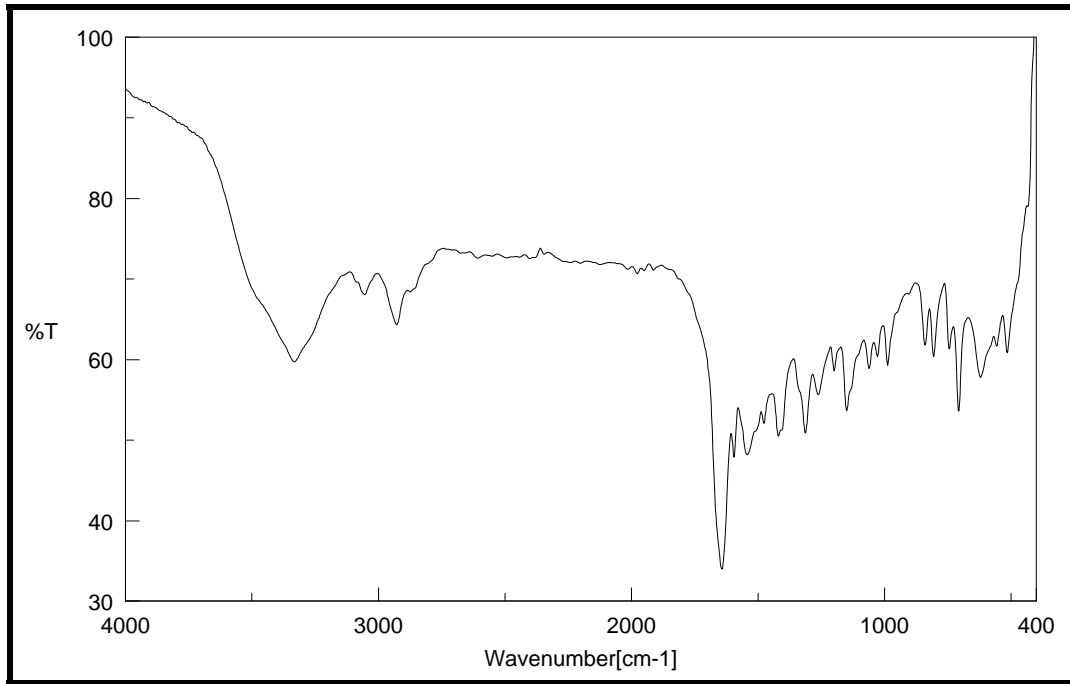
$\delta$  9.08 ( 1H, d, *J* 2 Hz, H-2 ), 8.74 ( 1H, dd, *J* 4.7, 1.6 Hz, H-6 ), 8.16-8.13 ( 1H, m, H-4 ), 7.42 ( 1H, brs, -NH-CH<sub>2</sub>-), 7.39 ( 1H, dd, *J* 7.8, 4.7 Hz, H-5 ), 4.25 ( 2H, d, *J* 3.9 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 3.04 ( 6H, d, *J* 3.9 Hz, -CH<sub>3</sub> )

MS (ESI+) (Spektrum No 90)

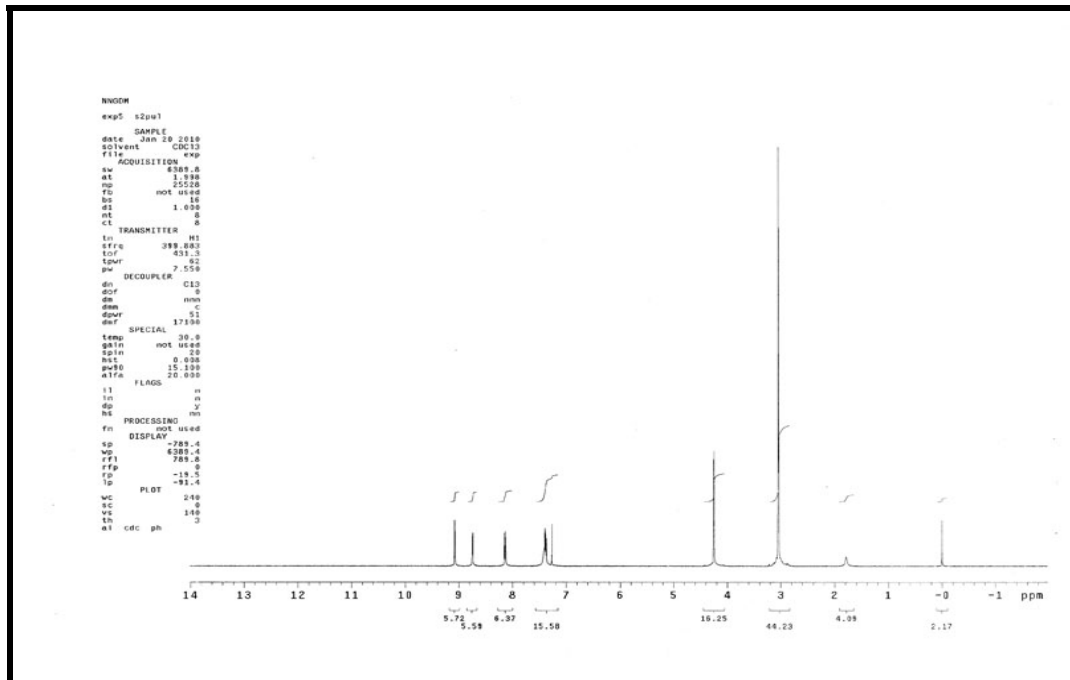
*m/z* 163 (C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>, 45 %), 208 (M+1, 100 %), 209 (M+2, 65 %), 230 (M+23, 85 %), 231 (M+24, 11 %), 249 (M+42, 76 %), 250 (M+43, 14 %), 271 (M+64, 53 %)

**Elementel Analiz (%)**

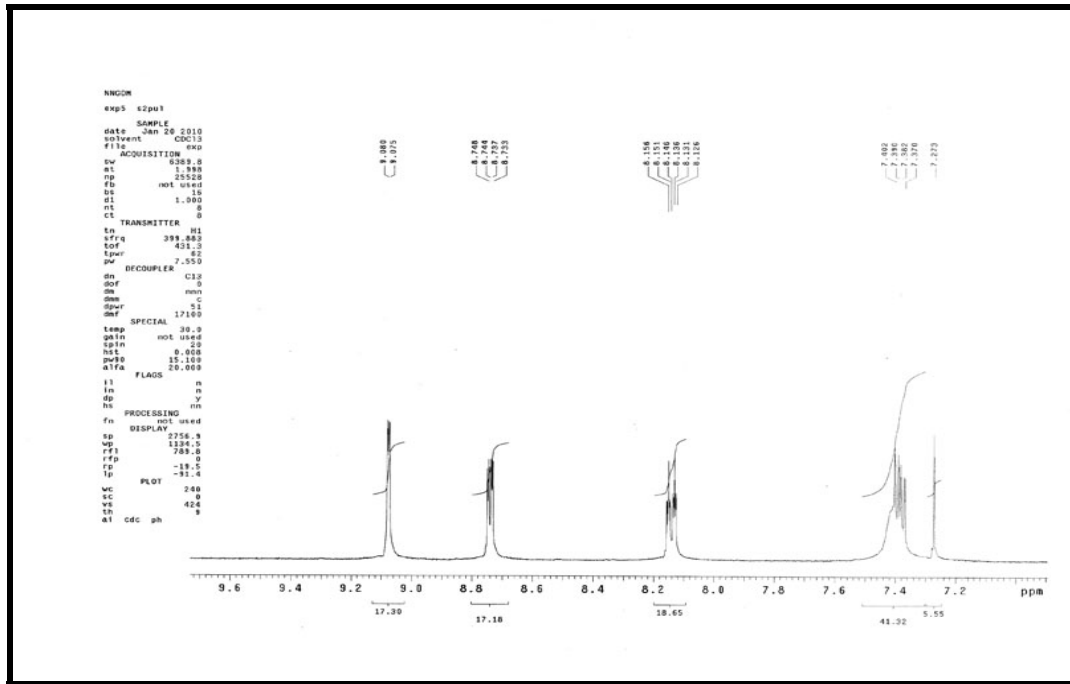
$C_{10}H_{13}N_3O_2$	C	H	N
Hesaplanan	57,96	6,32	20,28
Bulunan	57,68	6,45	19,98



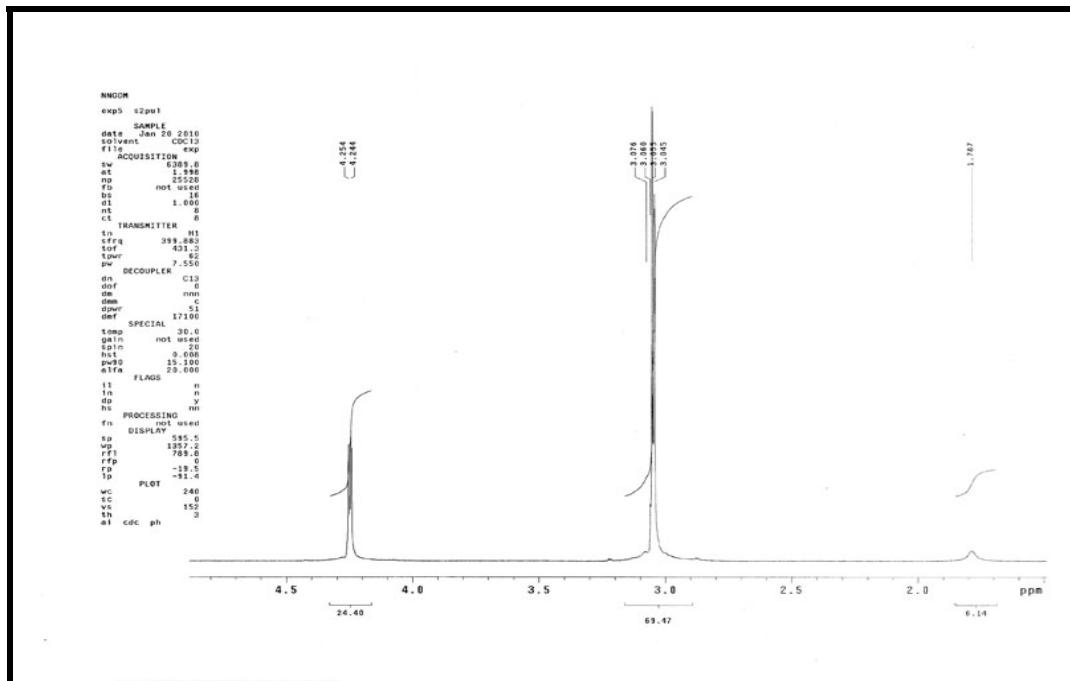
**Spektrum No 86. NNG-DM Bileşğinin IR Spektrumu**



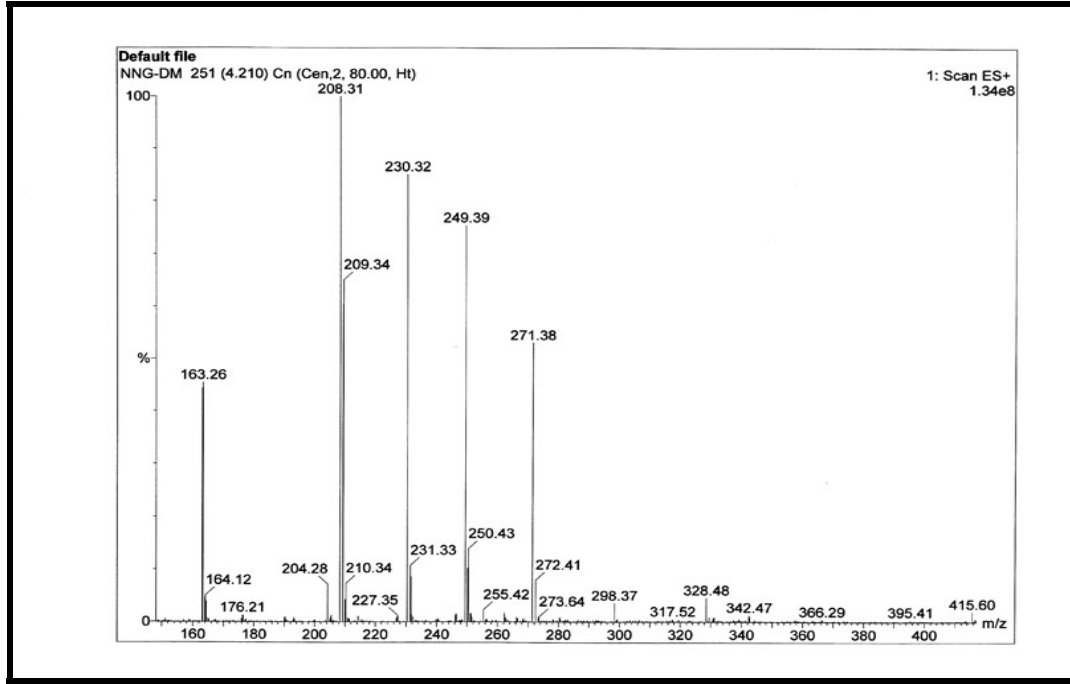
**Spektrum No 87. NNG-DM Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



**Spektrum No 88. NNG-DM Bileşığının <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**

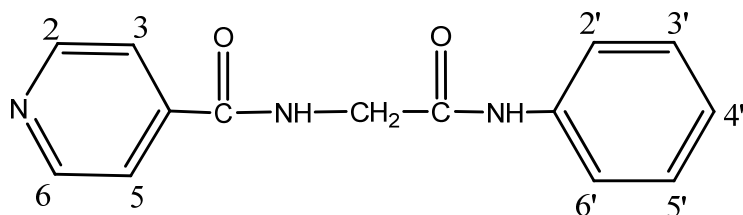


**Spektrum No 89. NNG-DM Bileşığının <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



**Spektrum No 90. NNG-DM Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NING-A Bileşğinin Spektral Bulguları



*N*-[2-(fenilamino)-2-oksoetil]izonikotinamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 242.5 (4.30), 206.0 (4.38) nm

IR (KBr) (Spektrum No 91)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3301 (N-H gerilim), 3073 (Aromatik C-H gerilim), 1677, 1646 (C=O gerilim), 1600 (C=N gerilim), 1535 (Amid II bandı), 1490, 1442 (C=C gerilim), 746 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 92, 93, 94)

DMSO<sub>6</sub>

$\delta$  10.04 (1H, brs, -NH-Ar), 9.09 (1H, d, *J* 5.9 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 8.74-8.73 (2H, m, H-2, H-6), 7.78 (2H, dd, *J* 4.3, 1.6 Hz, H-3, H-5), 7.58 (2H, d, *J* 7.8 Hz, H-2', H-6'), 7.31-7.27 (2H, m, H-3', H-5'), 7.04 (1H, t, *J* 7.4 Hz, H-4'), 4.08 (2H, d, *J* 5.9 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-)

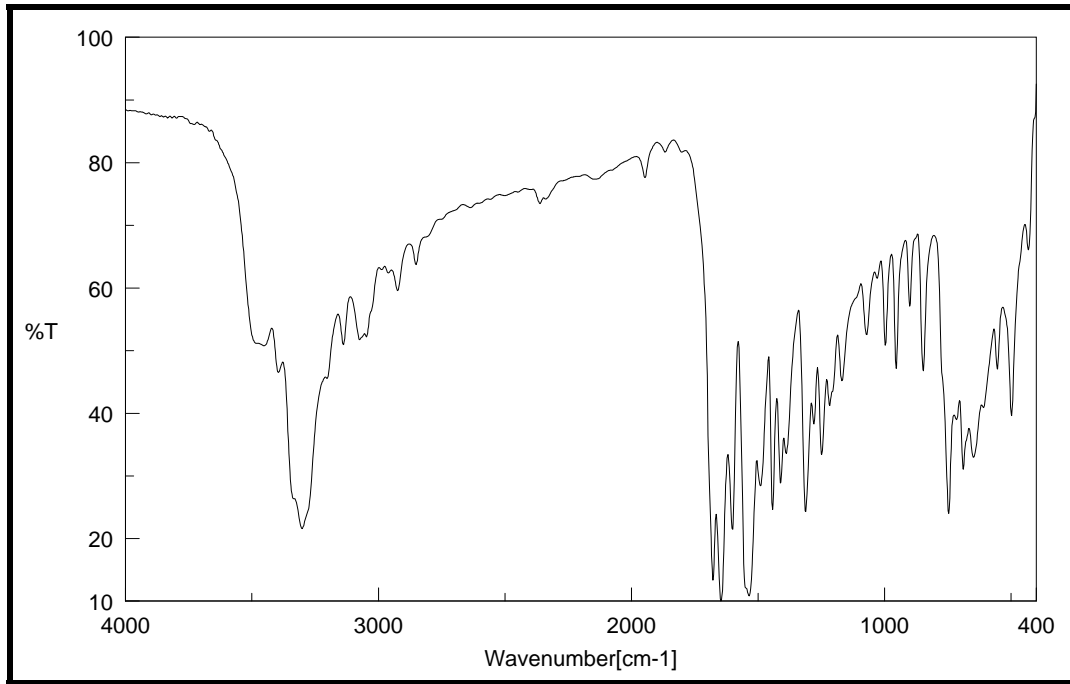
MS (ESI+) (Spektrum No 95)

*m/z* 256 (M+1, 100 %), 257 (M+2, 15 %), 297 (M+42, 33 %)

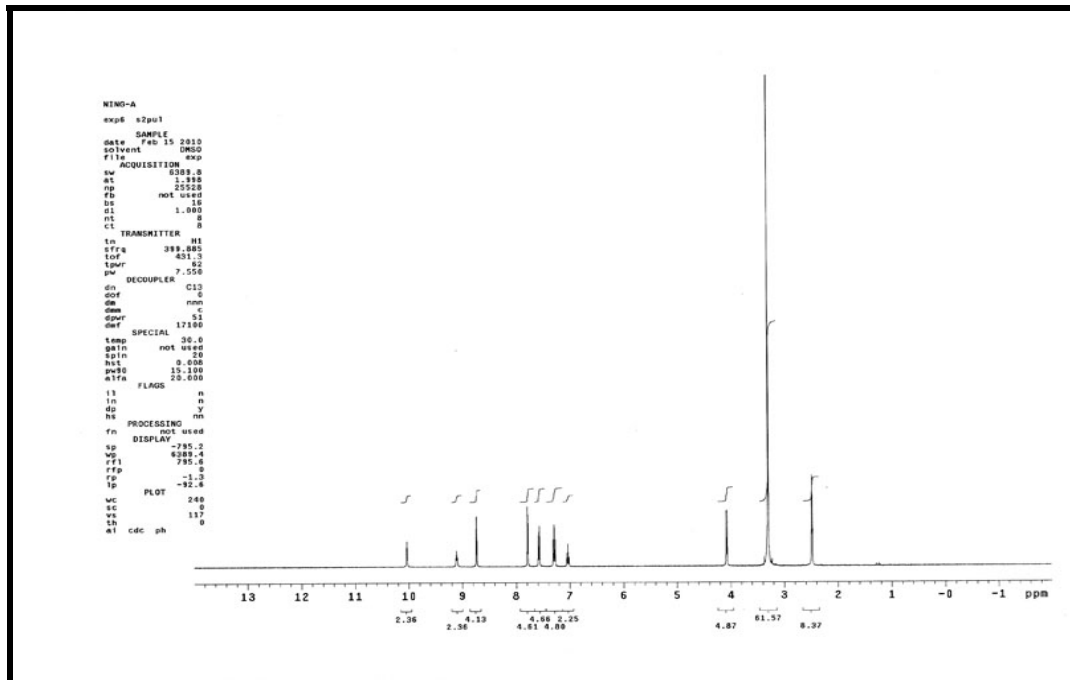
**Elementel Analiz (%)**

$C_{14}H_{13}N_3O_2 \cdot 0,25H_2O$	C	H	N
Hesaplanan	64,73	5,24	16,18
Bulunan	64,52	5,14	16,09

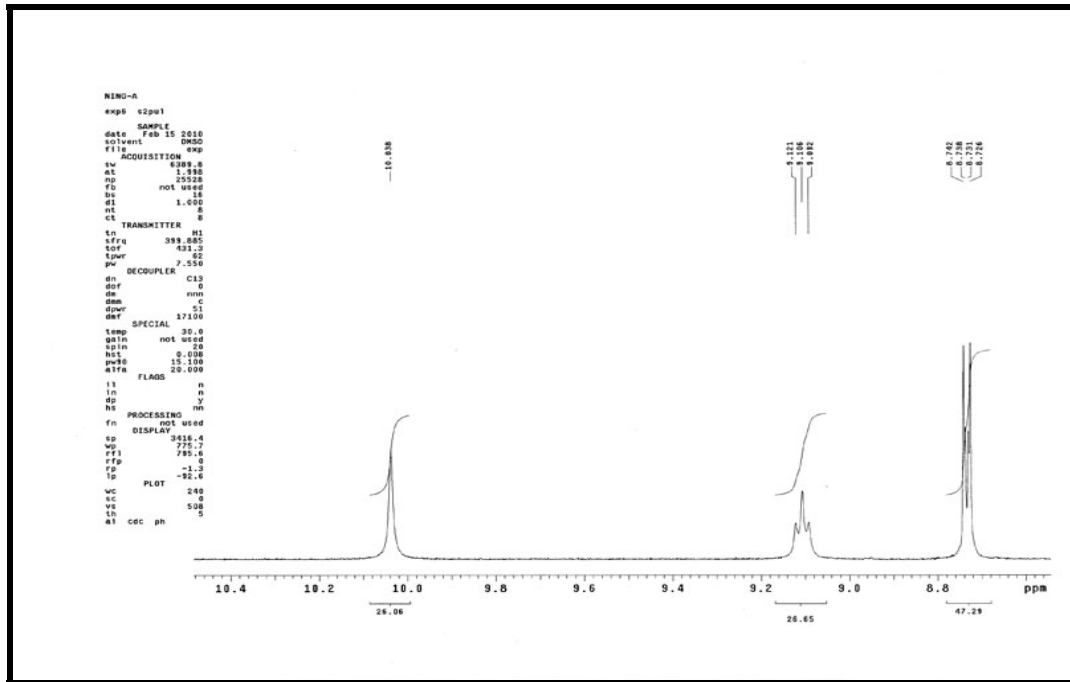




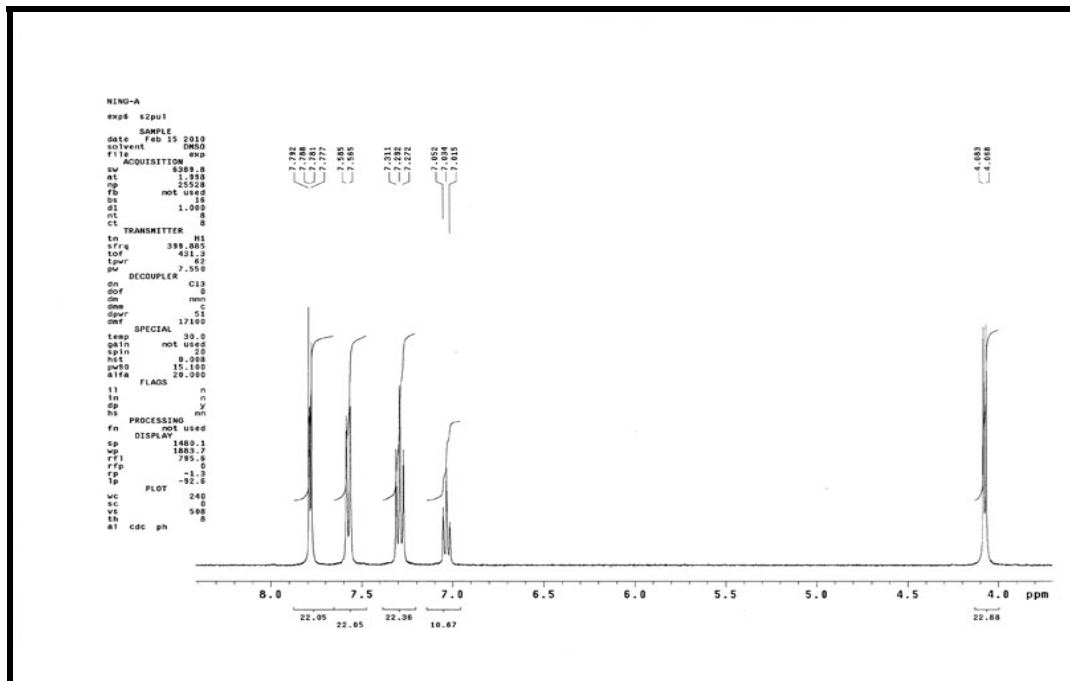
**Spektrum No 91. NING-A Bileşğinin IR Spektrumu**



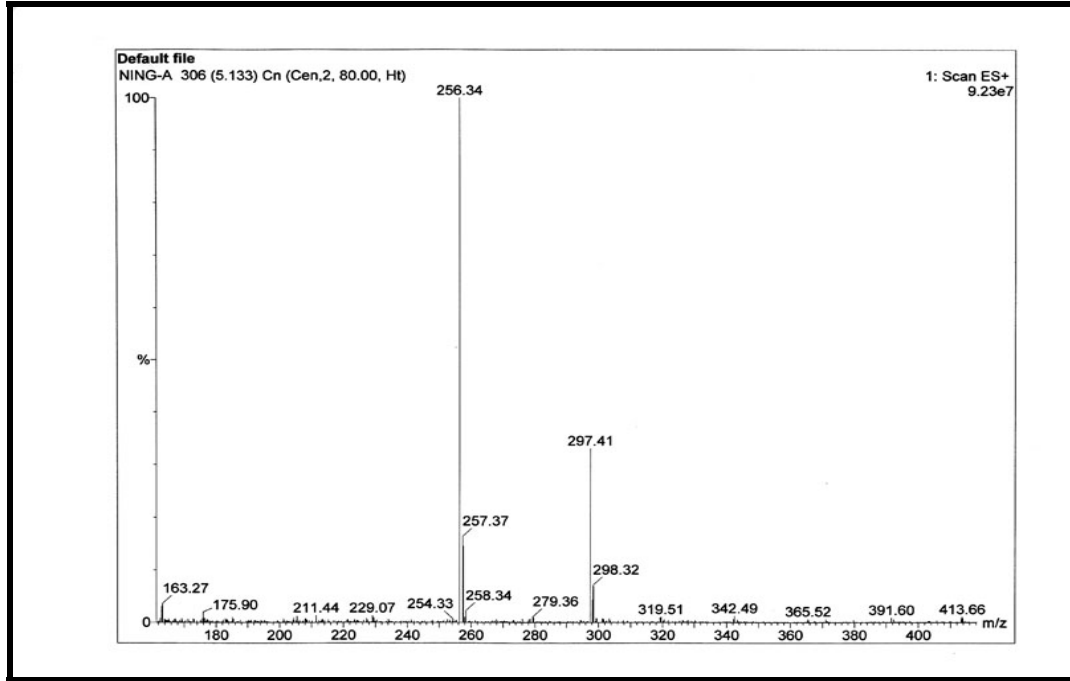
**Spektrum No 92. NING-A Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



Spektrum No 93. NING-A Bileşığının  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)

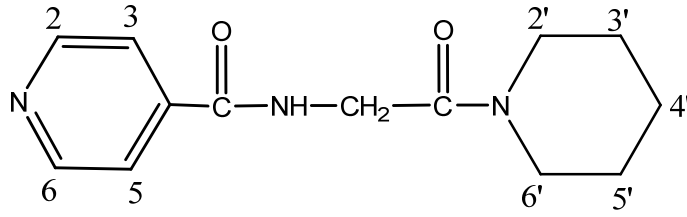


Spektrum No 94. NING-A Bileşığının  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)



**Spektrum No 95. NING-A Bileşinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NING-P Bileşiminin Spektral Bulguları



*N*-[2-okso-2-(piperidin-1-il)etil]izonikotinamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 237.0 (3.73), 205.5 (4.20) nm

IR (KBr) (Spektrum No 96)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3392 (N-H gerilim), 2935, 2857 ( Alifatik C-H gerilim), 1641 (C=O gerilim), 1552 (Amid II bandı), 1446 (C=C gerilim), 754, 707 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 97, 98, 99)

CDCl<sub>3</sub>

$\delta$  8.76-8.74 ( 2H, m, H-2, H-6 ), 7.68-7.67 ( 2H, m, H-3, H-5 ), 7.52 ( 1H, brs, -NH-CH<sub>2</sub>-), 4.22 ( 2H, d, *J* 3.9 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 3.63-3.61 ( 2H, m, H-2' \*, H-6' \*), 3.41-3.38 ( 2H, m, H-2' \*, H-6' \*), 1.72-1.68 ( 2H, m, H-4' ), 1.64-1.57 ( 4H, m, H-3' , H-5' )

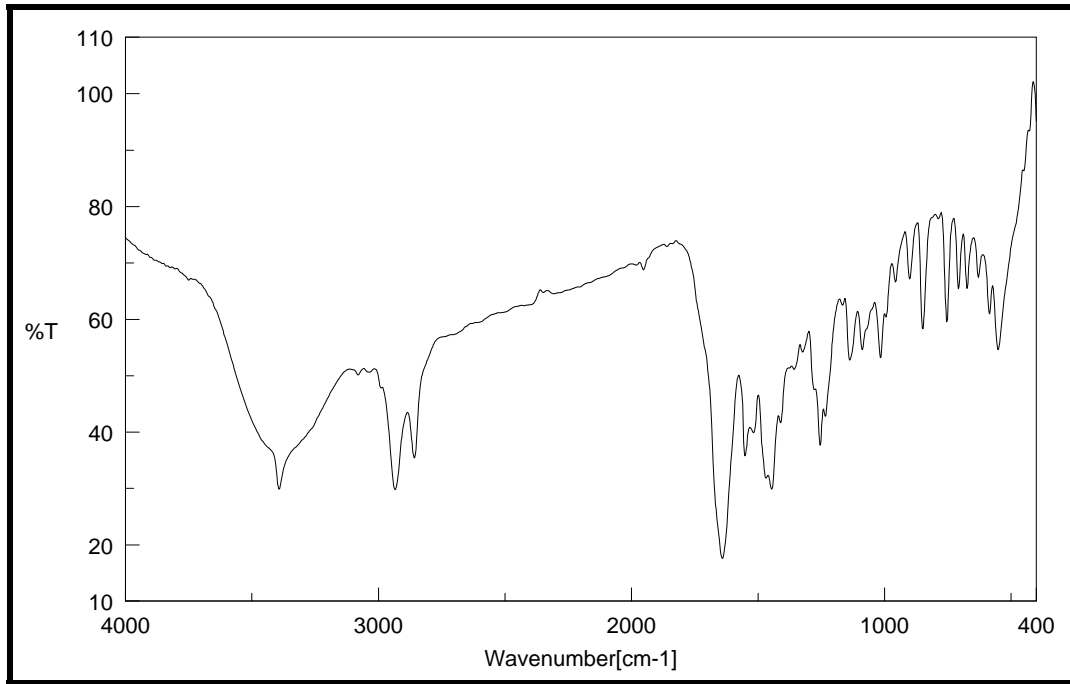
\* İki protonun kimyasal kayma değerleri değişebilir

**MS (ESI+)** ( Spektrum No 100)

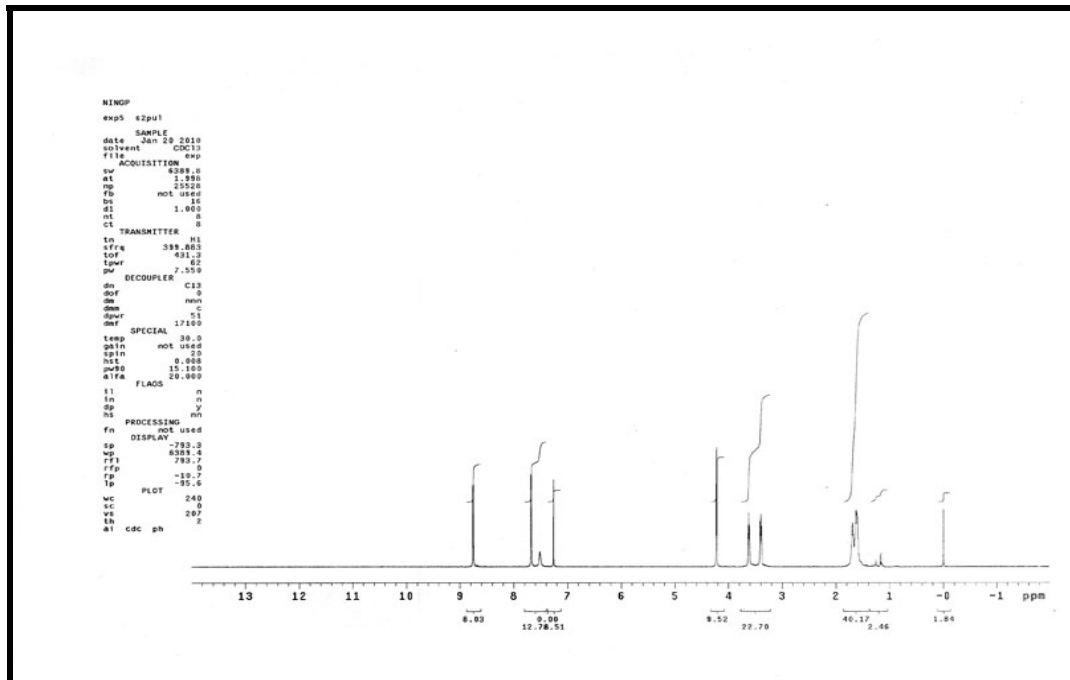
m/z 248 (M+1, 100 %), 249 (M+2, 44 %), 270 (M+23, 15 %), 289 (M+42, 41 %)

**Elementel Analiz (%)**

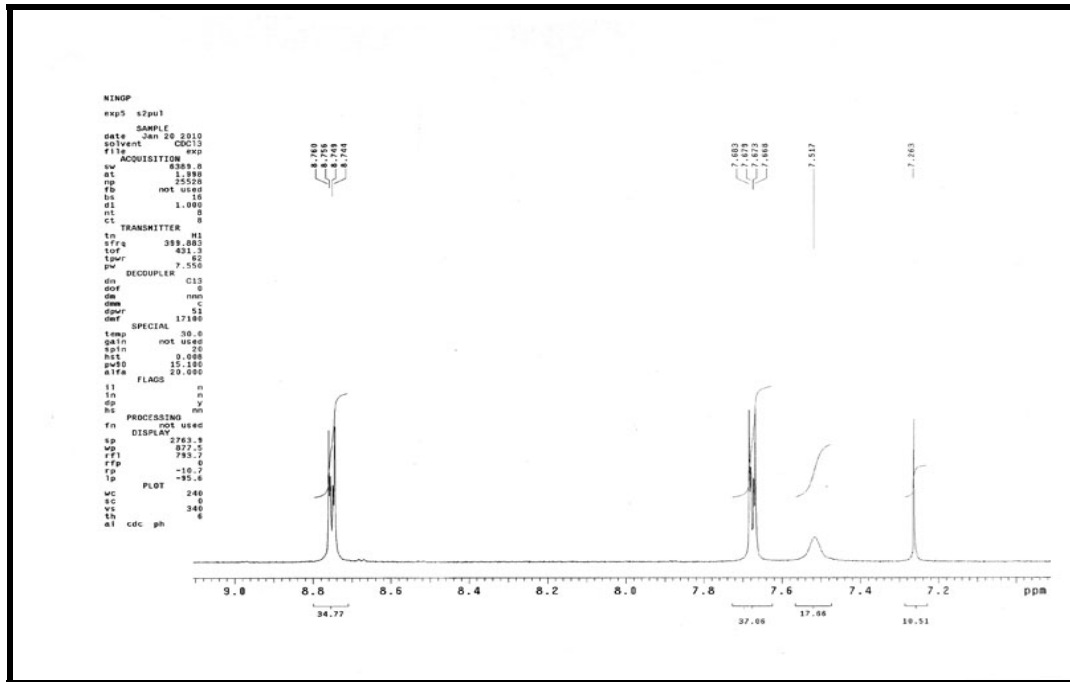
$C_{13}H_{17}N_3O_2$	C	H	N
Hesaplanan	63,14	6,93	16,99
Bulunan	63,13	6,80	16,93



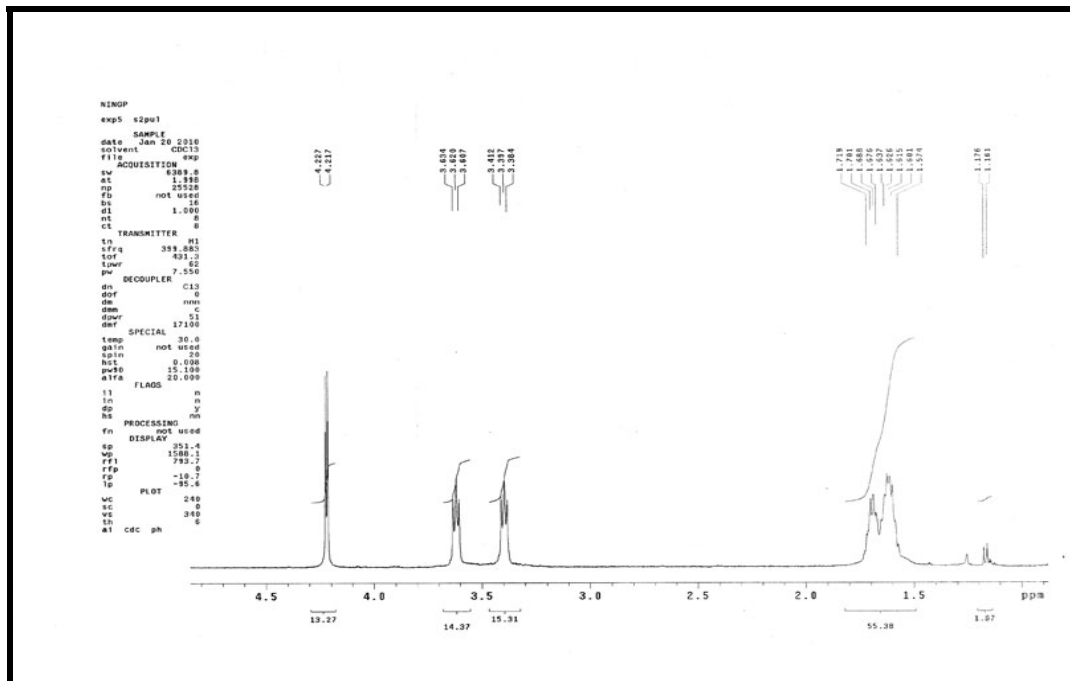
**Spektrum No 96. NING-P Bileşğinin IR Spektrumu**



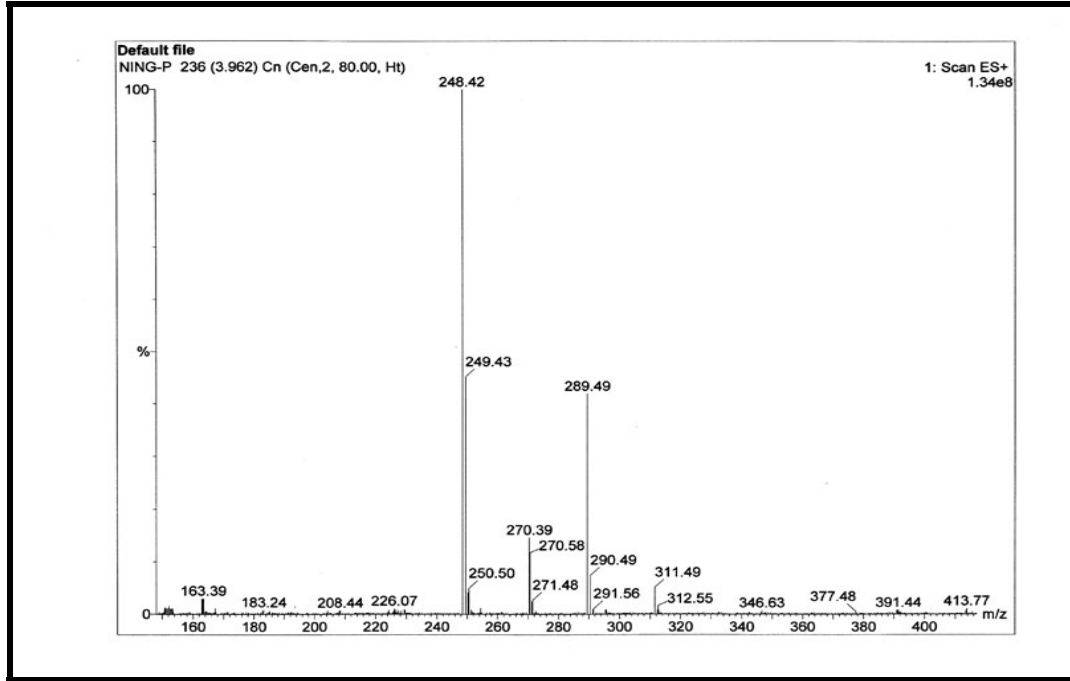
**Spektrum No 97. NING-P Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



**Spektrum No 98. NING-P Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



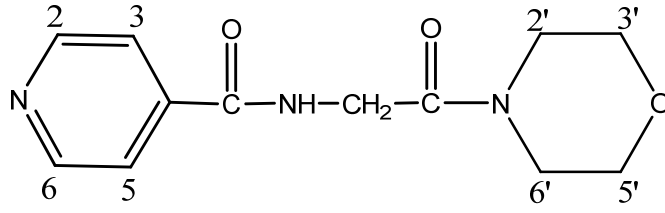
**Spektrum No 99. NING-P Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



**Spektrum No 100. NING-P Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**



## NING-M Bileşğinin Spektral Bulguları



*N*-(2-morfolino-2-oksoetil)izonikotinamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 237.0 (3.71), 205.0 (4.23) nm

IR (KBr) (Spektrum No 101)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3403 (N-H gerilim), 2985, 2917, 2857 (Alifatik C-H gerilim), 1646 (C=O gerilim), 1552, 1515 (Amid II bandı), 1475, 1430 (C=C gerilim), 752, 707, 674 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 102, 103, 104)

CDCl<sub>3</sub>

$\delta$  8.76 ( 2H, dd, *J* 4.7, 1.6 Hz, H-2, H-6 ), 7.67 ( 2H, dd, *J* 4.3, 1.6 Hz, H-3, H-5 ), 7.43 ( 1H, brs, -NH-CH<sub>2</sub>-), 4.25 ( 2H, d, *J* 3.9 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 3.75-3.69 ( 6H, m, H-2' \*, H-3' , H-5' , H-6' \* ), 3.49-3.47 ( 2H, m, H-2' \*, H-6' \* ),

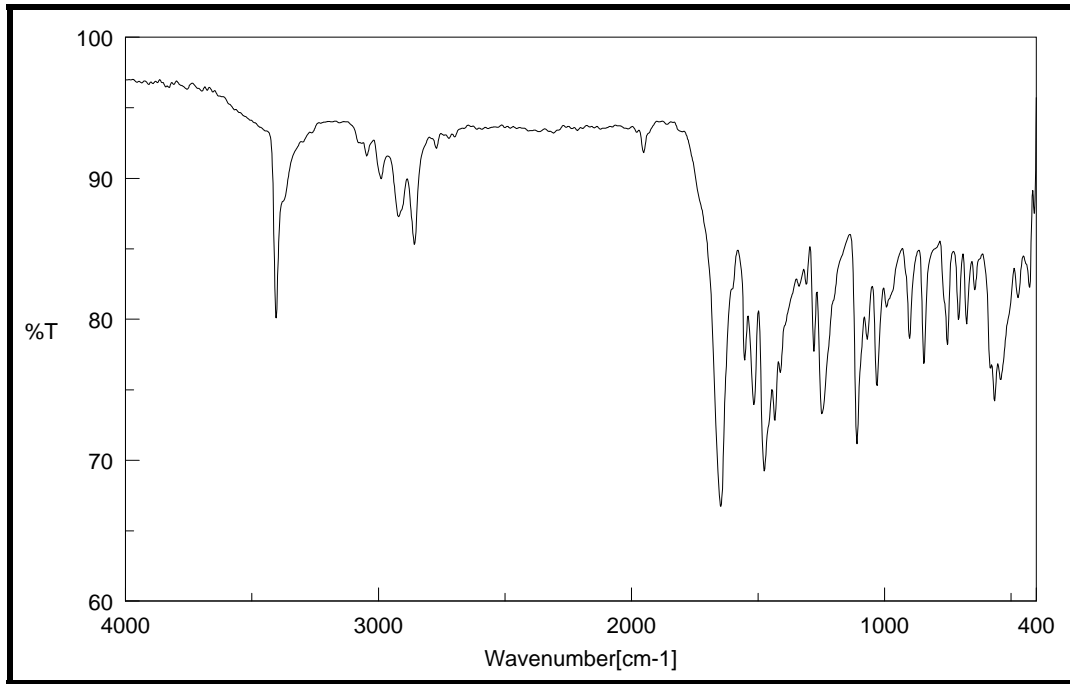
\* İki protonun kimyasal kayma değerleri değişebilir

MS (ESI+) (Spektrum No 105)

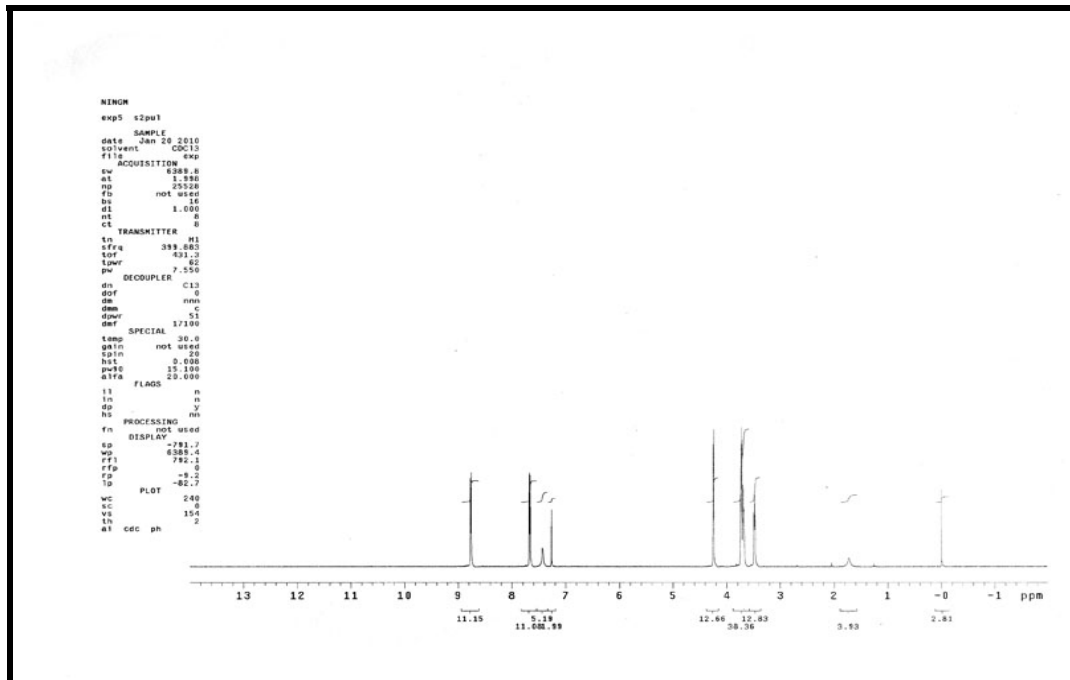
*m/z* 250 (M+1, 100 %), 251 (M+1, 83 %), 291 (M+42, 99 %), 292 (M+43, 17 %)

**Elementel Analiz (%)**

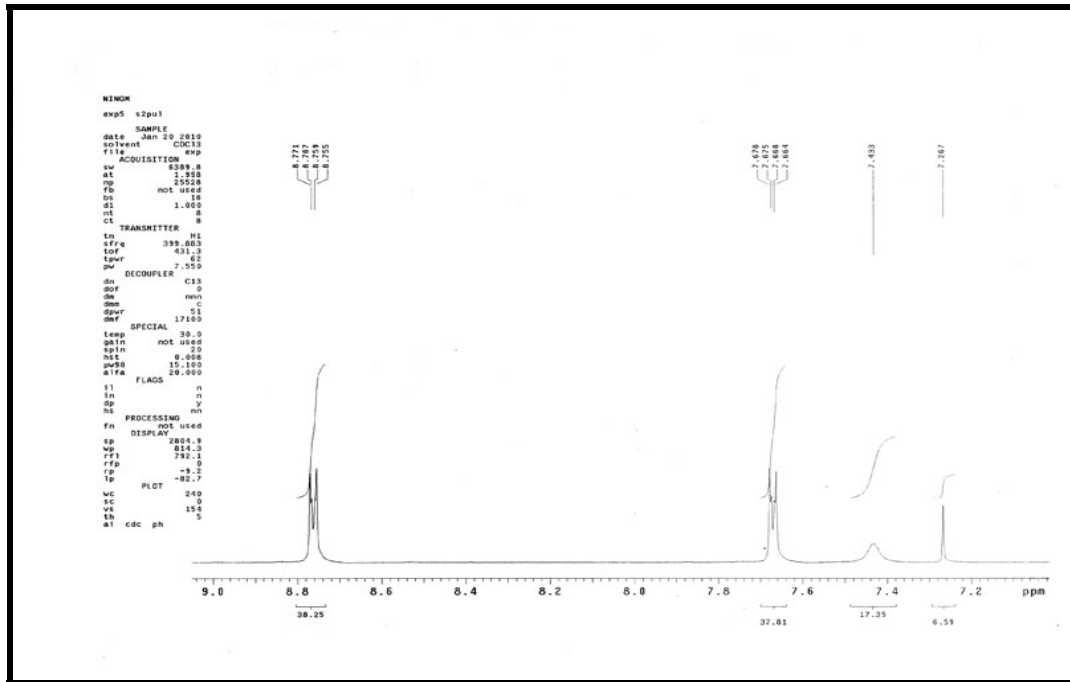
$C_{12}H_{15}N_3O_3$	C	H	N
Hesaplanan	57,82	6,07	16,86
Bulunan	57,61	5,80	16,58



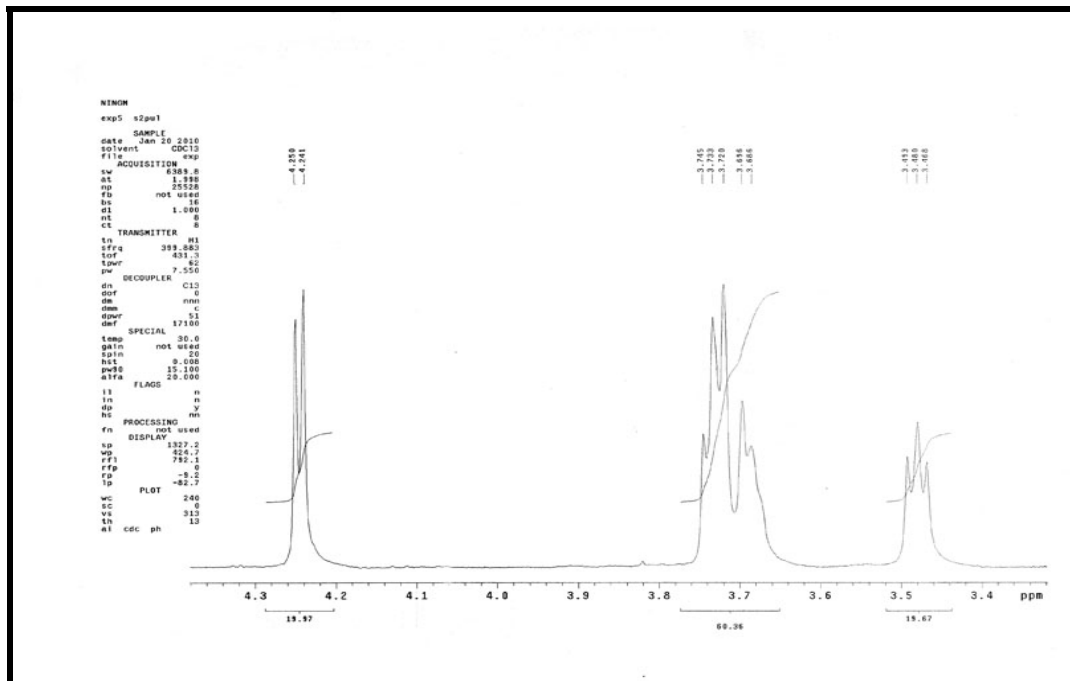
**Spektrum No 101. NING-M Bileşinin IR Spektrumu**



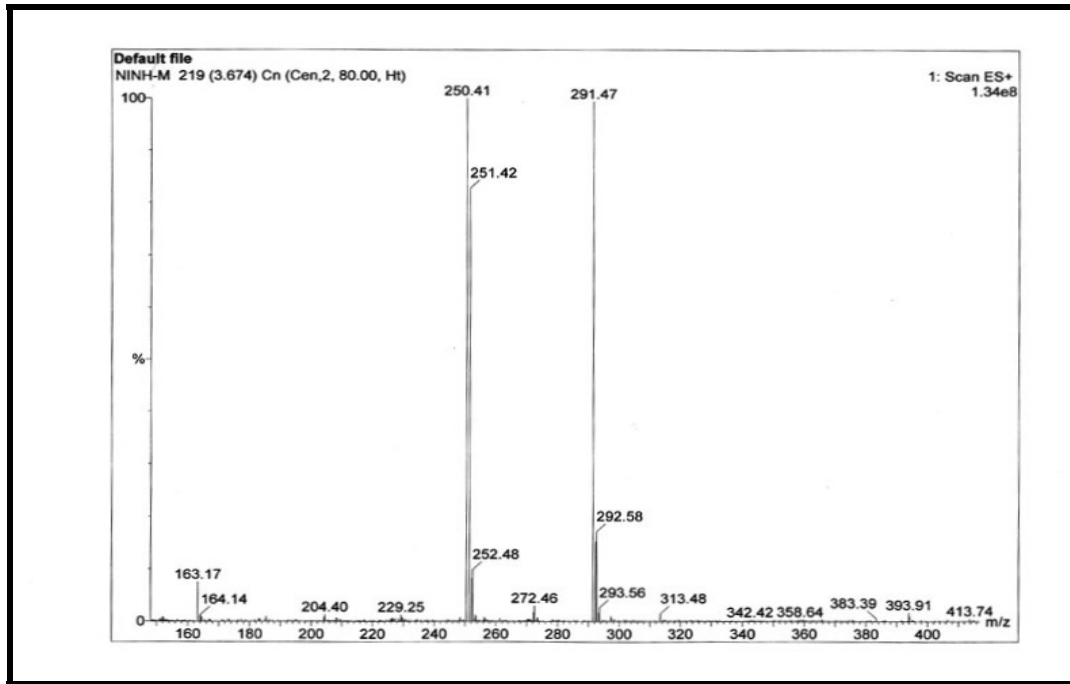
**Spektrum No 102. NING-M Bileşinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



**Spektrum No 103. NING-M Bileşinin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**

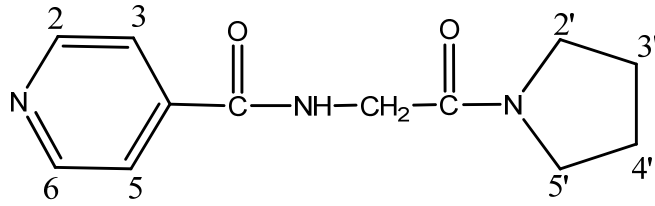


**Spektrum No 104. NING-M Bileşinin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



**Spektrum No 105. NING-M Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NING-Piro Bileşğinin Spektral Bulguları



*N*-[2-okso-2-(pirolidin-1-il)etil]izonikotinamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 237.0 (3.71), 205.5 (4.23) nm

IR (KBr) (Spektrum No 106)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3272, 3237 (N-H gerilim), 3043 (Aromatik C-H gerilim), 2962, 2884 (Alifatik C-H gerilim), 1668, 1627 (C=O gerilim), 1548 (Amid II bandı), 1452 (C=C gerilim), 754, 717, 676 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 107, 108, 109)

CDCl<sub>3</sub>

$\delta$  8.76-8.75 ( 2H, m, H-2, H-6 ), 7.69 ( 2H, dd, *J* 4.7, 1.6 Hz, H-3, H-5 ), 7.47 ( 1H, brs, -NH-CH<sub>2</sub>-), 4.17 ( 2H, d, *J* 3.9 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 3.57-3.53 ( 2H, m, H-2' \*, H-5' \*), 3.47-3.44 ( 2H, m, H-2' \*, H-5' \*), 2.06-2.01 ( 2H, m, H-3' \*, H-4' \*), 1.96-1.91 ( 2H, m, H-3' \*, H-4' \*)

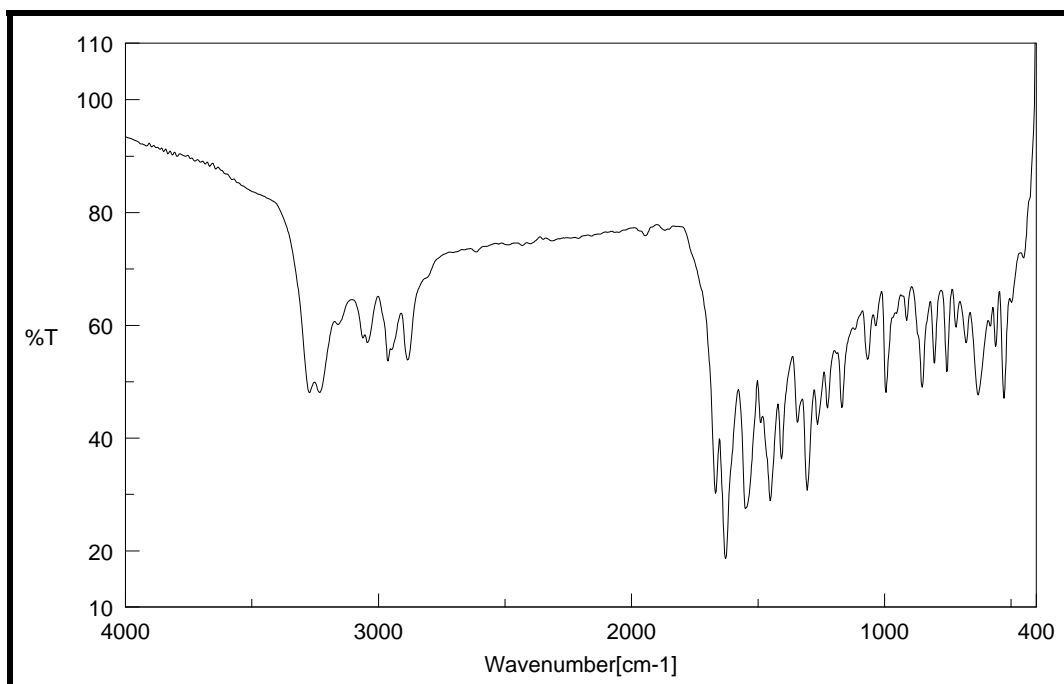
\* İki protonun kimyasal kayma değerleri değişebilir

**MS (ESI+)** ( Spektrum No 110)

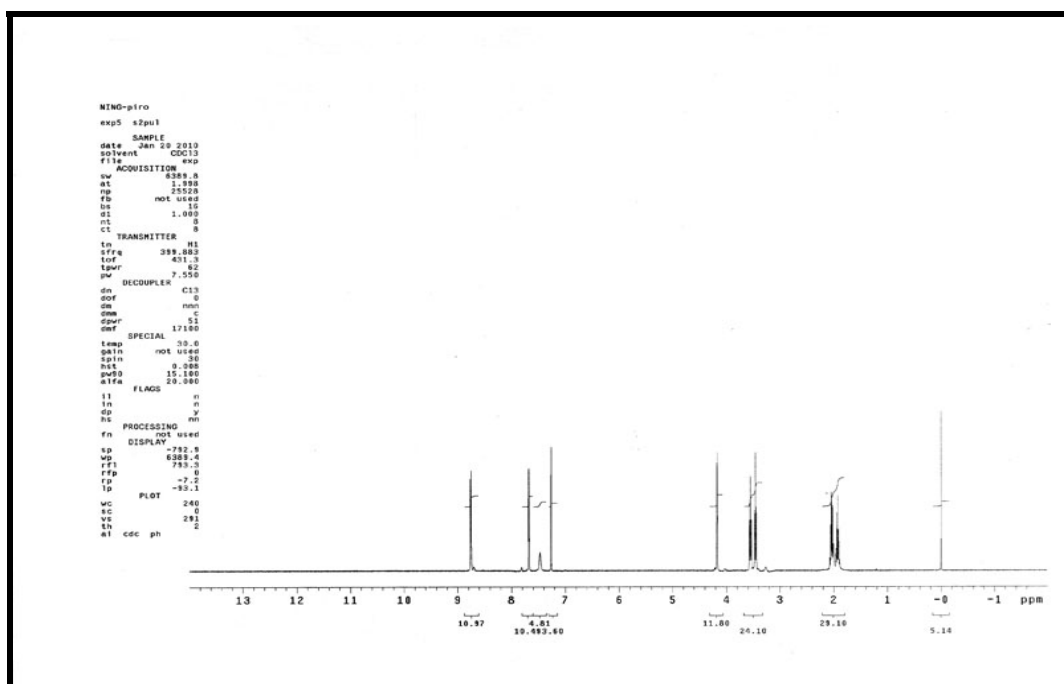
m/z 234 (M+1, 100 %), 235 (M+2, 33 %), 256 (M+23, 19 %), 275 (M+42, 50 %),  
297 (M+64, 14 %),

**Elementel Analiz (%)**

$C_{12}H_{15}N_3O_2$	C	H	N
Hesaplanan	61,79	6,48	18,01
Bulunan	61,73	6,56	17,93

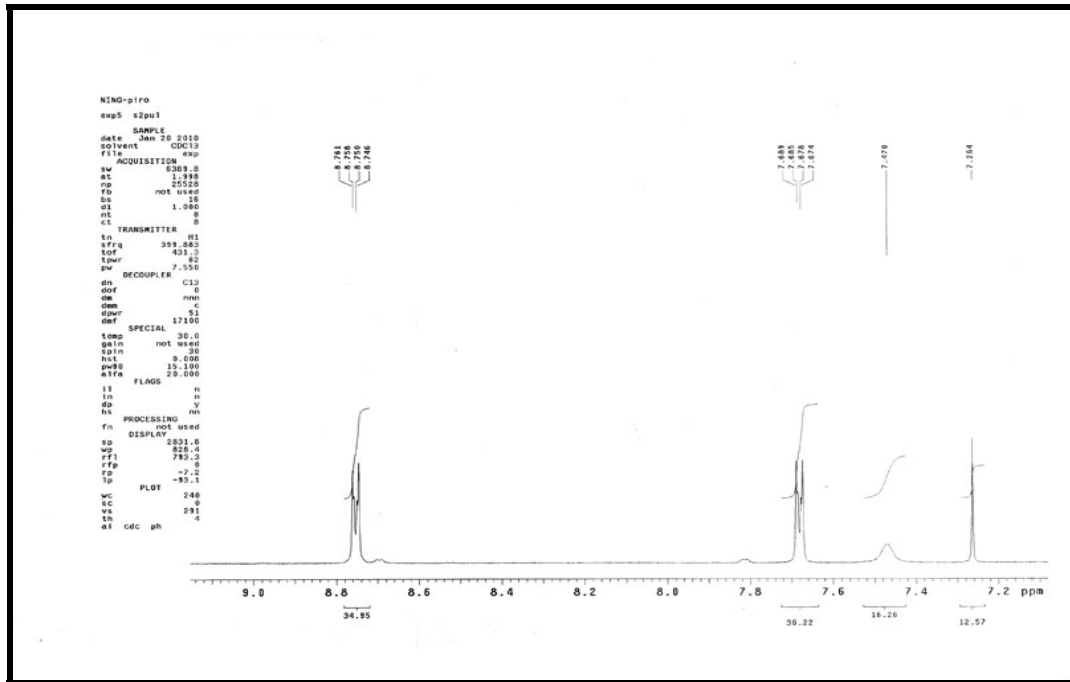


**Spektrum No 106. NING-Piro Bileşğinin IR Spektrumu**

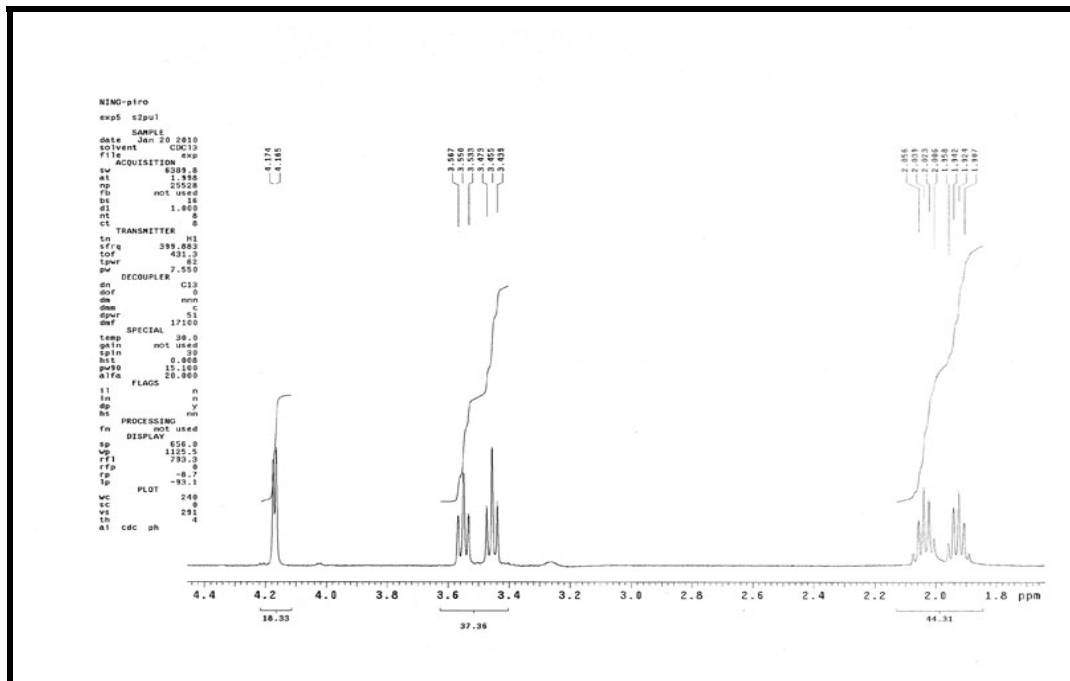


**Spektrum No 107. NING-Piro Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**

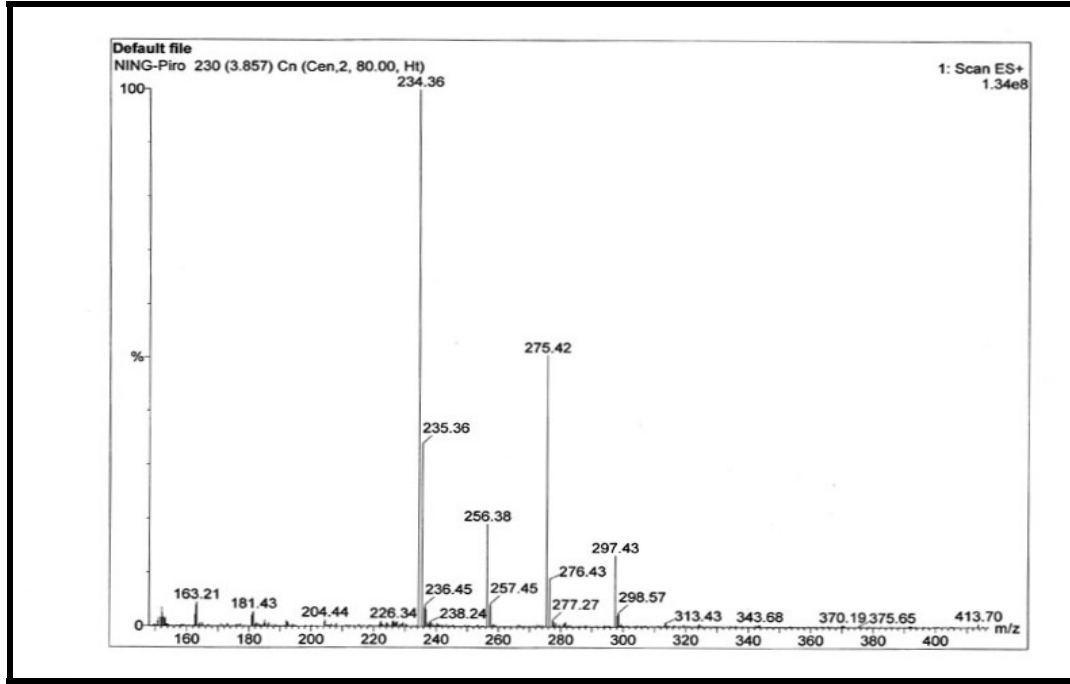




**Spektrum No 108. NING-Piro Bileşğinin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**

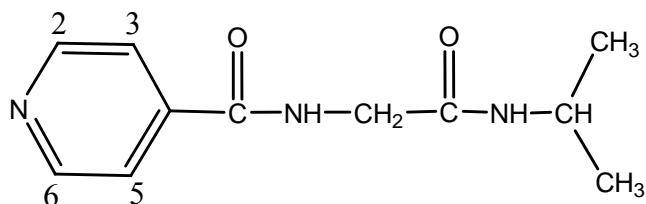


**Spektrum No 109. NING-Piro Bileşğinin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



**Spektrum No 110. NING-Piro Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NING-Isp Bileşğinin Spektral Bulguları



*N*-[2-(izopropilamino)-2-oksoetil]izonikotinamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 236.5 (3.72), 204.0 (4.13) nm

IR (KBr) (Spektrum No 111)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3288 (N-H gerilim), 3068 (Aromatik C-H gerilim), 2975, 2937 (Alifatik C-H gerilim), 1654 (C=O gerilim), 1550 (Amid II bandı), 1463 (C=C gerilim), 754, 674 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 112, 113, 114)

DMSO<sub>6</sub>

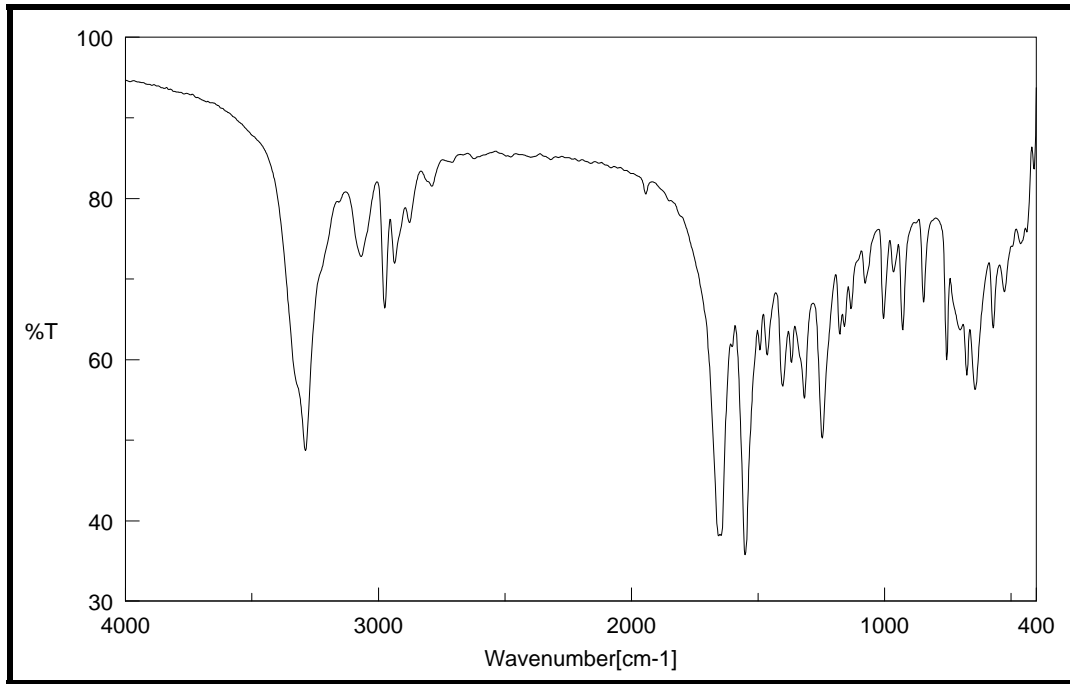
$\delta$  8.90 (1H, t, *J* 5.7 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 8.71 (2H, dd, *J* 4.3, 1.6 Hz, H-2, H-6), 7.78 (1H, brs, -NH-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>), 7.76 (2H, dd, *J* 4.3, 1.6 Hz, H-3, H-5), 3.87-3.82 (3H, m, -NH-CH<sub>2</sub>-),  $\equiv$ C-H), 1.05 (6H, d, *J* 6.6 Hz, -CH<sub>3</sub>)

MS (ESI+) (Spektrum No 115)

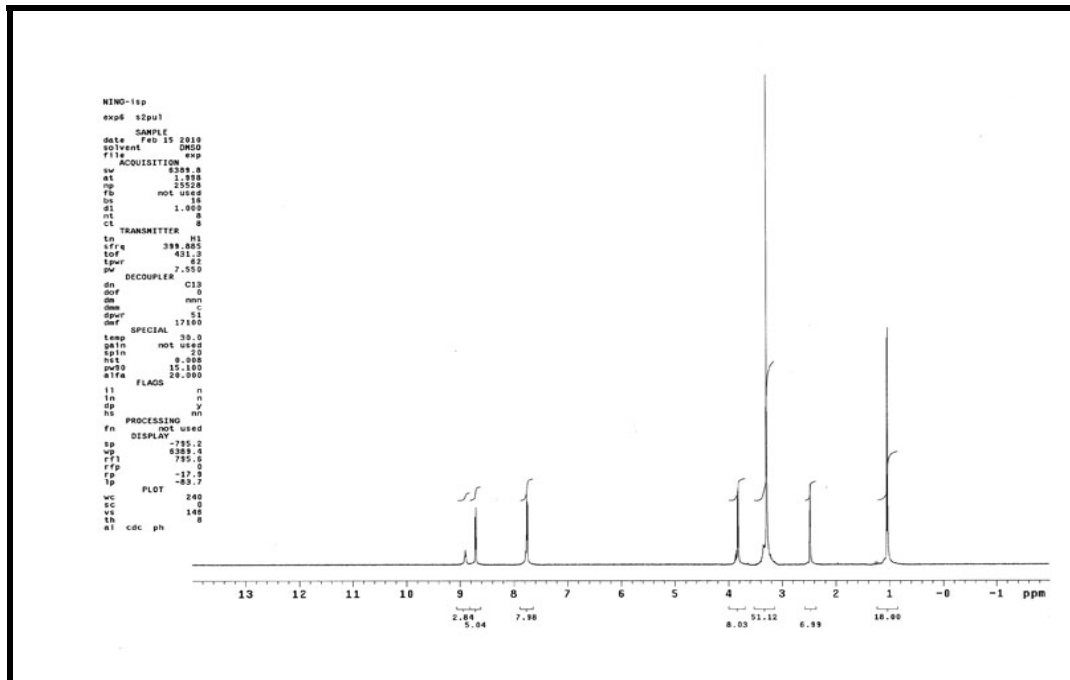
*m/z* 222 (M+1, 100 %), 223 (M+2, 14 %), 263 (M+42, 19 %)

**Elementel Analiz (%)**

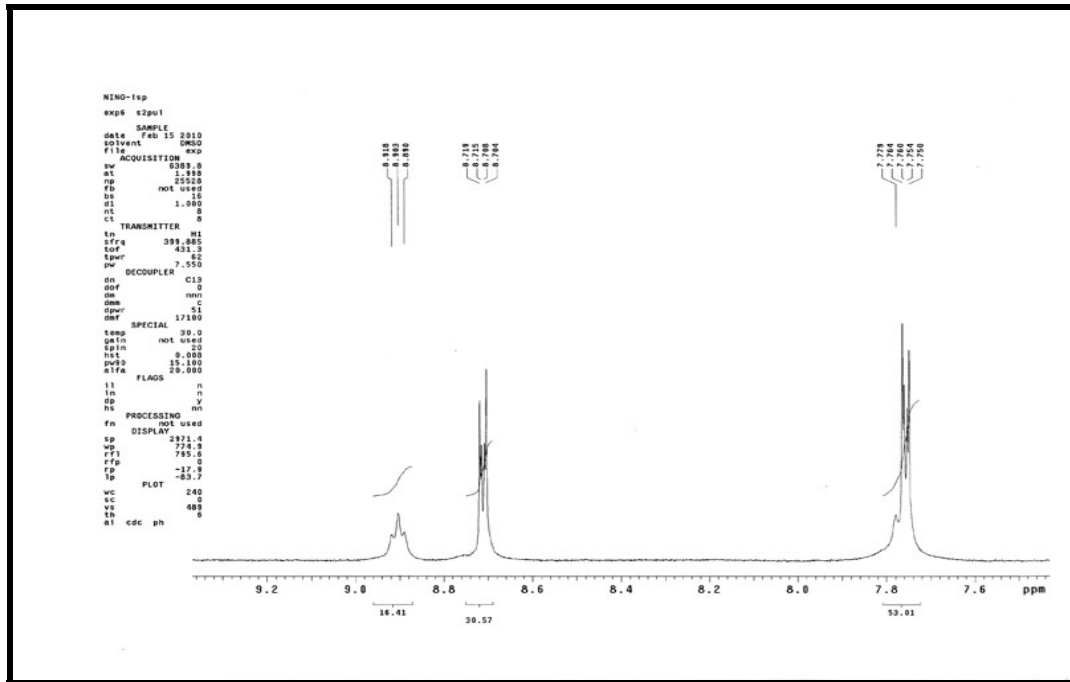
$C_{11}H_{15}N_3O_2$	C	H	N
Hesaplanan	59,71	6,83	18,99
Bulunan	59,62	6,64	18,85



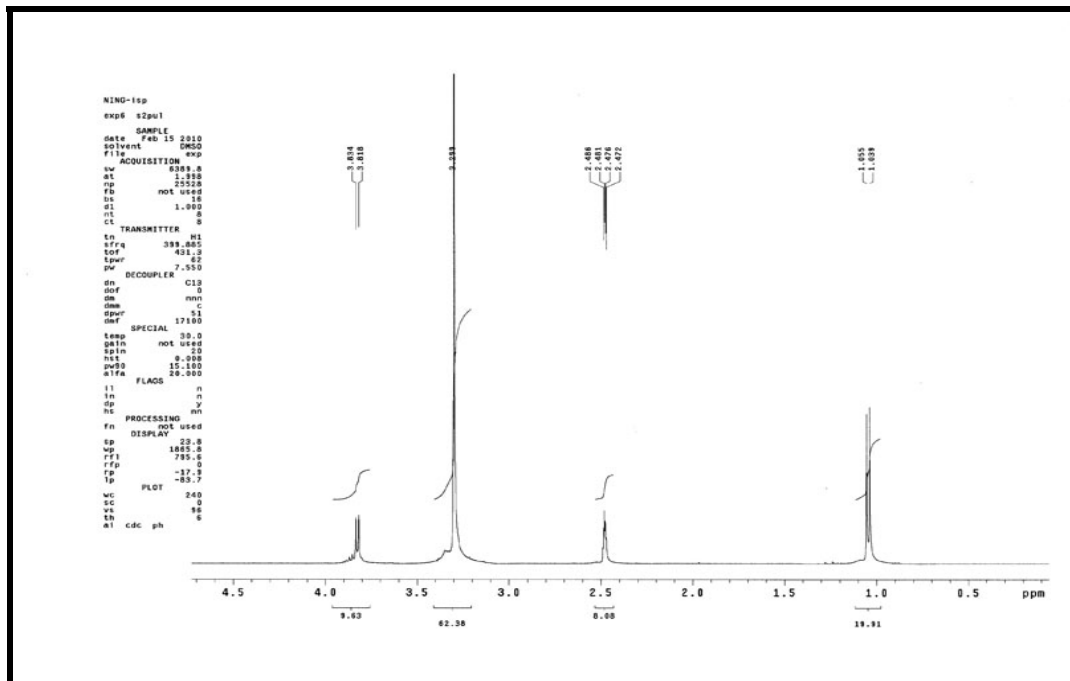
**Spektrum No 111. NING-Isp Bileşğinin IR Spektrumu**



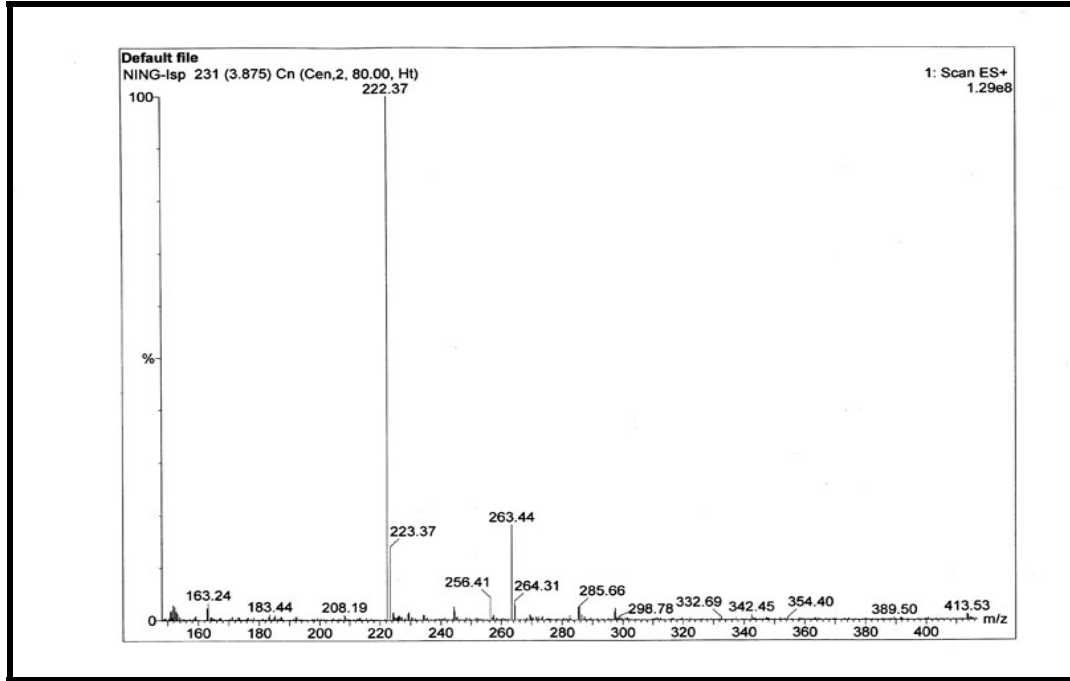
**Spektrum No 112. NING-Isp Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



**Spektrum No 113. NING-Isp Bileşiminin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**

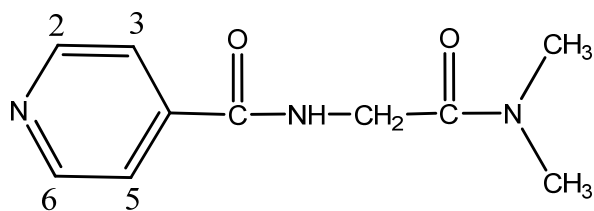


**Spektrum No 114. NING-Isp Bileşiminin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



**Spektrum No 115. NING-Isp Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NING-DM Bileşiminin Spektral Bulguları



*N*-[2-(dimetilamino)-2-oksoetil]izonikotinamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 237.0 (3.69), 205.5 (4.18) nm

IR (KBr) (Spektrum No 116)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3345 (N-H gerilim), 3070 (Aromatik C-H gerilim), 2923 (Alifatik C-H gerilim), 1677, 1637 (C=O gerilim), 1546 (Amid II bandı), 1428 (C=C gerilim), 752, 707, 674 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 117, 118, 119)

CDCl<sub>3</sub>

$\delta$  8.76-8.75 ( 2H, m, H-2, H-6 ), 7.68-7.67 ( 2H, m, H-3, H-5 ), 7.46 ( 1H, brs, -NH-CH<sub>2</sub>-), 4.23 ( 2H, d, *J* 3.9 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 3.05 ( 6H, d, *J* 1.2 Hz, -CH<sub>3</sub> )

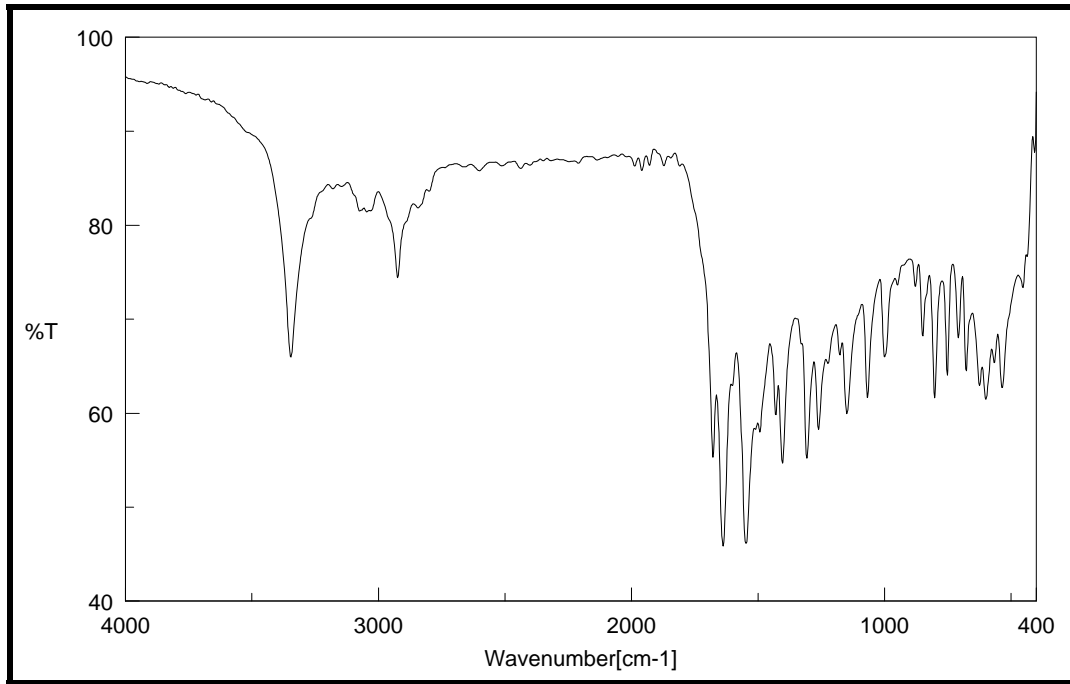
MS (ESI+) (Spektrum No 120)

*m/z* 208 (M+1, 100 %), 209 (M+2, 12 %), 249 (M+42, 14 %)

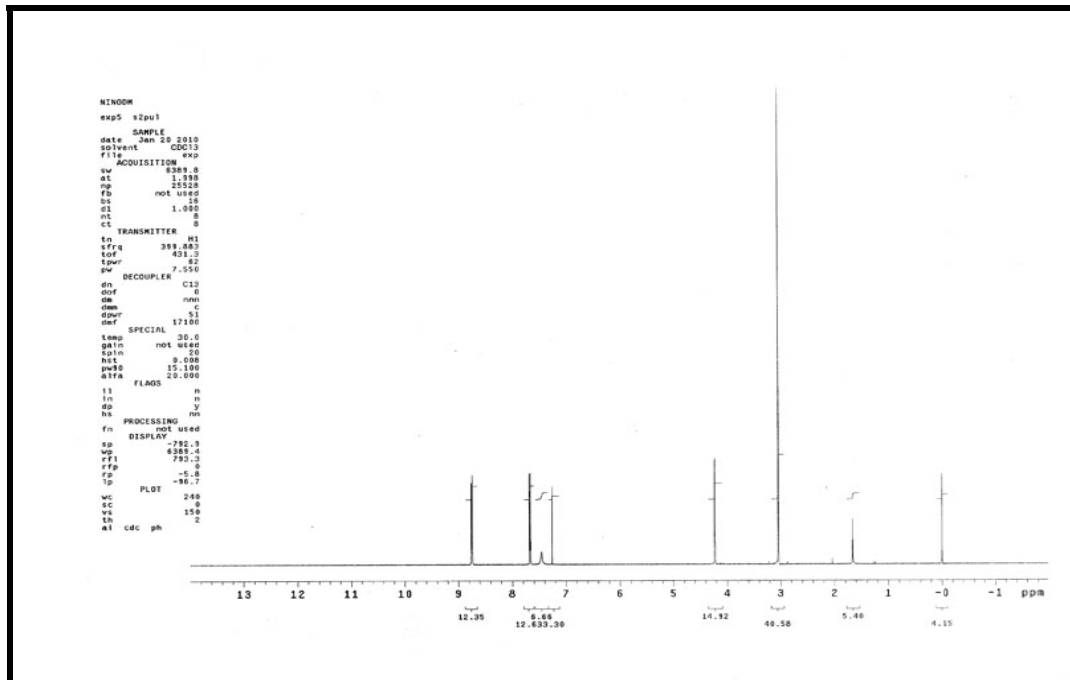


**Elementel Analiz (%)**

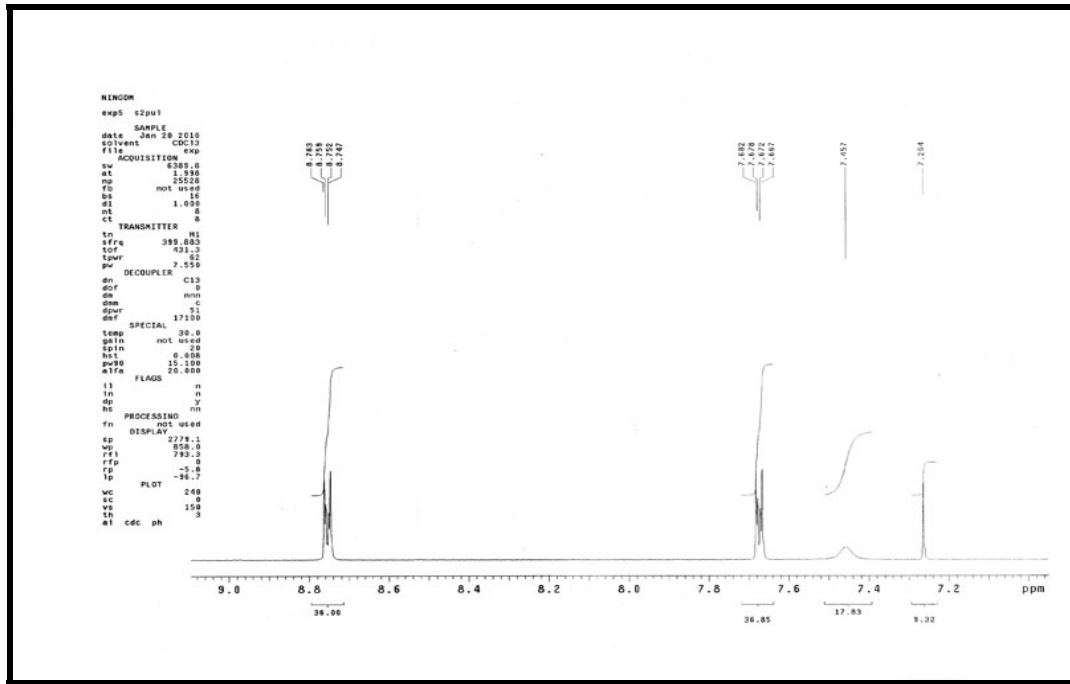
$C_{10}H_{13}N_3O_2 \cdot 0.1H_2O$	C	H	N
Hesaplanan	57,46	6,37	20,10
Bulunan	57,42	5,97	19,89



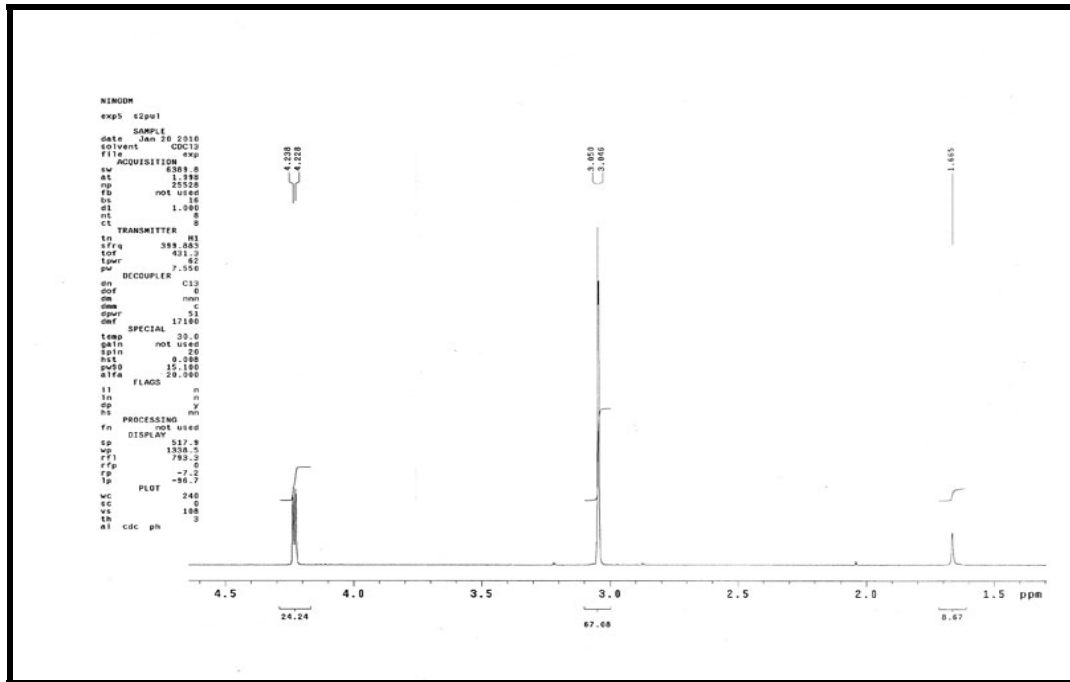
**Spektrum No 116. NING-DM Bileşğinin IR Spektrumu**



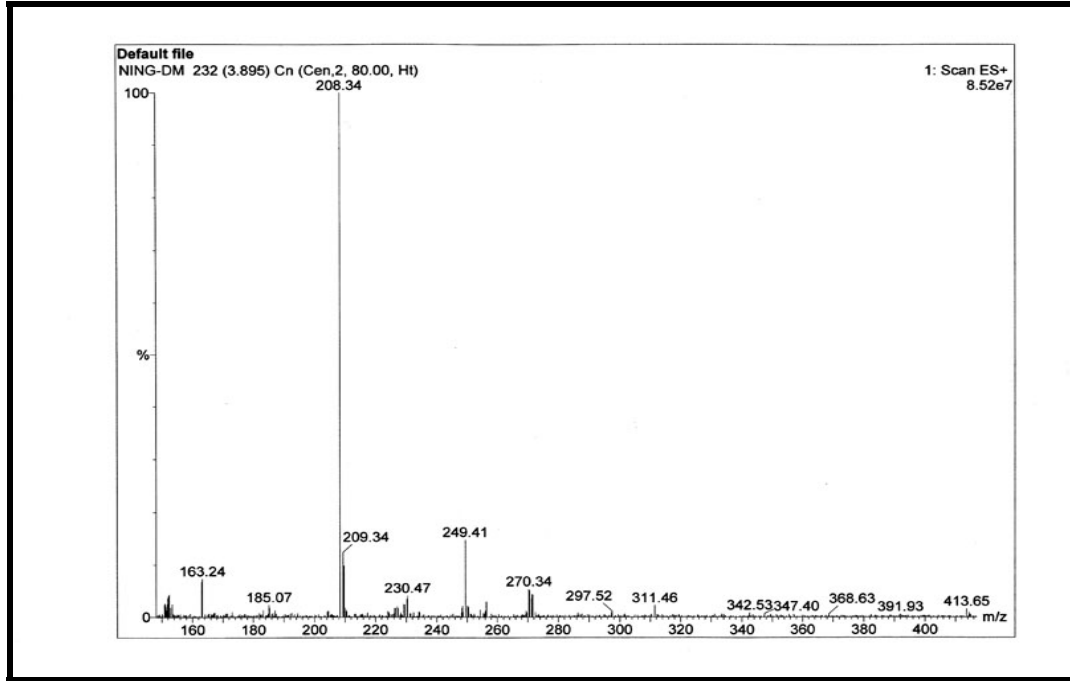
**Spektrum No 117. NING-DM Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



Spektrum No 118. NING-DM Bileşığının  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)

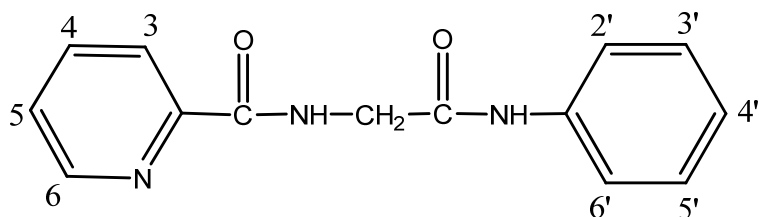


Spektrum No 119. NING-DM Bileşığının  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)



**Spektrum No 120. NING-DM Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NPG-A Bileşğinin Spektral Bulguları



*N*-[2-(fenilamino)-2-oksoetil]pikolinamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 242.5 (4.27), 206.0 (4.33) nm

IR (KBr) (Spektrum No 121)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3367, 3322 (N-H gerilmesi), 3149 (Aromatik C-H gerilmesi), 1675 (C=O gerilmesi), 1608 (C=N gerilmesi), 1558, 1531 (Amid II bandı), 1463 (C=C gerilmesi), 750, 694 (Düzlem dışı C-H eğilmesi)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 122, 123, 124)

DMSO<sub>6</sub>

$\delta$  10.07 (1H, brs, -NH-Ar), 8.97-8.94 (1H, m, -NH-CH<sub>2</sub>-), 8.70-8.68 (1H, m, H-6), 8.08-8.05 (1H, m, H-3), 8.04-8.00 (1H, m, H-4), 7.66-7.62 (1H, m, H-5), 7.60-7.58 (2H, m, H-2', H-6'), 7.34-7.30 (2H, m, H-3', H-5'), 7.06-7.03 (1H, m, H-4'), 4.15 (2H, d, *J* 5.9 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-)

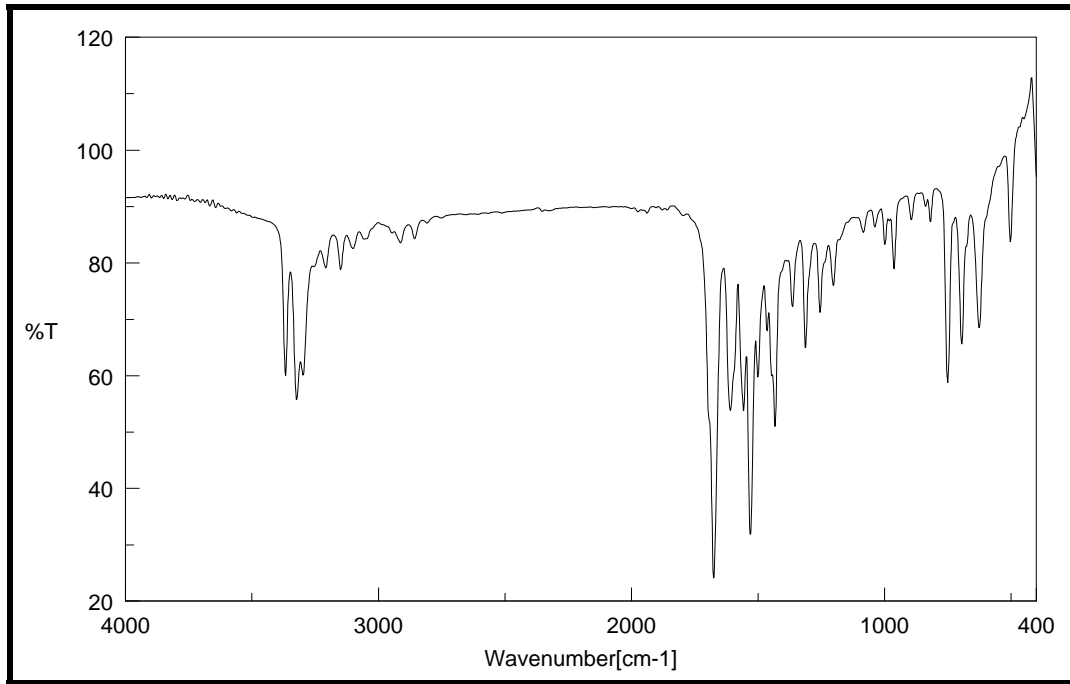
MS (ESI+) (Spektrum No 125)

*m/z* 135 (C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sup>+</sup>+1, 33 %), 163 (C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>, 100 %), 164 (C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>, 20 %),

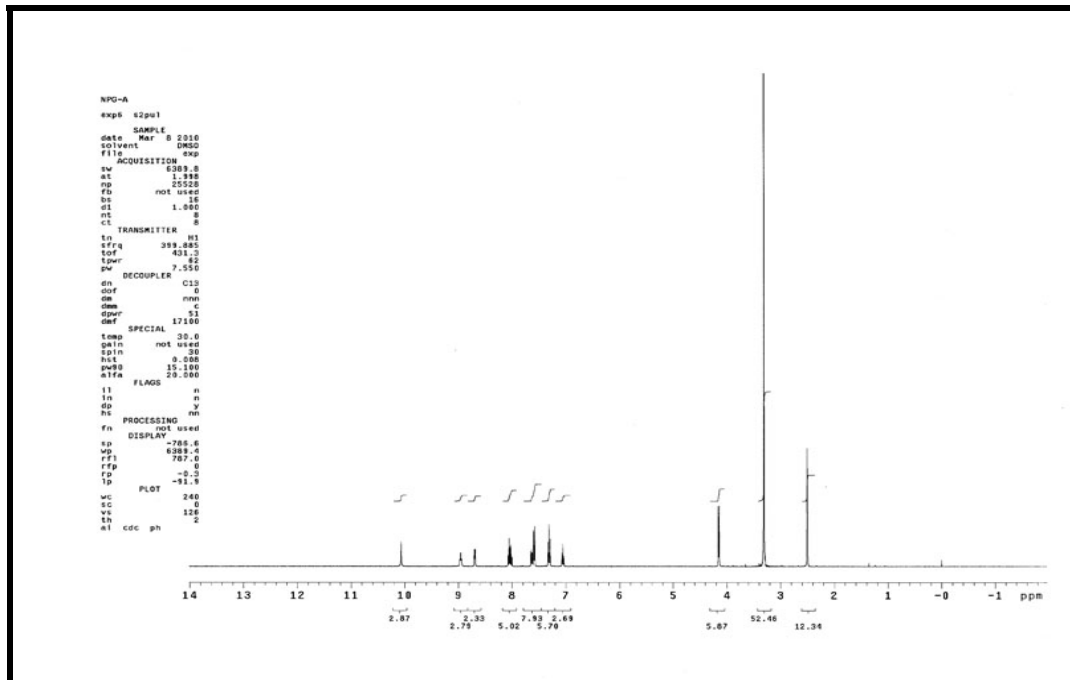
256 (M+1, 100 %), 257 (M+2, 21 %), 278 (M+23, 100 %), 279 (M+24, 18 %), 319 (M+64, 54 %), 320 (M+65, 11 %)

**Elementel Analiz (%)**

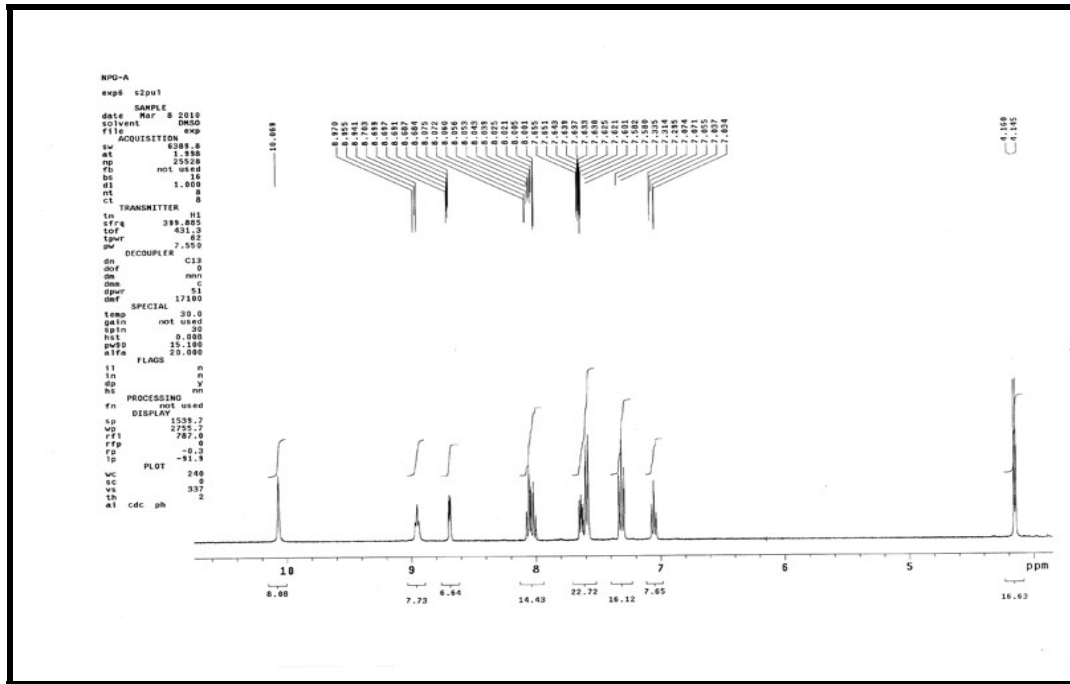
$C_{14}H_{13}N_3O_2$	C	H	N
Hesaplanan	65,87	5,13	16,46
Bulunan	65,62	5,14	16,28



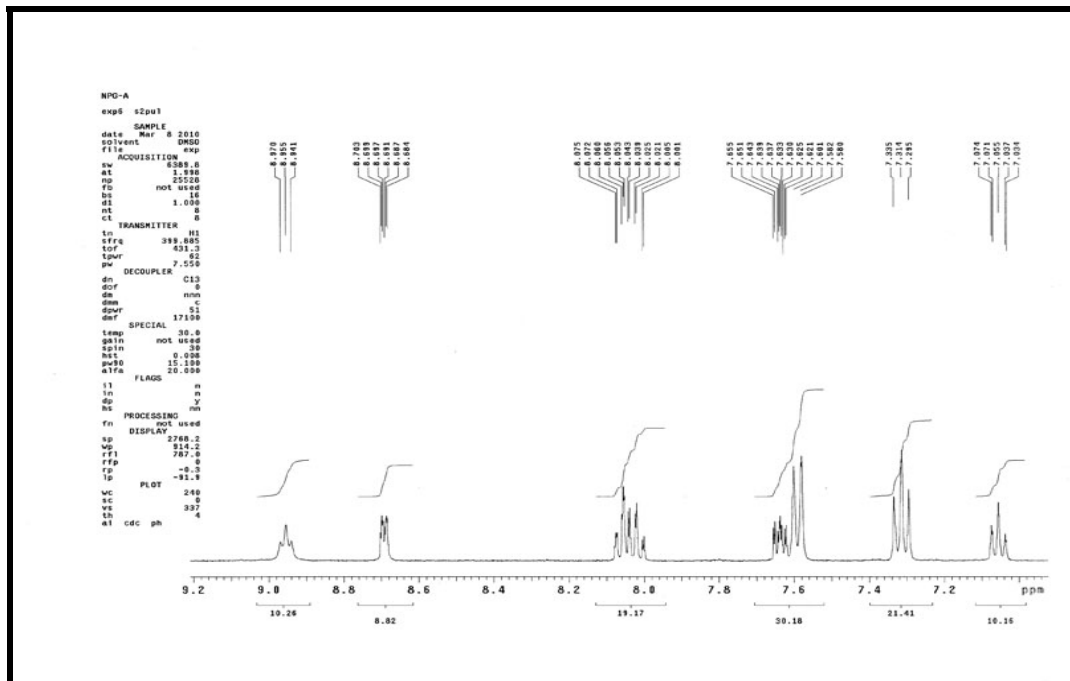
**Spektrum No 121. NPG-A Bileşinin IR Spektrumu**



**Spektrum No 122. NPG-A Bileşinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**

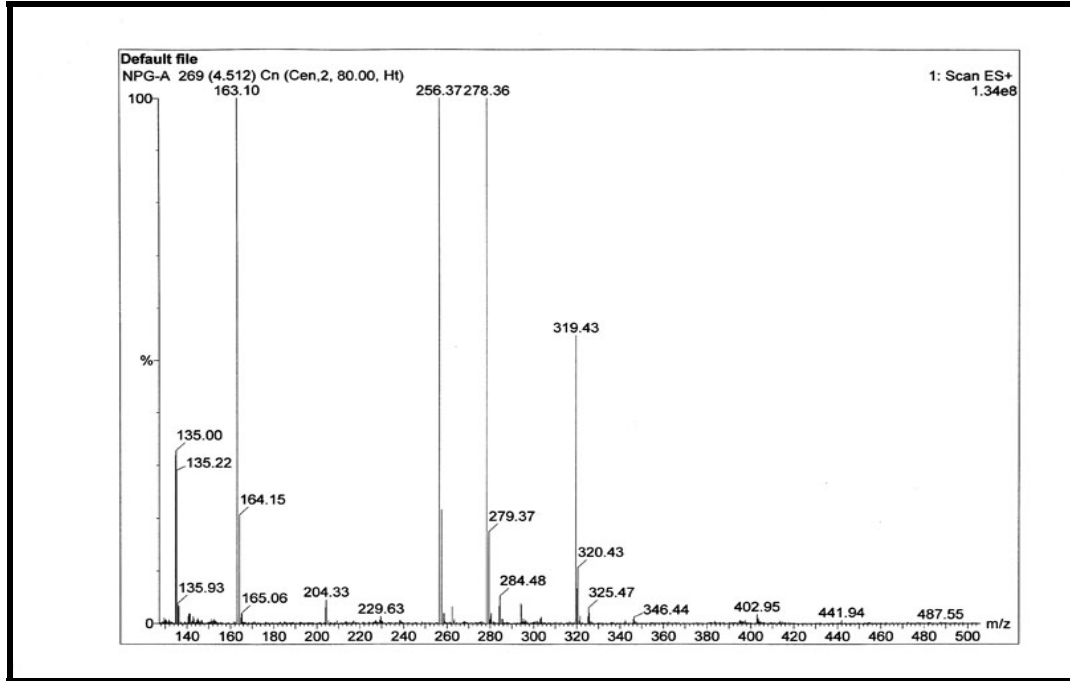


Spektrum No 123. NPG-A Bileşığının  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)



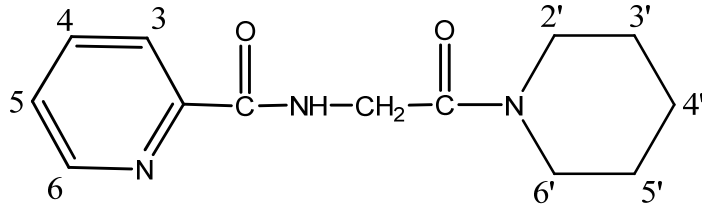
Spektrum No 124. NPG-A Bileşığının  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)





**Spektrum No 125. NPG-A Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NPG-P Bileşiminin Spektral Bulguları



*N*-[2-okso-2-(piperidin-1-il)etil]pikolinamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 265.5 (3.74), 206.5 (4.21) nm

IR (KBr) (Spektrum No 126)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3378 (N-H gerilim), 3056, 3008 (Aromatik C-H gerilim), 2946, 2859 (Alifatik C-H gerilim), 1671, 1641 (C=O gerilim), 1567, 1509 (Amid II bandı), 1434 (C=C gerilim), 758, 694 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 127, 128, 129)

CDCl<sub>3</sub>

$\delta$  8.93 (1H, brs, -NH-CH<sub>2</sub>-), 8.62-8.59 (1H, m, H-6), 8.17 (1H, ddd, *J* 7.8, 2, 1.2 Hz, H-3), 7.85-7.80 (1H, m, H-4), 7.43-7.40 (1H, m, H-5), 4.27 (2H, d, *J* 4.7 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 3.63 (2H, t, *J* 5.5 Hz, H-2'\*, H-6'\*), 3.43-3.40 (2H, m, H-2'\*, H-6'\*), 1.70-1.67 (2H, m, H-4'), 1.62-1.56 (4H, m, H-3', H-5')

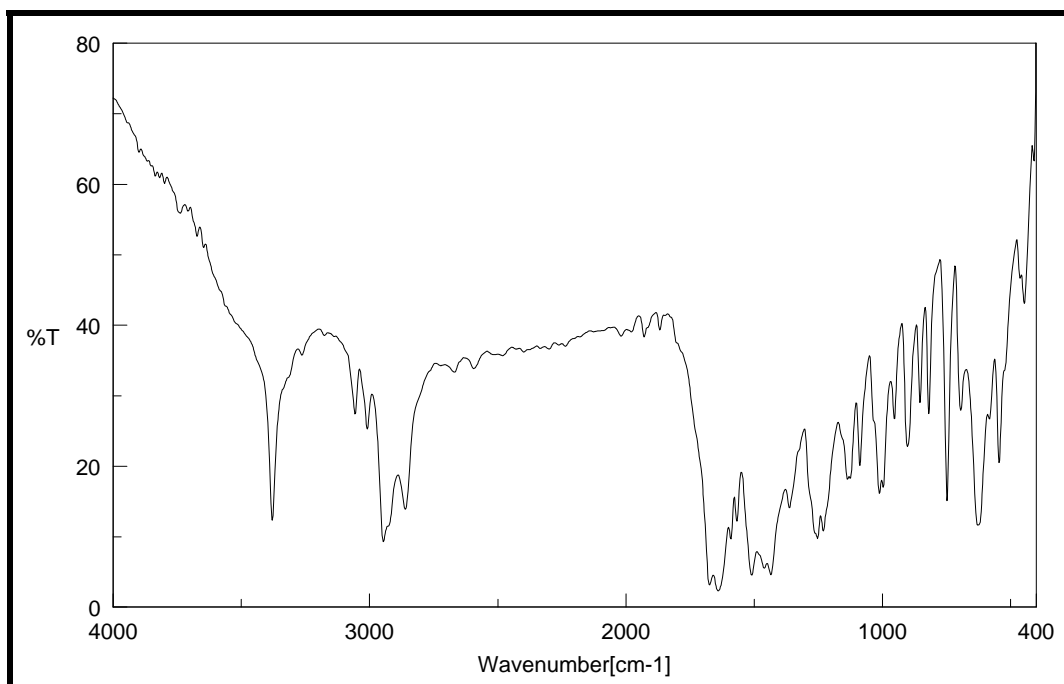
\* İki protonun kimyasal kayma değerleri değişebilir

**MS (ESI+) ( Spektrum No 130)**

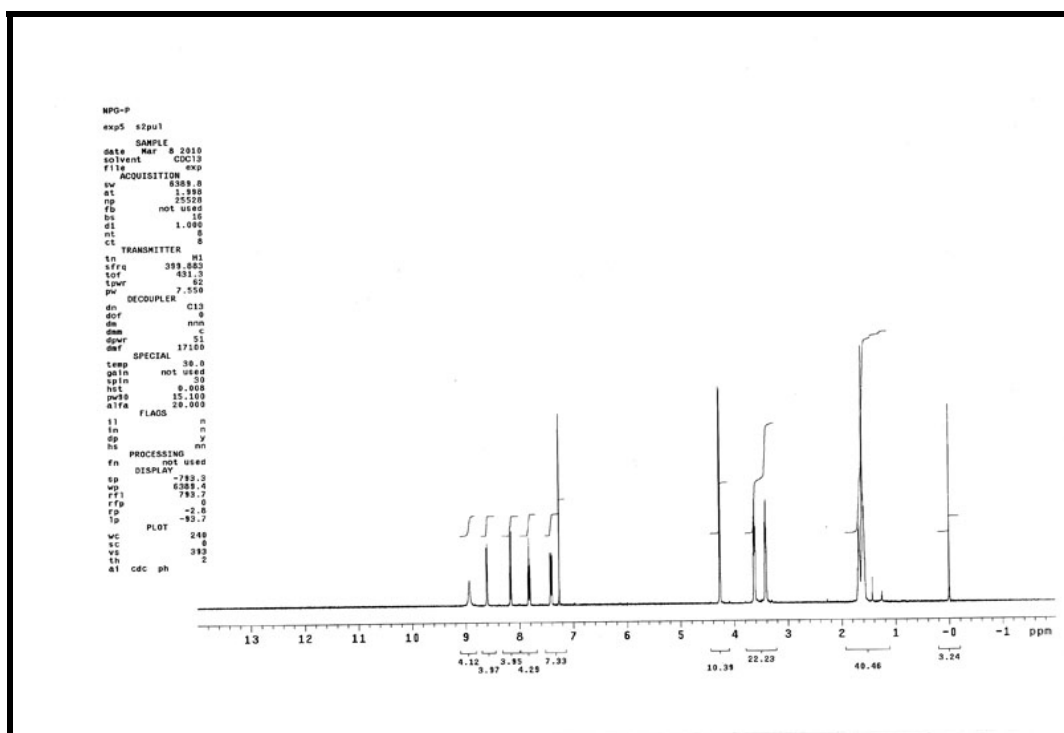
m/z 163 ( $C_8H_7N_2O_2^+$ , 45 %), 248 (M+1, 100 %), 249 (M+2, 49 %), 270 (M+23, 100 %), 271 (M+24, 27 %), 311 (M+64, 56 %), 312 (M+65, 100 %)

**Elementel Analiz (%)**

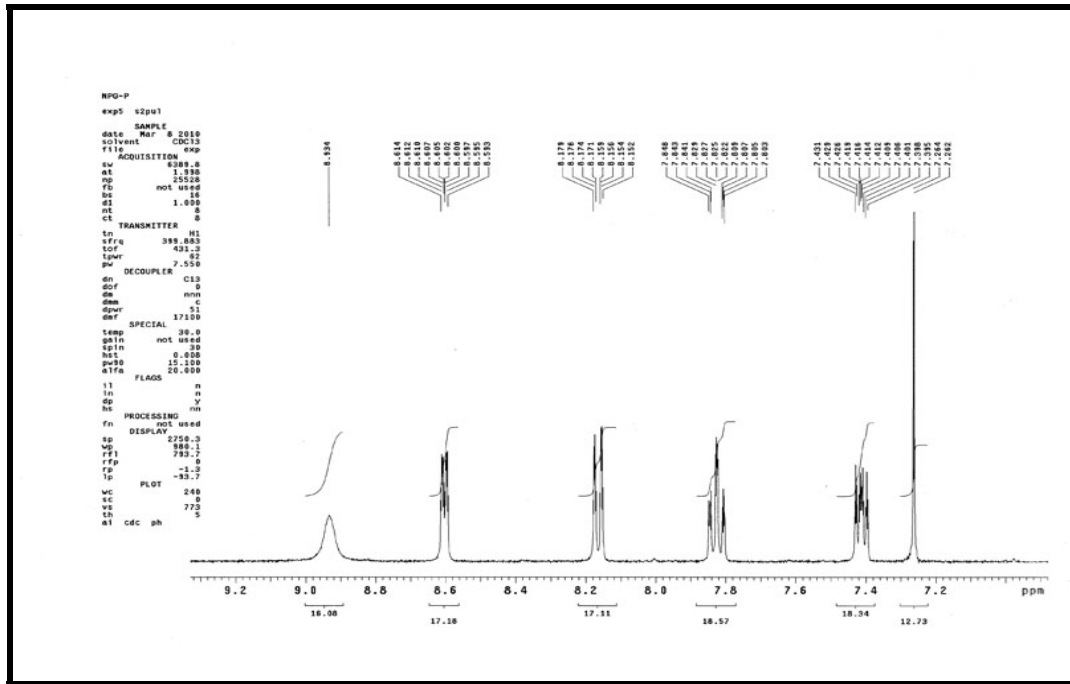
$C_{13}H_{17}N_3O_2$	C	H	N
Hesaplanan	63,14	6,93	16,99
Bulunan	63,01	7,22	16,71



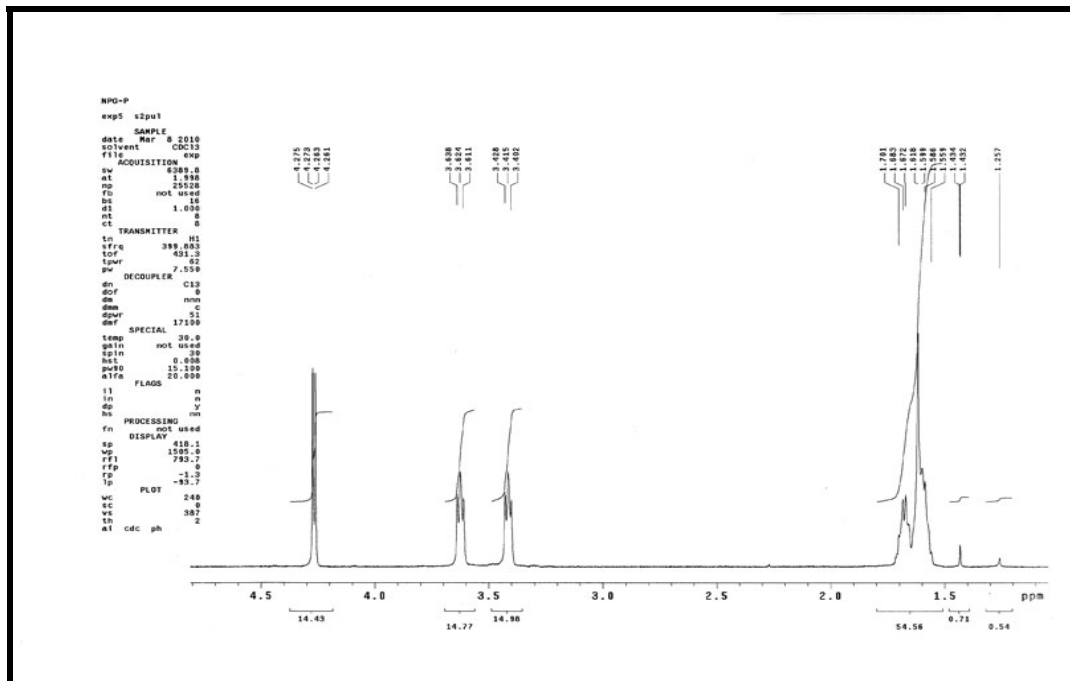
**Spektrum No 126. NPG-P Bileşğinin IR Spektrumu**



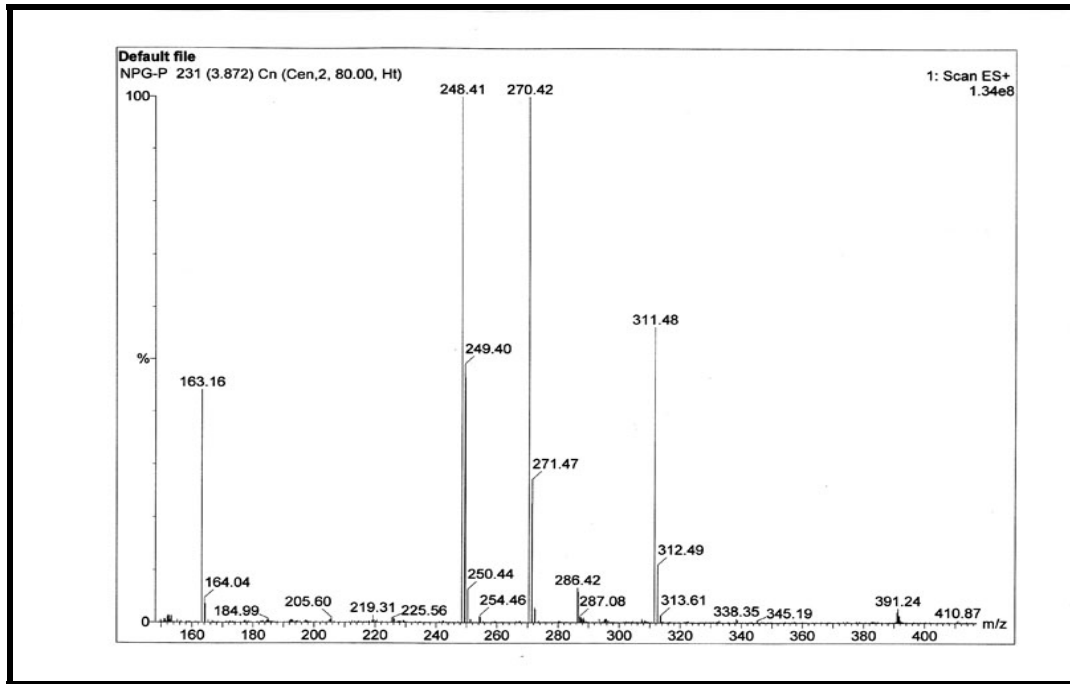
**Spektrum No 127. NPG-P Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



Spektrum No 128. NPG-P Bileşiminin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)

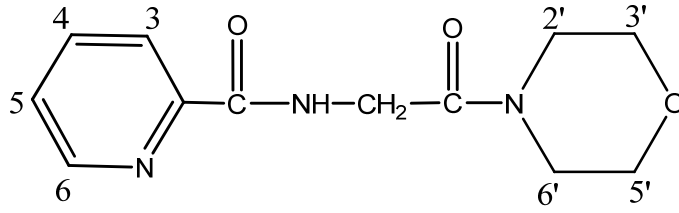


Spektrum No 129. NPG-P Bileşiminin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)



**Spektrum No 130. NPG-P Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NPG-M Bileşğinin Spektral Bulguları



*N*-(2-morfolino-2-oksoetil)pikolinamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 265.5 (3.77), 206.5 (4.22) nm

IR (KBr) (Spektrum No 131)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3380 (N-H gerilim), 2977, 2929, 2863 (Alifatik C-H gerilim), 1675, 1633 (C=O gerilim), 1511 (Amid II bandı), 1432 (C=C gerilim), 748, 694 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 132, 133, 134)

CDCl<sub>3</sub>

$\delta$  8.87 ( 1H, brs, -NH-CH<sub>2</sub>-), 8.61-8.60 ( 1H, m, H-6 ), 8.18-8.15 ( 1H, m, H-3 ), 7.86-7.81 ( 1H, m, H-4 ), 7.44-7.41 ( 1H, m, H-5 ), 4.28 ( 2H, d, *J* 4.7 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>- ), 3.73-3.70 ( 6H, m, H-2' \*, H-3' , H-5' , H-6' \*), 3.52-3.49 ( 2H, m, H-2' \*, H-6' \*),

\* İki protonun kimyasal kayma değerleri değişebilir

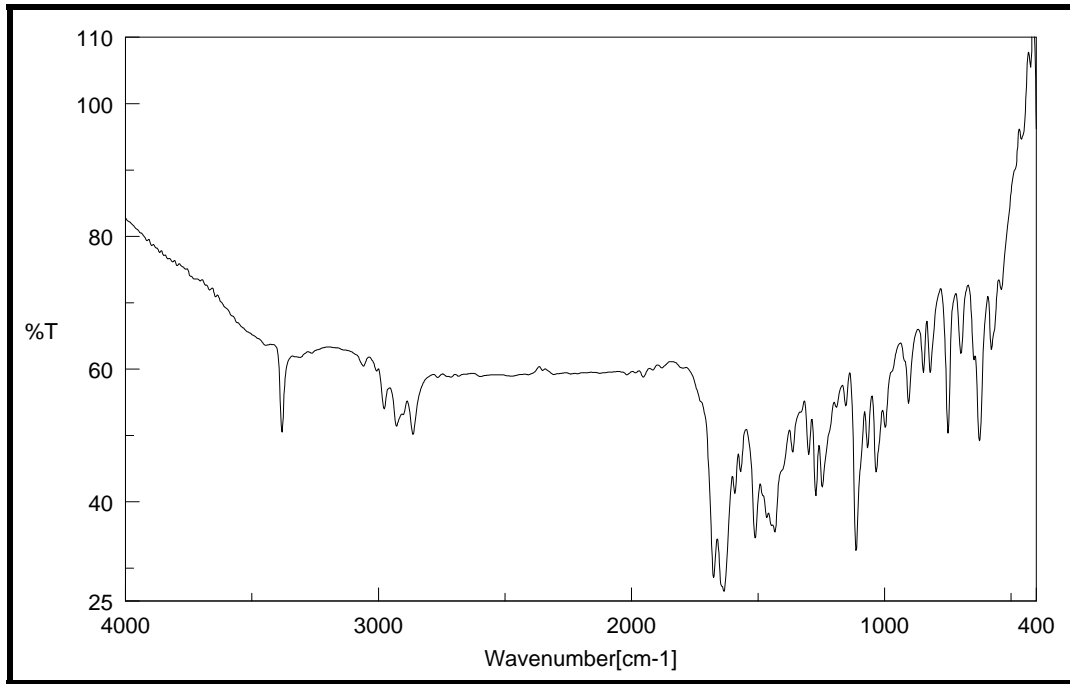
**MS (ESI+)** ( Spektrum No 135)

m/z 163 ( $C_8H_7N_2O_2^+$ , 100 %), 164 ( $C_8H_7N_2O_2^{+1}$ , 13 %), 250 (M+1, 100 %), 251 (M+2, 41 %), 272 (M+23, 100 %), 273 (M+24, 44 %), 313 (M+64, 100 %), 314 (M+65, 26 %)

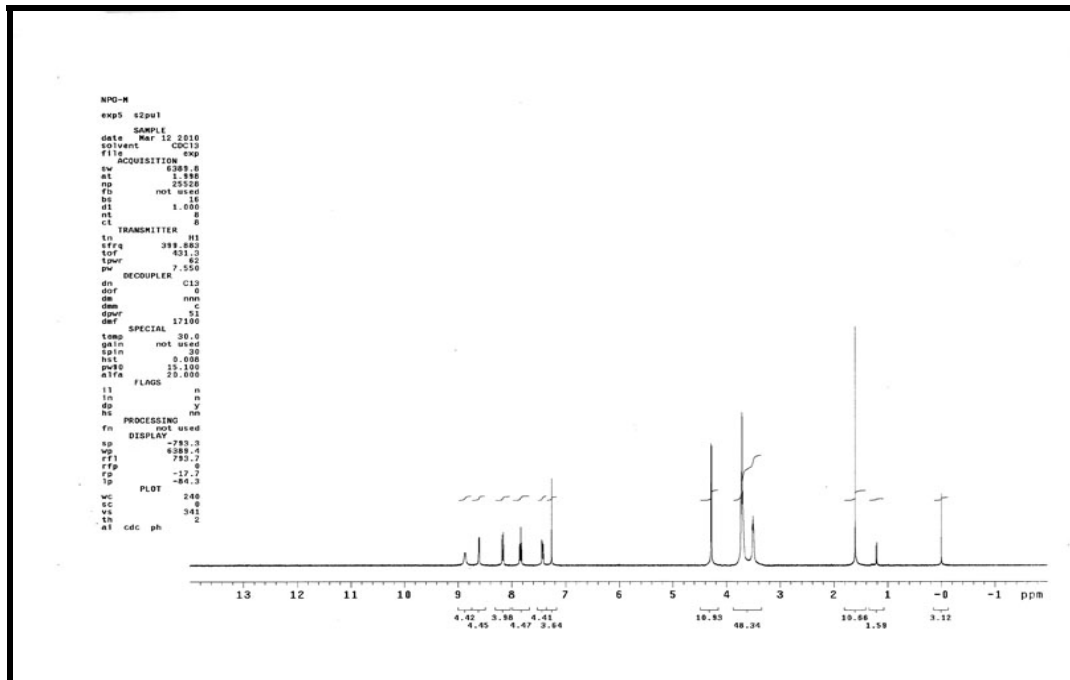
**Elementel Analiz (%)**

$C_{12}H_{15}N_3O_3$	C	H	N
Hesaplanan	57,82	6,07	16,86
Bulunan	57,53	6,10	16,65

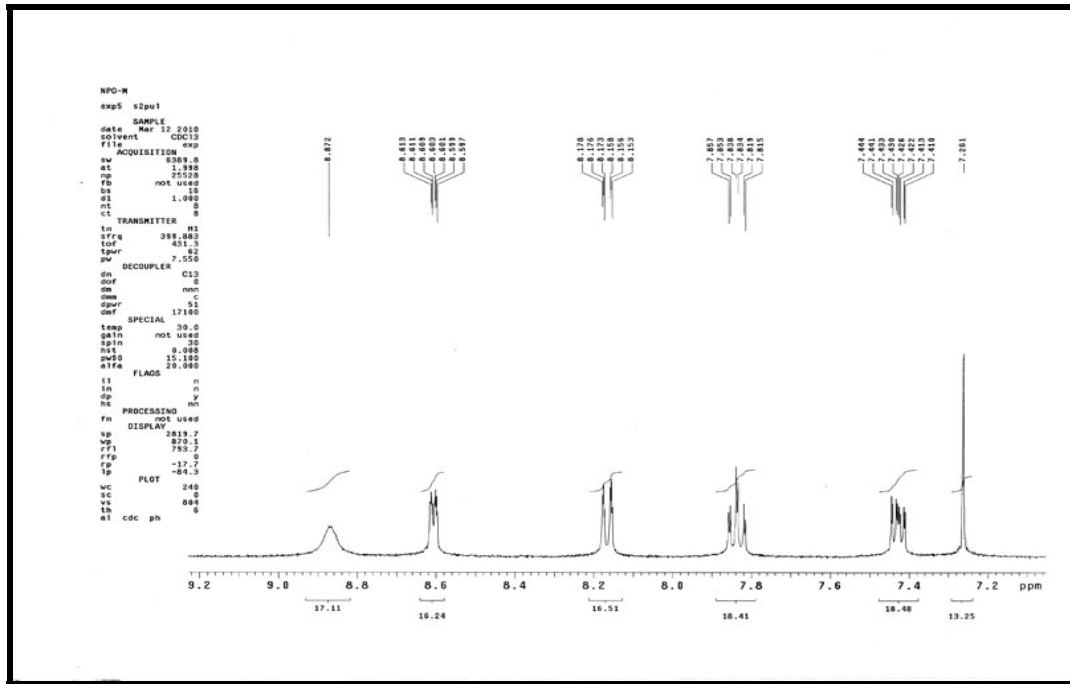




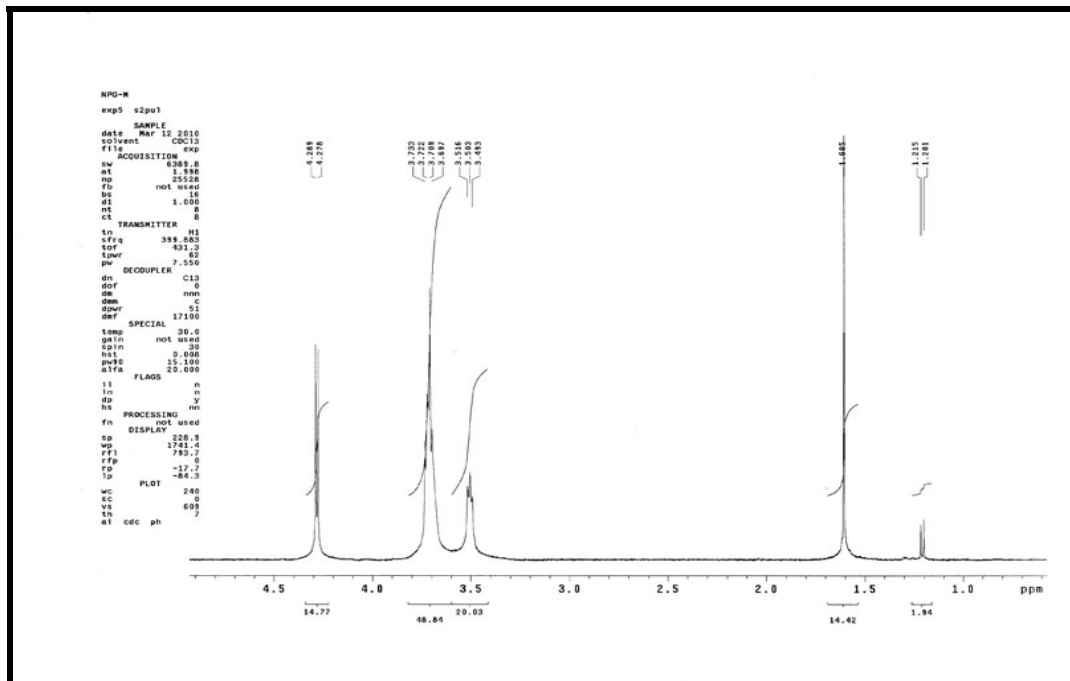
**Spektrum No 131. NPG-M Bileşğinin IR Spektrumu**



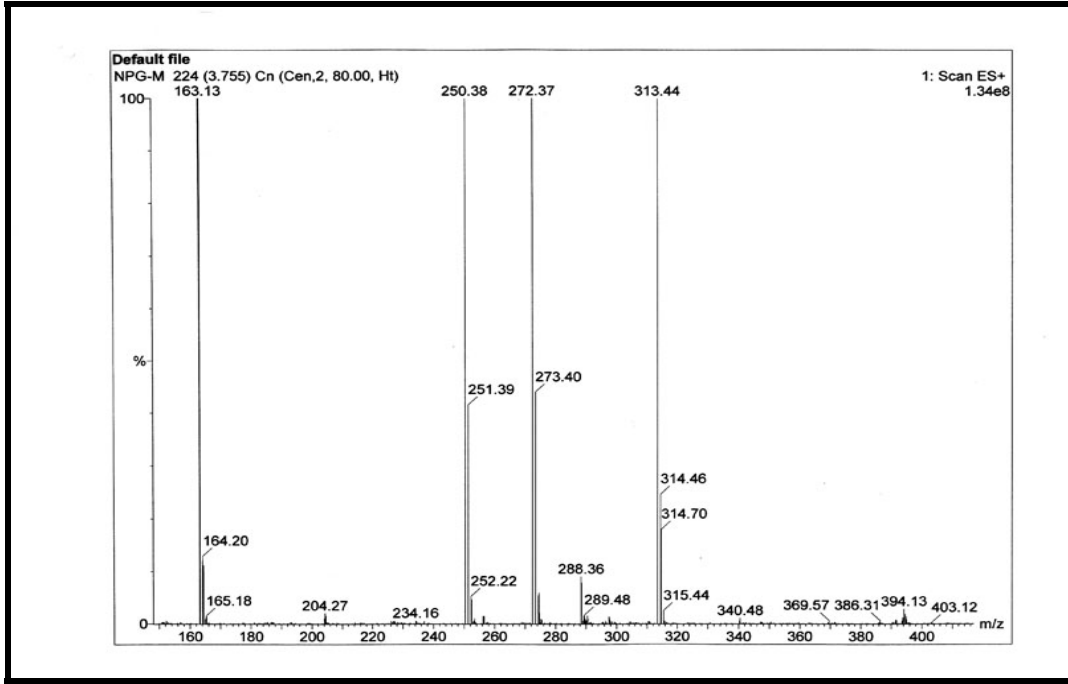
**Spektrum No 132. NPG-M Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



**Spektrum No 133. NPG-M Bileşığının <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**

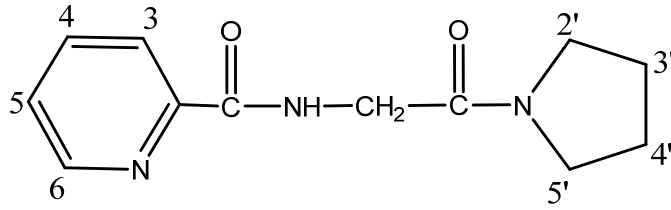


**Spektrum No 134. NPG-M Bileşığının <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



**Spektrum No 135. NPG-M Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NPG-Piro Bileşğinin Spektral Bulguları



*N*-[2-okso-2-(pirolidin-1-il)etil]pikolinamidit

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 265.5 (3.69), 206.5 (4.13) nm

IR (KBr) (Spektrum No 136)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3378 (N-H gerilim), 3056 (Aromatik C-H gerilim), 2971, 2886 (C-H gerilim), 1675, 1633 (C=O gerilim), 1565, 1513 (Amid II bandı), 1432 (C=C gerilim), 750, 701 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 137, 138, 139)

CDCl<sub>3</sub>

$\delta$  8.86 ( 1H, brs, -NH-CH<sub>2</sub>-), 8.60 ( 1H, d, *J* 5.7 Hz, H-6 ), 8.17 ( 1H, d, *J* 7.7 Hz, H-3 ), 7.85-7.80 ( 1H, m, H-4 ), 7.43-7.40 ( 1H, m, H-5 ), 4.21 ( 2H, d, *J* 4.7 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 3.55 ( 2H, t, *J* 7.0 Hz, H-2' \*, H-5' \*), 3.49-3.46 ( 2H, m, H-2' \*, H-5' \*), 2.06-2.00 ( 2H, m, H-3' \*, H-4' \*), 1.93-1.87 ( 2H, m, H-3' \*, H-4' \*)

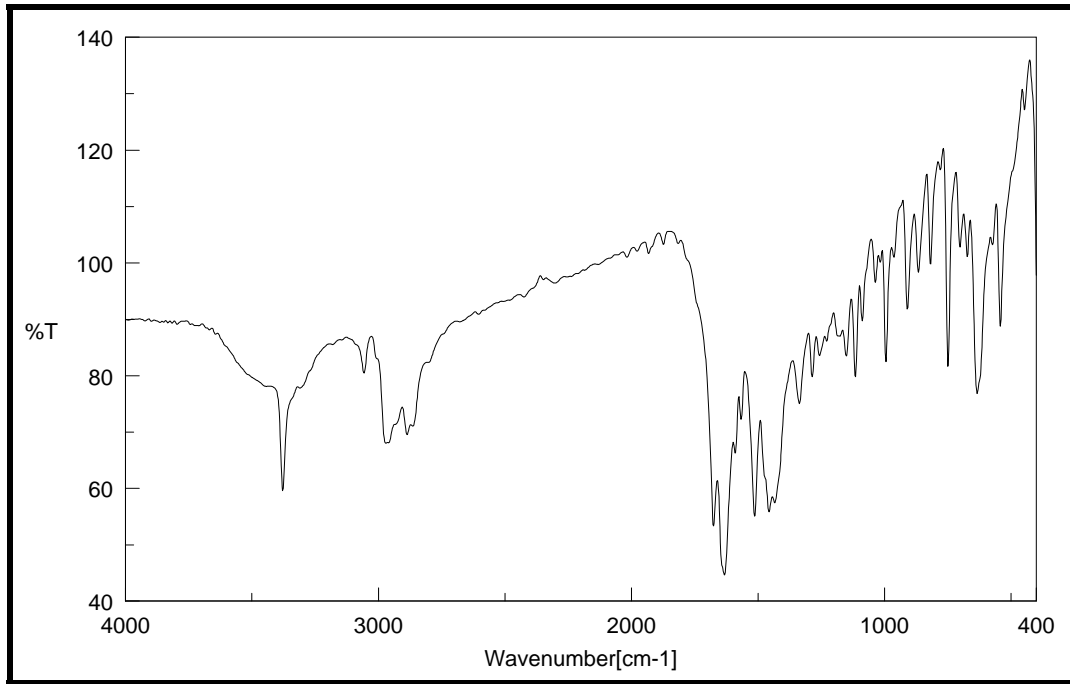
\* İki protonun kimyasal kayma değerleri değişebilir

**MS (ESI+)** ( Spektrum No 140)

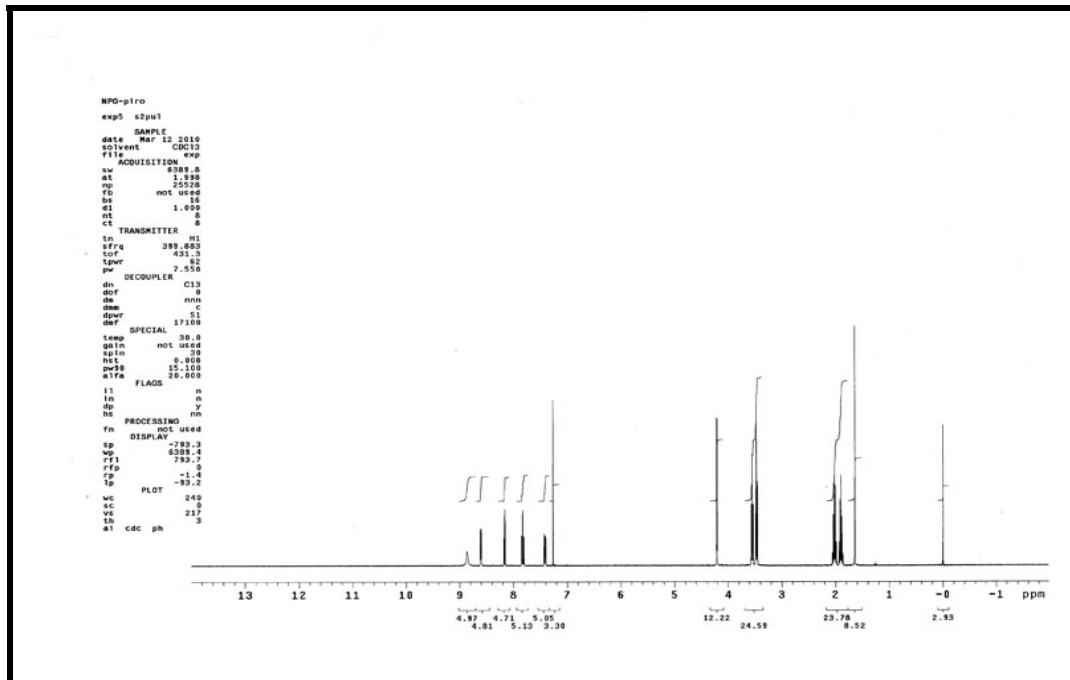
m/z 163 ( $C_8H_7N_2O_2^+$ , 46 %), 234 (M+1, 100 %), 235 (M+2, 46 %), 256 (M+23, 100 %), 257 (M+24, 24 %), 297 (M+64, 55 %), 298 (M+65, 10 %)

**Elementel Analiz (%)**

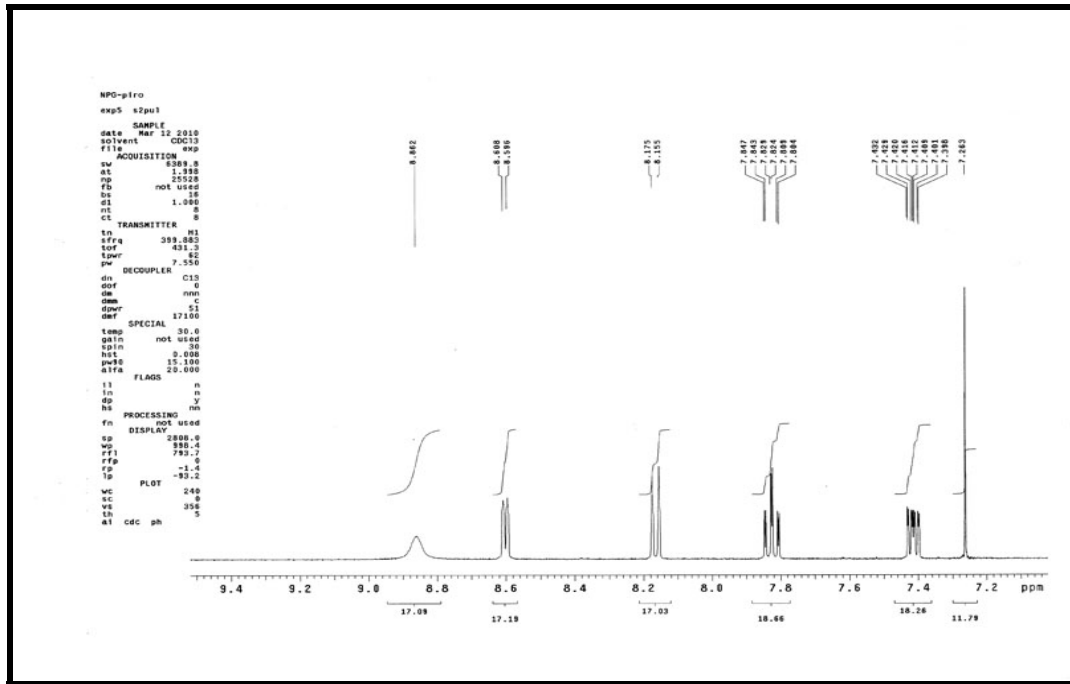
$C_{12}H_{15}N_3O_2$	C	H	N
Hesaplanan	61,79	6,48	18,01
Bulunan	61,79	6,50	17,91



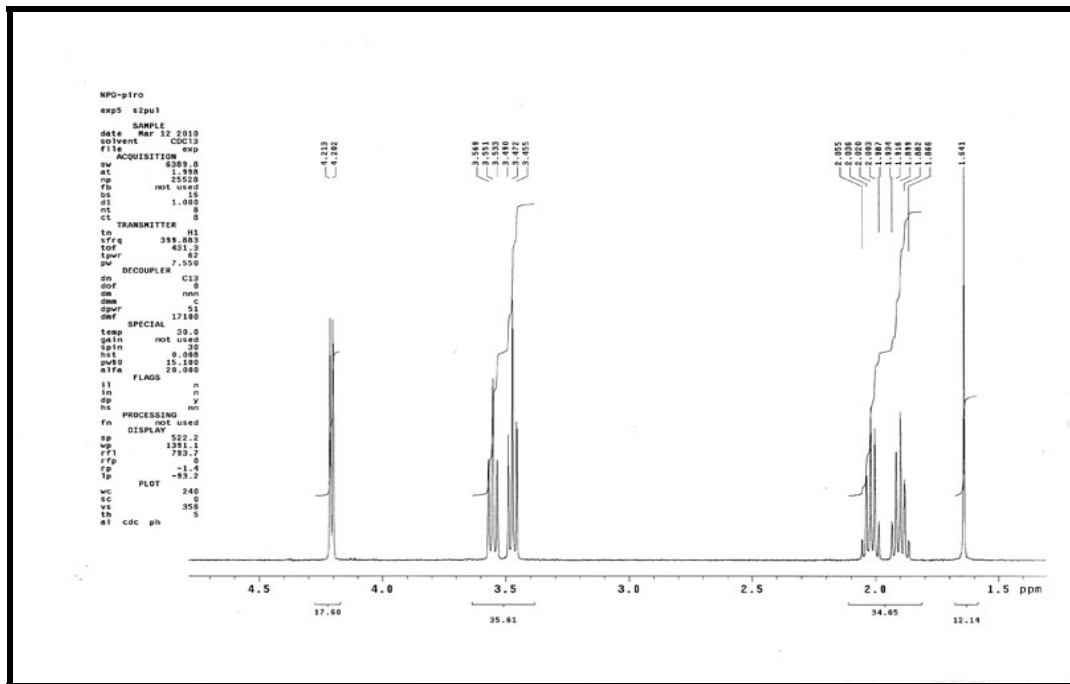
**Spektrum No 136. NPG-Piro Bileşğinin IR Spektrumu**



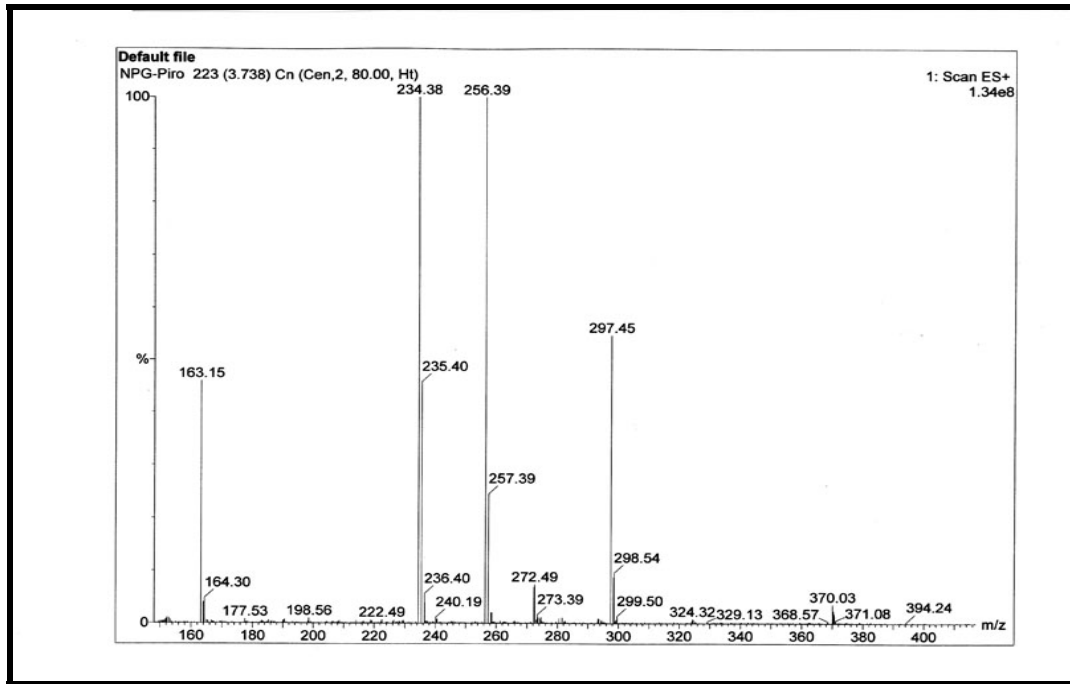
**Spektrum No 137. NPG-Piro Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



**Spektrum No 138. NPG-Piro Bileşiminin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



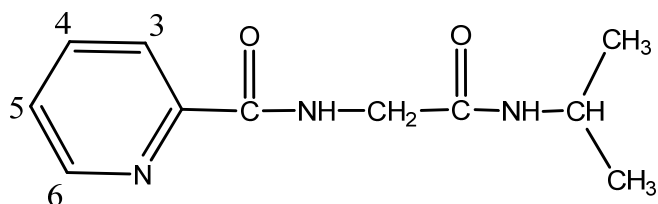
**Spektrum No 139. NPG-Piro Bileşiminin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



**Spektrum No 140. NPG-Piro Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**



## NPG-Isp Bileşiminin Spektral Bulguları



*N*-[2-(izopropilamino)-2-oksoetil]pikolinamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\text{max}}$  (log $\epsilon$ ) 265.5 (3.75), 217.0 (4.02), 203.5 (4.06) nm

IR (KBr) (Spektrum No 141)

$\nu_{\text{maks}}$  (cm<sup>-1</sup>) 3336, 3293 (N-H gerilim), 3068 (Aromatik C-H gerilim), 2971, 2927, 2875 (Alifatik C-H gerilim), 1644 (C=O gerilim), 1544 (Amid II bandı), 1463, 1411 (C=C gerilim), 744, 719, 674 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 142, 143, 144)

CDCl<sub>3</sub>

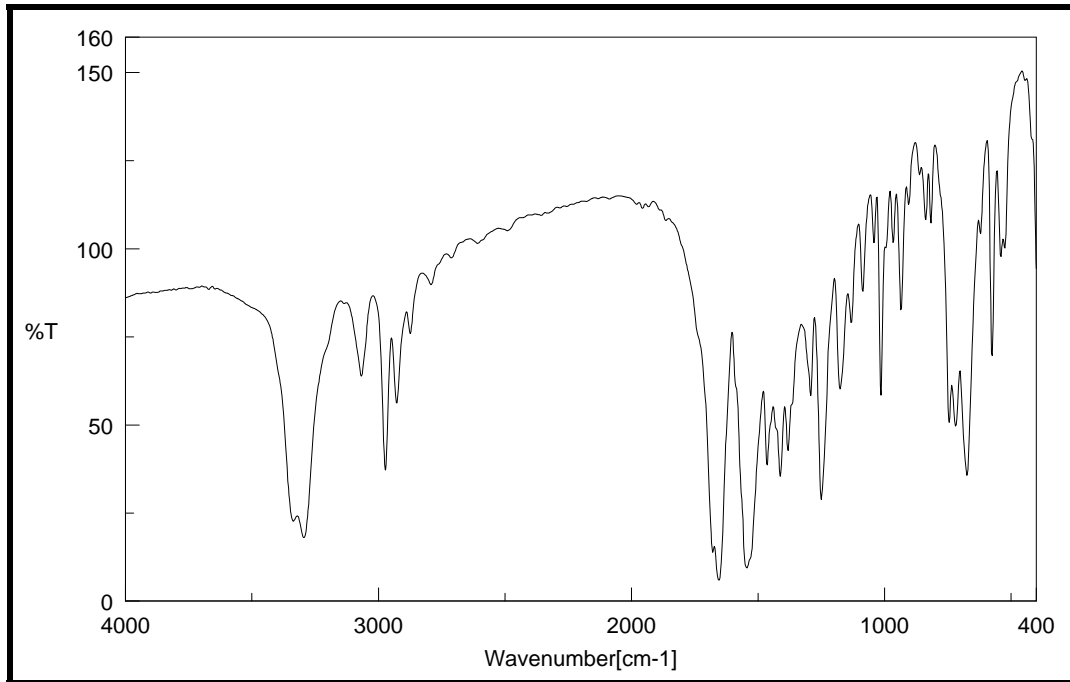
$\delta$  8.60-8.58 ( 2H, m, -NH-CH<sub>2</sub>-, H-6 ), 8.18 ( 1H, d, *J* 7.8 Hz, H-3 ), 7.89-7.84 ( 1H, m, H-4 ), 7.47-7.44 ( 1H, m, H-5 ), 5.96 ( 1H, brs, -NH-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ), 4.13-4.06 ( 3H, m, -NH-CH<sub>2</sub>-, -NH-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ), 1.17 ( 6H, d, *J* 6.6 Hz, -CH<sub>3</sub> )

MS (ESI+) (Spektrum No 145)

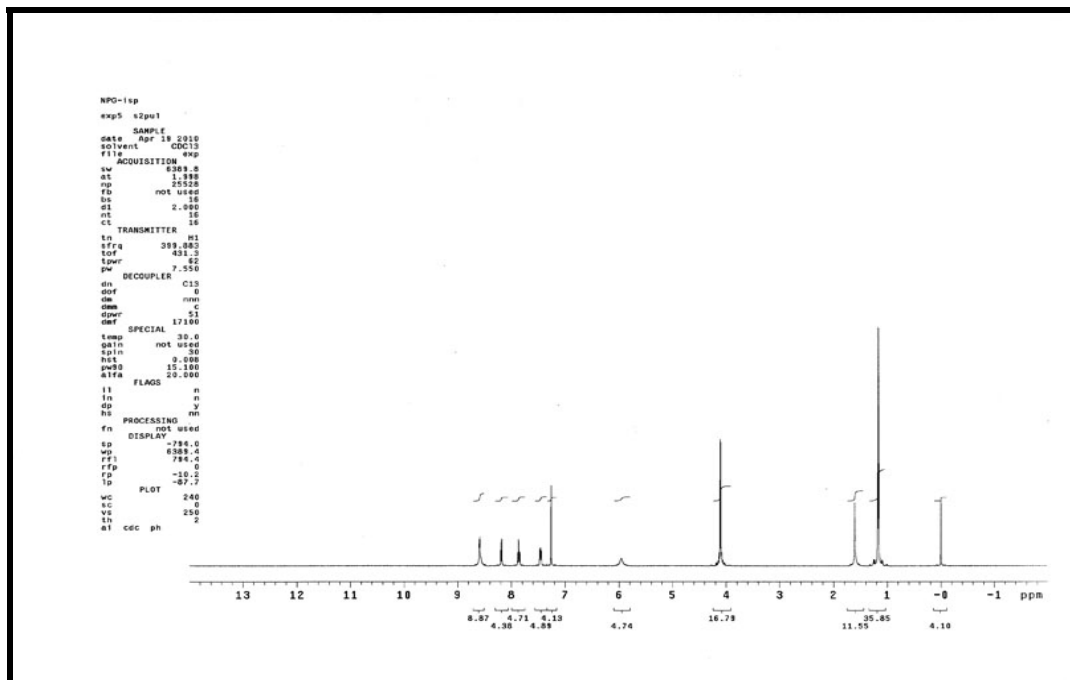
*m/z* 163 (C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>, 47 %), 222 (M+1, 99 %), 223 (M+2, 13 %), 244 (M+23, 100 %), 245 (M+24, 14 %), 285 (M+64, 57 %), 286 (M+65, 9 %)

**Elementel Analiz (%)**

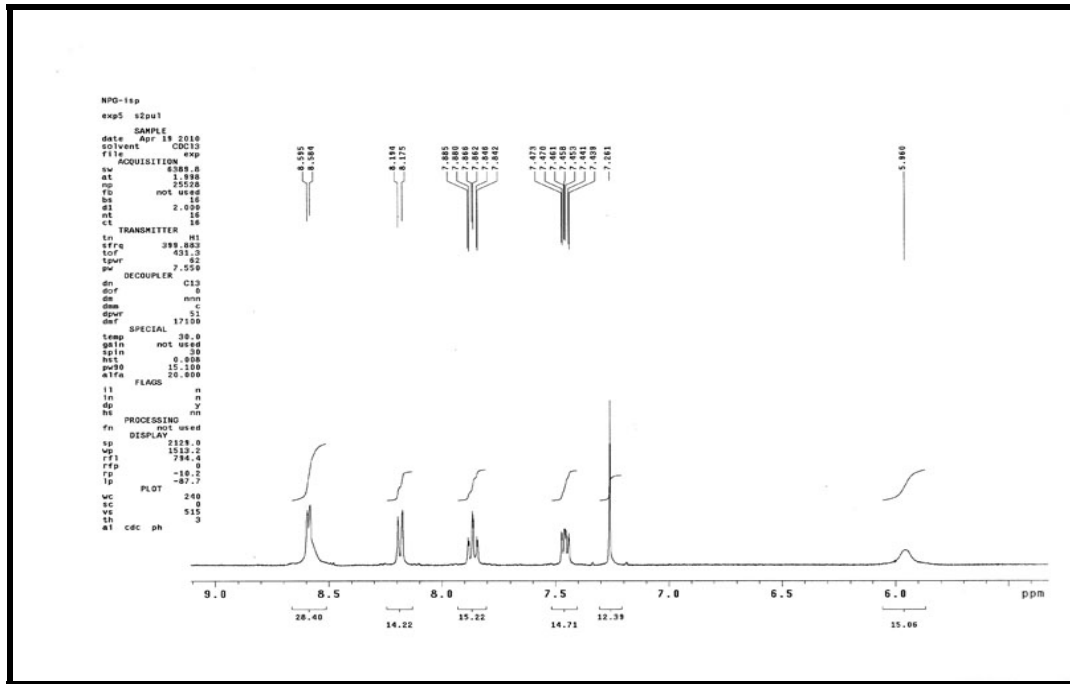
$C_{11}H_{15}N_3O_2 \cdot 0,15H_2O$	C	H	N
Hesaplanan	58,99	6,89	18,76
Bulunan	58,93	6,70	18,63



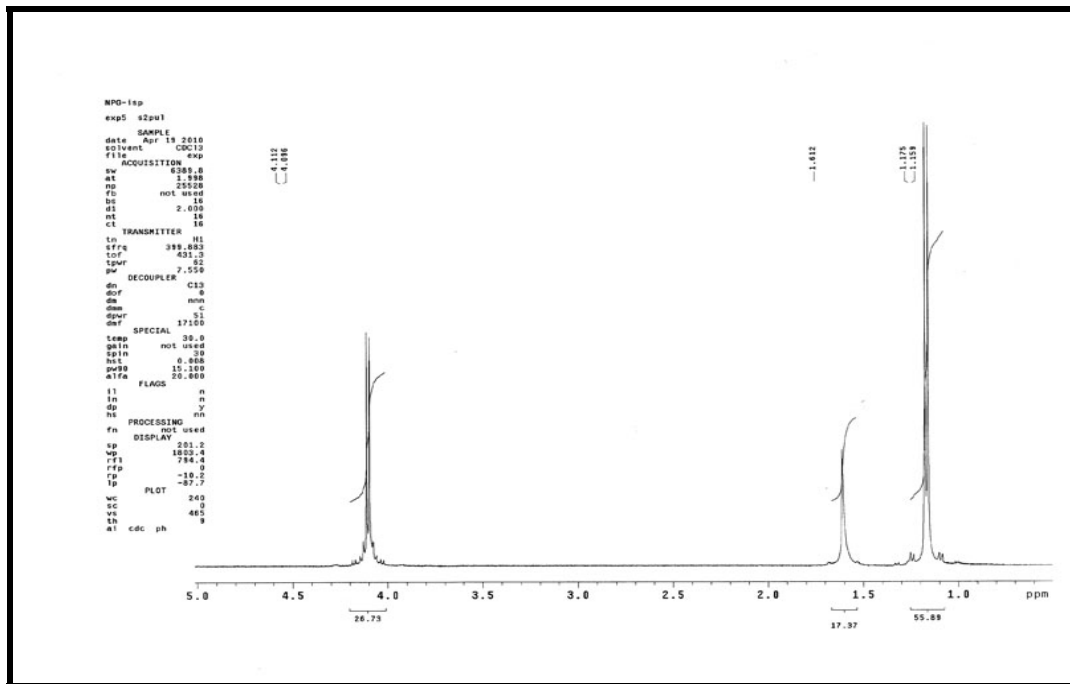
**Spektrum No 141. NPG-Isp Bileşğinin IR Spektrumu**



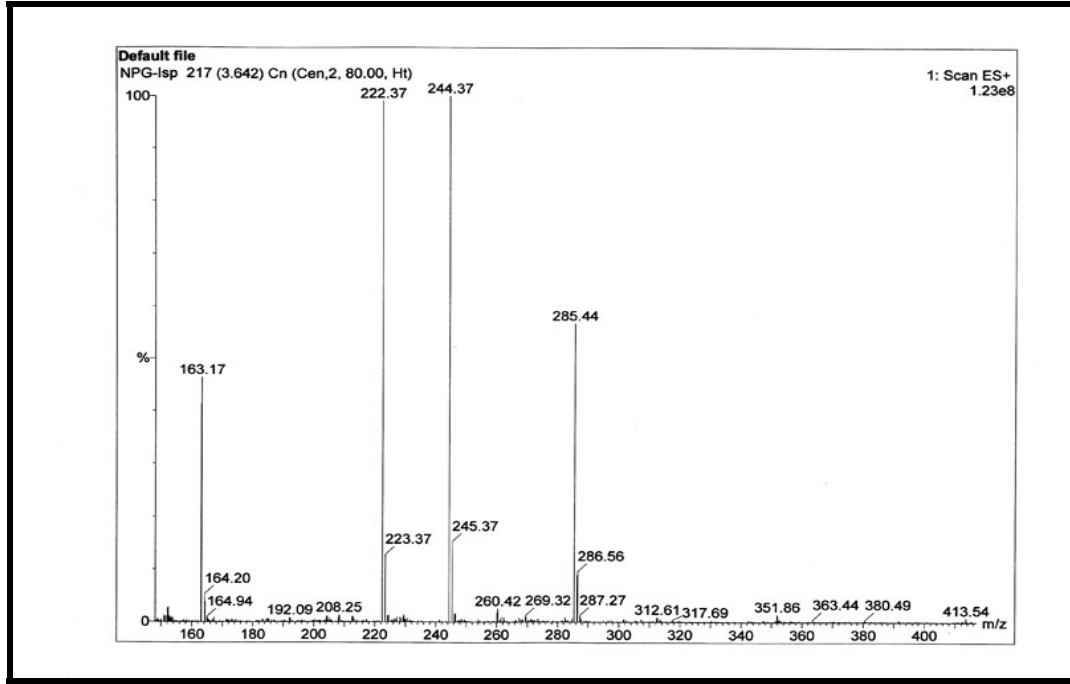
**Spektrum No 142. NPG-Isp Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**



**Spektrum No 143. NPG-Isp Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**

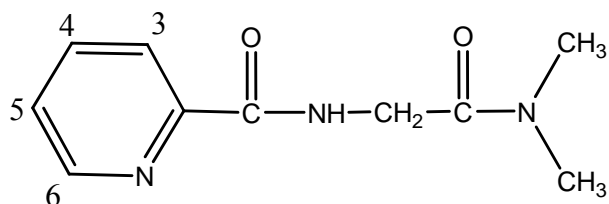


**Spektrum No 144. NPG-Isp Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)**



**Spektrum No 145. NPG-Isp Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## NPG-DM Bileşiğinin Spektral Bulguları



*N*-[2-(dimetilamino)-2-oksoetil]pikolinamid

UV (Metanol)

$\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 265.5 (3.71), 206.5 (4.12) nm

IR (KBr) (Spektrum No 146)

$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3369 (N-H gerilim), 2927 (Alifatik C-H gerilim), 1652 (C=O gerilim), 1513 (Amid II bandı), 1459, 1432 (C=C gerilim), 755, 642 (Düzlem dışı C-H eğilim)

<sup>1</sup>H NMR (Spektrum No 147, 148, 149)

CDCl<sub>3</sub>

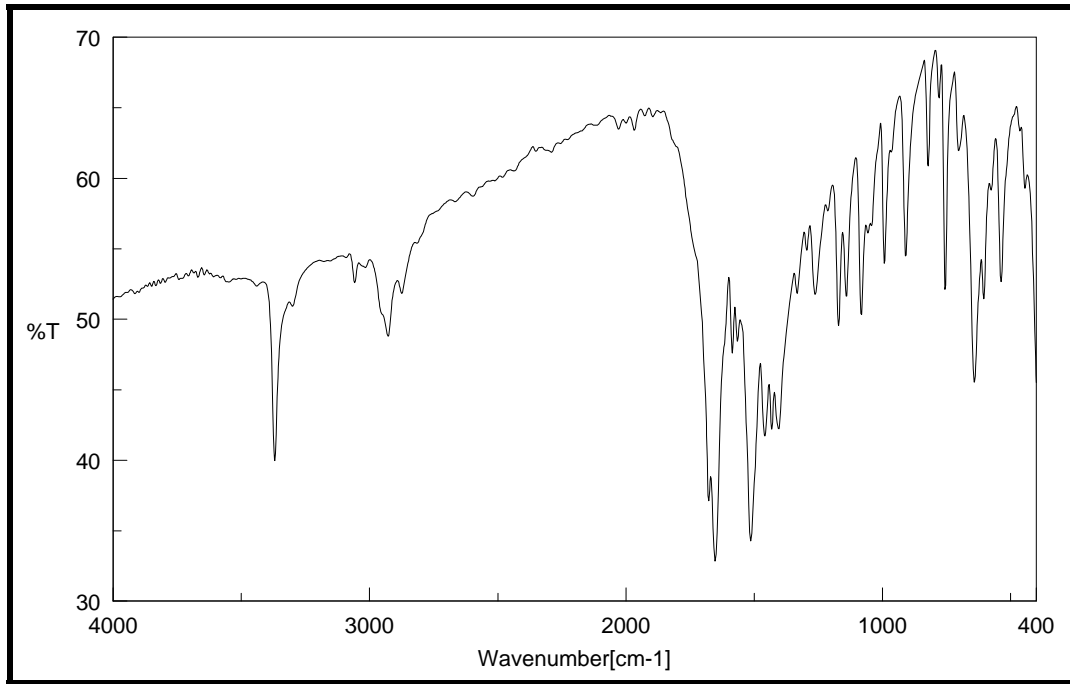
$\delta$  8.89 (1H, brs, -NH-CH<sub>2</sub>-), 8.61-8.59 (1H, m, H-6), 8.18-8.16 (1H, m, H-3), 7.83 (1H, td, *J* 7.8, 1.6 Hz, H-4), 7.41 (1H, ddd, *J* 7.4, 4.7, 1.2 Hz, H-5), 4.27 (2H, d, *J* 4.7 Hz, -NH-CH<sub>2</sub>-), 3.05 (6H, d, *J* 8.2 Hz, -CH<sub>3</sub>)

MS (ESI+) (Spektrum No 150)

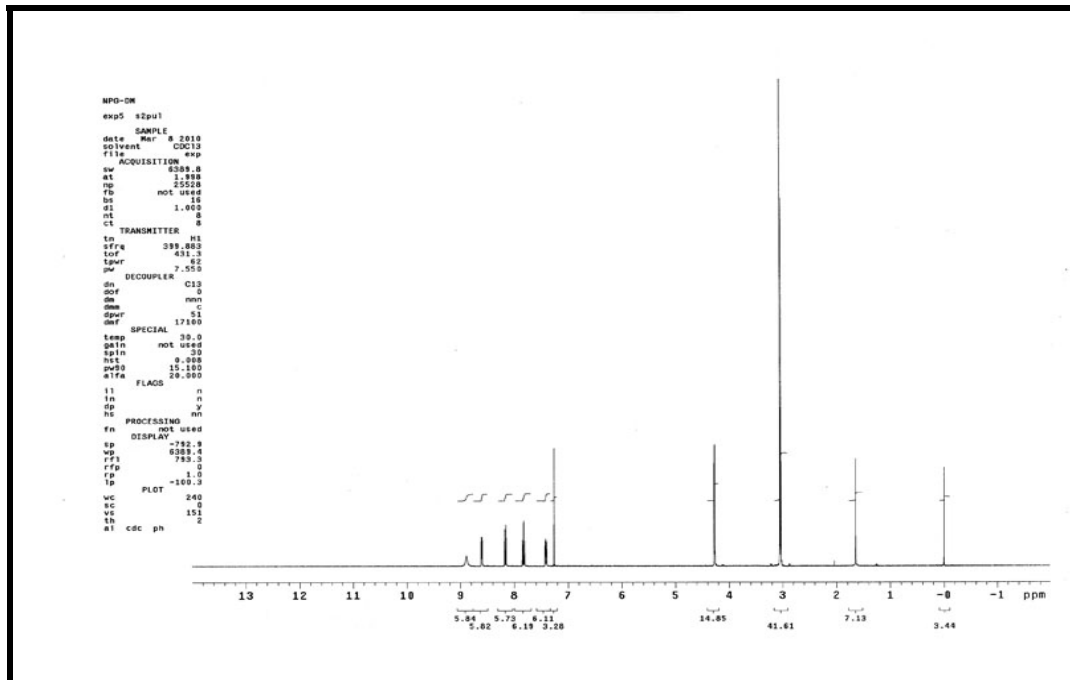
*m/z* 163 (C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>, 100 %), 164 (C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>+1, 13 %), 208 (M+1, 100 %), 209 (M+2, 36 %), 230 (M+23, 100 %), 231 (M+24, 42 %), 271 (M+64, 100 %), 272 (M+65, 20 %)

**Elementel Analiz (%)**

$C_{10}H_{13}N_3O_2$	C	H	N
Hesaplanan	57,96	6,32	20,28
Bulunan	57,91	6,28	20,23

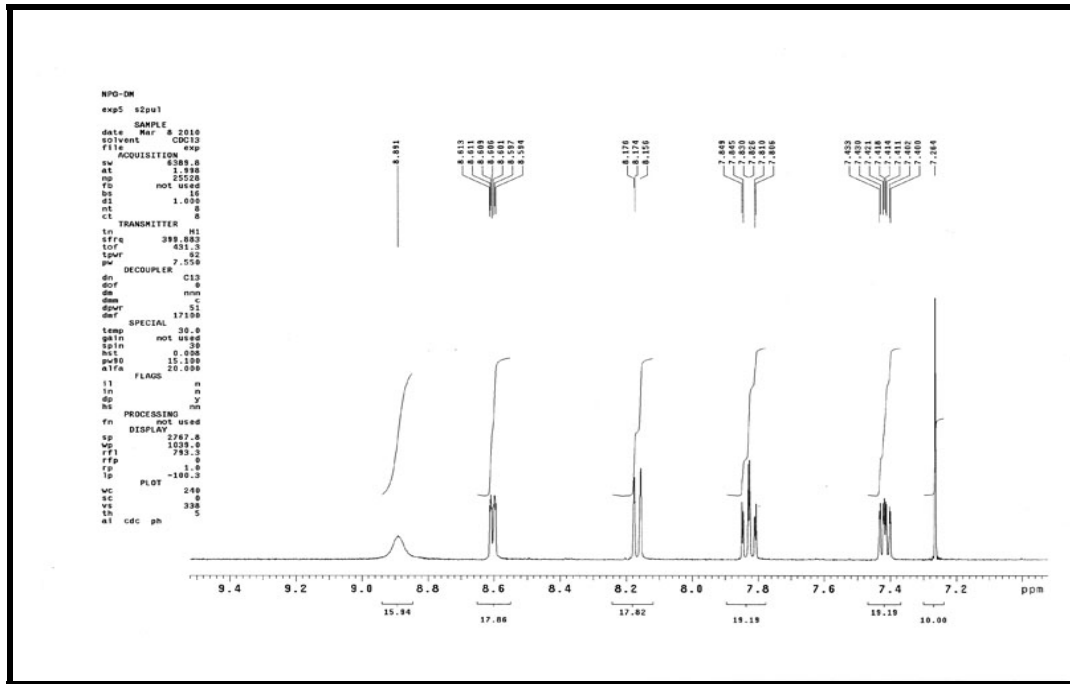


**Spektrum No 146. NPG-DM Bileşğinin IR Spektrumu**

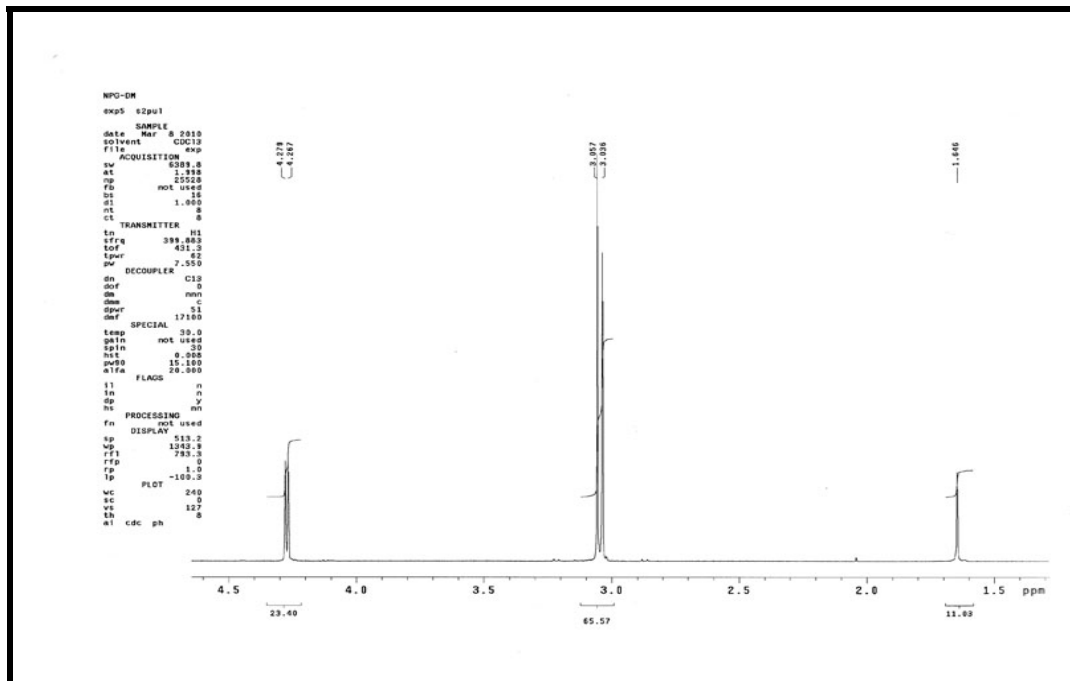


**Spektrum No 147. NPG-DM Bileşğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu**

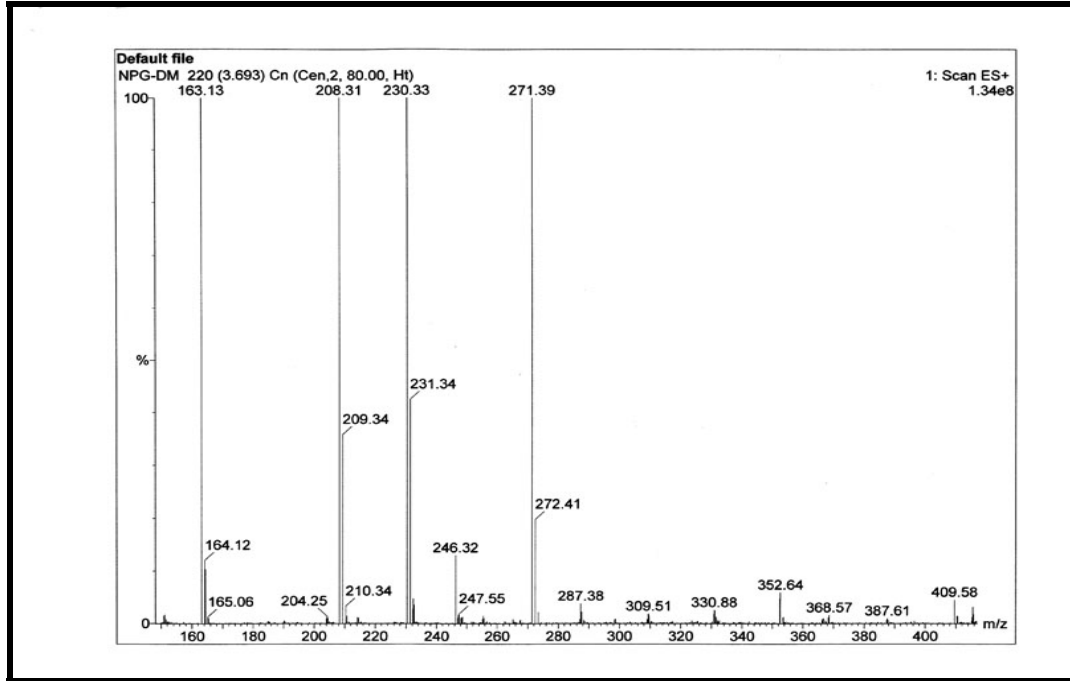




Spektrum No 148. NPG-DM Bileşiminin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)



Spektrum No 149. NPG-DM Bileşiminin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (Genişletilmiş)



**Spektrum No 150. NPG-DM Bileşğinin MS (ESI+) Spektrumu**

## **II. BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI VE ELDE EDİLEN BULGULAR**

### **A. Materyal**

#### **1. Biyolojik Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Kitler, Malzemeler ve Kimyasallar**

Biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılan BCA Protein Assay Kit Pierce firmasından ve Prostaglandin E<sub>2</sub> Enzyme Immuno Assay Kit Cayman firmasından temin edilmiştir. Biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılan PVDF membran Millipore firmasından, CL-X Posure Film Pierce firmasından ve tüm plastik malzemeler ise Corning firmasından temin edilmiştir. Biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik saflıkta olup interlökin 1- $\beta$  Sigma firmasından, memeli proteaz inhibitör kokteyli, agaroz, etidyum bromür, *N,N,N',N'*-tetrametiletildiamin, polietilen glikol 8000, glisin, sodyum klorür, susuz sodyum mono hidrojen fosfat, susuz sodyum di hidrojen fosfat, sodyum azid, amonyum persülfat, Tween-20, Triton X-100, Nonidet P-40, Ponceau S Stain, gliserol, magnezyum sülfat heptahidrat, trihidroksimetilaminometan (TRIS) ve 2-merkaptotanol Amresco firmasından, akrilamit-bisakrilamit solüsyonu ve sodyum dodesilsülfat Serva firmasından, unstained protein molekül ağırlık markırı ise Fermentas firmasından, % 0,05 tripsin-EDTA, yüksek glukoz'lu Dulbecco's Modification of Eagle's Medium (DMEM), L-glutamin ve tripan mavisi Biological Industries firmasından temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan kemiluminesan substrat ve sekonder antikor rabbit anti-mouse IgG, (H+L) Pierce firmasından temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan antikorlardan monoklonal anti- $\beta$ -aktin antikorları

Sigma firmasından, monoklonal COX 2 Ig G<sub>1</sub> antikoru ise Santa Cruz firmasından temin edilmiştir

## **2. Biyolojik Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Gereçler**

Çalışmamızda Kubota 7780 soğutmalı yer tipi santrifüj, Hanna Instruments HI221 pHmetre, IKA MS3 dijital vorteks, Thermo Scientific OWL EC 300 XL güç kaynağı, BIO-RAD Mini-PROTEAN Tetra Cell dikey elektroforez, Thermo Scientific VEP-2 OWL membran transfer sistemi, Thermo Scientific Model 370 karbondioksit inkübatörü, Thermo Scientific Class II MSC-Advantage laminar hava kabini, PROTEC ECOMAX otomatik film banyo cihazı, LABNET Orbit 1000 orbital çalkalayıcı, Hausser Scientific Neubauer hemositometre, Nichiryo, Finnpiette, Gilson şarjlı pipetaj aletleri, Sanyo -80°C derin dondurucu, Hoshizaki buz makinesi, Denver Instrument hassas ve kaba analitik teraziler, Memmert Universal WNB 7-45 su banyosu, Hirayama otoklav, Yellowline MAG HS 7 manyetik karıştırıcı, Major Science vakum pompası, White-Westing House buz dolabı ve -20°C derin dondurucu, IKA 4000i çalkalamalı inkübatör, Techne TC-312 thermal cyler ve Molecular Devices VERSAmix Tunable mikropilaka okuyucu kullanılmıştır.

## **3. Biyolojik Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Çözeltiler**

### **a. 1 mg/ ml İnterlökin-1 $\beta$ Çözeltisinin Hazırlanması**

Liyofilize halde 5 mg interlökin-1 $\beta$  içeren ana stok 500  $\mu$ l steril distile su ile çözündürüldü. Hazırlanan 10 mg/ml konsantrasyonundaki çözelti 40  $\mu$ l'lik ara stoklar halinde – 20 °C'de saklandı. Deney günü 10 mg/ml konsantrasyonundaki

çözelti içeren ependorf tüpüne 360 µl steril distile su eklenerek 10 kat dilüe edildi ve 1mg/ml'lik konsantrasyonda interlökin-1β çözeltileri hazırlandı.

### **b. Örneklerin Hazırlanması**

Deneyde kullanılacak örnekler DMSO içinde çözündürülerek konsantrasyonları 50 mM'lık olan örnek çözeltileri elde edildi.

### **c. Hücre Kültürü Çalışmalarında Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması**

#### **(1). 10 Kat Konsantre Fosfat Tamponu Çözeltisinin Hazırlanması (10X PBS)**

87,5 g sodyum klorür, 11,5 g sodyum mono hidrojen fosfat, 2,3 g sodyum dihidrojen fosfat tartıldı ve distile su ile 1 litreye tamamlanarak pH'sı 7,4'e ayarlandı. Otoklavlandı ve oda sıcaklığında saklandı.

#### **(2). Fosfat Tamponu Çözeltisinin Hazırlanması (1X PBS)**

10X PBS'den 100 ml alındı, 1 litreye steril distile su ile tamamlandı. 4°C'de saklandı.

#### **(3). Fötal Sığır Serum (FBS) Stoğu**

500 ml FBS, 50 ml 100X L-Glutamin, 50 ml 100X Pen-Strep ve 17,5 µl 2-merkaptoetanol (2-ME) 0,22 µm'lik filtre sterizasyonundan geçirildi.

#### **d. SDS-PAGE İşlemi Sırasında Kullanılan Çözeltiler**

##### **(1). 2X RIPA (Radyoimmunopresipitasyon Assay) Lizatlama Tamponu**

40 mg sodyum dodesilsülfat (SDS) ve 200 mg 7-deoksikolik asit (7-DOC) tartıldı. 0,4 ml NP-40 ve 4 ml 10X PBS ilave edilip distile su ile 20 ml'ye tamamlandı ve 4°C'de saklandı.

##### **(2). SDS-PAGE 4X Ayırma Tamponu**

90,855 g trihidroksimetilaminometan hidroklorür (Tris HCl), 2 ml *N,N,N',N'*-tetrametiletilendiamin (TEMED) ve 2 g SDS distile suda çözündürülüp 500 ml'ye tamamlanıp pH'sı 8,9 olarak ayarlandı ve 4°C'de saklandı.

##### **(3). SDS-PAGE 4X Yığınlama Tamponu**

30,285 g Tris HCl , 2 ml TEMED ve 2 g SDS distile suda çözündürülüp 500 ml'ye tamamlanıp pH'sı 6,8'e ayarlandı ve 4°C'de saklandı.

##### **(4). 4X Protein Yükleme Tamponu**

pH=6,8 olan 10 ml 1 M Tris HCl , 4g SDS, 2 ml %99'luk gliserol, 2 ml 14,7 M 2-merkaptolanol (2-ME), 5 ml 0,5 M EDTA, 40 mg bromofenol mavisi distile suda çözündürülüp 50 ml'ye tamamlanıp 1 ml'şer olarak tüplere bölünüp -20°C'de saklandı.

##### **(5). 10X SDS-PAGE Yürütme Tamponu**

30,2 g Tris Baz, 144 g glisin, 10 g SDS tartılıp distile suda çözündürüldü, 1

litreye tamamlandı ve oda sıcaklığında saklandı.

**(6). 1X SDS-PAGE Yürütme Tamponu**

100 ml 10X SDS-PAGE yürütme tamponu distile su ile 1 litreye tamamlandı.

**(7). %10 Amonyumpersülfat Çözeltisi (%10 AP)**

1 g Amonyum persülfat 10 ml distile suda çözüldü ve birer mililitre olarak tüplere bölünüp -20°C’de saklandı.

**e. Western Blotlamada Kullanılan Çözeltiler**

**(1). 10X Transfer Tamponu**

30,33 g Tris-baz, 144 g glisin distile suda çözündürülüp 1 L’ye tamamlandı ve oda sıcaklığında saklandı.

**(2). 1X Transfer Tamponu**

1X Transfer tamponu, 50 ml 10X transfer tamponu, 350 ml distile su ve 100 ml metanol ilavesi ile hazırlandı.

**(3). 1X Yıkama Tamponu**

100 ml 10X PBS, 1 ml Tween-20 distile suyla 1 L’ye tamamlandı ve pH’sı 7,4’e ayarlandı. Oda sıcaklığında saklandı.

#### **(4). %5'lik Yağsız Süt Bloklama Ajanı**

5 g yağsız süt tozu 100 ml 1X yıkama tamponu içerisinde çözündürüldü, pH'sı 7,4'e ayarlandı. Çözelti kullanılacağı zaman taze olarak hazırlandı ve 4°C'de saklandı.

### **B. Yöntem**

#### **1. Hücre Kültürü**

##### **a. Hücre Hattının Seçimi**

Çalışmamızda A-549 insan akciğer adenokarsinomu epitelyal hücre hattı kullanıldı. A-549 hücrelerinin serum bulunmayan ortamda siklooksijenaz 2 (COX-2) ekspresyonu olmamasına karşılık, ortama IL-1 $\beta$  eklenmesiyle doza ve zamana bağlı artan indüksiyonunun tespit edilmiş olması nedeniyle, çalışmada A-549 hücre hattı kullanıldı. Bu hücre hattı American Type Culture Collection'dan (ATCC) temin edildi. A 549 hücre hattı, konvansiyonel hücre kültürü şartları olan 37°C'de, %5'lik CO<sub>2</sub> inkübatöründe %10 fötal sığır serumu (FBS) içeren Dulbecco's Modification of Eagle's Medium (DMEM) içerisinde büyütüldü.

##### **b. Pasajlama**

Hücreler, 100 mm'lik kültür kaplarını % 90 oranında kaplayacak oranda büyüdüğünde besi ortamı vakumla uzaklaştırılıp 1 ml % 0,25'lik tripsin-EDTA ile yıkandı ve vakumla tripsin-EDTA uzaklaştırıldı. Kültür kapları 37 °C'deki CO<sub>2</sub> inkübatöründe 45 saniye bekletildi. Hücreler 8 ml %10 FBS'li DMEM ile toplandı ve 100 mm'lik hücre kültürü kaplarına ekildi.



### c. İlaç Uygulama

A-549 hücreleri 37 °C’de, %5’lik CO<sub>2</sub> inkübatöründe %10 FBS’li DMEM ile büyütüldü. Hücreler 100 mm’lik kültür kaplarını % 90 oranında kaplayacak oranda büyüdüğünde besi ortamı uzaklaştırılıp 1 ml % 0,25’lik tripsin-EDTA ile yıkandı ve vakumla tripsin-EDTA uzaklaştırıldı. Kültür kapları 37 °C’deki CO<sub>2</sub> inkübatöründe 45 saniye bekletildi. Daha sonra 8 ml %10 FBS’li DMEM ile toplanarak steril falkon tüpüne aktarıldı. 10 µl hücre süspansiyonu alınıp üzerine 90 µl tripan-mavisi ilave edildi. Neubauer hemositometresine 10 µl boya-hücre karışımından alınıp sayıldı. 24 kuyucuklu hücre kültürü kaplarına her kuyucukta 2.5x10<sup>5</sup> hücre olacak şekilde ekim yapılarak bir gece inkübe edildi.

Ertesi sabah her kuyucuğa steril distile su ile çözündürülerek hazırlanmış 1 µM’lık IL-1 β özeltisinden son konsantrasyon 2 ng/ml olacak şekilde 1 µl eklenerek 6 saat inkübe edildi. 6 saat sonunda besi yeri vakumla çekildi ve 500 µl yeni besi yeri eklendikten sonra, kontrol grubuna 1 µl DMSO diğer kuyucuklara ise son konsantrasyon 50 µM olacak şekilde 1µl ilaç örnekleri eklendi. 24 saat konvensiyonel hücre kültürü şartlarında inkübe edildi.

İnkübasyon süresi sonunda besi ortamları vakumla uzaklaştırıldı ve 750 µl soğuk 1X PBS ile 2 kez yıkanarak 4°C’de 10000 r.p.m’de 1 dakika santrifüj edilerek toplandı. Yıkama işlemi sonunda hücreler besi ortamından gelen protein yapılı bileşiklerden kurtarılmış oldu.

## 2. Hücre Lizatının Hazırlanması Ve Protein Miktar Tayini

Hücreler, örnek tüpü başına 20 µl 1X PBS ve 20 µl 2X RIPA tamponuna % 1 oranında 100X PIC ekleyerek 5 dakikada bir vortekslemek yoluyla 20 dakika süreyle

lizatlandı. Hücre pelletini uzaklaştırmak için 14.000 r.p.m'de 10 dakika boyunca 4°C'de santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar temiz ependorflara aktarıldı.

#### **a. Protein Miktar Tayini**

BCA-protein deney kiti (Pierce) kullanılarak toplam protein miktarlarına bakıldı. BCA Protein Assay, total proteinin kolorimetrik olarak tayinini sağlayan bikinkoninik asit (BCA) yöntemine dayanır. Bu metotta bikinkoninik asit içeren özgün bir belirteç, alkali ortamda protein aracılığıyla  $Cu^{+2}$ 'nin  $Cu^{+1}$ 'e indirgenmesini kombine eder. Bu deneyin pembe renkli reaksiyon ürünü, bikinkoninik asitin iki molekülünün bir bakır iyonu ile şelasyonu ile oluşur. Suda çözünebilir kompleks, artan protein konsantrasyonları ile 562 nm'de lineer absorbans gösterir. Protein konsantrasyonları, sığır serum albumin (BSA) proteini referans alınarak belirlenmiştir.

İçerisindeki protein miktarı tayin edilecek örnek, konsantrasyonları bilinen standart albümin çözeltileri ile hazırlanan, bilinen konsantrasyon değerlerine karşılık okunan absorbans değerleri ile karşılaştırılarak elde edilen doğru denklemde bilinmeyen değere karşı okunan absorbans değeri girilerek bulundu.

#### **(1). Standart Albümin Çözeltilerinin Hazırlanması ve Doğru**

##### **Denkleminin Bulunması**

Kit ile birlikte verilen 1 ml'lik ampüllerin her biri 2 mg/ml albümin içerir. Gerekli dilüsyonlar tabloda belirtildiği gibi yapıldı.

<b>Mikroplaka ile çalışmak için Standartların Hazırlanması</b>			
Vial	Dilüsyon Miktarı (Distile Su)	BSA Kaynağı ve Hacmi	İstenilen BSA Konsantrasyonu
A	0 µl	Ana stoktan 300 µl	2000 µg/ml
B	125 µl	Ana stoktan 375 µl	1500 µg/ml
C	325 µl	Ana stoktan 325 µl	1000 µg/ml
D	175 µl	B tüpünden 175 µl	750 µg/ml
E	325 µl	C tüpünden 325 µl	500 µg/ml
F	325 µl	E tüpünden 325 µl	250 µg/ml
G	325 µl	F tüpünden 325 µl	125 µg/ml
H	400 µl	G tüpünden 100 µl	25 µg/ml
I	400 µl	0	0 µg/ml=Kör

**Tablo 3. Standart Albümin Çözeltilerinin Hazırlanması**

Her bir standart çözeltiden 25 µl kuyucuklara konuldu. 200 µl BCA çalışma reaktifi eklendikten sonra 30 saniye orbital çalkalayıcıda karıştırıldı. Plaka, streç film ile sarıldıktan sonra 37°C’de yarım saat inkübe edildi. Kör olarak kullanılan distile suya karşı 562 nm’de okundu.

### **(2). Çalışma Reaktifinin Hazırlanması (WR)**

Gereken toplam çalışma reaktifini hesaplamak için (Standart sayısı + Örnek sayısı) x (tekrar sayısı) x (örnek başına WR hacmi) formülü kullanıldı. Mikroplaka ile çalışırken örnek başına 200 µl çalışma reaktifi kullanıldı. Çalışma reaktifi hazırlanırken 50 kısım BCA Reaktif A’ya, 1 kısım BCA Reaktif B ilave edildi ve karıştırıldı.

### **(3). Örneklerin Hazırlanması ve Miktarlarının Belirlenmesi**

Mikroplakanın her bir kuyucuğuna 8 µl distile su konuldu. Miktarı tayin edilecek örnekler vortekslenip kuyucuklara 2’şer µl konuldu. Her bir kuyucuğa 200 µl BCA çalışma reaktifi (WR) konuldu ve bir dakika orbital çalkalayıcıda karışması

sağlandı. Daha sonra plaka streç film ile sarılıp, 37 °C’de 30 dakika boyunca inkübe edildi. 30 dakika sonunda 562 nm’de köre karşı (1X PBS: 2X RIPA, 1:1) VersaMax mikrolaka okuyucuda okundu. Absorbans değerlerinin ortalaması alındıktan sonra, doğru denklemde yerine konularak içerdiği protein miktarı bulundu.

Hücrelerin lizatlanması sonucu elde edilen her örnek için yukarıdaki protokole göre total protein miktarları bulundu. Her örnek toplam 40 µg protein içerecek şekilde SDS-PAGE ile protein fraksiyonlarına ayrılıp, polivinilidendiflorid (PVDF) membrana transferi gerçekleştirildi.

### **3. Western Blotlama**

#### **a. Western Blotlama Protokolü**

Jel elektroforezi kullanarak proteinler molekül ağırlıklarına göre birbirinden ayrıştırıldı ve PVDF membrana transfer edildi. Membranın yüzeyine spesifik olmayan antikor bağlanmalarını engellemek amacıyla, membran %5’lik süt ile bloklandıktan sonra özgül primer antikor ile muamele edilerek ilgilenilen proteinler ile kompleks oluşturuldu. Primer antikora karşı geliştirilmiş Horse Radish Peroksidaz enzimi ile işaretlenmiş sekonder antikorlar ile kompleks oluşturuldu. WestPico SuperSignal Kiti kullanılarak kemilüminesans görüntüleme yapıldı.

#### **b. SDS-PAGE**

Poliakrilamit jel elektroforezi ile ayrıştırılma yöntemi, sodyumdodesilsülfat poliakrilamit jel elektroforezi (SDS-PAGE) olarak isimlendirilir. Yöntem, proteinlerin moleküler ağırlıklarına göre ayrıştırılmasını esas alır. Western blotlama ile birlikte herhangi bir proteinin varlığının ve miktarının belirlenmesinde kullanılır.

Genellikle bir moleküler ağırlık markırı kullanılarak büyüklükleri bilinen bantlar oluşturulur ve markırdaki bantlar referans alınarak ilgilenilen proteinler, jelden PVDF veya nitroselüloz membran transferinin ardından immünoblotlama ile belirlenir.

<b>Ayırma Jeli</b>	
Jel (%)	% 8
Bir jel için (10 ml)	
% 30'luk Akrilamit	2,67 ml
4X Ayırma Tamponu	2,5 ml
Distile su	4,8 ml
% 10'luk AP	50-100 $\mu$ l (Oda sıcaklığında her bir jel için 75 $\mu$ l)

**Tablo 4. SDS-PAGE Ayırma Jeli Hazırlanması**

<b>Yığılma Jeli (%3,5'luk) 3 ml</b>	
% 30'luk Akrilamit	0,35 ml
4X Yığılma Tamponu	0,75 ml
Distile su	1,9 ml
% 10'luk AP	20-30 $\mu$ l (Oda sıcaklığında 25 $\mu$ l)

**Tablo 5. SDS-PAGE Yığılma Jeli Hazırlanması**

Jeller tablo 4 ve 5'de verilen göre çözeltilerle ve bu çözeltilerin belirtilen miktarları ile oda sıcaklığında hazırlandı. Örneklerde fraksiyonlarına ayrılmak istenen proteinlerin molekül ağırlıkları göz önünde tutularak %8'lik jel hazırlandı ve kullanıldı.

#### **(1). Örneklerin Jele Yüklenmesi**

Protein bulunan örneklerin, yükleme işlemi öncesi denatüre edilmesi gerekir. Denatürasyon işlemi, örneklere 4X yükleme tamponu eklenip ısıtma işlemi ile

gerçekleştirildi.

Örnekler 4X yükleme tamponu ilavesinden sonra vortekslenip, blok ısıtıcıda 95°C’de beş dakika bekletilerek denatüre edildi.

Jel hazırlanıp çapraz bağlanma tamamlandıktan sonra, örnekler jel üzerindeki yükleme kuyucuklarına 40 µg protein olacak şekilde yüklendi ve dikey elektroforez tankında 200 V’da yürütüldü.

### **c. Transfer**

Protein taşıyan poliakrilamid jel ile membran doğrudan temas ettirilip iletici bir çözelti içerisinde birleşen iki elektrot arasına sandviç gibi sıkıştırıldı. 200 mA’lık elektrik akımı soğukta 90 dakika uygulandı, negatif yüklü proteinler pozitif kutba doğru hareket etti. Bu proteinler membran ile karşılaştıklarında hareketsiz kaldılar ve membrana bağlandılar. Böylelikle membran sürüklenmelerini durdurdu. Membran olarak PVDF membran kullanıldı. PVDF membranlar, kullanılmadan önce metanol ile ıslatılıp aktifleştirildi.

### **d. Membrandaki Proteinlerin Görülmesi ve Bloklama**

Transfer işleminin sonunda proteinlerin membrana transfer olduğundan emin olmak için membran yıkama tamponu ile yıkandı ve %2’lik Poncaeu kırmızısı ile çalkalanarak boyandı. Kırmızı bantların görülmesi membrana transfer olmuş proteinlerin varlığını gösterdi. Membran yıkama tamponu ile yıkanarak Poncaeu kırmızısı ortamdan uzaklaştırıldı.

Proteinler spesifik olmayan protein bağlanmalarını engellemek amacıyla membran yıkama çözeltisi ile hazırlanan %5’lik süt ile yarım saat boyunca oda

sıcaklığında orbital çalkalayıcıda inkübe edildi. Bloklama işleminden sonra membran yıkama solüsyonu ile bir kez 5 dakika boyunca yıkandı ve primer antikör eklendi.

#### **e. İmmünoyblotlama**

Çalışmamızda, antikör immünoyaktifliğini arttırmak amacıyla dolaylı deteksiyon yöntemi tercih edilmiştir. Bu yöntemde, primer antikör antijene bağlanır. Primer antikora karşı geliştirilmiş işaretilenmiş sekonder bir antikör kullanarak bağlanmaya devam edilir. Çalışmamızda kullanılan sekonder antikörler horse radish peroksidaz (HRP) enzimi ile işaretili idi.

#### **(1). İmmünoyblotlama Basamakları**

Membran, %5'lik süt ile 30 dakika oda sıcaklığında bloklandı. Bloklama sonrasında bir kez 1X yıkama tamponu ile 5 dakika boyunca yıkandı. Oda sıcaklığında primer antikör ile orbital çalkalayıcıda 75 r.p.m.'de bir saat inkübe edildi Bir saat sonunda 3 kez, 5 dakikada bir, 1X yıkama tamponu ile yıkandı. Sekonder antikör ile 1 saat oda sıcaklığında orbital çalkalayıcıda 75 r.p.m.'de inkübe edildi. Sekonder antikörler uzaklaştırılıp, 5 dakikada bir, 3 kez 1 X yıkama tamponu ile yıkandı ve görüntüleme basamağına geçildi.

#### **(2). Primer Antikörler**

Çalışmalarda kullanılan antikörler olan monoklonal anti- $\beta$ -aktin 1:20000 oranında ve monoklonal COX 2 antikörü ise 1:400 oranında % 5'lik yağsız sütte hazırlandı. Koruyucu olarak 1:1000 oranında sodyum azit çözeltisi eklendi ve +4°C'de saklandı.

Çalışmada, monoklonal anti-aktin antikoruna ile immünoiblotlama yapılarak aktin seviyeleri karşılaştırıldı ve dolayısıyla proteinlerin yüklenme seviyesi kontrol edildi.

Sekonder antikor olarak goat anti-mouse (Pierce) antikoruna 1:7500 oranında %5'lik yağsız sütte hazırlandı ve kullanıldı.

### **(3). Görüntüleme**

HRP enzimi ile işaretlenmiş sekonder antikorlar ile inkübe edilmiş membranların görüntülenmesi için SuperSignal WestPico Chemiluminescent Substrate (Pierce) kullanılmıştır. SuperSignal WestPico Chemiluminescent Substrate, immünoiblotlar üzerinde HRP'ı tespit etmek için yüksek hassasiyete sahip bir substrattır. Substrat olarak kullanılan luminol, HRP ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında okside olur ve uyarılmış ürün olan 3-aminofitalat oluşur. Bu ürün, 425 nm'de ışımaya verir. Bu ışımaya, sadece enzim-substrat reaksiyonu sırasında oluşur.

Çalışma esnasında membranlarda kullanmak için SuperSignal WestPico Chemiluminescent Substrate çalışma solüsyonları membran başına 3 ml olacak şekilde 1:1 oranında karıştırılarak taze hazırlandı ve membranla 1 dakika inkübe edildi. Fazla solüsyon uzaklaştırıldıktan sonra membran protein kısmı yukarı bakacak şekilde streç film ile kaplandı ve X-ray kasetine yerleştirildi. Blot X-ray filmlerine (CL-XPosure Film, Pierce) karanlık odada maruz bırakıldı. Filmler, otomatik film banyo makinasında banyo edildi.

## **4. Prostaglandin E<sub>2</sub> miktar tayini**

### **a. Örneklerin Hazırlanması**

A-549 hücreleri 37 °C'de, %5'lik CO<sub>2</sub> inkübatöründe %10 FBS'li DMEM ile



büyütüldü. Hücreler 100 mm'lik kültür kaplarını % 90 oranında kaplayacak oranda büyüdüğünde besi ortamı uzaklaştırılıp, 1 ml % 0,25'lik tripsin-EDTA ile yıkandı ve vakumla tripsin-EDTA uzaklaştırıldı. Kültür kapları 37 °C'deki CO<sub>2</sub> inkübatöründe 45 saniye bekletildi. Daha sonra 8 ml %10 FBS'li DMEM ile toplanarak steril falkon tüpüne aktarıldı. 10 µl hücre süspansiyonu alınıp üzerine 90 µl tripan-mavisi ilave edildi. Neubauer hemositometresine 10 µl boya-hücre karışımından alınıp sayıldı. 24 kuyucuklu hücre kültürü kaplarına her kuyucukta  $2.5 \times 10^5$  hücre olacak şekilde ekim yapılarak bir gece inkübe edildi.

Ertesi sabah kontrol grubuna 1 µl DMSO, diğer kuyucuklara ise son konsantrasyon 50 µM olacak şekilde 1 µl ilaç örnekleri eklendi. 24 saat konvensiyonel hücre kültürü şartlarında inkübe edildi. 24 saat sonra kuyucuklardaki besi yerleri prostaglandin E<sub>2</sub> tayininde kullanılmak üzere toplanarak ependorf tüplerine alındı.

## **b. Çözeltilerin Hazırlanması**

### **(1). Tampon Hazırlanışı**

#### **(a) Enzim İmmuno Assay (EIA) Tamponunun Hazırlanması**

Kit içeriğinde gelen 10 X EIA konsantre tampon içeriği (10 ml), 90 ml ultra saf su ile dilüe edilerek hazırlandı.

#### **(b) Yıkama Tamponunun Hazırlanması**

Konsantre halde gelen yıkama tamponu içeriği ultra saf su ile 2 l'ye tamamlandı ve son hacme 1 ml Tween 20 ilave edildi.

**(c) Prostaglandin E<sub>2</sub> EIA Standart Çözeltisinin Hazırlanması**

Konsantre çözelti şişesine 1 ml boş besi yeri eklenerek çözündürüldü. 10 ng/ml konsantrasyonda hazırlandı.

**(d) Prostaglandin E<sub>2</sub> EIA Standart Serisinin Hazırlanması**

Kit içerisinde hazır halde bulunan standart içerik 1 ml boş besi yeri ile çözündürülerek 10 ng/ ml konsantrasyonunda stok standart çözeltisi hazırlandı. Stok standart çözeltisinin belirli konsantrasyonlarda seyreltilmesi ile 7.8–1000 pg/ml konsantrasyon aralığında standart prostaglandin E<sub>2</sub> standartları hazırlandı.

Standart serinin hazırlanması için 8 adet ependorf tüpü 1'den 8'e kadar numaralandırıldı. Bir numaralı ependorf tüpüne 900 µl besiyeri ve 100 µl stok standart çözeltisinden konuldu ve karıştırıldı. 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8 nolu ependorf tüplerine 500' er µl boş besi yeri konuldu. 1 nolu ependorf tüpü içeriğinden 500 µl alınarak 2 numaralı tüpün içerisine konuldu ve karıştırıldı. 2 nolu ependorf tüpü içeriğinden 500 µl alınarak 3 numaralı tüpün içerisine konuldu ve karıştırıldı. Bu işlem 8 numaralı ependorf tüpüne kadar tekrar edildi. Yapılan bu seri dilüsyon ile 1000 (1 no.lu), 500 (2 no.lu), 250 (3 no.lu), 125 (4 no.lu), 62.5 (5 no.lu), 31.3 (6 no.lu), 15.6 (7 no.lu) ve 7.8 (8 no.lu) pg/ml konsantrasyonlarında prostaglandin E<sub>2</sub> standartları hazırlandı.

**(e) Prostaglandin E<sub>2</sub> AChE Tracer Çözeltisinin Hazırlanması**

Konsantre çözelti şişesi 6 ml EIA tamponu ile çözündürüldü.

## (f) Prostaglandin E<sub>2</sub> Monoklonal Antikor Çözeltisinin Hazırlanması

Konsantre çözelti şişesi 6 ml EIA tamponu ile çözündürüldü

### c. Deneyin Yapılışı

Kit içeriğinde kullanıma hazır haldeki 96 kuyucuklu plaka'nın kullanımı, tekrarlanabilir ve geçerli sonuçlar elde edilemek üzere kit talimatlarına uygun olarak planlandı.

Bu doğrultuda kör, total aktivite (TA), non-spesifik bağlanma (NSB) ve maksimum bağlanma( B<sub>0</sub>) değerleri için 2'şer kuyucuk ayrıldı. Standart eğrinin hesaplanabilmesi için ise belirlenen her standart çözelti konsantrasyonu için 2 kuyucuk ayrıldı. Diğer kuyucuklar ise aktivitesi belirlenecek örnekler için kullanıldı. Her örnek en az iki tekrar ile çalışıldı.

NSB kuyucuklarına 100µl, B<sub>0</sub> kuyucuklarına 50 µl besi yeri eklendi. Hazırlanan PE<sub>2</sub> EIA standart çözeltilerden belirlenmiş kuyucuklara 50'şer µl eklendi. Örnek kuyucuklarına 50'şer µl örnek besiyerlerinden eklendi. TA ve kör kuyucuğu dışındaki tüm kuyucuklara, 50 µl PE<sub>2</sub> AchE çözeltisi eklendi. TA, NSB ve kör kuyucukları hariç tüm kuyucuklara yani standart, örnek ve B<sub>0</sub> kuyucuklarına antikor çözeltisi eklendi. Plakanın üzere plastik film ile kapatılarak 4 °C'de 18 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda plaka aspire edilerek boşaltıldı. 200 µl yıkama tamponu eklenir ve aspire edilerek yıkandı. Bu işlem 5 defa tekrar edildi. Tüm kuyucuklara 200 µl Ellman reaktifi eklendi. TA kuyucuğuna ise ilave olarak 5 µl tracer çözeltisi ilave edildi. Plakanın üzeri yeniden plastik film ile kapatılır ve çevresi alüminyum folyo ile kapatılarak ışık alması engellendi. Plaka orbital çalkalayıcıya yerleştirilerek çalkalandı. Ölçüm işlemi B<sub>0</sub> kuyucuğunun absorbans değeri en az 0.3 olana kadar 15 dakikada bir, 415 nm'ye ayarlı mikropilaka okuyucuda ölçüm

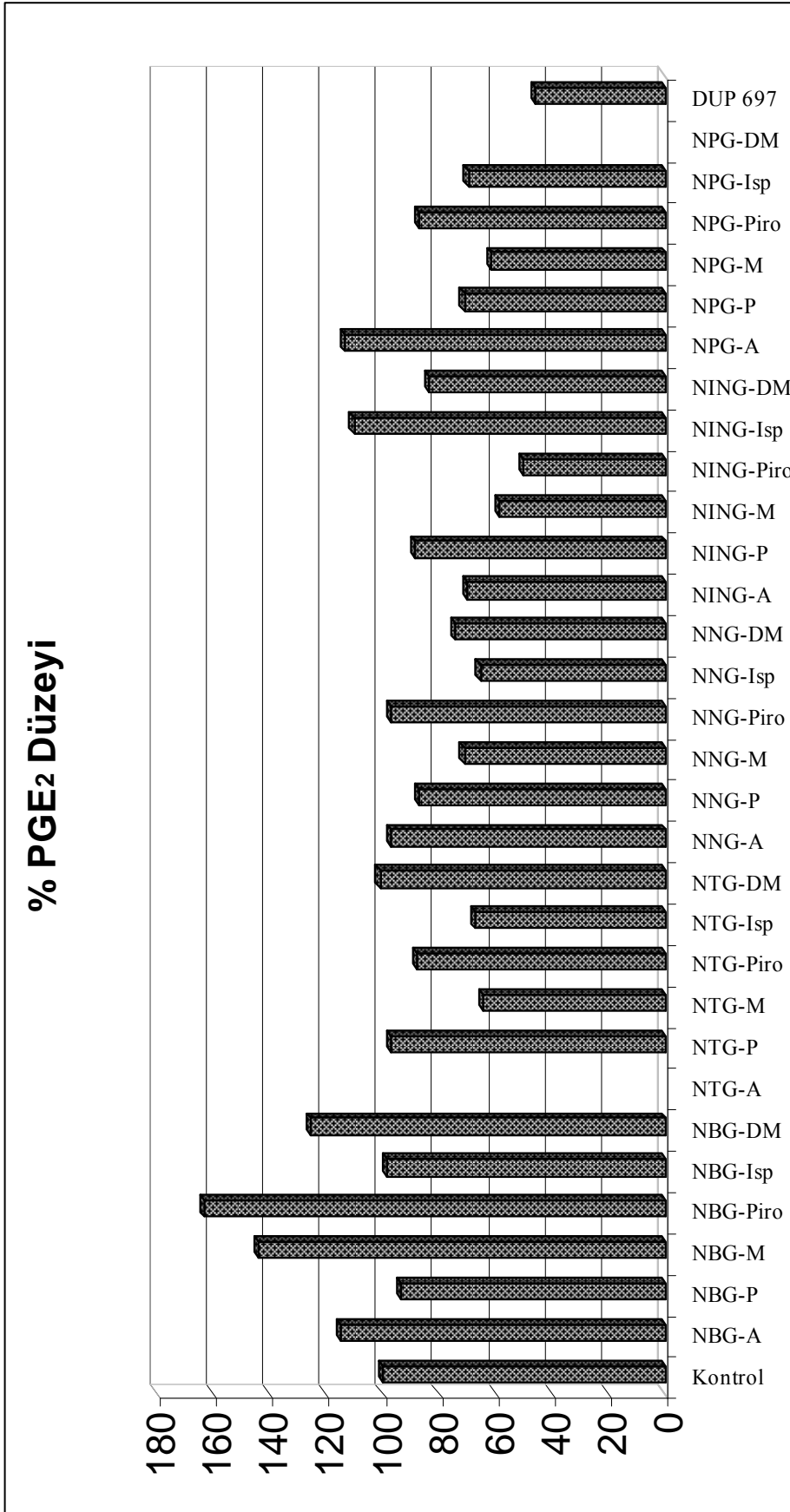
alınarak kontrol edildi.  $B_0$  kuyucuğunun absorbands değeri 0.3 ile 1 arasındayken plakanın absorbandsı ölçüldü ve gerekli hesaplamaları yapmak için kaydedildi. Sonuçlar kit prosedüründe belirtildiği gibi hesaplandı. Deney aynı firmanın kiti ile iki defa çalışıldı.

**C. Biyolojik Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular**

Bileşikler	% PGE <sub>2</sub> Düzeyi Ort ± S.S (n=3)
Kontrol	100 ± 0
NBG-A	114,8 ± 0
NBG-P	93,3 ± 3,0
NBG-M	144,03 ± 3,7
NBG-Piro	163,22 ± 1,5
NBG-Isp	98,3 ± 6,5
NBG-DM	126,6 ± 4,8
NTG-A	Tayin edilemedi
NTG-P	97,2 ± 1,3
NTG-M	64,6 ± 3,5
NTG-Piro	87,7 ± 6,5
NTG-Isp	67,1 ± 1,5
NTG-DM	100,9 ± 2,7
NNG-A	97,4 ± 6,4
NNG-P	87,3 ± 4,3
NNG-M	71,1 ± 0,4
NNG-Piro	97 ± 7,0
NNG-Isp	65,6 ± 2,1
NNG-DM	74,4 ± 2,6
NING-A	70,3 ± 2,3
NING-P	88,8 ± 1,1
NING-M	59,0 ± 1,2
NING-Piro	50,0 ± 1,6
NING-Isp	110,2 ± 4,3
NING-DM	83,3 ± 2,7
NPG-A	113,6 ± 1,6
NPG-P	71,2 ± 2,0
NPG-M	61,5 ± 2,3
NPG-Piro	87,0 ± 4,8
NPG-Isp	69,8 ± 3,9
NPG-DM	Tayin edilemedi
DUP 697	46,3 ± 2,3

**Tablo 6. 2-Benzamidoasetamit, 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamit, 2-Nikotinamidoasetamit, 2-İzonikotinamidoasetamit ve 2-(2-Pikolinamido)asetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE<sub>2</sub> Düzeyine Etkisi**

\*Bileşikler 50 µM konsanrasyonda uygulandı



Şekil 16. % PGE<sub>2</sub> Düzeyi

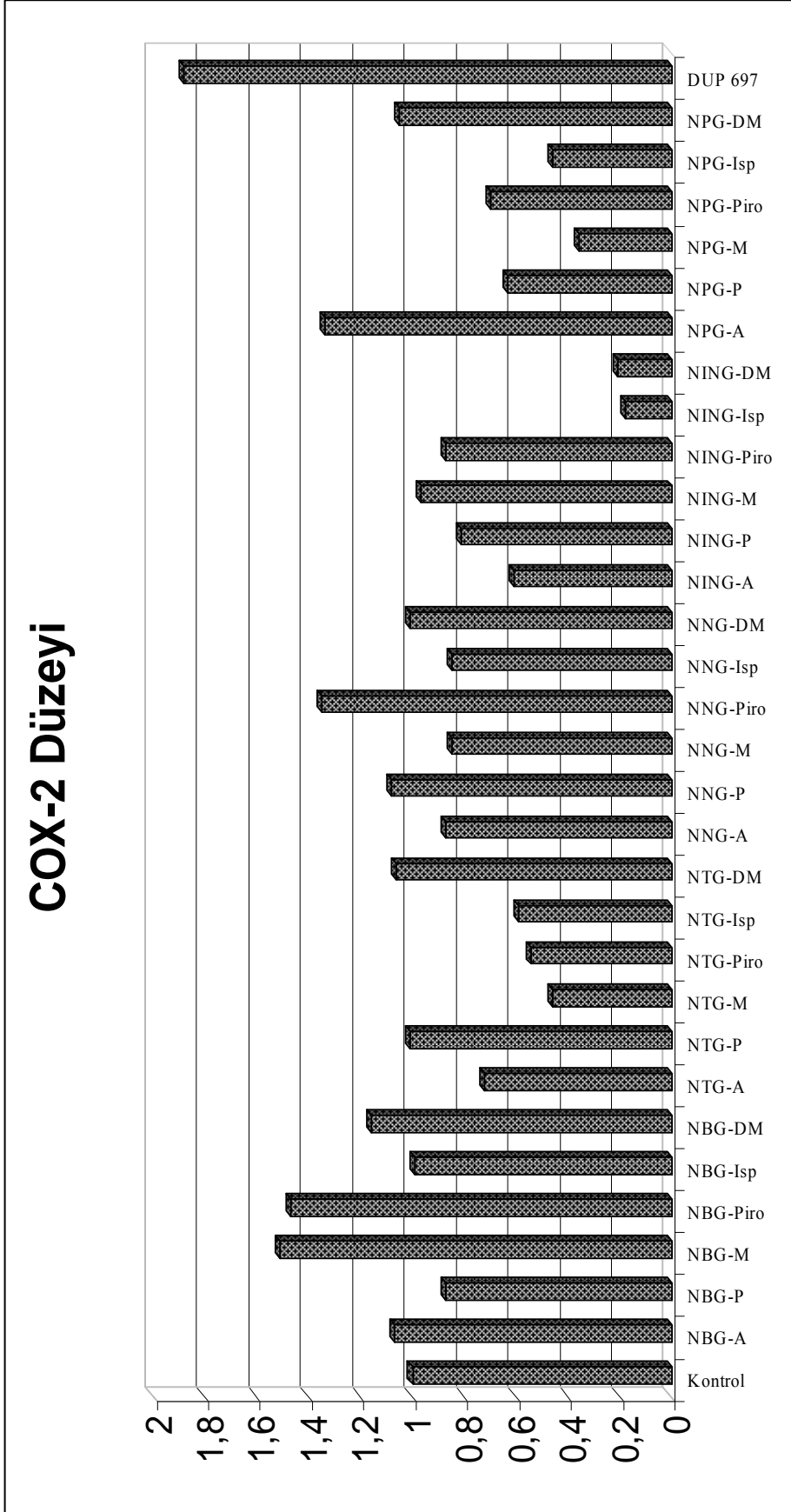
\*Elde edilen sonuçlar kontrol 100 alınarak karşılaştırılmıştır.

Bileşikler	COX-2 Düzeyi
Kontrol	1
NBG-A	1,07
NBG-P	0,87
NBG-M	1,51
NBG-Piro	1,47
NBG-Isp	0,99
NBG-DM	1,16
NTG-A	0,72
NTG-P	1,01
NTG-M	0,46
NTG-Piro	0,54
NTG-Isp	0,59
NTG-DM	1,06
NNG-A	0,87
NNG-P	1,08
NNG-M	0,85
NNG-Piro	1,35
NNG-Isp	0,85
NNG-DM	1,01
NING-A	0,61
NING-P	0,81
NING-M	0,97
NING-Piro	0,87
NING-Isp	0,18
NING-DM	0,21
NPG-A	1,34
NPG-P	0,63
NPG-M	0,36
NPG-Piro	0,7
NPG-Isp	0,46
NPG-DM	1,05
DUP 697	1,88

**Tablo 7. 2-Benzamidoasetamit, 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamit, 2-Nikotinamidoasetamit, 2-İzonikotinamidoasetamit ve 2-(2-Pikolinamido)asetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi**

\*Bileşikler 50 µM konsanrasyonda uygulandı

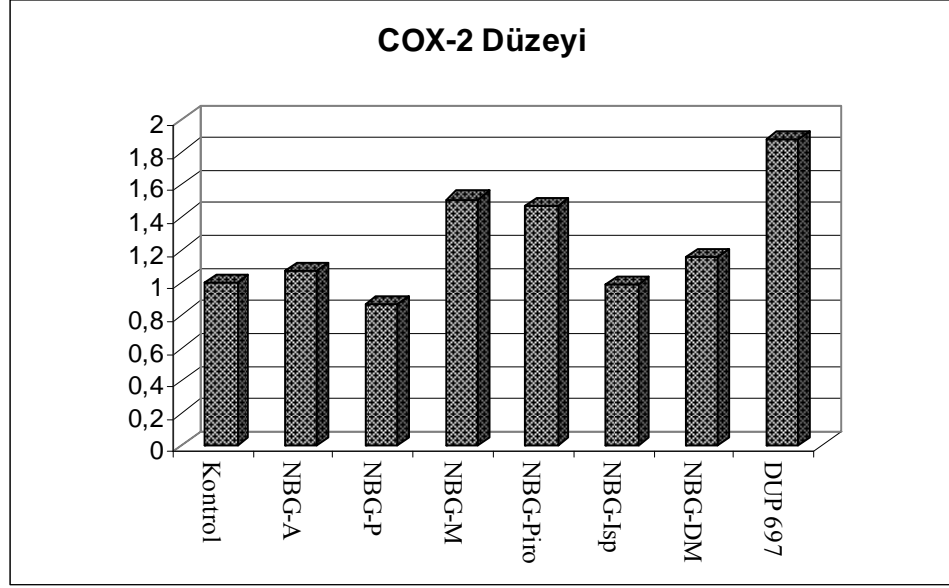
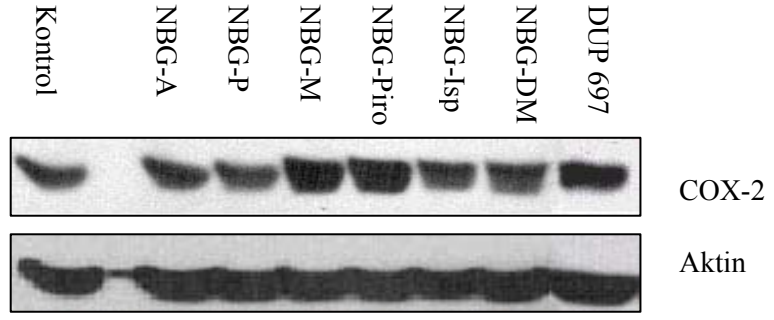
\*Elde edilen sonuçlar kontrol 1 alınarak karşılaştırılmıştır.



**Şekil 17. COX-2 Düzeyi**

\*Elde edilen sonuçlar kontrol 1 alınarak karşılaştırılmıştır.



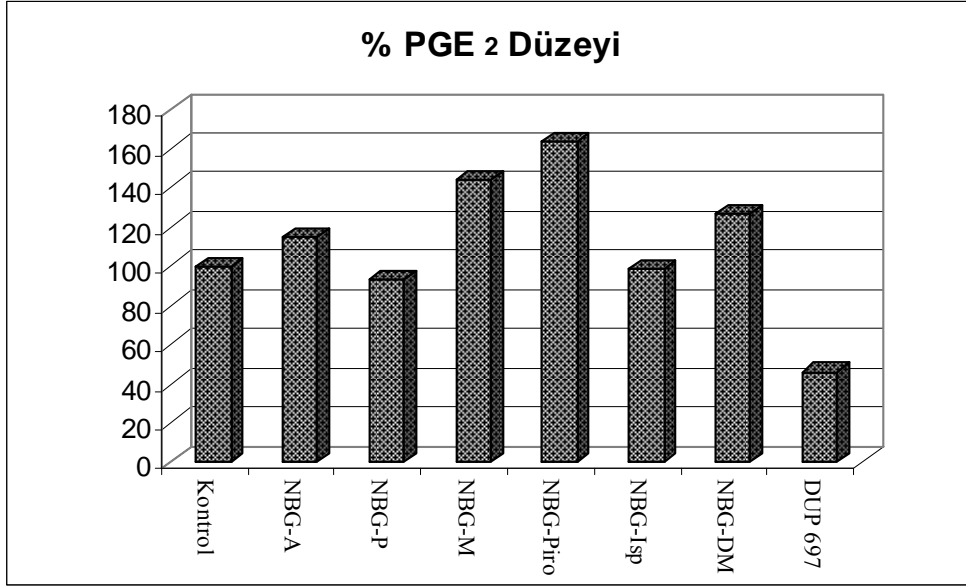


**Şekil 18. 2-Benzamidoasetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi**

Bileşikler	COX-2 Düzeyi
Kontrol	1
NBG-A	1,07
NBG-P	0,87
NBG-M	1,51
NBG-Piro	1,47
NBG-Isp	0,99
NBG-DM	1,16
DUP 697	1,88

**Tablo 8. 2-Benzamidoasetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi**

\*Elde edilen sonuçlar kontrol 1 alınarak karşılaştırılmıştır.

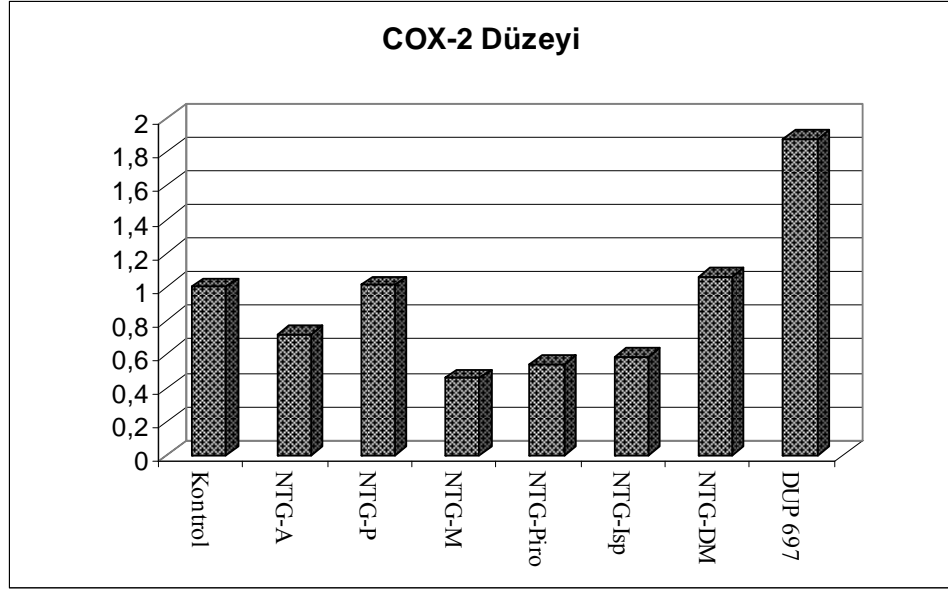
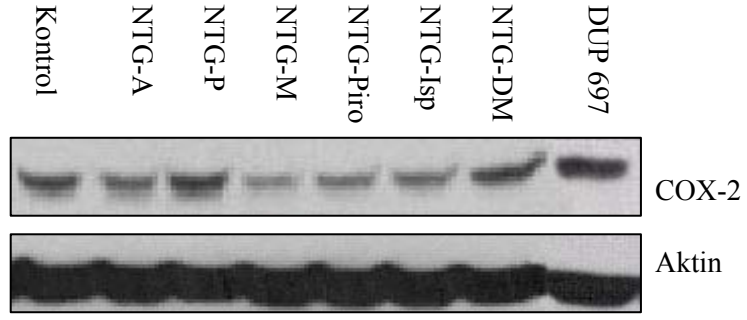


**Şekil 19. 2-Benzamidoasetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE<sub>2</sub> Düzeyine Etkisi**

Bileşikler	% PGE <sub>2</sub> Düzeyi Ort ± S.S (n=3)
Kontrol	100 ± 0
NBG-A	114,8 ± 0
NBG-P	93,3 ± 3,0
NBG-M	144,03 ± 3,7
NBG-Piro	163,22 ± 1,5
NBG-Isp	98,3 ± 6,5
NBG-DM	126,6 ± 4,8
DUP 697	46,3 ± 2,3

**Tablo 9. 2-Benzamidoasetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE<sub>2</sub> Düzeyine Etkisi**

\*Elde edilen sonuçlar kontrol 100 alınarak karşılaştırılmıştır.

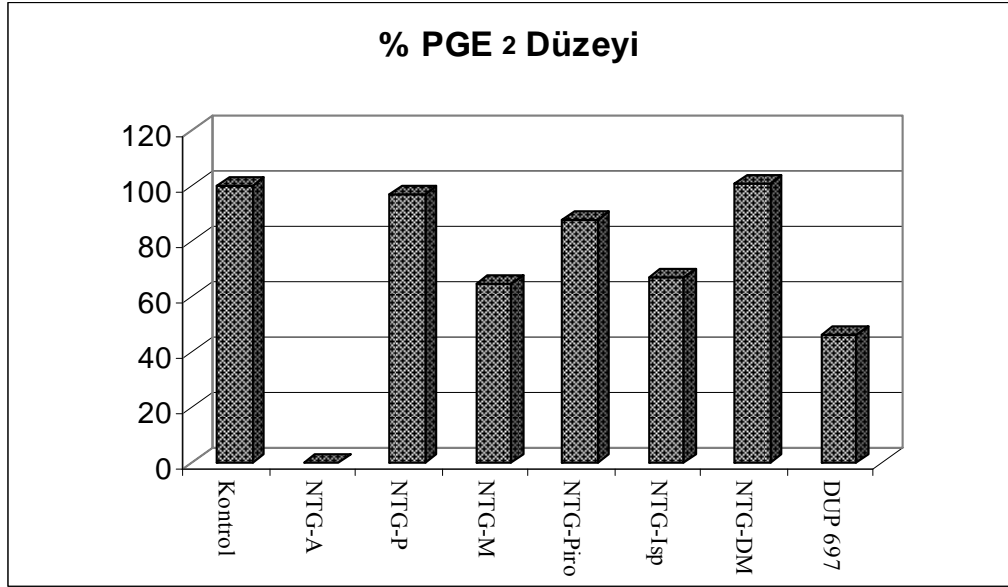


**Şekil 20. 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi**

Bileşikler	COX-2 Düzeyi
Kontrol	1
NTG-A	0,72
NTG-P	1,01
NTG-M	0,46
NTG-Piro	0,54
NTG-Isp	0,59
NTG-DM	1,06
DUP 697	1,88

**Tablo 10. 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi**

\*Elde edilen sonuçlar kontrol 1 alınarak karşılaştırılmıştır.

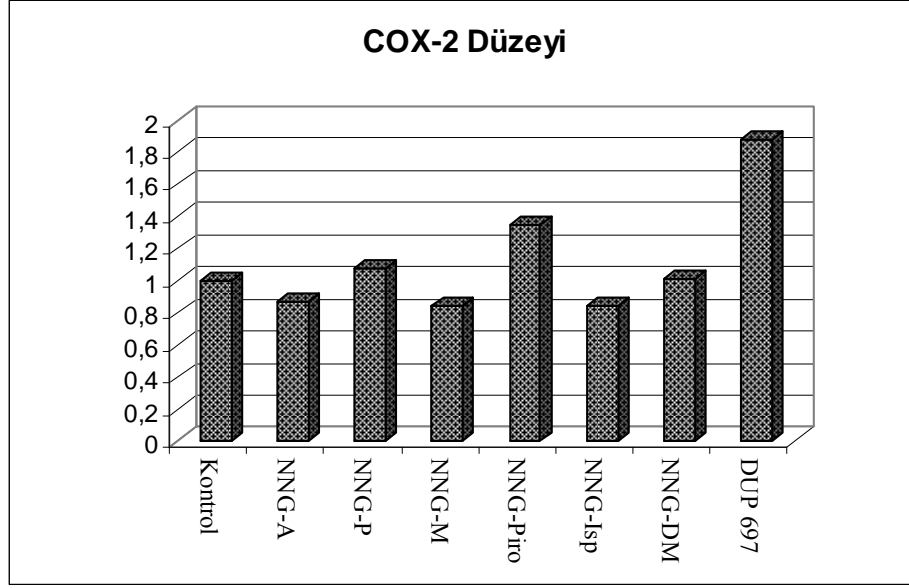
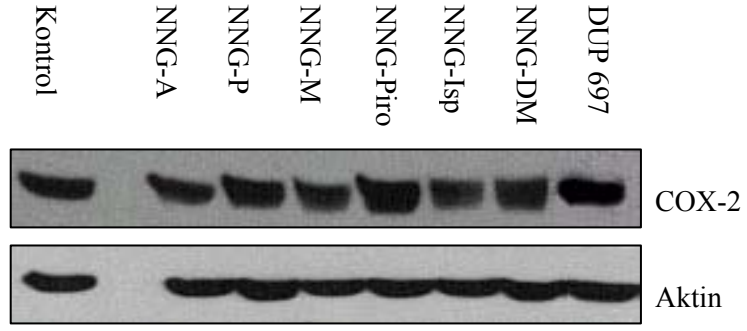


**Şekil 21. 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE<sub>2</sub> Düzeyine Etkisi**

Bileşikler	% PGE <sub>2</sub> Düzeyi Ort ± S.S (n=3)
Kontrol	100 ± 0
NTG-A	Tayin edilemedi
NTG-P	97,2 ± 1,3
NTG-M	64,6 ± 3,5
NTG-Piro	87,7 ± 6,5
NTG-Isp	67,1 ± 1,5
NTG-DM	100,9 ± 2,7
DUP 697	46,3 ± 2,3

**Tablo 11. 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE<sub>2</sub> Düzeyine Etkisi**

\*Elde edilen sonuçlar kontrol 100 alınarak karşılaştırılmıştır.

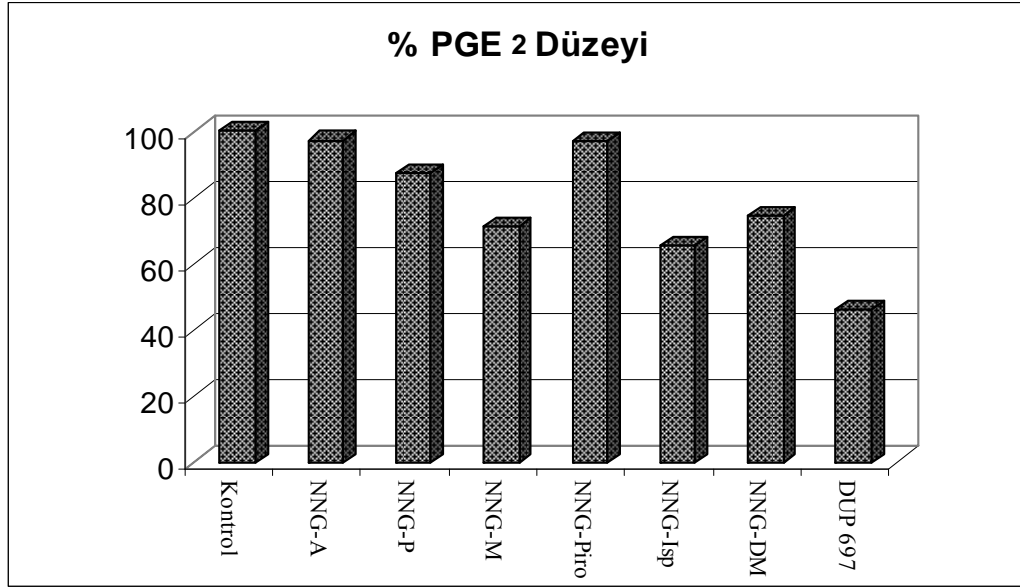


**Şekil 22. 2-Nikotinamidoasetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi**

Bileşikler	COX-2 Düzeyi
Kontrol	1
NNG-A	0,87
NNG-P	1,08
NNG-M	0,85
NNG-Piro	1,35
NNG-Isp	0,85
NNG-DM	1,01
DUP 697	1,88

**Tablo 12. 2-Nikotinamidoasetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi**

\*Elde edilen sonuçlar kontrol 1 alınarak karşılaştırılmıştır.

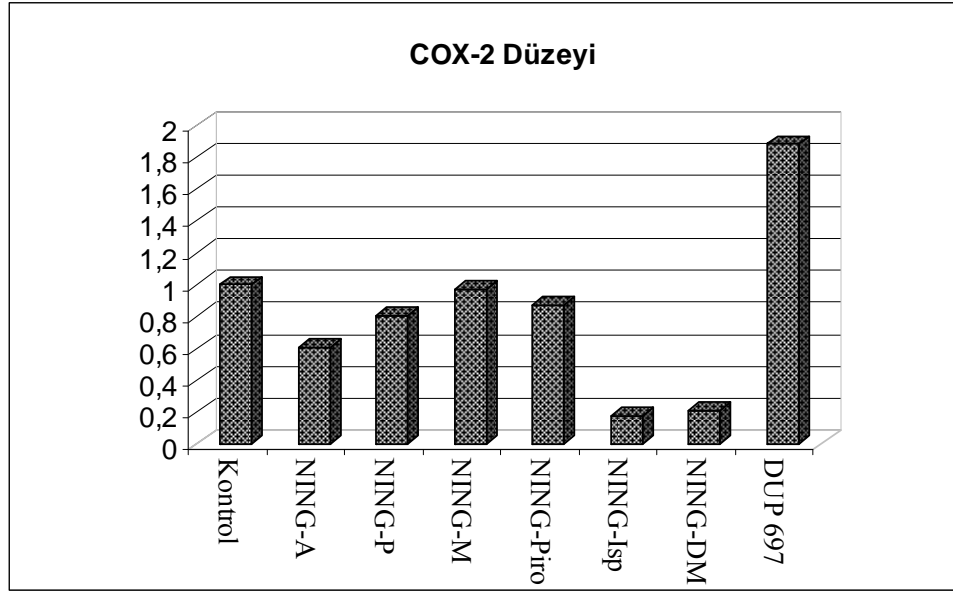
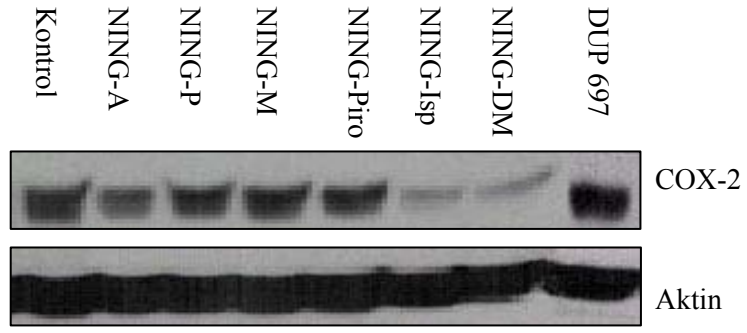


**Şekil 23. 2-Nikotinamidoasetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE<sub>2</sub> Düzeyine Etkisi**

Bileşikler	% PGE <sub>2</sub> Düzeyi Ort ± S.S (n=3)
Kontrol	100 ± 0
NNG-A	97,4 ± 6,4
NNG-P	87,3 ± 4,3
NNG-M	71,1 ± 0,4
NNG-Piro	97 ± 7,0
NNG-Isp	65,6 ± 2,1
NNG-DM	74,4 ± 2,6
DUP 697	46,3 ± 2,3

**Tablo 13. 2-Nikotinamidoasetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE<sub>2</sub> Düzeyine Etkisi**

\*Elde edilen sonuçlar kontrol 100 alınarak karşılaştırılmıştır.

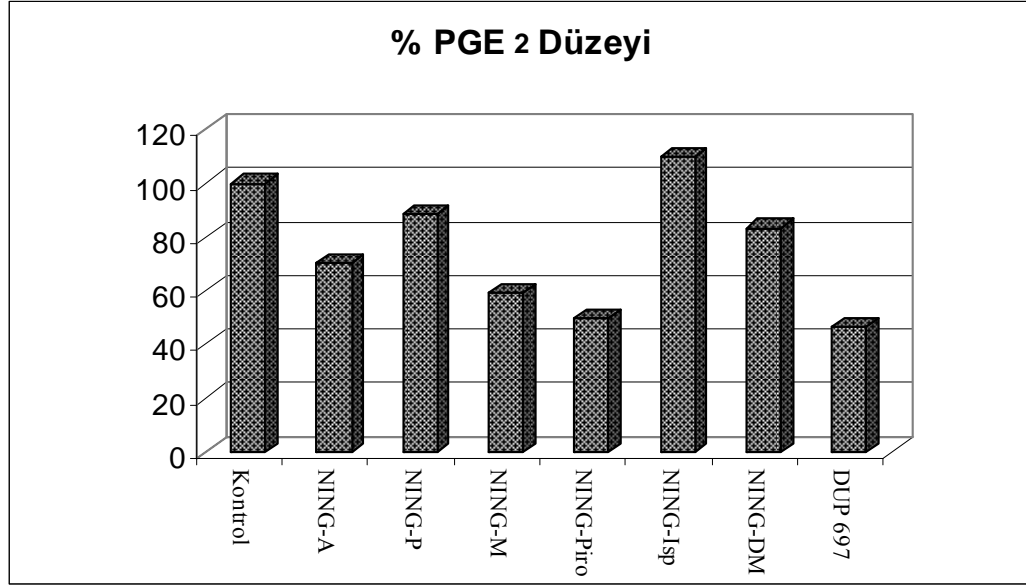


**Şekil 24. 2-İzonikotinamidoasetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi**

Bileşikler	COX-2 Düzeyi
Kontrol	1
NING-A	0,61
NING-P	0,81
NING-M	0,97
NING-Piro	0,87
NING-Isp	0,18
NING-DM	0,21
DUP 697	1,88

**Tablo 14. 2-İzonikotinamidoasetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi**

\*Elde edilen sonuçlar kontrol 1 alınarak karşılaştırılmıştır.



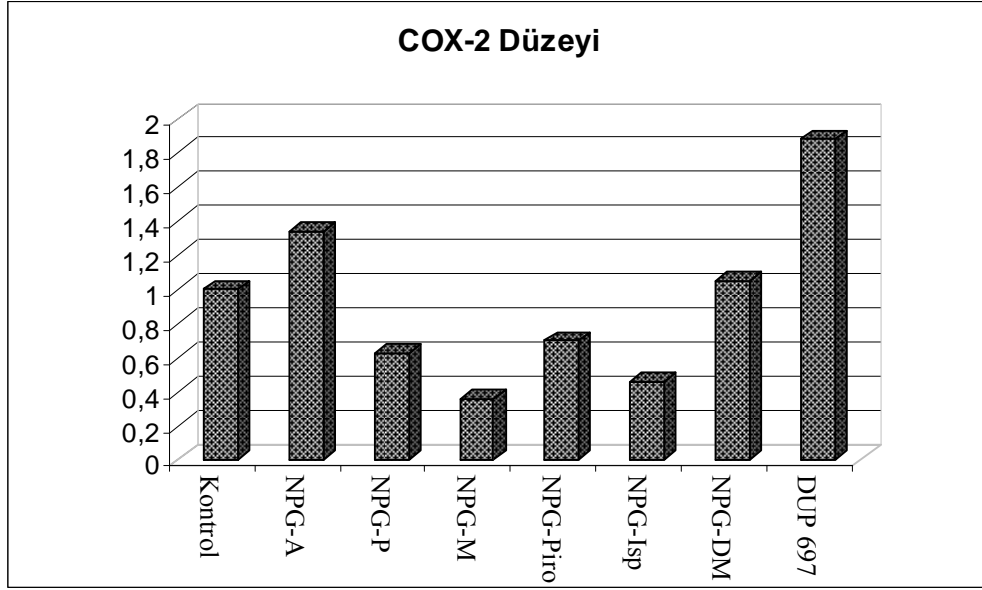
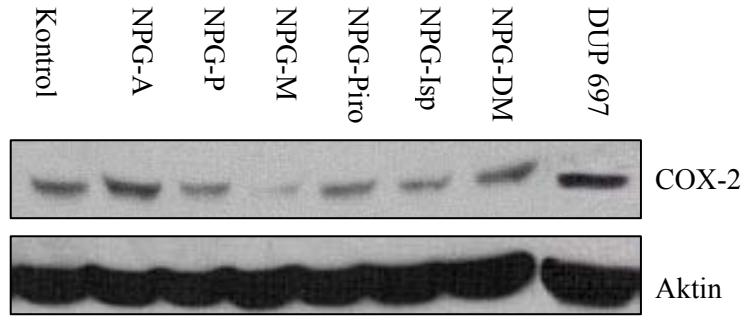
**Şekil 25. 2-İzonikotinamidoasetamit Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE<sub>2</sub> Düzeyine Etkisi**

Bileşikler	% PGE <sub>2</sub> Düzeyi Ort ± S.S (n=3)
Kontrol	100 ± 0
NING-A	70,3 ± 2,3
NING-P	88,8 ± 1,1
NING-M	59,0 ± 1,2
NING-Piro	50,0 ± 1,6
NING-Isp	110,2 ± 4,3
NING-DM	83,3 ± 2,7
DUP 697	46,3 ± 2,3

**Tablo 15. 2-İzonikotinamidoasetamit Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE<sub>2</sub> Düzeyine Etkisi**

\*Elde edilen sonuçlar kontrol 100 alınarak karşılaştırılmıştır.



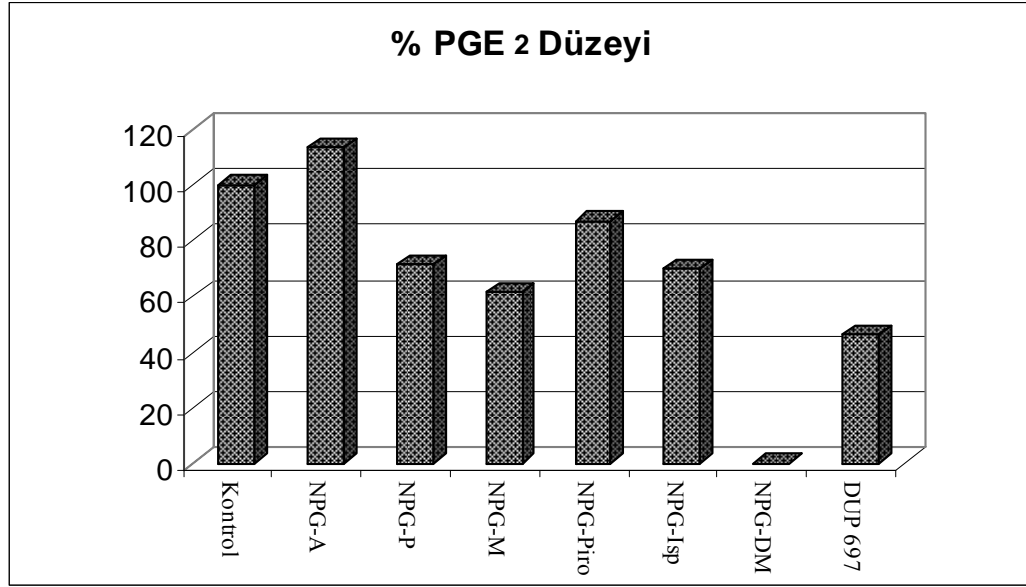


**Şekil 26. 2-(2-Pikolinamido)asetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi**

Bileşikler	COX-2 Düzeyi
Kontrol	1
NPG-A	1,34
NPG-P	0,63
NPG-M	0,36
NPG-Piro	0,7
NPG-Isp	0,46
NPG-DM	1,05
DUP 697	1,88

**Tablo 16. 2-(2-Pikolinamido)asetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin COX-2 Düzeyine Etkisi**

\*Elde edilen sonuçlar kontrol 1 alınarak karşılaştırılmıştır.



**Şekil 27. 2-(2-Pikolinamido)asetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE<sub>2</sub> Düzeyine Etkisi**

Bileşikler	% PGE <sub>2</sub> Düzeyi Ort ± S.S (n=3)
Kontrol	100 ± 0
NPG-A	113,6 ± 1,6
NPG-P	71,2 ± 2,0
NPG-M	61,5 ± 2,3
NPG-Piro	87,0 ± 4,8
NPG-Isp	69,8 ± 3,9
NPG-DM	Tayin edilemedi
DUP 697	46,3 ± 2,3

**Tablo 17. 2-(2-Pikolinamido)asetamit Türevi Bileşiklerin ve DUP 697 Bileşiğinin % PGE<sub>2</sub> Düzeyine Etkisi**

\*Elde edilen sonuçlar kontrol 100 alınarak karşılaştırılmıştır.

## TARTIŞMA

İnflamasyon, farklı hücre tiplerine ve faktörlerine gerek duyan, patojenik, travmatik ya da toksik yaralanmalara karşı doku hasarını kontrol eden kompleks bir süreçtir. İnflamasyon süreci, hücre migrasyonunu ve proliferasyonunu düzenleyen proinflamatuvar ve antiinflamatuvar moleküllerle kontrol edilmektedir (26). İnflamasyon, vücudun yaralanmalara karşı doku hasarını kontrol eden savunma mekanizması olmasına rağmen kronik inflamasyon, kardiyovasküler, pulmoner, nörolojik, otoimmün hastalıkların ve kanser ve diyabetin gelişim sürecine katkıda bulunabilmektedir (2, 27, 70, 77, 93, 114). İnflamasyonun oluşmasına araşidonik asit kaskatı ile oluşan eikosanoidler aracılık etmektedir (61).

Hücre içi fizyolojik ve patofizyolojik olaylarla ilgili sinyal kaskatında merkezi bir rol oynayan ve inflamatuvar yanıtların indüklenmesine katkıda bulunan eikosanoidler COX, LOX ve CYP 450 enzimlerinin katalitik aktiviteleri ile araşidonik asitten oluşmaktadır (42, 61, 92). COX enzimleri tarafından sentezlenen prostaglandinler inflamasyondan sorumlu eikosanoidlerdendir (64).

COX enzimlerinin 3 izoformu vardır. Bunlar COX-1, COX-2 ve COX-3'tür. COX-1 vücutta birçok dokuda yaygın olarak bulunan, memeli hücre ve dokularında prostaglandinlerin temel seviyesini düzenlemek için üretilen bir enzimdir (61). COX-2 izoenzimi ise proinflamatuvar ve mitojenik uyarıların indüklenmesi sonucunda inflamasyon görülen dokular ve neoplastik dokularda eksprese olmaktadır (46). COX-1 ve COX-2 izoenzimleri % 60 oranında homologdurlar. COX-1 ve COX-2

izoenzimleri benzer yapı ve kinetik özelliklere sahip olmalarına rağmen, bu izoenzimlere ait genler farklı kromozomlarda bulunmaktadır. Aynı zamanda COX-2 izoformunun NSAİİ'ler için daha büyük bir bağlanma cebine sahip olması iki izoenzim arasında fark yaratan en temel özelliktir (31, 93).

COX-2 izoenzimi kanserli dokularda eksprese olarak göğüs kanseri, kolon kanseri, prostat kanseri, özafögal adenokarsinom ve akciğer kanserinin apoptozis, proliferasyon, angiyojenez, invazyon ve metastaz süreçlerine katkıda bulunur (2, 61, 70, 77). COX-2 izoenzimi, nöroinflamasyon görülen nörodejeneratif hastalıklarda inflamasyonu ve oksidatif stresi indükleyerek etki gösteren bir enzimdir (93).

NSAİİ'ler siklooksijenaz enzimleri ile etkileşip prostaglandin sentezinin inhibisyonunu gerçekleştirerek inflamatuvar hastalıkların tedavisinde önemli rol oynamaktadır. NSAİİ'ler, selektif COX-1 inhibitörleri, non-selektif COX inhibitörleri, tercihli COX-2 inhibitörleri ve yüksek selektiviteli COX-2 inhibitörleri olarak siklooksijenaz enzimleri üzerine olan selektif etkilerine göre sınıflandırılmaktadır (31).

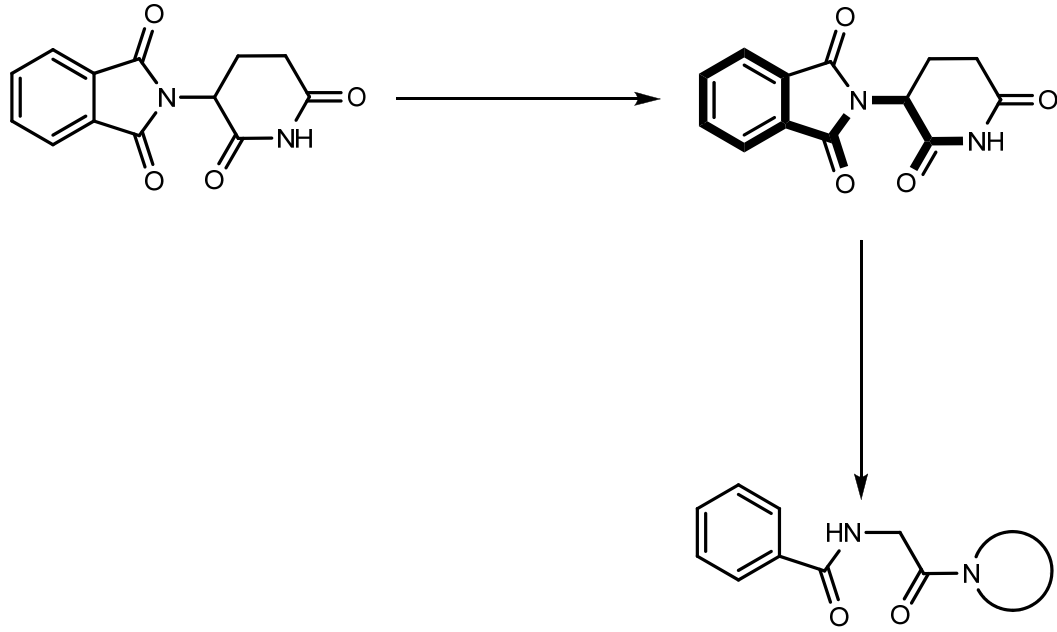
Talidomit 1950'lerden 1960'lara kadar sedatif-hipnotik ve antiemetik olarak kullanılmış, teratojenik etkisinden dolayı 1960'larda tedaviden kaldırılmış ve FDA'den 1998 yılında Hansen hastalığı ve 2006 yılında ise multiple miyelom tedavisinde kullanılmak üzere onay alınmış bir bileşiktir (33, 53, 90, 103). Talidomitin antikaşesik, antiinflamatuvar, antitümöral, antiangiyojenik, tümör hücreleri istilasını inhibe edici, antiviral ve hipoglisemik etki gibi çeşitli yararlı farmakolojik etkiler gösterdiği rapor edilmiştir. Talidomit bileşiğinin yapısı temel alınarak TNF- $\alpha$  regülörleri, androjen antagonistleri, siklooksijenaz inhibitörleri, nitrik oksit inhibitörleri ve histon deasetilaz inhibitörleri gibi biyolojik aktif bileşikler geliştirilmiştir (53).

Çalışmamızda talidomit bileşiği model olarak alınmıştır. Doğal ya da sentetik yapıların biyolojik aktiviteleri korunarak veya geliştirilerek moleküller yapının küçültülmesi ya da basitleştirilmesini amaçlayan bir ilaç tasarım yöntemi olan moleküler basitleştirme kullanılarak talidomitin rijit olmayan analogların sentezi düşünülmüştür (28, 45). Bu amaçla talidomit bileşiği kimyasal yapısında yer alan ftalimit halkası ve piperidin-2,6-dion yapısı üzerinde çeşitli modifikasyonlara gidilmiştir (Şema1). Gerçekleştirilen modifikasyonlar;

- a. Ftalimit halkasının benzen, 2-piridin, 3-piridin, 4-piridin ve 2-tiyofen halkalarını içeren bir açıl grubu ile değiştirilmesi,
- b. Piperidin-2,6-dion yapısında halkanın açılması sonucunda amit azotu üzerine küçük alkil grupları ile bir aromatik halkanın yerleştirilmesi ve amit azotun halka içerisine alınması şeklindedir.

Bu modifikasyonlar çerçevesinde çalışmamızda *N*-[2-(fenilamino)-2-oksoetil]benzamid (NBG-A), *N*-[2-okso-2-(piperidin-1-il)etil]benzamid (NBG-P), *N*-(2-morfolino-2-oksoetil)benzamid (NBG-M), *N*-[2-okso-2-(pirolidin-1-il)etil]benzamid (NBG-Piro), *N*-[2-(izopropilamino)-2-oksoetil]benzamid (NBG-Isp), *N*-[2-(dimetilamino)-2-oksoetil]benzamid (NBG-DM), *N*-[2-(fenilamino)-2-oksoetil]tiyofen-2-karboksamid (NTG-A), *N*-[2-okso-2-(piperidin-1-il)etil]tiyofen-2-karboksamid (NTG-P), *N*-(2-morfolino-2-oksoetil)tiyofen-2-karboksamid (NTG-M), *N*-[2-okso-2-(pirolidin-1-il)etil]tiyofen-2-karboksamid (NTG-Piro), *N*-[2-(izopropilamino)-2-oksoetil]tiyofen-2-karboksamid (NTG-Isp), *N*-[2-(dimetilamino)-2-oksoetil]tiyofen-2-karboksamid (NTG-DM), *N*-[2-(fenilamino)-2-oksoetil]nikotinamid (NNG-A), *N*-[2-okso-2-(piperidin-1-il)etil]nikotinamid (NNG-P), *N*-(2-morfolino-2-oksoetil)nikotinamid (NNG-M), *N*-[2-okso-2-(pirolidin-1-il)etil]nikotinamid (NNG-Piro), *N*-[2-(izopropilamino)-2-oksoetil]nikotinamid (NNG-

Isp), *N*-[2-(dimetilamino)-2-oksoetil]nikotinamid (NNG-DM), *N*-[2-(fenilamino)-2-oksoetil]izonikotinamid (NING-A), *N*-[2-okso-2-(piperidin-1-il)etil]izonikotinamid (NING-P), *N*-(2-morfolino-2-oksoetil)izonikotinamid (NING-M), *N*-[2-okso-2-(pirolidin-1-il)etil]izonikotinamid (NING-Piro), *N*-[2-(izopropilamino)-2-oksoetil]izonikotinamid (NING-Isp), *N*-[2-(dimetilamino)-2-oksoetil]izonikotinamid (NING-DM), *N*-[2-(fenilamino)-2-oksoetil]pikolinamid (NPG-A), *N*-[2-okso-2-(piperidin-1-il)etil]pikolinamid (NPG-P), *N*-(2-morfolino-2-oksoetil)pikolinamid (NPG-M), *N*-[2-okso-2-(pirolidin-1-il)etil]pikolinamid (NPG-Piro), *N*-[2-(izopropilamino)-2-oksoetil]pikolinamid (NPG-Isp) ve *N*-[2-(dimetilamino)-2-oksoetil]pikolinamid (NPG-DM) bileşikleri sentez edilmiştir. Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerimizden NBG-A ve NBG-Isp kodlu bileşikler Schwyzer ve arkadaşları tarafından (106), NBG-P kodlu bileşik Thomsen ve arkadaşları tarafından (118), NBG-M ve NBG-DM kodlu bileşikler Haworth ve arkadaşları tarafından (55) ve NNG-Isp kodlu bileşiğimiz Blanco ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir (10). Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerimizden NBG-Piro CAS no:95204-52-7, NTG-A CAS no:932130-00-2, NTG-P CAS no:1002499-52-6, NTG-Piro CAS no:705955-02-8, NTG-Isp CAS no:705954-02-5, NNG-A CAS no:179683-58-0, NNG-Piro CAS no:119755-00-2, NING-A CAS no:179683-59-1, NING-Piro CAS no:1197607-87-6, NPG-A CAS no:179683-57-9, NPG-P CAS no:1223618-35-6 ve NPG-Piro CAS no:1211129-24-6 Chemical Abstract Service(CAS) kayıt numarası ile kayıtlı olup bileşikler hakkında herhangi bir literatür verisi bulunmamaktadır.



**Şema1. Talidomit Üzerinde Yapılan Modifikasyonlar**

## I. SENTEZ ÇALIŞMALARI

Çalışmamızda açilaminoalkanamid türevi olan 2-benzamidoasetamid, 2-(tiyofen-2-karboksamido)asetamid, 2-nikotinamidoasetamid, 2-izonikotinamidoasetamid ve 2-(2-pikolinamido)asetamid türevi bileşikler sentezlendi.

### A. 2-Benzamidoasetamid Türevi Bileşiklerin Sentezi

2-Benzamidoasetamid türevi bileşiklere ait sentez çalışmaları Singh ve arkadaşlarının 1994 yılında yayınladıkları araştırma makalesinde bildirdikleri yöntemler üzerinde değişiklik yapılarak 4 basamakta geliştirildi (112) (Şema 2a).

Birinci basamakta benzoik asit ve tiyonil klorür bileşikleri geri çeviren soğutucu altında reaksiyona tabi tutuldu ve benzoil klorür bileşiği elde edildi (112). İkinci basamakta benzoil klorür ve glisin bileşikleri 2M sodyum hidroksit çözeltisi içerisinde 0-5°C'de reaksiyona tabi tutuldular ve hippürik asit bileşiği elde edildi

(112). Üçüncü basamakta hippürik asit bileşiği derişik sülfürik asitle metanol çözeltisi içerisinde geri çeviren soğutucu altında reaksiyona tabi tutularak metil hippürat bileşiği elde edildi (112). Son basamakta ise metil hippürat bileşiği anilin ve dimetilamin ile direk olarak, morfolin, piperidin, pirolidin ve izopropilamin ile ise metanol çözeltisi içerisinde geri çeviren soğutucu altında reaksiyona tabi tutularak 2-benzamidoasetamit türevi bileşikler elde edildi.

### **B. 2-(Tiyofen-2-Karboksamido)Asetamit Türevi Bileşiklerin Sentezi**

2-(Tiyofen-2-karboksiamido)asetamit türevi bileşiklere ait sentez çalışmaları 2-benzamidoasetamit türevi bileşiklere ait sentez çalışmalarında olduğu gibi Singh ve arkadaşlarının 1994 yılında yayınladıkları araştırma makalesinde bildirdikleri yöntemler üzerinde değişikler yapılarak 4 basamakta gerçekleştirildi (112) (Şema 2a).

Birinci basamakta tiyofen-2-karboksilik asit tiyonil klorür bileşiği ile geri çeviren soğutucu altında reaksiyona tabi tutuldu ve tiyofen-2-karbonil klorür bileşiği elde edildi. İkinci basamakta tiyofen-2-karbonil klorür ve glisin bileşikleri ile 2M sodyum hidroksit çözeltisi içerisinde 0-5°C’de reaksiyona tabi tutuldu ve 2-(tiyofen-2-karboksamido)asetik asit bileşiği elde edildi. Üçüncü basamakta 2-(tiyofen-2-karboksamido)asetik asit bileşiği derişik sülfürik asitle metanol çözeltisi içerisinde geri çeviren soğutucu altında reaksiyona tabi tutularak metil 2-(tiyofen-2-karboksamido)asetat bileşikleri elde edildi. Son basamakta ise metil 2-(tiyofen-2-karboksamido)asetat bileşiği anilin ve dimetilamin ile direk olarak, morfolin, piperidin, pirolidin ve izopropilamin ile ise metanol çözeltisi içerisinde geri çeviren soğutucu altında reaksiyona tabi tutularak 2-(tiyofen-2-karboksamido)asetamit türevi bileşikler elde edildi.

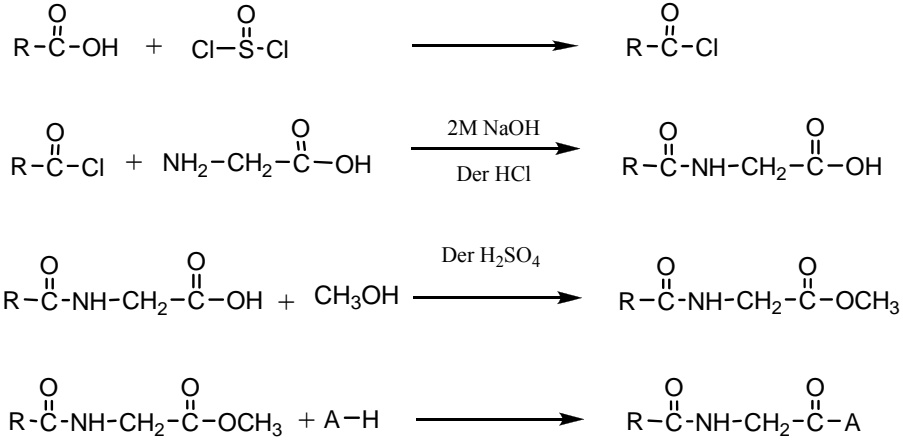


**C. 2-Nikotinamidoasetamit, 2-İzonikotinamidoasetamit ve 2-(2-Pikolinamido)asetamit Türevi Bileşiklerin Sentezi**

2-Nikotinamidoasetamit, 2-izonikotinamidoasetamit ve 2-(2-pikolinamido)asetamit türevi bileşiklere ait sentez çalışmaları Singh ve arkadaşlarının 1994 yılında yayınladıkları araştırma makalesi ile Kurita ve arkadaşlarının 2002 yılında yayınladıkları araştırma makalesinde bildirdikleri yöntemler üzerinde değişiklik yapılarak 4 basamakta gerçekleştirildi (72, 84, 112) (Şema 2b).

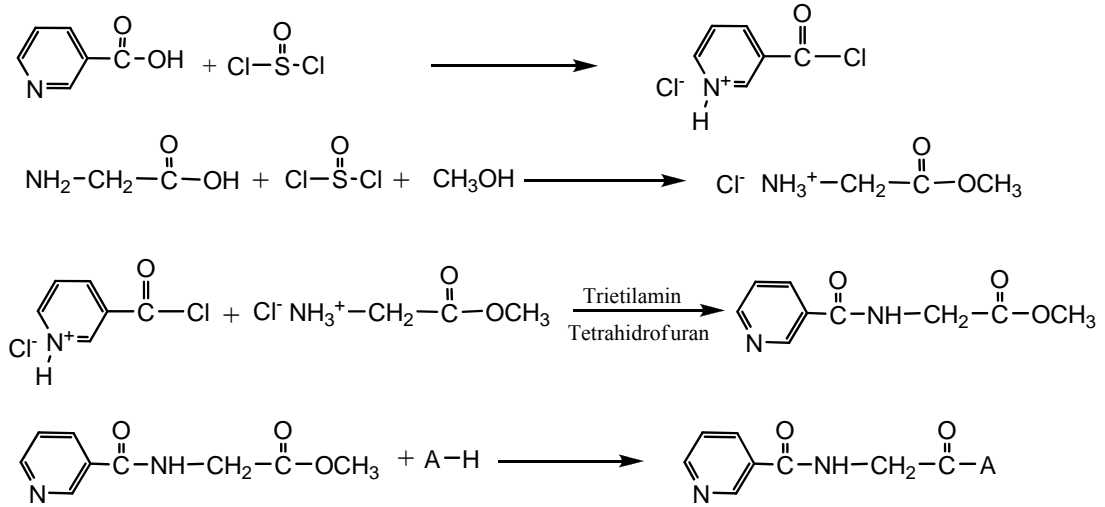
Birinci basamakta nikotinic asit, izonikotinic asit ve 2-pikolik asit bileşikleri tiyonil klorür bileşiği ile geri çeviren soğutucu altında reaksiyona tabi tutuldu ve sırasıyla nikotinoil klorür hidroklorür, izonikotinoil klorür hidroklorür ve 2-pikolinoil klorür hidroklorür bileşikleri elde edildi. İkinci basamakta 2-nikotinamidoasetamit, 2-izonikotinamidoasetamit ve 2-(2-pikolinamido)asetamit türevi bileşiklerin sentezlerinin üçüncü basamağında kullanılması amacıyla glisin ve tiyonil klorür bileşikleri metanol çözeltisi içerisinde geri çeviren soğutucu altında reaksiyona tabi tutularak metil glisinat hidroklorür bileşiği elde edildi (49, 112). Üçüncü basamakta nikotinoil klorür hidroklorür, izonikotinoil klorür hidroklorür ve 2-pikolinoil klorür hidroklorür bileşikleri metil glisinat hidroklorür bileşiği ile trietilamin varlığında tetrahidrofuran çözeltisi içerisinde önce 0-5°C derecede sonrasında ise oda sıcaklığında karıştırılarak sırasıyla metil 2-nikotinamidoasetat, metil 2-izonikotinamidoasetat ve metil 2-(2-pikolinamido)asetat bileşikleri elde edildi (72). Son basamakta ise metil 2-nikotinamidoasetat, metil 2-izonikotinamidoasetat ve metil 2-(2-pikolinamino)asetat bileşikleri anilin ve dimetilamin ile direk olarak, morfolin, piperidin, pirolidin ve izopropilamin ile ise metanol çözeltisi içerisinde geri

çeviren soğutucu altında reaksiyona tabi tutularak 2-nikotinamidoasetamit, 2-izonikotinamidoasetamit ve 2-(2-pikolinamido)asetamit türevi bileşikler elde edildi.

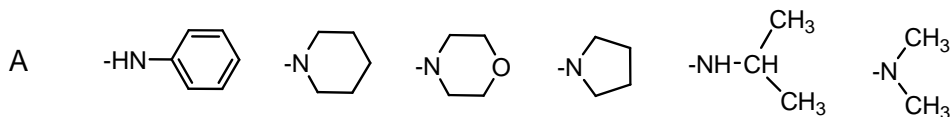


R: Fenil, 2-tiyenil

a



b



**Şema 2. 2-Benzamidoasetamit, 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamit, 2-Nikotinamidoasetamit, 2-İzonikotinamidoasetamit ve 2-(2-Pikolinamido)asetamit Türevi Bileşiklerin Sentez Basamakları**

## II. SPEKTRAL BULGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Sentezlenen bileşiklerin yapılarının belirlenmesinde UV, IR, <sup>1</sup>H NMR ve Kütle spektroskopisi yöntemleri ile elementel analiz yöntemi kullanıldı.

### A. UV Bulgularının Değerlendirilmesi

Benzen halkası 3 adet absorpsiyon bandına sahiptir. Bu bandlar 184 nm, 204 nm ve 256nm görülmektedirler. Bu bandlar aromatik halkaların karakteristik özelliği olarak  $\pi-\pi^*$  geçişlerinden kaynaklanan E ve B bantlarıdır. Benzen halkasının kromofor özelliğe sahip gruplarla konjuge olacak şekilde süstitüsüonu sonrasında B bandlarında batokromik kayma ve 200–250 nm arasında ise  $\pi-\pi^*$  geçişlerinden kaynaklanan K bandları ortaya çıkmaktadır. Altı üyeli heterosiklik piridin halkasının spektrumları da benzen halkasının spektrumlarına benzemektedir. 257 nm’de piridin halkasına ait B bantları görülmektedir. Oksokromik süstitüsyon sonucunda 260 nm civarlarında batokromik kayma etkisiyle bandlar görülmektedir. Beş üyeli heterosiklik halka sistemlerinde ise kuvvetli dien absorpsiyonundan dolayı 200 nm yakınlarında kuvvetli ve 238 nm yakınlarında ise orta şiddette band görülmektedir. 200 nm civarlarındaki bandlar benzen halkasında E bantlarına benzer karakterdedir. Aromatik karakteri yüksek olan tiyofen halkasında 230 nm civarında kuvvetli bir band görülmektedir. Tiyofen halkasının kromoforik bir grupla yaptığı konjuge süstitüsyon sonucuna batokromik kayma görülmekte ve 249 nm civarında bir bandı oluşmaktadır (110).

Hedeflediğimiz bileşikler olan açilaminoalkanamit türevlerinin yakın UV alanda beklenen absorpsiyonları genel olarak karbonil ve aromatik halka kromoforları ile bu kromoforların oluşturdukları konjuge kromoforlardan kaynaklanmaktadır. Aromatik halkaların karakteristik özelliği olarak  $\pi-\pi^*$

geçişlerinden kaynaklanan E ve B bantlarının yanı sıra kromoforik substitüsyona sahip benzen, 2, 3, 4. konumlarından, süstitüe piridin halkası ve 2 konumundan süstitüe tiyofen halkasından kaynaklanan  $\pi$ - $\pi^*$  geçişinin sebep olduğu K bantları bileşiklerimizin absorpsiyon maksimumlarını oluşturmaktadır.

Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin UV maksimumları beklenen değerlere uygun sonuçlar vermiştir. Bileşiklerimizde aromatik halka sistemlerine ait E bantları 203-207 nm arasında tespit edilmiş, konjuge kromoforların varlığını belirleyen ve bileşiklerin spektrumlarında şiddetli bir şekilde görülen K bantları ise 200–250 nm arasında görülmüştür. Piridin halkasına ait B bandları 257 nm civarlarında ve piridin halkasının süstitüsyonu sonucunda oluşan bandlar 265 nm civarlarında belirlenmiştir.

## **B. IR Bulguların Değerlendirilmesi**

Çalışmamız kapsamında sentezlediğimiz 30 adet bileşiğin tamamının IR spektrumu katı fazda potasyum bromür pellet içerisinde alındı. Bileşiklerimizde amidoamit yapısı bulunması sebebiyle bileşiklerin IR spektrumlarında bu yapıya ait N-H ve karbonil gerilmelerine ait bantlar görülmesi beklenmektedir.

NBG-A kodlu bileşiğimizde benzen halkası, NBG-M, NBG-P, NBG-Piro, NBG-Isp ve NBG-DM kodlu bileşiklerimizde benzen halkası ile siklik ve asiklik alkil grupları bulunmaktadır. Bu serideki bileşiklerin IR spektrumlarında benzen halkasına ait aromatik C-H gerilmeleri ve düzlem dışı C-H eğilimleri ile siklik ve asiklik alkil gruplarına ait C-H gerilmelerine ait bantların görülmesi beklenmektedir.

NTG-A kodlu bileşiğimizde tiyofen ve benzen halkası, NTG-M, NTG-P, NTG-Piro, NTG-Isp ve NTG-DM kodlu bileşiklerimizde tiyofen halkası ile siklik ve asiklik alkil grupları bulunmaktadır. NTG-A kodlu bileşiğin IR spektrumlarında

benzen halkasına ait aromatik C-H gerilmeleri ve düzlem dışı C-H eğilimleri, tiyofen halkasına ait =C-H gerilmeleri ve düzlem dışı C-H eğilimleri, serideki diğer bileşiklerde tiyofen halkasına ait =C-H gerilmeleri ve düzlem dışı C-H eğilimleri ile siklik ve asiklik alkil gruplarına ait C-H gerilmelerine ait bantların görülmesi beklenmektedir.

NNG-A, NING-A ve NPG-A kodlu bileşimizde piridin ve benzen halkası, NNG-M, NNG-P, NNG-Piro, NNG-Isp, NNG-DM, NING-M, NING-P, NING-Piro, NING-Isp, NING-DM, NPG-M, NPG-P, NPG-Piro, NPG-Isp ve NPG-DM kodlu bileşiklerimizde piridin halkası ile siklik ve asiklik alkil grupları bulunmaktadır. NNG-A, NING-A ve NPG-A kodlu bileşiklerin IR spektrumlarında benzen ve piridin halkasına ait aromatik C-H gerilmeleri ve düzlem dışı C-H eğilimleri, piridin halkası bulunduran diğer bileşiklerde ise piridin halkasına ait aromatik C-H gerilmeleri, düzlem dışı C-H eğilimleri ve C=N gerilmeleri ile siklik ve asiklik alkil gruplarına ait C-H gerilmelerine ait bantların görülmesi beklenmektedir.

Sekonder amitlerin katı fazda alınan spektrumlarında N-H gerilmeleri 3460-3060  $\text{cm}^{-1}$  arasında çoklu bantlar halinde izlenmektedir. Sekonder amitlerin karbonil gerilmeleri ise katı fazda 1640  $\text{cm}^{-1}$  civarında görülmektedir (56). Tersiyer amittlere ait karbonil gerilmeleri ise fiziksel özelliklerden bağımsız olarak 1680-1630  $\text{cm}^{-1}$  arasında görülmektedir (56, 111). Benzen halkasına ait aromatik C-H gerilmeleri 3100-3000  $\text{cm}^{-1}$  arasında piridin halkasına ait aromatik C-H gerilmeleri 3090-3000  $\text{cm}^{-1}$  arasında ve tiyofen halkasına ait C-H gerilmeleri 3077-3003  $\text{cm}^{-1}$  arasında görülmektedir. Benzen halkasına ait düzlem dışı C-H eğilimleri 900-675  $\text{cm}^{-1}$  arasında, piridin halkasına ait düzlem dışı C-H eğilimleri 820-740  $\text{cm}^{-1}$  arasında ve tiyofen halkasına ait düzlem dışı C-H eğilimleri 925-755  $\text{cm}^{-1}$  arasında

görülmektedir. Piridin halkasına ait C=N gerilmesi ise 1600–1430  $\text{cm}^{-1}$  arasında görüldüğü belirtilmektedir (108).

Bileşiklerimizin tamamında amidoamit yapısı bulunması sebebiyle bu yapıya ait N-H ve karbonil gerilmelerine ait bantlar bileşiklerin IR spektrumlarında görülmektedir. Çalışmamız kapsamında sentezlediğimiz NBG-A, NTG-A, NNG-A, NING-A, NPG-A, NBG-Isp, NTG-Isp, NNG-Isp, NING-Isp ve NPG-Isp kodlu bileşiklerde sekonder amit işlevsel grubu, diğer bileşiklerde ise sekonder amit işlevsel grubunun yanı sıra tersiyer amit işlevsel grubu mevcuttur. Bileşiklerimizin IR spektrumları incelendiğinde N-H bağ gerilmelerine ait bantlar 3400-3200  $\text{cm}^{-1}$  arasında tespit edilmiştir. Karbonil gerilme bölgesinde ise bantlar, bileşiklerimizdeki benzamit yapısı taşıyan türevlerde 1646-1633  $\text{cm}^{-1}$ , tiyofen-2-karbosilik asit amiti yapısı taşıyan türevlerde 1643-1623  $\text{cm}^{-1}$ , nikotinamit yapısı taşıyan türevlerde 1655-1633  $\text{cm}^{-1}$ , izonikotinamit yapısı taşıyan türevlerde 1654-1627  $\text{cm}^{-1}$  ve 2-pikolinamit yapısı taşıyan türevlerde 1675-1633  $\text{cm}^{-1}$  arasında belirlenmiştir. Bileşiklerimizde anilit yapısı taşıyan türevlerde karbonil gruplarına ait olan bantlar 1681-1655  $\text{cm}^{-1}$ , izopropilamit yapısı taşıyan türevlerin karbonil gruplarına ait olan bantlar 1658-1641  $\text{cm}^{-1}$  ve dimetilamit yapısı taşıyan türevlerin karbonil gruplarına ait olan bantlar 1677-1643  $\text{cm}^{-1}$ , amit azotunu halka içinde taşıyan piperidin türevlerinin karbonil gruplarına ait olan bantlar 1671-1635  $\text{cm}^{-1}$ , morfolin türevlerinin karbonil gruplarına ait olan bantlar 1675-1641  $\text{cm}^{-1}$  ve pirolidin türevlerinin karbonil gruplarına ait olan bantlar 1675-1631  $\text{cm}^{-1}$  arasında tespit edilmiştir. Bileşiklerimize ait amit II bandları 1600-1500  $\text{cm}^{-1}$  arasında belirlenmiştir. Piridin halkası içeren bileşiklerimizde halkaya ait C=N gerilmesi bandları ise 1600  $\text{cm}^{-1}$  civarlarında tespit edilmiştir. Bileşiklere ait aromatik C-H gerilmeleri 3100–3000  $\text{cm}^{-1}$  arasında ve aromatik halka sistemlerine ait düzlem dışı C-H eğilimleri 800–675  $\text{cm}^{-1}$  arasında belirlenmiştir.

## C. <sup>1</sup>H NMR Bulgularının Değerlendirilmesi

Çalışmamızda sentezlenen bileşiklerin <sup>1</sup>H NMR bulguları, 2-benzamidoasetamit türevi, 2-(tiyofen-2-karboksamido)asetamit türevi, 2-nikotinamidoasetamit türevi, 2-izonikotinamidoasetamit türevi ve 2-(2-pikolinamido)asetamit türevi bileşiklerin <sup>1</sup>H NMR bulguları başlıkları altında değerlendirilecektir.

### 1. 2-Benzamidoasetamit Türevi Bileşiklerin <sup>1</sup>H NMR Bulgularının Değerlendirilmesi

2-Benzamidoasetamit türevi NBG-A, NBG-P, NBG-M, NBG-Piro, NBG-Isp ve NBG-DM kodlu bileşikler benzamit yapısına sahip olan bir seri bileşiktir. Bu seriye ait bileşiklerin <sup>1</sup>H NMR spektrumları CDCl<sub>3</sub> çözgeninde alınmıştır. Bu seriye ait bileşiklerde benzamit yapısında bulunan fenil halkasının amit sübstitüentine göre orto ve para konumlarında bulunan protonların meta konumunda bulunan protonlardan daha aşağı alanda sinyaller vermesi beklenmektedir. Bunun sebebi ise konjuge amit sübstitüentinin halka ile rezonansa girmesi sonucunda halkada meta konumunda bulunan protonlar daha fazla gölgelenmektedir (56). Bu sebepten dolayı halkada bulunan protonların konumlarının yukarı alandan aşağı alana göre sırasıyla proton numaraları 3, 5 > 4 > 2, 6 şeklinde olması beklenmektedir. Bileşiklerin asetamit yapısında bulunan metilen protonlarının, komşu benzamitin azotu üzerinde bulunan protonla aralarındaki spin spin etkileşmesi sonucunda spektrumun yukarı alanında  $\delta$  4 civarlarında iki protona karşılık gelen bir dublet sinyal vermesi beklenmektedir (111). Benzamit yapısının azotu üzerindeki protonun, komşu karbon üzerindeki protonlarla etkileşmesi ve bunun sonucunda protonun orta hızlı değişim gerçekleştirmesi beklendiğinden dolayı spektrumda azot protonuna ait  $\delta$  5-8

aralığında geniş bir singlet sinyalin olması beklenmektedir (111). Asetamit grubunun azotu üzerinde bulunan metil ve izopropil sübstitüentelerine ait protonlar ve amit azotun halka içerisinde bulunduğu piperidin, morfolin ve pirolidin halkalarına ait protonların spektrumun alifatik alanında ve amit grubunun azotu üzerinde bulunan fenil sübstitüentine ait protonların ise spektrumun aromatik alanında sinyal vermesi beklenmektedir. Anilit grubunu oluşturan fenil halkası üzerinde AA'BB'C sistemine uygun bir sinyal dizilimi ve halkada bulunan protonların konumlarının yukarı alandan aşağı alana göre sırasıyla proton numaraları 4 >3, 5 >2, 6 şeklinde olması beklenmektedir (56, 111). *N*-fenilsübstitüe amitlerde azot üzerinde bulunan protonun  $\delta$  8.5 civarlarında geniş bir singlet sinyal vermesi beklenmektedir (111).

Bu seriye ait NBG-P molekülünün  $^1\text{H}$  NMR spektrumunu değerlendirdiğimizde aromatik alanda benzamit yapısında bulunan fenil grubu üzerinde 3 ve 5 konumunda  $\delta$  7.46-7.42'de iki protona karşılık gelen integrasyon değerine sahip bir multipler sinyal,  $\delta$  7.52-7.48'de ise halkanın 4 konumundaki protona ait bir protonluk bir multipler sinyal ve fenil halkası üzerinde 2 ve 6 konumlarında bulunan protonlara ait  $\delta$  7.86-7.84'de iki protona karşılık gelen integrasyon değerine sahip bir multipler sinyal tespit edilmiştir. Serideki diğer bileşiklerin benzen halkası üzerindeki protonlara ait sinyallerin, NBG-P bileşiğinin benzen halkası üzerindeki protonların verdikleri sinyaller ile benzer oldukları tespit edilmiştir.

NBG-P molekülünde  $^1\text{H}$  NMR spektrumunun alifatik alanında piperidin halkası üzerinde bulunan protonlara ait sinyaller belirlenmiştir.  $\delta$ 1.62-1.54'de piperidin halkasının 3 ve 5 konumunda bulunan protonlara ait dört protona karşılık gelen integrasyon değerine sahip bir multipler sinyal,  $\delta$ 1.71-1.66'da ise piperidin halkasının 4 konumunda bulunan protonlara ait iki protona karşılık gelen integrasyon



değerine sahip bir multipler sinyal belirlenmiştir.  $\delta$  3.40'da ve  $\delta$  3.62'de  $J$  değeri 5.5 olan ikişer protona karşılık gelen integrasyon değerine sahip iki triplet sinyal mevcuttur. Bu iki sinyal piperidin halkası üzerinde bulunan 2 ve 6 konumundaki protonlara ait olup molekülün yapısının aydınlatılmasında ileri NMR teknikleri kullanılmadığından bu iki konumda bulunan protonlara ait kimyasal kayma değerlerine değişebilir değerler olarak rapor edilmiştir. Bileşikte asetamit yapısında bulunan metilene ait protonlar  $\delta$  4.24'de  $J$  değeri 3.5 olan iki protona karşılık gelen bir dublet sinyal vermiştir. NBG-P bileşiğinde  $\delta$  7.38'de moleküldeki benzamit yapısına ait N-H protonu geniş bir singlet halinde izlenmiştir.

Bu seriye ait NBG-A molekülün  $^1\text{H}$  NMR spektrumunu değerlendirdiğimizde anilit grubuna ait fenil halkasının 4 konumundaki proton  $\delta$  7.12'de orto bölünme sebebiyle  $J$  değeri 7.4 olan bir protona karşılık gelen bir triplet sinyal, aynı halka üzerinde 3 ve 5 konumunda bulunan protonlar  $\delta$  7.46'da orto bölünme sebebiyle  $J$  değeri 7.4 olan iki protona karşılık gelen bir triplet sinyal vermiştir. Anilit yapısına ait fenil halkası üzerinde 2 ve 6 konumunda bulunan protonlar ile benzamit grubuna ait fenil halkası üzerinde 4 konumunda bulunan proton  $\delta$  7.58-7.53'de integrasyon değeri üç protona eşdeğer bir multipler sinyal vermiştir.  $\delta$  8.80'de anilit grubu üzerindeki N-H geniş bir singlet sinyal vermiştir.

NBG-M bileşiğinin  $^1\text{H}$  NMR spektrumunu değerlendirdiğimizde  $\delta$  3.50-3.47'de morfolin halkasının 2 veya 6 konumunda bulunan protonlara ait iki protona eş integrasyon değerine sahip bir multipler sinyal mevcuttur.  $\delta$  3.74-3.68'de morfolin halkasının 3 ve 5 konumunda bulunan protonlar ile 2 veya 6 konumunda bulunan protonlara ait, altı protona karşılık gelen integrasyon değerine sahip bir multipler sinyal bulunmuştur.

NBG-Piro kodlu bileşiminin  $^1\text{H}$  NMR spektrumunda pirolidin halkası üzerinde AA'XX' halka sistemine ait sinyaller beklenmesine rağmen  $\delta$  1.96-1.89'da pirolidin halkasının 3 veya 4 konumunda bulunan protonlara ait iki protona eş integrasyon değerine sahip bir multipler sinyal, aynı halka üzerinde  $\delta$  2.07-2.01'de halkanın 3 veya 4 konumunda bulunan protonlara ait iki protona karşılık gelen integrasyon değerine sahip başka bir multipler sinyal bulunmuştur. Bu iki konum üzerinde bulunan protonlar değişebilir kimyasal kayma değerine sahip protonlar olarak rapor edilmiştir. Söz konusu durum aynı halkanın 2 ve 5 konumundaki metilen gruplarında bulunan protonlar içinde geçerlidir.  $\delta$  3.47'de  $J$  değeri 6.8 olan iki protona karşılık gelen bir triplet sinyal ve  $\delta$  3.53'de  $J$  değeri 6.8 olan iki protona karşılık gelen başka bir triplet sinyal tespit edilmiştir.

NBG-Isp kodlu bileşiminin spektrumunda  $\delta$  1.20'de izopropilamit yapısına ait metil grupları  $J$  değeri 6.6 olan altı protonluk integrasyon değerine sahip bir dublet sinyal vermiştir. İzopropilamit yapısında bulunan metil grubuna ait protonun ise  $\delta$  4.10-4.07'de bir protonluk bir multipler sinyali mevcuttur. İzopropilamit yapısına ait N-H protonu  $\delta$  6.54'de  $J$  değeri 6.6 olan bir protonluk bir dublet sinyal vermiştir.

NBG-DM kodlu bileşiminin spektrumunda dimetilamit yapısında bulunan metil gruplarına ait protonlar azot atomunun gölgelememe etkisi sebebiyle  $\delta$  3.04'de protonlar arasındaki visinal ve geminal bölünmelerden dolayı  $J$  değerleri 7.8 ve 5.1 olan altı protona karşılık gelen bir dublet dublet sinyal vermiştir.

## **2. 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamit Türevi Bileşiklerin $^1\text{H}$ NMR Bulgularının Değerlendirilmesi**

2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamit türevi NTG-A, NTG-P, NTG-M, NTG-Piro, NTG-Isp ve NTG-DM kodlu bileşikler tiyofen-2-karboksilik asit amiti yapısına

sahip olan bir seri bileşiktir. Bu seriye ait bileşiklerin  $^1\text{H}$  NMR spektrumları NTG-A ve NTG-Isp kodlu bileşikler için DMSO- $d_6$  çözügeninde, seriye ait diğer bileşikler içinse  $\text{CDCl}_3$  çözügeninde alınmıştır. Tiyofen-2-karboksilik asit amit yapılarında bulunan tiyofen halkasına süstitüe konjuge amit grubunun halka içindeki rezonansa etkisi ve tiyofen halkasında görülen anizotropik etki sebebiyle halkanın 4 konumunda bulunan protonun 3 ve 5 konumunda bulunan protonlara göre gölgeleme etkisine daha fazla maruz kalması ve bu nedenle daha yukarı alanda sinyal vermesi beklenmektedir (56). Tiyofen halkasında bulunan protonların konumlarının yukarı alandan aşağı alana göre sırasıyla proton numaraları  $4 > 5 > 3$  şeklinde olması beklenmektedir. Bileşiklerin asetamit yapılarında bulunan metilen grubu üzerindeki protonların, komşu tiyofen-2-karboksilik asit amitinin azotu üzerinde bulunan protonla aralarındaki spin spin etkileşmesi sonucunda spektrumun yukarı alanında  $\delta$  4 civarlarında iki protona karşılık gelen bir dublet sinyal vermesi beklenmektedir (111). Azot üzerindeki protonun, komşu karbon üzerindeki protonlarla etkileşmesi ve bunun sonucunda protonun orta hızlı değişim gerçekleştirmesi beklendiğinden dolayı spektrumda azot protonuna ait  $\delta$  5-8 aralığında geniş bir singlet sinyalin olması beklenmektedir. Asetamit grubunun azotu üzerinde bulunan metil ve izopropil süstitüentelerine ait protonlar ve amit azotun halka içerisinde bulunduğu piperidin, morfolin ve pirolidin halkalarına ait protonların spektrumun alifatik alanında ve amit grubunun azotu üzerinde bulunan fenil süstitüentine ait protonların ise spektrumun aromatik alanında sinyal vermesi beklenmektedir. Anilit grubunu oluşturan fenil halkası üzerinde  $\text{AA}'\text{BB}'\text{C}$  sistemine uygun bir sinyal dizilimi ve halkada bulunan protonların konumlarının yukarı alandan aşağı alana göre sırasıyla proton numaraları  $4 > 3, 5 > 2, 6$  şeklinde olması beklenmektedir (56, 111). *N*-fenilsüstitüe amitlerde

azot üzerinde bulunan protonun  $\delta$  8.5 civarlarında geniş bir singlet sinyal vermesi beklenmektedir (111).

Bu seriye ait NTG-P bileşiğinin  $^1\text{H}$  NMR spektrumunu incelediğimizde tiyofen halkası üzerinde 4 konumunda bulunan proton,  $\delta$  7.08'de 5 konumunda bulunan protonla spin spin etkileşmesi nedeniyle  $J$  değeri 5.1 ve 3 konumunda bulunan protonla spin spin etkileşmesi nedeniyle  $J$  değeri 3.9 olan bir protonluk bir dublet dublet sinyal vermiştir. 5 konumunda bulunan proton  $\delta$  7.48'de 4 konumunda bulunan protonla  $J$  değeri 5.1 ve 3 konumunda bulunan protonla spin spin etkileşmesi nedeniyle  $J$  değeri 1.2 olan bir protonluk bir dublet dublet sinyal vermiştir. 3 konumunda bulunan proton  $\delta$  7.58'de 4 konumunda bulunan protonla  $J$  değeri 3.9 olan ve 5 konumunda bulunan protonla  $J$  değeri 1.2 olan bir protonluk bir dublet dublet sinyal vermiktir. Serideki diğer bileşiklerin tiyofen halkası üzerinde bulunan protonlarının sinyallerini incelediğimizde NTG-P bileşiğinin tiyofen halkası üzerindeki protonların verdikleri sinyaller ile benzer oldukları tespit edilmiştir.

NTG-P bileşiğinde tiyofen-2-karboksilik asit amiti yapısına ait N-H protonu  $\delta$  7.23'de geniş bir singlet sinyali vermiştir. Bileşikte asetamit yapısında bulunan metilen üzerindeki protonlar  $\delta$  4.21'de  $J$  değeri 3.9 olan iki protona karşılık gelen bir dublet sinyal vermiştir. Serideki NTG-M, NTG-Piro ve NTG-DM kodlu bileşiklerin  $\delta$  7.13-7.17 arasında tiyofen-2-karboksilik asit amiti yapısına ait N-H protonları geniş bir singlet sinyal, NTG-A ve NTG-Isp kodlu bileşiklerin aynı yapıya ait N-H protonları sırasıyla  $\delta$  8.83 ve  $\delta$  8.62'de  $J$  değerleri 5.9 olan triplet sinyaller vermiştir.

NTG-P bileşiğinde piperidin halkasında  $\delta$ 1.72-1.54'de halkanın 3, 4 ve 5 konumunda bulunan protonlara ait altı protona eş integrasyon değerine sahip bir multipler sinyal mevcuttur.  $\delta$  3.39'da  $J$  değeri 5.5 olan metilen grubunun ikişer protonuna karşılık gelen integrasyon değerine sahip bir triplet sinyal mevcuttur. Bu

sinyal piperidin halkası üzerinde bulunan 2 veya 6 konumundaki protonlara ait olup bu iki konumda bulunan protonlar için kimyasal kayma değerleri değişebilir değerlerdir.  $\delta$  3.63-3.60'da piperidin halkası üzerinde bulunan 2 veya 6 konumundaki protonlara ait iki protona karşılık bir multipleret sinyal mevcuttur.

NTG-A bileşiminde fenil halkasının 4 konumundaki proton  $\delta$  7.05'de orto bölünme sebebiyle  $J$  değeri 7.4 olan bir protona karşılık gelen bir triplet sinyal vermiştir. Yine aynı halka üzerinde 3 ve 5 konumunda bulunan protonların  $\delta$  7.31'de orto bölünme sebebiyle  $J$  değeri 7.8 olan iki protona karşılık gelen bir triplet sinyali mevcuttur. Anilit gruba ait fenil halkası üzerinde 2 ve 6 konumunda bulunan protonlar  $\delta$  7.60'da orto bölünme sebebiyle  $J$  değeri 7.8 olan iki protona eşdeğer bir dublet sinyal vermiştir. Anilit grubu üzerindeki N-H protonu  $\delta$  10.03'de geniş bir singlet sinyal vermiştir.

NTG-M kodlu bileşimimizin  $^1\text{H}$  NMR spektrumunda morfolin halkasına ait 2, 3, 5 ve 6 konumunda bulunan protonların  $\delta$  3.48-3.46'de iki protonluk bir multipleret sinyal ve  $\delta$  3.73-3.68'de altı protonluk bir multipleret sinyalli mevcuttur.

NTG-Piro kodlu bileşimimizin  $^1\text{H}$  NMR spektrumunda piroolidin halkası üzerinde  $\delta$  1.95-1.88'de halkanın 3 veya 4 konumunda bulunan protonlara ait iki protona eş integrasyon değerine sahip bir multipleret sinyal, aynı halka üzerinde  $\delta$  2.06-1.98'de halkanın 3 veya 4 konumunda bulunan protonlara ait iki protona karşılık gelen integrasyon değerine sahip başka bir multipleret sinyal bulunmuştur. Aynı halkanın 2 ve 5 konumundaki metilen grupları içinde  $\delta$  3.46-3.42'de iki protona karşılık gelen bir multipleret sinyal ve  $\delta$  3.54'de  $J$  değeri 7.0 olan iki protona karşılık gelen bir triplet sinyal mevcuttur. 3 ve 4 konumunda bulunan protonlarla 2 ve 5 konumunda bulunan protonlar değişebilir kimyasal kayma değerine sahiptir.

NTG-Isp kodlu bileşiğin  $^1\text{H}$  NMR spektrumunda  $\delta$  1.05'te izopropilamit yapısına ait metil gruplarına ait protonlar  $J$  değeri 6.6 olan altı protonluk integrasyon değerine sahip bir dublet sinyal vermiştir. İzopropilamit yapısında bulunan metin grubunun ise  $\delta$  3.87-3.81'de bir protonluk bir multipler sinyal mevcuttur. İzopropilamit yapısına ait N-H protonu  $\delta$  7.74-7.73'de tiyofen halkasının 5 konumundaki protonu ile iki protona karşılık gelen integrasyon değerine sahip bir multipler sinyal vermiştir.

NTG-DM kodlu bileşiğin  $^1\text{H}$  NMR spektrumunda dimetilamit yapısında bulunan metil gruplarına ait protonlar azot atomunun gölgeleme etkisi sebebiyle  $\delta$  3.03'de altı protona karşılık gelen bir singlet sinyal vermiştir.

### **3. 2-Nikotinamidoasetamit Türevi Bileşiklerin $^1\text{H}$ NMR Bulgularının Değerlendirilmesi**

2-Nikotinamidoasetamit türevi NNG-A, NNG-P, NNG-M, NNG-Piro, NNG-Isp ve NNG-DM kodlu bileşiklerin bulunduğu seride  $^1\text{H}$  NMR spektrumları NNG-A bileşiği için DMSO- $d_6$  çözgeninde, diğer bileşikler için  $\text{CDCl}_3$  çözgeninde alınmıştır. Nikotinamit yapısında bulunan piridin halkasına konjuge amit süstitüentinin rezonans etkisi nedeniyle halkanın 2, 4 ve 6 konumundaki protonlar gölgeleme etkisine 5 konumunda bulunan protona göre daha az maruz kaldıklarından daha aşağı alanda sinyaller vermektedir. Aynı zamanda piridin halkasında 2, 4 ve 6 konumunda bulunan protonlar anizotropi etkisi nedeniyle 5 konumundaki protona göre daha az korunurlar. Bu nedenden dolayı piridin halkasında yukarı alandan aşağı alana doğru protonların konumları sırasıyla  $5 > 4 > 6 > 2$  şeklinde olması beklenmektedir (56). Bileşiklerin asetamit yapısında bulunan metilen grubu üzerindeki protonların, nikotinamit yapısındaki amit azotu üzerindeki protonun ve asetamit grubunun azotu

üzerinde bulunan metil ve izopropil sübstitüentelerine ait protonlar ve amit azotun halka içerisinde bulunduğu piperidin, morfolin ve pirolidin halkalarına ait protonların ve amit grubunun azotu üzerinde bulunan fenil sübstitüentine ait protonların  $^1\text{H}$  NMR bulgularının 2-benzamidoasetamit türevi ve 2-(tiyofen-2-karboksamido)asetamit türevi bileşiklerin  $^1\text{H}$  NMR bulguları ile benzer olması beklenmektedir.

NNG-P bileşiğinde piridin halkası üzerinde  $\delta$  7.40'da halkanın 5 konumunda bulunan proton 4 konumunda bulunan protonla spin spin etkileşmesi nedeniyle  $J$  değeri 7.8 ve 6 konumunda bulunan protonla spin spin etkileşmesi nedeniyle 4.7 olan bir dublet dublet sinyal vermiştir. Piridin halkasının 4 konumunda bulunan proton  $\delta$  8.15'de 5 konumunda bulunan protonla spin spin etkileşmesi nedeniyle  $J$  değeri 7.8 olan bir dublet sinyal vermiştir.  $\delta$  8.74'te piridin halkasının 6 konumunda bulunan proton 5 konumunda bulunan protonla spin spin etkileşmesi nedeniyle  $J$  değeri 4.7 olan bir dublet sinyal ve  $\delta$  9.09'da piridin halkasının 2 konumundaki proton bir bir singlet sinyal vermiştir. Seride bulunan diğer bileşiklerin piridin halkası üzerindeki protonların  $^1\text{H}$  NMR bulguları NNG-P bileşiğin  $^1\text{H}$  NMR bulguları ile benzerlik göstermiştir. NNG-P bileşiğinde asetamit yapısında bulunan metilen grubuna ait protonlar  $J$  değeri 3.5 olan  $\delta$  4.24'te iki protona karşılık gelen bir dublet sinyal vermiştir.  $\delta$  7.46'da moleküldeki nikotinamit yapısına ait N-H geniş bir singlet sinyal vermiştir. Serideki diğer bileşiklerin nikotinamit yapısına ait N-H protonu  $\delta$  7.36-7.46 arasında geniş bir singlet sinyal ile NNG-A kodlu bileşiğin aynı yapıya ait N-H protonu  $\delta$  9.02'de  $J$  değeri 5.9 olan triplet sinyal vermiştir.

NNG-P kodlu bileşikte piperidin halkasında  $\delta$ 1.61'de halkanın 3 ve 5 konumunda bulunan protonlara ait  $J$  değeri 5.1 olan dört protona eş integrasyon değerine sahip bir triplet sinyal ve  $\delta$ 1.70-1.69'da halkanın 4 konumunda bulunan

protonlara ait iki protonluk bir multipler sinyal mevcuttur.  $\delta$  3.42-3.39'da 2 veya 6 konumundaki protonlara ait ikişer protonuna karşılık gelen integrasyon değerine sahip bir multipler sinyal ve  $\delta$  3.62'de piperidin halkası üzerinde bulunan 2 veya 6 konumundaki protonlara ait  $J$  değeri 5.5 olan iki protona karşılık bir triplet sinyal tespit edilmiştir. Bu iki konumda bulunan protonlar için kimyasal kayma değerleri değişebilir değerlerdir.

NNG-A kodlu bileşikte fenil halkasının 4 konumundaki proton  $\delta$  7.05-7.01'de bir protona karşılık gelen integrasyon değerine sahip bir multipler sinyal, 3 ve 5 konumunda bulunan protonlar  $\delta$  7.31-7.27'de iki protona karşılık gelen integrasyon değerine sahip bir multipler sinyal, halkanın 2 ve 6 konumunda bulunan protonlar  $\delta$  7.59-7.57'de integrasyon değeri iki protona eşdeğer bir multipler sinyal vermiştir.  $\delta$  10.02'de ise anilit grubu üzerindeki N-H protonuna ait geniş bir singlet sinyal mevcuttur.

NNG-M kodlu bileşigimizin  $^1\text{H}$  NMR spektrumunda morfolin halkasına ait 2, 3, 5 ve 6 konumunda bulunan protonların  $\delta$  3.49'da  $J$  değeri 4.7 olan iki protona karşılık gelen bir triplet sinyal ve  $\delta$  3.72-3.68'de altı protonluk bir multipler sinyal mevcuttur.

NNG-Piro kodlu bileşigin  $^1\text{H}$  NMR spektrumunda pirolidin halkası üzerinde 3 ve 4 konumunda bulunan protonlara ait  $\delta$  1.95-1.88'de ve  $\delta$  2.07-2.00'da iki protona karşılık gelen iki multipler sinyal bulunmuştur. Bu iki konum üzerinde bulunan protonlar değişebilir kimyasal kayma değerine sahip protonlar olarak rapor edilmiştir. Aynı halkanın 2 ve 5 konumundaki metilen grupları içinde  $\delta$  3.47-3.44'de iki protona karşılık gelen bir multipler sinyal ve  $\delta$  3.56-3.53'de iki protona karşılık gelen bir multipler sinyal mevcuttur. Bu iki konumdaki protonlar da değişebilir kimyasal kayma değerine sahip protonlar olarak rapor edilmiştir..



NNG Isp kodlu bileşiğin spektrumunda  $\delta$  1.20'de izopropilamit yapısına ait metil grupları  $J$  değeri 6.6 olan altı protonluk integrasyon değerine sahip bir dublet sinyal vermiştir. İzopropilamit yapısında bulunan metin grubuna ait proton ile asetamit yapısına ait metilen grubu protonları  $\delta$  4.14-4.09'da üç protonluk bir multipler sinyali vermiştir. İzopropilamit yapısına ait N-H protonu  $\delta$  5.94'de bir protona karşılık gelen integrasyon değerine sahip geniş bir singlet sinyal vermiştir.

NNG DM kodlu bileşiğin spektrumunda dimetilamit yapısında bulunan metil gruplarına ait protonlar  $\delta$  3.05'de protonlar altı protona karşılık gelen  $J$  değeri 3.9 olan bir dublet sinyal vermiştir.

#### **4. 2-İzonikotinamidoasetamit Türevleri Bileşiklerin $^1\text{H}$ NMR**

##### **Bulgularının Değerlendirilmesi**

2-İzonikotinamidoasetamit türevi NING-A, NING-P, NING-M, NING-Piro, NING-Isp ve NING-DM kodlu bileşiklerin bulunduğu seride NING-A ve NING-Isp kodlu bileşiklerin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu DMSO- $d_6$  çözügeninde, serideki diğer bileşiklerin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu ise  $\text{CDCl}_3$  çözügeninde alınmıştır. İzonikotinamit yapısında bulunan piridin halkasının 4 konumunda konjuge amit süstitüentinin bulunmasından dolayı bir  $\text{AA}'\text{XX}'$  sistemine ait sinyallerin oluşumu beklenmektedir (111). Piridin halkasına ait protonların sinyallerinin konumları yukarı alandan aşağı alana göre sırasıyla 3, 5 > 2, 6 şeklinde olması beklenmektedir. Bileşiklerin asetamit yapısında bulunan metilen grubu üzerindeki protonlar, izonikotinamit yapısında bulunan amit azotu üzerindeki proton ve asetamit grubunun azotu üzerinde bulunan metil ve izopropil süstitüentelerine ait protonlar, amit azotun halka içerisinde bulunduğu piperidin, morfolin ve pirolidin halkalarına ait protonlar ve amit grubunun azotu üzerinde bulunan fenil süstitüentine ait protonların  $^1\text{H}$  NMR bulgularının 2-

nikotinamidoasetamit türevi bileşiklerin  $^1\text{H}$  NMR bulguları ile benzer olması beklenmektedir.

$^1\text{H}$  NMR spektrumunu değerlendirdiğimiz NING-P bileşiğinde piridin halkası üzerinde  $\delta$  7.68-7.67'de halkanın 3 ve 5 konumunda bulunan protonlara ait multipler sinyal ve  $\delta$  8.76-8.74'de piridin halkasının 2 ve 6 konumunda bulunan protonlara ait multipler sinyal tespit edilmiştir. Seride bulunan diğer bileşiklerin piridin halkası üzerindeki protonlarının  $^1\text{H}$  NMR bulguları NING-P bileşiğinin  $^1\text{H}$  NMR bulgularıyla benzer sonuçlar vermiştir.

NING-P bileşiğinde asetamit yapısında bulunan metilen grubuna ait protonlar  $\delta$  4.22'te  $J$  değeri 3.9 olan iki protona karşılık gelen bir dublet sinyal vermiştir. Seride bulunan diğer bileşiklerin metilen grubu protonlarının  $^1\text{H}$  NMR bulguları NING-P bileşiğinin  $^1\text{H}$  NMR bulgularıyla uyumludur. NING-P bileşiğinde  $\delta$  7.52'de moleküldeki izonikotinamit yapısına ait N-H protonunun geniş bir singlet sinyal verdiği tespit edilmiştir. NING-M, NING-Piro ve NING-DM kodlu bileşiklerin izonikotinamit yapısına ait N-H protonları  $\delta$  7.43–7.47 arasında geniş bir singlet sinyali verirken, NING-A ve NING-Isp kodlu bileşiklerin aynı yapılarına ait N-H protonları sırasıyla  $\delta$  9.11'de  $J$  değeri 5.9 ve  $\delta$  8.90'da  $J$  değeri 5.7 olan triplet sinyaller vermiştir.

NING-P kodlu bileşiğimizin  $^1\text{H}$  NMR spektrumunda molekülde bulunan piperidin halkasında  $\delta$ 1.64-1.57'de halkanın 3 ve 5 konumunda bulunan protonlara ait dört protonluk bir multipler sinyal ve  $\delta$ 1.72-1.68'de halkanın 4 konumunda bulunan protonlara ait iki protonluk bir multipler sinyal mevcuttur.  $\delta$  3.41-3.38'de 2 veya 6 konumundaki protonlara ait iki protonluk bir multipler sinyal ve  $\delta$  3.63-3.61'de 2 veya 6 konumundaki protonlara ait iki protona karşılık bir multipler sinyal tespit edilmiştir.

NING-A kodlu bileşiminin  $^1\text{H}$  NMR spektrumunda fenil halkası üzerinde AA'BB'C sistemine uygun bir sinyaller tespit edilmiştir. Fenil halkasının 4 konumundaki proton  $\delta$  7.03'de orto bölünme nedeniyle  $J$  değeri 7.4 olan bir protona karşılık gelen bir triplet sinyal, 3 ve 5 konumunda bulunan protonlar  $\delta$  7.31-7.27'de iki protona karşılık gelen bir multipler sinyal, halkanın 2 ve 6 konumunda bulunan protonlar  $\delta$  7.58'de orto bölünme nedeniyle  $J$  değeri 7.8 olan iki protona eşdeğer bir triplet sinyal vermiştir.

NING-M kodlu bileşiminin  $^1\text{H}$  NMR spektrumunda  $\delta$  3.49-3.47'de halkanın 2 veya 6 konumunda bulunan protonlara ait bir multipler sinyal ve  $\delta$  3.75-3.69'da halkanın 3 ve 5 konumunda bulunan protonlar ile 2 veya 6 konumunda bulunan protonlara ait altı protonluk bir multipler sinyal mevcuttur.

NING-Piro kodlu bileşiminin  $^1\text{H}$  NMR spektrumunda piroolidin halkası üzerinde 3 ve 4 konumunda bulunan protonlara ait  $\delta$  1.96-1.91'de ve  $\delta$  2.06-2.01'de her biri iki protonluk multipler sinyaller bulunmuştur. Bu iki konum üzerinde bulunan protonlar değişebilir kimyasal kayma değerine sahip protonlar olarak rapor edilmiştir. Piroolidin halkasının 2 ve 5 konumunda  $\delta$  3.47-3.44'de ve  $\delta$  3.57-3.53'de her biri iki protona karşılık gelen multipler sinyaller mevcuttur.

NING-Isp kodlu bileşiminin spektrumunda  $\delta$  1.05'de izopropilamit yapısına ait metil gruplarının protonları  $J$  değeri 6.6 olan altı protonluk bir dublet sinyal vermiştir. İzopropilamit yapısında bulunan metil grubuna ait proton ile asetamit yapısına ait metilen grubu protonları  $\delta$  3.87-3.82'de üç protonluk bir multipler sinyali vermiştir. İzopropilamit yapısına ait N-H protonu  $\delta$  7.78'de geniş bir singlet sinyal vermiştir.

NING-DM kodlu bileşiğin spektrumunda dimetilamit yapısında bulunan metil gruplarına ait protonlar  $\delta$  3.05'de protonlar altı protona karşılık gelen  $J$  değeri 1.2 olan bir dublet sinyal vermiştir.

## 5. 2-(2-Pikolinamido)asetamit Türevi Bileşiklerin $^1\text{H}$ NMR Bulgularının Değerlendirilmesi

2-(2-Pikolinamido)asetamit türevi NPG-A, NPG-P, NPG-M, NPG-Piro, NPG-Isp ve NPG-DM kodlu bileşiklerin bulunduğu seride NPG-A kodlu bileşiğimizin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu DMSO- $d_6$  çözücü ve diğer bileşiklerin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu ise  $\text{CDCl}_3$  çözücü kullanılarak alınmıştır. 2-Pikolinamit yapısında piridin halkasına ait proton sinyalleri konumlarının yukarı alandan aşağı alana doğru sırasıyla  $5 > 4 > 3 > 6$  şeklinde olması beklenmektedir (56). Bileşiklerin 2-pikolinamit yapısına ait amit azotu üzerindeki protonun, asetamit yapısına ait metilen grubu üzerindeki protonların ve asetamit yapısının azotu üzerinde bulunan metil ve izopropil sübstitüentelerine ait protonların, amit azotun halka içerisinde bulunduğu piperidin, morfolin ve pirolidin halkalarına ait protonların ve amit grubunun azotu üzerinde bulunan fenil sübstitüentine ait protonların  $^1\text{H}$  NMR bulgularının 2-nikotinamidoasetamit ve 2-izonikotinamidoasetamit türevi bileşiklerin  $^1\text{H}$  NMR bulguları ile benzer olması beklenmektedir.

$^1\text{H}$  NMR spektrumunu değerlendirdiğimiz NPG-P bileşiğinde piridin halkası üzerinde  $\delta$  7.43-7.40'da halkanın 5 konumunda bulunan protona ait multipler sinyal,  $\delta$  7.85-7.80'de halkanın 4 konumunda bulunan protona ait bir multipler sinyal,  $\delta$  8.17'de piridin halkasının 3 konumunda bulunan protonun 4 konumunda bulunan protonla etkileşmesi nedeniyle  $J$  değeri 7.8, 5 konumunda bulunan protonla etkileşmesi nedeniyle  $J$  değeri 2.0 ve 6 konumunda bulunan protonla etkileşmesi

nedeniyle  $J$  değeri 1.2 olan bir dublet dublet dublet sinyal vermiştir.  $\delta$  8.62-8.59'da piridin halkasının 6 konumunda bulunan protona ait multipler sinyal tespit edilmiştir.

NPG-P kodlu bileşikte asetamit yapısında bulunan metilen grubunun protonları  $\delta$  4.27'de  $J$  değeri 4.7 olan iki protona karşılık gelen bir dublet sinyal vermiştir. NPG-M, NPG-Piro ve NPG-DM kodlu bileşiklerin spektrumlarında asetamit yapısında bulunan metilen grubu protonlarının  $^1\text{H}$  NMR bulguları NPG-P kodlu bileşiğin  $^1\text{H}$  NMR bulgularıyla uyumluluk göstermiştir. NPG-Isp kodlu bileşiğin spektrumu da  $\text{CDCl}_3$  çözgeninde alınmıştır. Fakat bileşikte bulunan asetamitin metilen protonları izopropilamit yapısında bulunan metin grubuna ait protonla  $\delta$  4.13-4.06'da üç protona karşılık gelen bir multipler sinyal vermiştir. NPG-A kodlu bileşiğin spektrumunu almak içinse  $\text{DMSO}-d_6$  çözgeni kullanılmış olup asetamitin metilen protonları ise  $\delta$  4.15'de  $J$  değeri 5.9 olan iki protona karşılık gelen bir dublet sinyal vermiştir.

NPG-P bileşiğinin 2-pikolinamit yapısındaki N-H protonu  $\delta$  8.93'de geniş bir singlet sinyal vermiştir. NPG-M, NPG-Piro ve NPG-DM kodlu bileşiklerin 2-pikolinamit yapısına ait N-H protonlarına ait  $^1\text{H}$  NMR bulguları NPG-P kodlu bileşiğin  $^1\text{H}$  NMR bulgularıyla benzerlik göstermiştir. NPG-Isp kodlu bileşiğin aynı yapıya ait N-H protonu bileşikte bulunan piridin halkasının 6 konumundaki protonuyla  $\delta$  8.60-8.58'de iki protonluk bir multipler sinyal vermiştir. NPG A kodlu bileşiğin aynı yapıya ait N-H protonu da  $\delta$  8.97-8.94'de bir multipler sinyal vermiştir.

NPG-P kodlu bileşiğimizin  $^1\text{H}$  NMR spektrumunda molekülde bulunan piperidin halkasında  $\delta$ 1.62-1.56'da halkanın 3 ve 5 konumunda bulunan protonlara ait dört protonluk bir multipler sinyal ve  $\delta$ 1.70-1.67'de halkanın 4 konumunda bulunan protonlara ait iki protonluk bir multipler sinyal mevcuttur.  $\delta$  3.43-3.40'da 2 veya 6 konumundaki protonlara ait ikişer protona karşılık gelen integrasyon değerine

sahip bir multiplet sinyal ve  $\delta$  3.63'de piperidin halkası üzerinde bulunan 2 veya 6 konumundaki protonlara ait  $J$  değeri 5.5 olan iki protona karşılık bir triplet sinyal tespit edilmiştir. Bu iki konumda bulunan protonlar için kimyasal kayma değerleri değişebilir değerlerdir.

NPG-A bileşiğinde fenil halkasının 4 konumundaki proton  $\delta$  7.06-7.03'de bir multiplet sinyal, 3 ve 5 konumunda bulunan protonlar  $\delta$  7.34-7.30'da iki protona karşılık gelen integrasyon değerine sahip bir multiplet sinyal, halkanın 2 ve 6 konumunda bulunan protonlar  $\delta$  7.60-7.58'de iki protona eşdeğer bir multiplet sinyal vermiştir.  $\delta$  10.07'de ise anilit grubu üzerindeki N-H protona ait geniş bir singlet sinyal mevcuttur.

NPG-M kodlu bileşimizin  $^1\text{H}$  NMR spektrumunda halkanın 2, 3, 5 ve 6 konumunda bulunan protonlara ait  $\delta$  3.52-3.49'da iki protonluk bir multiplet sinyal ve  $\delta$  3.73-3.70'de altı protona karşılık gelen bir multiplet sinyal mevcuttur.

NPG-Piro kodlu bileşiğin  $^1\text{H}$  NMR spektrumunda pirolidin halkası üzerinde 3 ve 4 konumunda bulunan protonların  $\delta$  1.93-1.87'de ve  $\delta$  2.06-2.00'da her biri iki protona karşılık gelen multiplet sinyaller bulunmuştur. Bu iki konum üzerinde bulunan protonlar değişebilir kimyasal kayma değerine sahiptir. Pirolidin halkasının 2 ve 5 konumunda  $\delta$  3.49-3.46'da iki protona karşılık gelen bir multiplet sinyal ve  $\delta$  3.55'de iki protona karşılık gelen  $J$  değeri 7.0 olan bir triplet sinyal mevcuttur. Bu iki konum üzerinde bulunan protonlar değişebilir kimyasal kayma değerine sahip protonlardır.

NPG-Isp kodlu bileşiğin spektrumunda  $\delta$  1.17'de izopropilamit yapısına ait metil gruplarının protonları  $J$  değeri 6.6 olan altı protonluk integrasyon değerine sahip bir dublet sinyal vermiştir. İzopropilamit yapısında bulunan metin grubuna ait proton ile asetamit yapısına ait metilen grubu  $\delta$  4.13-4.06'da üç protonluk bir

multiplet sinyali vermiştir. İzopropilamit yapısına ait N-H  $\delta$  5.96'da bir protonluk geniş bir singlet sinyal vermiştir.

NPG DM kodlu bileşiğin spektrumunda dimetilamit yapısında bulunan metil gruplarına ait protonlar  $\delta$  3.05'de protonlar altı protona karşılık gelen  $J$  değeri 8.2 olan bir dublet sinyal vermiştir.

#### **D. MASS Bulguların Değerlendirilmesi**

Elektron sprej kütle spektroskopisi yöntemine elektron sprej iyon kaynağı atmosferik basınçta ya da ona yakın bir basınçta çalıştığı için atmosferik basınç iyonizasyonu ya da API denmektedir. Yöntemde genellikle polar, uçucu bir solvan kullanılır. Örnek bu solvan içerisinde çözülür, buharlaştırıcı gaz olan azotun aynı eksenli akımı ile çevrelenmiş paslanmaz çelik kapillerinden iyon kaynağına gelir. Kapillerin uç kısmı sayaç elektrota nazaran yüksek potansiyelle korunmuştur. Potansiyel farklılık 5 kV/cm kadar bir alan eğimi oluşturmaktadır. Solüsyon kapillerden yüklenmiş elektron damlacık formundaki aerosoller olarak çıkar. Buharlaşmayı sağlayan gaz akımı bu aerosolleri MASS spektrometresine yönlendirir (111).

Aerosoldeki damlacıklar yüklenmiş örnek iyonlarının yoğunlaşması sebebiyle solvent buharları olarak küçülürler. Yüklenmiş örnek iyonları arasındaki elektrostatik itme kritik noktaya gelince damlacık Coulombic patlama denen örnek iyonların buhar fazına salınması olan duruma maruz kalır. Buhar faz iyonları MASS analizörü içindeki örnek ölçüm deliklerine yönlendirilmiştir (111).

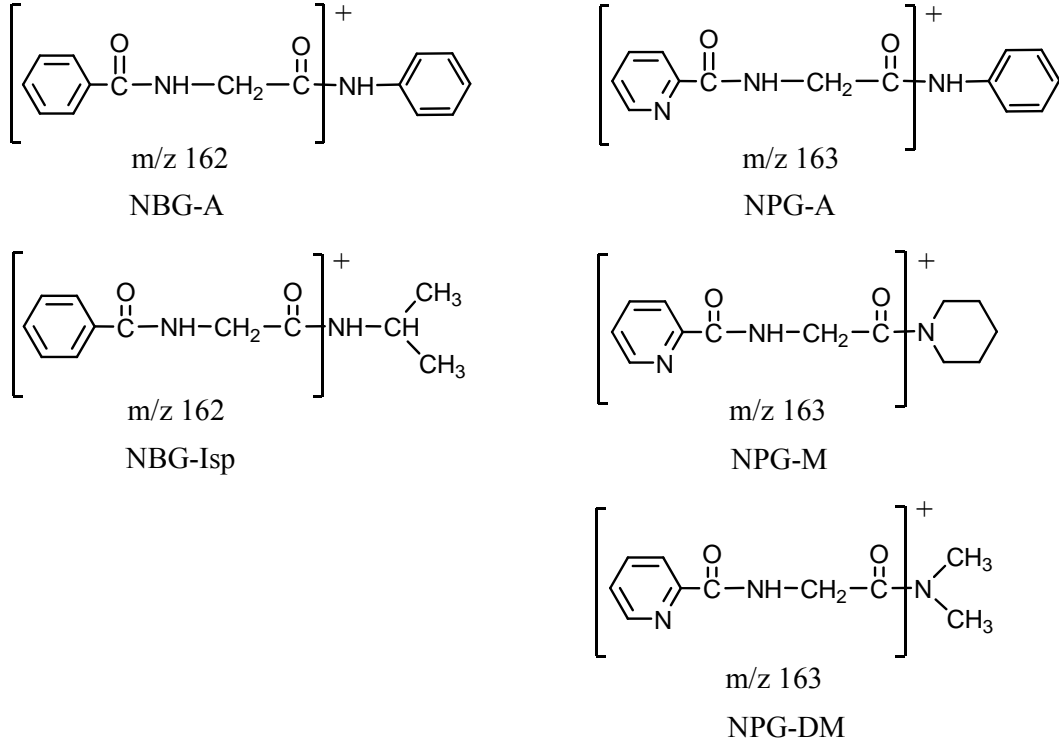
Elektron sprej kütle spektroskopisi 1990'dan sonra çoklu yük bulunduran bağlanma yöresine sahip bileşiklerin analizinde kullanımı artmıştır. Çoklu iyon yükü formuna sahip proteinler buna örnektir. 40 kDa olan büyük proteinler ya da 100 kDa'ya kadar büyüklükteki yüklü moleküllerin tayini bu yöntemle yapılabilmektedir.

Öncelikle kolay bir yöntem olması, proteinlerin ve küçük peptidlerin analizlerinin önemi ve bu analizlerin elektron sprey yöntemi ile en iyi şekilde yapılması bu yöntemi önemli bir tercih nedeni yapmaktadır (111).

Yöntemde  $[M+1]^+$  moleküler iyon pikinin yanı sıra  $[M+Na]^+$  pikleri de görülmektedir (111). Bu pikler yöntemde kullanılan malzemedan gelen sodyum sebebiyle oluşmaktadır. Elektron sprey kütle spektroskopisi yönteminde çözücü olarak genellikle metanol/su ve asetonitril/su karışımları kullanılmaktadır (56). Bu çözücüler kullanıldığında çözücüden kaynaklanan  $[M+Ç]^+$  pikleri de spektrumda görülebilmektedir (111).

Bileşiklerimizin kütle spektrumları atmosferik basınç iyonizasyonu elektron sprey kütle spektroskopisi (API-ESI MS) yöntemi kullanılarak alınmıştır. Bileşiklerimizin kütle spektrumlarında farklı bağıl bolluklarda m/z değeri  $[M+1]^+$  iyonuna karşılık gelen pikler tespit edilmiştir. Moleküllerin spektrumlarının alınmasında kullanılan yöntem nedeniyle oluşan  $[M+23]^+$ ,  $[M+41]^+$  ve  $[M+64]^+$  iyonlarına ait pikler de spektrumlarda izlenmiştir. NBG P, NBG DM, NTG A, NTG P ve NTG Piro kodlu bileşiklerin spektrumlarında  $[M+23]^+$  ve  $[M+64]^+$  baz tepeler olarak tespit edilmiştir. NBG-M, NTG-M, NTG-Isp, NTG-DM ve NTG-Isp kodlu bileşiklerin spektrumlarında  $[M+23]^+$  baz tepe olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda NBG-A ve NBG-Isp kodlu bileşiklerin spektrumlarında m/z değeri 162 olan ve NPG-A, NPG-M ve NPG-DM kodlu bileşiklerin spektrumlarında m/z değeri 163 olan baz tepeler tespit edilmiştir (Şema 3). Ana fragmentasyon yolağının asetamit yapısı üzerinden yürüdüğü saptanmıştır (56). Diğer bileşiklerde ise molekül ağırlığına karşılık gelen moleküler iyon pikleri belirlenmiştir.





**Şema 3. 2-Benzamidoasetamit, 2-(Tiyofen-2-karboksamido)asetamit, 2-Nikotinamidoasetamit, 2-İzonikotinamidoasetamit ve 2-(2-Pikolinamido)asetamit Türevi Bileşiklerin Ana Fragmantasyon Yolu**

### III. BİLEŞİKLERİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİN VE YAPI-AKTİVİTE İLİŞKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışmamızda sentezini gerçekleştirdiğimiz bileşiklerin biyolojik aktiviteleri A549 hücre hatlarında yapılan çalışmalarla tayin edilmiştir. Bu amaçla A549 hücre hatlarında bileşiklerin COX-2 izoenzim ekspresyonu üzerine olan etkileri ve PGE<sub>2</sub> üretimi üzerine olan inhibitör etkinlikleri ayrı ayrı tayin edilmiştir.

#### A. Sentezi Gerçekleştirilen Bileşiklerin COX-2 İzoenzim Ekspresyonu Üzerine Olan Etkileri

İnsan akciğer adenokarsinoma hücreleri olan A549 hücre hatlarının en önemli özelliği, fizyolojik koşullarda COX-2 izoenzim ekspresyonunun çok düşük düzeyde

gerçekleşmesidir (81, 109). Çalışmamızda kullanılan deneysel modelde A549 hücrelerinde COX-2 izoenzim ekspresyonu interlökin-1 $\beta$  ile tetiklenmiştir (66). İnterlökin-1 $\beta$  ile inkübe edilen bu hücrelerde bileşiklerimizin, tetiklenen COX-2 protein ekspresyonu üzerine olan etkileri immünokimyasal yöntemle incelenmiştir. Çalışmamızda COX-2 izoenzim selektif inhibitörü olan DUP-697'nin de COX-2 izoenzim ekspresyonu üzerine olan etkinliği tayin edilmiştir. Tablo 7'de özetlenen deneysel bulgular değerlendirildiğinde, NBG-M, NBG-Piro, NNG-Piro ve NPG-A bileşiklerinin, A549 hücre hatlarında COX-2 izoenzim ekspresyonunu önemli ölçüde artırdığı görülmektedir. NBG-DM bileşiğinin de ekspresyonda yaklaşık % 10 luk bir artış meydana getirdiği görülmektedir. Buna karşın, NTG-A, NTG-M, NTG-Piro, NTG-Isp, NING-A, NING-Isp, NING-DM, NPG-P, NPG-M ve NPG-Isp bileşiklerinin COX-2 izoenzim ekspresyonunu önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. NBG-P, NNG-A, NNG-M, NNG-Isp, NING-P, NING-Piro ve NPG-Piro bileşiklerinin de ekspresyonu azaltma yönünde bir eğilimleri olduğu görülmektedir.

## **B. Sentezi Gerçekleştirilen Bileşiklerin PGE<sub>2</sub> Biyosentezi Üzerine Olan İnhibitör Etkileri**

Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin PGE<sub>2</sub> biyosentezi üzerine olan inhibitör etkileri A549 hücre hatları kullanılarak tayin edilmiştir. Kullanılan deneysel modelde interlökin-1 $\beta$  ile inkübe edilmiş A549 hücrelerinde artan COX-2 ekspresyonuna bağlı olarak biyosentezi artmış PGE<sub>2</sub> düzeyi üzerine olan inhibitör etkinlik saptanmıştır. İnterlökin-1 $\beta$  ile A549 hücre hatlarında COX-2 izoenzimi tetiklenirken COX-1 protein düzeyinde bir farklılık oluşmamaktadır (34). Bu nedenle kullanılan deneysel modelde yükselen PGE<sub>2</sub> düzeyinin indüklenmiş COX-2 izoenzimine bağlı olduğu kabul edilmektedir (60). PGE<sub>2</sub> biyosentezi üzerine olan inhibitör etkinliğin

tafininde COX-2 selektif inhibitör olan DUP-697 standart bileşik olarak kullanılmıştır. Deneysel modelde, DUP-697, IC<sub>50</sub> değeri olan 0.36 nmol konsantrasyonda (26) interlökin-1 $\beta$  ile inkübe edilmiş A549 hücrelerinde PGE<sub>2</sub> düzeyini yaklaşık olarak %46 oranına azaltmıştır. Ulaşılan bu sonuç, bu hücrelerde oluşturulan deneysel model çerçevesinde, PGE<sub>2</sub> biyosentezinin ve modelin büyük ölçüde COX-2 dominant olduğunu göstermekte olup bu sonuç Huang ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile uygunluk göstermektedir (60).

Tablo 6'da özetlenen deneysel sonuçlar, çalışılan konsantrasyon çerçevesinde, NBG-A, NBG-M, NBG-Piro, NBG-DM, NING-Isp ve NPG-A bileşiklerinin interlökin-1 $\beta$  ile inkübe edilmiş A549 hücrelerinde PGE<sub>2</sub> sentezini ve dolayısıyla düzeyini arttırdığını göstermektedir. NTG-DM bileşiğinin ise ihmal edilebilir bir düzey artışı meydana getirdiği görülmektedir. Bu bileşikler dışında kalan diğer türevlerin % 2 ile % 50 arasında değişen oranlarda PGE<sub>2</sub> düzeyini azalttığı tespit edilmiştir. Çalışılan bileşikler içinde en etkin türevler, PGE<sub>2</sub> düzeyini yaklaşık olarak % 50 oranına azaltan NING-Piro bileşiği ile %58 oranına azaltan NING-M bileşiği olarak saptanmıştır. Çalışmamızda muhtemelen deneysel girişimler nedeniyle NTG-A ve NPG-DM bileşikleri ile ilgili bir sonuç elde edilememiştir.

### **C. Sentezi Gerçekleştirilen Bileşiklerin Biyolojik Aktivitelerinin Yapısal Özelliklerle İlişkilendirilerek Değerlendirilmesi**

A549 hücre hatlarında bileşiklerin COX-2 izoenzim ekspresyonu üzerine olan etkileri ve PGE<sub>2</sub> üretimi üzerine olan inhibitör etkinlikleri birlikte değerlendirildiğinde (Tablo 6 ve Tablo 7 ) COX-2 izoenzim ekspresyonunda önemli ölçüde artış meydana getiren NBG-M, NBG-Piro, NBG-DM ve NPG-A bileşiklerinin, PGE<sub>2</sub> düzeyini önemli ölçüde yükselttiği tespit edilmiştir.

Ekspresyonu arttırmasına karşın PGE<sub>2</sub> düzeyinde az da olsa azalma oluşturan NNG-Piro bileşiği bu bileşiklerden farklı davranmıştır.

Çalışmamızda genel olarak COX-2 ekspresyonunu azaltan bileşikler, değişen oranlarda PGE<sub>2</sub> düzeyini de düşürmüşlerdir. Bu durumun tek istisnası NING-Isp bileşiğidir. NING-Isp bileşiği COX-2 izoenzim ekspresyonunu, kontrole göre yaklaşık 4 kat azaltmasına karşın, PGE<sub>2</sub> düzeyinde yaklaşık %10'luk bir artış meydana getirmiştir.

Daha önce de vurgulandığı üzere çalışmamızda A549 hücre hatlarında PGE<sub>2</sub> düzeyini ölçmek üzere kullanılan kullanılan deneysel modelde indüklenen PGE<sub>2</sub> biyosentezinin büyük ölçüde interlökin-1 $\beta$  ile indüklenen COX-2 izoenziminden kaynaklandığı, bu nedenle de kullanılan biyolojik modelin büyük ölçüde COX-2 dominant olduğu kabul edilmektedir (60).

Sonuçların bu çerçevede değerlendirilmesi, bileşiklerimizin PGE<sub>2</sub> düzeyi üzerine olan etkilerinin büyük ölçüde COX-2 enzim ekspresyonu üzerine olan etkilerinden ve / veya enzim inhibitör etkinliklerinden kaynaklandığını göstermektedir.

PGE<sub>2</sub> biyosentezinde araşidonik asitten, PGH<sub>2</sub> oluşumunda COX izoenzimleri görev alırken, PGH<sub>2</sub>'nin PGE<sub>2</sub>'ye dönüşümünde Prostaglandin E Sentaz (PGES) görev almaktadır. PGES'lerden membrana bağlı olan iki tanesi mPGES-1 ve mPGES-2 olarak bilinmektedir. İnflamasyon yanıtına aracılık eden PGE<sub>2</sub>'nin oluşumundan mPGES-1 sorumlu olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle mPGES-1'in de spesifik olarak inhibe edilmesinin inflamasyon sürecinde oluşan PGE<sub>2</sub>'nin biyosentezini engelleyeceği düşünülmektedir (102). Bu değerlendirmeden yola çıkarak, deneysel biyolojik sistemimizde PGE<sub>2</sub> biyosentez inhibisyonunun ancak,

modelimizin dominant karakterinden dolayı COX-2 ve / veya mPGES-1 inhibisyonundan kaynaklandığı speküle edilebilir.

Çalışmamızda sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin taşıdığı yapısal iskelet  $\alpha$ -açilamino-*N*-süstitüasetamit çekirdeğidir. Bu çerçevede ana iskelet üzerinde yapılan yapısal değişiklikler açıl grubunun ve *N*-süstitüentin değiştirilmesi ile sınırlıdır. Çalışmamızda sentezini gerçekleştirdiğimiz bileşikler arasında saptanan biyolojik yanıt farklılıkları, bu grupların aktiviteye yaptığı katkı farklılıklarından ortaya çıkmaktadır.

$\alpha$ -Açilamino-*N*-süstitüasetamit genel yapısı taşıyan hedef bileşiklerimizde 5 farklı açıl grubu kullanılmıştır. Bu açıl grupları, benzoil (NBG-A, NBG-P, NBG-M, NBG-Piro, NBG-Isp, NBG-DM), 2-teneoil (tiyofen-2-karbonil) (NTG-A, NTG-P, NTG-M, NTG-Piro, NTG-Isp, NTG-DM), nikotinoil (NNG-A, NNG-P, NNG-M, NNG-Piro, NNG-Isp, NNG-DM), izonikotinoil (NING-A, NING-P, NING-M, NING-Piro, NING-Isp, NING-DM), 2-pikolinoil (NPG-A, NPG-P, NPG-M, NPG-Piro, NPG-Isp, NPG-DM) olarak seçilmiştir.

$\alpha$ -Açilamino-*N*-süstitüasetamit genel yapısında *N*-süstitüentten bağımsız olarak açıl gruplarının A549 hücre hatlarında bileşiklerin COX-2 izoenzim ekspresyonu inhibitör potansiyellerine olan katkısı incelendiğinde aşağıda belirtilen genellemelerin yapılabileceği görülmektedir.

(a) Serisindeki tüm bileşiklerin değişen oranlarda COX-2 izoenzimi ekspresyon inhibitörü olarak etkinlik taşıdığı tek grubun izonikotinamidoasetamit türevleri olduğu görülmektedir. Açıl grubu olarak izonikotinoil grubunun, çalışılan *N*-süstitüentlerle sınırlı olmak üzere serideki tüm  $\alpha$ -açilamino-*N*-süstitüasetamit türevlerine COX-2 izoenzim ekspresyon inhibitör etkinlik kazandırdığı saptanmıştır.

(b) Benzoil grubunun ise,  $\alpha$ -açilamino-*N*-sübstitüasetamit türevlerine ekspresyon inhibitör potansiyel kazandırma hususunda en başarısız açil grubu olduğu görülmektedir. Benzamidoasetamit türevlerinde ekspresyon inhibitör potansiyel açıdan sadece bir bileşiğin aktivite taşıdığı (NBG-P bileşiği), bunun dışındaki türevlerde ekspresyon artışı olduğu görülmektedir.

(c) Tenoikamidoasetamit, nikotinamidoasetamit ve 2-pikolinamidoasetamit serilerinde saptanan COX-2 ekspresyon inhibitör aktivite sonuçları incelendiğinde çalışılan sübstitüentlerle sınırlı olmak üzere  $\alpha$ -açilamino-*N*-sübstitüasetamit türevlerinde tenoil, 2-pikolinoil ve nikotinoil açil gruplarının aktiviteye azalan bir sırada katkı yaptığı görülmektedir.

(d)  $\alpha$ -Açilamino-*N*-sübstitüasetamit genel yapısında *N*-sübstitüentten bağımsız olarak açil gruplarının A549 hücre hatlarında bileşiklerin COX-2 izoenzim ekspresyonu inhibitör potansiyellerine olan katkı derecesi sıralandığında katkının izonikotinoil > 2-tenoil, 2-pikolinoil > nikotinoil sırası içerisinde azaldığı görülmektedir.

$\alpha$ -Açilamino-*N*-sübstitüasetamit genel yapısında *N*-sübstitüent olarak 5 seride de fenil, izopropil, dimetil yanında halka içi amit azotu oluşturmak üzere piperidin, morfolin ve piroolidin halkaları kullanılmıştır. *N*-sübstitüentlerin A549 hücre hatlarında bileşiklerin COX-2 izoenzim ekspresyonu inhibitör potansiyellerine olan katkısı incelendiğinde aşağıda belirtilen genellemelerin yapılabileceği görülmektedir.

(a) İzonikotinamidoasetamit dışında kalan diğer serilerde, COX-2 izoenzim ekspresyonu inhibitör aktiviteye en fazla katkı yapan *N*-sübstitüentlerin, çalışılan sübstitüentler çerçevesinde amit azotunun halka içinde kaldığı sübstitüentler olduğu görülmektedir. Benzamidoasetamit serisinde piperidin, tenoikamidoasetamit, nikotinamidoasetamit ve 2-(2-pikolinamido)asetamit serilerinde ise morfolinin

serilerindeki en aktif bileşiği verdiği saptanmıştır. Tüm üyelerinin COX-2 izoenzim ekspresyonu inhibitör etkinlik gösterdiği izonikotinamidoasetamit türevlerinde ise bu eğilimin değiştiği, dimetil ve izopropil gibi alifatik süstitüentlerin serinin en aktif COX-2 izoenzim ekspresyon inhibitörü bileşikleri oluşturduğu tespit edilmiştir.

(b) Çalışılan tüm bileşikler çerçevesinde bir değerlendirme yapıldığında en etkin COX-2 izoenzim ekspresyonunu yaklaşık olarak % 50 ve daha alt düzeylerde azaltan bileşiklerin NTG-M, NTG-Piro, NING-Isp, NING-DM, NPG-M ve NPG-Isp bileşikleri olduğu saptanmıştır. Bu bileşikler içerisinde yaklaşık olarak sırasıyla % 82 ve % 79 oranında azaltan en aktif bileşikler *N*-[2-(izopropilamino)-2-oksoetil]izonikotinamit (NING-Isp) ve *N*-[2-(dimetilamino)-2-oksoetil]izonikotinamit (NING-DM) bileşikleridir.

$\alpha$ -Açilamino-*N*-süstitüeasetamit genel yapısında *N*-süstitüentten bağımsız olarak açıl gruplarının A549 hücre hatlarında bileşiklerin PGE<sub>2</sub> biyosentez inhibitör potansiyellerine olan katkısı incelendiğinde aşağıda belirtilen genellemelerin yapılabileceği görülmektedir.

(a) Benzamidoasetamit türevlerinin A549 hücre hatlarında PGE<sub>2</sub> biyosentezi üzerine NBG-P ve NBG-Isp bileşikleri dışında aktivatör etkinlik göstererek PGE<sub>2</sub> düzeyini yükselttiği, NBG-P ve NBG-Isp bileşiklerinin ise çok düşük düzeyde bir inhibitör etkinlik taşıdığı görülmektedir. Bu bulgulara dayanılarak  $\alpha$ -açilamino-*N*-süstitüeasetamit genel yapısındaki bileşiklerde açıl grubu olarak benzoil grubunun A549 hücre hatlarında PGE<sub>2</sub> biyosentezi üzerine inhibitör etkinliği destekleyici bir katkı sağlamadığı sonucuna ulaşılmıştır.

(b)  $\alpha$ -Açilamino-*N*-süstitüeasetamit genel yapısındaki bileşiklerimizin açıl grubunun 2-tenoil, nikotinoil, izonikotinoil ve 2-pikolinoil olduğu serilerde A549 hücre hatlarında PGE<sub>2</sub> biyosentezi üzerine inhibitör etkinlik, *N*-süstitüentin

karakterine de bağlı olarak artmıştır. Açıl grubunun izonikotinoil olduğu izonikotinamidoasetamit turevleri, en etkin biyosentez inhibitörlerini taşıyan seriyi oluşturmuştur. Sentezi gerçekleştirilen bileşikler arasında en yüksek aktiviteyi, PGE<sub>2</sub> düzeyini yaklaşık olarak % 41 oranında azaltan *N*-(2-morfolino-2-oksoetil)izonikotinamit (NING-M) bileşiği ile % 50 oranında azaltan *N*-[2-okso-2-(pirolidin-1-il)etil]izonikotinamit (NING-Piro) bileşiği göstermiştir. Bu iki bileşikte, çalışılan konsantrasyon da A549 hücre hatlarında PGE<sub>2</sub> biyosentez inhibitör aktivite açısından, selektif COX-2 inhibitörü olan ve çalışmamızda standart olarak kullanılan DUP-697 bileşiği ile karşılaştırılabilir etkinlik göstermişlerdir.

$\alpha$ -Aılamino-*N*-süstitüeasetamit genel yapısındaki bileşiklerimizin taşıdıkları *N*-süstitüentlerin A549 hücre hatlarında bileşiklerin PGE<sub>2</sub> düzeyi üzerine inhibitör potansiyellerine olan katkısı incelendiğinde aşağıda belirtilen genellemelerin yapılabileceği görölmektedir.

(a) İzonikotinamidoasetamit dışında kalan diğer serilerde, A549 hücre hatlarında PGE<sub>2</sub> biyosentez inhibitör aktiviteye en fazla katkı yapan *N*-süstitüentlerin, çalışılan süstitüentler çerçevesinde *N*-izopropil ve amit azotunun halka içinde kaldığı morfolin süstitüentleri olduğu görölmektedir. Çalışılan bileşikler içerisinde en etkin 2 turevin üyesi olduğu izonikotinamidoasetamit serisinde ise aktiviteye en yüksek katkı sağlayan *N*-süstitüentlerin pirolidin, morfolin olduğu görölmektedir.

(b) İzonikotinamidoasetamit serisinde *N*-süstitüentlerin aktiviteye yaptığı katkı pirolidin > morfolin > fenil > dimetil > piperidin sırası içerisinde azaldığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda ulaşılan en ilginç bulgu, A549 hücre hatlarında COX-2 ekspresyonunu en fazla azaltan bileşik olan *N*-[2-(izopropilamino)-2-oksoetil]izonikotinamit bileşiğinin (NING-Isp), aynı hücre hatlarında PGE<sub>2</sub> düzeyini



yaklaşık % 16 oranında yükseltmesidir. Bu durum, bileşiğin COX-2 izoenzimine ve / veya mPGES-1 enzimine karşı bir inhibitör etkinlik taşıması olasılığı yanında aşırı derece de azalan COX-2 ekspresyonuna karşı hücrelerin COX-1 izoenzim biyosentezini arttırmasına bağlı olabileceğini de düşündürmüştür.

## SONUÇ

Çalışmamızda zayıf COX-2 aktivitesi taşıyan nonselektif COX inhibitör etkinlik gösterdiği bilinen rasem talidomitten moleküler basitleştirme tekniği ile tasarlanan  $\alpha$ -açilamino-*N*-süstitüeasetamit türevlerinin, A549 hücrelerinde COX-2 izoenzim ekspresyonu üzerine olan inhibitör etkinliklerinin, ana yapıda yer alan açıl grubuna ve *N*-süstitüentün özelliklerine bağlı olduğu görülmektedir. Açıl grubunun izonikotinoil olduğu durumlarda en etkin bileşikler *N*-izopropil ve *N,N*-dimetil süstitüentlerinin verdiği, açıl grubunun benzoil, 2-teneoil, nikotinoil ya da 2-pikoloil olduğu durumlarda ise amit azotunun 6 üyeli halka içerisinde kaldığı morfolin ya da piperidin türevlerinin en yüksek ekspresyon inhibitör aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçların değerlendirilmesiyle, COX-2 ekspresyon inhibitör potansiyel ile PGE<sub>2</sub> biyosentez inhibitör aktivite arasında çok doğrusal bir ilişki kurulamamıştır. Diğer bir deyişle en yüksek COX-2 ekspresyon inhibitör etkinliği gösteren bir bileşik, PGE<sub>2</sub> biyosentezi üzerinde aynı düzeyde inhibitör etkinlikle davranmamıştır. Bu duruma örnek olarak NTG-Piro, NNG-Isp, NING-P, NING-M, NING-Piro, NING-Isp, NING-DM bileşikler verilebilir.

Daha önce de vurgulandığı üzere çalışmamızda A549 hücre hatlarında PGE<sub>2</sub> düzeyini ölçmek üzere kullanılan kullanılan deneysel modelde indüklenen PGE<sub>2</sub> biyosentezinin büyük ölçüde interlökin-1 $\beta$  ile indüklenen COX-2 izoenziminden kaynaklandığı, bu nedenle de kullanılan biyolojik modelin büyük ölçüde COX-2

dominant olduğu kabul edilmektedir (60). Bu nedenle çalışmamızda sentezi gerçekleştirilen hedef bileşiklerimizin A549 hücre hatlarında PGE<sub>2</sub> düzeyi üzerine olan etkileri ile COX-2 ve / veya mPGES-1 enzim inhibitör potansiyelleri arasında bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Bu çerçevede bileşiklerimizin, A549 hücre hatlarında PGE<sub>2</sub> düzeyi üzerine olan etkinliklerine dayanarak,  $\alpha$ -açilamino-*N*-süstitüasetamid türevlerinin bu iki enzim üzerine olan olası inhibitör potansiyelleri ile yapısal özellikler arasında ilişki kurulduğunda, enzim inhibitör aktivitenin ana çekirdek üzerinde bulunan açıl grubunun ve *N*-süstitüentün özelliklerine yakından bağlı olduğu görülmektedir. Bu çerçevede, moleküler tasarımda kullanılan açıl grupları ve çalışılan *N*-süstitüentlerle sınırlı olmak üzere  $\alpha$ -açilamino-*N*-süstitüasetamid türevlerinde COX-2 dominant bir modelde A549 hücre hatlarında PGE<sub>2</sub> düzeyini düşüren enzim inhibitör aktivitenin, açıl grubu olarak izonikotionil grubu ve *N*-süstitüent olarak da amit işlevsel grubunun 6 üyeli halka içerisinde kaldığı piperidin ya da morfolin süstitüentleri ile sağlandığı görülmektedir. Bu yapısal modifikasyonlarla kazanılan bileşiklerin çalışılan konsantrasyonlarda selektif COX-2 inhibitörü olan ve çalışmamızda standart olarak kullanılan DUP-697 bileşiği ile karşılaştırılabilir aktivite taşıdığı sonucundan hareketle 2-izonikotinoil-*N*-süstitüasetamid genel yapısının yeni PGE<sub>2</sub> biyosentez inhibitörlerinin geliştirilmesinde önemli bir başlangıç noktası olduğu sonucuna varılmıştır.

## ÖZET

İnflamasyon, farklı hücre tiplerine ve faktörlerine gerek duyan, patojenik, travmatik ya da toksik yaralanmalara karşı doku hasarını kontrol eden kompleks bir süreçtir. İnflamasyon, vücudun yaralanmalara karşı doku hasarını kontrol eden savunma mekanizması olmasına rağmen kronik inflamasyon kanser, diabet, kardiyovasküler, pulmoner, nörolojik ve otoimmün hastalıkların gelişim sürecine katkıda bulunabilmektedir. İnflamasyon, araşidonik asit kaskatı ile oluşan eikosanoidler tarafından meydana gelmektedir. COX izoenzimleri tarafından sentezlenen prostaglandinler (örn: PGE<sub>2</sub>) inflamasyondan sorumlu eikosanoidlerdendirler. COX-1 izoenzimi vücutta birçok dokuda yaygın olarak bulunan, memeli hücre ve dokularında prostaglandinlerin temel seviyesini düzenlemek için üretilen bir enzimdir. COX-2 izoenzimi ise proinflamatuvar ve mitojenik uyarılarla indüklenerek inflamasyon görülen dokular ve neoplastik dokularda eksprese olan bir enzimdir. COX-2 enzimi kanserli dokularda eksprese olarak göğüs kanseri, kolon kanseri, prostat kanseri, özafögal adenokarsinom ve akciğer kanserinin apoptozis, proliferasyon, anjiyogenez, invazyon ve metastaz süreçlerine katkıda bulunmaktadır. COX-2 izoenzimi, nöroinflamasyon görülen nörodejeneratif hastalıklarda inflamasyonu ve oksidatif stresi indükleyerek hastalıkların gelişim sürecine katkıda bulunmaktadır.

Çalışmamız, inflamasyon oluşumunu kısmen ya da tamamen önleyerek inflamasyonun neden olduğu veya gelişim sürecine katkıda bulunduğu hastalıklar

hedef alınarak, bu hastalıkların tedavi süreçlerine katkı sağlamak amacıyla daha güvenli ilaç moleküllerin geliştirilmesini hedefleyen bir çalışma olarak tasarlandı. Bu amaçla çalışmamızda zayıf COX-2 inhibitör aktivitesi taşıyan nonselektif COX inhibitör etkinlik gösteren rasem talidomit model olarak alındı.

Talidomit, 1950'lerden 1960'lara kadar ise sedatif-hipnotik ve antiemetik olarak kullanılmış, daha sonra ise teratojenik etkisinden dolayı 1960'larda tedaviden kaldırılmış bir bileşiktir. Bu bileşik için FDA'den 1998 yılında Hansen hastalığı ve 2006 yılında ise multiple miyelom tedavisinde kullanılmak üzere onay alınmıştır. Talidomit, antikaşetik, antiinflamatuvar, antitümöral, antianjiyogenik, antiviral, hipoglisemik ve tümör hücreleri istilasını inhibe edici etki gibi çeşitli yararlı farmakolojik etkiler göstermektedir. Talidomit bileşiğinin iskelet yapısı TNF- $\alpha$  regülörleri, androjen antagonistleri ve siklooksijenaz inhibitörleri gibi birçok biyolojik aktif bileşiğin geliştirilmesinde kullanılmıştır.

Çalışmamızda doğal ya da sentetik yapıların biyolojik aktiviteleri korunarak veya geliştirilerek moleküller yapının küçültülmesi ya da basitleştirilmesini amaçlayan bir ilaç tasarım yöntemi olan moleküler basitleştirme kullanılarak talidomitin rijit olmayan analogların sentezi düşünüldü. Bu amaçla talidomit bileşiği üzerindeki ftalimit halkası ve piperidin-2,6-dion yapısı üzerinde çeşitli modifikasyonlara gidildi. Ftalimit halkası üzerinde gerçekleştiren modifikasyonda halka, benzen, 2-piridin, 3-piridin, 4-piridin ve 2-tiyofen halkalarını içeren bir açıl grubu ile değiştirildi. Diğer modifikasyonda ise piperidin-2,6-dion yapısında bulunan halka açılarak amit azotu üzerine küçük alkil grupları ve bir aromatik halkanın yerleştirildiği türevler ile amit azotun halka içerisinde kaldığı türevler tasarlandı.

Tasarlanan bu bileşiklerden 2-benzamidoasetamit ve 2-(tiyofen-2-karboksamido)asetamit türevi bileşiklere ait sentez çalışmaları Singh ve

arkadaşlarının 1994 yılında, 2-nikotinamidoasetamit, 2-izonikotinamidoasetamit ve 2-(2-pikolinamido)asetamit türevi bileşiklere ait sentez çalışmaları Singh ve arkadaşlarının 1994 yılında yayınladıkları araştırma makalesi ile Kurita ve arkadaşlarının 2002 yılında yayınladıkları araştırma makalesinde bildirdikleri yöntemler üzerinde değişiklikler yapılarak 4 basamakta gerçekleştirildi. Sentezlenen bileşiklerin yapıları spektral analiz yöntemlerinden UV, IR, MASS ve <sup>1</sup>H NMR ve elementel analiz yöntemi ile belirlendi. Bileşiklerimizin COX-2 izoenzimi ekspresyonuna karşı biyolojik inhibitör potansiyeli ve PGE<sub>2</sub> biyosentezi üzerine inhibitör etkileri değerlendirildi.

Biyolojik aktivite çalışmaları hücre kültürü yöntemi kullanılarak yapıldı. Bu kapsamda A-549 adlı insan akciğer adenokarsinom epitelyal hücre hattı kullanıldı. Sentezlediğimiz bileşiklerin *in vitro* olarak hücre düzeyinde COX-2 enzim miktarı üzerine etkileri immünoablottama yöntemi ile ve PGE<sub>2</sub> miktarı üzerine etkileri ise Prostaglandin E<sub>2</sub> Enzyme Immuno Assay Kit (Cayman) kullanılarak değerlendirildi.

Bileşiklerimizden *N*-(2-morfolino-2-oksoetil)tiyofen-2-karboksamit, *N*-[2-(izopropilamino)-2-oksoetil]tiyofen-2-karboksamit, *N*-(2-morfolino-2-oksoetil)nikotinamit, *N*-[2-(izopropilamino)-2-oksoetil]nikotinamit, *N*-[2-(dimetilamino)-2-oksoetil]nikotinamit, *N*-[2-(fenilamino)-2-oksoetil]izonikotinamit, *N*-(2-morfolino-2-oksoetil)izonikotinamit, *N*-[2-okso-2-(pirolidin-1-il)etil]izonikotinamit, *N*-[2-okso-2-(piperidin-1-il)etil]pikolinamit, *N*-(2-morfolino-2-oksoetil)pikolinamit ve *N*-[2-(izopropilamino)-2-oksoetil]pikolinamit PGE<sub>2</sub> düzeyini önemli oranda düşürmekle birlikte *N*-[2-okso-2-(pirolidin-1-il)etil]izonikotinamit bileşiği 50nM konsantrasyonda PGE<sub>2</sub> düzeyini %50,02'ye düşürmesi ile referans bileşik DUP-697'nin PGE<sub>2</sub> düzeyi üzerine etkisine en yakın değere sahip bileşik olarak tespit edildi. Bileşiklerimizden *N*-[2-(dimetilamino)-2-oksoetil]tiyofen-2-

karboksamit, *N*-[2-okso-2-(pirolidin-1-il)etil]tiyofen-2-karboksamit, *N*-[2-(izopropilamino)-2-oksoetil]tiyofen-2-karboksamit, *N*-[2-(izopropilamino)-2-oksoetil]izonikotinamit, *N*-[2-(dimetilamino)-2-oksoetil]izonikotinamit, *N*-(2-morfolino-2-oksoetil)pikolinamit ve *N*-[2-(izopropilamino)-2-oksoetil]pikolinamit'in kullanılan hücre hattında COX 2 izoenzim düzeyini önemli oranda azalttıkları belirlendi. *N*-[2-(izopropilamino)-2-oksoetil]izonikotinamit bileşiminin kontrol grubuna göre enzim düzeyini % 82 oranında düşürmüş olduğu bulundu.

Bu çalışmada, bir seri bileşikten elde edilen veriler değerlendirildiğinde, 2-izonikotinoil-*N*-süstitüasetamit genel yapısının yeni PGE<sub>2</sub> biyosentez inhibitörlerinin geliştirilmesinde önemli bir başlangıç noktası olduğu sonucuna varılmıştır.

## SUMMARY

Inflammation is a complex process that requires distinct cell types and factors, which act in a coordinated manner to control tissue damages against pathogenic, traumatic or toxic injury. However, chronic inflammation can contribute to development of cancer, diabetes, cardiovascular, pulmonary, neurological and autoimmune diseases. Inflammation is mediated by eicosanoids generating by arachidonic acid cascade. Prostaglandins are eicosanoids which are responsible of inflammation process, are produced by cyclooxygenase (COX) enzymes. COX enzymes have three isoforms as COX-1, COX-2 and COX-3. COX-1 isoenzyme is called as house-keeping enzyme and it is widespread in mammalian cells and tissues. On the contrary, COX-2 isoenzyme is expressed in inflamed and neoplastic tissues inducing by proinflammatory and mitogenic signals. COX-2 isoenzyme has been implicated several cancer types including in esophageal adenocarcinoma, breast, colon, prostate and lung cancers and leads to apoptosis, proliferation, angiogenesis, invasion and metastasis. Also, COX-2 isoenzyme can contribute to neuroinflammation in neurodegenerative disorders by inducing inflammation and oxidative stress.

This study was designed to develop more effective and safe drug molecule candidates to use in treatment of disorders which are caused or contributed by inflammation. For this purpose, rasem thalidomide molecule was chosen as the



leader compound for its non-selective COX inhibitor and weak COX-2 selective inhibitor activity.

Thalidomide had been used as sedative/hypnotic and antiemetic drug from 1950s to 1960s, then it had been withdrawn from market for its teratogenic activity in 1960s. It was approved by FDA for the treatment of Hansen disease in 1998 and multiple myeloma in 2006. Thalidomide has various beneficial pharmacological activities as anticachexia, anti-inflammatory, antitumor, anti-angiogenic, tumor cell invasion-inhibiting activity and hypoglycemic effect. The skeleton of thalidomide has been used for development of various biological active compounds such as TNF- $\alpha$  regulators, androgen antagonists and cyclooxygenase inhibitors.

Molecular simplification is performed by diminution or simplification of the molecular structure to protect or develop the biological activities of natural or synthetic structures. In our study, molecular simplification was used for designing thalidomide's non-rigid analogs. For this purpose, certain molecular modifications were realized on thalidomide's phthalimide and piperidin-2,6-one rings. First modification was the replacement of phthalimide ring with benzamide, 2-pyridinecarboxamide, 3-pyridinecarboxamide, 4-pyridinecarboxamide and 2-thiophenecarboxamide. Second modification was the replacement of piperidin-2,6-dione with an *N*-substituted acetamide group.

For this purpose, five different general structures, namely 2-benzamidoacetamide, 2-(thiopene-2-carboxamido)acetamide, 2-nicotinamidoacetamide, 2-isonicotinamidoacetamide and 2-(2-picolinamido)acetamide were designed. 2-Benzamidoacetamide and 2-(thiopene-2-carboxamido)acetamide derivatives were prepared by modifying study of Singh and co-workers. 2-nicotinamidoacetamide, 2-isonicotinamidoacetamide and 2-(2-

picolinamido)acetamide derivatives were prepared by modifying study of Singh and co-workers and study of Kurita and co-workers.

The structures of the synthesized compounds were confirmed by elemental analysis and UV, IR, MASS and <sup>1</sup>H NMR data. The biological inhibitor potency of the title compounds on COX-2 isoenzyme expression and PGE<sub>2</sub> biosynthesis were evaluated with cell culture techniques. A-549 human lung adenocarcinoma epithelial cell line were used. The inhibitor activity of the compounds on COX-2 enzyme expression was evaluated by immunoblotting technique and IC<sub>50</sub> values were recorded. And also, the activity of the compounds on *in vitro* PGE<sub>2</sub> biosynthesis was evaluated by Prostaglandin E<sub>2</sub> Enzyme Immuno Assay kit and IC<sub>50</sub> values were recorded.

*N*-(2-morpholino-2-oxoethyl)thiopene-2-carboxamide, *N*-[2-(isopropylamino)-2-oxoethyl]thiopene-2-carboxamide, *N*-(2-morpholino-2-oxoethyl)nicotinamide, *N*-[2-(isopropylamino)-2-oxoethyl]nicotinamide, *N*-[2-(dimethylamino)-2-oxoethyl]nicotinamide, *N*-[2-oxo-2-(phenylamino)ethyl]isonicotinamide, *N*-(2-morpholino-2-oxoethyl)isonicotinamide, *N*-(2-oxo-2-(pyrolydine-1-yl)ethyl)isonicotinamide, *N*-(2-oxo-2-(piperidin-1-yl)ethyl)picolinamide, *N*-(2-morpholino-2-oxoethyl)picolinamide and *N*-[2-(isopropylamino)-2-oxoethyl]picolinamide compounds decreased the PGE<sub>2</sub> level at considerable rate. *N*-[2-oxo-2-(pyrolydine-1-yl)ethyl]isonicotinamide compound decreased PGE<sub>2</sub> level to 50,02 % at 50μM concentration. And also, its inhibitor activity on PGE<sub>2</sub> level was comparable to the reference compound DUP-697.

*N*-[2-(dimethylamino)-2-oxoethyl]thiopene-2-carboxamide, *N*-[2-oxo-2-(pyrolydine-1-yl)ethyl]thiopene-2-carboxamide, *N*-[2-(isopropylamino)-2-oxoethyl]thiopene-2-carboxamide, *N*-[2-(isopropylamino)-2-

oxoethyl]isonicotinamide, *N*-[2-(dimethylamino)-2-oxoethyl]isonicotinamide, *N*-(2-morpholino-2-oxoethyl)picolinamide and *N*-[2-(isopropylamino)-2-oxoethyl]picolinamide compounds decreased COX-2 isoenzyme level by considerable rate in A-549 human lung adenocarcinoma epithelial cell line. *N*-[2-(isopropylamino)-2-oxoethyl]isonicotinamide was the most active compound since it decreased the expression of COX-2 isoenzyme with the ratio 82 % by comparing to the control group.

The results of this study suggest that under the set of the compounds studied, 2-isonicotionyl-*N*-substitutedacetamide structure presents a new starting point in order to design new potent inhibitors of PGE<sub>2</sub> biosynthesis.

## KAYNAKLAR

1. Abouzid, K., Bekhit, S. A. (2008). Novel Anti-inflammatory Agents Based on Pyridazinone Scaffold; Design, Synthesis and In Vivo Activity. *Bioorgan Med Chem*, 16(10):5547-5556.
2. Aggarwal, B., Shishodia, S., Sandur, S., Pandey, M., Sethi, G. (2006). Inflammation and Cancer: How Hot is The Link? *Biochemical Pharmacology*, 72(11):1605-1621.
3. Amir, M., Kumar, H., Javed, S. A. (2007). Synthesis and Pharmacological Evaluation of Condensed Heterocyclic 6-Substituted-1,2,4-triazolo[3,4-b]-1,3,4-thiadiazole Derivatives of Naproxen. *Bioorg Med Chem Lett*, 17(16):4504-4508.
4. Amir, M., Kumar, H., Khan, S. A. (2008). Synthesis and Pharmacological Evaluation of Pyrazoline Derivatives as New Anti-Inflammatory and Analgesic Agents. *Bioorg Med Chem Lett*, 18(3):918-922.
5. Aparicio Gallego, G., Díaz Prado, S., Jiménez Fonseca, P., García Campelo, R., Cassinello Espinosa, J., Antón Aparicio, L. M. (2007). Cyclooxygenase-2 (COX-2): A Molecular Target in Prostate Cancer. *Clinical And Translational Oncology*, 9(11):694-702.
6. Banekovich, C., Ott, I., Koch, T., Matuszczak, B., Gust, R. (2007). Synthesis and Biological Activities of Novel Dexibuprofen Tetraacetylriboflavin Conjugates. *Bioorg Med Chem Lett*, 17(3):683-687.

7. Bauer, J. D., Foster, M. S., Hugdahl, J. D., Burns, K. L., May, S. W., Pollock, S. H., Cutler, H. G., Cutler, S. J. (2007). Synthesis and Pharmacological Evaluation of *m*-Terphenyl Amines as Cyclooxygenase Inhibitors. *Medicinal Chemistry Research*, 16(3):119-129.
8. Bekhit, A. A., Ashour, H. M. A., Abdel Ghany, Y. S., Bekhit, A. E.-D. A., Baraka, A. (2008). Synthesis and Biological Evaluation of Some Thiazolyl and Thiadiazolyl Derivatives of 1*H*-Pyrazole as Anti-Inflammatory Antimicrobial Agents. *Eur J Med Chem*, 43(3):456-463.
9. Bi, L., Zhao, M., Gu, K., Wang, C., Ju, J., Peng, S. (2008). Toward the Development Of Chemoprevention Agents (III): Synthesis and Anti-Inflammatory Activities of a New Class of 5-Glycylamino-2-substituted-phenyl-1,3-dioxacycloalkanes. *Bioorgan Med Chem*, 16(4):1764-1774.
10. Blanco, M.M., Schapira, C.B., Levin, G., Perillo, I.A. (2005). 1,6- and 1,7-Naphthyridines.IV.Synthesis of Hydroxycarboxamide Derivates. *J.Heterocyclic Chem.*, 42(4):493-502.
11. Blobaum, A. L., Marnett, L. J. (2007). Structural and Functional Basis of Cyclooxygenase Inhibition. *J Med Chem*, 50(7):1425-1441.
12. Bogatcheva, N. V., Sergeeva, M. G., Dudek, S. M., Verin, A. D. (2005). Arachidonic Acid Cascade in Endothelial Pathobiology. *Microvasc Res*, 69(3):107-127.
13. Candelario-Jalil, E., Alvarez, D., Castaneda, J. M., Al-Dalain, S. M., Martinez-Sanchez, G., Merino, N., Leon, O. S. (2002). The Highly Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitor DFU is Neuroprotective When Given Several Hours After Transient Cerebral Ischemia in Gerbils. *Brain Res*, 927(2):212-215.

14. Capellari, S., Zaidi, S. I., Urig, C. B., Perry, G., Smith, M. A., Petersen, R. B. (1999). Prion Protein Glycosylation is Sensitive to Redox Change. *J Biol Chem*, 274(49):34846-34850.
15. Chandrika, P. M., Yakaiah, T., Rao, A. R. R., Narsaiah, B., Reddy, N. C., Sridhar, V., Rao, J. V. (2008). Synthesis of Novel 4,6-Disubstituted Quinazoline Derivatives, Their Anti-Inflammatory and Anti-Cancer Activity (Cytotoxic) Against U937 Leukemia Cell Lines. *Eur J Med Chem*, 43(4):846-852.
16. Chen, C.-S., Tan, C.-M., Huang, C.-H., Chang, L.-C., Wang, J.-P., Cheng, F.-C., Chern, J.-W. (2010). Discovery of 3-(4-Bromophenyl)-6-nitrobenzo[1.3.2]dithiazolium Ylide 1,1-Dioxide as a Novel Dual Cyclooxygenase/5-Lipoxygenase Inhibitor That Also Inhibits Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Production. *Bioorgan Med Chem*, 18(2):597-604.
17. Chen, Q.-H., Praveen Rao, P. N., Knaus, E. E. (2005). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Linear 1-(4-, 3- Or 2-Methylsulfonylphenyl)-2-phenylacetylenes: A Novel Class of Cyclooxygenase-2 Inhibitors. *Bioorgan Med Chem*, 13(23):6425-6434.
18. Chen, Q.-H., Praveen Rao, P. N., Knaus, E. E. (2006). Synthesis and Biological Evaluation of a Novel Class of Rofecoxib Analogues as Dual Inhibitors of Cyclooxygenases (COXs) and Lipoxygenases (LOXs). *Bioorgan Med Chem*, 14(23):7898-7909.
19. Chen, Q.-H., Rao, P. N. P., Knaus, E. E. (2005). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of *N*-Acetyl-2-(or 3-)carboxymethylbenzenesulfonamides as Cyclooxygenase Isozyme Inhibitors. *Bioorgan Med Chem*, 13(15):4694-4703.

20. Cheng, H., Lundy Demello, K. M., Li, J., Sakya, S. M., Ando, K., Kawamura, K., Kato, T., Rafka, R. J., Jaynes, B. H., Ziegler, C. B. (2006). Synthesis and SAR of Heteroaryl-phenyl-substituted Pyrazole Derivatives as Highly Selective and Potent Canine COX-2 Inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, 16(8):2076-2080.
21. Chowdhury, M. A., Abdellatif, K. R. A., Dong, Y., Das, D., Suresh, M. R., Knaus, E. E. (2008a). Synthesis of Celecoxib Analogs That Possess A *N*-Hydroxypyrid-2(1*H*)one 5-Lipoxygenase Pharmacophore: Biological Evaluation as Dual Inhibitors of Cyclooxygenases and 5-Lipoxygenase with Anti-Inflammatory Activity. *Bioorg Med Chem Lett*, 18(23):6138-6141.
22. Chowdhury, M. A., Dong, Y., Chen, Q.-H., Abdellatif, K. R. A., Knaus, E. E. (2008b). Synthesis and Cyclooxygenase Inhibitory Activities of Linear 1-(Methanesulfonylphenyl or Benzenesulfonamido)-2-(pyridyl)acetylene Regioisomers. *Bioorgan Med Chem*, 16(4):1948-1956.
23. Chowdhury, M. A., Huang, Z., Abdellatif, K. R. A., Dong, Y., Yu, G., Velázquez, C. A., Knaus, E. E. (2010). Synthesis and Biological Evaluation of Indomethacin Analogs Possessing a *N*-Difluoromethyl-1,2-dihydropyrid-2-one Ring System: A Search for Novel Cyclooxygenase and Lipoxygenase Inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, 20(19):5776-5780.
24. Cipollone, F. (2005). COX-2 and Prostaglandins in Atherosclerosis. *Lupus*, 14(9): 756-759.
25. Compare, D., Nardone, O., Nardone, G. (2010). Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs in the Carcinogenesis of the Gastrointestinal Tract. *Pharmaceuticals*, 3(8): 2495-2516.

26. Corazzi, T. (2003). Effect of Nitric Oxide-Donating Agents on Human Monocyte Cyclooxygenase-2. *Biochem Bioph Res Co*, 311(4):897-903.
27. Costa, C., Incio, J., Soares, R. (2007). Angiogenesis and Chronic Inflammation: Cause or Consequence? *Angiogenesis*, 10(3):149-166.
28. Crisostomo, F. R. P., Carrillo, R., Leon, L. G., Martin, T., Padron, J. M., Martin, V. S. (2006). Molecular Simplification In Bioactive Molecules: Formal Synthesis of (+)-Muconin. *J Org Chem*, 71(6):2339-2345.
29. Cuccurullo, C., Fazia, M. L., Mezzetti, A., Cipollone, F. (2007). COX-2 Expression In Atherosclerosis: The Good, The Bad or The Ugly? *Curr Med Chem*, 14(15):1595-1605.
30. Dannhardt, G., Kiefer, W. (2001). Cyclooxygenase Inhibitors - Current Status and Future Prospects. *Eur J Med Chem* 2001, 36(2):109-126.
31. Dawood, K. M., Abdel-Gawad, H., Rageb, E. A., Ellithey, M., Mohamed, H. A. (2006). Synthesis, Anticonvulsant, and Anti-Inflammatory Evaluation of Some New Benzotriazole and Benzofuran-Based Heterocycles. *Bioorgan Med Chem*, 14(11):3672-3680.
32. De Gaetano, G., Donati, M. B., Cerletti, C. (2003). Prevention of Thrombosis and Vascular Inflammation: Benefits and Limitations of Selective or Combined COX-1, COX-2 and 5-LOX Inhibitors. *Trends Pharmacol Sci*, 24(5):245-252.
33. Decicco, K. L., Tanaka, T., Andreola, F., De Luca, L. M. (2004). The Effect of Thalidomide on Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Cell Lines: Possible Involvement in The PPAR Gamma Pathway. *Carcinogenesis*, 25(10):1805-1812.



34. Duan, W., Chen, W., Yun, Y., Liu, D., Luo, C., Shen, Z. (2009). Serum-Free Medium Evokes Cyclooxygenase-2 Pathway in A549 Cells. *The Open Inflammation Journal*, 2: 34-37.
35. El-Gamal, M. I., Bayomi, S. M., El-Ashry, S. M., Said, S. A., Abdel-Aziz, A. A. M., Abdel-Aziz, N. I. (2010). Synthesis and Anti-Inflammatory Activity of Novel (Substituted)benzylidene Acetone Oxime Ether Derivatives: Molecular Modeling Study. *Eur J Med Chem*, 45(4):1403-1414.
36. Eren, G., Ünlü, S., Nuñez, M.-T., Labeaga, L., Ledo, F., Entrena, A., Banoğlu, E., Costantino, G., Şahin, M. F. (2010). Synthesis, Biological Evaluation, and Docking Studies of Novel Heterocyclic Diaryl Compounds as Selective COX-2 Inhibitors. *Bioorgan Med Chem*, 18(17):6367-6376.
37. Farooq, M., Haq, I., Qureshi, A. S. (2008). Cardiovascular Risks of COX Inhibition: Current Perspectives. *Expert Opin Pharmaco*, 9(8):1311-1319.
38. Feng, Z., Chu, F., Guo, Z., Sun, P. (2009). Synthesis And Anti-Inflammatory Activity of The Major Metabolites of Imrecoxib. *Bioorg Med Chem Lett*, 19(8):2270-2272.
39. Feng, Z., Li, D., Fung, P. C., Pei, Z., Ramsden, D. B., Ho, S. L. (2003). COX-2-Deficient Mice are Less Prone to MPTP-Neurotoxicity than Wild-Type Mice. *Neuroreport*, 14(15):1927-1929.
40. Frolich, J. C. (1997). A Classification Of NSAIDS According to The Relative Inhibition of Cyclooxygenase Isoenzymes. *Trends in Pharmacological Sciences*, 18(1):30-34.
41. Fujita, J., Mestre, J. R., Zeldis, J. B., Subbaramaiah, K., Dannenberg, A. J. (2001). Thalidomide and Its Analogues Inhibit Lipopolysaccharide-Mediated Induction of Cyclooxygenase-2. *Clin Cancer Res* 2001, 7(11):3349-3355.

42. Funk, C. D., Fitzgerald, G. A. (2007). COX-2 Inhibitors and Cardiovascular Risk. *J Cardiovasc Pharm*, 50(5):470-479.
43. Gadad, A. K., Palkar, M. B., Anand, K., Noolvi, M. N., Boreddy, T. S., Wagwade, J. (2008). Synthesis and Biological Evaluation of 2-Trifluoromethyl/Sulfonamido-5,6-diaryl Substituted Imidazo[2,1-b]-1,3,4-thiadiazoles: A Novel Class of Cyclooxygenase-2 Inhibitors. *Bioorgan Med Chem*, 16(1):276-283.
44. Garavito, R. M., Dewitt, D. L. (1999). The Cyclooxygenase Isoforms: Structural Insights into The Conversion of Arachidonic Acid to Prostaglandins. *Bba-Mol Cell Biol L*, 1441(2-3):278-287.
45. García, C., León, L. G., Pungitore, C. R., Ríos-Luci, C., Daranas, A. H., Montero, J. C., Pandiella, A., Tonn, C. E., Martín, V. S., Padrón, J. M. (2010). Enhancement of Antiproliferative Activity by Molecular Simplification of Catalpol. *Bioorgan Med Chem*, 18(7):2515-2523.
46. Gasparini, G., Longo, R., Sarmiento, R., Morabito, A. (2003). Inhibitors of Cyclo-Oxygenase 2: A New Class of Anticancer Agents? *The Lancet Oncology*, 4(10):605-615.
47. Gauthier, M. P., Michaux, C., Rolin, S., Vastersaegher, C., De Leval, X., Julémont, F., Pochet, L., Masereel, B. (2006). Synthesis, Molecular Modelling and Enzymatic Evaluation of ( $\pm$ )-3,5-Diphenyl-2-thioxoimidazolidin-4-ones as New Potential Cyclooxygenase Inhibitors. *Bioorgan Med Chem*, 14(4):918-927.
48. Girgis, A. S., Mishriky, N., Ellithey, M., Hosni, H. M., Farag, H. (2007). Novel Synthesis of [1]-Benzothiepine[5,4-b]pyridine-3-carbonitriles and Their Anti-Inflammatory Properties. *Bioorgan Med Chem*, 15(6):2403-2413.

49. Gros, L., Lorente, S. O., Jimenez, Yardley, V., Rattray, L., Wharton, H., Little, S., Croft, S. L., Ruiz-Perez, L. M., Gonzalez-Pacanowska, D., Gilbert, I. H. (2006). Evaluation of Azasterols as Anti-Parasitics. *J Med Chem*, 49(20):6094-6103.
50. Harousseau, J.-L. (2010). Ten Years of Improvement in The Management of Multiple Myeloma: 2000-2010. *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia*, 10(6):424-442.
51. Harrak, Y., Casula, G., Basset, J., Rosell, G. R., Plescia, S., Raffa, D., Cusimano, M. G., Pouplana, R., Pujol, M. D. (2010). Synthesis, Anti-Inflammatory Activity, and *In Vitro* Antitumor Effect of a Novel Class of Cyclooxygenase Inhibitors: 4-(Aryloyl)phenyl Methyl Sulfones. *J Med Chem*, 53(18):6560-6571.
52. Hashimoto, Y. (2002). Structural Development of Biological Response Modifiers Based on Thalidomide. *Bioorgan Med Chem*, 10(3):461-479.
53. Hashimoto, Y. (2008). Thalidomide as a Multi-Template for Development of Biologically Active Compounds. *Archiv Der Pharmazie*, 341(9):536-547.
54. Hassanein, H. H., Khalifa, M. M., El-Samaloty, O. N., El-Rahim, M. A., Taha, R. A., Magda, Ismail, M. F. (2008). Synthesis and Biological Evaluation of Novel Imidazolone Derivatives as Potential COX-2 Inhibitors. *Archives Of Pharmacal Research*, 31(5):562-568.
55. Haworth, R.D., Peacock, D.H., Smith, W.R., MacGillivray, R. (1952). The Action of Formaldehyde on Proteins. Part II. Some Reactions of *N*-Hydroxymethylamides. *The Universty, Sheffield*, 10, 2972-2980.
56. Hesse, M., Meier, H., Zeeh, B. (1997). Spectroscopic Methods in Organic Chemistry. New York: Thieme; 1997.

57. Horn, S. L., Fentiman, I. S. (2010). The Role of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs in the Chemoprevention of Breast Cancer. *Pharmaceuticals*, 3(5):1550-1560.
58. Horton, E. W., Main, I. H. (1967). Identification of Prostaglandins in Central Nervous Tissues of the Cat and Chicken. *Br J Pharmacol Chemother*, 30(3):582-602.
59. Hörl, W. H. (2010). Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs and the Kidney. *Pharmaceuticals*, 3(7): 2291-2321.
60. Huang, M., Stolina, M., Sharma, S., Mao, J. T., Zhu, L., Miller, P. W., Wollman, J., Herschman, H., Dubinett, S. M. (1998). Non-Small Cell Lung Cancer Cyclooxygenase-2-Dependent Regulation of Cytokine Balance in Lymphocytes and Macrophages: Up-Regulation of Interleukin 10 and Down-Regulation of Interleukin 12 Production. *Cancer Res*, 58(6):1208-1216.
61. Hyde, C. A. C., Missailidis, S. (2009). Inhibition of Arachidonic Acid Metabolism and Its Implication on Cell Proliferation and Tumour-Angiogenesis. *International Immunopharmacology*, 9(6):701-715.
62. Iadecola, C., Sugimoto, K., Niwa, K., Kazama, K., Ross, M. E. (2001). Increased Susceptibility to Ischemic Brain Injury in Cyclooxygenase-1-Deficient Mice. *J Cereb Blood Flow Metab*, 21(12):1436-1441.
63. Ichitani, Y., Shi, T., Haeggstrom, J. Z., Samuelsson, B., Hokfelt, T. (1997). Increased Levels of Cyclooxygenase-2 Mrna in the Rat Spinal Cord After Peripheral Inflammation: An in Situ Hybridization Study. *Neuroreport*, 8(13):2949-2952.

64. James, M. J., Cook-Johnson, R. J., Cleland, L. G. (2007). Selective COX-2 Inhibitors, Eicosanoid Synthesis and Clinical Outcomes: A Case Study of System Failure. *Lipids*, 42(9):779-785.
65. Jiang, B., Zeng, Y., Li, M.-J., Xu, J.-Y., Zhang, Y.-N., Wang, Q.-J., Sun, N.-Y., Lu, T., Wu, X.-M. (2010). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of 1,5-Diaryl-1,2,4-triazole Derivatives as Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitors. *Archiv Der Pharmazie*, 343(9):500-508.
66. Jiang, Q., Yin, X., Lill, M. A., Danielson, M. L., Freiser, H., Huang, J. (2008). Long-Chain Carboxychromanols, Metabolites of Vitamin E, are Potent Inhibitors of Cyclooxygenases. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 105(51):20464-20469.
67. Jin, G. H., Li, H., An, S., Ryu, J.-H., Jeon, R. (2010). Design, Synthesis and Activity of Benzothiazole-Based Inhibitors of NO Production in LPS-Activated Macrophages. *Bioorg Med Chem Lett*, 20(21):6199-6202.
68. Kalgutkar, A. S., Crews, B. C., Saleh, S., Prudhomme, D., Marnett, L. J. (2005). Indolyl Esters and Amides Related to Indomethacin are Selective COX-2 Inhibitors. *Bioorgan Med Chem* 2005, 13(24):6810-6822.
69. Kawabe, J., Ushikubi, F., Hasebe, N. (2010). Prostacyclin in Vascular Diseases. - Recent Insights and Future Perspectives. *Circ J*, 74(5):836-843.
70. Ku, G. Y., Ison, D. H. (2010). Esophagogastric Cancer: Targeted Agents. *Cancer Treatment Reviews*, 36(3):235-248.
71. Kujubu, D. A., Fletcher, B. S., Varnum, B. C., Lim, R. W., Herschman, H. R. (1991). Tis10, A Phorbol Ester Tumor Promoter-Inducible Messenger-Rna From Swiss 3t3 Cells, Encodes a Novel Prostaglandin Synthase

- Cyclooxygenase Homolog. *Journal Of Biological Chemistry*, 266(20):12866-12872.
72. Kurita, K., Nishibori, T., Harata, M. (2002). Synthesis and Asymmetric Reducing Performance of Chitin/Dihydronicotinamide Conjugates Having Glycine or l-Leucine Spacer Arms. *Biomacromolecules*, 3(4):705-709.
73. Lim, C., Lee, M., Park, E.-J., Cho, R., Park, H.-J., Lee, S. J., Cho, H., Lee, S. K., Kim, S. (2010). Sulfonamide Derivatives of Styrylheterocycles as a Potent Inhibitor of COX-2-Mediated Prostaglandin E<sub>2</sub> Production. *Bioorg Med Chem Lett*, 20(23):6938-6941.
74. Lim, H., Son, K. H., Chang, H. W., Bae, K., Kang, S. S., Kim, H. P. (2008). Anti-Inflammatory Activity of Pectolinarigenin and Pectolinarin Isolated from *Cirsium Chanroenicum*. *Biol Pharm Bull*, 31(11):2063-2067.
75. Lin, S.-J., Tsai, W.-J., Chiou, W.-F., Yang, T.-H., Yang, L.-M. (2008). Selective COX-2 Inhibitors. Part 2: Synthesis and Biological Evaluation of 4-Benzylideneamino- and 4-Phenyliminomethyl-benzenesulfonamides. *Bioorgan Med Chem*, 16(5):2697-2706.
76. Manabe, Y., Anrather, J., Kawano, T., Niwa, K., Zhou, P., Ross, M. E., Iadecola, C. (2004). Prostanoids, Not Reactive Oxygen Species, Mediate COX-2-Dependent Neurotoxicity. *Ann Neurol*, 55(5):668-675.
77. Mao, J. T., Cui, X. Y., Reckamp, K., Liu, M., Krysan, K., Dalwadi, H., Sharma, S., Hazra, S., Strieter, R., Gardner, B., Dubinett, S. M. (2005). Chemoprevention Strategies with Cyclooxygenase-2 Inhibitors for Lung Cancer. *Clin Lung Cancer*, 7(1):30-39.
78. Martel-Pelletier, J., Lajeunesse, D., Reboul, P., Pelletier, J. P. (2003). Therapeutic Role of Dual Inhibitors of 5-LOX and COX, Selective and Non-

- Selective Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Ann Rheum Dis*, 62(6):501-509.
79. Mendes, R. A., Carvalho, J. F. C., Van Der Waal, I. (2009). An Overview on the Expression of Cyclooxygenase-2 in Tumors of the Head and Neck. *Oral Oncol*, 45(10):E124-E128.
80. Minghetti, L., Greco, A., Cardone, F., Puopolo, M., Ladogana, A., Almonti, S., Cunningham, C., Perry, V. H., Pocchiari, M., Levi, G. (2000). Increased Brain Synthesis of Prostaglandin E<sub>2</sub> And F<sub>2</sub>-Isoprostane in Human and Experimental Transmissible Spongiform Encephalopathies. *J Neuropathol Exp Neurol*, 59(10):866-871.
81. Mitchell, J. A., Belvisi, M. G., Akarasereenont, P., Robbins, R. A., Kwon, O. J., Croxtall, J., Barnes, P. J., Vane, J. R. (1994). Induction of Cyclooxygenase-2 by Cytokines in Human Pulmonary Epithelial Cells: Regulation by Dexamethasone. *Br J Pharmacol*, 113(3):1008-1014.
82. Moreau, A., Chen, Q.-H., Praveen Rao, P. N., Knaus, E. E. (2006). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of (*E*)-3-(4-Methanesulfonylphenyl)-2-(aryl)acrylic Acids as Dual Inhibitors of Cyclooxygenases and Lipoxygenases. *Bioorgan Med Chem*, 14(23):7716-7727.
83. Moreau, A., Praveen Rao, P. N., Knaus, E. E. (2006). Synthesis and Biological Evaluation of Acyclic Triaryl (*Z*)-Olefins Possessing A 3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl Pharmacophore: Dual Inhibitors of Cyclooxygenases and Lipoxygenases. *Bioorgan Med Chem*, 14(15):5340-5350.
84. Naumova, B. S., Chekmareva, I.B., Zhdanovich, E.S. , Preobrazanskii, N.A. (1969). Production of Nicotinic Acid Derivatives. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*, 5: 11-12.

85. Navidpour, L., Shadnia, H., Shafaroodi, H., Amini, M., Dehpour, A. R., Shafiee, A. (2007). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Substituted 2-Alkylthio-1,5-diarylimidazoles as Selective COX-2 Inhibitors. *Bioorgan Med Chem*, 15(5):1976-1982.
86. Navidpour, L., Shafaroodi, H., Abdi, K., Amini, M., Ghahremani, M. H., Dehpour, A. R., Shafiee, A. (2006). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Substituted 3-Alkylthio-4,5-diaryl-4H-1,2,4-triazoles as Selective COX-2 Inhibitors. *Bioorgan Med Chem* 2006, 14(8):2507-2517.
87. Niwa, K., Haensel, C., Ross, M. E., Iadecola, C. (2001). Cyclooxygenase-1 Participates in Selected Vasodilator Responses of The Cerebral Circulation. *Circ Res* 2001, 88(6):600-608.
88. Nogawa, S., Zhang, F., Ross, M. E., Iadecola, C. (1997). Cyclo-Oxygenase-2 Gene Expression in Neurons Contributes to Ischemic Brain Damage. *J Neurosci*, 17(8):2746-2755.
89. Noguchi, T., Shimazawa, R., Nagasawa, K., Hashimoto, Y. (2002). Thalidomide and Its Analogues as Cyclooxygenase Inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, 12(7):1043-1046.
90. Onn, A., Tseng, J. E., Herbst, R. S. (2001). Thalidomide, Cyclooxygenase-2, and Angiogenesis: Potential for Therapy. *Clin Cancer Res*, 7(11):3311-3313.
91. Palomer, A., Perez, J. J., Navea, S., Llorens, O., Pascual, J., Garcia, L., Mauleon, D. (2000). Modeling Cyclooxygenase Inhibition. Implication of Active Site Hydration on The Selectivity of Ketoprofen Analogues. *J Med Chem* 2000, 43(11):2280-2284.



92. Panigrahy, D., Kaipainen, A., Greene, E. R., Huang, S. (2010). Cytochrome P450-Derived Eicosanoids: The Neglected Pathway in Cancer. *Cancer And Metastasis Reviews*, 29(4):723-735.
93. Phillis, J. W., Horrocks, L. A., Farooqui, A. A. (2006). Cyclooxygenases, Lipoxygenases, and Epoxygenases in CNS: Their Role and Involvement in Neurological Disorders. *Brain Research Reviews*, 52(2):201-243.
94. Raffa, D., Migliara, O., Maggio, B., Plescia, F., Cascioferro, S., Cusimano, M. G., Tringali, G., Cannizzaro, C., Plescia, F. (2010). Pyrazolobenzotriazinone Derivatives as COX Inhibitors: Synthesis, Biological Activity, and Molecular-Modeling Studies. *Archiv Der Pharmazie*, 343(11-12):631-638.
95. Rao, P. N. P., Chen, Q.-H., Knaus, E. E. (2005). Synthesis and Biological Evaluation of 1,3-Diphenylprop-2-yn-1-ones as Dual Inhibitors of Cyclooxygenases and Lipoxygenases. *Bioorg Med Chem Lett*, 15(21):4842-4845.
96. Rao, P. P. N., Kabir, S. N., Mohamed, T. (2010). Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs): Progress in Small Molecule Drug Development. *Pharmaceuticals*, 3(5):1530-1549.
97. Reddy, M. V. R., Billa, V. K., Pallela, V. R., Mallireddigari, M. R., Boominathan, R., Gabriel, J. L., Reddy, E. P. (2008). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of 1-(4-Sulfamylphenyl)-3-trifluoromethyl-5-indolyl Pyrazolines as Cyclooxygenase-2 (COX-2) and Lipoxygenase (LOX) Inhibitors. *Bioorgan Med Chem*, 16(7):3907-3916.
98. Rehse, K., Steege, J. (2005). Synthesis and Antiplatelet Activity of New Imidazole-4-carboxylic Acid Derivatives. *Archiv Der Pharmazie* 2005, 338(11):539-547.

99. Renard, J.-F. O., Arslan, D., Garbacki, N., Pirotte, B., De Leval, X. (2009). Pyridine Analogues of Nimesulide: Design, Synthesis, and In Vitro And In Vivo Pharmacological Evaluation as Promising Cyclooxygenase 1 and 2 Inhibitors. *J Med Chem*, 52(19):5864-5871.
100. Rosati, O., Curini, M., Marcotullio, M. C., Macchiarulo, A., Perfumi, M., Mattioli, L., Rismondo, F., Cravotto, G. (2007). Synthesis, Docking Studies and Anti-Inflammatory Activity of 4,5,6,7-Tetrahydro-2H-indazole Derivatives. *Bioorgan Med Chem*, 15(10):3463-3473.
101. Sampaio, E. P., Carvalho, D.S., Nery, J.A.C., Lopes, U.G., Sarno, E.N. (2006). Thalidomide: An Overview of Its Pharmacological Mechanisms of Action. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry*, 5:71-77.
102. San Juan, A. A., Cho, S. J., Cho, H. (2006). HQSAR Study Of Microsomal Prostaglandin E<sub>2</sub> Synthase (mPGES-1) Inhibitors. *B Korean Chem Soc*, 27(10):1531-1536.
103. Sano, H., Noguchi, T., Tanatani, A., Hashimoto, Y., Miyachi, H. (2005). Design and Synthesis of Subtype-Selective Cyclooxygenase (COX) Inhibitors Derived from Thalidomide. *Bioorgan Med Chem*, 13(9):3079-3091.
104. Saqid, A., Karigar, C.S. (2009). Cyclooxygenase Isoforms in Health and Disease. *The Internet Journal Of Pharmacology*, 7(1).
105. Scholz, M., Ulbrich, H. K., Dannhardt, G. (2008). Investigations Concerning The COX/5-LOX Inhibiting and Hydroxyl Radical Scavenging Potencies of Novel 4,5-Diaryl Isoselenazoles. *Eur J Med Chem*, 43(6):1152-1159.
106. Schwyzer, R., Feurer, M., Iselin, B. (1955) Über Aktivierte Ester. III. Umsetzungen Aktivierter Ester von Aminosäure und Peptid-Derivaten mit Aminen und Aminosäureestern. *Helvetica Chimica Acta.*, 19(10):83-91.

107. Selvam, C., Jachak, S. M., Thilagavathi, R., Chakraborti, A. K. (2005). Design, Synthesis, Biological Evaluation and Molecular Docking of Curcumin Analogues as Antioxidant, Cyclooxygenase Inhibitory and Anti-Inflammatory Agents. *Bioorg Med Chem Lett*, 15(7):1793-1797.
108. Shamshina, J. L., Snowden, T. S. (2007). Convergent Synthesis of Potent COX-2 Inhibitor Inotilone. *Tetrahedron Lett*, 48(22):3767-3769.
109. Sievers, E., Bart, R., Backhus, L., Lin, Y., Starnes, M., Castanos, R., Starnes, V., Bremner, R. (2005). Evaluation of Cyclooxygenase-2 Inhibition in An Orthotopic Murine Model of Lung Cancer for Dose-Dependent Effect. *The Journal Of Thoracic And Cardiovascular Surgery*, 129(6):1242-1249.
110. Silverstein R. M, Bassler, G. C., Morrill, T. C. (1981) Spectrometric Identifacation of Organic Compounds, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore: John Wiley & Sons., 4<sup>th</sup> Edition.
111. Silverstein, R. M., Webster, F. X., Kiemle, D. J. (2005). Spectrometric Identification of Organic Compounds, Seventh Edn. New Jersey: John Wiley & Sons Inc., 7<sup>th</sup> Edition.
112. Singh, K. K., Singh, M. K., Singh, R. M. (1994). Transformation of *N*-Acylaminoacetanilides and *N*-Benzoylglycine Hydrazides into 4-(*N,N*-Dimethylaminomethylene)-2-aryl-2-oxazolin-5-ones Using Vilsmeier-Haack Reagent And Their Reactions with Nucleophiles. *Indian J Chem B*, 33(12):1119-1122.
113. Singh, P., Mittal, A., Bhardwaj, A., Kaur, S., Kumar, S. (2008). 1-Toluene-sulfonyl-3-[(3'-hydroxy-5'-substituted)- $\Gamma$ -butyrolactone]-indoles: Synthesis, COX-2 Inhibition and Anti-Cancer Activities. *Bioorg Med Chem Lett* 2008, 18(1):85-89.

114. Smith, C. J., McKay, G. A., Fisher, M. (2008). Colorectal Cancer and Cyclooxygenase 2 Inhibition. *Int J Clin Pract*, 62(5):810-815.
115. Swarbrick, M. E., Beswick, P. J., Gleave, R. J., Green, R. H., Bingham, S., Bountra, C., Carter, M. C., Chambers, L. J., Chessell, I. P., Clayton, N. M. (2009). Identification of [4-[4-(Methylsulfonyl)phenyl]-6-(trifluoromethyl)-2-pyrimidinyl] Amines and Ethers as Potent and Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, 19(15):4504-4508.
116. Takadera, T., Yumoto, H., Tozuka, Y., Ohyashiki, T. (2002). Prostaglandin E(2) Induces Caspase-Dependent Apoptosis in Rat Cortical Cells. *Neurosci Lett*, 317(2):61-64.
117. Teismann, P., Tieu, K., Choi, D. K., Wu, D. C., Naini, A., Hunot, S., Vila, M., Jackson-Lewis, V., Przedborski, S. (2003). Cyclooxygenase-2 is Instrumental in Parkinson's Disease Neurodegeneration. *P Natl Acad Sci USA*, 100(9):5473-5478.
118. Thomsen, I., Pedersen, U., Rasmussen, P.B., Yde, B., Andersen, T.P., Lawesson S.O. (1983). Novel and Convenient Methods for the Preparation of Substituted Thiophenes, Thiazoles, and 1,3,4-Thiadiazole-2(3H)-Thiones from Bifunctional Substrates. *Chemistry Letters* :809-810.
119. Tocco, G., Freire-Moar, J., Schreiber, S. S., Sakhi, S. H., Aisen, P. S., Pasinetti, G. M. (1997). Maturational Regulation and Regional Induction of Cyclooxygenase-2 in Rat Brain: Implications For Alzheimer's Disease. *Exp Neurol*, 144(2):339-349.
120. Tsai, W., Shiao, Y., Lin, S., Chiou, W., Lin, L., Yang, T., Teng, C., Wu, T., Yang, L. (2006). Selective COX-2 Inhibitors. Part 1: Synthesis and Biological

- Evaluation of Phenylazobenzenesulfonamides. *Bioorg Med Chem Lett*, 16(17):4440-4443.
121. Velázquez, C., Rao, P. N. P., McDonald, R., Knaus, E. E. (2005). Synthesis and Biological Evaluation of 3,4-Diphenyl-1,2,5-oxadiazole-2-oxides and 3,4-Diphenyl-1,2,5-oxadiazoles as Potential Hybrid COX-2 Inhibitor/Nitric Oxide Donor Agents. *Bioorgan Med Chem*, 13(8):2749-2757.
122. Wang, J. L., Limburg, D., Graneto, M. J., Springer, J., Hamper, J. R. B., Liao, S., Pawlitz, J. L., Kurumbail, R. G., Maziasz, T., Talley, J. J. (2010). The Novel Benzopyran Class of Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitors. Part 2: The Second Clinical Candidate Having A Shorter and Favorable Human Half-Life. *Bioorg Med Chem Lett*, 20(23):7159-7163.
123. Weggen, S., Rogers, M., Eriksen, J. (2007). NSAIDS: Small Molecules for Prevention of Alzheimer's Disease or Precursors for Future Drug Development? *Trends In Pharmacological Sciences*, 28(10):536-543.
124. Xie, W. L., Chipman, J. G., Robertson, D. L., Erikson, R. L., Simmons, D. L. (1991). Expression of a Mitogen-Responsive Gene Encoding Prostaglandin Synthase is Regulated by Mrna Splicing. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991, 88(7):2692-2696.
125. Zanatta, S. D., Manallack, D. T., Jarrott, B., Williams, S. J. (2009). Synthesis and Evaluation of Dithiolethiones as Novel Cyclooxygenase Inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, 19(2):459-461.
126. Zarghi, A., Arfaee, S., Rao, P. N. P., Knaus, E. E. (2006a). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of 1,3-Diarylprop-2-en-1-ones : A Novel Class of Cyclooxygenase-2 Inhibitors. *Bioorgan Med Chem*, 14(8):2600-2605.

127. Zarghi, A., Ghodsi, R., Azizi, E., Daraie, B., Hedayati, M., Dadrass, O. G. (2009a). Synthesis and Biological Evaluation of New 4-Carboxyl Quinoline Derivatives as Cyclooxygenase-2 Inhibitors. *Bioorgan Med Chem* 2009, 17(14):5312-5317.
128. Zarghi, A., Kakhgi, S., Hadipoor, A., Daraee, B., Dadrass, O. G., Hedayati, M. (2008). Design and Synthesis of 1,3-Diarylurea Derivatives as Selective Cyclooxygenase (COX-2) Inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, 18(4):1336-1339.
129. Zarghi, A., Najafnia, L., Daraee, B., Dadrass, O. G., Hedayati, M. (2007). Synthesis of 2,3-Diaryl-1,3-thiazolidine-4-one Derivatives as Selective Cyclooxygenase (COX-2) Inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, 17(20):5634-5637.
130. Zarghi, A., Zebardast, T., Daraie, B., Hedayati, M. (2009b). Design and Synthesis of New 1,3-Benzthiazinan-4-one Derivatives as Selective Cyclooxygenase (COX-2) Inhibitors. *Bioorgan Med Chem*, 17(15):5369-5373.
131. Zarghi, A., Zebardast, T., Hakimion, F., Shirazi, F. H., Praveen Rao, P. N., Knaus, E. E. (2006b). Synthesis and Biological Evaluation of 1,3-Diphenylprop-2-en-1-ones Possessing a Methanesulfonamido or an Azido Pharmacophore as Cyclooxygenase-1/2 Inhibitors. *Bioorgan Med Chem*, 14(20):7044-7050.
132. Zebardast, T., Zarghi, A., Daraie, B., Hedayati, M., Dadrass, O. G. (2009). Design and Synthesis of 3-Alkyl-2-aryl-1,3-thiazinan-4-one Derivatives as Selective Cyclooxygenase (COX-2) Inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, 19(12):3162-3165.
133. Zheng, X., Oda, H., Takamatsu, K., Sugimoto, Y., Tai, A., Akaho, E., Ali, H. I., Oshiki, T., Kakuta, H., Sasaki, K. (2007). Analgesic Agents without Gastric

Damage: Design and Synthesis of Structurally Simple Benzenesulfonamide-Type Cyclooxygenase-1-Selective Inhibitors. *Bioorgan Med Chem*, 15(2):1014-1021.

## ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Uşak'ta doğdum. İlköğrenimimi Uşak Atatürk İlkokulunda, orta öğrenimimi Uşak Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 1996 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesini kazandım. Başlamış olduğum lisans eğitimimi 2001 yılında tamamladım. Aynı yıl Ege Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü tarafından açılan Farmasötik Kimya Programı Yüksek Lisans sınavını kazandım ve aynı anabilim dalında yüksek lisans programına başladım. 2001 yılında Sağlık Bilimleri Enstitüsünde Araştırma Görevlisi kadrosuna atandım. Halen bu görevime devam etmekteyim. 2004 yılında Farmasötik Kimya Anabilim dalı yüksek lisans programını tamamladım. 2005 yılında Ege Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü tarafından açılan Farmasötik Kimya Doktora Programına kayıtlıyım. 2005-2006 yılları arasında doktora programına ara vererek TC Milli Savunma Bakanlığı İlaç Fabrikası Komutanlığı'nda askerlik görevimi yerine getirdim. 2006 yılında Ege Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Farmasötik Kimya Doktora Programına tekrar kayıtlıyım.

Farmasötik ve Medisinal Kimya Derneği üyesiyim.