

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GLİKOJEN SENTAZ KİNAZ-3 BETA İNHİBİTÖRÜ OLABİLECEK
YENİ MALEİMİD TÜREVLERİNİN SENTEZİ

ELİF BAŞAK ERSOY

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
ORGANİK KİMYA PROGRAMI

DANIŞMAN
PROF. DR. ÇİĞDEM YOLAÇAN

İSTANBUL, 2019

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GLİKOJEN SENTAZ KİNAZ-3 BETA İNHİBİTÖRÜ OLABİLECEK
YENİ MALEİMİD TÜREVLERİNİN SENTEZİ

Elif Başak Ersoy tarafından hazırlanan tez çalışması 29.03.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Organik Kimya Programı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Çiğdem Yolaçan
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Çiğdem YOLAÇAN
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Feray AYDOĞAN
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Turan ÖZTÜRK
İstanbul Teknik Üniversitesi



Bu alışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 117Z307 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisansa başladığım süreçte ve tez çalışmalarım sırasında değerli bilgileriyle beni yönlendiren, her durumda ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, birlikte geçirebildiğim her anın bana birçok şey kattığına inandığım, değerli bilgileri ile aydınlandığım, çalışma disiplini, özverisi, azmi, bilime kendini adanmışlığı ve yol gösterir olması ile feyzaldığım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Nüket Öcal'ı minnetle anıyor, sonsuz şükranlarımı sunuyorum.

Tez çalışmamın hazırlanması sırasında değerli bilgi ve görüşlerini benimle paylaşan, yardım ve desteklerini esirgmeden bana tecrübeleriyle yol gösteren, sevgili hocam Sayın Prof. Dr. Çiğdem Yolaçan'a teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım ve tez aşamasında bilgisinden ve tecrübelerinden faydalandığım değerli hocam Arş. Gör. Dr. Ömer Tahir Günkara'ya ve tez çalışmam boyunca bana destek olan değerli arkadaşlarım Öznur Eyilcim ve Fatma Albayrak'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca desteğini gördüğüm, her zaman yanımda olan ve bugünlere gelmemi sağlayan aileme, emeği geçen tüm arkadaşlarıma ve hocalarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Biyolojik aktivite çalışmaları ile tez çalışmama katkıda bulunan Yrd. Doç. Dr. Yuk Yin Ng ve Fulya GÜNAY'a teşekkürlerimi sunarım.

Türkiye Bilimsel ve Araştırma Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK Proje no: 117Z307) sağladığı maddi destekten dolayı teşekkür ederiz.

Mart, 2019

Elif Başak ERSOY

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KISALTMA LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
ÇİZELGE LİSTESİ	xiv
ÖZET	xv
ABSTRACT	xvii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	4
1.3 Hipotez	5
BÖLÜM 2	
HETEROHALKALI BİLEŞİKLER	6
2.1 Pirrol	6
2.1.1 Pirrol İçeren Heterohalkalı Bileşikler	7
2.2 İndazol ve Türevleri.....	11
2.2.1 1H-İndazollerin Sentezi.....	12
2.2.2 İndazol Türevlerinin Biyolojik Aktiviteleri.....	14
2.3 Maleimid ve Türevleri	17
2.3.1 Maleimid Türevlerinin Sentezi.....	18
2.3.2 Maleimid ve Türevlerinin Reaksiyonları	22
2.3.2.1 N- Substitue Maleimidlerin Aldehitlerle Kondenzasyonu.....	22
2.3.2.2 N- Nükleofillerle Reaksiyonu.....	22
2.3.2.3 Cross-Coupling Reaksiyonları	23
2.3.2.4 Diels-Alder Reaksiyonu ([4+2] Siklokatalıma)	24
2.3.2.5 1,3-Siklokatalıma Reaksiyonu ([3+2] Siklokatalıma)	24
2.3.2.6 Michael Katılması Reaksiyonu.....	25
2.3.3 Maleimid Türevlerinin Biyolojik Aktiviteleri	25

2.3.4	Maleimid Türevlerinin Diğer Uygulamaları	29
BÖLÜM 3		
	Glikojen Sentaz Kinaz-3 (GSK-3 ENZİMİ)	34
3.1	GSK-3 Enzim İnhibisyonu	36
3.2	GSK-3 İnhibitörlerin Klinik Çalışmalar Altında İncelemeleri.....	38
3.3	GSK-3 İnhibitör Aktivite Sergileyen Maleimid Bileşikleri	38
BÖLÜM 4		
	DENEYSEL ÇALIŞMALAR ve BULGULAR	41
4.1	Materyal ve Yöntem	41
4.1.1	Kullanılan Kimyasal Maddeler	41
4.1.2	Kullanılan Cihaz ve Yardımcı Gereçler	43
4.1.3	Schlenk Sistemi	43
4.1.4	Susuz N,N-Dimetilformamid Hazırlanması	43
4.1.5	Susuz Piridinin Hazırlanması	43
4.1.6	Susuz Diklorometanın Hazırlanması	44
4.1.7	Susuz Dikloroetanin Hazırlanması	44
4.1.8	Susuz Tetrahidrofuran Hazırlanması	44
4.1.9	Susuz Etanolün Hazırlanması	44
4.1.10	Susuz Aseton Hazırlanması	44
4.1.11	Renk Reaktifinin Hazırlanması	44
4.2	Başlangıç Maddesi Olarak Kullanılan 1-(Triizopropilsilil)-1 <i>H</i> -pirol'ün Hazırlanması (Bileşik 1, C ₁₃ H ₂₅ NSi).....	46
4.2.1	Bileşik 1'in Spektroskopik Analiz Verileri.....	46
4.3	Başlangıç Maddesi Olarak Kullanılan Etil 2-okso-2-(1 <i>H</i> -pirol-3-il)asetat'ın Hazırlanması (Bileşik 2, C ₈ H ₉ NO ₃).....	48
4.3.1	Bileşik 2'in Spektroskopik Analiz Verileri.....	48
4.4	Başlangıç Maddesi Olarak Kullanılan 3-Amino-3-(2-nitrofenil)propanoik asit'in Hazırlanması (Bileşik 3, C ₉ H ₁₀ N ₂ O ₄)	51
4.4.1	Bileşik 3'ün Spektroskopik Analiz Verileri.....	51
4.5	Başlangıç Maddesi Olarak Kullanılan 2-(1 <i>H</i> -İndazol-3-il)asetik asit'in Hazırlanması (Bileşik 4, C ₉ H ₈ N ₂ O ₂).....	53
4.5.1	Bileşik 4'ün Spektroskopik Analiz Verileri.....	53
4.6	Başlangıç Maddesi Olarak Kullanılan 2-(1 <i>H</i> -İndazol-3-il)asetamid'in Hazırlanması (Bileşik 5, C ₉ H ₉ N ₃ O).....	58
4.6.1	Bileşik 5'in Spektroskopik Analiz Verileri.....	59
4.7	3-(1 <i>H</i> -İndazol-3-il)-4-(1 <i>H</i> -pirol-3-il)-1 <i>H</i> -pirol-2,5-dion Bileşiğinin Sentezi (Bileşik 6, C ₁₅ H ₁₀ N ₄ O ₂).....	64
4.7.1	Bileşik 6'nın Spektroskopik Analiz Verileri.....	65
4.8	1-(4-Bromobütil)-4-(1-(4-bromobütil)-1 <i>H</i> -indazol-3-il)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -[3,3'-bipirrol]-2,5-dion Bileşiğinin Sentezi (Bileşik 7, C ₂₃ H ₂₄ Br ₂ N ₄ O ₂)	70
4.8.1	Bileşik 7'nin Spektroskopik Analiz Verileri.....	71

4.9	1-(4-(4-(2,3-Diklorofenil)piperazin-1-il)bütül)-4-(1-(4-(4-(2,3-diklorofenil)piperazin-1-il)bütül)-1 <i>H</i> -indazol-3-il)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -[3,3'-bipirol]-2,5-dion Bileşğinin Sentezi (Bileşik 8, C ₄₃ H ₄₆ Cl ₄ N ₈ O ₂).....	77
4.9.1	Bileşik 8'in Spektroskopik Analiz Verileri.....	78
4.10	1-(4-(4-(pirimidin-2-il)piperazin-1-il)bütül)-4-(1-(4-(4-(pirimidin-2-il)piperazin-1-il)bütül)-1 <i>H</i> -indazol-3-il)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -[3,3'-bipirol]-2,5-dion Bileşğinin Sentezi (Bileşik 9, C ₃₉ H ₄₆ N ₁₂ O ₂).....	83
4.10.1	Bileşik 9'un Spektroskopik Analiz Verileri.....	84
4.11	1-(4-Bromobütül)-3-(1-(4-bromobütül)-1 <i>H</i> -indazol-3-il)-4-(1-(4-bromobütül)-1 <i>H</i> -pirol-3-il)-1 <i>H</i> -pirol-2,5-dion Bileşğinin Sentezi (Bileşik 10, C ₂₇ H ₃₁ Br ₃ N ₄ O ₂)	89
4.11.1	Bileşik 10'un Spektroskopik Analiz Verileri	90
4.12	1,1'-Bis(4-(4-(2,3-diklorofenil)piperazin-1-il)bütül)-4-(1-(4-(4-(2,3-diklorofenil)piperazin-1-il)bütül)-1 <i>H</i> -indazol-3-il)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -[3,3'-bipirol]-2,5-dion Bileşğinin Sentezi (Bileşik 11, C ₅₇ H ₆₄ Cl ₆ N ₁₀ O ₂)	95
4.12.1	Bileşik 11'in Spektroskopik Analiz Verileri.....	96
4.13	1,1'-Bis(4-(4-(pirimidin-2-il)piperazin-1-il)bütül)-4-(1-(4-(4-(pirimidin-2-il)piperazin-1-il)bütül)-1 <i>H</i> -indazol-3-il)-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -[3,3'-bipirol]-2,5-dion Bileşğinin Sentezi (Bileşik 12, C ₅₁ H ₆₄ N ₁₆ O ₂).....	101
4.13.1	Bileşik 12'nin Spektroskopik Analiz Verileri.....	102
4.14	1-(4-(4-Metilpiperazin-1-il)bütül)-3-(1-(4-(4-metilpiperazin-1-il)bütül)-1 <i>H</i> -indazol-3-il)-4-(1-(4-(4-metilpiperazin-1-il)bütül)-1 <i>H</i> -pirol-3-il)-1 <i>H</i> -pirol-2,5-dion Bileşğinin Sentezi (Bileşik 13, C ₄₂ H ₆₄ N ₁₀ O ₂)	107
4.14.1	Bileşik 13'ün Spektroskopik Analiz Verileri	108
4.15	1-(4-Morfolinobütül)-3-(1-(4-morfolinobütül)-1 <i>H</i> -indazol-3-il)-4-(1-(4-morfolinobütül)-1 <i>H</i> -pirol-3-il)-1 <i>H</i> -pirol-2,5-dion Bileşğinin Sentezi (Bileşik 14, C ₃₉ H ₅₅ N ₇ O ₅)	113
4.15.1	Bileşik 14'ün Spektroskopik Analiz Verileri	114
4.16	1-(4-Azidobütül)-3-(1-(4-azidobütül)-1 <i>H</i> -indazol-3-il)-4-(1-(4-azidobütül)-1 <i>H</i> -pirol-3-il)-1 <i>H</i> -pirol-2,5-dion Bileşğinin Sentezi (Bileşik 15, C ₂₇ H ₃₁ N ₁₃ O ₂).....	119
4.16.1	Bileşik 15'in Spektroskopik Analiz Verileri.....	120
4.17	1-(4-(4-Fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)bütül)-3-(1-(4-(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)bütül)-1 <i>H</i> -indazol-3-il)-4-(1-(4-(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)bütül)-1 <i>H</i> -pirol-3-il)-1 <i>H</i> -pirol-2,5-dion Bileşğinin Sentezi (Bileşik 16, C ₅₁ H ₄₉ N ₁₃ O ₂).....	125
4.17.1	Bileşik 16'nın Spektroskopik Analiz Verileri.....	126

BÖLÜM 5

MTT ASSAY YÖNTEMİ ve ANTİ-KANSER ÇALIŞMALARI 131

5.1	MTT Assay Yönteminin Uygulanması.....	132
5.1.1	Nalm-6 Tipi Lösemi Kanser Hücreleri için MTT ASSAY Çalışması	135
5.1.2	REH Tipi Lösemi Kanser Hücreleri için MTT ASSAY Çalışması.....	136
5.1.3	K-562 Tipi Lösemi Kanser Hücreleri için MTT ASSAY Çalışması	137
5.1.4	Molt-4 Tipi Lösemi Kanser Hücreleri için MTT ASSAY Çalışması	138
5.1.5	Jurkat Tipi Lösemi Kanser Hücreleri için MTT ASSAY Çalışması.....	139

BÖLÜM 6

SONUÇ VE ÖNERİLER	141
KAYNAKLAR.....	149
ÖZGEÇMİŞ.....	161



KISALTMA LİSTESİ

APT	Ekli Proton Test
DCC	Disikloheksilkarbodiimid
DCM	Diklorometan
DMF	Dimetilformamid
DMSO	Dimetilsülfoksit
Eq.	Ekivalent
EtOH	Etil alkol
FTIR	Fourier Transformu Kırmızı Ötesi Spektroskopisi
GC	Gaz Kromatografisi
GSK-3 β	Glikojen Sentaz Kinaz-3 Beta
HCl	Hidroklorik asit
HOBt	1-Hidroksibenzotriazol
KOH	Potasyum hidroksit
LC	Likid Kromatografisi
MeOH	Metil alkol
MS	Kütle Spektroskopisi
NaOH	Sodyum hidroksit
NaH	Sodyum hidrür
NMR	Nükleer Magnetik Rezonans
TIPSCl	Triizopropilsililklorür
THF	Tetrahidrofuran
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
<i>t</i> -BuOK	Potasyum tersiyerbütoksit
Q-TOF	Quadrupole Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1.1	İlaç olarak kullanılan heterohalkalı bileşikler 1
Şekil 1.2	İndazol ve pirol yapısı içeren biyolojik aktif bileşikler 2
Şekil 1.3	Doğal/doğal olmayan biyolojik aktif <i>N</i> - substitue maleimid türevleri 3
Şekil 1.4	GSK-3β inhibitörleri olarak kullanılan bisindolmaleimid türevleri 4
Şekil 2.1	Pirol 7
Şekil 2.2	Pirolün rezonans yapıları 7
Şekil 2.3	Pirolün A ve B formları 7
Şekil 2.4	Pirol içeren temel bileşikler 8
Şekil 2.5	Biyolojik aktif pirol türevleri 8
Şekil 2.6	Antikanser aktivite gösteren pirol türevleri 9
Şekil 2.7	EAPK 10 ve 11 bileşikleri 9
Şekil 2.8	Çeşitli trikostatinin analogları 10
Şekil 2.9	Klinik çalışmalar altındaki pirol içeren ilaçlar 10
Şekil 2.10	İndazol tautomer yapıları 11
Şekil 2.11	İndazol'ün E. Fischer tarafından ilk sentezi 11
Şekil 2.12	İndazol alkaloidler Nigellisin, Nigeglanin, Nigellidin 12
Şekil 2.13	Hidrazin hidroklorür ile indazol türevlerinin sentezi 12
Şekil 2.14	Hidrazin hidrat ile indazol türevlerinin sentezi 13
Şekil 2.15	İndazollerin diazo gruplarıyla sentezi 13
Şekil 2.16	İndazollerin <i>N</i> -asetil türevlerinden sentezi 13
Şekil 2.17	İndazol türevlerinin hidrazin hidratlarla sentezi 14
Şekil 2.18	PIFA varlığında 1 <i>H</i> -indazol sentezi 14
Şekil 2.19	1 <i>H</i> - İndazollerin α -diazometilfosfonatlarından sentezi 14
Şekil 2.20	İndazol halkası içeren ilaçların kimyasal yapıları 15
Şekil 2.21	Granisetron bileşiği 15
Şekil 2.22	İndazol türevi YC-1 bileşiği 16
Şekil 2.23	İndazol türevi protein kinaz C-β inhibitörleri 16
Şekil 2.24	2-(4,5-Dihidroimidazol-2-il)indazol bileşiği 16
Şekil 2.25	İkinci nesil hedefli bir ilaç olan Aksitinib bileşiği 17
Şekil 2.26	Antitümör ilaç olan Lonidamin 17
Şekil 2.27	Antiinflamatuvar etki gösteren indazol bileşikleri 17
Şekil 2.28	Maleimidin genel yapısı ve tautomer yapılarının gösterimi 18
Şekil 2.29	Maleimidlerin genel sentezi 19

Şekil 2.30	<i>N</i> -substitue maleimidlerin tersinir Diels-Alder reaksiyonundan furanla sentezi.....	19
Şekil 2.31	<i>N</i> -substitue maleimidlerin Mitsunobu reaksiyonu ile sentezi	19
Şekil 2.32	Polisubstitue maleimidlerin alkin ve izosiyanalardan başlayarak sentezi	20
Şekil 2.33	Polisubstitue maleimidlerin alkin ve aromatik aminlerle sentezi.....	20
Şekil 2.34	Faul yöntemi ile maleimid sentezi	20
Şekil 2.35	Disubstitue maleimid türevlerinin sentezi	21
Şekil 2.36	Pd katalizörlüğünde maleimid halkası oluşumu	21
Şekil 2.37	Fe katalizörlüğünde Baylis-Hillman ürününden maleimid oluşumu	21
Şekil 2.38	<i>N</i> -Substitue maleimidlerin aldehitlerle kondenzasyonu	22
Şekil 2.39	3,4-Dikloromaleimidlerin 2-aminofenollerle kondenzasyonu	22
Şekil 2.40	Maleimidin <i>N</i> -nükleofillerle reaksiyonu.....	23
Şekil 2.41	Maleimid bileşiğinin Pd katalizörlüğünde gerçekleştirilen Heck reaksiyonu	23
Şekil 2.42	Stille reaksiyonu ile maleimid türevi Camfortamidin sentezi	23
Şekil 2.43	Diels-Alder reaksiyonu	24
Şekil 2.44	PPh ₃ -katalizli maleimidlerin allenlerle [3+2] siklokattılması	24
Şekil 2.45	Maleimidlere nitriloksit siklokattılması	24
Şekil 2.46	Doğal cinchona alkaloidleri varlığında maleimidlere 1,3-dikarbonil bileşiklerinin stereoselektif konjuge katılması	25
Şekil 2.47	Biyolojik aktif olarak bilinen bazı maleimid türevleri.....	26
Şekil 2.48	Antifungal aktivite gösteren maleimid türevleri	26
Şekil 2.49	Antimikrobiyal özellik gösterdiği bilinen Himanimid türevleri	27
Şekil 2.50	GSK-3 inhibitörü olarak maleimid türevleri	27
Şekil 2.51	Protein kinaz inhibitörü olarak maleimid türevleri	28
Şekil 2.52	Maleimid türevi bileşikler	28
Şekil 2.53	Maleimid temelli çeşitli heterohalkalı boya ve pigmentler	29
Şekil 2.54	Kiral ve optikçe aktif <i>N</i> -substitue maleimid türevleri	30
Şekil 2.55	Maleimid temelli ticari floresan görüntüleme reaktifleri	30
Şekil 2.56	ThioGlo® floresans problemler	31
Şekil 2.57	Kaptoprilin ThioGlo® 3 ile streospesifik türevlendirilmesi.....	31
Şekil 2.58	Benzoksazin içeren maleimid türevleri	32
Şekil 2.59	Geri kazanılabilen asetal ester bağı içeren multifonksiyonel maleimid türevleri	32
Şekil 2.60	Reaktif seyreltici ile foto kürleşebilen ticari maleimid bileşikleri	33
Şekil 3.1	GSK-3 izoformları: GSK-3 α ve GSK-3 β (Gly: glisince zengin bölge, S9 ve S21: N-terminal serin fosforilasyon bölgeleri, Y279 ve Y216: tirozin fosforilasyon bölgeleri, kDa: kilodalton)	35
Şekil 3.2	GSK-3 β enziminin substrat bağlanma bölgesinin fosforilasyon sonucu inhibisyonunun görünümü	36
Şekil 3.3	GSK-3 Yapısı	36
Şekil 3.4	GSK-3 İnhibitörlerinin etkili olduğu düşünülen hastalıklar	37
Şekil 3.5	Lityum'un GSK-3 aktivitesini inhibe etmesi: (GSK-3: glikojen sentaz kinaz 3, Li: Lityum, PP2A: protein fosfat 2A, P: fosfor)	37
Şekil 3.6	Klinik inceleme altındaki GSK-3 inhibitörler	38
Şekil 3.7	Maleimid içeren GSK-3 inhibitörü küçük moleküller	40

Şekil 4.1	Genel sentez şeması.....	45
Şekil 4.2	Bileşik 1'in FTIR Spektrumu (ATR).....	47
Şekil 4.3	Bileşik 2'nin FTIR Spektrumu (ATR).....	49
Şekil 4.4	Bileşik 2'nin ¹ H NMR Spektrumu (CDCl ₃).....	50
Şekil 4.5	Bileşik 3'ün FTIR Spektrumu (ATR).....	52
Şekil 4.6	Bileşik 4'ün FTIR Spektrumu (ATR).....	54
Şekil 4.7	Bileşik 4'ün ¹ H NMR Spektrumu (DMSO-d ₆).....	55
Şekil 4.8	Bileşik 4'ün APT Spektrumu (DMSO-d ₆).....	56
Şekil 4.9	Bileşik 4'ün GC-MS spektrumu.....	57
Şekil 4.10	Bileşik 5'in FTIR Spektrumu (ATR).....	60
Şekil 4.11	Bileşik 5'in ¹ H NMR Spektrumu (DMSO-d ₆).....	61
Şekil 4.12	Bileşik 5'in APT Spektrumu (DMSO-d ₆).....	62
Şekil 4.13	Bileşik 5'in GC-MS spektrumu.....	63
Şekil 4.14	Bileşik 6'nin FTIR spektrumu (ATR).....	66
Şekil 4.15	Bileşik 6'nin ¹ H NMR spektrumu (DMSO-d ₆).....	67
Şekil 4.16	Bileşik 6'nin APT spektrumu (DMSO-d ₆).....	68
Şekil 4.17	Bileşik 6'nin LC-MS (Q-TOF) spektrumu.....	69
Şekil 4.18	Bileşik 7'nin FTIR Spektrumu (ATR).....	72
Şekil 4.19	Bileşik 7'nin ¹ H NMR Spektrumu (CDCl ₃).....	73
Şekil 4.20	Bileşik 7'nin APT Spektrumu (CDCl ₃).....	74
Şekil 4.21	Bileşik 7'nin HSQC spektrumu (CDCl ₃).....	75
Şekil 4.22	Bileşik 7'nin LC-MS (Q-TOF) spektrumu.....	76
Şekil 4.23	Bileşik 8'in FTIR spektrumu (ATR).....	79
Şekil 4.24	Bileşik 8'in ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	80
Şekil 4.25	Bileşik 8'in APT spektrumu (CDCl ₃).....	81
Şekil 4.26	Bileşik 8'in LC-MS (Q-TOF) spektrumu.....	82
Şekil 4.27	Bileşik 9'un FTIR spektrumu (ATR).....	85
Şekil 4.28	Bileşik 9'un ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	86
Şekil 4.29	Bileşik 9'un APT spektrumu (CDCl ₃).....	87
Şekil 4.30	Bileşik 9'un LC-MS (Q-TOF) spektrumu.....	88
Şekil 4.31	Bileşik 10'un FTIR Spektrumu (ATR).....	91
Şekil 4.32	Bileşik 10'un ¹ H NMR Spektrumu (CDCl ₃).....	92
Şekil 4.33	Bileşik 10'un APT spektrumu (CDCl ₃).....	93
Şekil 4.34	Bileşik 10'un LC-MS (Q-TOF) Spektrumu.....	94
Şekil 4.35	Bileşik 11'in FTIR Spektrumu (ATR).....	97
Şekil 4.36	Bileşik 11'in ¹ H NMR Spektrumu (CDCl ₃).....	98
Şekil 4.37	Bileşik 11'in APT Spektrumu (CDCl ₃).....	99
Şekil 4.38	Bileşik 11'in LC-MS (Q-TOF) Spektrumu.....	100
Şekil 4.39	Bileşik 12'nin FTIR spektrumu (ATR).....	103
Şekil 4.40	Bileşik 12'nin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	104
Şekil 4.41	Bileşik 12'nin APT spektrumu (CDCl ₃).....	105
Şekil 4.42	Bileşik 12'nin LC-MS (Q-TOF) spektrumu.....	106
Şekil 4.43	Bileşik 13'ün FTIR spektrumu (ATR).....	109
Şekil 4.44	Bileşik 13'ün ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	110
Şekil 4.45	Bileşik 13'ün APT spektrumu (CDCl ₃).....	111
Şekil 4.46	Bileşik 13'ün LC-MS (Q-TOF) spektrumu.....	112

Şekil 4.47	Bileşik 14 'ün FTIR spektrumu (ATR)	115
Şekil 4.48	Bileşik 14 'ün ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	116
Şekil 4.49	Bileşik 14 'ün APT spektrumu (CDCl ₃)	117
Şekil 4.50	Bileşik 14 'ün LC-MS (QTOF) spektrumu	118
Şekil 4.51	Bileşik 15 'in FTIR spektrumu (ATR)	121
Şekil 4.52	Bileşik 15 'in ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	122
Şekil 4.53	Bileşik 15 'in APT spektrumu (CDCl ₃)	123
Şekil 4.54	Bileşik 15 'in LC-MS (Q-TOF) spektrumu	124
Şekil 4.55	Bileşik 16 'nın FTIR spektrumu (ATR)	127
Şekil 4.56	Bileşik 16 'nın ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	128
Şekil 4.57	Bileşik 16 'nın APT spektrumu (CDCl ₃)	129
Şekil 4.58	Bileşik 16 'nın LC-MS (Q-TOF) spektrumu	130
Şekil 5.1	MTT'nin formazana dönüşümü	131
Şekil 5.2	MTT ilave edilmiş 96'lık plate	134
Şekil 5.3	Nalm-6 tipi kanser hücresinde çalışılan bileşiklerin konsantrasyon-optik yoğunlukları.....	135
Şekil 5.4	Nalm-6 tipi kanser hücresinde çalışılan bileşiklerin konsantrasyon-canlı hücre yüzdeleri.....	135
Şekil 5.5	REH tipi kanser hücresinde çalışılan bileşiklerin konsantrasyon-optik yoğunlukları.....	136
Şekil 5.6	REH tipi kanser hücresinde çalışılan bileşiklerin konsantrasyon-canlı hücre yüzdeleri	136
Şekil 5.7	K-562 tipi kanser hücresinde çalışılan bileşiklerin konsantrasyon-optik yoğunlukları.....	137
Şekil 5.8	K-562 tipi kanser hücresinde çalışılan bileşiklerin konsantrasyon-canlı hücre yüzdeleri.....	137
Şekil 5.9	Molt-4 tipi kanser hücresinde çalışılan bileşiklerin konsantrasyon-optik yoğunlukları.....	138
Şekil 5.10	Molt-4 tipi kanser hücresinde çalışılan bileşiklerin konsantrasyon-canlı hücre yüzdeleri.....	138
Şekil 5.11	Jurkat tipi kanser hücresinde çalışılan bileşiklerin konsantrasyon-optik yoğunlukları.....	139
Şekil 5.12	Jurkat tipi kanser hücresinde çalışılan bileşiklerin konsantrasyon-canlı hücre yüzdeleri.....	139
Şekil 5.13	Tüm kanser hücre tiplerinde (Nalm-6, REH, K-562, Jurkat, Molt-4) çalışılan bileşiklerin inhibisyon yüzdeleri	140
Şekil 5.14	IC ₅₀ değerleri	140
Şekil 6.1	Biyolojik aktif maleimid türevleri	142
Şekil 6.2	Antikanser ajanlar olarak indazol türevleri	142
Şekil 6.3	Bileşik 6 'nın eldesinin genel gösterimi	143
Şekil 6.4	Bileşik 7 ve bileşik 10 'un yapısı	144
Şekil 6.5	Bileşik 8 ve bileşik 9 'un yapısı.....	145
Şekil 6.6	Bileşik 10 , bileşik 11 , bileşik 12 ve bileşik 13 'ün yapıları.....	146
Şekil 6.7	Bileşik 15 ve bileşik 16 'nın yapısı.....	146
Şekil 6.8	Bileşik 9 , 10 , 12 , 14 'ün IC ₅₀ değerleri	148

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2.1 Maleimidlerle nitriloksitlerin 1,3-dipolar siklokatılmasının stereoselektivitesi	25
Çizelge 4.1 Kullanılan kimyasal maddeler	41

**GLİKOJEN SENTAZ KİNAZ-3 BETA İNHİBİTÖRÜ OLABİLECEK YENİ
MALEİMİD TÜREVLERİNİN SENTEZİ**

Elif Başak ERSOY

Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Çiğdem YOLAÇAN

Son yıllarda, çok çeşitli heterohalkalı bileşikler sentezlenmekte ve bunların özellikle kanser hücrelerine karşı davranışları incelenmektedir. İlaç hammaddesi olarak kullanılabilmesi nedeniyle piperidin, piridin, piperazin, oksazol, tiyazolidin, ve pirol gibi beş ve altı üyeli heterohalkalı bileşikler ve türevleri, 20.yüzyılın başlarından itibaren farmasötik kimyacılar tarafından üzerinde önemle durulan bir konu haline gelmiştir. Bu tür heterohalkalı bileşiklerin yüzyıllık tarihinin incelenmesi sonucunda azot ve oksijen içeren yapı iskeletinin biyolojik olarak aktif bileşiklerin modellenmesinde kullanılması durumunda büyük bir çeşitliliğin ortaya çıktığı görülmüştür. Bunun yanı sıra, maleimid, birçok organik maddenin önemli yapı taşıdır ve türevleri, organik sentez, tıbbi kimya ve ilaç geliştirme konusundaki araştırmacılardan giderek daha fazla ilgi çekmektedir. Maleimid türevlerinin, çeşitli biyolojik aktivite türleri sergiledikleri bilinmektedir. Maleimid sınıfının birçok bileşiği antibakteriyel, antifungal, antitümör, antitüberküloz, analjezik, antiprotozoal, sitotoksikite ile ilgili çalışmalar için sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Ayrıca, bakterilerde çoklu ilaç direncinin önlenmesine yönelik maddeler olarak tanımlanmıştır. Bu türevlerin oldukça önemli biyolojik ve fizyolojik aktivite göstermelerinin nedeninin karakteristik olarak N-C-O grubuna sahip olmalarından kaynaklandığı bilinmektedir.

Bazı maleimid türevleri ise, insanlar dahil tüm canlı organizmalarda hücre içi sinyal yollarında kilit rol oynayan protein kinazlar gibi çeşitli enzimlerin yüksek düzeyde aktif inhibitörleri olarak tanımlanmıştır. Özellikle, GSK-3 inhibitörü olarak geliştirilen moleküllerin içerisinde de maleimid türevlerinin etkili olduğu görülmüştür. Literatürdeki heterohalkalı bileşik sentezlerinin temelini çeşitli halka kapanması reaksiyonları oluşturmaktadır.

Bu çalışmada; birinci aşama ana iskelet olan indazol ve pirol substitue maleimid bileşiğinin sentezlenmesini içermektedir. İkinci aşamada ise sentezlenen indazol ve pirol substitue maleimid iskeletinin azot atomlarından alkil zincirleri ile kombine edilerek çeşitli gruplarla türevlendirilmesini ve glikojen sentaz kinaz-3 β inhibitörleri ve anti-kanser ajanları olarak incelenebilecek bir dizi indazol ve pirol substitue maleimid türevlerinin sentezlenmesini kapsamaktadır. Literatürde yer almayan bileşiklerin yapıları, sırasıyla FTIR, ^1H NMR, ^{13}C NMR (APT), LC-MS (Q-TOF) gibi spektral verilere dayanarak karakterize edilmiştir.

Son aşamada ise elde edilen yeni moleküllerin biyolojik aktivite çalışmaları (anti-kanser/MTT testi) gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Heterohalkalı bileşikler, maleimid türevleri, anti-kanser aktivite, GSK-3 β .

**SYNTHESIS OF NOVEL MALEIMIDE DERIVATIVES MAY BE GLYCOGEN
SYNTHASE KINASE-3 BETA INHIBITORS**

Elif Başak ERSOY

Department of Chemistry

MSc. Thesis

Adviser: Prof. Dr. Çiğdem YOLAÇAN

In recent years, a wide variety of heterocyclic compounds have been synthesized and their behavior against cancer cells has been examined. Five and six-membered heterocyclic compounds and derivatives, such as piperidine, pyridine, piperazine, oxazole, thiazolidine, and pyrrole, have become a subject of considerable importance by pharmaceutical chemists since the beginning of the 20th century, since they can be used as pharmaceutical raw materials. As a result of examining the century-old history of such heterocycle compounds, a large variety of nitrogen and oxygen-containing structural skeletons were found to be used in the modeling of biologically active compounds. In addition, maleimide is an important building block of many organic substances, and its derivatives are increasingly attracted from researchers in organic synthesis, medical chemistry and drug development. Maleimide derivatives are known to exhibit various types of biological activity. Many compounds of the maleimide class have been synthesized and characterized for studies on antibacterial, antifungal, antitumor, antituberculosis, analgesic, antiprotozoal, cytotoxicity. In addition, it has been defined as substances for prevention of multiple drug resistance in bacteria. It is known that the reason for these derivatives to exhibit significant biological and physiological activity is due to their N-C-O group.

Some maleimide derivatives have been identified as highly active inhibitors of various enzymes, such as protein kinases, which play a key role in intracellular signaling pathways in all living organisms, including humans. In particular, maleimide derivatives have been found to be effective in molecules developed as GSK-3 inhibitors. The basis of the synthesis of the heterocycle compound in the literature forms various ring closing reactions.

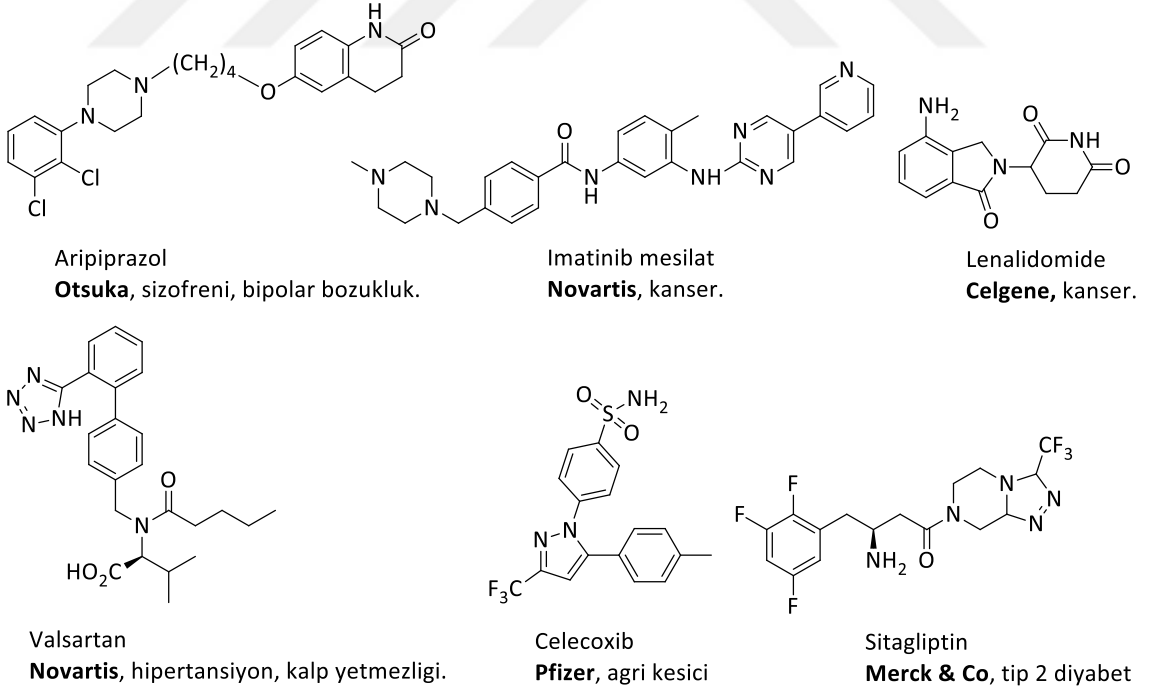
In this study, the first stage consists of synthesizing the indazole and pyrrole substituted maleimide compound, which is the main skeleton. In the second step, the synthesis of the indazole and pyrrole substituted maleimide derivatives which are synthesized by various groups in combination with the alkyl chains from the nitrogen atoms of the indazole and pyrrole substituted maleimide skeleton, and which can be examined as glycogen synthase kinase-3 β inhibitors and anti-cancer agents are included in the second stage. The structures of the compounds not included in the literature were characterized based on spectral data such as FTIR, ^1H NMR, ^{13}C NMR (APT), LC-MS (Q-TOF), respectively.

In the last stage, biological activity studies (anti-cancer / MTT test) of the new molecules were carried out.

Keywords: Heterocyclic compounds, maleimide derivatives, anti-cancer activity, GSK-3 β .

1.1 Literatür Özeti

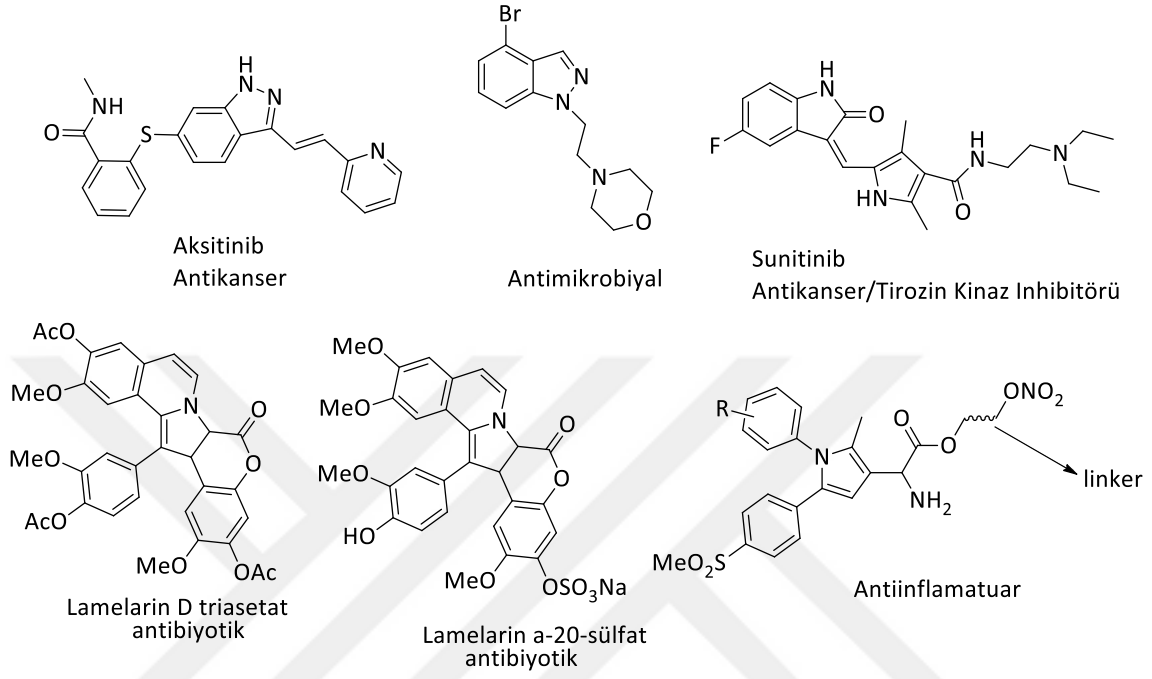
Organik kimyanın yaygın ve klasik dallarından biri olan heterohalkalı bileşikler, geniş bir biyolojik aktiviteye ve endüstriyel öneme sahiptir [1]. Heterohalkalı bileşikler içerisinde azot içerenlerin biyolojik ve farmasötik uygulamalarda önemli bir yeri vardır. Bu nedenle, bu atomu içeren heterohalkalı bileşiklerin sentezi son yıllarda ilgi çekmektedir [2]. Dünyanın en çok satan ilaçları azot içeren heterohalkalı olmuştur (Şekil 1.1) [3].



Şekil 1.1 İlaç olarak kullanılan heterohalkalı bileşikler

Biyolojik moleküllerin ve farmasötik ürünlerin birçoğunun temel iskeletleri doğada bulunmaktadır. Böylece, dünyanın her yerinden birçok kimyager motive olmuş ve bu

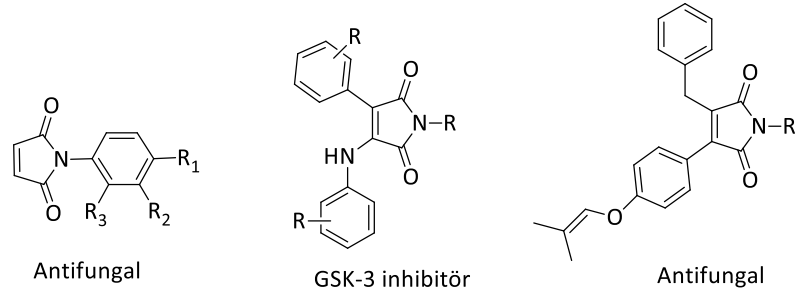
heterohalkalılarının sentezi için farklı yöntemler geliştirmeye devam etmektedir. Geniş bir biyolojik aktivite spektrumu gösteren substitue indazol ve pirol bileşikleri de büyük bir çalışma alanı oluşturmuştur. İndazol ve pirol türevlerinin antibiyotik, anti-inflamatuar ve anti-kanser aktivite gösterdikleri rapor edilmiştir (Şekil 1.2) [4], [5], [6], [7].



Şekil 1.2 İndazol ve pirol yapısı içeren biyolojik aktif bileşikler

İmid fonksiyonu içeren yapılar, gösterdikleri çok çeşitli biyolojik özelliklerden dolayı biyoaktif bileşikler içerisinde önemli bir sınıfı oluştururlar. Yapılan kaynak araştırmalarında, özellikle azot atomunda substituent içeren halkalı yapıdaki imid türevlerinin farmasötik alanda yaygın kullanımına rastlanılmaktadır. *N*-Aril maleimid analoglarının sentezi ve biyolojik aktivitesi kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. *N*-Aril maleimidler, polikrin, camphorataimidler, rebeccamycine ve staurosporine gibi birçok doğal ürün için iskelet oluşturur. Bu bileşikler anjiyogenez inhibisyonu, protein kinaz inhibisyonu ve antiproliferatif aktiviteler sergiler [8], [9], [10], [11], [12], [13], [14], [15], [16], [17], [18]. Örneğin, *N*-substitue maleimid bileşiklerinin antifungal, antimikrobiyal aktivitelere sahip oldukları bilinmektedir [19]. Maleimid türevleri son zamanlarda önemli farmakoforlar olarak ortaya çıkmakta ve antibakteriyel, analjezik, antistres ajanlar, antiprotozoal, antianjiyojenik sitotoksik, DNA bağlanması ve apoptotik indükleyici aktivite gibi bir dizi biyolojik aktiviteye sahip tıbbi ajanlar olarak hayati bir rol oynamaktadır [20], [21], [22], [23], [24].

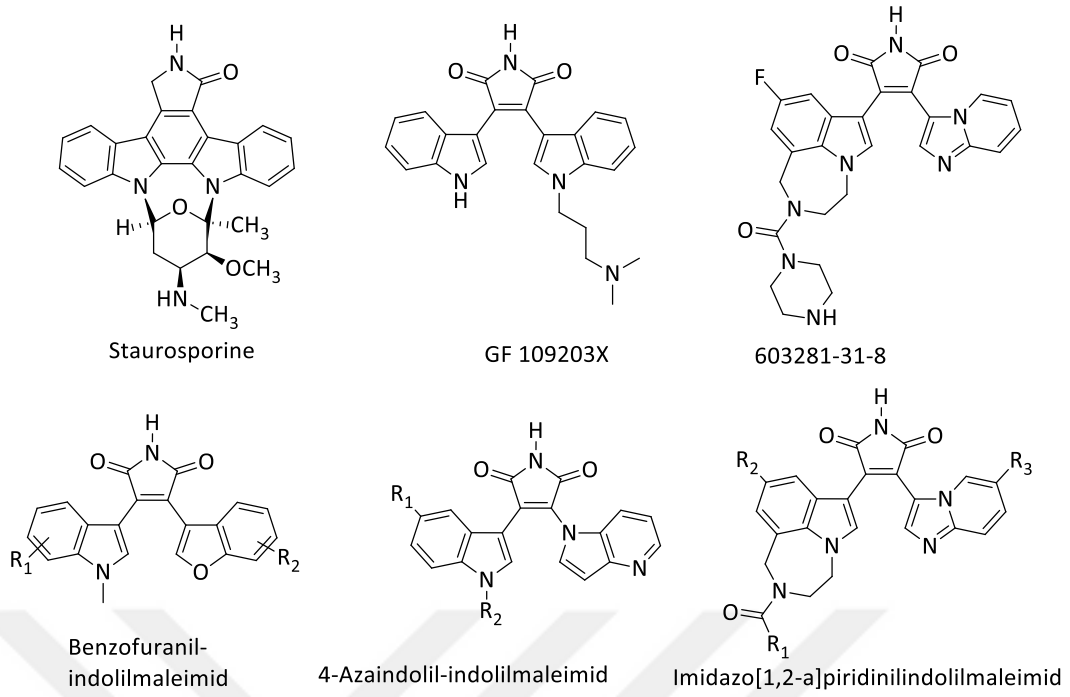
Bazı maleimid türevleri, monogliserit lipaz, GSK-3, Cdc25B, Bfl-1 ve DNMT-1etc'nin seçici inhibitörleri olarak kullanılırlar (Şekil 1.3).



Şekil 1.3 Doğal/doğal olmayan biyolojik aktif *N*- substitue maleimid türevleri

GSK-3 enziminin 1990'larda hücre proliferasyonu, apoptoz, inflamasyon ve pek çok hücrenel süreçle ilişkili olduğu saptanmıştır [25], [26]. Uzun yıllar boyunca yapılan çalışmalar GSK-3β'nin diyabet, inflamasyon, kanser, psikiyatrik ve nörodejeneratif hastalıklar (Bipolar bozukluk, Parkinson ve Alzheimer Hastalığı vb.) ile ilişkisi olduğunu göstermiştir. Buna göre yeni ve seçici GSK-3β inhibitörlerinin araştırılması hem akademik merkezlerde hem de ilaç şirketlerinde çok aktif bir alan olmuştur [27].

Çeşitli 3,4-disubstitue maleimidler, literatüre bakıldığında GSK-3 enzim inhibisyonunda etkili ve geniş yer tutan önemli bir bileşik sınıfını oluşturur. Bu bileşikler uzun yıllardan beri GSK-3β inhibitörleri olarak çeşitli yollardan yapılabilen sentezleriyle ve aktivite çalışmalarıyla detaylı incelenmektedir [28], [29]. Günümüzde kullanılan bazı GSK-3β inhibitörlerinin yapıları Şekil 1.4'de verilmiştir [30].



Şekil 1.4 GSK-3 β inhibitörleri olarak kullanılan bisindolmaleimid türevleri

1.2 Tezin Amacı

Protein kinazlar, çeşitli hücrel fonksiyonları düzenler ve ilaç keşif programlarında sıklıkla kullanılırlar. Anahtar proteinlerdeki serin, treonin ve tirozin birimlerini fosforize ederek sinyal iletim işlemlerini düzenlerler. Hatalı protein sinyali, birçok insanda patolojik durumuna neden olabilir. Bu nedenle, son yıllarda, protein kinazları hedef alan ilaç tasarımı girişimlerinin sayısı sürekli artmaktadır.

Glikojen sentaz kinaz 3 (GSK-3), bir sitosolik serin/treonin protein kinazdır ve glikojen metabolizmasından gen transkripsiyonuna değişen çeşitli fizyolojik süreçlere katılır. Günümüzde şizofreni ve duygu durum bozukluklarını kapsayan birçok psikiyatrik hastalıkta GSK-3 hiperaktivitesine işaret edilmektedir. Yapılan çalışmalarda antipsikotik, antidepresan ve bipolar bozuklukta kullanılan lityum tuzu içeren bazı ilaçların GSK-3 aktivitesini azalttığı rapor edilmiştir. Ayrıca, GSK-3 inhibitörü olarak geliştirilen moleküllerin diyabetik özelliğinin yanı sıra söz konusu hastalıklarda etkili olabileceğine ilişkin birçok deneysel çalışma mevcuttur. Bu moleküller içerisinde yapılan çalışmalarda en etkili grup maleimid türevleri olmuştur.

Kanser yaygın, karmaşık ve ölümcül bir hastalıktır; yeni antikanser ajanlarının araştırılması aktif bir alan olmuştur. Hem doğal ve hem de sentetik maleimid halkası içeren çoğu bileşik iyi antikanser aktiviteye sahiptir.

Bu çalışmada; bu tür bileşikler sınıfına katkıda bulunulmak amacıyla GSK-3 β inhibitör özelliği gösterebilecek ya da anti-kanser ajanları olabilecek yeni indazol ve pirol substitue maleimid türevlerinin sentezini amaçlanmıştır. Sentezlenen maleimid türevlerinin yapılarının aydınlatılarak aktivite çalışmalarının yapılması hedeflenmiştir.

1.3 Hipotez

Azot içeren heterohalkalı bileşikler doğada çokça bulunmaları ve biyolojik aktif özellik göstermeleri nedeniyle ilaç etken maddelerinin yapısında yer almaktadırlar. Glikojen sentaz kinaz-3 (GSK-3), çok sayıda hücrel süreç ve hastalıkta rol oynayan çok işlevli serin/treonin protein kinazıdır. GSK-3 β , yumurtalık kanseri, pankreas kanseri, kolon kanseri gibi birçok kanser türünde aşırı bastırılır. Bu yüzden, GSK-3 β , çeşitli hastalıklarla mücadele için hedef olarak seçilmiştir. GSK-3 β inhibitörü olarak çok sayıda organik molekül geliştirilmektedir. Bunlar arasında maleimid türevleri yüksek potansiyelleri ve seçicilikleri ile ilk sıralarda yer almaktadırlar.

Bu veriler doğrultusunda, sentezlenecek yeni indazol ve pirol substitue maleimid türevlerinin, GSK-3 β inhibitörü olarak seçici olması ve antikanser aktivite göstermesi beklenmektedir.

HETEROHALKALI BİLEŞİKLER

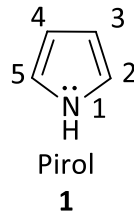
IUPAC Altın Kitabı heterohalkalı bileşikleri şöyle tanımlar: “Halka üyelerinin atomları en az iki farklı element olan halkalı bileşiklerdir” [31].

Başka bir klasik referans kitabı olan Britannica ansiklopedisi aynı zamanda heterosiklik de denen heterohalkalı bileşiği şu şekilde tanımlamıştır: “Bir veya daha fazla halka içeren bir organik bileşik sınıfından, en az bir atomu karbondan başka bir element olan (genellikle oksijen, azot veya kükürt) halkalı bileşiklerdir” [32].

2.1 Piyol

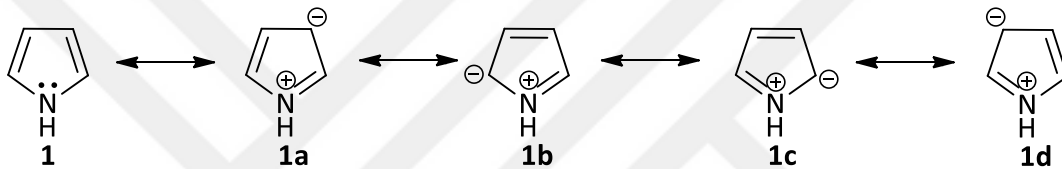
Piyol (**1**), sp^2 hibritleşmiş azot atomunu içeren beş üyeli heterohalkalı bir moleküldür. Piyol heme, klorofil, klorinler vb. daha karmaşık makromoleküllerin temel bir bileşenidir. Basit *N*-heterohalkalı bileşik olan piyol, biyolojik özellikleri ve farmakofor olarak önemli rolleri nedeniyle büyük ilgi görmüştür. İlk olarak 1834 yılında F.F Runge tarafından kömür katranının bir bileşeni olarak tespit edilmiştir. 1857'de, kemik piyolizatından izole edilmiştir. Piyol, havaya maruz kaldığında kolayca koyulaşan ve ışıpta polimerize olan renksiz bir uçucu sıvıdır [33]. Son derece ayrıcalıklı bir molekül olan piyol aromatikliğe sahiptir; altı π -elektronu, her atomun her bir boş p orbitalinin etrafına delokalize olabilir, bunların hepsi de aynı düzlemedir. Piyol halkasının, aminler ve piridinler gibi diğer aromatik bileşiklerden daha düşük bazikliğe sahip olması aromatik halkadaki azot atomunun yalnız elektron çiftinin delokalizasyonundan kaynaklanmaktadır. Piyol yaklaşık 3 pKa değerine sahip çok zayıf bir bazdır ve protonasyonu aromatik özellik

kaybına neden olur. Hem “NH” hem de “CH” pirol protonları orta derecede asidiktir ve pirol güçlü bazlar ile deprotonlanabilir.



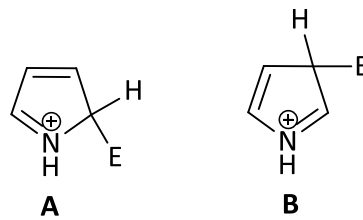
Şekil 2.1 Pirrol

Karbon-karbon ve karbon-azot bağ uzunlukları, tek bağların veya çift bağların tipik özelliklerini göstermez. Bu nedenle pirol aşağıda gösterildiği gibi hibrid rezonans yapıları (1-1d) ile ele alınmalıdır.



Şekil 2.2 Pirrolün rezonans yapıları

Pirol halkasının elektrofilik substitüsyon reaksiyonunda A formu, B formuna göre daha seçicidir. Bunun sebebi azot atomu üzerindeki pozitif yükün A formunda, B formuna göre daha delokalize olmasıdır. Bununla birlikte, bu model pirol halkasındaki substitüentlere bağlı olarak da değişmektedir (Şekil 2.3) [34].

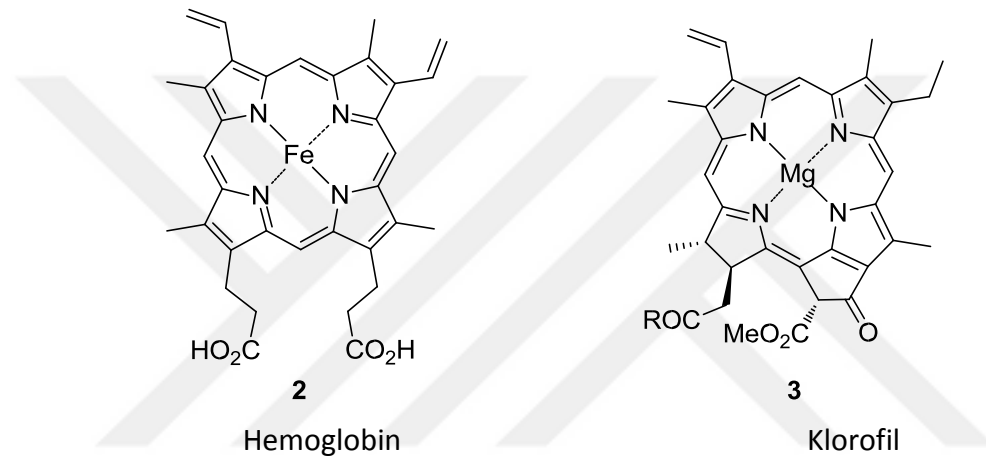


Şekil 2.3 Pirrolün A ve B formları

2.1.1 Pirrol İçeren Heterohalkalı Bileşikler

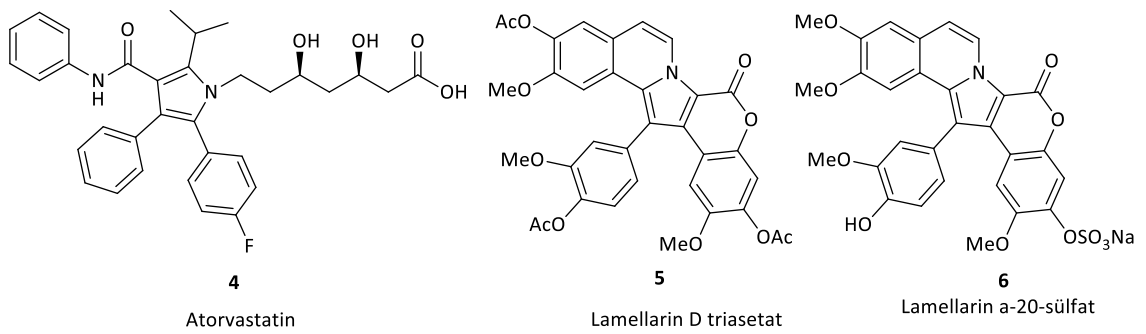
Pirol ve türevleri doğada mevcuttur. Pirol alt birimi, mantar öldürücüler, antibiyotikler, antiinflamatuvar ilaçlar, kolesterol düşürücü ilaçlar, antitümör ajanlar ve daha birçok gibi terapötik olarak aktif bileşiklerde farklı uygulamalara sahiptir. Ters transkriptazı [insan immün yetmezlik virüsü tip 1 (HIV-1)] ve hücrel DNA polimeraz protein kinazları inhibe

ettiği bilinmektedir. Ayrıca; polimer, indigoid boya ve daha büyük aromatik halkaların bir bileşenidir [35]. Pirol doğal ürünler, ilaçlar, katalizörler ve ileri materyallerde yaygın olarak kullanılan önemli ve temel bir heterohalkalıdır. Pirol içeren doğal olarak üretilen ortak moleküller arasında vitamin B12, bilirubin ve biliverdin gibi safra pigmentleri, hemoglobin, klorofil, klorinler, bakterioklorinler ve porfirinojenler bulunur. Pirol içeren molekülün ilk sentezlerinden biri, 1929'da H. Fischer tarafından sentezlenen hemindir. H. Fischer bu senteziyle 1930 yılında Kimya dalında Nobel Ödülü almıştır [36]. Temel bir kan solunum pigmenti olan hemoglobin (**2**) ve temel fotosentez pigmenti olan klorofil (**3**) pirol molekülü içermektedir.



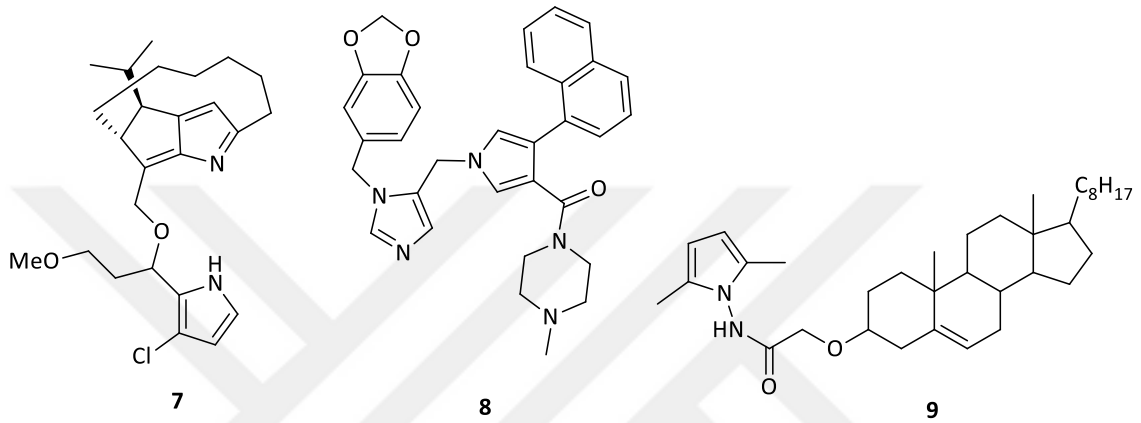
Şekil 2.4 Pirol içeren temel bileşikler

Pirol türevi atorvastatin (**4**), kolesterol tedavisi için yaygın olarak kullanılan bir ilacın biyoaktif bir maddesidir [37]. Pirol motifi, deniz organizmalarından elde edilen doğal alkaloidler olan lamellarinlerde de bulunmaktadır. Lamellarinlerin sitotoksikite, hücre bölünmesi inhibisyonu, HIV-1 integras inhibisyonu ve antibiyotik aktivitesi gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu bilinmektedir [5].



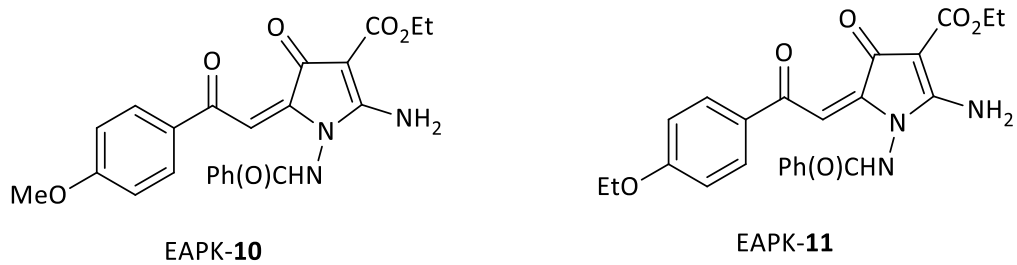
Şekil 2.5 Biyolojik aktif pirol türevleri

Roseofilin (**7**) geniş bir aktivite yelpazesi sergileyen doğal pirol-alkaloid ürünüdür. Furstner, roseofilin'in çeşitli kanser hücrelerine karşı daha yüksek sitotoksikite sergilediğini bildirmiştir [38]. Bileşik **8**, oldukça aktif bir antikanser ajanı olarak bulunmuş ve şu anda RAS farnesil transferaz (FTase) inhibitörü olarak prelinik çalışmalara devam edilmektedir [39]. Benzer şekilde, Siddiqui ve çalışma grubu tarafından MTT yöntemi ile insan lösemi hücre hattına (HL-60) karşı ümit verici antikanser aktivitesi gösteren bileşik **9** sentezlenmiştir [40].



Şekil 2.6 Antikanser aktivite gösteren pirol türevleri

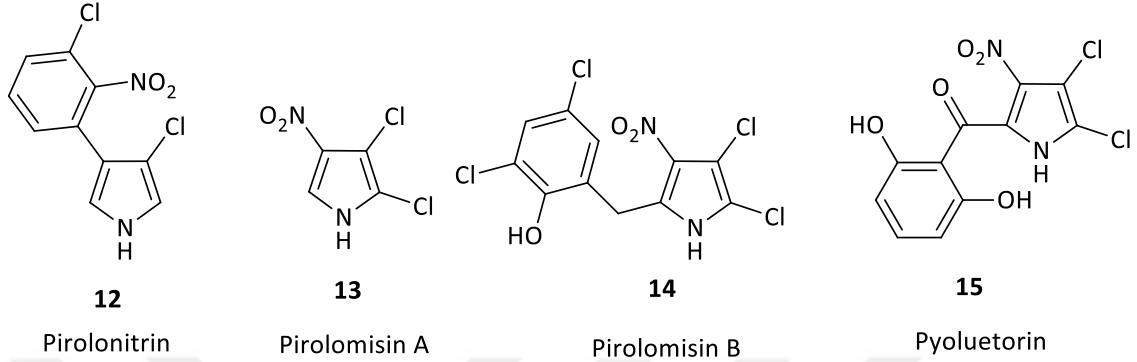
Boichuk ve çalışma grubu etil-2-amino-pirol-3-karboksilat (EAPK) türevlerinden **10**'un, in vitro çoklu yumuşak doku kanseri hücre soylarına karşı güçlü bir sitotoksik olduğunu bildirmiştir. EAPK'nın sitotoksik etkinliği, mikrotübül hücre çoğalma tahlili kullanılarak farklı kanser hücresi çizgilerinde değerlendirilmiştir. EAPK **10** ve EAPK **11**'e ait bileşiklerin, tubulin polimerizasyonunun inhibisyonu ve G2/M hücre döngüsü durmasının indüksiyonu yoluyla in vitro kanser hücresi proliferasyonunu inhibe ettiği ve böylece M fazında tümör hücrelerinin birikmesi ile sonuçlandığı görülmüştür [41].



Şekil 2.7 EAPK 10 ve 11 bileşikleri

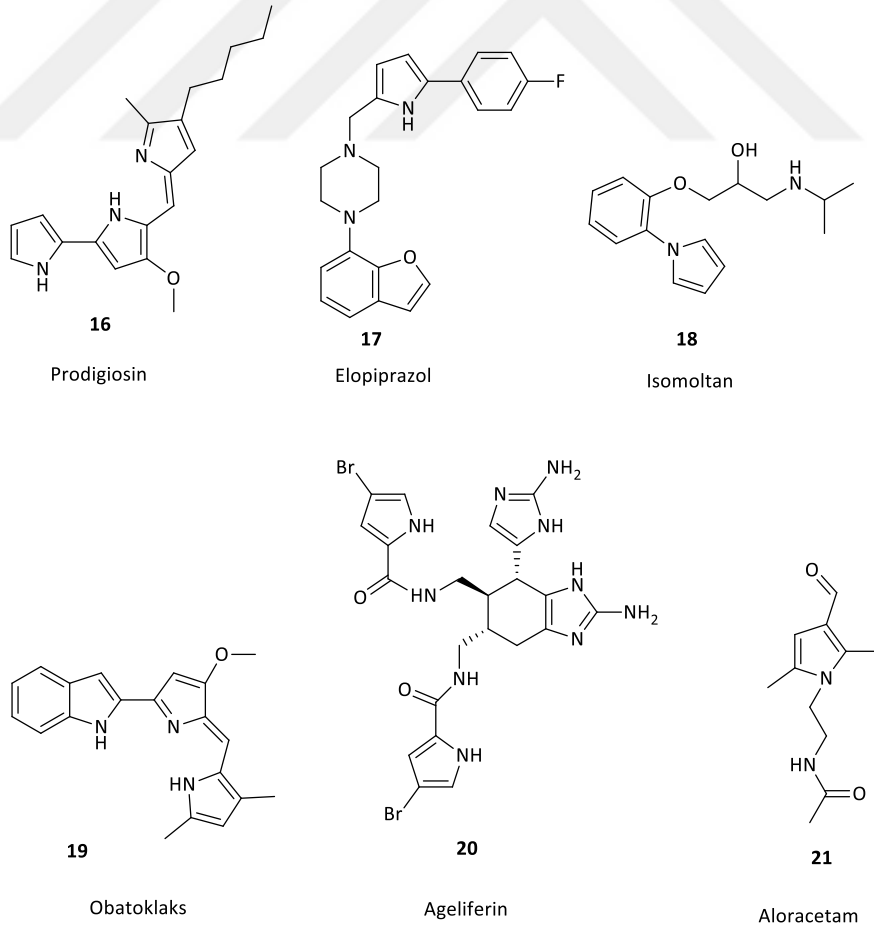
Pirolonitrin (**12**), pirolomisin A, B (**13**, **14**) ve pyoluteorin (**15**), pirol sınıfına ait bileşiklerdir. Bu bileşikler çeşitli yapısal modifikasyonlar sonucu elde edilmiştir.

Trikostatinin ökaryotik hücrelerde büyüme evresinin başlangıcında hücre siklusunu inhibe etmekte ve histonlardan asetil gruplarının uzaklaşmasını engelleyerek yine gen ekspresyonunu değiştirebilmektedir. Trikostatinin içine pirol motifi dahil edilerek antibiyotiklerin antimikotik potansiyelini arttırmak için çalışmalar yapılmıştır [42].



Şekil 2.8 Çeşitli trikostatinin analogları

Pirol parçası içeren ilaçların bazıları halihazırda pazarda mevcuttur ve bazıları klinik çalışmalar altındadır [35].

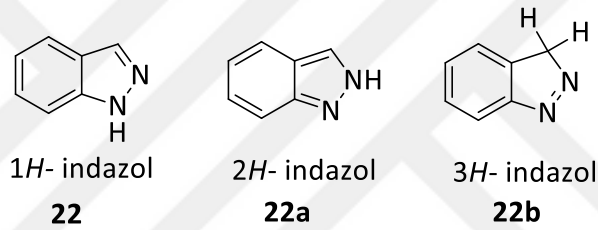


Şekil 2.9 Klinik çalışmalar altındaki pirol içeren ilaçlar

2.2 İndazol ve Türevleri

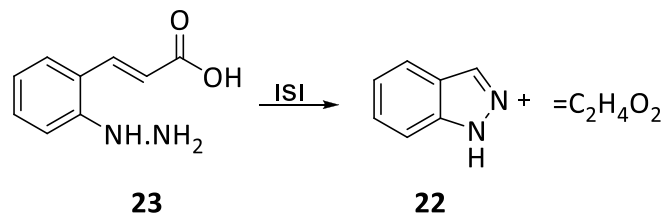
Heterohalkalı aromatik organik bir bileşik olan indazol, bir pirazol halkası ve bir benzen halkasından oluşan, bisiklik halka yapısı taşıyan azot içeren heterohalkalı bileşiklerin önemli sınıflarından biridir. İndazol, karbon, hidrojen ve azot atomları içeren azol ailesine aittir. İndazoller ayrıca iki azot atomuna sahip olan benzopirazol veya izoindazolon heterohalkalı organik bileşikler olarak da adlandırılır [43].

İndazol bileşiği Şekil 2.10'da gösterildiği gibi 3 farklı tautomerik yapıya sahiptir. İndazollerin tautomerizasyonu, hem teorik hem de sentetik bir bakış açısıyla kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Bunun sonucunda 1H tautomeri 2H tautomerden (15.1 kJ/mol) daha kararlı olduğu (termodinamik olarak) ve bu kararlılığın su ya da formik asitin çözücü etkileri ile tersine çevrilmediği görülmüştür [44].



Şekil 2.10 İndazol tautomer yapıları

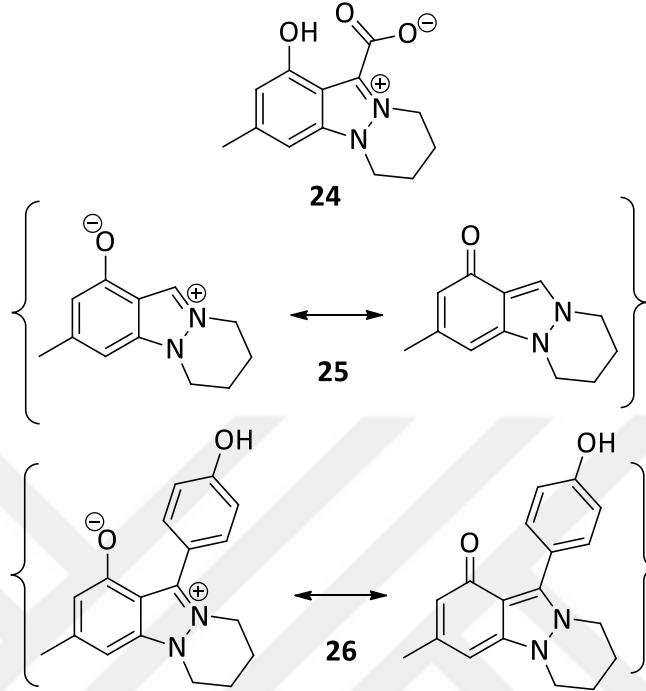
İndazol ilk kez 1883'te E. Fischer tarafından orto-hidrazin sinnamik asidin ısıtılmasıyla elde edilmiştir. İndazol ile ilgili çalışmaların çoğu 1920'lerde Karl Von Auwers tarafından yapılmıştır.



Şekil 2.11 İndazol'ün E. Fischer tarafından ilk sentezi

İndazol doğada nadir olarak bulunmaktadır. Bugüne dek indazol halkasına sahip 3 doğal ürün izole edilmiştir. Bunlar nigellisin (**24**), nigeglanin (**25**) ve nigellidindir (**26**). Alkaloid olan Nigellisin, 6,7,8,9-tetrahidropiridazino [1,2-a]indazolyum-11-karboksilat, Güneybatı Asya'ya özgü yıllık çiçekli bir bitki olan ve yaygın olarak bulunan Nigella sativa L.'den (halk arasında bilinen adıyla çörek otu) sarı kristaller olarak izole edilmiştir [45].

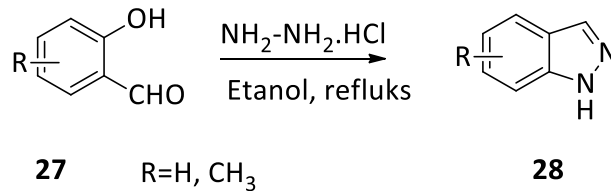
Alkaloid Nigeglanine, *Nigella glandulifera*'nın ekstraktlarından izole edilmiştir [46]. Başta Nigellisin olmak üzere Nigeglanin ve Nigellidin (*Nigella sativa*), zwitteriyonik ve nötr formülü Şekil 2.12'de gösterilmiştir.



Şekil 2.12 İndazol alkaloidler Nigellisin, Nigeglanin, Nigellidin

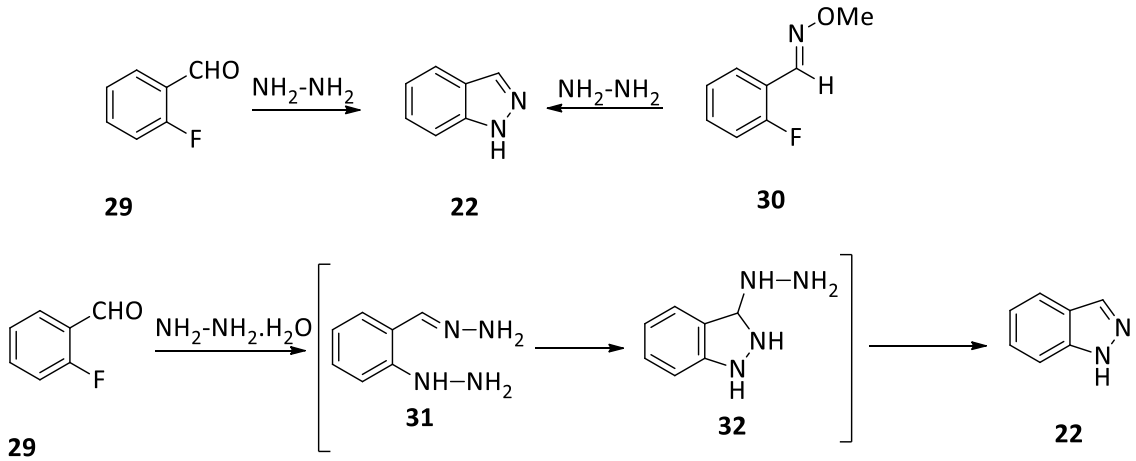
2.2.1 1H-İndazollerin Sentezi

1H-İndazoller, çok çeşitli biyolojik ve farmasötik aktiviteler sergileyen önemli bir heterosiklik bileşik sınıfını temsil eder. 1H-indazoller, hidrazin hidroklorür ile substitue salisilaldehitlerden (27) reflux koşulları altında çeşitli sentetik yöntemlerle elde edilebilmektedir [47].



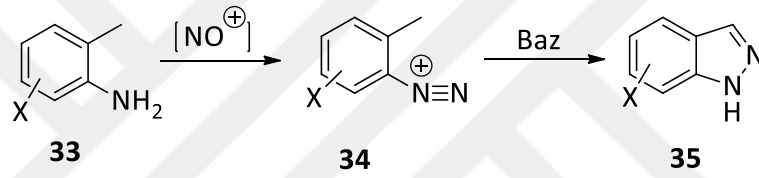
Şekil 2.13 Hidrazin hidroklorür ile indazol türevlerinin sentezi

Orto-floro benzaldehitlerin (29) ve orto-floro metiloksimlerinin (30) hidrazinle reaksiyonu, indazollerin (22) sentezi için kullanılmaktadır. Benzer şekilde hidrazin hidrat ile orto-floro benzaldehitten 31 ve 32 araürünleri üzerinden aynı ürün elde edilmiştir [48].



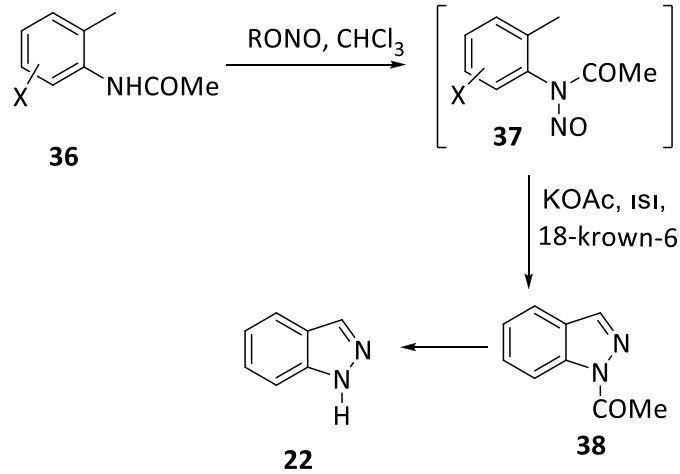
Şekil 2.14 Hidrazin hidrat ile indazol türevlerinin sentezi

İndazol sentezinde kullanılan yaygın yollardan biri, diazo gruplarının o-metil gruplarıyla moleküller arası birleşmesidir.



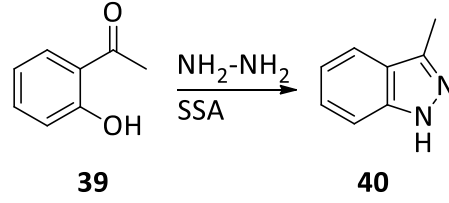
Şekil 2.15 İndazollerin diazo gruplarıyla sentezi

Bir başka genel yol ise *N*-asetil türevlerinin nitrojenasyonudur. (Jacobsen modifikasyonu)



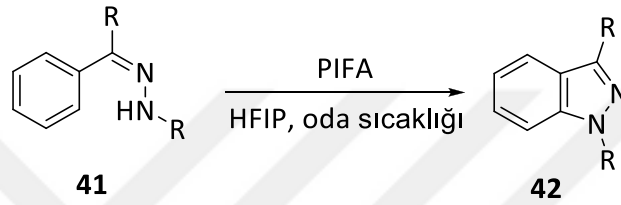
Şekil 2.16 İndazollerin *N*-asetil türevlerinden sentezi

o-Hidroksi asetofenonun (39), hidrazin hidrat ile silika sülfirik asit (SSA) katalizörlüğünde reaksiyona girmesi iyi verimlerle 1*H*-indazollerin (40) sentezine olanak sağlamaktadır [43].



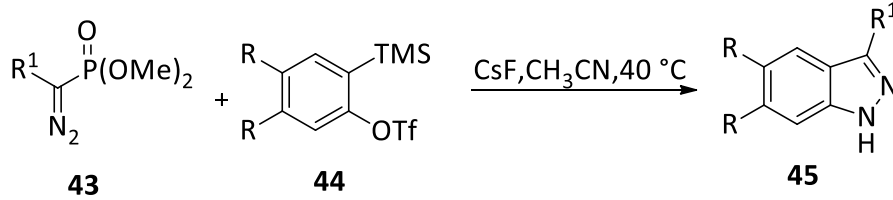
Şekil 2.17 İndazol türevlerinin hidrazin hidratlarla sentezi

1*H*-İndazollerin (**42**) arilhidrazonlardan (**41**) [bis(trifloroasetoksi)iyodo]benzen (PIFA) gibi bir oksidan kullanılarak doğrudan aril C-H aminasyonu ile sentezi Zhang ve arkadaşları tarafından çalışılmıştır [49].



Şekil 2.18 PIFA varlığında 1*H*-indazol sentezi

Peng ve çalışma arkadaşları CsF varlığında α -diazometilfosfonatların (**43**) orto-(trimetilsilil) fenil triflat (**44**) ile 1,3-dipolar siklokatılma reaksiyonundan 3-aril/alkil-1*H*-indazollerin (**45**) sentezini iyi verimlerle gerçekleştirmişlerdir [50].



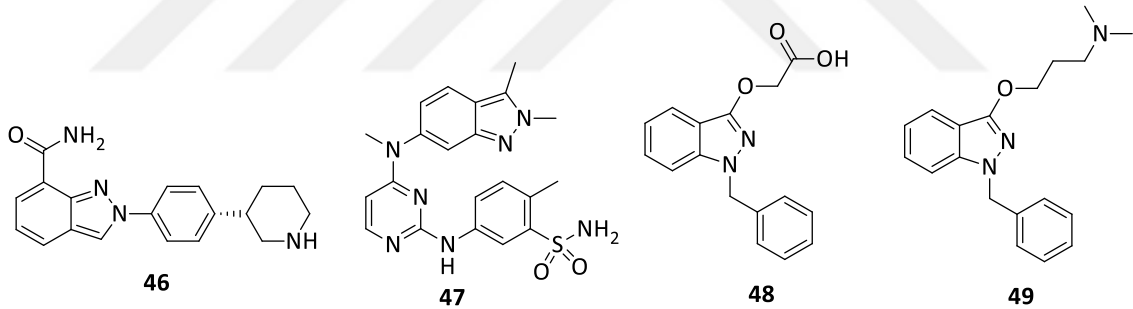
Şekil 2.19 1*H*- İndazollerin α -diazometilfosfonatlarından sentezi

2.2.2 İndazol Türevlerinin Biyolojik Aktiviteleri

İndazol halka sistemi biyolojik aktif bileşikler arasında yoğun ilgi çekmektedir. 2005 Yılında indazolün farmakolojik özellikleri gözden geçirilmiştir [51]. Moleküler şekil ve elektrostatik dağılım, enzim ve reseptör tanımda önemli bir rol oynadığından ve bağlanma afinitesine geniş ölçüde katkıda bulunduğundan, ilaç keşfine yardımcı olmak için indazol dahil olmak üzere moleküllerin elektroformları üzerine çalışmalar yapılmaktadır [52].

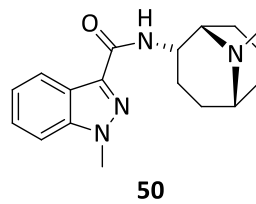
İndazol türevleri, doğada nadiren oluşur, ancak çeşitli sentetik bileşiklerdeki bu özel çekirdek, anti-inflamatuar, antiaritmik, antitümör, antifungal, antibakteriyel ve anti-HIV aktiviteleri gibi geniş bir farmakolojik aktiviteye sahiptir [53]. İndazol türevleriyle ilgili daha önceki bulguların özellikle protein kinaz inhibitörleri, kanser hücresi proliferatif hastalıkları, Alzheimer hastalığı, viral enfeksiyonlar, oto bağışıklık ve nöro dejeneratif hastalıklar olarak aktif olduğu bilinmektedir. Son yıllarda, bazı indazol halka sistemleri, klinik kullanım için onaylanmış en az birkaç bileşik ile çeşitli fizyolojik aktiviteler için potansiyel ilaçlar olarak değerlendirilmektedir [43].

Çeşitli substitue indazol içeren bileşikler, önemli farmakolojik aktiviteleri temsil eder ve ilaç moleküllerinde yapısal motifler olarak görev yapar. Örneğin, niraparib (**46**) tekrarlayan epitelyal over, fallop tüpü veya primer peritoneal, meme ve prostat kanserinin tedavisi için yaygın olarak antikanser ilaç olarak kullanılmıştır. Pazopanib (**47**), FDA tarafından renal hücreli karsinom için onaylanmış bir tirozin kinaz inhibitörüdür. Bendazac (**48**) ve Benzidamin (**49**), 1H-indazol iskeletini içeren ticari olarak temin edilebilen iki antiinflamatuar ilaçtır [54], [55], [56].



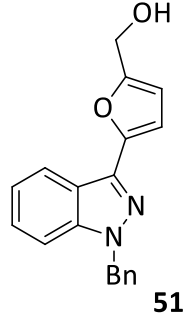
Şekil 2.20 İndazol halkası içeren ilaçların kimyasal yapıları

Farmakolojik olarak ilginç özellikler gösteren çok sayıda N(1)-C(3) disubstitue indazol örnekleri yayınlanmıştır. Seçici 5-HT₃ reseptör antagonisti Granisetron (**50**), kanser kemoterapötik ajanların neden olduğu bulantı ve kusmayı önlemek için klinik olarak kullanılmıştır [57].



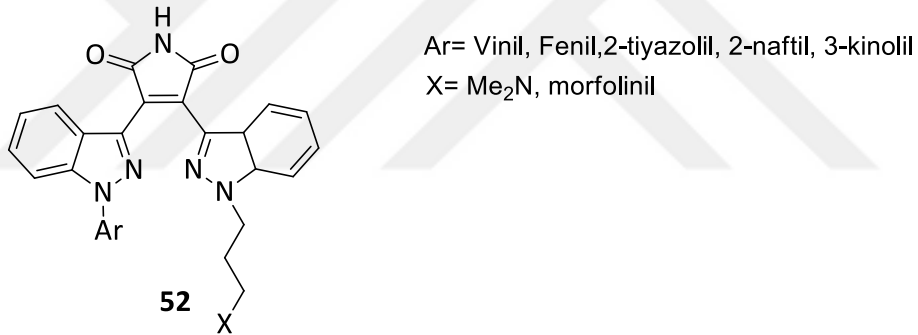
Şekil 2.21 Granisetron bileşiği

İndazol türevi YC-1 (**51**), kardiyovasküler ve merkezi sinir sisteminde bir sinyal molekülü olan nitrik oksit, sGC için fizyolojik reseptörün aktivatörü olarak rapor edilmiştir. YC-1, anjiyogenik faktörler in vitro ve anjiyogenez in vivo tarafından indüklenen endotelial hücre fonksiyonlarının inhibisyonu gibi diğer bazı biyolojik aktiviteleri de gösterir [58].



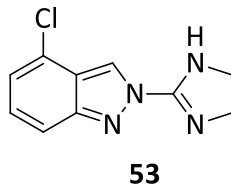
Şekil 2.22 İndazol türevi YC-1 bileşiği

(İndolil-indazolil) maleimidler (**52**), çeşitli substituentlerle protein kinaz C-β inhibitörleri olarak test edilmiştir [59].



Şekil 2.23 İndazol türevi protein kinaz C-β inhibitörleri

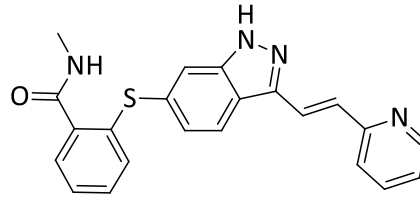
Bir dizi 2-(4,5-dihidroimidazol-2-il)indazolün (**53**) (indazim) I2/a2-adrenoseptör bağlanma profilleri tarif edilmiştir. Bunlar psikiyatrik bozukluklar, Parkinson, Alzheimer hastalıkları ve Huntington koreası gibi çeşitli hastalıklarda yer almaktadır [60].



Şekil 2.24 2-(4,5-Dihidroimidazol-2-il)indazol bileşiği

İkinci nesil hedefli bir ilaç olan Aksitinib (**54**), vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü (VEGFR) tirozin kinaz 1, 2 ve 3'ün güçlü ve yüksek oranda seçici bir

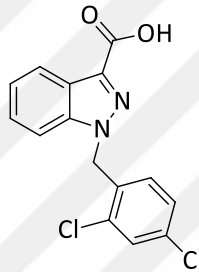
inhibitörüdür. Pfizer tarafından geliştirilmiş olan indazol türevi bu küçük molekülün antikanser aktivite gösterdiği bilinmektedir [7].



54

Şekil 2.25 İkinci nesil hedefli bir ilaç olan Aksitinib bileşiği

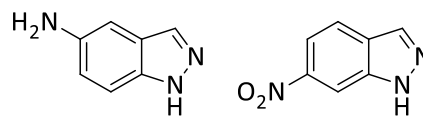
Diğer bir anti-tümör ilaç olan Lonidamin (LND) (55), tümörlerin kemoterapi, hipertermi ve radyoterapiye seçici olarak duyarlı hale getirilmesinde etkili bir moleküldür [6].



55

Şekil 2.26 Antitümör ilaç olan Lonidamin

C. Cheekavolu ve M. Muniappan çalışmaları sonucu indazol ve indazol türevlerinin (56, 57) potansiyel antiinflamatuvar etkisini ortaya koymuşlardır [61].



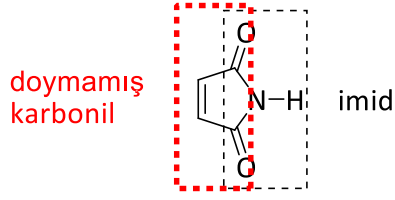
56

57

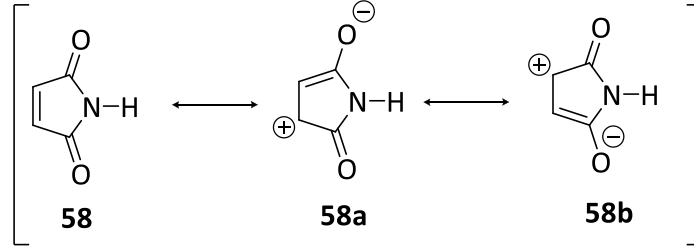
Şekil 2.27 Antiinflamatuvar etki gösteren indazol bileşikleri

2.3 Maleimid ve Türevleri

Organik kimyada önemli bir yapıtaşı olan maleimid, α,β -doymamış bir imid bileşiğidir ve adlandırılması maleik asit ve imidin kaynaşmasından gelmektedir. Bu α,β -doymamış bağ, nükleofillerle reaktivitesi sayesinde kolay işlevselleşmeye izin vermektedir. Maleimid molekülleri, $-\text{CO}-\text{N}(\text{R})-\text{CO}-$ genel yapısını içerdiklerinden hidrofobik ve nötrdürler, bu nedenle biyolojik membranlara nüfuz edebilirler [62].



58



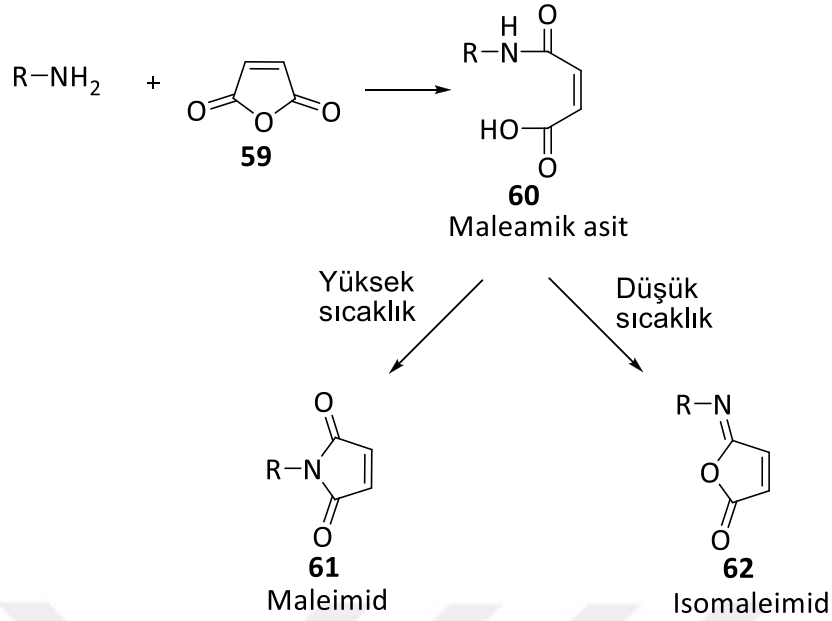
Mezomerik yapı

Şekil 2.28 Maleimidin genel yapısı ve tautomer yapılarının gösterimi

Rezonans yapısına bakıldığında çift bağların (Şekil 2.28) bir taraftan diğerine taşınması, hem anyonik hem de radikal ilaveler için maleimid fonksiyonel grubuna elektron alıcı ve dienofil özellikleri vermektedir. Maleimidler hem bilimsel hem de endüstriyel topluluklarda büyük ilgi görmektedir.

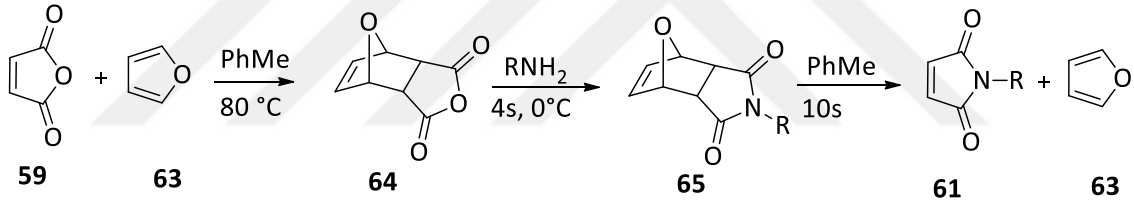
2.3.1 Maleimid Türevlerinin Sentezi

Genel olarak maleimid ve türevleri, maleik anhidritlerin aminlerle dehidrasyonu sonucu oluşurlar. Aminlerden *N*-substitue maleimid bileşiklerinin sentezi, iki aşamada gerçekleştirilir. İlk adım, en kolay olanı, maleik anhidrit (**59**) ve bir birincil amin arasındaki halka açma reaksiyonu ile maleamik asit (**60**) oluşumundan oluşur. İkinci adım, en zor olanı, maleamik asidin (**60**) molekül içi siklizasyonudur. Amid ve karboksilik asit grubu arasındaki yoğunlaşma, genellikle belirli bir katalizör ile gerçekleştirilir. Ayrıca, bu son adımın doğası sentezlenmiş maleimid ve yan ürün olarak oluşan isomaleimid (**62**) arasındaki oranın kontrol edilmesini sağlar.



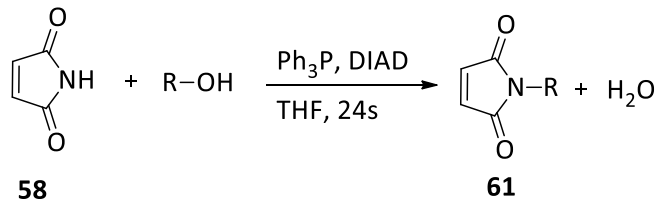
Şekil 2.29 Maleimidlerin genel sentezi

N-Substitue maleimidlerin sentezindeki yöntemlerden biri karbon-karbon çift bağının furan ile tersinir bir Diels-Alder reaksiyonu ile oluşumunu içerir [63].



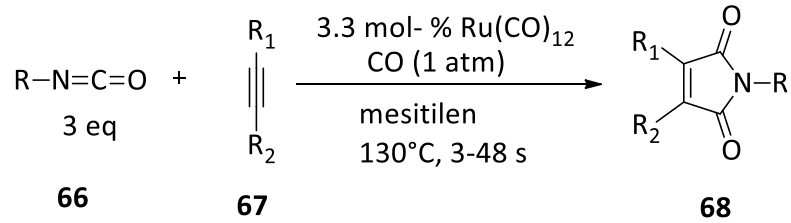
Şekil 2.30 *N*-substitue maleimidlerin tersinir Diels-Alder reaksiyonundan furanla sentezi

N-Substitue maleimidleri oluşturmak üzere Mitsunobu reaksiyonu genel ve doğrudan bir sentetik yoldur [64]. Maleimidi bir nükleofil olarak kullanan Mitsunobu reaksiyonu, esasen nötr koşullar altında ve ortam sıcaklığında gerçekleştirilebilir ve maleimidlerin sentetik öncüsü olarak aminler yerine alkollerin kullanılmasını sağlar. Şekil 2.31’de gösterildiği gibi, tipik reaksiyon koşulu, THF’de trifenilfosfin ve diizopropil azodikarboksilat (DIAD) varlığında, alkol ve maleimidin reaksiyonunu içermektedir. [63]



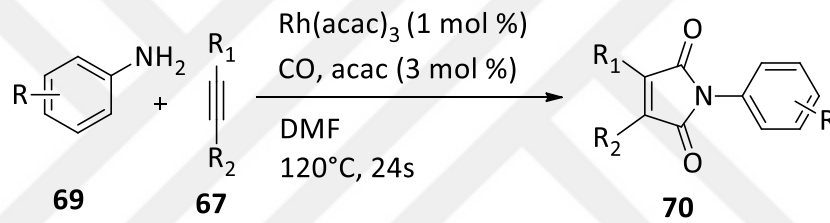
Şekil 2.31 *N*-substitue maleimidlerin Mitsunobu reaksiyonu ile sentezi

Kondo ve çalışma arkadaşları 3,4-disübstitüe maleimidleri izosiyanatlar, alkinler ve karbon monoksitin, intermoleküler [2+2+1] kosiklizasyonu ile sentezlemişlerdir. Bu yöntem tek basamakta simetrik olmayan polisubstitue maleimidlerin sentezi için ekonomik ve hızlı bir yaklaşım sağlamaktadır [65].



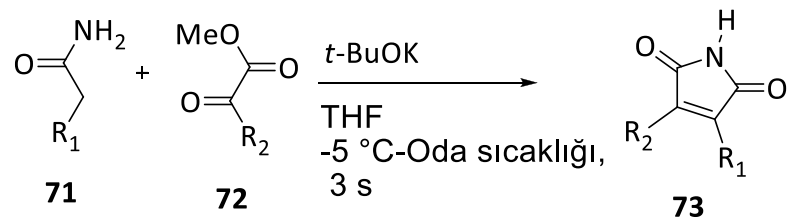
şekil 2.32 Polisubstitue maleimidlerin alkin ve izosiyanatlardan başlayarak sentezi

Aromatik aminlerin varlığında, alkinlerin karbonilasyonu ile substitue maleimidlerin eldesi yüksek verimlerle gerçekleştirilmiştir [66].



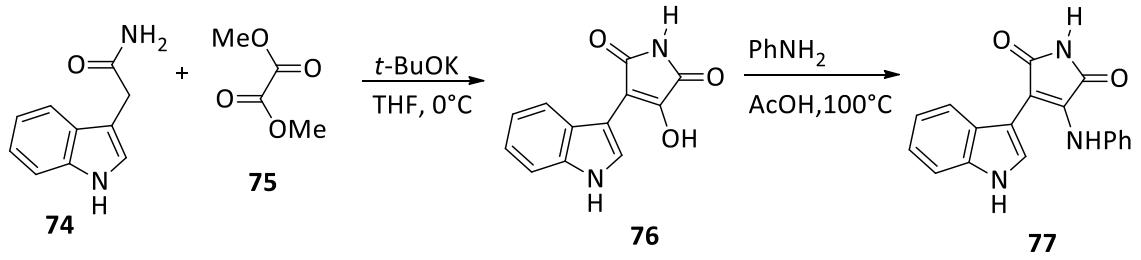
şekil 2.33 Polisubstitue maleimidlerin alkin ve aromatik aminlerle sentezi

1998 yılında Margaret Faul tarafından keşfedilen yöntem, α -keto asitlerle (72) asetamidlerin (71) kondenzasyonunu içermektedir. Bu yöntemde asetamidlerle glioksilat esterlerinin kondenzasyonu ile substitue maleimidlerin sentezi yüksek verimlerle gerçekleştirilmiştir [29].



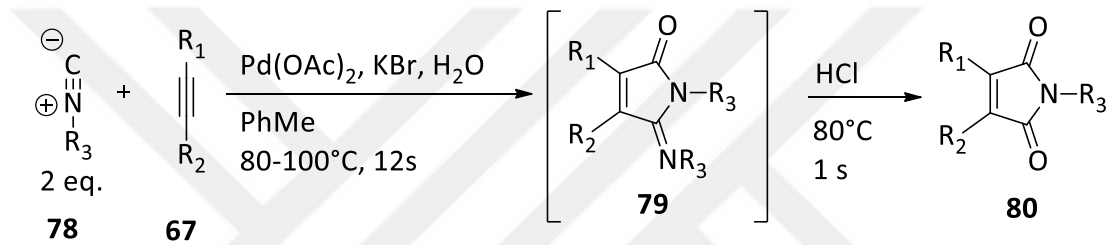
şekil 2.34 Faul yöntemi ile maleimid sentezi

Heteroaril asetamid türevlerinin (76), Faul yöntemine benzer koşullar altında dimetil oksalat (75) ile reaksiyonundan disubstitue maleimid türevleri (77) elde edilmiştir [67].



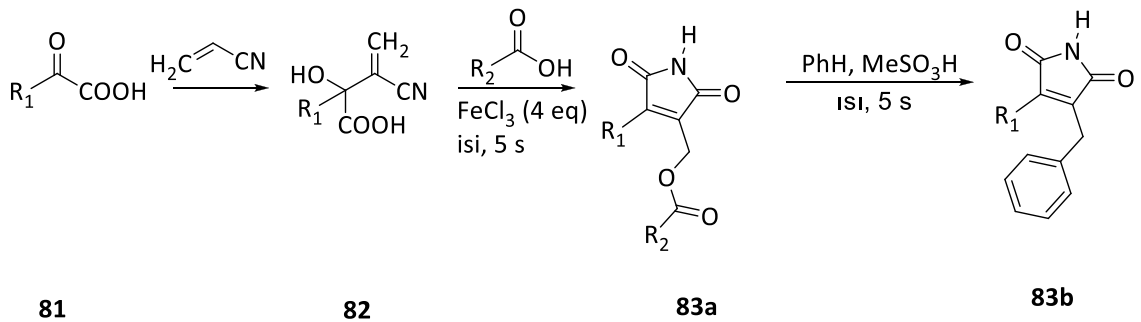
Şekil 2.35 Disubstitue maleimid türevlerinin sentezi

Çeşitli polisubstitue maleimid türevleri (**77**), izonitriller (**78**) ile alkinlerin (**67**) paladyum katalizörlü intermoleküler halkalanma reaksiyonu üzerinden sentezlenmiştir. Bu proseste, izonitriller C ve N kaynağı olarak oynamakta ve C-C, C=O ve C-N bağları tek basamakta oluşmaktadır (Şekil 2.36) [68].



Şekil 2.36 Pd katalizörlüğünde maleimid halkası oluşumu

1972'den beri bilinen Baylis-Hillman reaksiyonu organik kimyada C–C bağ oluşumuna yönelik bir yöntem olarak birçok uygulama bulmuştur. Elektron çeken nitril grubu içeren Baylis-Hillman ürünün (**82**), Fe katalizörlüğünde maleimidlere (**83a**) dönüştürülebildiği bildirilmiştir. Bu ürün daha sonra metansülfonik asit varlığında benzen içerisinde reflüks edilerek 3-benzilmaleimid (**83b**) türevine dönüştürülebilir [69].

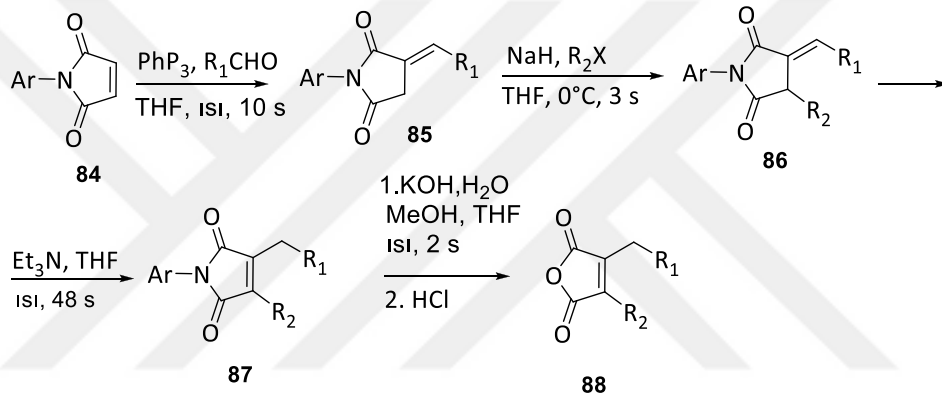


Şekil 2.37 Fe katalizörlüğünde Baylis-Hillman ürününden maleimid oluşumu

2.3.2 Maleimid ve Türevlerinin Reaksiyonları

2.3.2.1 N-Substitue Maleimidlerin Aldehitlerle Kondenzasyonu

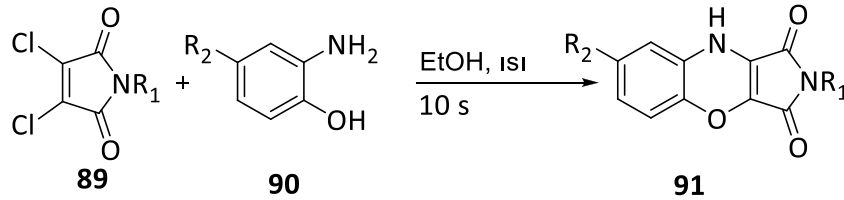
N-Arilmaleimidlerin (**84**), Ph_3P varlığında benzaldehit veya alifatik aldehitler ile kondenzasyonu sonucu 3-alkilidinsüksinimidler (**85**) oluşmaktadır. Sonrasında bileşiklerin, THF içinde NaH varlığında alkil ve benzil halojenürlerle alkilasyonu, 4-substitue 3-alkilidin süksinimidleri (**86**) vermektedir. Bu bileşiklerin trietilamin ile ısıtılması süksinimid izomerizasyonuna neden olur ve 3,4-dialkilmaleimidler (**87**) meydana gelir. Bu bileşiklerin bazik hidrolizi ve sonrasında HCl ile muamele maleik anhidrid türevlerinin (**88**) oluşmasına neden olur [70].



Şekil 2.38 N-Substitue maleimidlerin aldehitlerle kondenzasyonu

2.3.2.2 N- Nükleofillerle Reaksiyonu

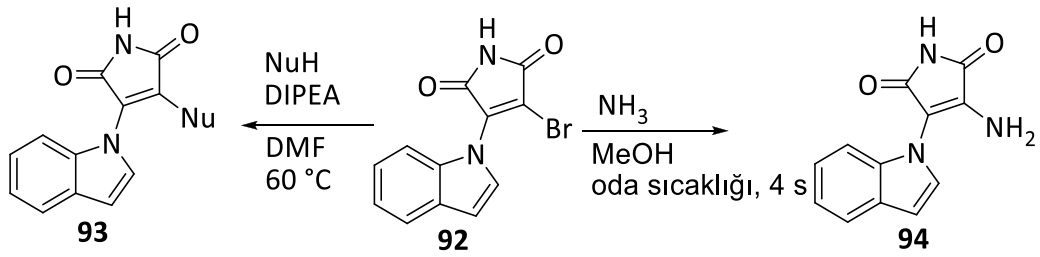
3,4-Dikloromaleimidlerin 2-aminofenollerle kondenzasyonu sonucunda benzoksazin türevleri elde edilmiştir [71].



Şekil 2.39 3,4-Dikloromaleimidlerin 2-aminofenollerle kondenzasyonu

4-Substitue 3-(indol-1-il) maleimidler, DMF içinde diizopropiletilamin varlığında 3-bromo-4-(indol-1-il) maleimidin, aminler veya NH-heterosiklikler ile ısıtılmasıyla bileşik

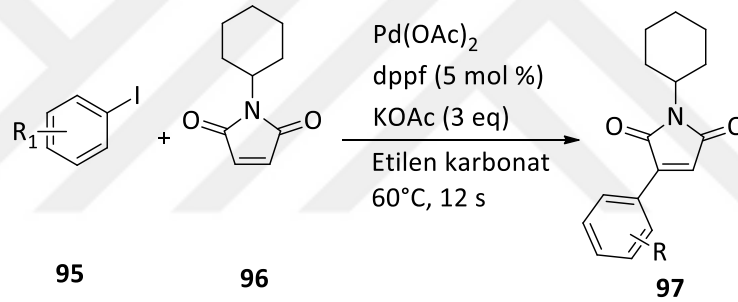
93 elde edilmiştir. Oda sıcaklığında metanol içerisinde amonyak ile **92**'nin etkileşimi 3-amino-4(indol-1-il) maleimidin (**94**) oluşumuna neden olmaktadır [72].



Şekil 2.40 Maleimidin *N*-nükleofillerle reaksiyonu

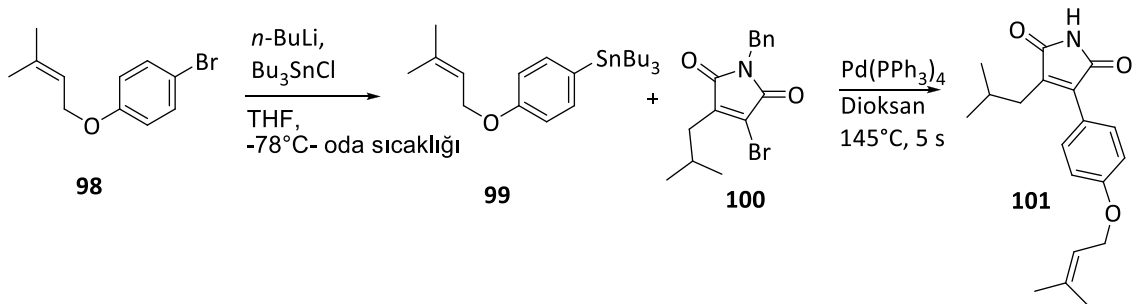
2.3.2.3 Cross-Coupling Reaksiyonları

1-Sikloheksil-3-fenilmaleimidler (**97**), etilen karbonat varlığında potasyum asetat veya bikarbonat kullanılarak 1-sikloheksilmaleimid (**96**) ve iyodobenzen (**95**) türevleri arasındaki Heck reaksiyonundan elde edilmiştir [73].



Şekil 2.41 Maleimid bileşiğinin Pd katalizörlüğünde gerçekleştirilen Heck reaksiyonu

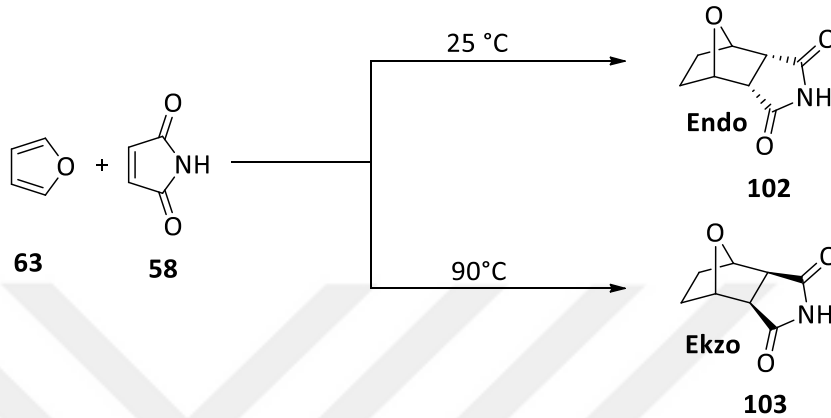
Güçlü antikanser aktivitesi ile bilinen ve insandaki bağışıklık yetersizliği virüsüne karşı aktivite gösteren Camforataimid (**101**) bileşiğinin stereoselektif sentezi Stille reaksiyonu ile gerçekleştirilmiştir. Tribütil [4-(3-metilbütül-2-eniloksi)fenil]kalay etkisiyle Pd(PPh₃)₄ varlığında Stille reaksiyonu koşulları altında brom atomunun değiştirilmesi sonucu maleimid türevi sentezlenmiştir [74].



Şekil 2.42 Stille reaksiyonu ile maleimid türevi Camfortamidin sentezi

2.3.2.4 Diels-Alder Reaksiyonu ([4+2] Siklokatalıma)

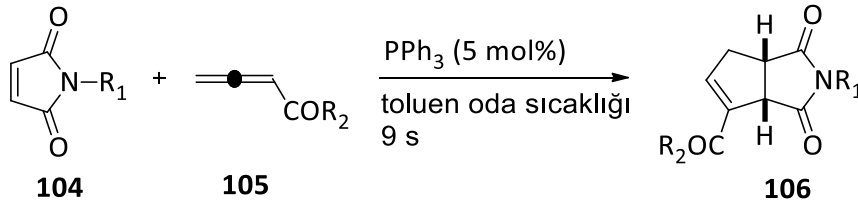
Diels-Alder reaksiyonu tüm furan ve maleimid türevleri arasında verimli bir şekilde gerçekleşir. Ayrıca, kinetik ürün olan endo oranı her zaman daha yüksektir, ancak sıcaklık arttıkça, ekzo oranı aynı anda artmaktadır. Furan ya da maleimid türevlerinde elektron çekici bir grup varsa endo ürün oranı artabilir [75].



Şekil 2.43 Diels-Alder reaksiyonu

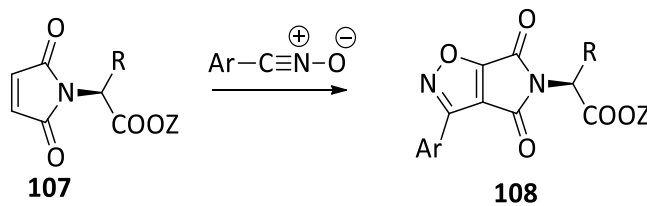
2.3.2.5 1,3-Siklokatalıma Reaksiyonu ([3+2] Siklokatalıma)

PPh_3 ile etkili bir şekilde katalizlenen reaksiyonda allenlerle (105) maleimidlerin (104) [3+2] siklokatalıma reaksiyonu gerçekleştirilmiştir [76].



Şekil 2.44 PPh_3 -katalizli maleimidlerin allenlerle [3+2] siklokatalıması

N-Substitue maleimidlerin, aril nitriloksitlerle Et_3N baz varlığında 1,3 dipolar siklokatalıma reaksiyonu sonucunda 5-üyelik izoksazol halkası oluşmaktadır. Oluşan diastereomerlerin oranı maleimid iskeletine bağlı gruplara göre değişmektedir [77].



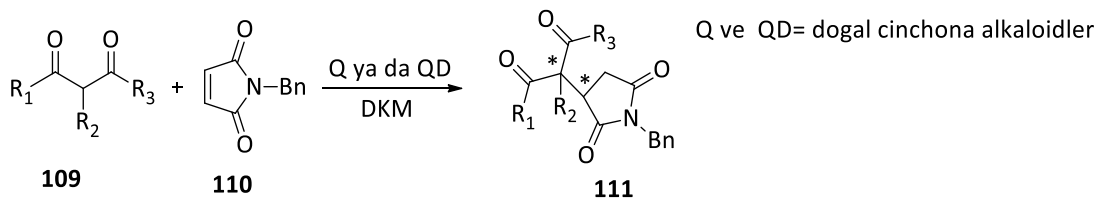
Şekil 2.45 Maleimidlere nitriloksit siklokatalıması

Çizelge 2.1 Maleimidlerle nitriloksitlerin 1,3-dipolar siklokatılmasının stereoselektivitesi

Bileşik	R	Z	Ar	endo/ekso
108a	CH ₃	Et	Mst	75:25
108b	(CH ₃) ₂ CH	Et	Mst	70:30
108c	(CH ₃) ₂ CHCH ₂	Me	Mst	64:36
108c	(CH ₃) ₂ CHCH ₂	Me	Ph	59:41
108d	CH ₂ OH	Et	Mst	59:41
108e	CH ₂ COOEt	Et	Mst	71:29
108e	CH ₂ COOEt	Et	Ph	71:28
108f	3-indolilmetil	Me	Mst	60:40

2.3.2.6 Michael Katılması Reaksiyonu

α,β -Substitue Michael alıcısı olan maleimid bileşiği, optik olarak aktif bileşiklerin üretilmesi için çok yönlü ve çekici yaklaşımlardan birini sağlar. Şekil 2.46'da 1,3-dikarbonil bileşiklerinin asimetrik organokatalitik yüksek verimli katalizörler olan cinchona alkaloidler varlığında maleimidlere katılma reaksiyonu yer almaktadır [78].

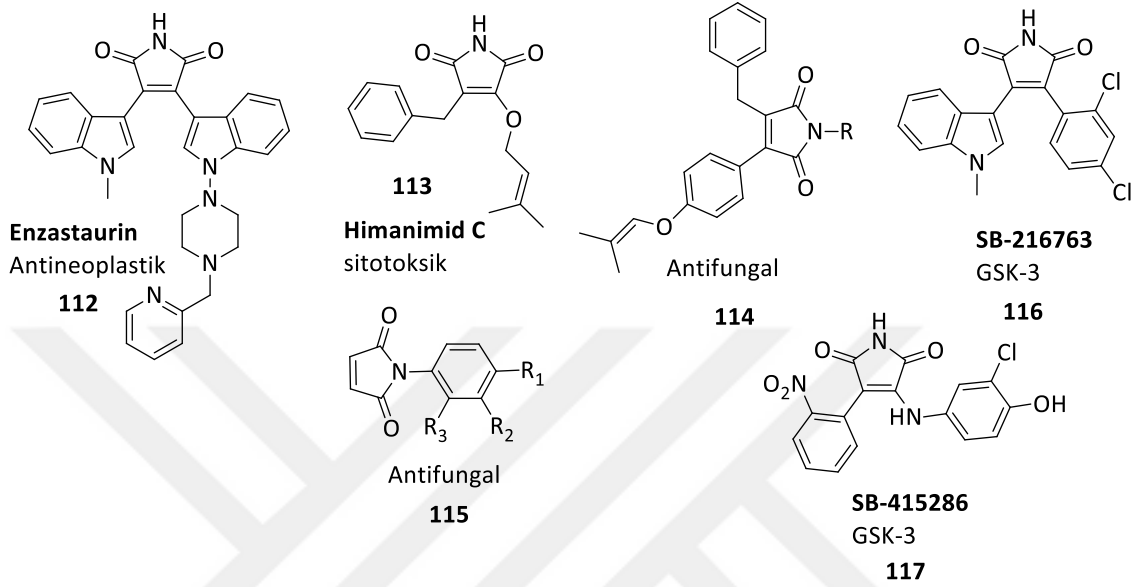


Şekil 2.46 Doğal cinchona alkaloidleri varlığında maleimidlere 1,3-dikarbonil bileşiklerinin stereoselektif konjuge katılması

2.3.3 Maleimid Türevlerinin Biyolojik Aktiviteleri

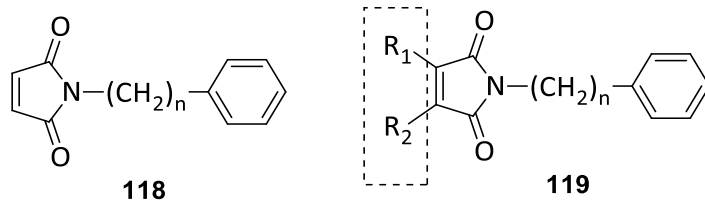
Maleimid türevlerinin, çeşitli biyolojik aktivite türleri sergiledikleri bilinmektedir. Bazı maleimidler, insanlar dahil tüm canlı organizmalarda hücre içi sinyal yollarında kilit rol oynayan protein kinazlar gibi çeşitli enzimlerin yüksek düzeyde aktif inhibitörleri olarak tanımlanmıştır. Maleimid sınıfın birçok bileşiği antibakteriyel, antifungal, antitümör ve antitüberküloz, analjezik, antiprotozoal, sitotoksiste ile ilgili olarak elde edilmiş ve

karakterize edilmiş, ayrıca bakterilerde çoklu ilaç direncinin önlenmesine yönelik maddeler olarak tanımlanmıştır [79], [80]. Maleimidlerin çeşitli türevleri, monogliserit lipaz, GSK-3a, Cdc25B, Bfl-1 ve DNMT-1'lerin seçici inhibitörleri olarak rapor edilmiştir [8], [9], [10], [11], [12], [81], [17], [18].



Şekil 2.47 Biyolojik aktif olarak bilinen bazı maleimid türevleri

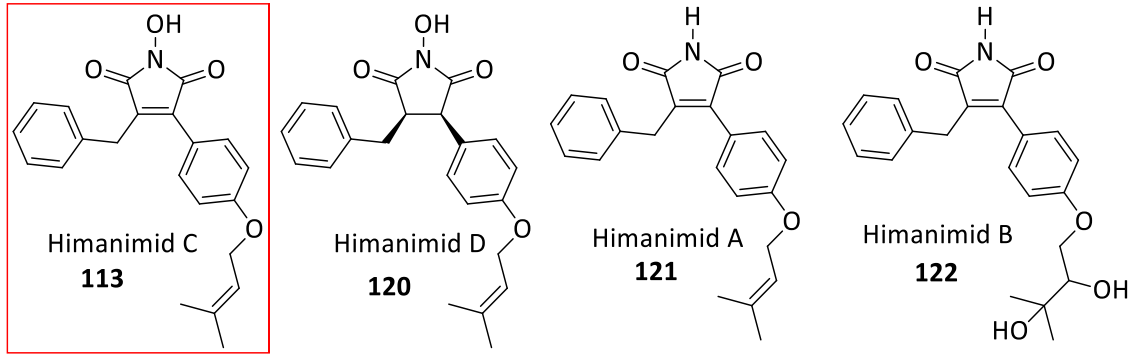
S. Zacchino ve grubu, *N*-substitue maleimid türevlerinin *Candida spp*'ye karşı güçlü antifungal aktivitelerini bildirmiş ve maleimid halkasının mükemmel aktiviteler için gerekli olduğu sonucuna varmıştır [82]. Sortino ve grubu, maleimid halkasında 3- ve 4- pozisyonundaki sübstituentlerin antifungal aktivite üzerinde değişken etki gösterdiğini çalışmalarıyla ispatlamıştır. Bu çalışmada antifungal davranışın alkil zincirinin uzunluğuna bağlı olduğu görülmüştür [18].



Şekil 2.48 Antifungal aktivite gösteren maleimid türevleri

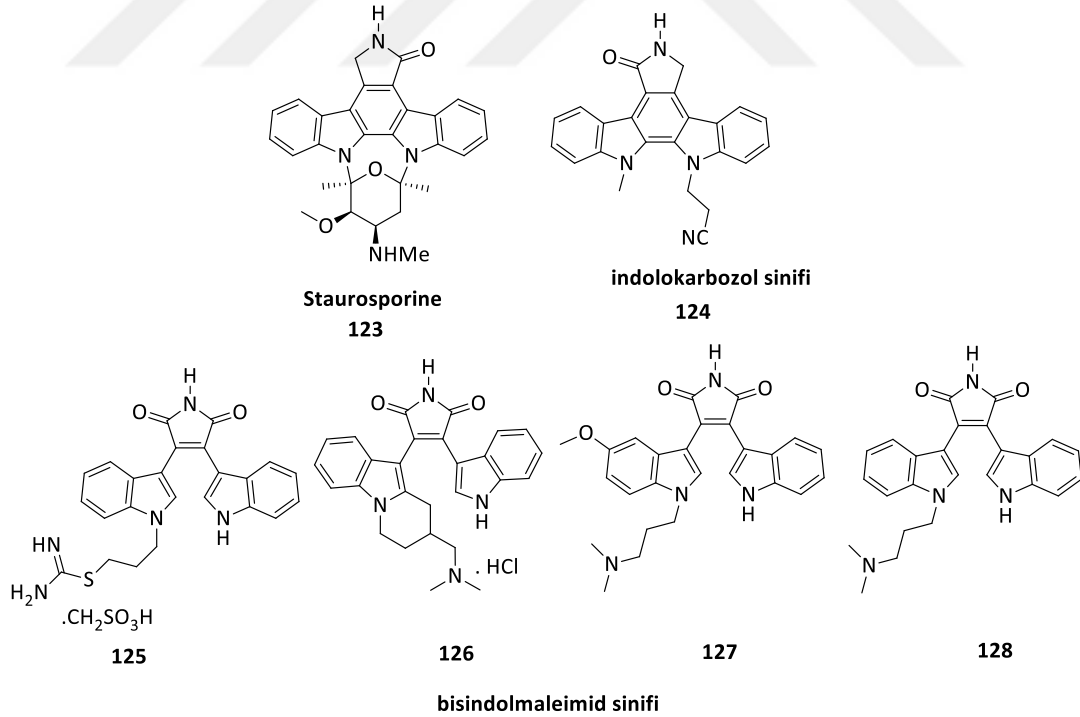
Himanimid bileşikleri yakın zamanda Şili'deki basidomisit kültüründen izole edilerek bakteri ve mantarların büyümesini engelleyen yeni maleimid türevleri olarak

spektroskopik yöntemlerle tamamen tanımlanmıştır. Özellikle Himanimid C (**113**) mükemmel antimikrobiyal aktivite sergilemektedir [17].



Şekil 2.49 Antimikrobiyal özellik gösterdiği bilinen Himanimid türevleri

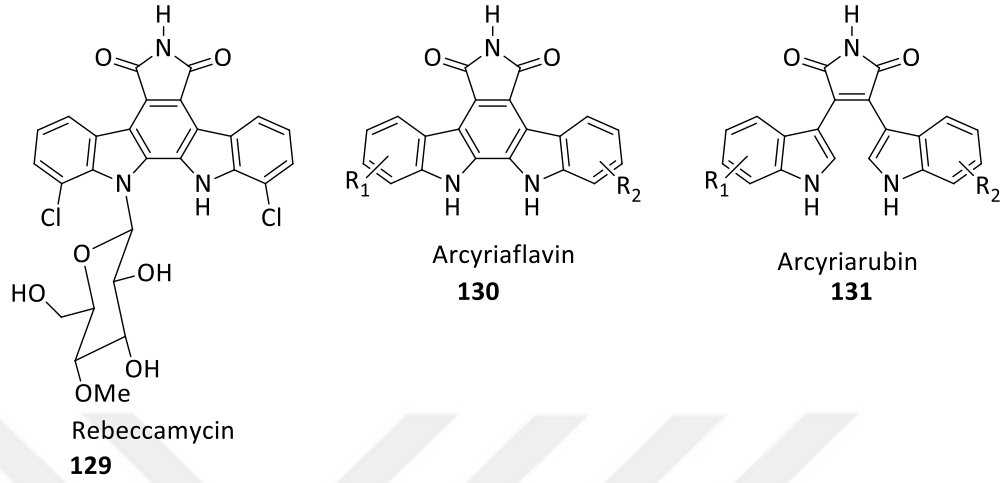
Bazı maleimid türevleri seçici protein kinaz inhibitörleri olarak rapor edilmiştir. 1977'de Streptomyces cinsi bakterilerinden izole edilen Staurosporine bileşiği protein kinaz inhibitörlerinin önde gelen moleküllerinden olmuştur. Fakat farmasötik uygulamalarda seçici olmadığı görülmüştür. Bu bileşiğin keşfi ile daha seçici inhibitörlerin sentezi için çalışmalar yapılmış ve maleimid türevi olan bileşikler literatüre kazandırılmıştır [27].



Şekil 2.50 GSK-3 inhibitörü olarak maleimid türevleri

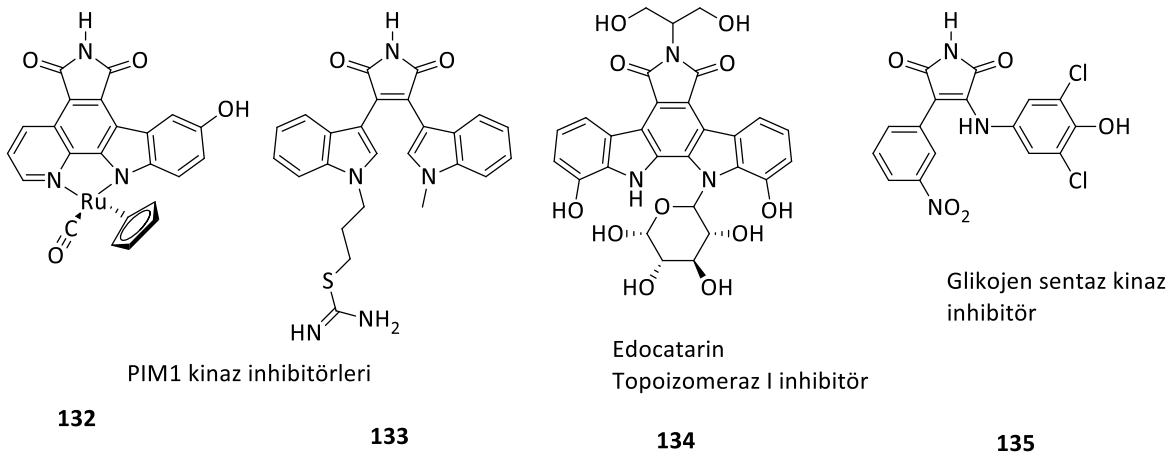
Nocardia aerocolonigenes bakterisinden izole edilmiş bir başka antibiyotik rebeccamycin (**129**), yalnızca protein kinazlara karşı değil, aynı zamanda topoizomera I

enzim inhibitörü olarak da tanımlanmıştır ve bazı tümör hücrelerine ilişkin önemli aktivite göstermiştir. Sonraki çalışmalarda Arcyriarubinler ve Arcyriaflavinler (**130**, **131**), güçlü protein kinaz C inhibitörleri olarak bulunmuştur.



Şekil 2.51 Protein kinaz inhibitörü olarak maleimid türevleri

Şekil 2.52’de yapıları gösterilen, protoonkogenik serin/treonin protein kinaz PIM1'in (IC_{50} değerleri sırasıyla 0.2 ve 10 nM) güçlü inhibitörleri olan indolilmaleimid türevleri **132** ve **133** kanser hücrelerinin büyümesini ve göçünü engelleyebilmektedir ve benzer molekülleri antikanser ilaçlar için potansiyel model bileşikler olarak düşünülmektedir. Bir topoizomerez I inhibitörü olan maleimid türevi (**134**) edotecarin, glioblastoma (beyin tümörü) karşı aktivite göstermiştir. Substitue maleimid türevlerinin bazıları, diyabet gelişimi ile ilişkili inaktivasyonu olan yüksek derecede aktif glikojen sentaz kinaz inhibitörleri olarak tanımlanmıştır. IC_{50} değeri bileşik **135** için 20 nM kadardır [83].



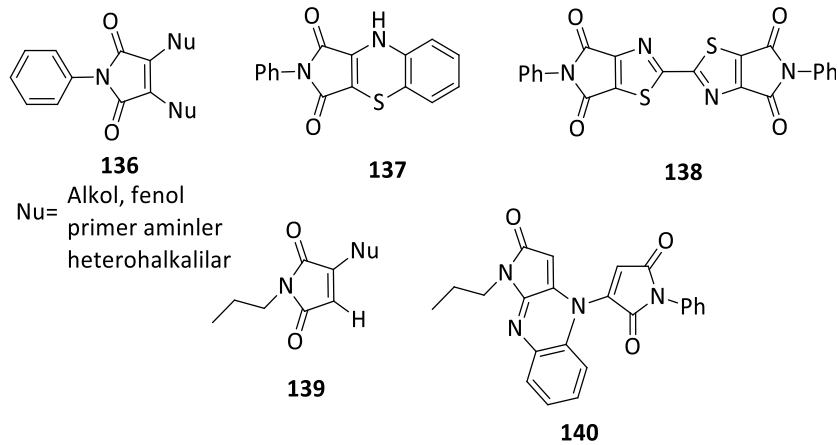
Şekil 2.52 Maleimid türevi bileşikler

Protein kinazların aktivitesini de etkileyen klinik olarak önemli lityum tuzlarına benzeyen maleimid türevlerinin, manik-depresif psikoz gibi bipolar bozuklukların tedavisi için psikotropik ilaçların geliştirilmesinde temel teşkil etme potansiyeline sahip olduğu anlaşılmaktadır [83], [84].

2.3.4 Maleimid Türevlerinin Diğer Uygulamaları

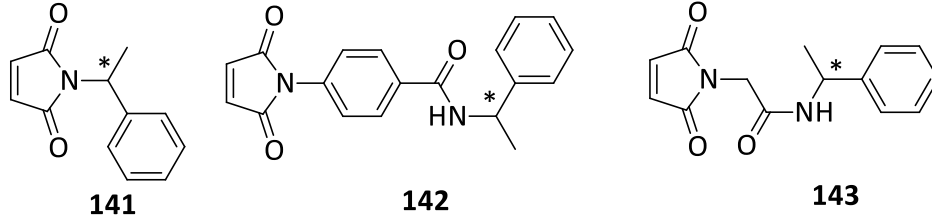
Maleimid ve türevleri kimyasal sentezde önemli yapı taşlarıdır ve bazıları biyolojik aktivite gösterir. Maleimidlerin reaktivitesinin bir özelliği, Michael katılması veya Diels-Alder reaksiyonları yoluyla çift bağ boyunca katımlara karşı duyarlılıklarıdır. Maleimiddeki karbon karbon çift bağı ayrıca, yarı iletken endüstrisindeki yapıştırıcılar gibi yüksek sıcaklık uygulamalarında kullanılan fonksiyonel polimerler üretmek için serbest radikal veya anyonik polimerizasyon veya kopolimerizasyon kabiliyetine sahiptir. Maleimid türevlerinin biyolojik uygulamaları onların yüksek ve spesifik reaktivitesi/biyolojik substratta tiyol gruplarına bağlanmaları (ör: kimyasal problemler), protein ve peptidler için yer yönlendirmeli modifikasyonları, biyokonjugatlar ve ön ilaçlardan kaynaklanmaktadır.

Şekil 2.53'de çeşitli heterosiklik boyalar ve pigmentler, fenilmaleimid veya *N*-propilmaleimidin halojenür türevlerinin birincil aminler, fenoller ve heterohalkalılar gibi mono-nükleofiller ve *o*-aminotiyofenol, *o*-fenilendiamin, ditiyoksamit, vb. gibi iki işlevli nükleofiller ile nükleofilik süstitüsyon reaksiyonları ile sentezlenmiştir. Bu maleimid türevleri, yeni boyarmadde kimyasında potansiyel olabilecek yoğun renkler göstermiştir [85].



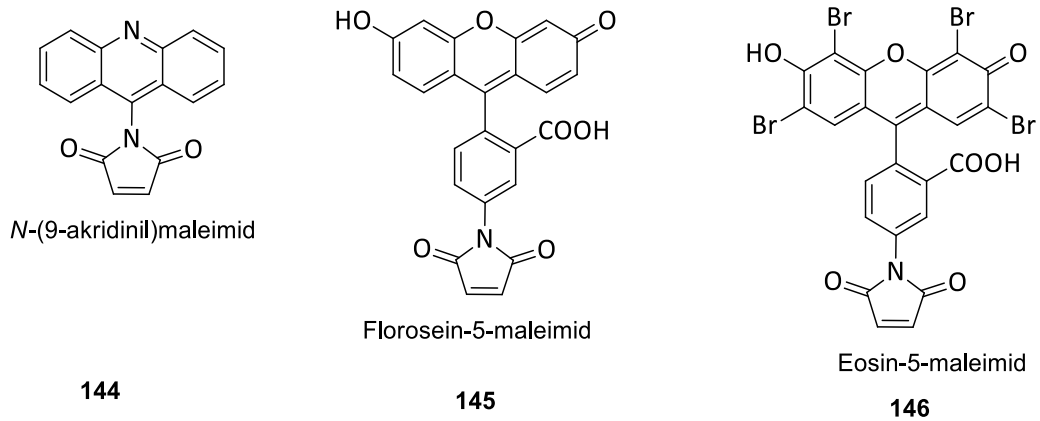
Şekil 2.53 Maleimid temelli çeşitli heterohalkalı boya ve pigmentler

Literatürde yer alan yeni kiral ve optikçe aktif *N*-substitüe maleimid türevleri, Şekil 2.54'de gösterilmektedir [63]. Bu moleküllerden, maleimid halkasında polimerize olabilir bir çift bağ içerdikleri için optik olarak aktif polimerler ve kopolimerler üretebilir.



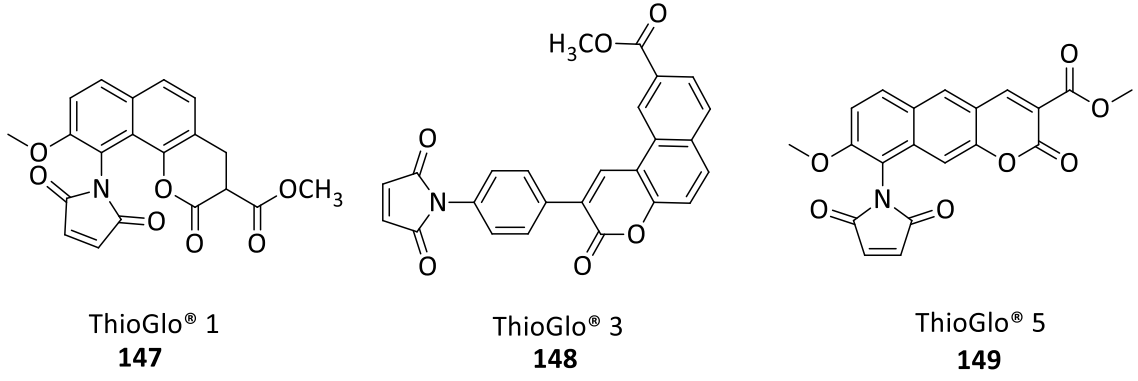
Şekil 2.54 Kiral ve optikçe aktif *N*-substitüe maleimid türevleri

Şekil 2.55'de gösterilen fluorosein, akridin ve eosin gibi floresan organik bileşikler ticari olarak temin edilebilen spesifik floresan işaretleme reaktifleri üretmek için maleimid kısmı ile işlevselleştirilmiştir. Örneğin eozin-5-maleimid, kalıtsal sferositoz gibi membran rahatsızlıklarına yönelik bir teşhis tarama aracı olarak kırmızı hücre zarındaki anyon taşıma proteini lizin-430'ya spesifik olarak bağlanmak için kullanılmıştır. Benzer şekilde eozin-5-maleimid, insan eritrosit bandının 3 oryantasyonunu floresan polarizasyon mikroskobu ile belirlemek, sistein kalıntılarını ve mitokondriyal ADP/ATP taşıyıcısının taşıma aktivitesini karakterize etmek için kullanılmıştır [86], [87].



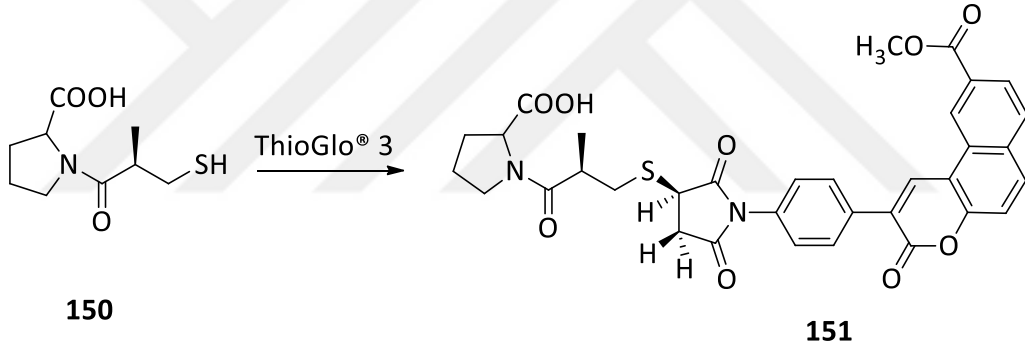
Şekil 2.55 Maleimid temelli ticari floresan görüntüleme reaktifleri

ThioGlo® reaktifleri, biyolojik moleküllerde tiyol gruplarının türevlendirilmesi, saptanması ve belirlenmesi için tiyol reaktif floresan problemleri olarak ticarileştirilmiştir. Tiyol gruplarıyla reaksiyondan önce floresansları çok az veya hiç yoktur; proteinler, enzimler ve basit peptidlerdeki aktif -SH gruplarıyla hızlı reaksiyondan sonra yüksek tiyol duyarlılığı ve reaksiyon verimi ile sonuçlanan yüksek kuantum verimleri oluşur.



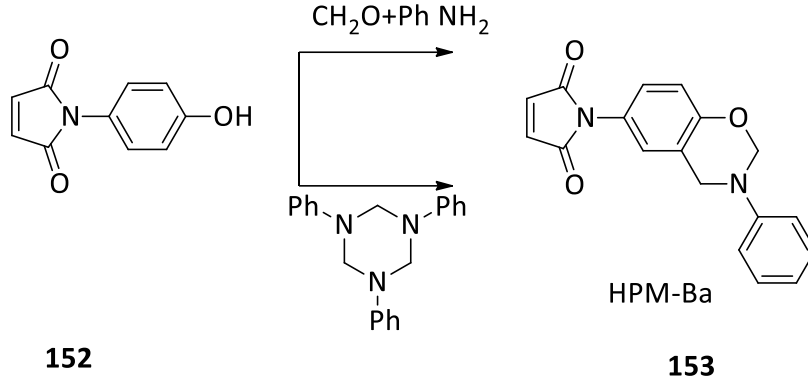
Şekil 2.56 ThioGlo® floresans problemler

Şekil 2.57'de gösterildiği gibi, ThioGlo®3, arteriyel hipertansiyonun tedavisi için iyi bilinen bir anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü olan kaptoprilin stereospesifik olarak türevlendirilmesi ve belirlenmesi için kullanılmıştır. Ek olarak, ThioGlo®3, biyolojik numunelerdeki *N*-(2-merkaptopropionil)-glisin ve 2-merkaptotetan sülfonat gibi maddelerin eser miktarını ölçmek için de kullanılmıştır [88], [89], [90].



Şekil 2.57 Kaptoprilin ThioGlo® 3 ile stereospesifik türevlendirilmesi

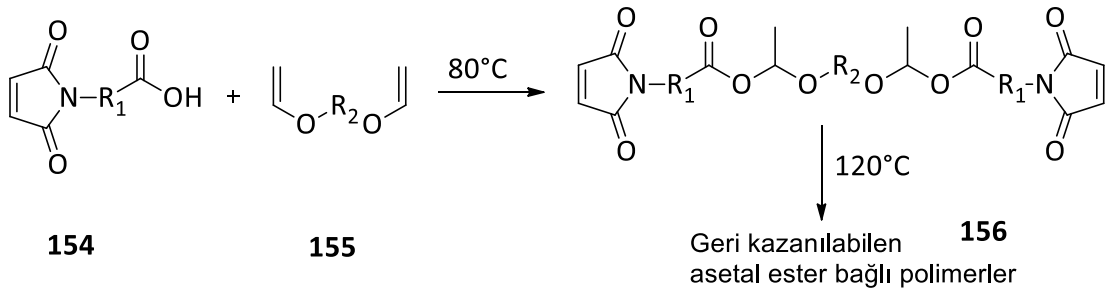
Maleimid grupları içeren benzoksazin türevleri çalışmaları son yıllarda literatürde yer almıştır. Hem maleimidler hem de benzoksazin, polimerleştirilebilir monomerlerdir ve polimerler iyi termal, mekanik ve elektriksel özelliklerin yanı sıra moleküler tasarımda çok yönlülüğü sergiler. Bu iki fonksiyonel grubun bir monomerde birleşmesi, yüksek performanslı kompozitler için yeni adaylar sunmaktadır [91], [92].



Şekil 2.58 Benzoksazin içeren maleimid türevleri

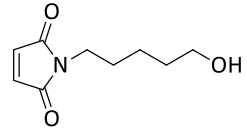
Maleimid bileşikleri, özellikle de bismaleimid bazlı reçineler, 1960'lardan bu yana yüksek performanslı termoset reçineler olarak bilinmektedir. Isı ve kimyasal direnç, yüksek mekanik stabilite, yüksek çapraz bağ yoğunluğu, düşük nem emilimi ve iyi yapıştırıcı ve elektriksel özellikler gibi çok çeşitli mükemmel fiziksel özelliklere sahiptirler.

Bununla birlikte, genel olarak, sertleşmeden sonra zayıf parçalanabilirlik sergilerler; bu bozunabilir, geri dönüştürülebilir ve yeniden işlenebilir polimerlerin tercih edildiği uygulamalarda kullanımlarını sınırlar. Termal olarak kırılabilir asetal ester bağlantılarının maleimid bileşiklerine yerleştirilmesiyle yeniden yapıştırılabilir yapışkan uygulamaları için yeni termoset malzemeleri geliştirilmiştir [93], [94].

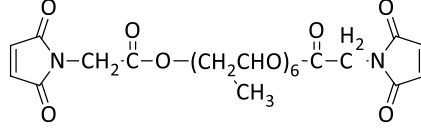


Şekil 2.59 Geri kazanılabilen asetal ester bağı içeren multifonksiyonel maleimid türevleri

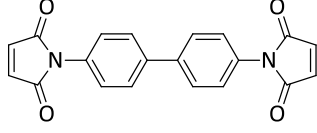
Yapıştırıcı ve ambalajlama endüstrilerindeki geniş bismaleimid reçineleri uygulamaları mükemmel özelliklerinden kaynaklanmaktadır [63]. Reaktif bir sıvı vinil seyreltici ile foto kürleme için çeşitli maleimid ve bismaleimid bileşikleri incelenmiştir. Bunlar sadece hidroksialkilmaleimidler ve alifatik veya aromatik-bağlı bismaleimidleri içerir. Ticari olarak temin edilebilir maleimid bileşiklerinin örnekleri, Şekil 2.60'da gösterilmektedir [63].



Hidroksipentilmaleimid
157



Polipropilenoksit Bismaleimid
158



Metildifenil Bismaleimid
159



Q-Bond® C36 Sikloalifatik Bismaleimid
160

Şekil 2.60 Reaktif seyreltici ile foto kürleşebilen ticari maleimid bileşikleri



Glikojen Sentaz Kinaz-3 (GSK-3 ENZİMİ)

Protein kinazlar, çeşitli hücrel fonksiyonları düzenler ve bu nedenle ilaç keşif programlarında sıklıkla kullanılır [95]. Anahtar proteinlerdeki serin, treonin ve tirozin kalıntılarını fosforile ederek sinyal iletim işlemlerini düzenler. İlgili sinyal yolları, birçok hastalıkta patolojiye katkıda bulunur [96], [97]. Glikojen Sentaz Kinaz-3 (GSK-3), 1970'lerin sonlarında keşfedilen ve glikojen metabolizmasından gen transkripsiyonuna kadar çeşitli fizyolojik işlemlere katılan, çeşitli sinyal yollarındaki çok yönlü rolü nedeniyle “çok görevli kinaz” olarak adlandırılan bir serin/treonin protein kinazdır [98], [99], [100]. Fosfotransferaz ailesinin altına giren kinaz sınıfına aittir. Başlangıçta, glikojen sentazını düzenlediği bilinmektedir, ancak bugün birkaç biyolojik işlemi düzenleyen çok çeşitli substratları fosforile ettiği bilinmektedir. GSK-3, Wnt, Hedgehog sinyal yolu, nöronal gelişim, transkripsiyon, insülin yolu, hücre bölünmesi, hücre sağkalımı ve hücre ölümü vb. gibi çeşitli hücrel olaylarda yer almaktadır [101], [102], [103]. 100'den fazla substrat ile birçok hücre içi düzenleyici mekanizmada yer alan geniş spektrumlu bir enzim olarak kabul edilir. Çeşitli hücrel olaylardaki çok çeşitli uygulamaları nedeniyle, GSK-3'ün anormal bir aktivitesi, Alzheimer, kanser, diyabet, kardiyovasküler bozukluklar, nörodejenerasyon ve psikiyatrik bozukluklar gibi çeşitli rahatsızlıklara yol açmaktadır. Bu nedenle GSK-3, bu hastalıkların tedavisinde araştırılmakta olan en uygun hedeflerden biridir [104], [105], [106], [107], [108], [14], [109], [110], [111], [112].

Memelilerde GSK-3 ile ilişkili iki izoform bulunur, katalitik alanlarda %98 homoloji paylaşan ve benzer biyokimyasal özelliklere sahip olan iki izoform GSK-3 α ve GSK-3 β 'dir.

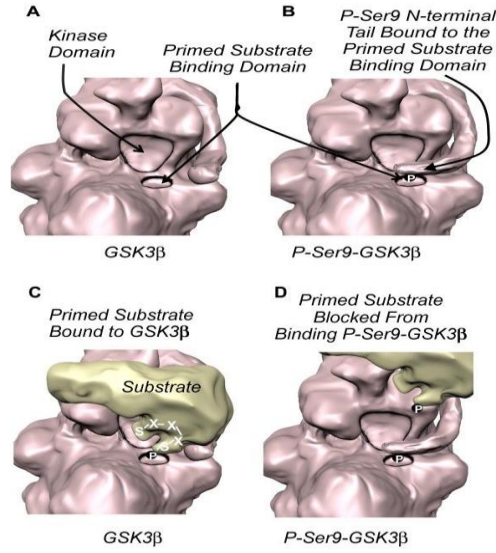
İzoformlar, katalitik alanlarında benzer, ancak *N*-terminal bölgelerinde önemli ölçüde farklılık gösterir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 GSK-3 izoformları: GSK-3α ve GSK-3β (Gly: glisince zengin bölge, S9 ve S21: *N*-terminal serin fosforilasyon bölgeleri, Y279 ve Y216: tirozin fosforilasyon bölgeleri, kDa: kilodalton)

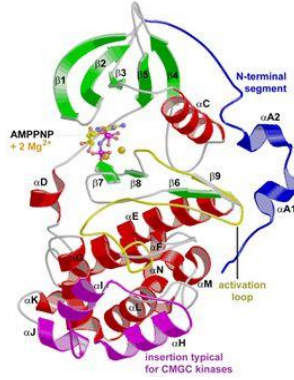
Her iki izoform da beyinde ve pek çok dokuda yaygın olarak bulunmakla birlikte özellikle beta izoformu tüm beyin bölgelerinde bulunmaktadır. Beyin dokusu ile ilgili araştırmalarda, GSK-3β'nin beyin hipokampus ve neokorteks bölgelerinde yoğunlaştığı bilinmektedir.

GSK-3 hücrel çöğalma, göç, iltihap ve bağışıklık gibi olaylarda pro-inflamatuar sitokin ve interlökin üretimi de dahil olmak üzere, çeşitli protein kinazlar aracılığıyla adaptif değişiklikler, hücre çöğalması, ve hücre içi sinyal yollarını etkileyerek glukoz regülasyonu ve apoptoz başta olmak üzere hem periferde hem de santral sinir sisteminde etkilidir [113], [114], [115], [116], [117], [118]. GSK-3 enzimi hücrede yapısal olarak aktif yani defosforile edilmiş halde bulunur. Diğer protein kinazlarla fosforile edilme suretiyle inhibe edilir (Şekil 3.2). GSK-3β, Ser9 (inhibe edici) ve Tyr216'nın (aktive edici) translasyon sonrası fosforilasyonu ile düzenlenir. GSK-3α ise sırasıyla Ser21 ve Tyr279'un fosforilasyonu ile düzenlenir. Bu inhibitör fosforilasyon yollarına rağmen, protein fosfataz 2A (PP2A) ve protein fosfataz 1 (PP1) gibi protein fosfatazlar tarafından defosforilasyonu GSK-3'ün aktivitesini artırır ve nöronal dejenerasyon süreci başlar. Fosfatidilinozitol-3-kinaz (PI3K) önemli hücrel süreçlerin regülasyonunda rol oynayan bir lipid kinazdır. Bu kinaz, Akt aktivatörüdür ve GSK-3β aktivitesini enzimin serin-9 rezidüsünden fosforilasyonla inhibe eder [119].



Şekil 3.2 GSK-3 β enziminin substrat bağlanma bölgesinin fosforilasyon sonucu inhibisyonunun görünümü

Hayvan modelleri ve/veya hücresele çalışmalar yoluyla GSK-3 alanındaki önemli araştırma ilerlemeleri, GSK-3'ün işlevsel yönleri hakkında derinlemesine bilgi sağlamıştır. Ayrıca, GSK-3'ün kristal yapısı, çeşitli terapötik potansiyeli olan birkaç GSK-3 inhibitörünün geliştirilmesine de yardımcı olmuştur [120], [121].



Şekil 3.3 GSK-3 Yapısı

3.1 GSK-3 Enzim İnhibisyonu

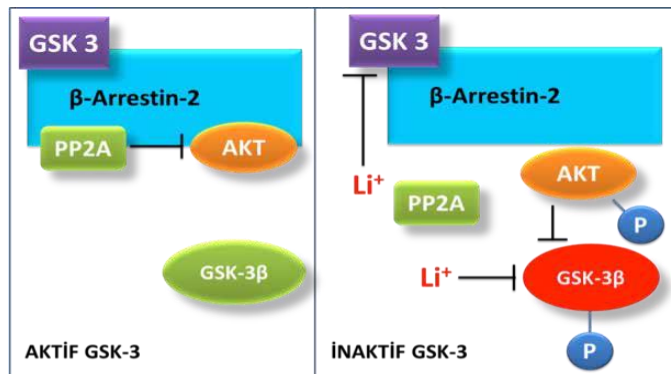
Uzun yıllar boyunca yapılan çalışmalar GSK-3'ün diyabet, inflamasyon, kanser, psikiyatrik ve nörodejeneratif hastalıklar (bipolar bozukluk, Parkinson hastalığı ve Alzheimer hastalığı, vb.) ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu nedenle GSK-3, bu hastalıkların tedavisinde araştırılmakta olan en uygun hedeflerden olmuştur. GSK-3, Alzheimer hastalığı ile ilişkili tüm ana anormallikler ile ilişkilendirilmiştir. GSK-3 enzim inhibitörlerinin geliştirilmesi, nörodejeneratif hastalıkların, özellikle Alzheimer

hastalığının tedavi stratejisinde önemli bir yaklaşım olmuştur. GSK-3 enzim inhibitörleri dopaminerjik nöron hasarına sebep olan farklı patolojik yollara karşı pozitif etkilere sahiptir.



Şekil 3.4 GSK-3 inhibitörlerinin etkili olduğu düşünülen hastalıklar

Geçmiş çalışmalara bakıldığında lityum tuzu, doğrudan enzime bağlanan ve bipolar bozuklukların tedavisinde kullanılan GSK-3'ün ilk farmakolojik inhibitörüdür. O zamandan beri, canlı hücrelerde GSK-3'ü etkilemek için gerekli olan milimolar konsantrasyonlara rağmen lityum tuzu, GSK-3'ün farmakolojik inhibitörü olarak yaygın bir şekilde kullanılmıştır [122]. Lityum tuzu deneysel ve klinik olarak oldukça yaygın kullanılmaktadır. Lityum tuzu ve BIP-135 gibi farklı GSK-3β inhibitörleri ile yapılan çalışmaların oksidatif hasarı yok ettiği gösterilmiştir [123]. Lityum tuzlarının kullanılması ve GSK-3 inhibitörlerinin umut verici etkileri son 10 yılda daha selektif inhibitörlerin geliştirilmesine yol açmıştır [25].



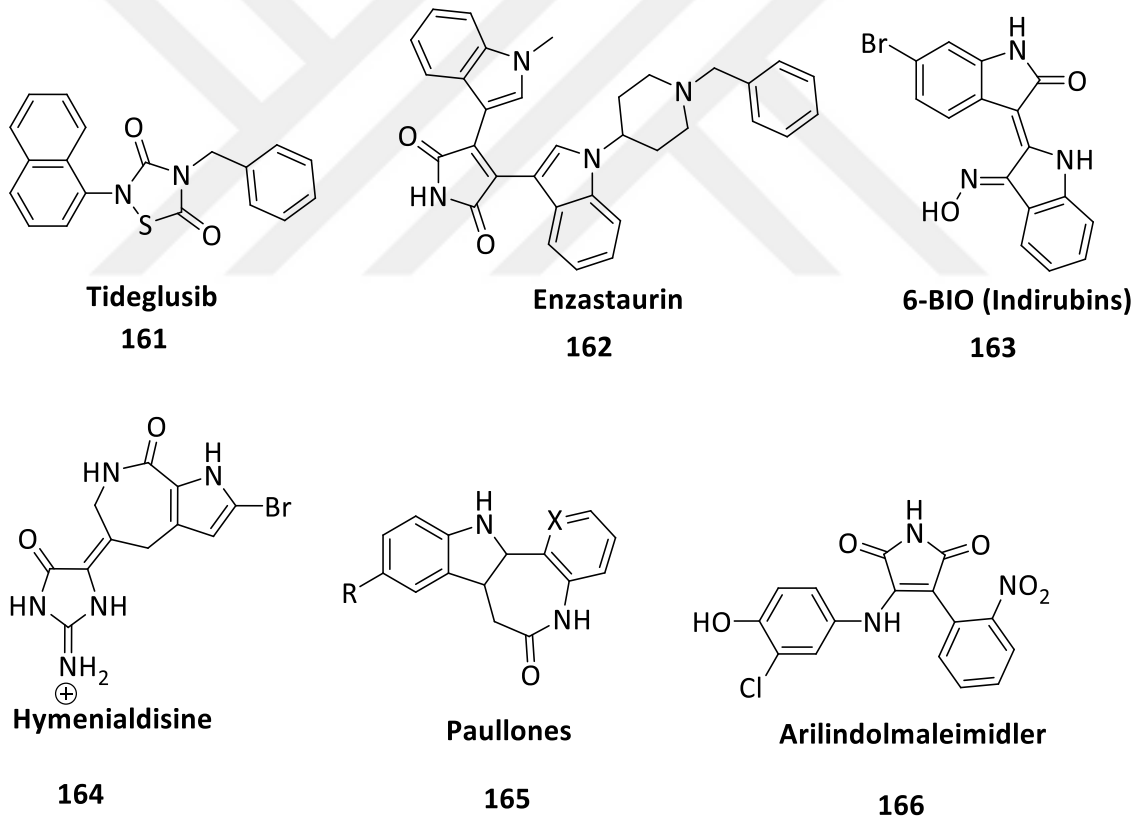
Şekil 3.5 Lityum'un GSK-3 aktivitesini inhibe etmesi: (GSK-3: glikojen sentaz kinaz 3, Li: Lityum, PP2A: protein fosfotaz 2A, P: fosfor)

3.2 GSK-3 İnhibitörlerin Klinik Çalışmalar Altında İncelemeleri

Birkaç GSK-3 inhibitörü, GSK-3'ün çok işlevli olduğunu gösteren çeşitli bozukluklar için klinik denemelerden geçmektedir.

Tideglusib (**161**), hafif ila orta dereceli progresif supranükleer palsi tedavisi için Faz 2 denemeleri altındadır. Aynı zamanda Alzheimer hastalığının (AD) tedavisi için Tideglusib'in Faz Ila çalışması yapılmıştır. İleri/metastatik kanserli hastalarda Bevacizumab ile kombinasyon halinde oral Enzastaurin (**162**) Faz 1 çalışması yapılmıştır. 67 hasta (31, yumurtalık kanseri) güvenlik ve etkinlik açısından değerlendirilmiş, tolerans edilen maksimum Enzastaurin dozu bulunmuştur.

Ayrıca, 6-BIO (indirubinler-**163**), hymenialdisine (**164**), paullones (**165**), arilindolemaleimidler (**166**) prelinik çalışmalar kapsamındadır [124], [125], [126].



Şekil 3.6 Klinik inceleme altındaki GSK-3 inhibitörler

3.3 GSK-3 İnhibitör Aktivite Sergileyen Maleimid Bileşikleri

Maleimid yapısal motifi, hem kara kaynaklarından hem de deniz kaynaklarından elde edilen çok çeşitli doğal ürünlerde bol miktarda bulunur. Bu kısmı içeren doğal ürünlerin

GSK-3 inhibitör aktivite dahil olmak üzere çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu bildirilmiştir [13], [127], [128]. Farklı gruplar tarafından sentezlenen maleimid türevlerinin aktivasyonları incelenmiştir. Zhang ve arkadaşları, GSK-3'ün seçici inhibitörleri olarak bir dizi 3-(7-azaindolil)-4-arilmaleimid sentezlemiştir. Bu çalışmada bileşik **167** ve **168**'nin, IC₅₀ değerleri sırasıyla 0.007 ve 0.026 mM'yi gösteren en güçlü inhibitörler olduğu bulunmuştur. Başka bir çalışmada, aynı grup, bir dizi bisindolilmaleimid olan piridinofani, seçici bir GSK-3 inhibitörü olarak sentezlemiş ve bileşik **169**'un, 0.003 mM IC₅₀ değeri ile en aktif GSK-3 inhibitörü olduğu bulunmuştur. Bu alandaki araştırmalarına devam eden aynı grup, bir dizi makrosiklik bisindolilmaleimidin bir çift GSK-3 ve Protein Kinaz C inhibe edici aktivitesini rapor etmiştir ve bu seride, bileşik **170**'in 0.004 mM'lik bir IC₅₀ değeri gösteren en güçlü molekül olduğu bulunmuştur.

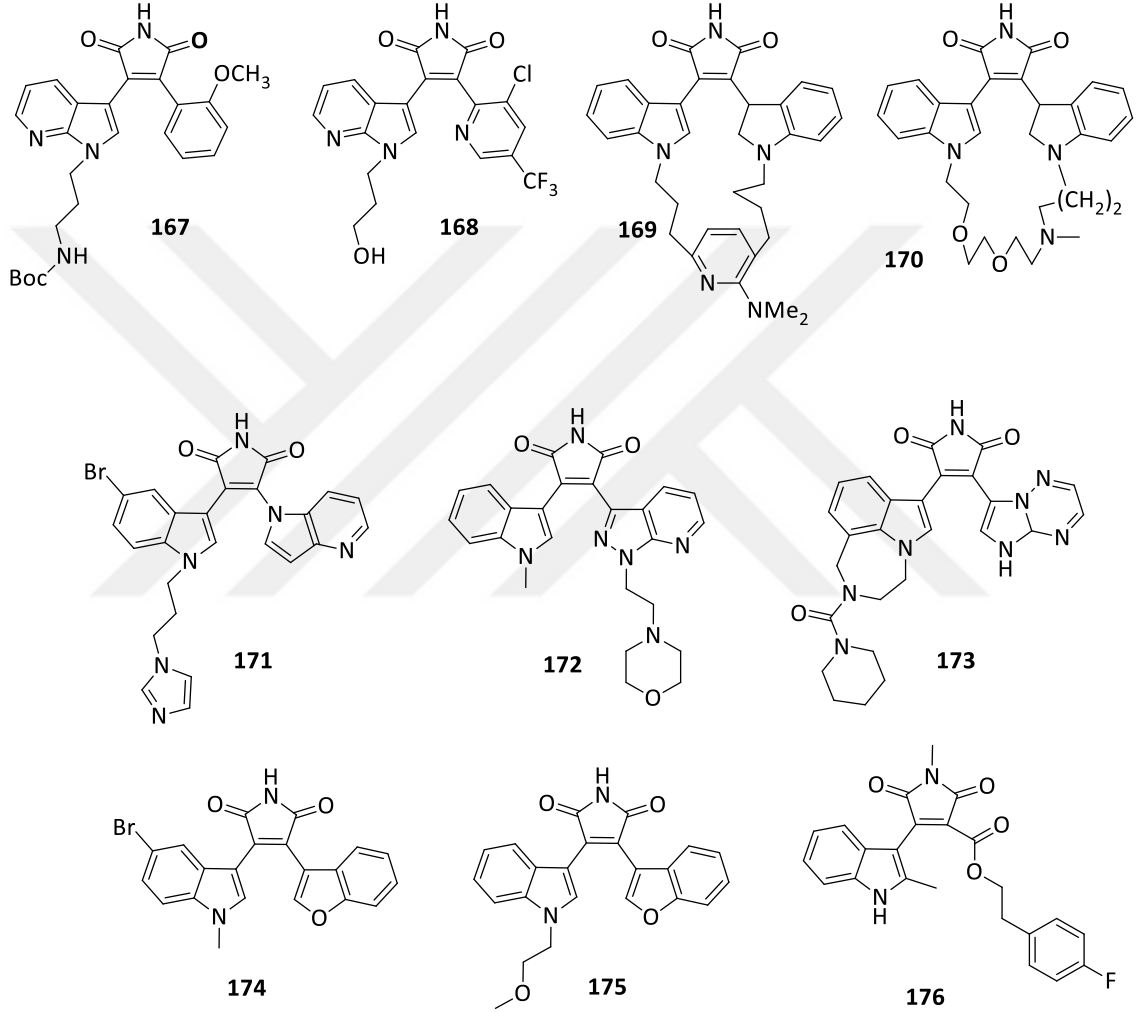
Benzer şekilde, Ye ve çalışma arkadaşları, GSK-3β inhibitörleri olarak bir dizi 4-azaindozolilindolmaleimid türevleri sentezlemiştir. Sentezlenen maleimid türevleri arasında en güçlü aktivite gösteren bileşik **171**, 0.14 mM'lik bir IC₅₀ değeri sergilemiştir. Bunun yanında bileşik **171**, GSK-3β'yi inhibe ederek Aβ-kaynaklı tau hiperfosforilasyonunu önemli ölçüde azaltmıştır. Başka bir çalışmada, aynı grup GSK-3β inhibitörleri olarak bir dizi 7-azaindozolilindolilmaleimid bileşiğini (**172**) sentezlemiştir. Bileşik **172**, 0.36 mM IC₅₀ değeri ile ümit verici bir aktivite sergilediği bulunmuştur. Ayrıca bileşik **171** gibi Aβ-kaynaklı tau hiperfosforilasyonunu önemli ölçüde azaltarak, hücre düzeyinde GSK-3β'yi inhibe ettiği bulunmuştur. Hücresel aktivite, önceki çalışmalardaki gibi serin 396'da Tau fosforilasyonunu inceleyen hücre bazlı bir deney kullanılarak ölçülmüştür.

Öte yandan, Engler ve çalışma arkadaşları bir dizi bisarilmaleimid sentezlemiştir. Sentezledikleri seri içinde IC₅₀ değeri 0.0007 mM gösteren ve GSK-3 inhibisyonu potansiyeli en mükemmel sonuçlar veren bileşik **173** olmuştur.

Gunosewoyo ve çalışma arkadaşları, steroidojenezi uyaran GSK-3β inhibitörleri olarak benzofuran-3-il-(indol-3-il)maleimidleri bildirdiler. Bu bileşikler dizisinden, bileşik **174** ve **175**, MA-10 fare tümöründe progesteron üretimini önemli bir toksisite göstermeden

steroidogenezin Leydig hücre modelinde başarıyla uyarmıştır. Bileşik **174** ve **175** için IC_{50} değerleri sırasıyla 0.0211 ve 0.0198 mM'dir.

Buna karşılık, Schmöle ve çalışma arkadaşları insan sinir progenitor hücre hattında araştırılmış olan GSK-3 β inhibitörleri olarak bir dizi asimetrik substitue edilmiş indolmaleimid sentezlemiştir. Bunlar arasında bileşik **176**, 0,053 mM IC_{50} değeri ile en aktif bulunmuştur [129], [130], [131], [132], [133], [134], [135], [136].



Şekil 3.7 Maleimid içeren GSK-3 inhibitörü küçük moleküller

DENEYSEL ÇALIŞMALAR ve BULGULAR**4.1 Materyal ve Yöntem****4.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler**

Çizelge 4.1 Kullanılan kimyasal maddeler

MADDE ADI	FİRMA ADI	KATALOG NO
1,4-Dibromobütan	Merck	803275
2-(1-piperazinil)pirimidin	Alfa easer	L15884
1-(2,3-Diklorofenil)piperazin hidroklorür	Aldrich	679135
N-metilpiperazin	Aldrich	130001
Morfolin	Fluka	69880
Sodyum azid	Aldrich	S2002
Fenil asetilen	Merck	117706
Bakır iyodür	Merck	818311
Raney-Nikel	Merck	820876
Triizopropilklorür	Merck	241725
Sodyum Hidrür	Aldrich	452912
Pirol	Merck	807492
Dietyl eter	Merck	100926
Diklorometan	Merck	106049
Etil alkol	Merck	818760
Etil asetat	Merck	100864

Çizelge 4.1 Kullanılan kimyasal maddeler (devamı)

Aseton	Merck	1.00014
Formik asit	Merck	822254
Metanol	Merck	822283
<i>N,N</i> -Dimetilformamid	Merck	103034
<i>n</i> -Hekzan	Merck	101782
Kloroform	Merck	1.02431
Potasyum permanganat	Teknik	-
<i>N,N'</i> -Disikloheksilkarbodiimid	Aldrich	D80002
1-Hidroksibenzotriazol	Aldrich	54802
Amonyak çözeltisi (%28-30)	Merck	105423
Silikajel 60	Merck	107739
Alüminyum oksit 90 nötral	Merck	101077
Sodyum	Merck	822284
Sodyum bikarbonat	Teknik	-
Sodyum hipoklorit	Aldrich	425044
Sodyum karbonat	Merck	106393
Sodyum klorür	Merck	106404
Tetrahidrofuran	Merck	108114
Sodyum sülfat	Merck	106649
Potasyum karbonat	Teknik	-
2-Nitro benzaldehit	Merck	822293
Malonik asit	Aldrich	M1296
1.0 M THF içerisindeki <i>t</i> -BuOK çöz.	Aldrich	328650
Amonyum format	Aldrich	156264
Hidrazin hidrat çözeltisi (%78-82)	Aldrich	18412
Piridin	Merck	107462
Etil oksalil klorür	Aldrich	E43101
Dikloroetan	Merck	100955
Hidroklorik asit (%37)	Merck	320331
Potasyum hidroksit	Merck	105012
Sodyum hidroksit	Merck	106462
Etil asetat	Teknik	-
Hekzan	Teknik	-

4.1.2 Kullanılan Cihaz ve Yardımcı Gereçler

Bileşiklerin elde edilmesi ve kolondan ayırma işlemleri sırasında çözücülerin uzaklaştırılmasında, "Heidolph" marka "Laborota 4000" model döner buharlaştırıcı kullanıldı.

Elde edilen saf maddelerin erime noktaları açık kapiler tüplerle "Gallenkamp" dijital termometreli erime noktası cihazında tayin edildi.

Flash kromatografisindeki ayırma işlemleri Isco CombiFlash RF 200 UV/VIS kromatografi cihazı kullanılarak yapıldı. Redisep Rf Silica Gel Gold kolon kullanıldı.

Kolon kromatografisinde "Merck Silikajel 60" (70-230 mesh), fluoresans indikatörlü Merck 5554 silikajel tabakalar ile "Camag" (254/366 nm) UV lamba kullanıldı.

Infrared spektrumları ATR cihazı kullanılarak, Yıldız Teknik Üniversitesi Enstrümantel Analiz Laboratuvarı'nda "Perkin Elmer, FT-IR" spektrofotometresinde alındı.

Nükleer magnetik rezonans spektrumları (^1H NMR ve ^{13}C NMR) Yıldız Teknik Üniversitesi'nde "Bruker-500 MHz NMR" cihazıyla, DMSO- d_6 ve CDCl_3 , standart olarak TMS kullanılarak alındı.

Kütle spektrumları Yıldız Teknik Üniversitesi Enstrümantel Analiz Laboratuvarı'nda, Agilent 6890N GC-System-5973 MSD cihazı ile ölçüldü. QTOF ölçümleri Yıldız Teknik Üniversitesi Analiz Laboratuvarı'nda, Agilent 6200 series TOF/6500 series Q-TOF B.05.01 cihazı ile yapıldı.

4.1.3 Schlenk Sistemi

Tüm inert atmosfer gerektiren reaksiyonlar Schlenk sistemi kullanılarak gerçekleştirildi.

4.1.4 Susuz *N,N*-Dimetilformamid Hazırlanması

25 g CaSO_4 , 100 mL *N,N*-dimetilformamid içerisine konuldu. Beş saat kaynatıldıktan sonra vakum destilasyonu uygulanarak kurutma işlemi gerçekleştirildi (Kaynama noktası $76^\circ\text{C}/39$ mmHg, $153^\circ\text{C}/760$ mmHg).

4.1.5 Susuz Piridinin Hazırlanması

100 mL piridinin içerisine KOH konulup azot atmosferi altında bekletilerek kullanıldı.

4.1.6 Susuz Diklorometanın Hazırlanması

CaCl₂ (50 g) 250 mL Diklorometan içerisine konarak 24 saat bekletildi, szldkten sonra 25 g CaSO₄ eklenerek azot atmosferi altında basit destilasyonla hazırlandı.

4.1.7 Susuz Dikloroetanın Hazırlanması

CaCl₂ (50 g) 250 mL Diklorometan içerisine konarak 24 saat bekletildi, szldkten sonra 25 g CaSO₄ eklenerek azot atmosferi altında basit destilasyonla hazırlandı.

4.1.8 Susuz Tetrahidrofuran Hazırlanması

Tetrahidrofuran, azot atmosferi altında ve Na metali ile benzofenon varlığında yaklaşık 6 saat kaynatıldıktan sonra destillenerek taze olarak kullanıldı.

4.1.9 Susuz Etanolün Hazırlanması

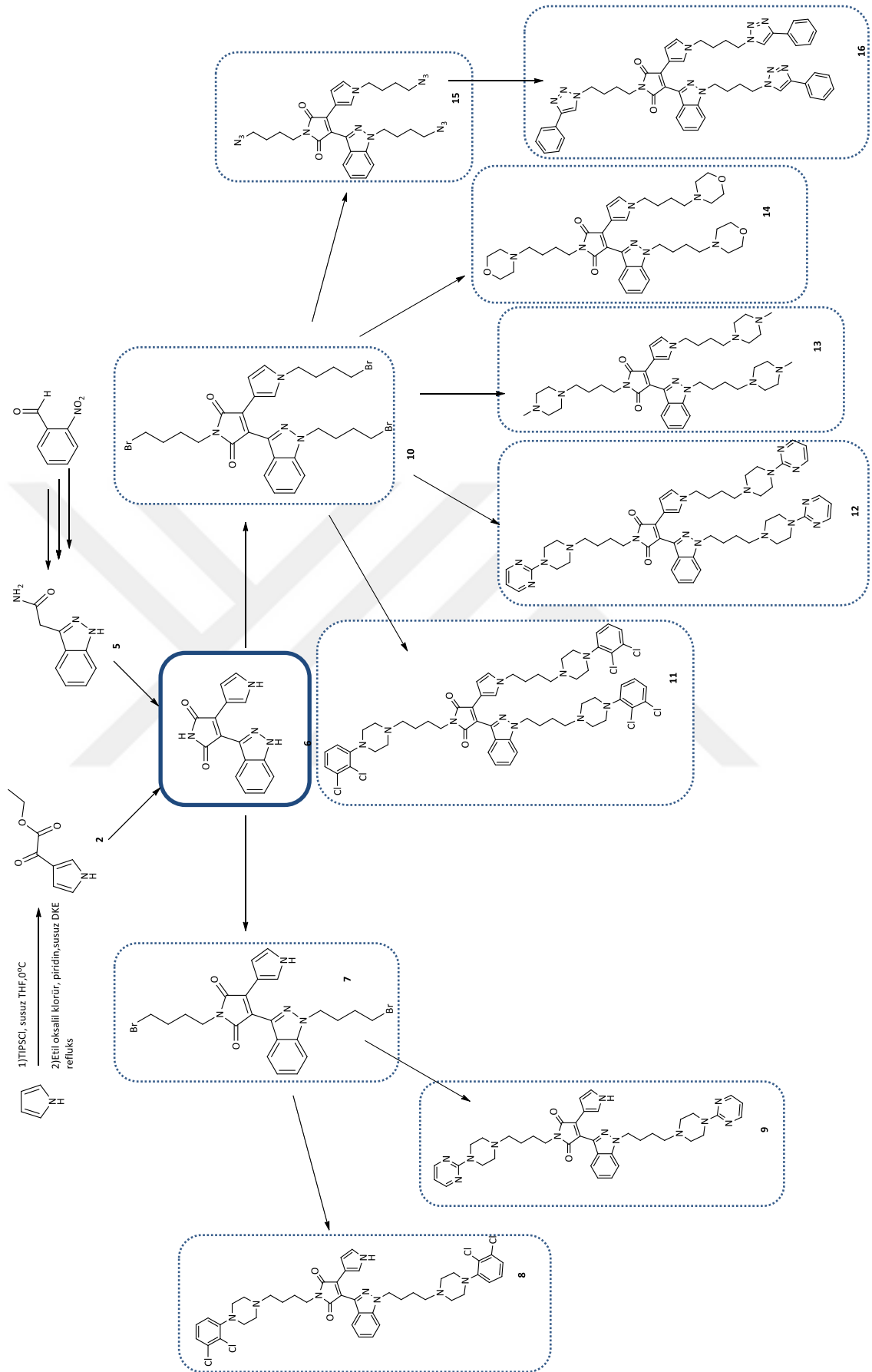
100 mL Etanol CaO ile azot atmosferi altında kaynatılarak destillendi ve 3A moleküler sieve'de muhafaza edilerek kullanıldı.

4.1.10 Susuz Aseton Hazırlanması

250 mL aseton CaH ile azot atmosferi altında kaynatılarak destillendi ve 4A moleküler sieve'de muhafaza edilerek kullanıldı.

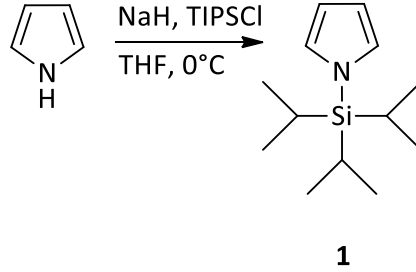
4.1.11 Renk Reaktifinin Hazırlanması

Sodyum karbonat (3.75 g) ve potasyum permanganat (0.75 g) 150 mL suda üzülerek hazırlandı.



Şekil 4.1 Genel sentez şeması

4.2 Başlangıç Maddesi Olarak Kullanılan 1-(Triizopropilsilil)-1H-pirol'ün Hazırlanması (Bileşik 1, C₁₃H₂₅NSi)

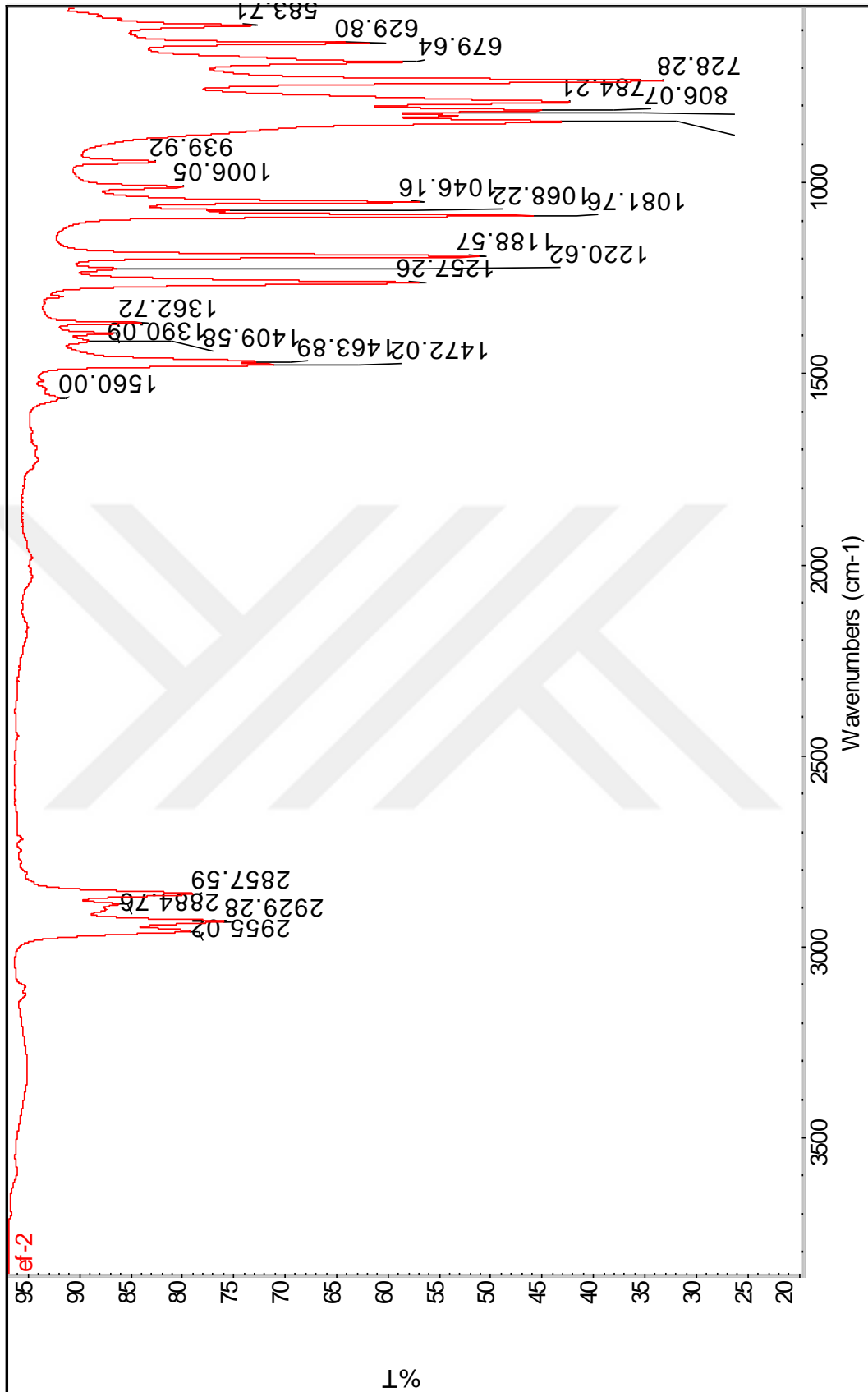


3 mmol (120 mg) %60'lık NaH çift boyunlu balona tartıldı. Azot atmosferi altında susuz THF'da (3 ml) çözülerek 0°C'ye getirildi. 1 mmol Pirol (67.09 mg, 0.07 ml) damla damla reaksiyon ortamına ilave edildi ve aynı sıcaklıkta 1.5 saat karıştırıldı. 1 mmol Triizopropilsilil klorür (192.8 mg, 0.214 ml) damla damla reaksiyon ortamına ilave edildi. Reaksiyon 1.5 saat daha soğukta karıştırılarak oda sıcaklığına alındı ve bir gece boyunca karıştırılmaya devam edildi. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra buza döküldü, eter-su ile ekstraksiyon yapıldı. Eter fazı Na₂SO₄ ile kurutularak çözücüsü uçuruldu. Açık sarı yağimsı sıvı elde edildi [137].

Açık sarı yağimsı sıvı; R_f= 0.85 (1:10 etil asetat/*n*-hekzan); verim= % 99

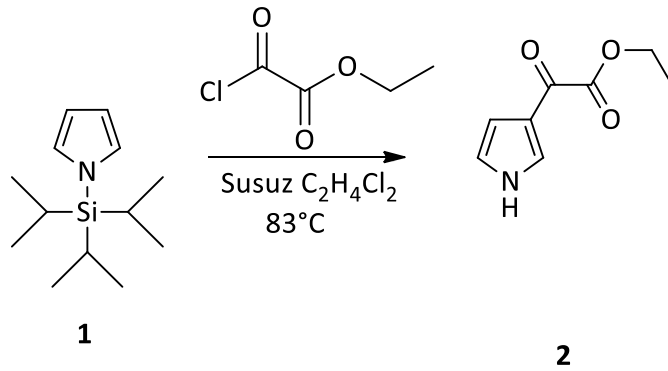
4.2.1 Bileşik 1'in Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): ν = 2955, 2929, ve 2857 (alifatik, C-H gerilimleri), 1472 ve 1463 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1362 (CH₃ eğilimi), 1257 (C-N salınımı) cm⁻¹.



Şekil 4.2 Bileşik 1'in FTIR Spektrumu (ATR)

4.3 Başlangıç Maddesi Olarak Kullanılan Etil 2-okso-2-(1*H*-pirol-3-il)asetat'ın Hazırlanması (Bileşik 2, C₈H₉NO₃)



Çift boyunlu balona 3.07 mmol piridin (0.243 ml) ve 3.07 mmol etil oksalil klorür (0.336 ml) susuz dikloroetan'da (3 ml) çözülerek ilave edildi. Üzerine 1 mmol (324.42 mg) Bileşik 1 susuz dikloroetan içerisinde çözülerek ilave edildi ve sıcaklık 83°C'ye getirildi. Reaksiyon bir gece boyunca refluks edildi. Tuzlu su- etil asetat ile ekstrakte edilip organik faz ayrıldı. Na₂SO₄ ile kurutuldu, süzüldü ve çözücüsü uzaklaştırıldı. Yağimsı madde 3:7 etil asetat/*n*-hekzan çözücü karışımı kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı.

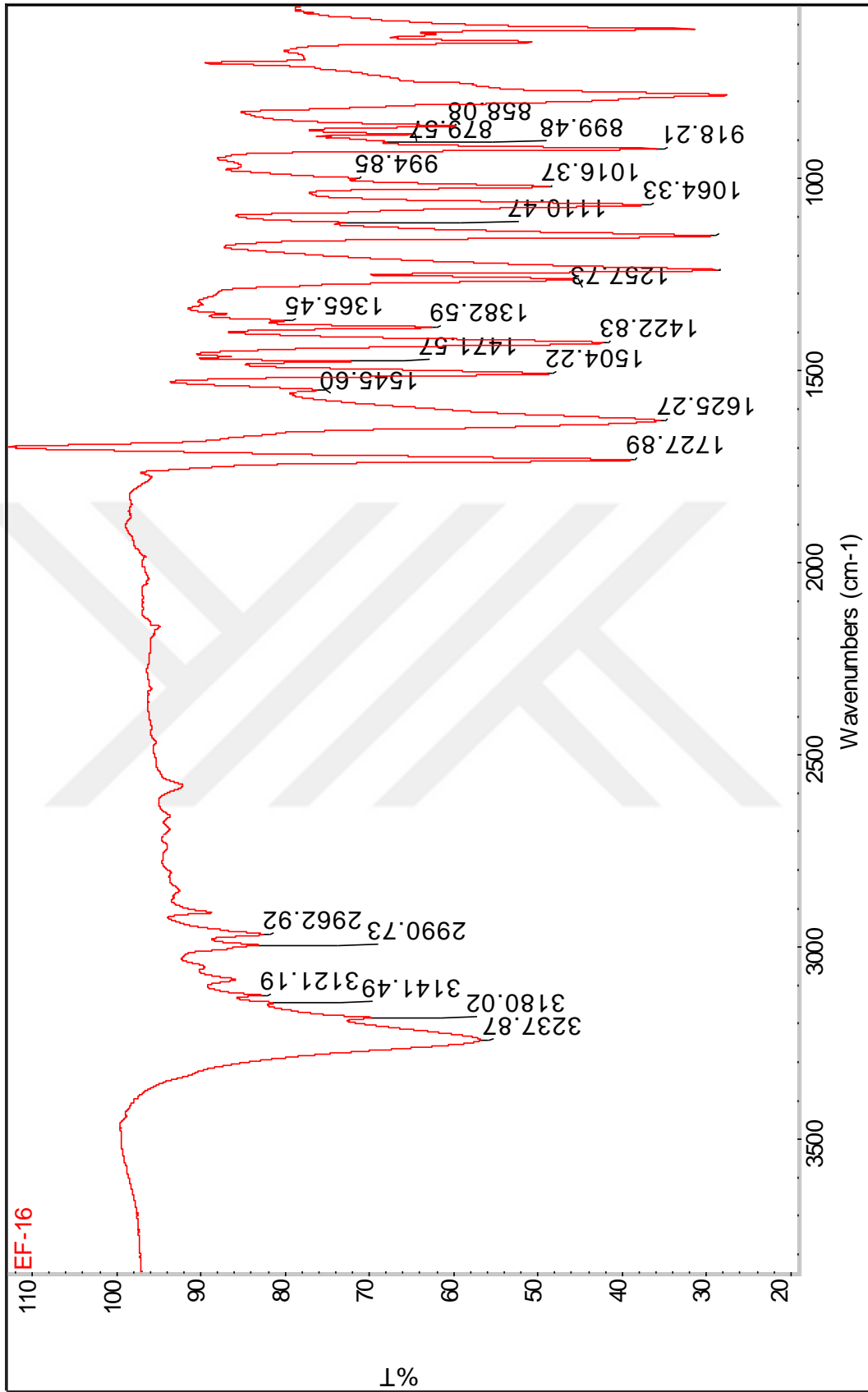
Kahverengi katı; en. 92-95°C; R_f= 0.18 (3:7 etil asetat/*n*-hekzan), verim= %60

Lit. en. 91-92°C [137].

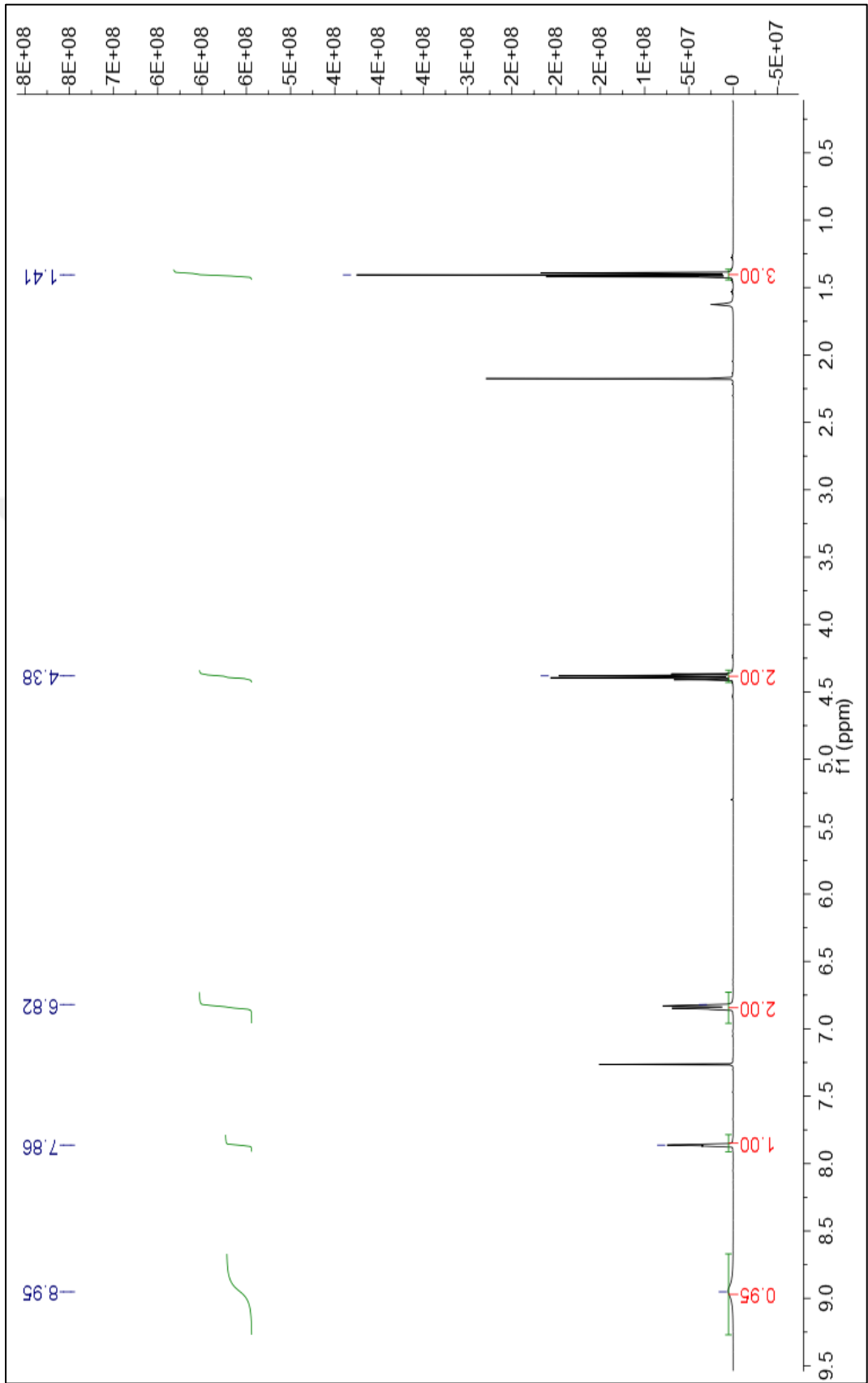
4.3.1 Bileşik 2'in Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): ν = 3237 (N-H gerilimi), 3141 ve 3121 (aromatik, =C-H gerilimleri), 2990 ve 2962 (alifatik, C-H gerilimleri), 1727 (C=O gerilimi), 1422 ve 1382 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1257 (C-N salınımı), 1064 (C-O gerilimi) cm⁻¹.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 1.41 (t, *J*= 7.1 Hz, 3H, CH₃), 4.38 (q, *J*= 7.1 Hz, 2H, CH₂), 6.82-6.86 (m, 2H, ArH), 7.86 (brds, 1H, ArH), 8.95 (brds, 1H, NH) ppm.

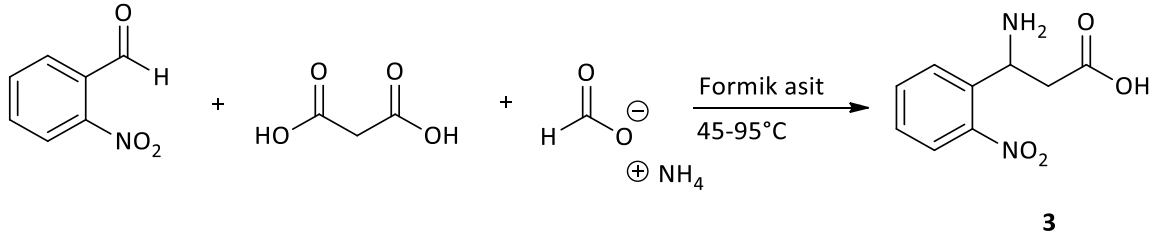


Şekil 4.3 Bileşik 2'nin FTIR Spektrumu (ATR)



Şekil 4.4 Bileşik 2'nin ^1H NMR Spektrumu (CDCl_3)

4.4 Başlangıç Maddesi Olarak Kullanılan 3-Amino-3-(2-nitrofenil)propanoik asit'in Hazırlanması (Bileşik 3, C₉H₁₀N₂O₄)



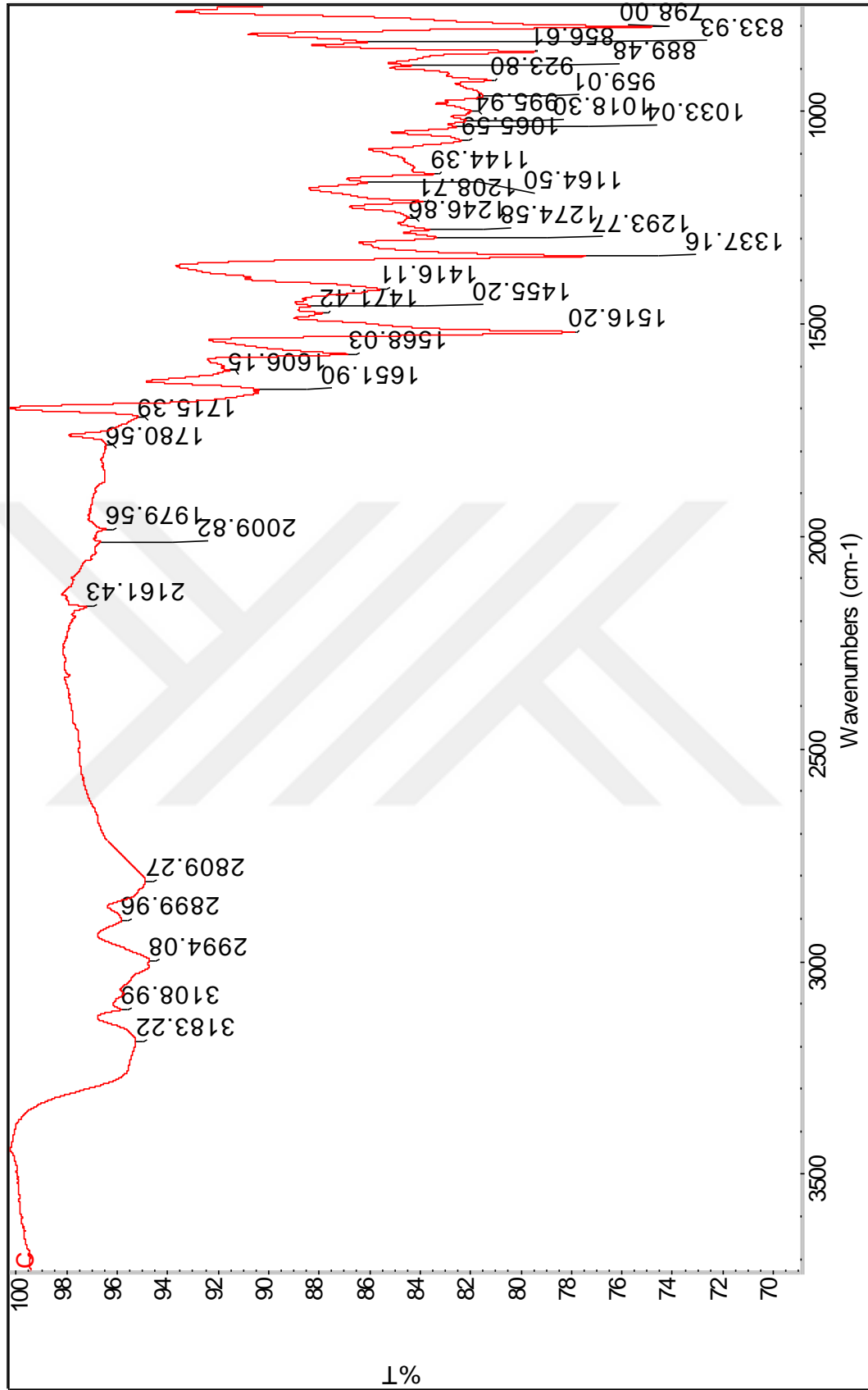
1 mmol 2-Nitrobenzaldehit (151.12 mg), 1.3 mmol malonik asit (135.2 mg) ve 4.02 mmol formik asit (0.15 ml) tek boyunlu balona alındı ve 45°C'ye ısıtıldı. 2.5 mmol Amonyum format (163 mg) ilave edilerek 65°C'ye ısıtıldı ve bir saat bu sıcaklıkta karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon sıcaklığı 95°C'ye çıkarıldı ve dört saat karıştırıldı. Reaksiyon karışımına 0.4 mL %37'lik HCl ilave edilip bir saat daha karıştırıldı ve oda sıcaklığına alındı. Karışıma, etil asetat-su ile ekstraksiyon yapıldı. Su fazı alınarak pH'ı %50'lik KOH çözeltisi ile 4.2'ye ayarlandı ve krem-sarı renkli maddenin çöktüğü gözlemlendi. Çöken katı madde süzülerek ayrıldı.

Krem rengi katı; en. 208-210°C; R_f= 0.6 (MeOH); verim=%72

Lit. en. 217-218°C [138].

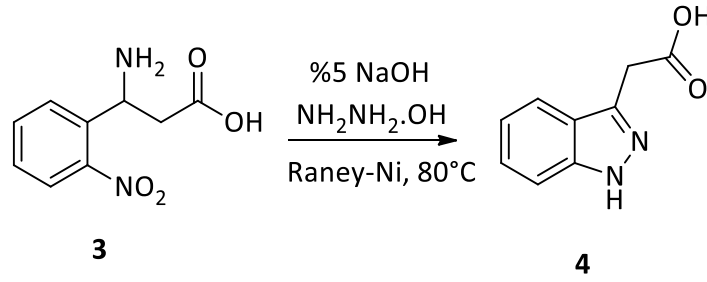
4.4.1 Bileşik 3'ün Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): ν = 3183 (N-H gerilimi), 3108 (aromatik, =C-H gerilimi), 2994, 2899 ve 2809 (alifatik, C-H gerilimleri), 1715 (C=O gerilimi), 1516 ve 1337 (N-O gerilimleri), 1246 (C-N salınımı), 1065 (C-O gerilimi) cm⁻¹.



Şekil 4.5 Bileşik 3'ün FTIR Spektrumu (ATR)

4.5 Başlangıç Maddesi Olarak Kullanılan 2-(1*H*-İndazol-3-il)asetik asit'in Hazırlanması (Bileşik 4, C₉H₈N₂O₂)



1 mmol Bileşik **3** (209 mg) tek boyunlu balona tartıldı. %5'lik NaOH çözeltisi (1.25 mL) ile çözüldü. Karışım 1 mmol hidrazin hidrat (0.05 ml) ilave edilerek 80°C'ye ısıtıldı. İçerisine raney-nikel (0.66 mg) ilave edildi ve aynı sıcaklıkta 1 saat daha karıştırıldı. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildikten sonra 6N HCl ile pH:2'ye ayarlandı ve krem-kahve renkli maddenin çöktüğü gözlemlendi, süzüldü, çöken katı su ile yıkandı ve kurutuldu.

Krem rengi katı; e.n. 158- 160°C; R_f= 0.27 (1:5 metanol/dietil eter); verim= %58.

Lit. en. 168°C [138].

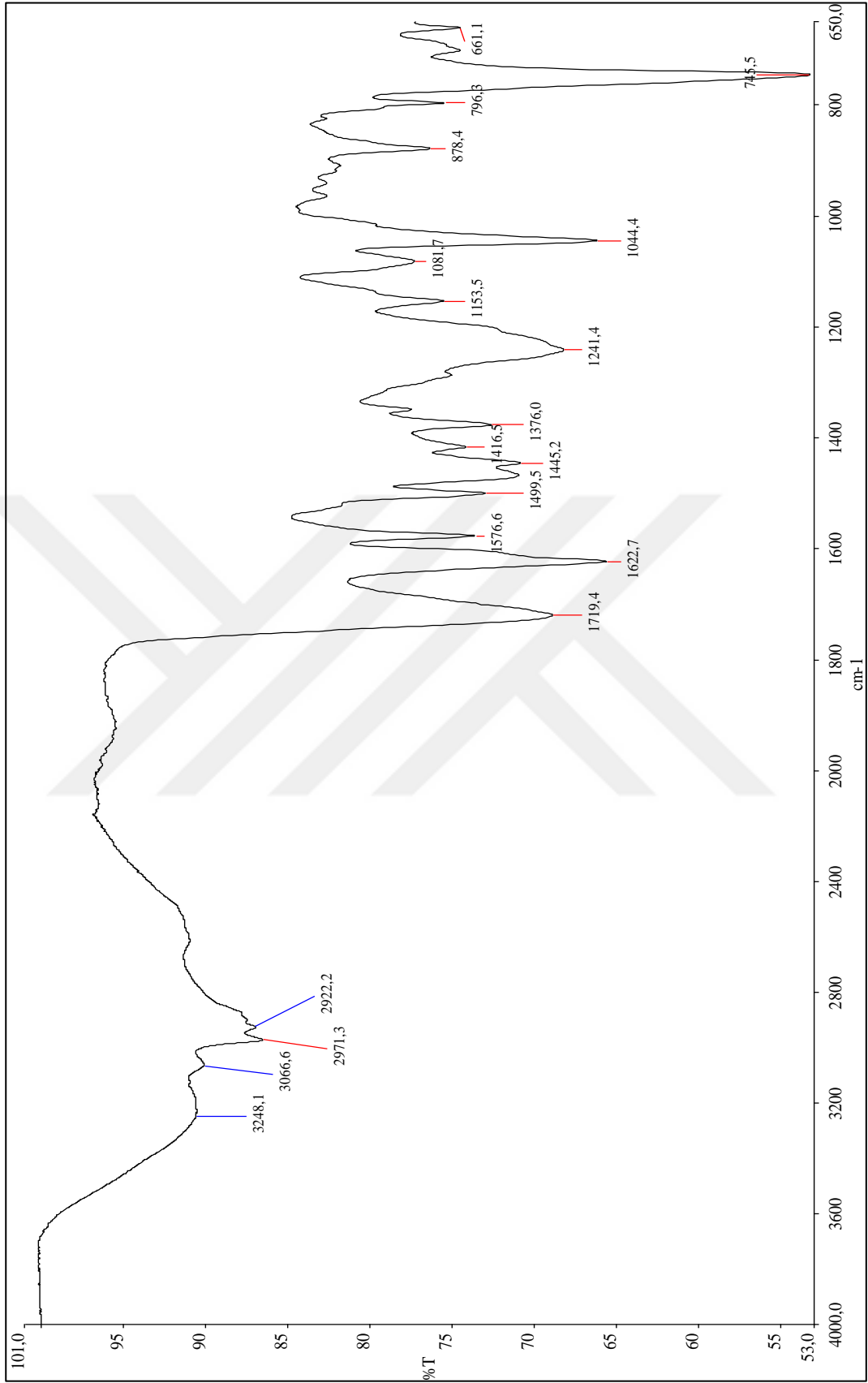
4.5.1 Bileşik 4'ün Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): ν = 3248 (N-H gerilimi), 3066 (aromatik, =C-H gerilimi), 2971 ve 2922 (alifatik C-H gerilimleri), 1719 (C=O gerilimi), 1622 (C=N gerilimi), 1576 ve 1499 (aromatik, C=C gerilimleri), 1445 ve 1376 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1241 (C-N salınımı), 1044 (C-O gerilimi) cm⁻¹.

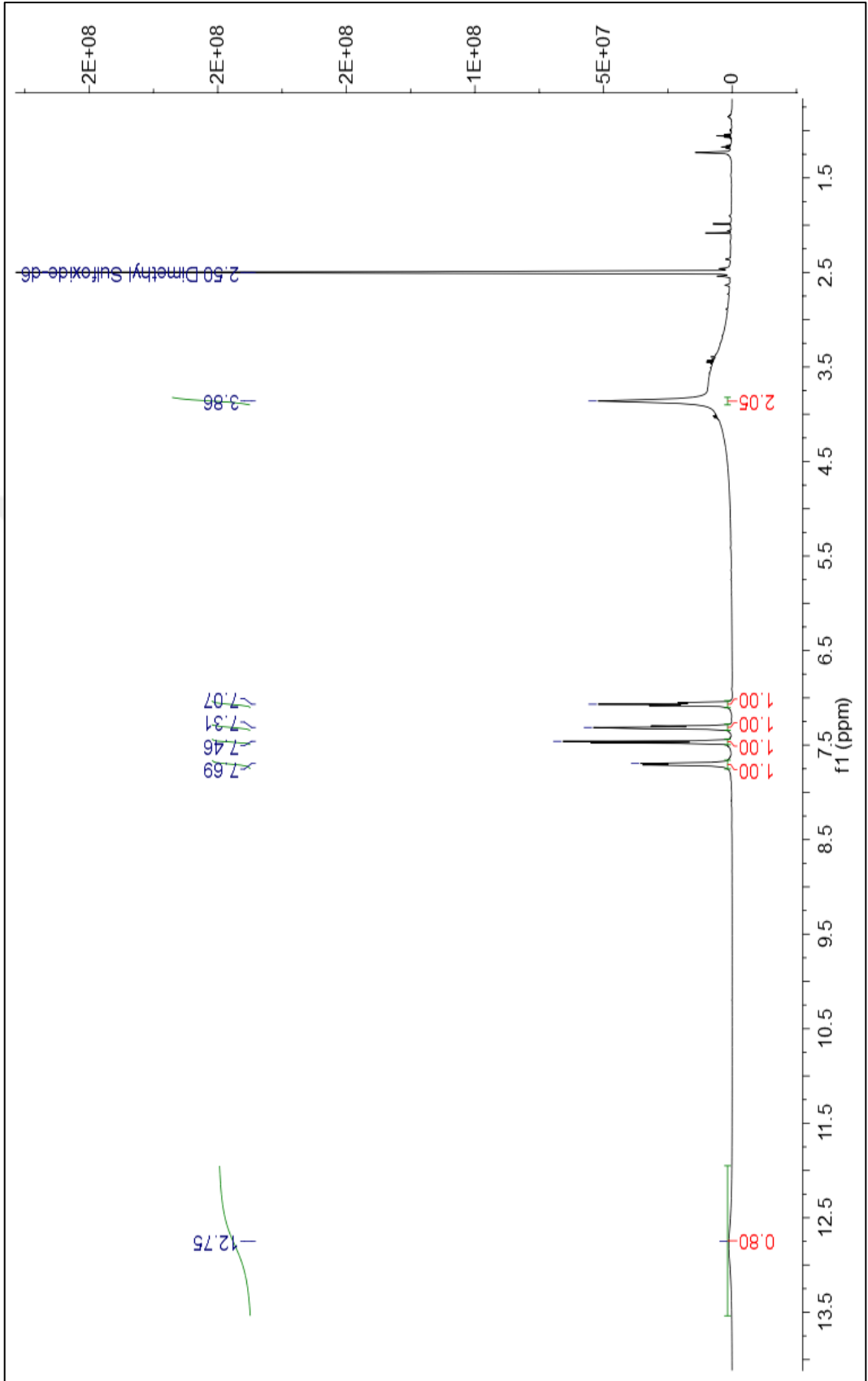
¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ = 3.86 (brds, 2H, CH₂), 7.07 (t, *J*= 7.1 Hz, 1H, ArH), 7.31 (t, *J*= 7.5 Hz, 1H, ArH), 7.46 (d, *J*= 8.3 Hz, 1H, ArH), 7.69 (d, *J*= 7.7 Hz, 1H, ArH), 12.75 (brds, 1H, NH) ppm.

APT (125 MHz, DMSO-d₆): δ = 39.0 (CH₂), 115.3 (CAr), 124.8 (CAr), 125.7 (CAr), 127.3 (Cq), 131.1 (CAr), 145.1 (Cq), 146.0 (Cq), 177.3 (C=O) ppm.

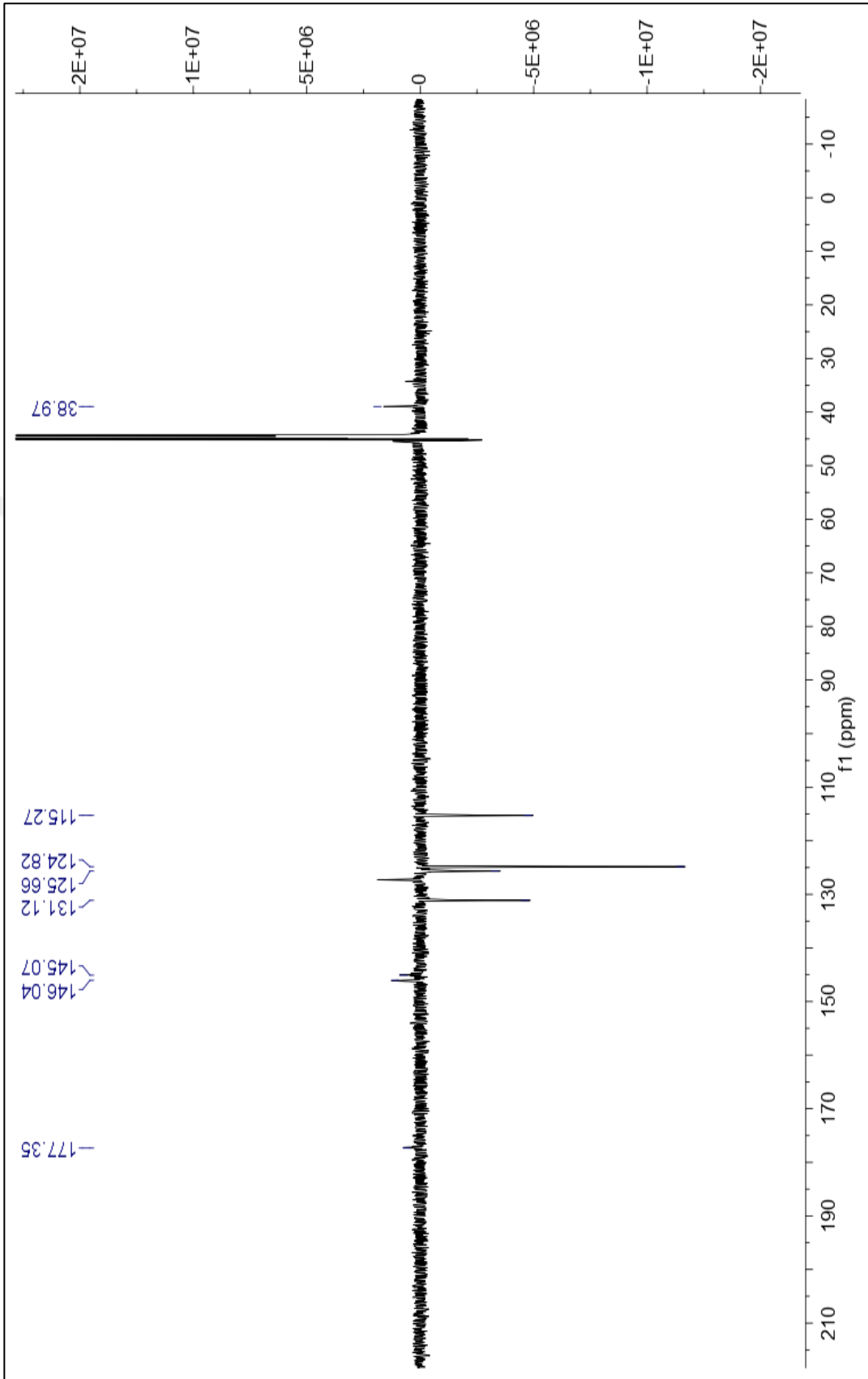
GC-MS (EI, 70 eV): *m/z*= 176 [M⁺], 132 [M⁺-CO₂], 12, 104 [M⁺-C₂O₃].



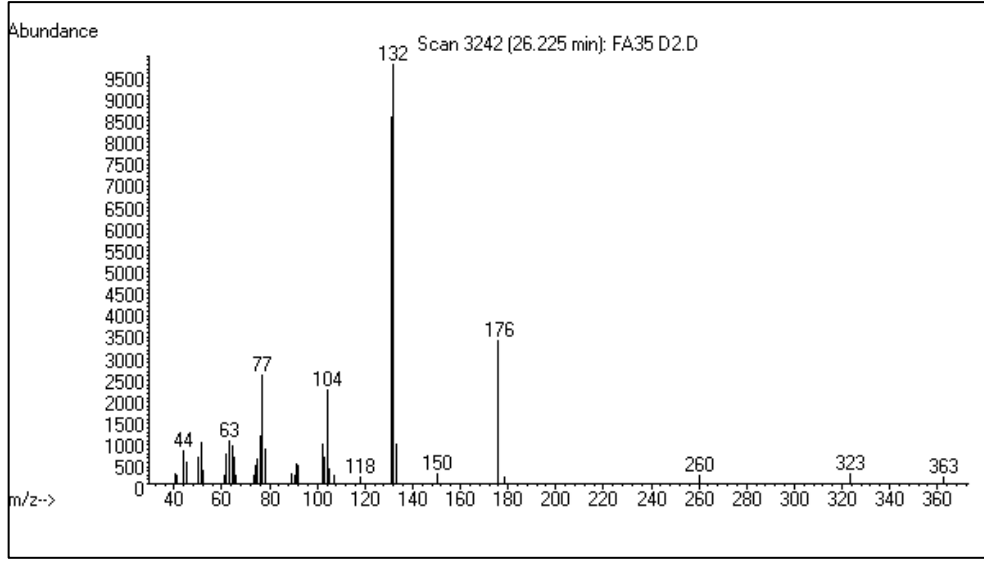
Şekil 4.6 Bileşik 4'ün FTIR Spektrumu (ATR)



Şekil 4.7 Bileşik **4'**ün ^1H NMR Spektrumu (DMSO-d_6)

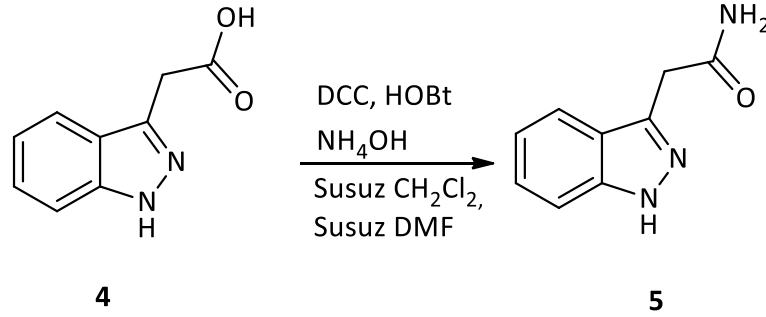


Şekil 4.8 Bileşik 4'ün APT Spektrumu (DMSO-d₆)



Şekil 4.9 Bileşik 4'ün GC-MS spektrumu

4.6 Başlangıç Maddesi Olarak Kullanılan 2-(1*H*-İndazol-3-il)asetamid'in Hazırlanması (Bileşik 5, C₉H₉N₃O)



1 mmol Bileşik 4 (176 mg) çift boyunlu balona tartıldı. Azot atmosferi altında içerisinde susuz DCM (4 mL) ve susuz DMF (1 mL) ilave edilip çözüldü. Üzerine 1.06 mmol *N,N'* disikloheksilkarbodiimid (DCC) ve 1.1 mmol hidrosibenzotriazol (HOBt) ilave edilip 1 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. 1.46 mmol NH₄OH (%28'lik) 5 dakika içerisinde damla damla ilave edildi. İlave işlemi devam ederken reaksiyon ortamında beyaz katı oluştu. Reaksiyon 16 saat devam ettirildi. Oluşan beyaz katı süzüldü ve 3 kez diklorometan ile yıkandı. Süzüntü %5'lik NaHCO₃-etil asetat ile ekstrakte edildi (6x30 mL) ve su fazı toplandı. Su fazına NaCl (30 gr) ilave edilerek 3 kez etil asetat ile ekstrakte edildi. Organik faz alınarak Na₂SO₄ ile kurutulup süzüldükten sonra çözücüsü uçuruldu. Elde edilen yağimsı madde petrol eteri ile yıkandı, ultrasonik banyo yardımıyla eter ile çöktürüldü.

Krem rengi katı; en. 148.5-151°C; Rf: 0.6 (1:5 metanol/dietil eter); verim= %40.

Lit. en. 157.5-158.5°C [138].

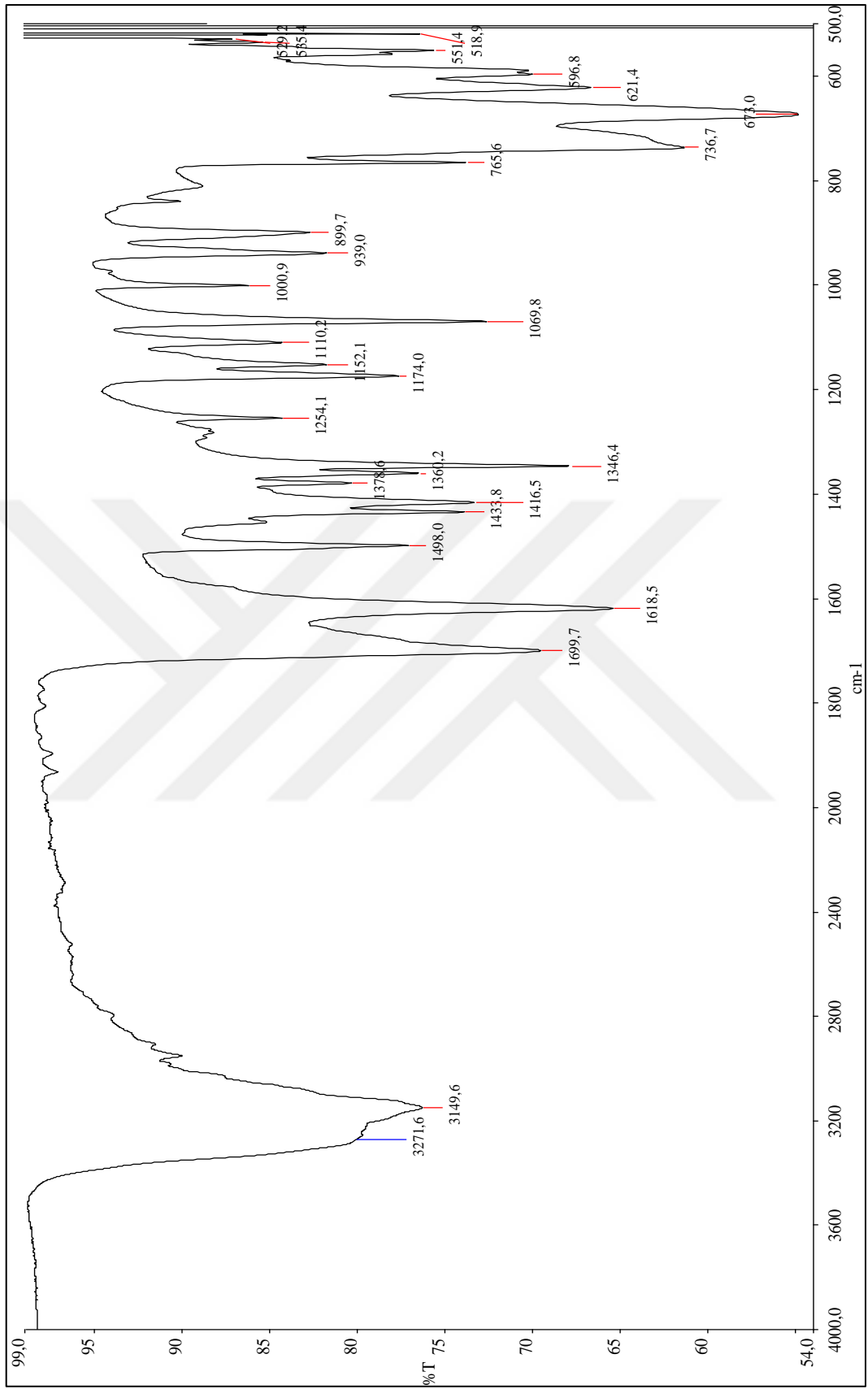
4.6.1 Bileşik 5'in Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): ν = 3271 (NH gerilimi), 3149 (aromatik, =C-H gerilimi), 2994 ve 2941 (alifatik C-H gerilimleri), 1699 (C=O gerilimi), 1618 (C=N gerilimi), 1498 (aromatik, C=C gerilimi), 1433, 1378, 1367 ve 1346 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1254 (C-N salınımı), 1069 (C-O gerilimi) cm^{-1} .

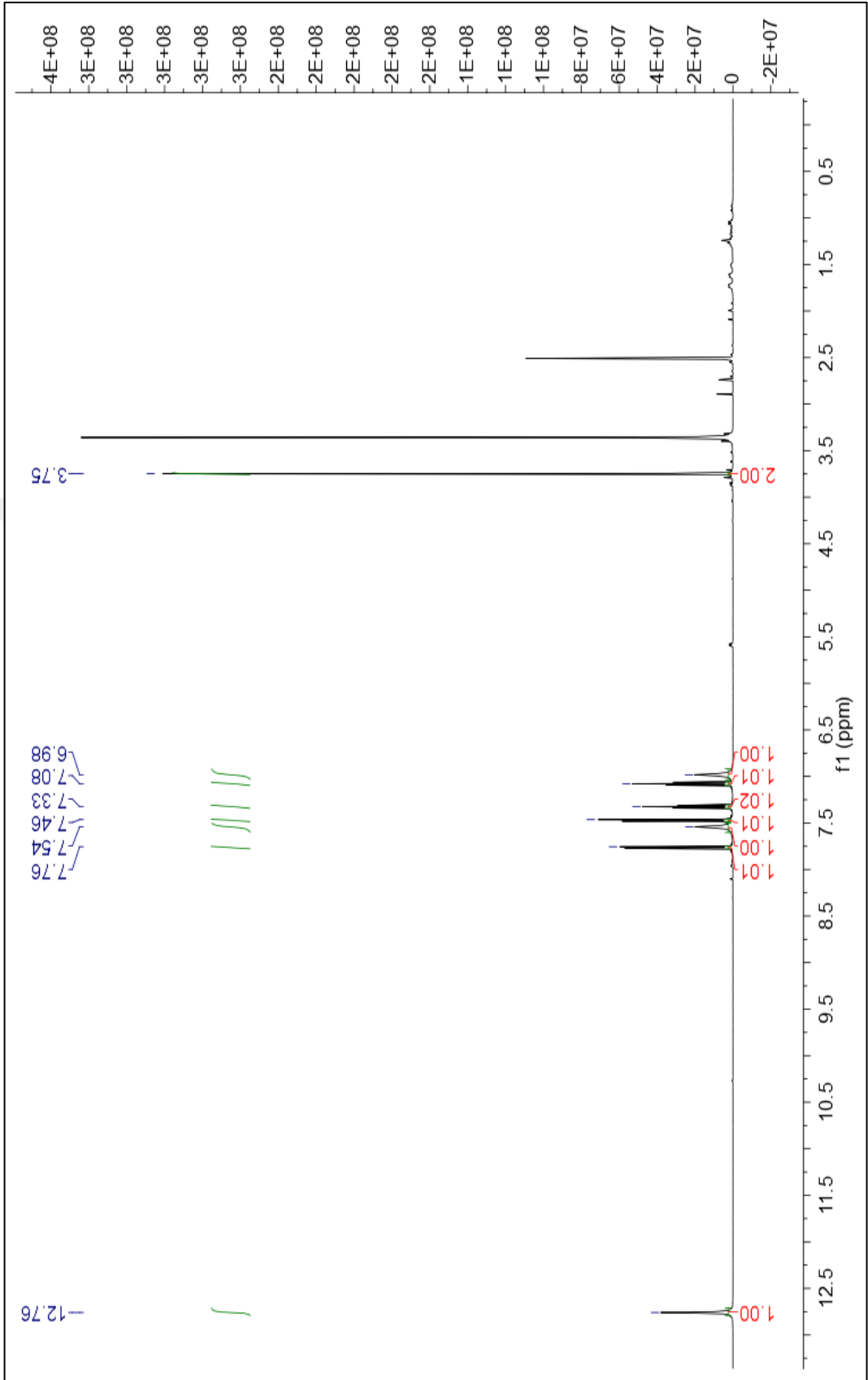
^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ = 3.75 (s, 2H, CH_2), 6.98 (brds, 1H, NH), 7.08 (t, J = 7.4 Hz, 1H, ArH), 7.33 (t, J = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.46 (d, J = 8.4 Hz, 1H, ArH), 7.54 (brds, 1H, NH), 7.76 (d, J = 8.1 Hz, 1H, ArH), 12.76 (brds, 1H, NH) ppm.

APT NMR (125 MHz, DMSO- d_6): δ = 39.7 (CH_2), 115.2 (CAr), 124.8 (CAr), 125.7 (CAr), 127.3 (Cq), 131.1 (CAr), 145.6 (Cq), 146.1 (Cq), 176.3 (C=O) ppm.

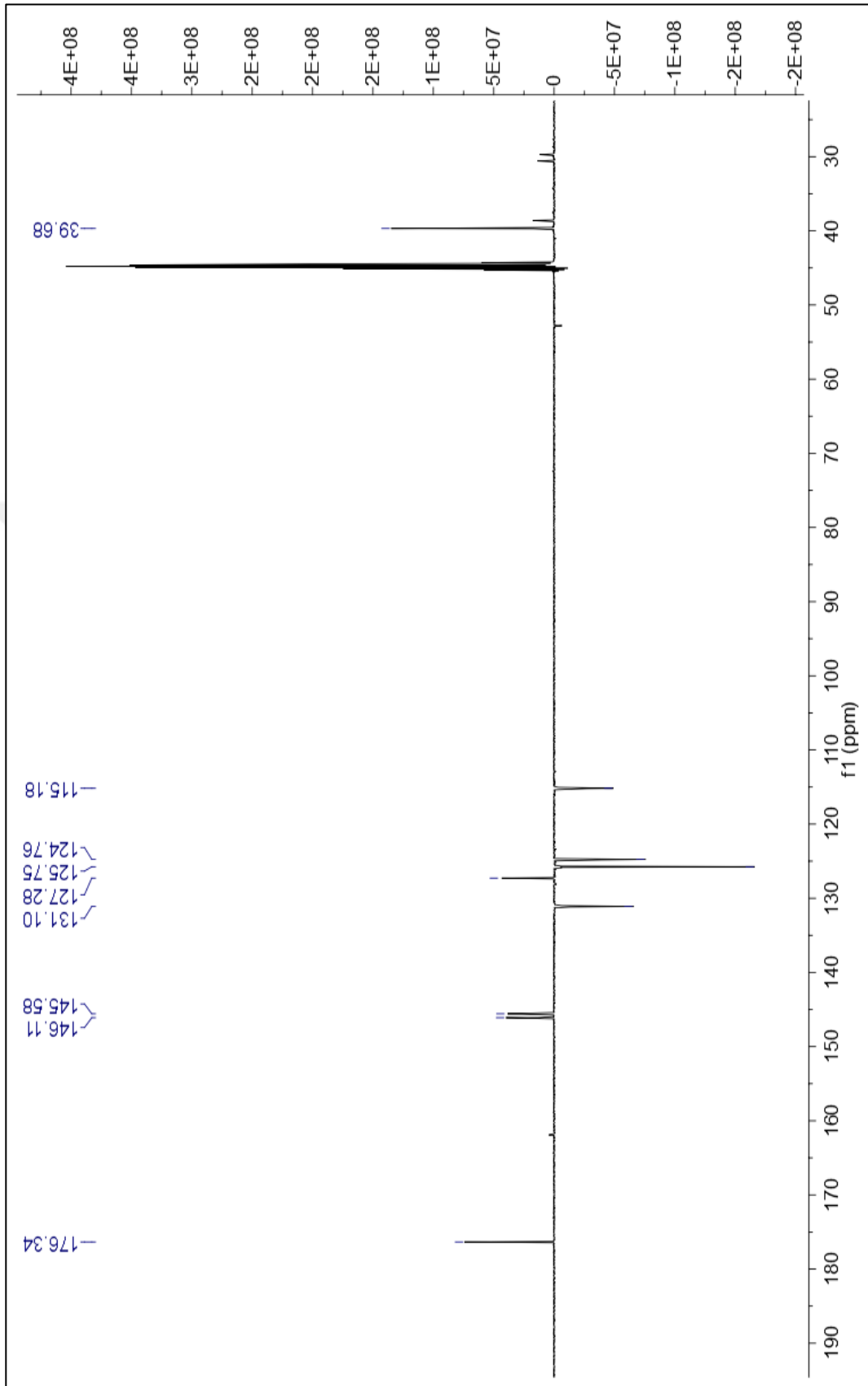
GC-MS (EI, 70 eV): m/z = 175 [M^+], 131 [$\text{M}^+ - \text{CO}_2$], 104 [$\text{M}^+ - \text{C}_2\text{O}_3$].



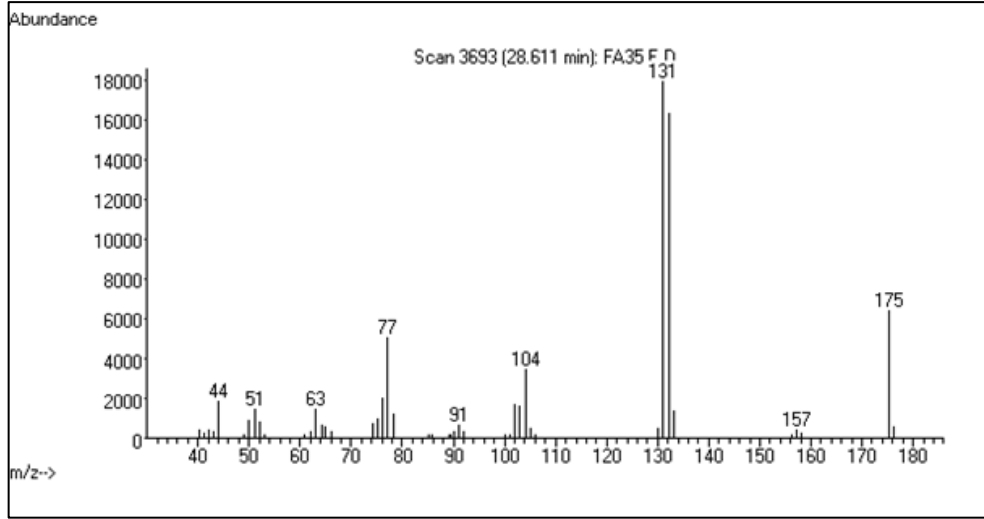
Şekil 4.10 Bileşik 5'in FTIR Spektrumu (ATR)



Şekil 4.11 Bileşik 5'in ^1H NMR Spektrumu (DMSO-d_6)



Şekil 4.12 Bileşik 5'in APT Spektrumu (DMSO-d₆)



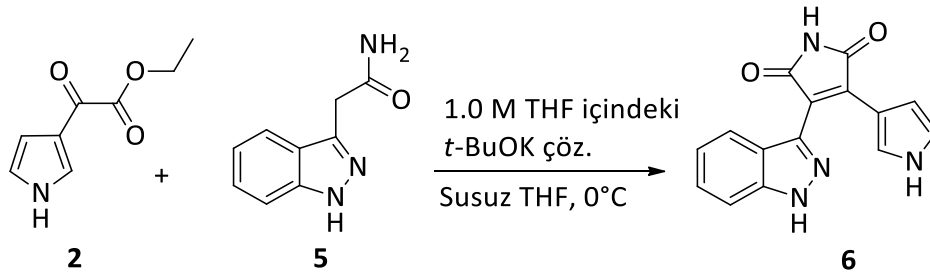
Şekil 4.13 Bileşik 5'in GC-MS spektrumu

4.7 3-(1*H*-İndazol-3-il)-4-(1*H*-pirol-3-il)-1*H*-pirol-2,5-dion

Bileşiminin

Sentezi

(Bileşik 6, C₁₅H₁₀N₄O₂)



1 mmol Bileşik 5 (175 mg) ve 1.3 mmol bileşik 2 (217 mg) çift boyunlu balona tartılıp azot atmosferi altına alındı, 0°C'de 3 mL susuz THF'te çözüldü. Üzerine 1.0 M THF içerisindeki 3 mmol *t*-BuOK (3 mL) yavaşça damla damla ilave edildi ve oda sıcaklığına alınarak 2 saat karıştırıldı. TLC kontrolü sonucunda başlangıç maddesinin tükenmediği gözlemlendi ve oda sıcaklığında 1 gece bırakıldı. Reaksiyon sonlandırılmadan önce 12 mL derişik HCl ilave edildi ve oda sıcaklığında yarım saat daha karıştırıldı. Reaksiyon %10'luk NaHCO₃ çözeltisine döküldü, etil asetat ile 3 kez ekstrakte edildi. Organik faz tuzlu su ile yıkandı. Na₂SO₄ ile kurutuldu, çözücüsü vakumda uçuruldu. Ham ürün 10:1 etil asetat/n-hekzan sisteminde kolon kromatografisi uygulanarak saflaştırıldı.

Turuncu renkli katı; en. 190°C (bozunma); R_f= 0.74 (10:1 etil asetat/n-hekzan); verim=%40.

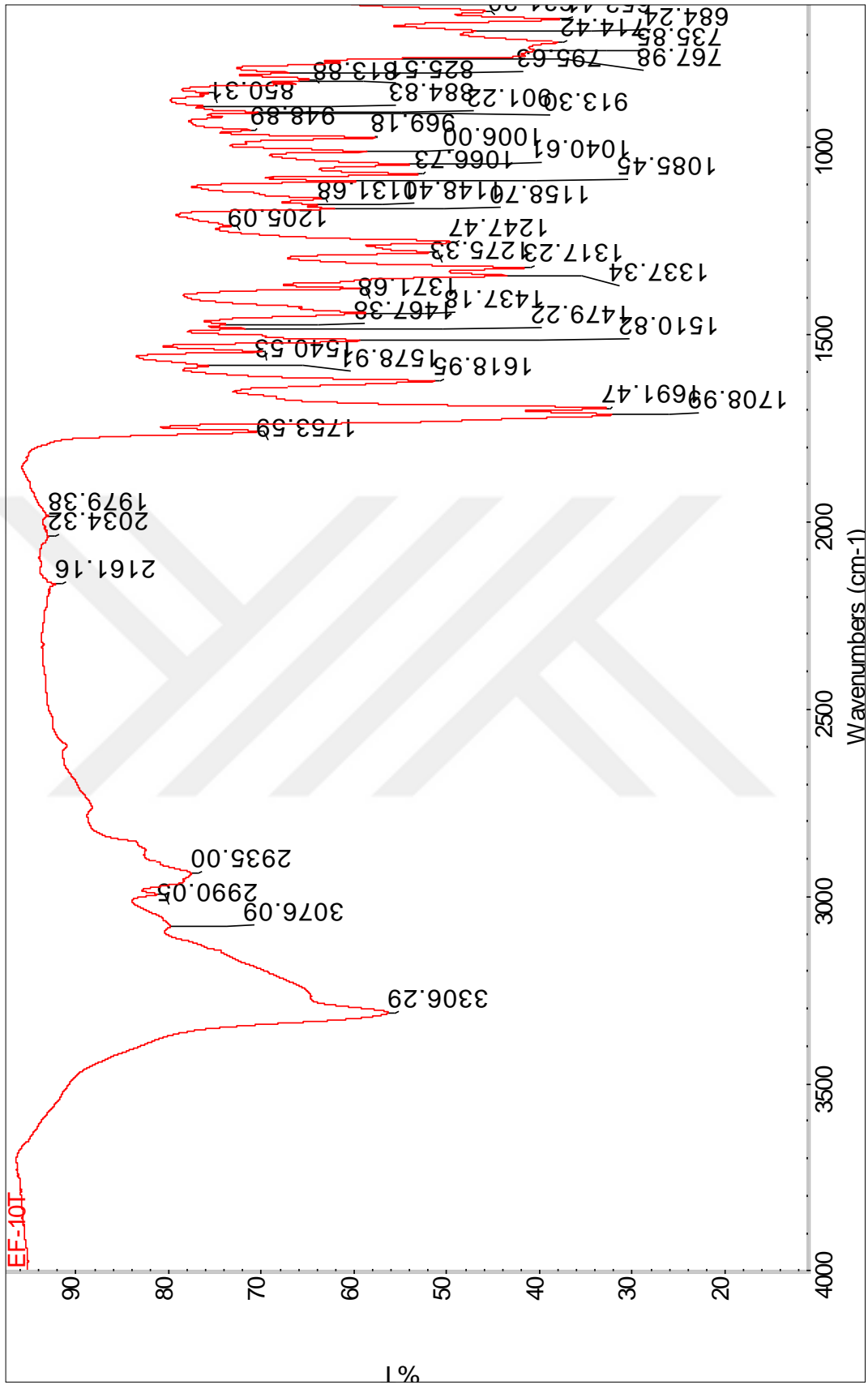
4.7.1 Bileşik 6'nın Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): $\nu = 3306$ (N-H gerilimi), 3076 (aromatik, =C-H gerilimi), 1708 ve 1691 (C=O gerilimleri), 1618 (C=N gerilimi), 1467 (aromatik, C=C gerilimi), 1473 , 1371 , 1337 ve 1317 (alifatik, düzlemiçi C-H eğilimleri), 1275 ve 1247 (C-N gerilimleri), 1158 (C-O gerilimi) cm^{-1} .

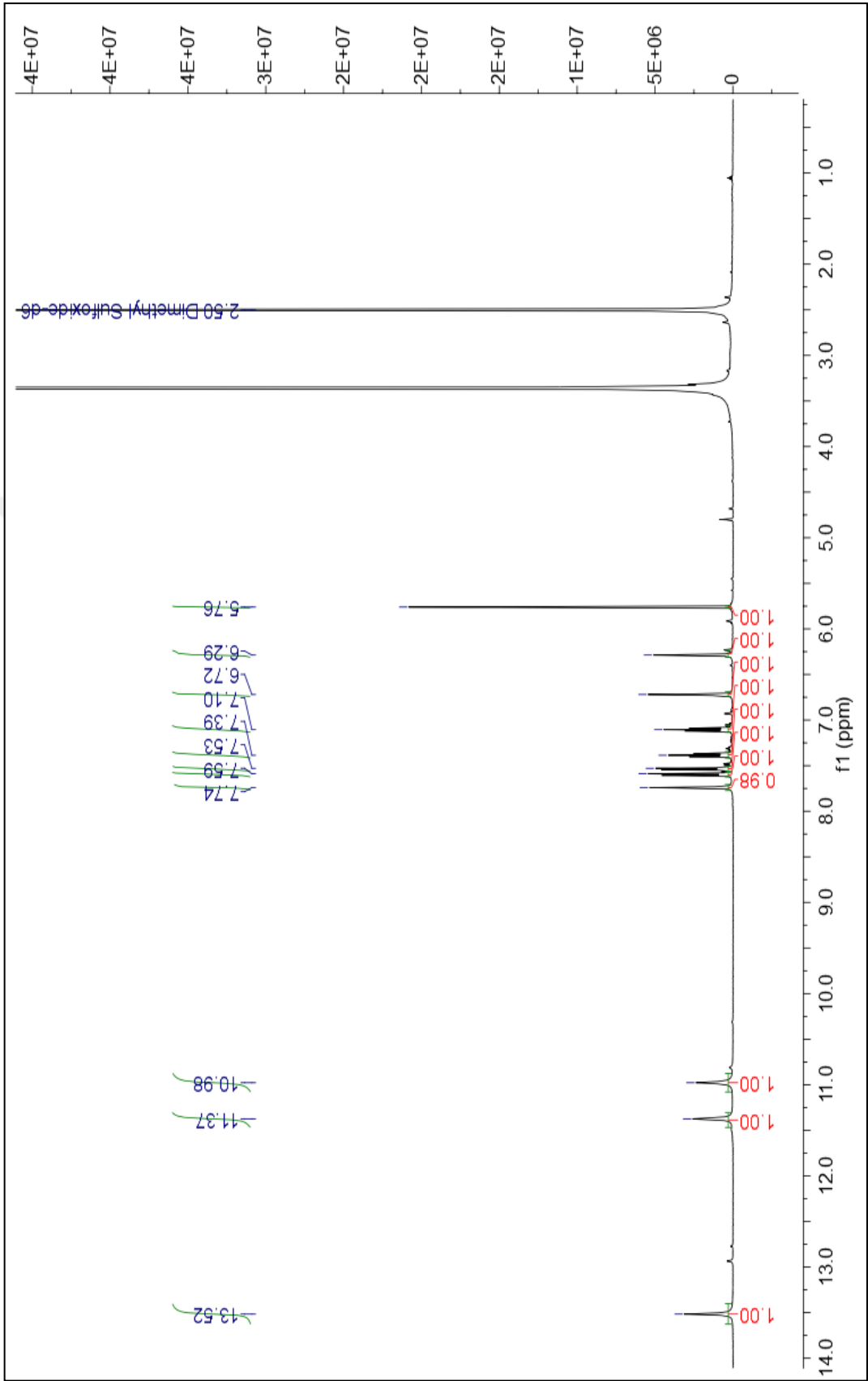
^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 6.29$ (s, 1H, ArH), 6.72 (s, 1H, ArH), 7.10 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.39 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H, ArH), 7.53 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 7.59 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, ArH), 7.74 (s, 1H, ArH), 10.98 (s, 1H, $\text{NH}_{\text{maleimid}}$), 11.37 (s, 1H, NH_{pirol}), 13.52 (s, 1H, $\text{NH}_{\text{indazol}}$) ppm.

APT (125 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 108.9$ (CAr), 110.3 (CAr), 112.4 (Cq), 119.4 (CAr), 120.6 (CAr), 121.0 (Cq), 121.3 (CAr), 122.1 (Cq), 123.5 (CAr), 126.2 (CAr), 135.3 (Cq), 135.5 (Cq), 140.5 (Cq), 172.2 (C=O), 172.5 (C=O) ppm.

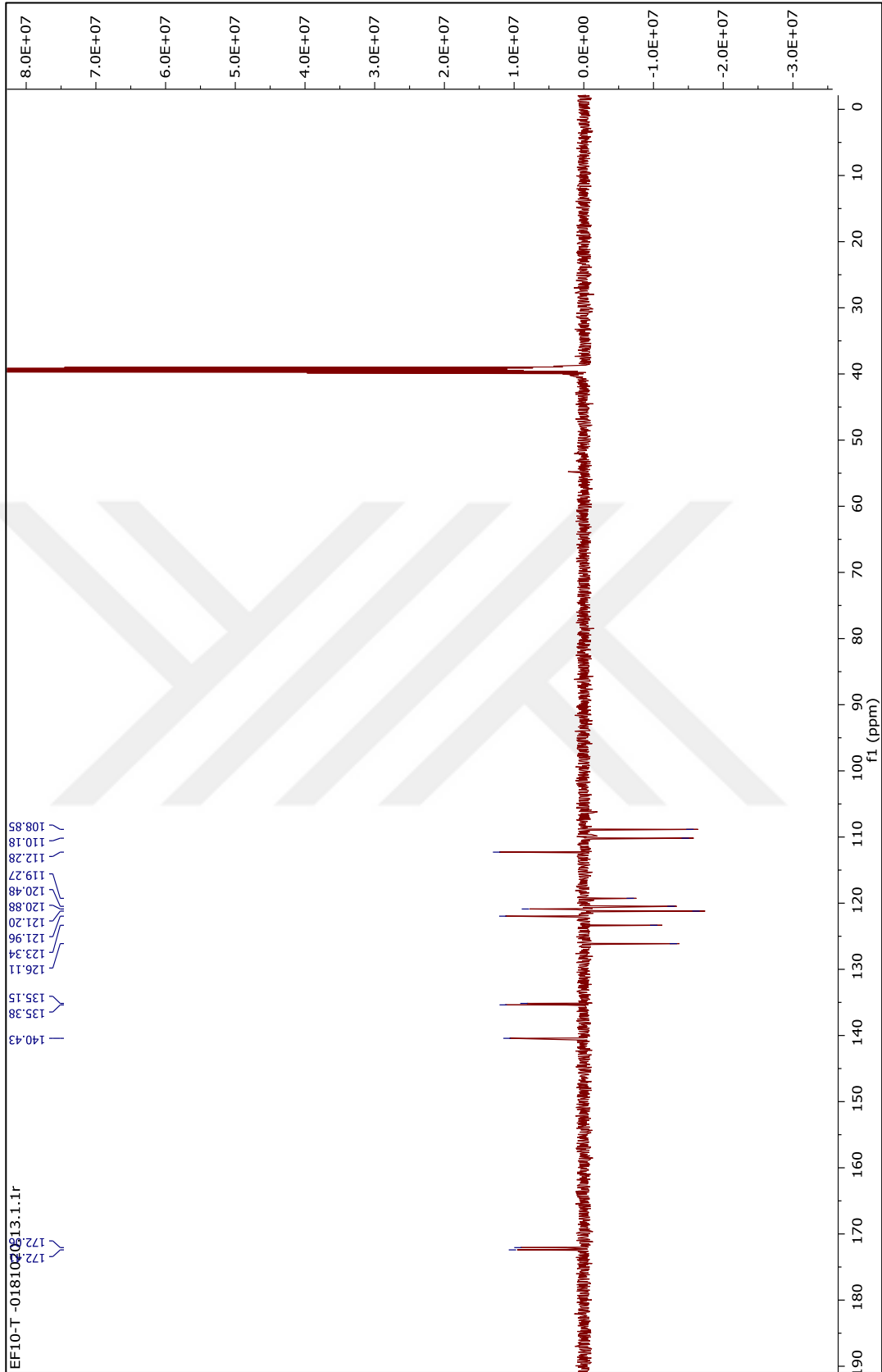
LC-MS (ESI-QTOF): $m/z =$ Hesaplanan: $[\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2]$: 278.0804 , bulunan 279.0886 ($[\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2] + \text{H}$) $^+$.



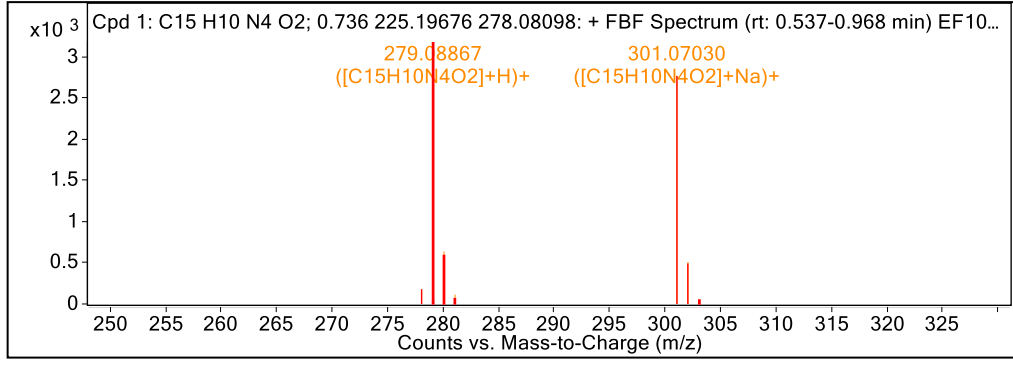
Şekil 4.14 Bileşik 6'nın FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 4.15 Bileşik 6'nın ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6)

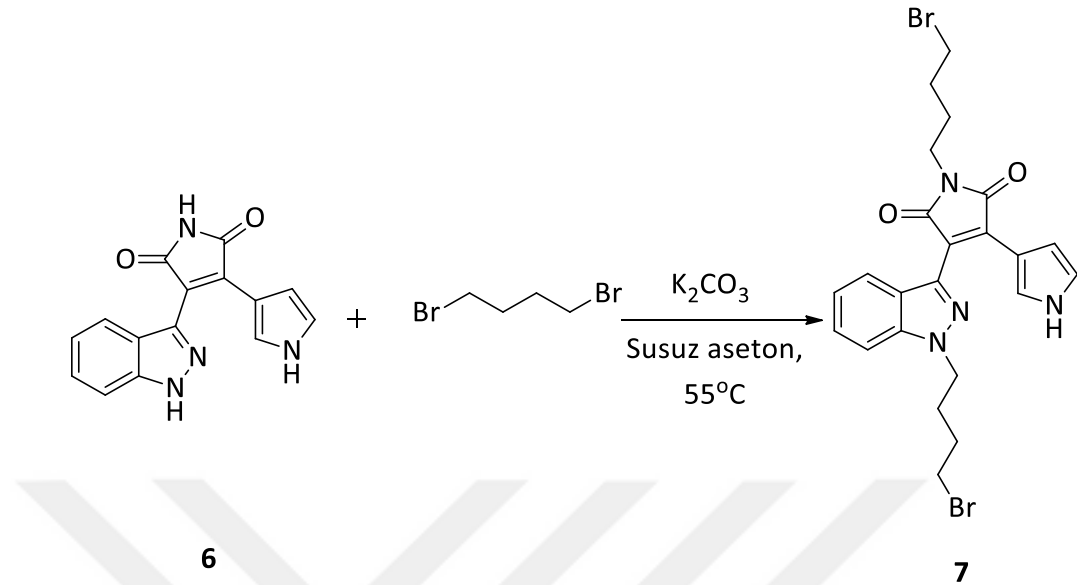


Şekil 4.16 Bileşik 6'nın APT spektrumu (DMSO-d₆)



Şekil 4.17 Bileşik 6'nın LC-MS (Q-TOF) spektrumu

4.8 1-(4-Bromobütil)-4-(1-(4-bromobütil)-1*H*-indazol-3-il)-1*H*,1'*H*-[3,3'-bipirrol]-2,5-dion Bileşik 7, C₂₃H₂₄Br₂N₄O₂)



1 mmol Bileşik 6 (278 mg) tek boyunlu balona tartıldı. Azot atmosferi altında 10 mL susuz asetonda çözüldü ve üzerine 6 mmol kızdırılmış K₂CO₃ (829 mg) ilave edilip oda sıcaklığında 1 saat karıştırıldı. Ardından, 3 mmol 1,4-dibromobütan (0.536 mL) reaksiyona damla damla ilave edildi, reaksiyon 55°C'ye getirildi ve gece boyunca refluks edildi. TLC (1:1 etil asetat/*n*-hekzan) sonucuna göre başlangıç maddesinin tükendiği gözlemlendi. Tuzlu su/etil asetat ile ekstrakte edildi. Na₂SO₄ ile kurutulup çözücüsü uçuruldu. Ham ürün 1:1 etil asetat/*n*-hekzan sisteminden kolon kromatografisi yöntemi ile saflaştırıldı.

Sarı parlak yağimsı sıvı; R_f= 0.78 (1:1 etil asetat/*n*-hekzan); verim= %25.

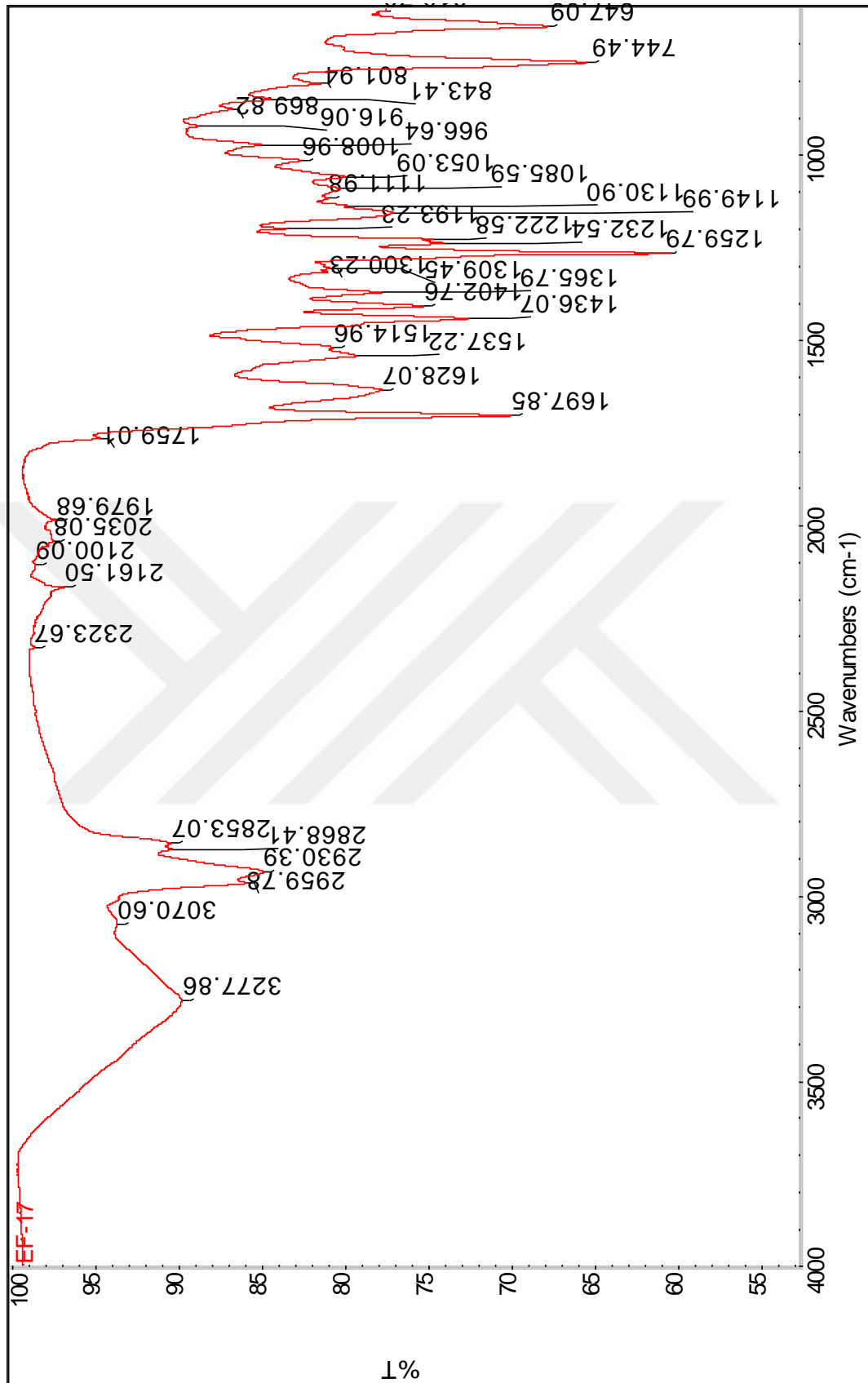
4.8.1 Bileşik 7'nin Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): $\nu = 3277$ (N-H gerilimi), 3070 (aromatik, =C-H gerilimi), 2959, 2930, 2868 ve 2853 (alifatik, C-H gerilimleri), 1697 (C=O gerilimi), 1537 ve 1514 (aromatik, C=C gerilimleri), 1628 (C=N gerilimi), 1402, 1365, 1309 ve 1300 (alifatik, düzlemiçi C-H eğilimleri), 1259 (C-N salınımı), 1149 (C-O gerilimi) cm^{-1} .

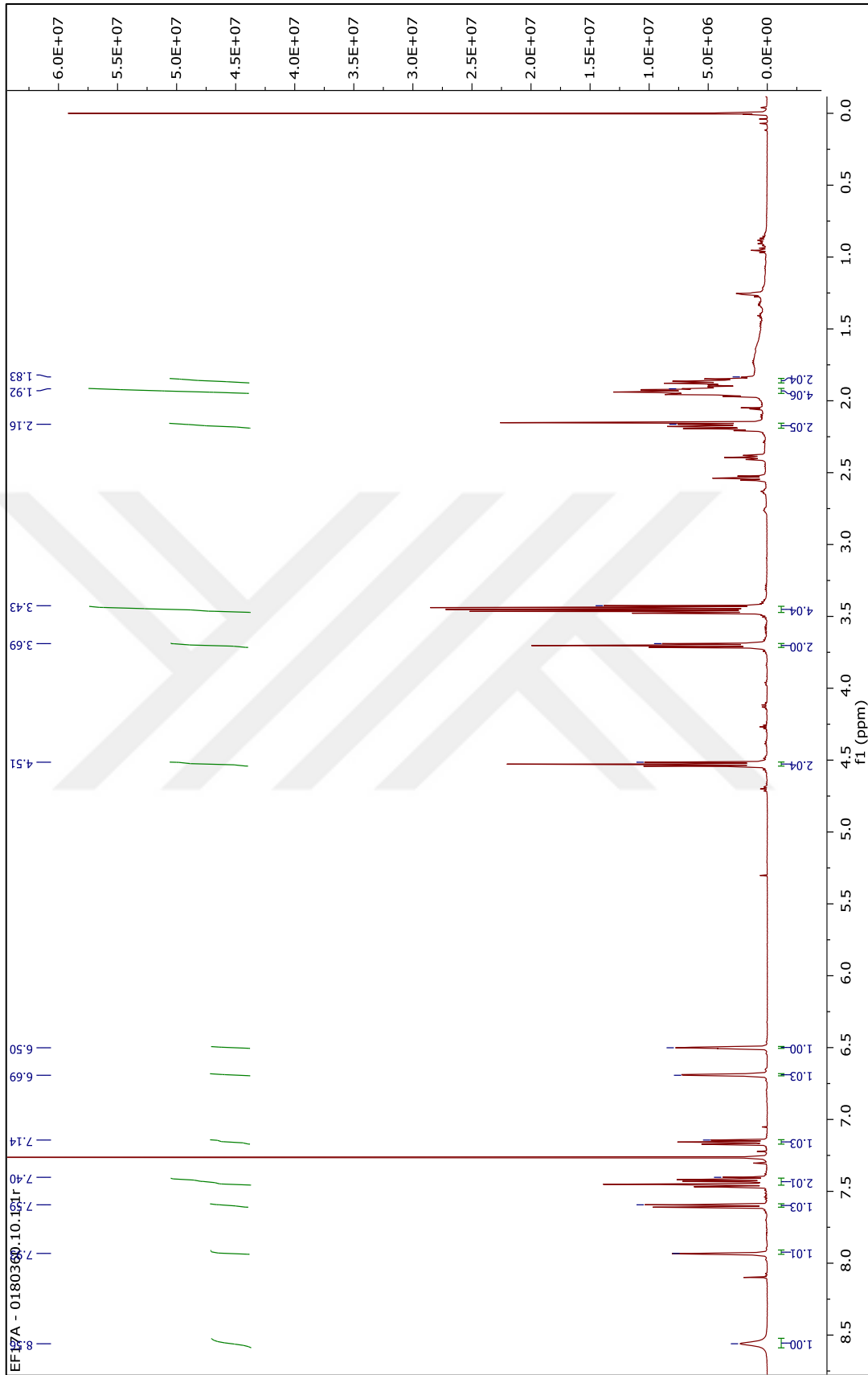
^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.83\text{--}1.87$ (m, 2H, CH_2), 1.91-1.95 (m, 4H, CH_2), 2.16-2.20 (m, 2H, CH_2), 3.42-3.47 (m, 4H, Br- CH_2), 3.69 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, N- CH_2), 4.51 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, N- CH_2), 6.50 (brds, 1H, ArH), 6.69 (brds, 1H, ArH), 7.14 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, ArH), 7.40 (m, 2H, ArH), 7.59 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 7.93 (brds, 1H, ArH), 8.57 (brds, 1H, NH_{pirol}) ppm.

APT (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 27.3$ (CH_2), 28.5 (CH_2), 29.8 (CH_2), 29.9 (CH_2), 33.0 (CH_2), 33.1 (CH_2), 37.2 (CH_2), 48.4 (CH_2), 109.1 (CAr), 110.1 (CAr), 113.4 (Cq), 113.5 (Cq), 118.9 (CAr), 121.8 (CAr), 122.5 (CAr), 123.4 (Cq), 124.0 (CAr), 126.8 (CAr), 134.6 (Cq), 134.7 (Cq), 140.4 (Cq), 171.4 (C=O), 171.7 (C=O) ppm.

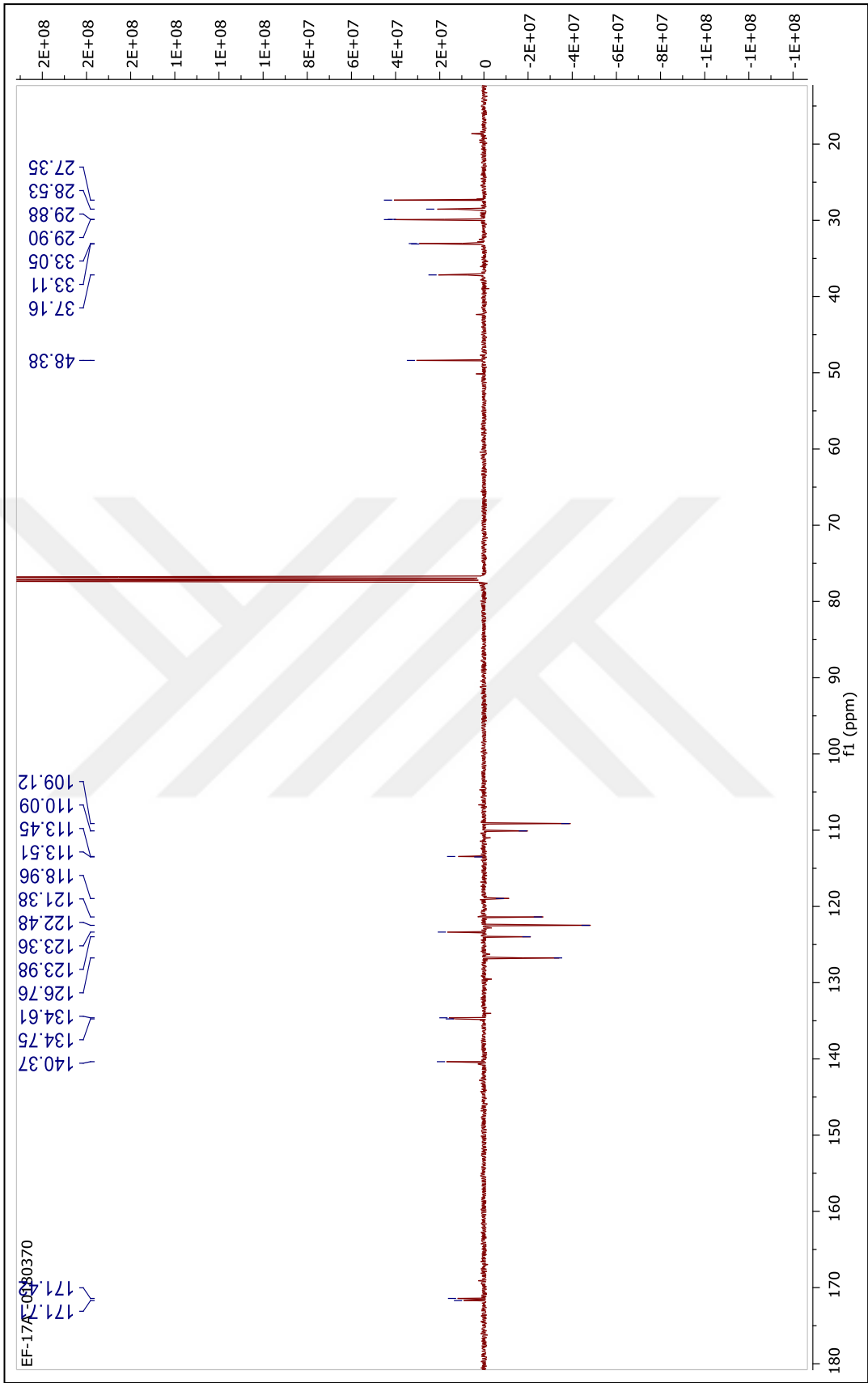
LC-MS (ESI-QTOF): $m/z =$ Hesaplanan 548.0246 [$\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{Br}_2\text{N}_4\text{O}_2$], bulunan 549.0312 ($[\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{Br}_2\text{N}_4\text{O}_2 + \text{H}]^+$).



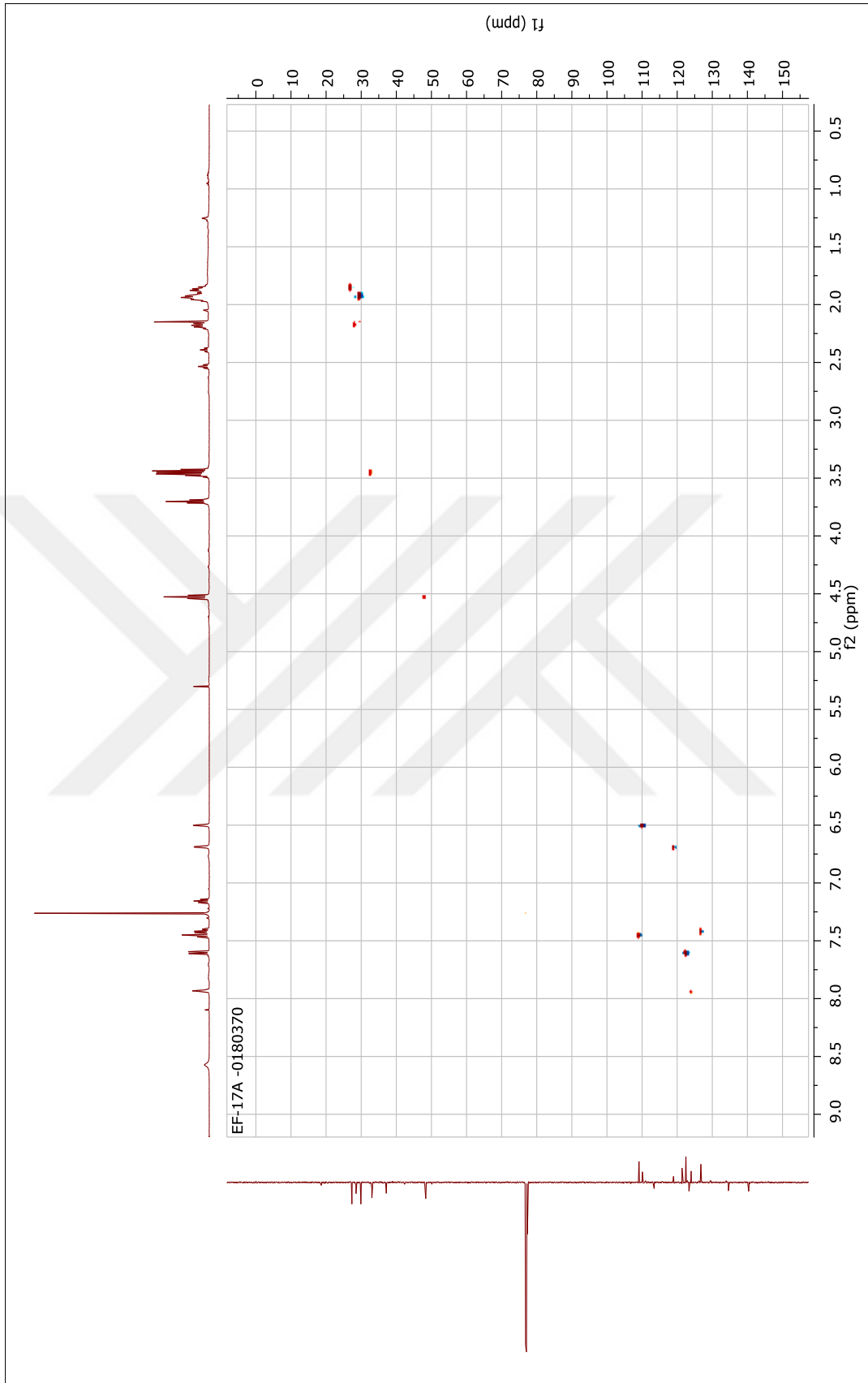
Şekil 4.18 Bileşik 7'nin FTIR Spektrumu (ATR)



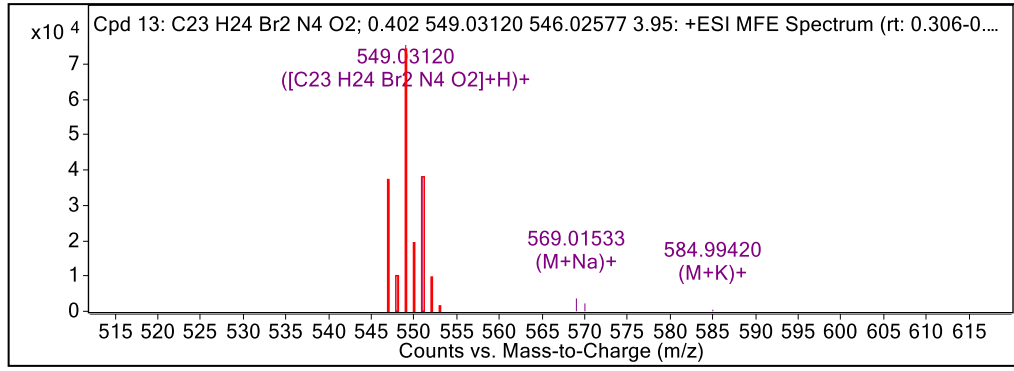
Şekil 4.19 Bileşik 7'nin ^1H NMR Spektrumu (CDCl_3)



Şekil 4.20 Bileşik 7'nin APT Spektrumu (CDCl₃)

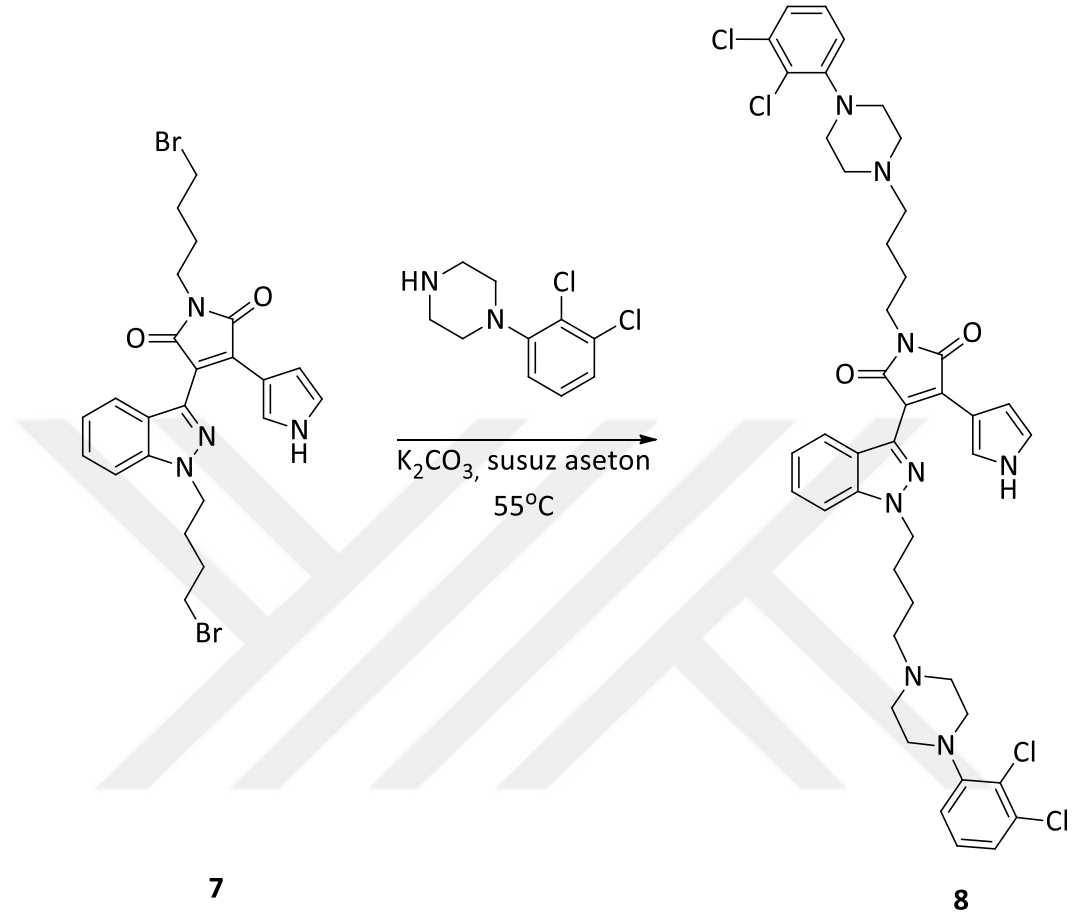


Şekil 4.21 Bileşik 7'nin HSQC spektrumu (CDCl₃)



Şekil 4.22 Bileşik 7'nin LC-MS (Q-TOF) spektrumu

4.9 1-(4-(4-(2,3-Diklorofenil)piperazin-1-il)bütül)-4-(1-(4-(4-(2,3-diklorofenil)piperazin-1-il)bütül)-1*H*-indazol-3-il)-1*H*,1'*H*-[3,3'-bipirol]-2,5-dion Bileşğinin Sentezi (Bileşğ 8, C₄₃H₄₆Cl₄N₈O₂)



0.1 mmol (55 mg) Bileşğ 7 tartılarak reaksiyon balonuna alındı ve azot atmosferi altında 2 mL susuz aseton içerisinde çözünmesi sağlandı. Üzerine 0.4 mmol K₂CO₃ (55 mg) ve 0.2 mmol *N*-(2,3-diklorofenil)piperazin hidroklorür (54 mg) ilave edildi. 55°C'de bir gece boyunca refluks edildi. TLC (10:1 kloroform/metanol) kontrolü sonucunda başlangıç maddelerinin tükendiğı gözlemlendi ve reaksiyon sonlandırıldı. Etil asetat içerisinde çözülerek tuzlu su ile ekstrakte edildi. Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu. Ham ürün 10:1 kloroform/metanol sisteminden kolon kromatografisi uygulanarak saflaştırıldı.

Turuncu yağmsı madde; R_f= 0.35 (10:1 kloroform/metanol); verim= %15.

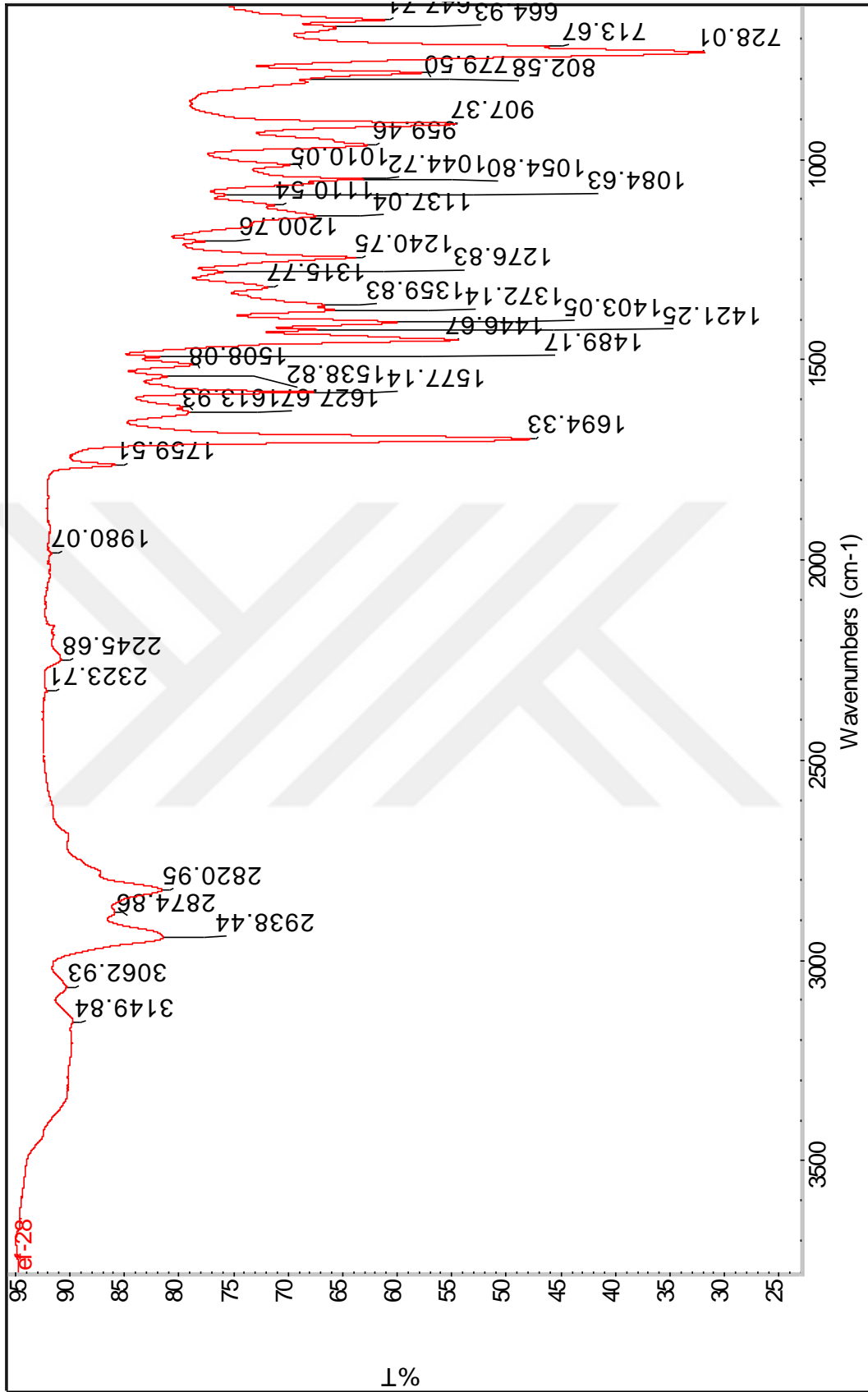
4.9.1 Bileşik 8'in Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): $\nu = 3149$ ve 3062 (aromatik, =C-H gerilimleri), 2938 , 2874 ve 2820 (alifatik, C-H gerilimleri), 1694 (C=O gerilimi), 1577 (aromatik, C=C gerilimi), 1489 ve 1372 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1240 (C-N salınımı) cm^{-1} .

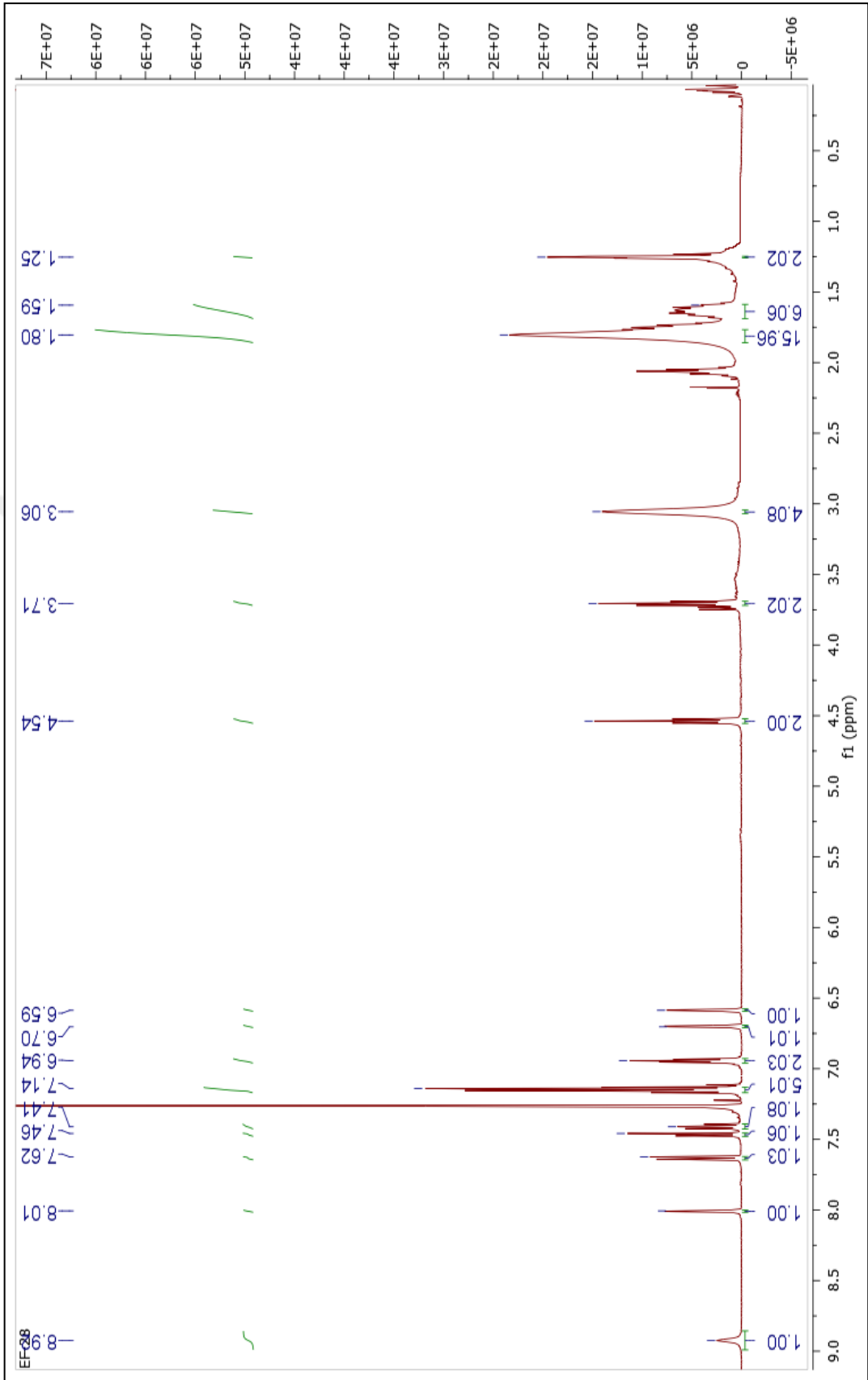
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.25$ - 1.26 (m, 2H, CH_2), 1.59 - 1.68 (m, 6H, CH_2), 1.80 (m, 16H, $N\text{-CH}_{2\text{pip}}$), 3.05 (brds, 4H, $N\text{-CH}_2$), 3.70 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 4.53 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 6.58 (brds, 1H, ArH), 6.70 (brds, 1H, ArH), 6.94 - 6.96 (m, 2H, ArH), 7.13 - 7.16 (m, 5H, ArH), 7.39 - 7.42 (m, 1H, ArH), 7.45 - 7.47 (m, 1H, ArH), 7.62 (d, $J = 8.19$ Hz, 1H, ArH), 8.00 (m, 1H, ArH), 8.92 (brds, 1H, NH_{pirol}) ppm.

APT (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 23.9$ (CH_2), 24.1 (CH_2), 26.6 (CH_2), 27.8 (CH_2), 38.0 ($N\text{-CH}_2$), 49.1 ($N\text{-CH}_2$), 51.0 ($2xN\text{-CH}_2$), 51.2 ($2xN\text{-CH}_2$), 53.0 ($2xN\text{-CH}_2$), 53.2 ($2xN\text{-CH}_2$), 57.8 ($N\text{-CH}_2$), 57.9 ($N\text{-CH}_2$), 109.1 (CAr), 110.1 (CAr), 113.4 (Cq), 117.2 (Cq), 118.5 (CAr), 118.6 (CAr), 121.2 (CAr), 121.4 (Cq), 122.5 (CAr), 123.3 (Cq), 124.0 (CAr), 124.4 (CAr), 124.6 (CAr), 126.5 (CAr), 127.4 ($2x\text{CAr}$), 127.5 (CAr), 133.9 (Cq), 134.0 (Cq), 134.4 ($2xCq$), 140.2 ($2xCq$), 151.3 (Cq), 164.1 (Cq), 171.4 (C=O), 171.6 (C=O) ppm.

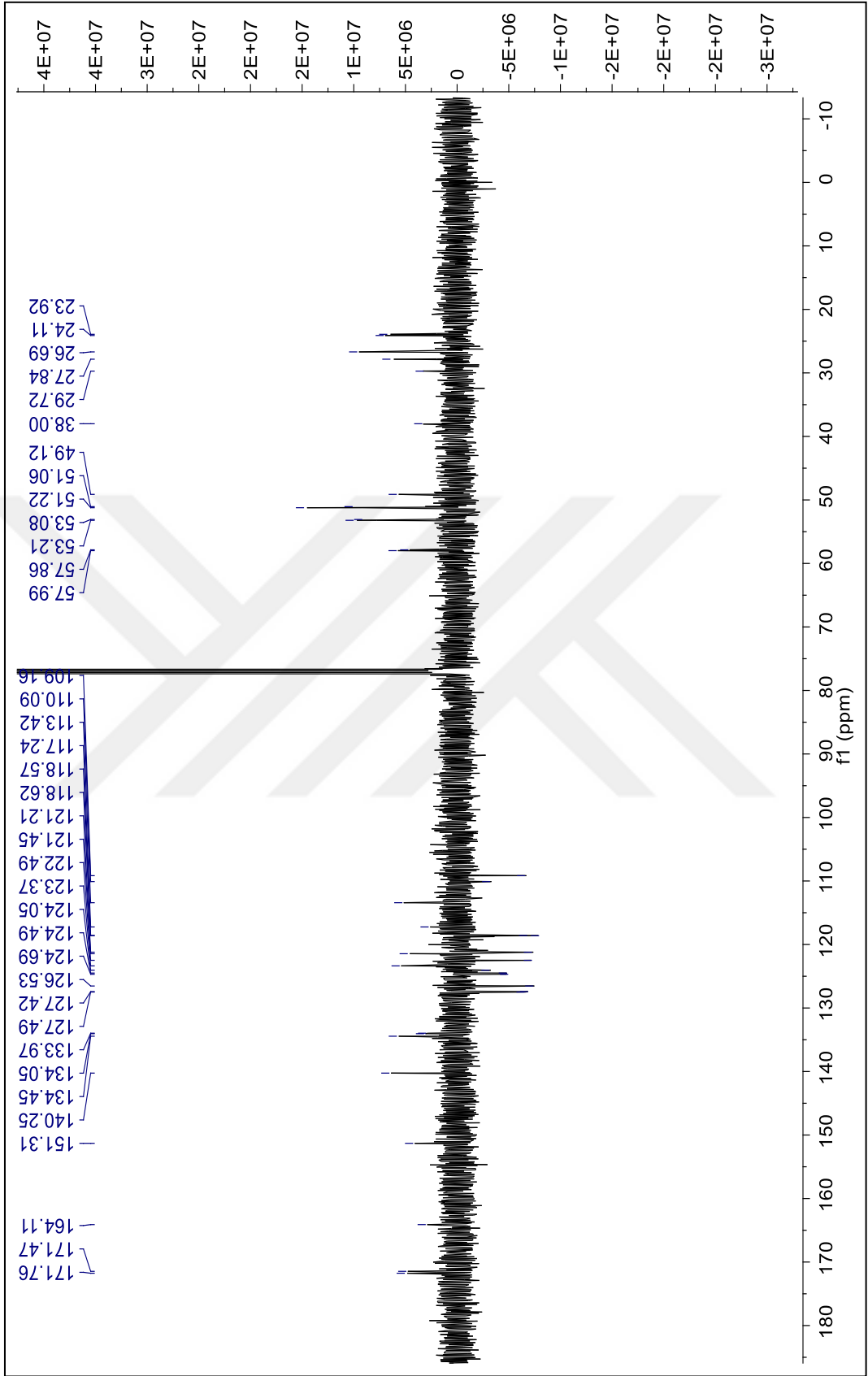
LC-MS (ESI-QTOF): $m/z =$ Hesaplanan: $[\text{C}_{43}\text{H}_{46}\text{Cl}_4\text{N}_8\text{O}_2]$: 848.2468 , bulunan 849.2542 ($[\text{C}_{43}\text{H}_{46}\text{Cl}_4\text{N}_8\text{O}_2] + \text{H}$)⁺.



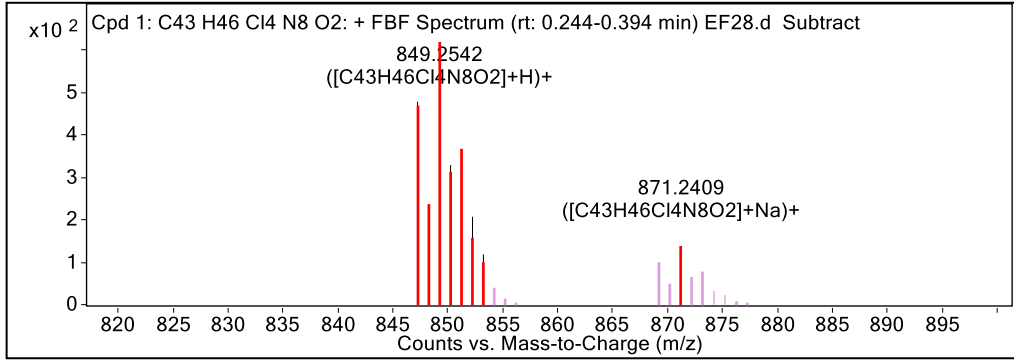
Şekil 4.23 Bileşik 8'in FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 4.24 Bileşik 8'in ^1H NMR spektrumu (CDCl_3)

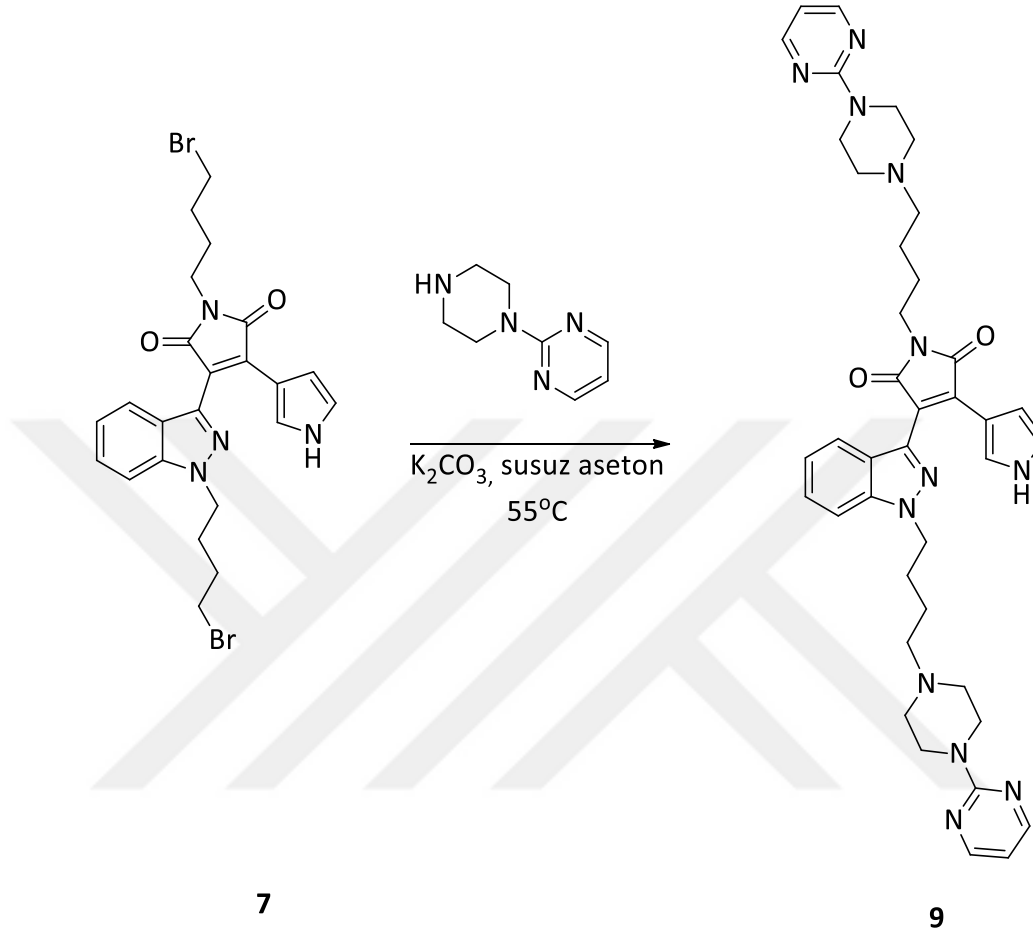


Şekil 4.25 Bileşik 8'in APT spektrumu (CDCl₃)



Şekil 4.26 Bileşik 8'in LC-MS (Q-TOF) spektrumu

4.10 1-(4-(4-(Pirimidin-2-il)piperazin-1-il)bütül)-4-(1-(4-(4-(pirimidin-2-il)piperazin-1-il)bütül)-1*H*-indazol-3-il)-1*H*,1'*H*-[3,3'-bipirol]-2,5-dion Bileşiğinin Sentezi (Bileşik 9, C₃₉H₄₆N₁₂O₂)



0.1 mmol (55 mg) Bileşik **7** tartılarak reaksiyon balonuna alındı ve 2 mL susuz aseton içerisinde çözünmesi sağlandı. Üzerine 0.4 mmol K₂CO₃ (55 mg) ve 0.2 mmol 1-(2-pirimidil)piperazin (33 mg) ilave edildi. Azot atmosferi altında 55°C'de bir gece boyunca karışması sağlandı. Yapılan TLC (10:1 kloroform/metanol) kontrolleri sonucunda başlangıç maddelerinin tükendiği gözlemlendi ve reaksiyon sonlandırıldı. Etil asetat içerisinde çözülerek tuzlu su ile ekstrakte edildi. Organik faz Na₂SO₄ ile kurutuldu, süzüldü, çözücüsü vakumda uzaklaştırıldı. Ham ürün 10:1 kloroform/metanol sisteminden kolon kromatografisi uygulanarak saflaştırıldı.

Turuncu yağmsı madde; R_f= 0.46 (10:1 kloroform/metanol); verim= %22.

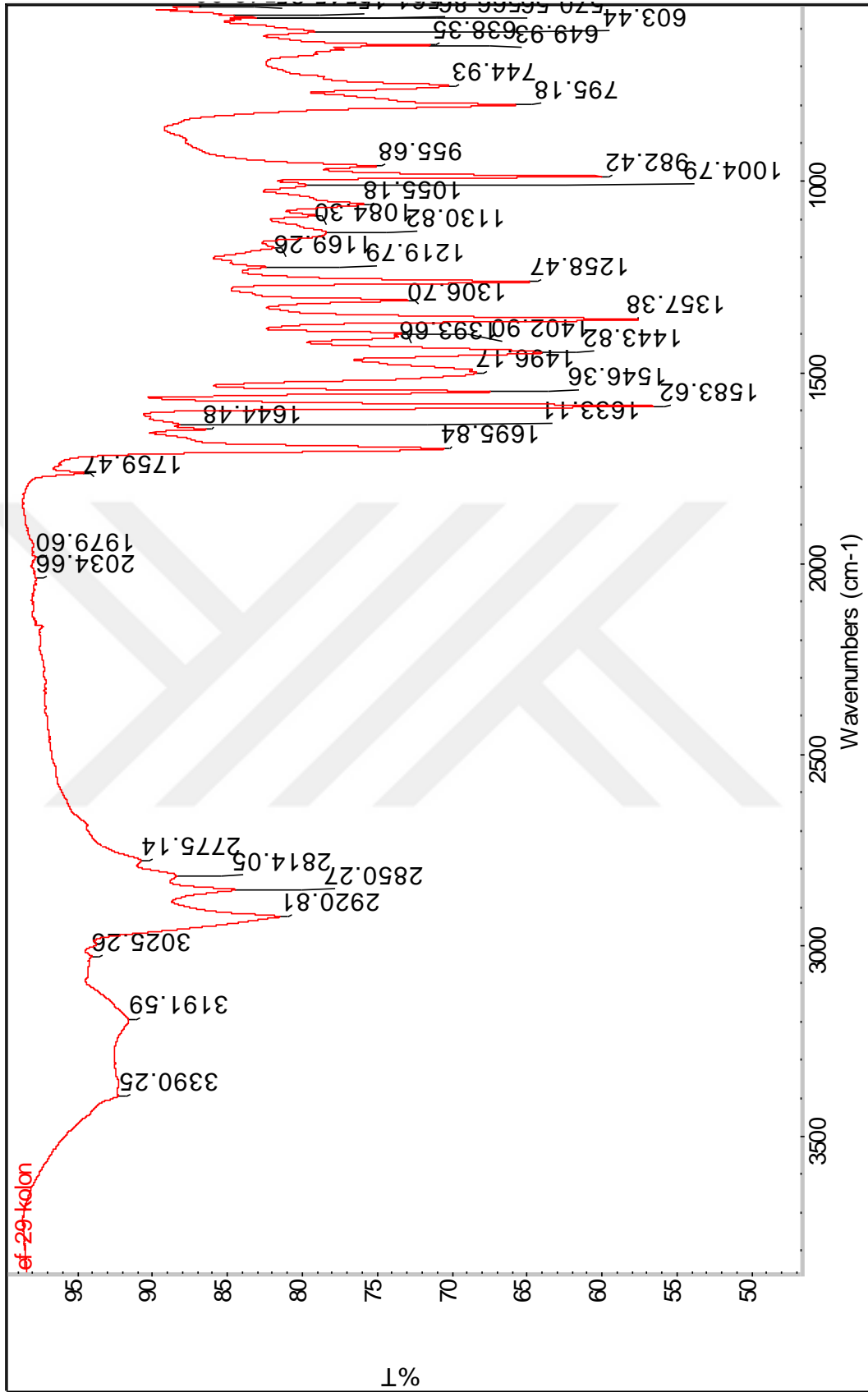
4.10.1 Bileşik 9'un Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): $\nu = 3390$ (N-H gerilimi), 3191 ve 3025 (aromatik, =C-H gerilimleri), 2920, 2850, 2814 ve 2775 (alifatik, C-H gerilimleri), 1695 (C=O gerilimi), 1583 ve 1546 (aromatik, C=C gerilimleri), 1443, 1393 ve 1357 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1258 (C-N salınımı), 1004 (C-O gerilimi) cm^{-1} .

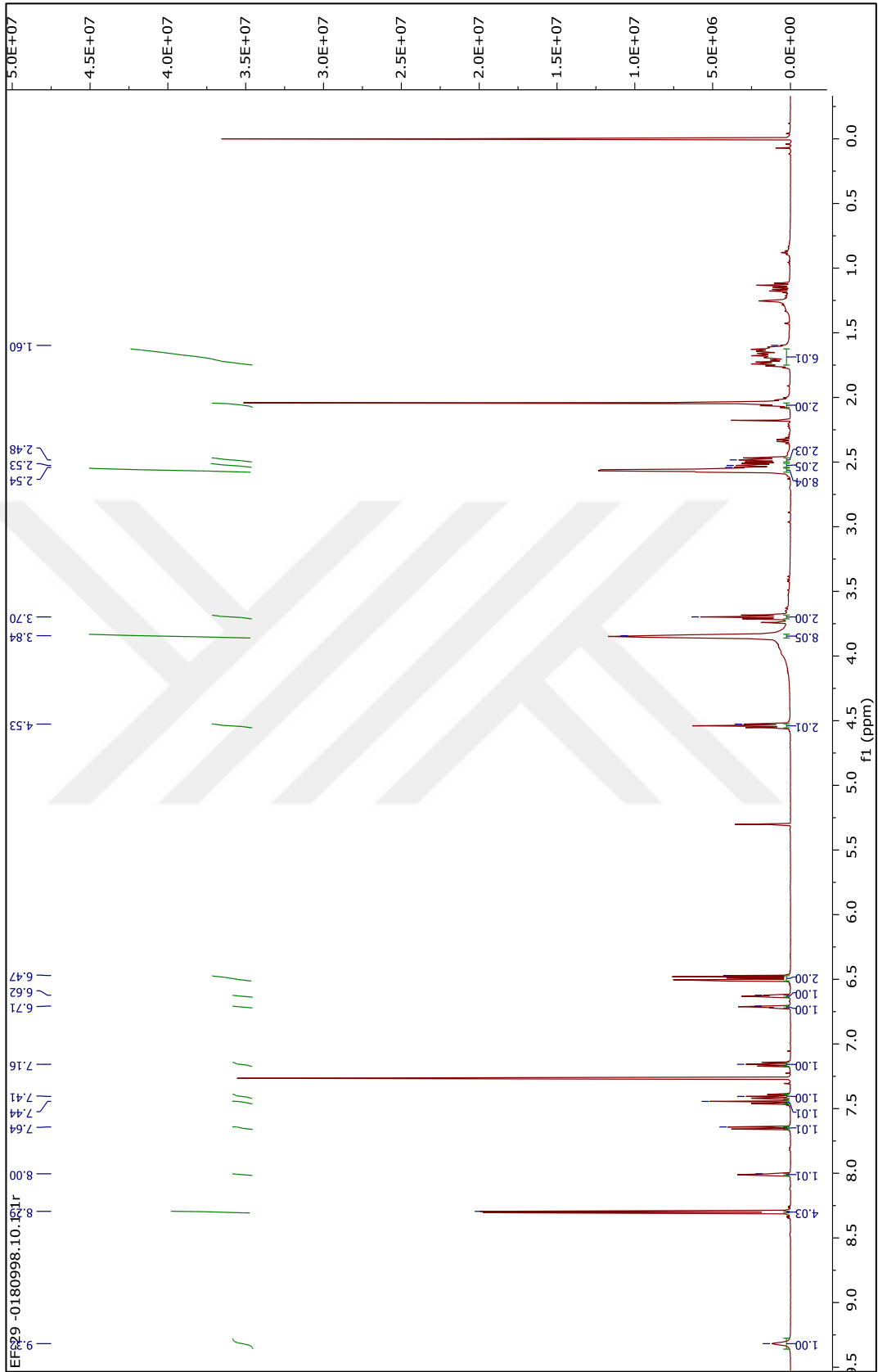
^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.59-1.76$ (m, 6H, CH_2), 2.00-2.03 (m, 2H, CH_2), 2.48 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 2.52 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 2.54-2.57 (m, 8H, $N\text{-CH}_2\text{-pip}$), 3.69 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 3.84-3.88 (m, 8H, $N\text{-CH}_2$), 4.53 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 6.47 (dt, $J = 4.7; 11.9$ Hz, 2H, ArH), 6.62-6.63 (m, 1H, ArH), 6.70-6.72 (m, 1H, ArH), 7.15 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 7.40 (t, $J = 8.5$ Hz, 1H, ArH), 7.44 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, ArH), 7.64 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 8.00 (s, 1H, ArH), 8.29 (d, $J = 4.72$ Hz, 4H, ArH), 9.31 (brds, 1H, NH) ppm.

APT (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 23.5$ (CH_2), 23.7 (CH_2), 26.6 (CH_2), 27.7 (CH_2), 37.9 ($N\text{-CH}_2$), 43.0 ($2 \times N\text{-CH}_2$), 43.3 ($2 \times N\text{-CH}_2$), 49.0 ($N\text{-CH}_2$), 52.6 ($2 \times N\text{-CH}_2$), 52.8 ($2 \times N\text{-CH}_2$), 57.7 ($N\text{-CH}_2$), 57.9 ($N\text{-CH}_2$), 109.1 (CAr), 109.8 (CAr), 110.1 (CAr), 113.3 (Cq), 118.8 (CAr), 121.2 (CAr), 121.3 (Cq), 122.5 (CAr), 123.4 (Cq), 124.2 (CAr), 126.6 (CAr), 134.6 (Cq), 134.7 (Cq), 140.2 (Cq), 157.7 ($6 \times \text{CAr}$), 161.5 (Cq), 171.5 (C=O), 171.7 (C=O) ppm.

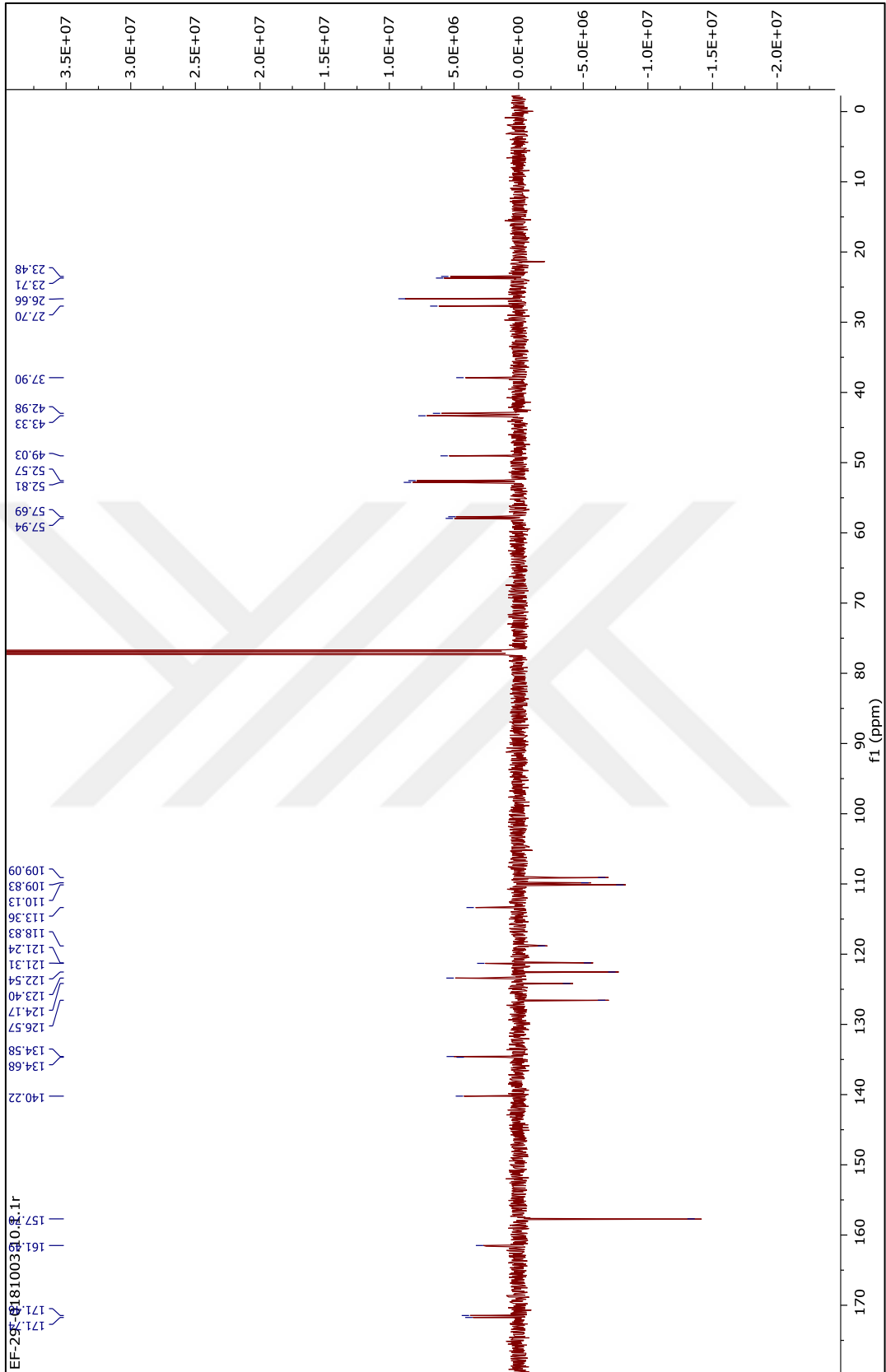
LC-MS (ESI-QTOF): $m/z =$ Hesaplanan: $[\text{C}_{39}\text{H}_{46}\text{N}_{12}\text{O}_2]$: 714.3867, bulunan 715.3910 ($[\text{C}_{39}\text{H}_{46}\text{N}_{12}\text{O}_2] + \text{H}$) $^+$.



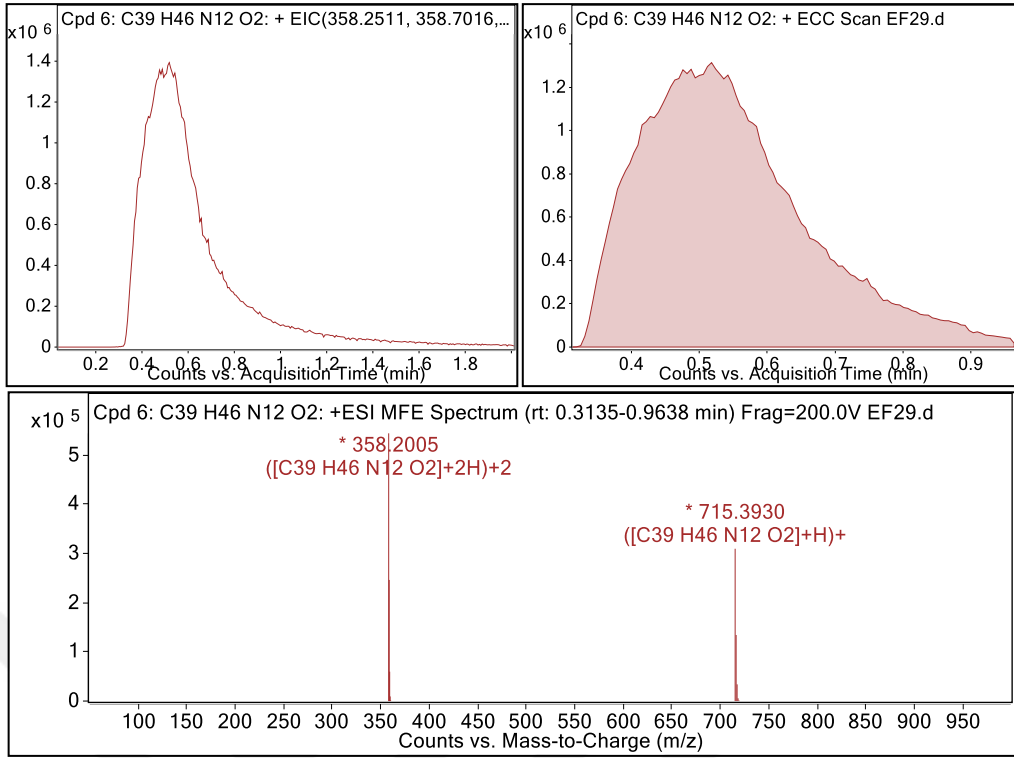
Şekil 4.27 Bileşik 9'un FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 4.28 Bileşik 9'un ^1H NMR spektrumu (CDCl_3)

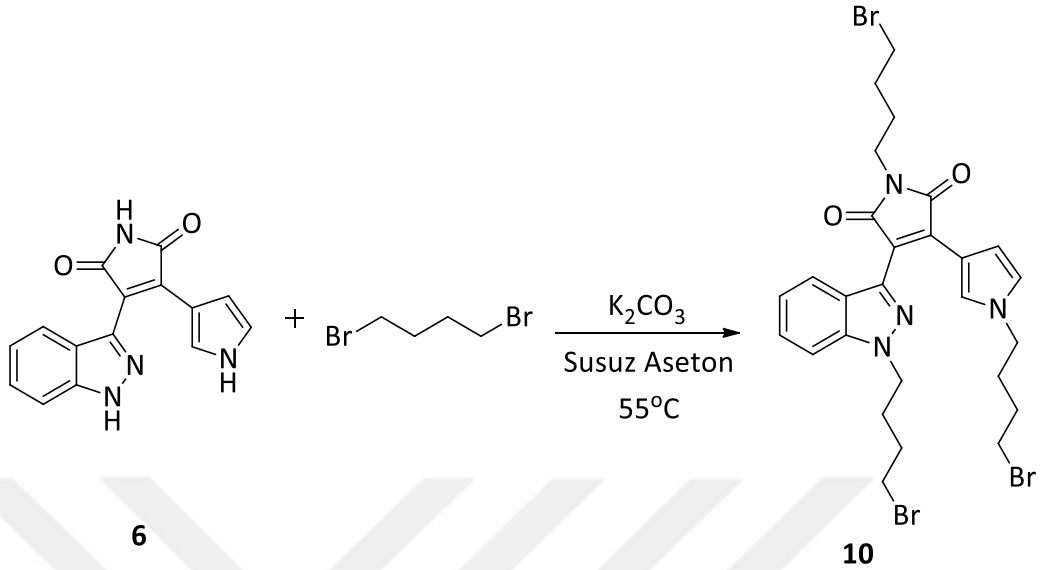


Şekil 4.29 Bileşik 9'un APT spektrumu (CDCl₃)



Şekil 4.30 Bileşik 9'un LC-MS (Q-TOF) spektrumu

4.11 1-(4-Bromobütil)-3-(1-(4-bromobütil)-1*H*-indazol-3-il)-4-(1-(4-bromobütil)-1*H*-pirol-3-il)-1*H*-pirol-2,5-dion Bileşğinin Sentezi (Bileşğik 10, C₂₇H₃₁Br₃N₄O₂)



1 mmol Bileşğik 6 (278 mg) tek boyunlu balona tartıldı. Azot atmosferi altında 10 mL susuz asetonunda çözüldü ve üzerine 9 mmol kızdırılmış K₂CO₃ (1.106 g) ilave edilip oda sıcaklığında 1 saat karıştırıldı. Ardından 6 mmol 1,4-dibromobütan (1.072 mL) reaksiyona damla damla ilave edildi, reaksiyon 55°C'ye getirildi ve gece boyunca refluks edildi. TLC (1:1 etil asetat/*n*-hekzan) sonucuna göre başlangıç maddesinin tükendiği gözlemlendi. Tuzlu su/etil asetat ile ekstrakte edildi. Na₂SO₄ ile kurutulup çözücüsü uçuruldu. Ham ürün etil asetat/*n*-hekzan (1:1) sisteminden kolon kromatografisi yöntemi ile saflaştırıldı.

Sarı parlak yağimsı sıvı; R_f= 0.84 (1:1 etil asetat/*n*-hekzan); verim= %30.

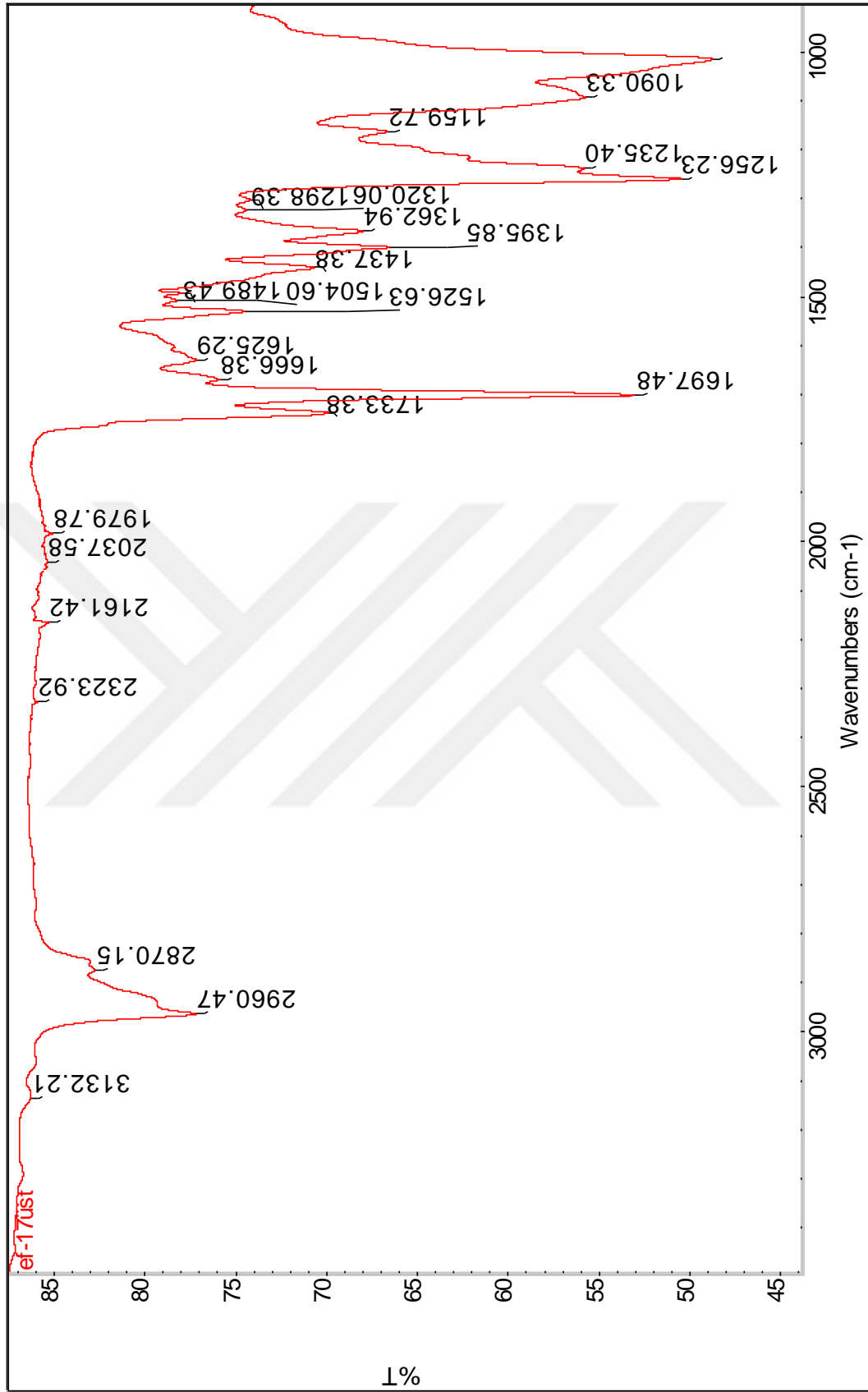
4.11.1 Bileşik 10'un Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): $\nu = 3132$ (aromatik, =C-H gerilimleri), 2960 ve 2870 (alifatik C-H gerilimleri), 1733 ve 1697 (C=O gerilimleri), 1526 (aromatik, C=C gerilimi), 1437, 1395 ve 1362 (alifatik, düzlemiçi C-H eğilimleri), 1256 (C-N salınımı) cm^{-1} .

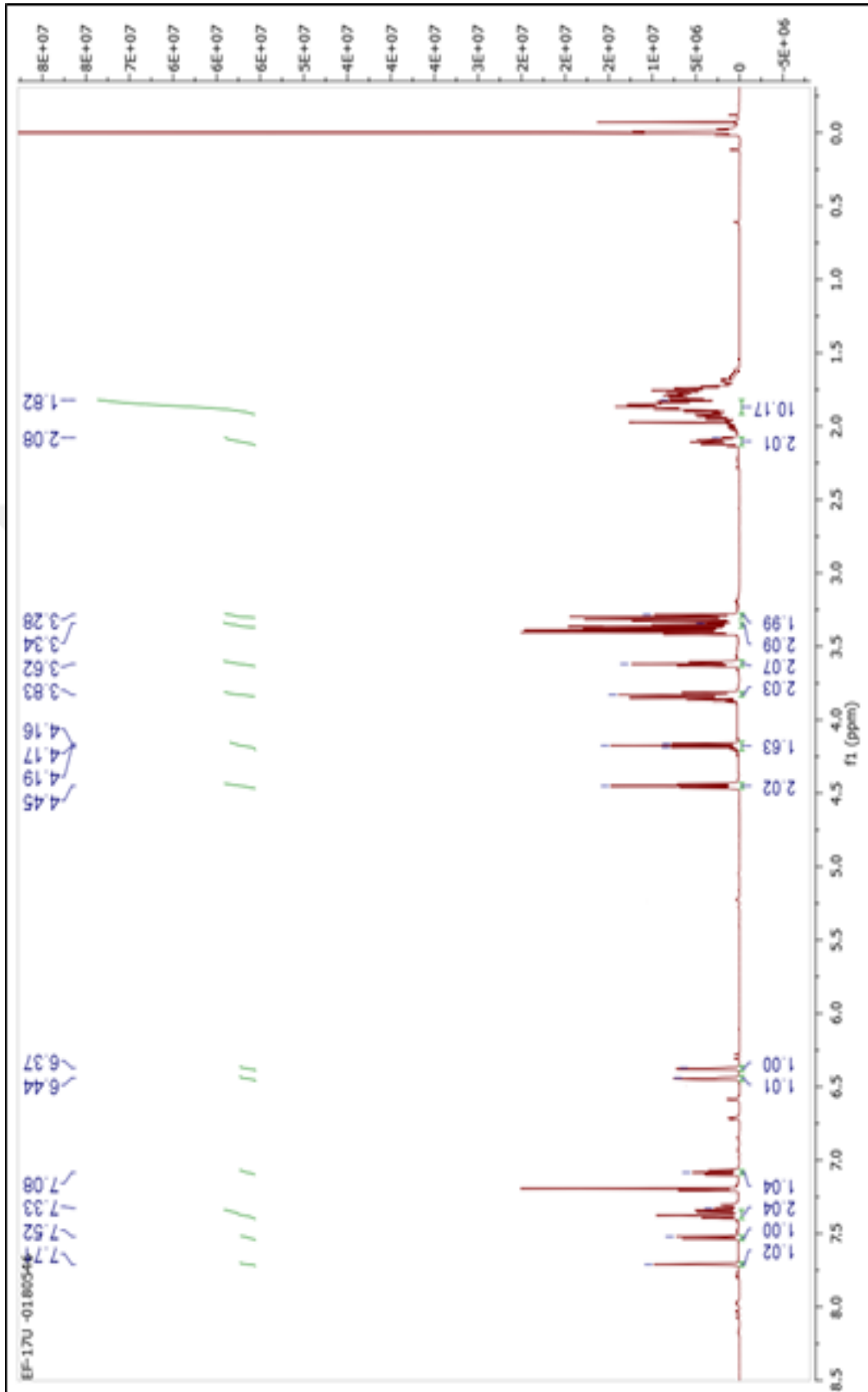
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.82 - 1.95$ (m, 10H, CH_2), 2.08 – 2.10 (m, 2H, CH_2), 3.28 (t, $J = 6.30$ Hz, 2H, N- CH_2), 3.34 (m, 2H, N- CH_2), 3.62 (t, $J = 6.62$ Hz, 2H, N- CH_2), 3.83 (t, $J = 6.93$ Hz, 2H, Br- CH_2), 4.17 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H, Br- CH_2), 4.45 (t, $J = 6.93$ Hz, 2H, Br- CH_2), 6.37 (brds, 1H, ArH), 6.44 (brds, 1H, ArH), 7.08 (t, $J = 2.52$ Hz, 1H, ArH), 7.33 (m, 2H, ArH), 7.52 (d, $J = 8.19$ Hz, 1H, ArH), 7.71 (t, $J = 1.89$ Hz, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 27.3$ (CH_2), 28.5 (CH_2), 29.5 (CH_2), 29.6 (CH_2), 29.8 (CH_2), 29.9 (CH_2), 32.7 (CH_2), 33.0 (CH_2), 33.1 (CH_2), 37.1 (CH_2), 48.3 (CH_2), 49.2 (CH_2), 109.1 (CAr), 110.6 (CAr), 113.3 (Cq), 120.3 (Cq), 121.3 (CAr), 121.7 (CAr), 122.4 (CAr), 123.3 (Cq), 126.5 (CAr), 126.7 (CAr), 134.5 (Cq), 134.8 (Cq), 140.3 (Cq) 171.4 (C=O), 171.7 (C=O) ppm.

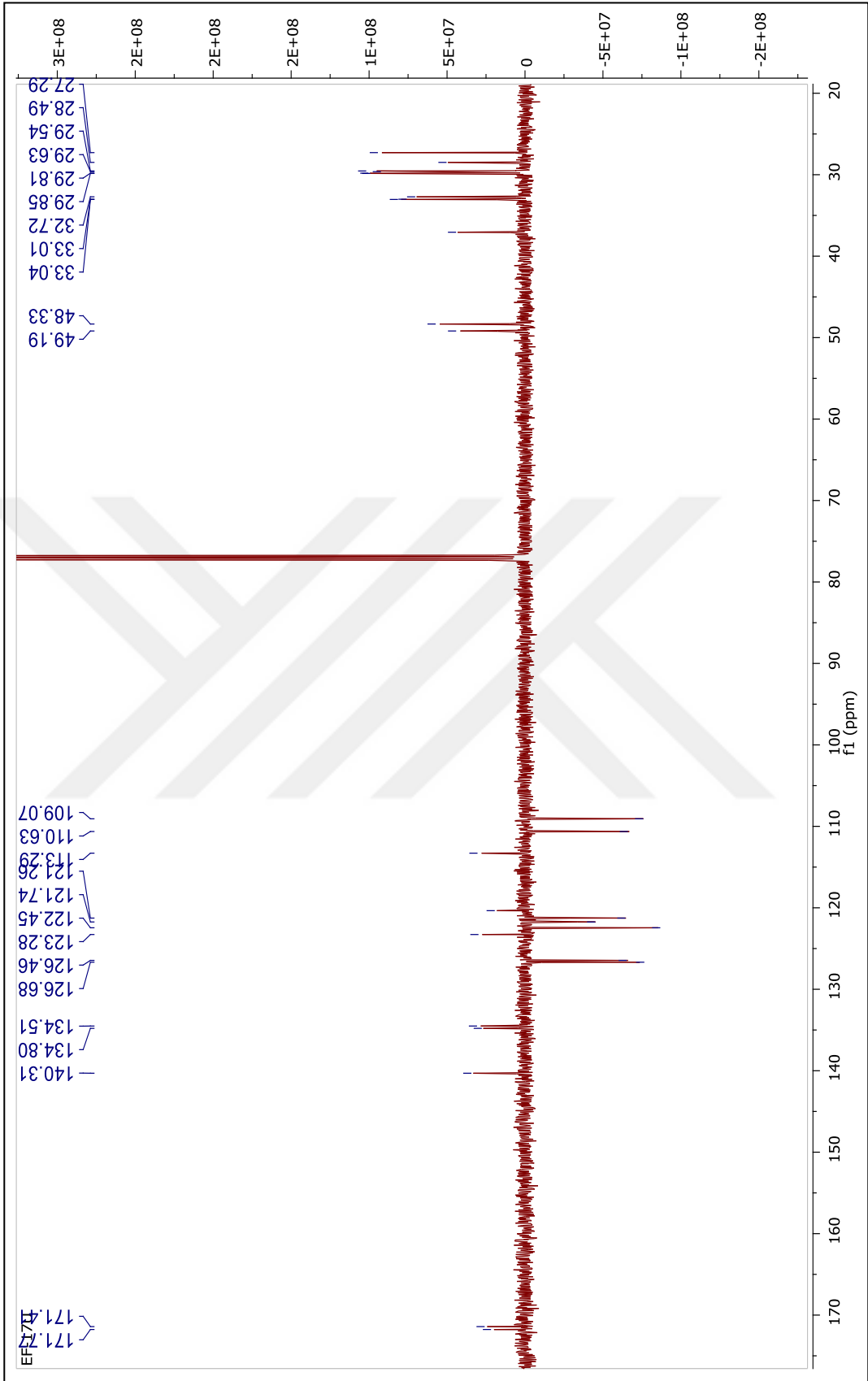
LC-MS (ESI-QTOF): $m/z =$ Hesaplanan: $[\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{Br}_3\text{N}_4\text{O}_2]$: 683.9956, bulunan 685.0032 ($[\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{Br}_3\text{N}_4\text{O}_2 + \text{H}]^+$).



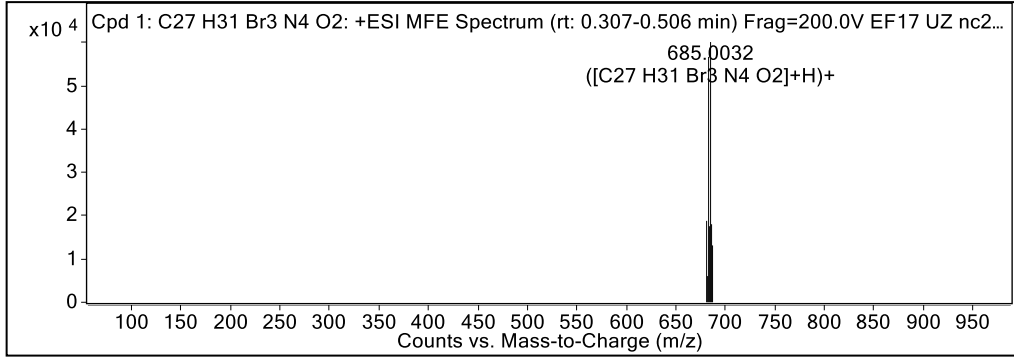
Şekil 4.31 Bileşik 10'un FTIR Spektrumu (ATR)



Şekil 4.32 Bileşik **10**'un ^1H NMR Spektrumu (CDCl_3)

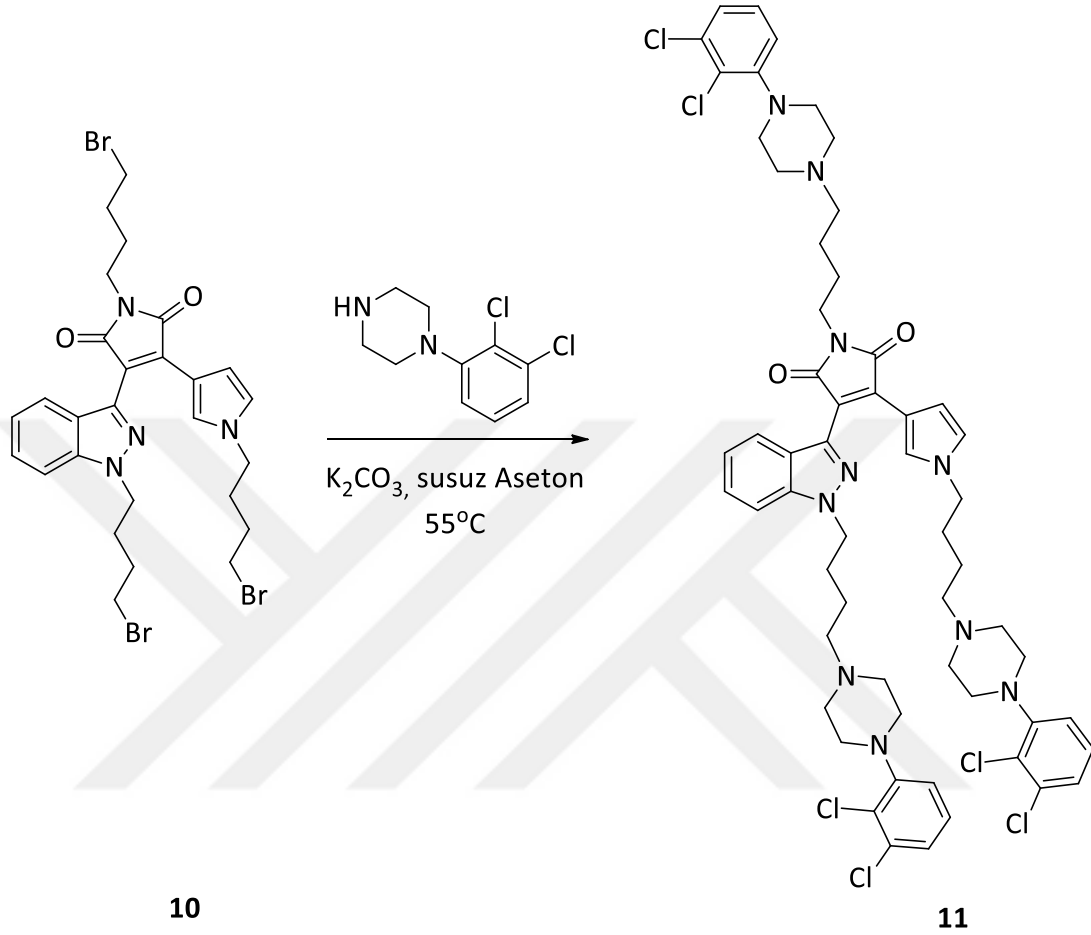


Şekil 4.33 Bileşik 10'un APT spektrumu (CDCl₃)



Şekil 4.34 Bileşik 10'un LC-MS (Q-TOF) Spektrumu

4.12 1,1'-Bis(4-(4-(2,3-diklorofenil)piperazin-1-il)bütül)-4-(1-(4-(4-(2,3-diklorofenil)piperazin-1-il)bütül)-1*H*-indazol-3-il)-1*H*,1'*H*-[3,3'-bipiro]l]-2,5-dion Bileşikinin Sentezi (Bileşik 11, C₅₇H₆₄Cl₆N₁₀O₂)



0.1 mmol (68 mg) Bileşik **10** tartılarak reaksiyon balonuna alındı ve azot atmosferi altında 2 mL susuz aseton içerisinde çözünmesi sağlandı. Üzerine 0.9 mmol K₂CO₃ (124 mg) ve 0.3 mmol *N*-(2,3-diklorofenil)piperazin hidroklorür (80 mg) ilave edildi. 55°C'de bir gece boyunca refluks edildi. TLC (10:1 diklorometan/metanol) kontrolü sonucunda başlangıç maddelerinin tükendiği gözlemlendi ve reaksiyon sonlandırıldı. Etil asetat içerisinde çözülerek tuzlu su ile ekstrakte edildi. Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücüsü vakum altında uçuruldu. Ham ürün 10:1 diklorometan/metanol sisteminden kolon kromatografisi uygulanarak saflaştırıldı.

Turuncu yağmsı madde; R_f= 0.33 (10:1 diklorometan/metanol); verim= %17.

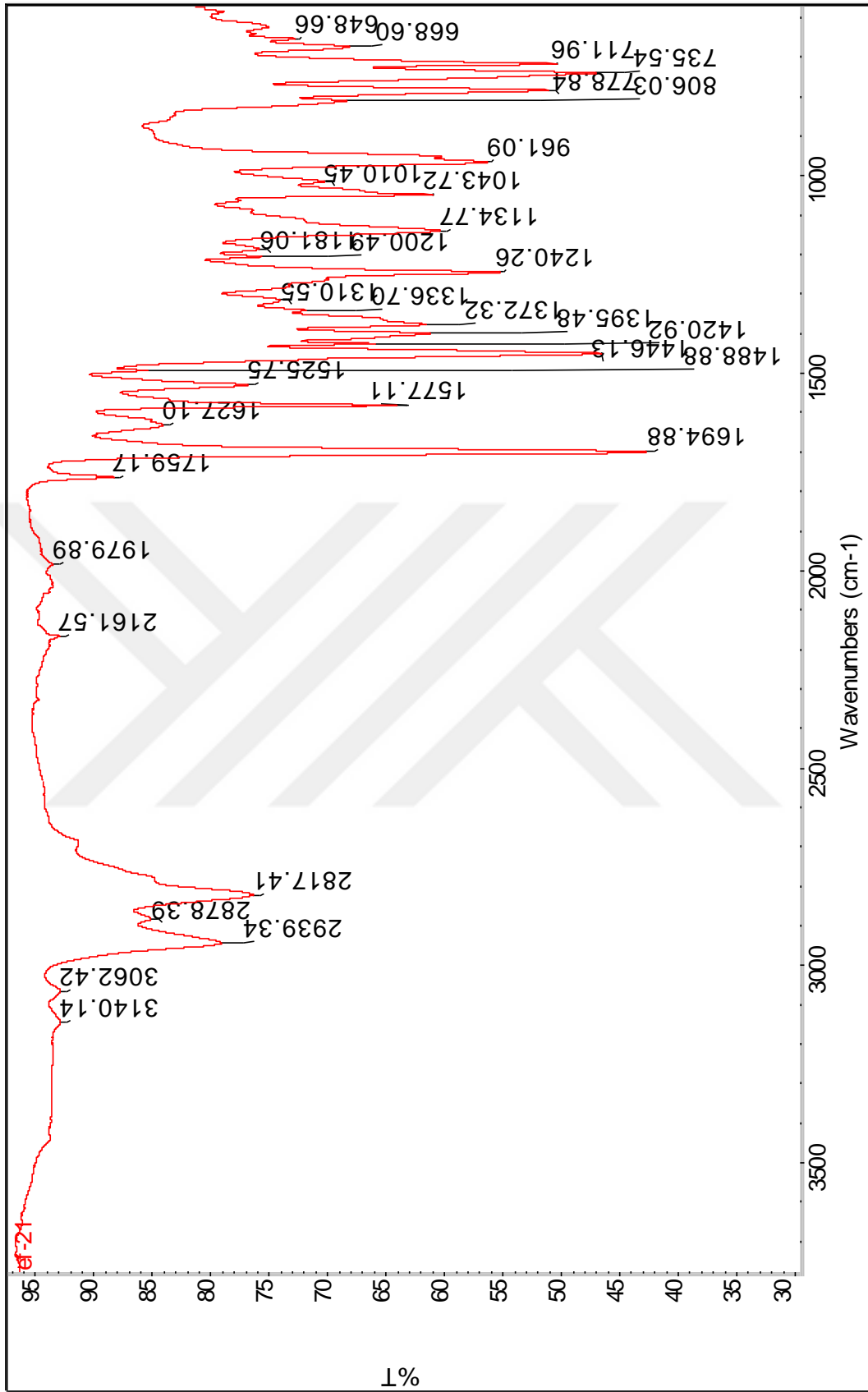
4.12.1 Bileşik 11'in Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): $\nu = 3140$ ve 3062 (aromatik, =C-H gerilimleri), 2939 , 2878 ve 2817 (alifatik, C-H gerilimleri), 1694 (C=O gerilimi), 1577 ve 1525 (aromatik, C=C gerilimleri), 1488 ve 1372 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1240 (C-N salınımı), 1043 (C-O) cm^{-1} .

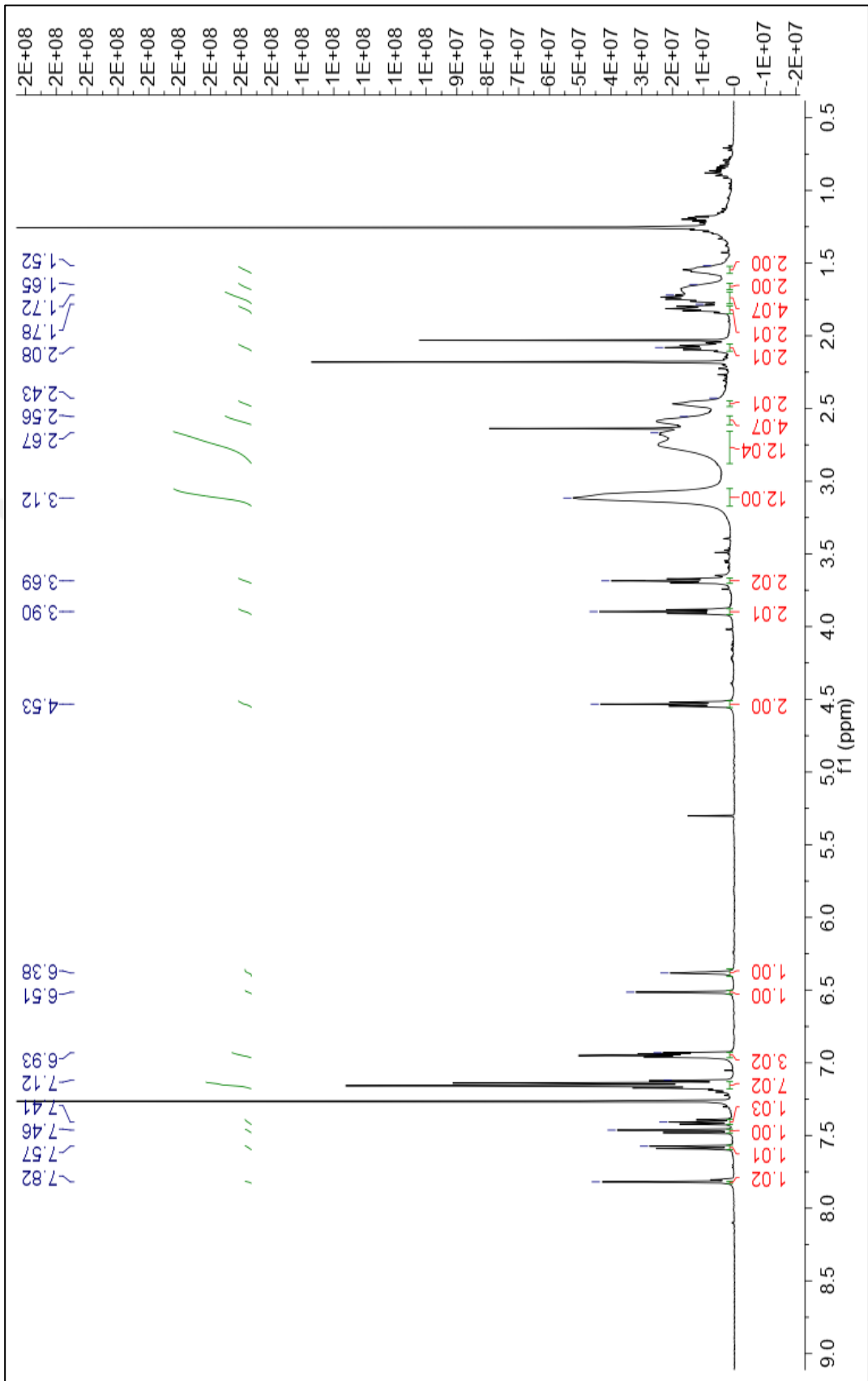
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.52\text{--}1.59$ (m, 2H, CH_2), $1.64\text{--}1.69$ (m, 2H, CH_2), $1.72\text{--}1.78$ (m, 4H, CH_2), $1.78\text{--}1.84$ (m, 2H, CH_2), 2.08 (pent, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2), $2.43\text{--}2.50$ (m, 2H, $N\text{-CH}_2$), $2.55\text{--}2.62$ (m, 4H, $N\text{-CH}_2$), $2.65\text{--}2.87$ (m, 12H, $N\text{-CH}_{2\text{pip}}$), 3.11 (brds, 12H, $N\text{-CH}_{2\text{pip}}$), 3.68 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 3.90 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 4.53 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 6.38 (brds, 1H, ArH), 6.51 (t, $J = 2.5$ Hz, 1H, ArH), $6.93\text{--}6.96$ (m, 3H, ArH), $7.12\text{--}7.18$ (m, 7H, ArH), $7.39\text{--}7.41$ (m, 1H, ArH), 7.46 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, ArH), 7.57 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 7.82 (brds, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 23.8$ (CH_2), 23.9 (CH_2), 24.1 (CH_2), 26.6 (CH_2), 26.7 (CH_2), 27.9 (CH_2), 29.1 (CH_2), 29.7 (CH_2), 37.9 (CH_2), 49.2 (CH_2), 49.9 (CH_2), 51.2 ($4\times\text{CH}_2$), 53.2 (CH_2), 53.3 ($4\times\text{CH}_2$), 57.8 (CH_2), 57.9 (CH_2), 58.0 (CH_2), 65.4 (CH_2), 109.2 (CAr), 110.4 (CAr), 113.2 (Cq), 118.6 ($2\times\text{CAr}$), 120.2 (Cq), 121.1 (CAr), 121.7 (CAr), 122.4 (CAr), 123.3 (Cq), 124.6 ($2\times\text{CAr}$), 126.5 (CAr), 126.6 (CAr), 127 (CAr), 127.5 ($2\times\text{CAr}$), 127.7 (CAr), 128.6 (CAr), 133.9 (Cq), 134.0 ($2\times\text{Cq}$), 134.5 ($2\times\text{Cq}$), 134.7 ($2\times\text{Cq}$), 140.3 ($2\times\text{Cq}$), 140.9 (Cq), 151.1 (Cq), 151.2 (Cq), 171.5 (C=O), 171.9 (C=O) ppm.

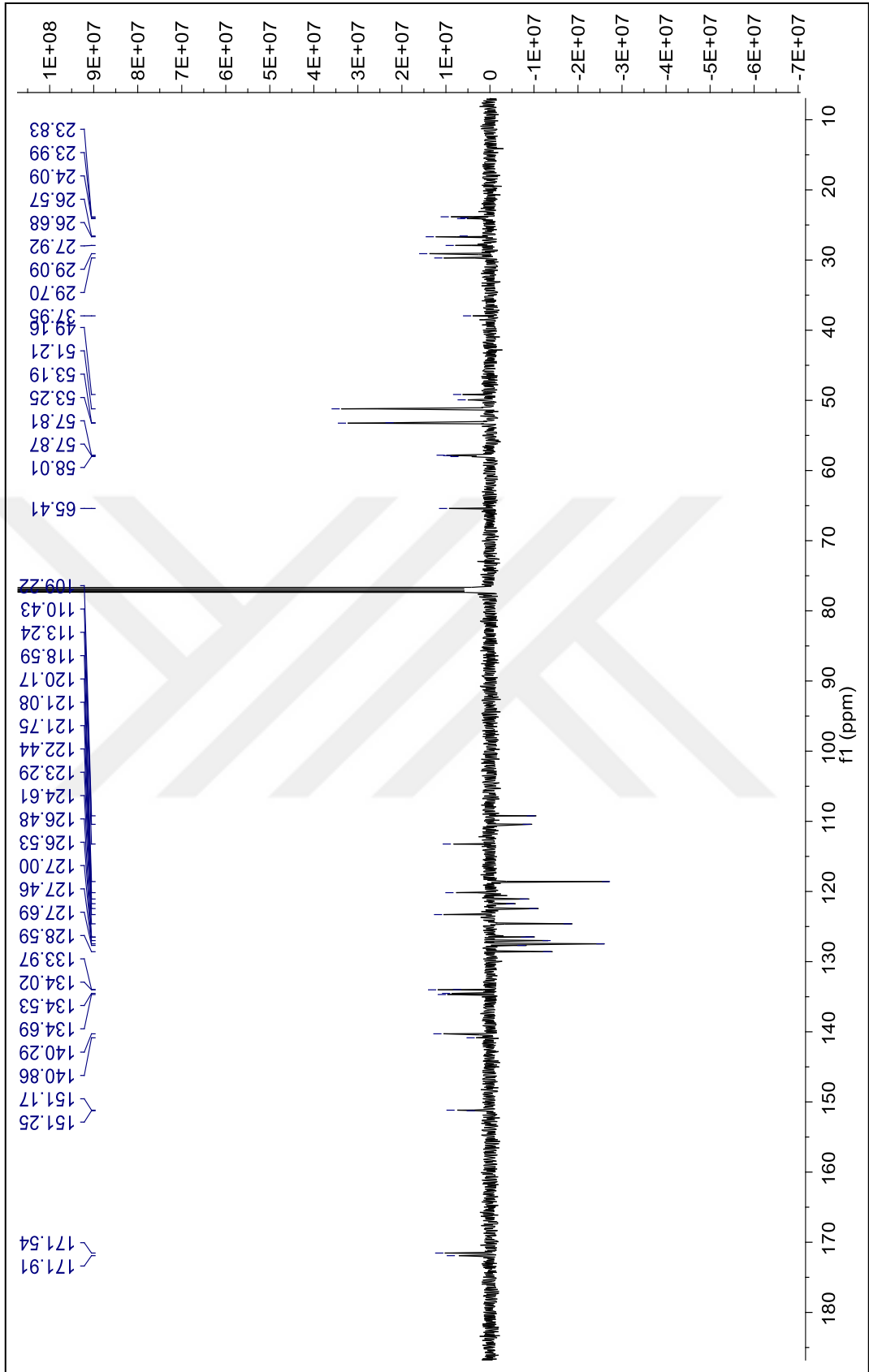
LC-MS (ESI-QTOF): $m/z =$ Hesaplanan: $[\text{C}_{57}\text{H}_{64}\text{Cl}_6\text{N}_{10}\text{O}_2]$: 1132.3315 , bulunan 1133.3410 ($[\text{C}_{57}\text{H}_{64}\text{Cl}_6\text{N}_{10}\text{O}_2] + \text{H}$) $^+$.



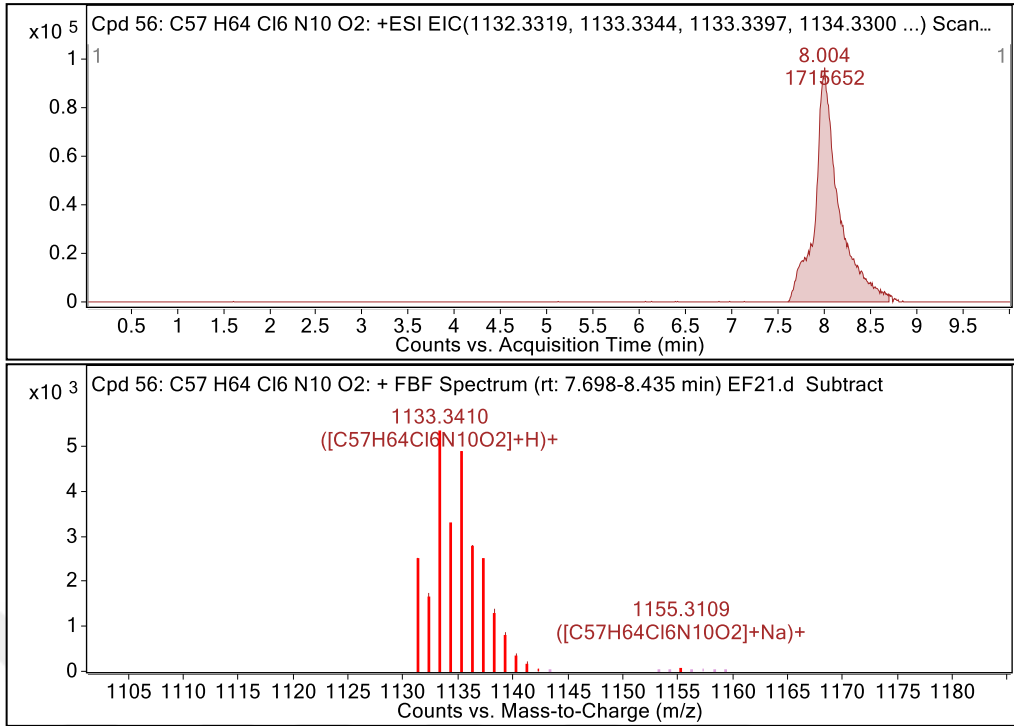
Şekil 4.35 Bileşik 11'in FTIR Spektrumu (ATR)



Şekil 4.36 Bileşik **11**'in ^1H NMR Spektrumu (CDCl_3)

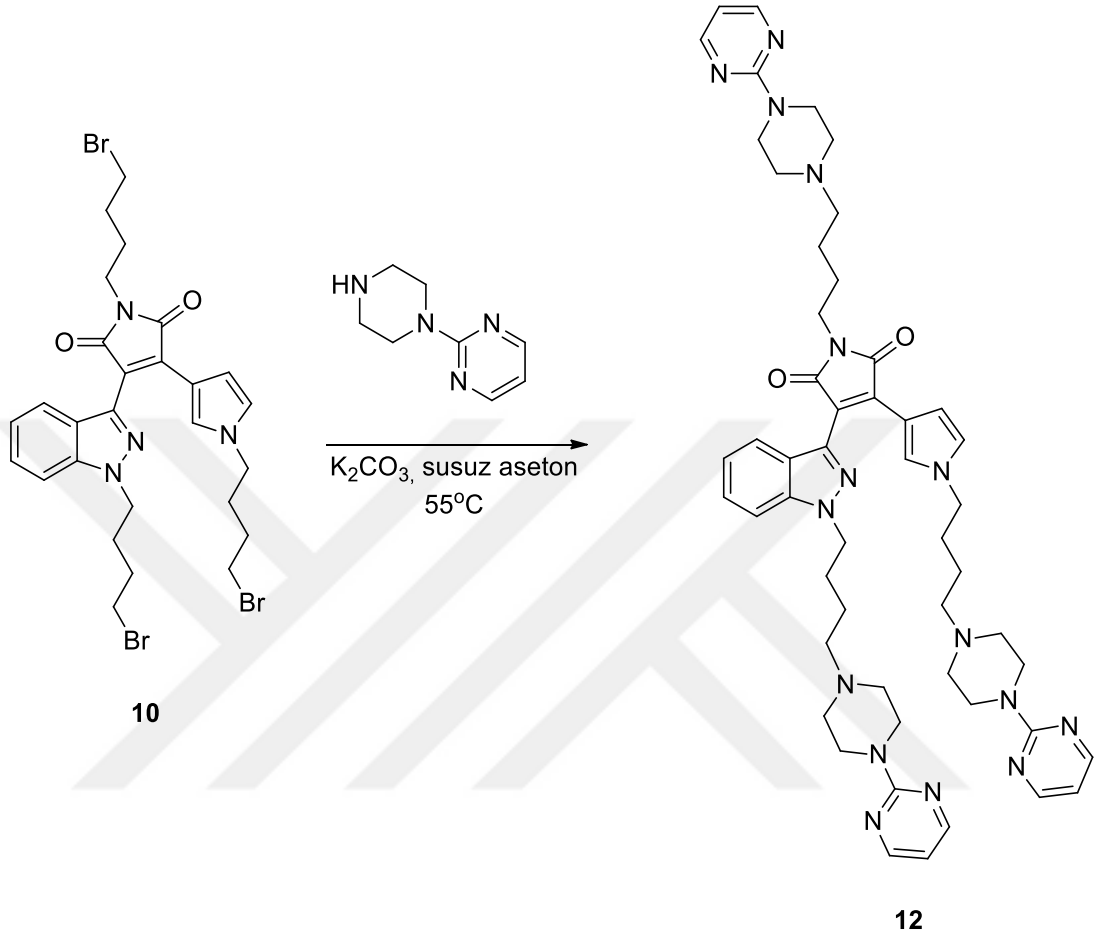


Şekil 4.37 Bileşik 11'in APT Spektrumu (CDCl₃)



Şekil 4.38 Bileşik 11'in LC-MS (Q-TOF) Spektrumu

4.13 1,1'-Bis(4-(4-(pirimidin-2-il)piperazin-1-il)bütül)-4-(1-(4-(4-(pirimidin-2-il)piperazin-1-il)bütül)-1*H*-indazol-3-il)-1*H*,1'*H*-[3,3'-bipiröl]-2,5-dion Bileşğinin Sentezi (Bileşik 12, C₅₁H₆₄N₁₆O₂)



0.1 mmol (68 mg) Bileşik **10** tartılarak reaksiyon balonuna alındı ve azot atmosferi altında 2 mL susuz aseton içerisinde çözünmesi sağlandı. Üzerine 0.9 mmol K₂CO₃ (124 mg) ve 0.3 mmol 1-(2-pirimidil)piperazin (50 mg) ilave edildi. 55°C'de bir gece boyunca karışması sağlandı. TLC (10:1 diklorometan/metanol) kontrolü sonucunda başlangıç maddelerinin tükendiği gözlemlendi ve reaksiyon sonlandırıldı. Etil asetat içerisinde çözülerek tuzlu su ile ekstrakte edildi. Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücüsü uçuruldu. Ham ürün 10:1 diklorometan/metanol sisteminden kolon kromatografisi uygulanarak saflaştırıldı.

Turuncu yağmsı madde; R_f= 0.35 (10:1 diklorometan/metanol); verim= %35.

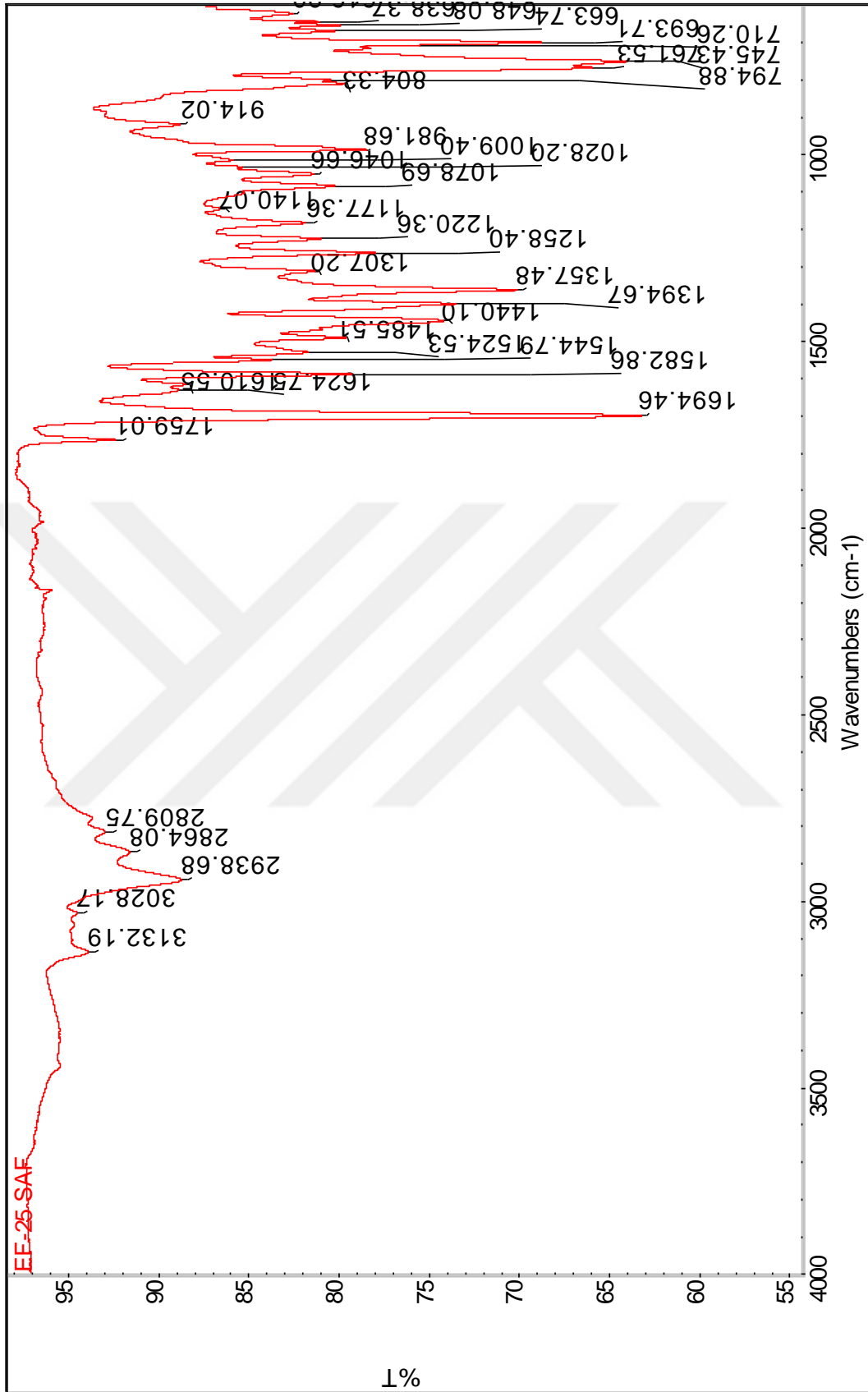
4.13.1 Bileşik 12'nin Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): ν = 3132 ve 3028 (aromatik, =C-H gerilimleri), 2938, 2864 ve 2809 (alifatik, C-H gerilimleri), 1694 (C=O gerilimi), 1544 (aromatik, C=C gerilimi), 1440 ve 1394 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1258 (C-N salınımı), 1028 (C-O gerilimi) cm^{-1} .

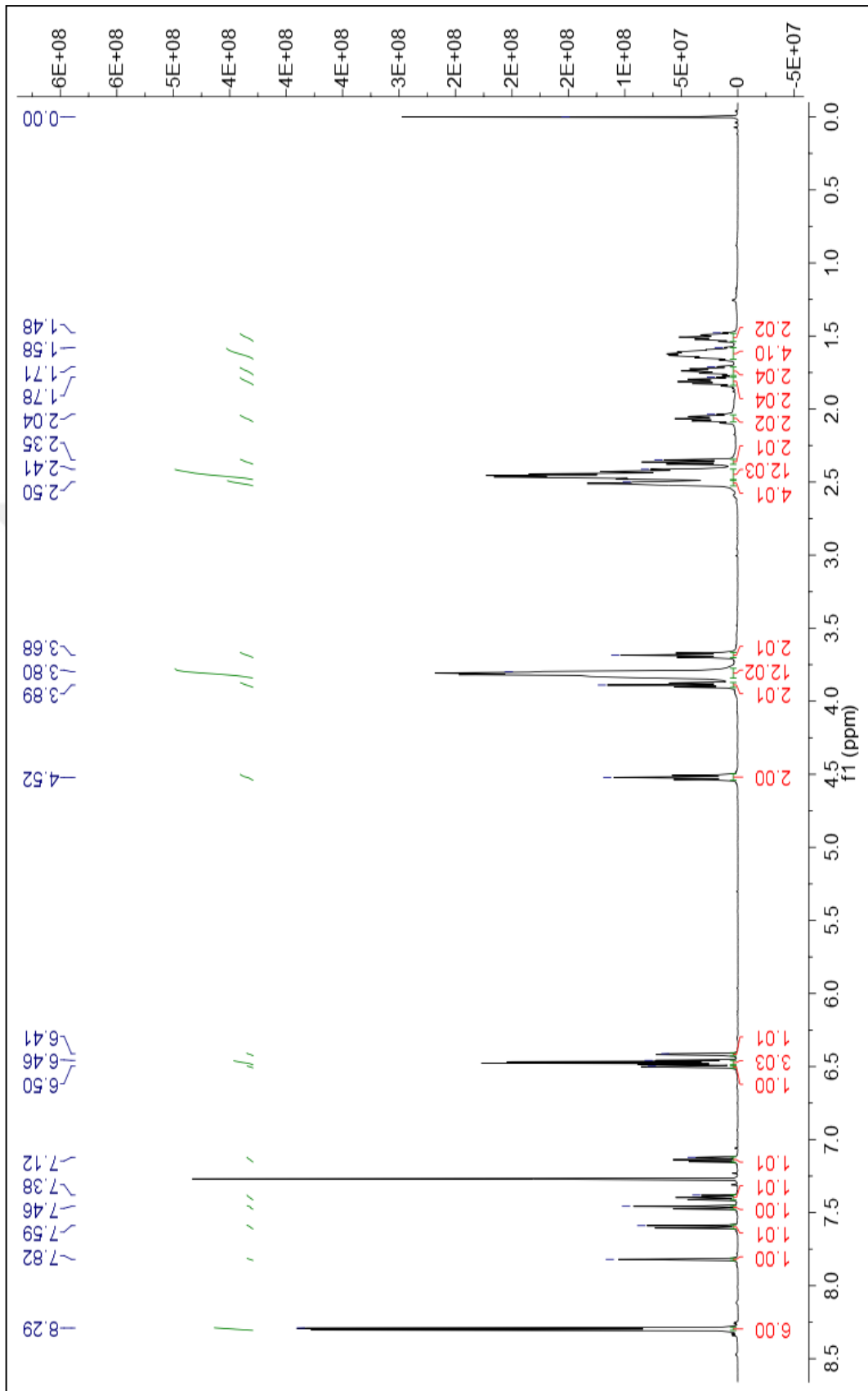
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 1.48 (pent, J = 7.5 Hz, 2H, CH_2), 1.58-1.67 (m, 4H, CH_2), 1.71 (pent, J = 7.2 Hz, 2H, CH_2), 1.78 (pent, J = 7.2 Hz, 2H, CH_2), 2.04 (pent, J = 7.5 Hz, 2H, CH_2), 2.36 (t, J = 7.5 Hz, 2H, CH_2), 2.41-2.47 (m, 12H, $N\text{-CH}_2\text{-pip}$), 2.51-2.52 (m, 4H, $N\text{-CH}_2$), 3.68 (t, J = 7.0 Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 3.80-3.83 (m, 12H, $N\text{-CH}_2\text{-pip}$), 3.89 (t, J = 7.0 Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 4.52 (t, J = 7.0 Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 6.41-6.42 (m, 1H, HAr), 6.45-6.48 (m, 3H, HAr), 6.49-6.51 (m, 1H, HAr), 7.12 (t, J = 7.5 Hz, 1H, HAr), 7.38 (t, J = 7.5 Hz, 1H, HAr), 7.47 (d, J = 8.5 Hz, 1H, HAr), 7.59 (d, J = 8.2 Hz, 1H, HAr), 7.82 (bt, 1H, HAr), 8.29 (dt, J = 0.9 Hz, 6H, HAr) ppm.

APT (125 MHz, CDCl_3): δ = 23.9 (CH_2), 24.0 (CH_2), 24.1 (CH_2), 26.7 (CH_2), 27.9 (CH_2), 29.1 (CH_2), 37.9 ($N\text{-CH}_2$), 43.6 ($6\times N\text{-CH}_2$), 49.2 ($N\text{-CH}_2$), 49.9 ($N\text{-CH}_2$), 53.1 ($6\times N\text{-CH}_2$), 57.9 ($N\text{-CH}_2$), 58.0 ($N\text{-CH}_2$), 58.2 ($N\text{-CH}_2$), 109.2 (CAr), 109.7 (CAr), 109.8 (CAr), 110.4 (CAr), 113.2 (Cq), 120.2 (Cq), 121.0 (CAr), 121.7 (CAr), 122.4 (CAr), 123.3 (Cq), 126.4 (CAr), 126.5 (CAr), 134.5 (Cq), 134.7 (Cq), 140.3 (Cq), 157.7 ($9\times \text{CAr}$), 161.6 (Cq), 171.5 (C=O), 171.9 (C=O) ppm.

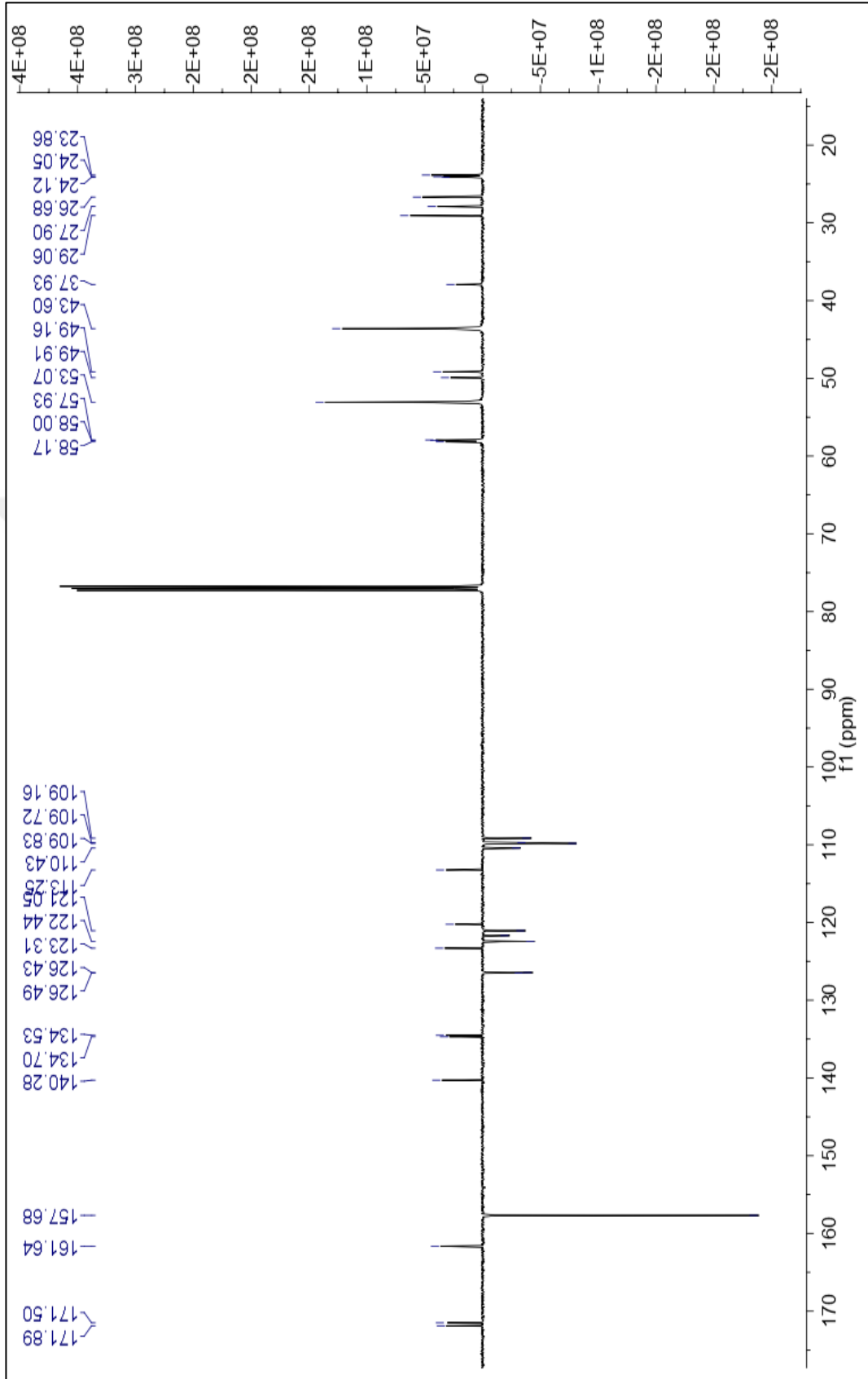
LC-MS (ESI-QTOF): m/z = Hesaplanan: $[\text{C}_{51}\text{H}_{64}\text{N}_{16}\text{O}_2]$, 933.5432, bulunan 933.5438 ($[\text{C}_{51}\text{H}_{64}\text{N}_{16}\text{O}_2]+\text{H}$)⁺.



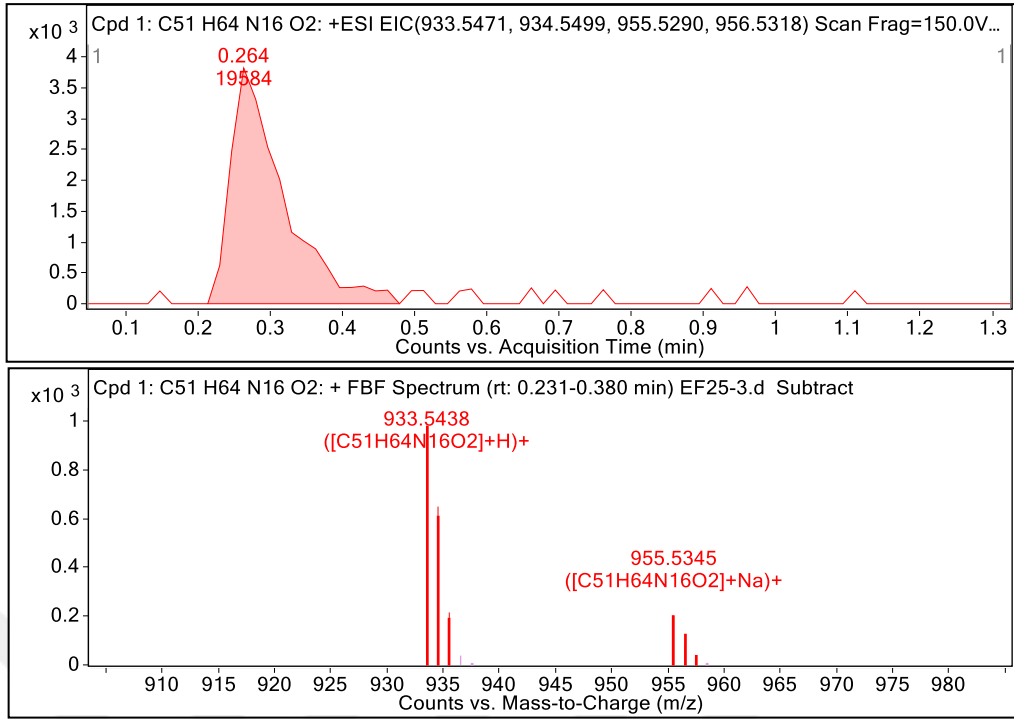
Şekil 4.39 Bileşik 12'nin FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 4.40 Bileşik **12**'nin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3)

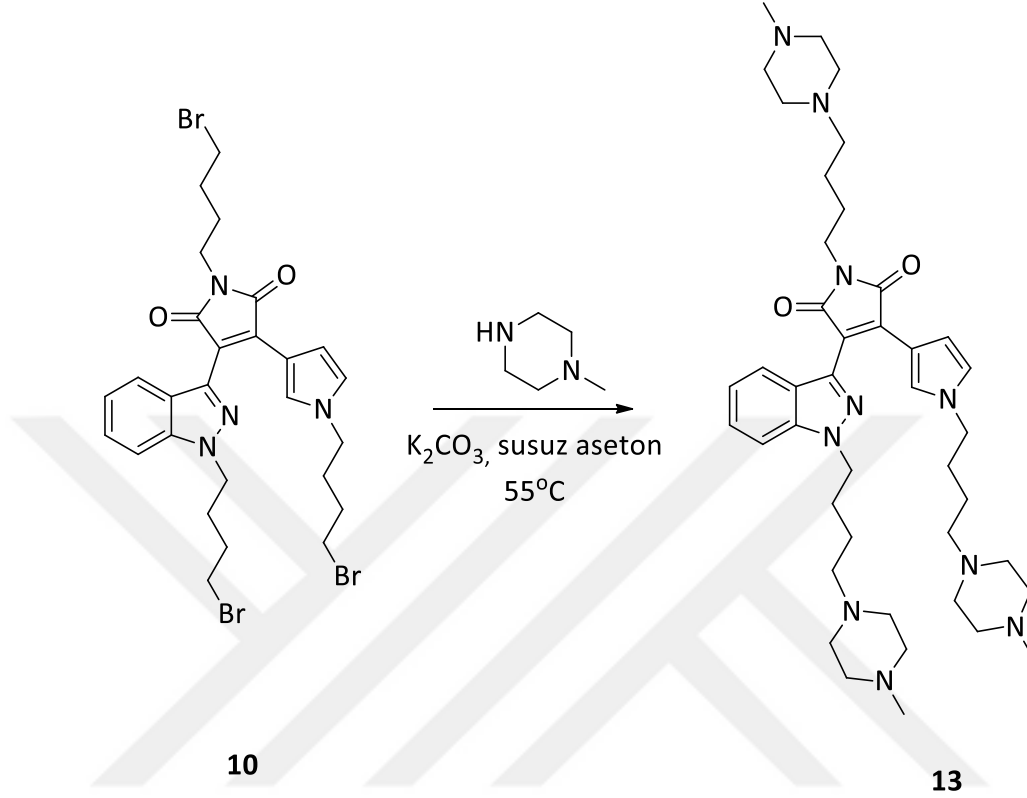


Şekil 4.41 Bileşik 12'nin APT spektrumu (CDCl₃)



Şekil 4.42 Bileşik 12'nin LC-MS (Q-TOF) spektrumu

4.14 1-(4-(4-Metilpiperazin-1-il)bütül)-3-(1-(4-(4-metilpiperazin-1-il)bütül)-1*H*-indazol-3-il)-4-(1-(4-(4-metilpiperazin-1-il)bütül)-1*H*-pirol-3-il)-1*H*-pirol-2,5-dion Bileşğinin Sentezi (Bileşik 13, C₄₂H₆₄N₁₀O₂)



0.1 mmol Bileşik **10** (68 mg) tartılarak reaksiyon balonuna alındı ve azot atmosferi altında 2 mL susuz aseton içerisinde çözünmesi sağlandı. Üzerine 0.9 mmol kızdırılmış K₂CO₃ (124 mg) ve 0.3 mmol *N*-metilpiperazin (29 mg) ilave edildi. 55°C'de bir gece boyunca refluks edildi. TLC (10:1 Diklorometan/metanol) kontrolü sonucunda başlangıç maddelerinin tükendiği gözlemlendi ve reaksiyon sonlandırıldı. Etil asetat içerisinde çözülerek tuzlu su ile ekstrakte edildi. Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücüsü vakumda uçuruldu. Ham ürün 30:1 diklorometan/metanol sisteminde kolon kromatografisi (alumina) uygulanarak saflaştırıldı.

Turuncu yağmsı madde; R_f= 0.64 (30:1 Diklorometan/metanol); verim= %31.

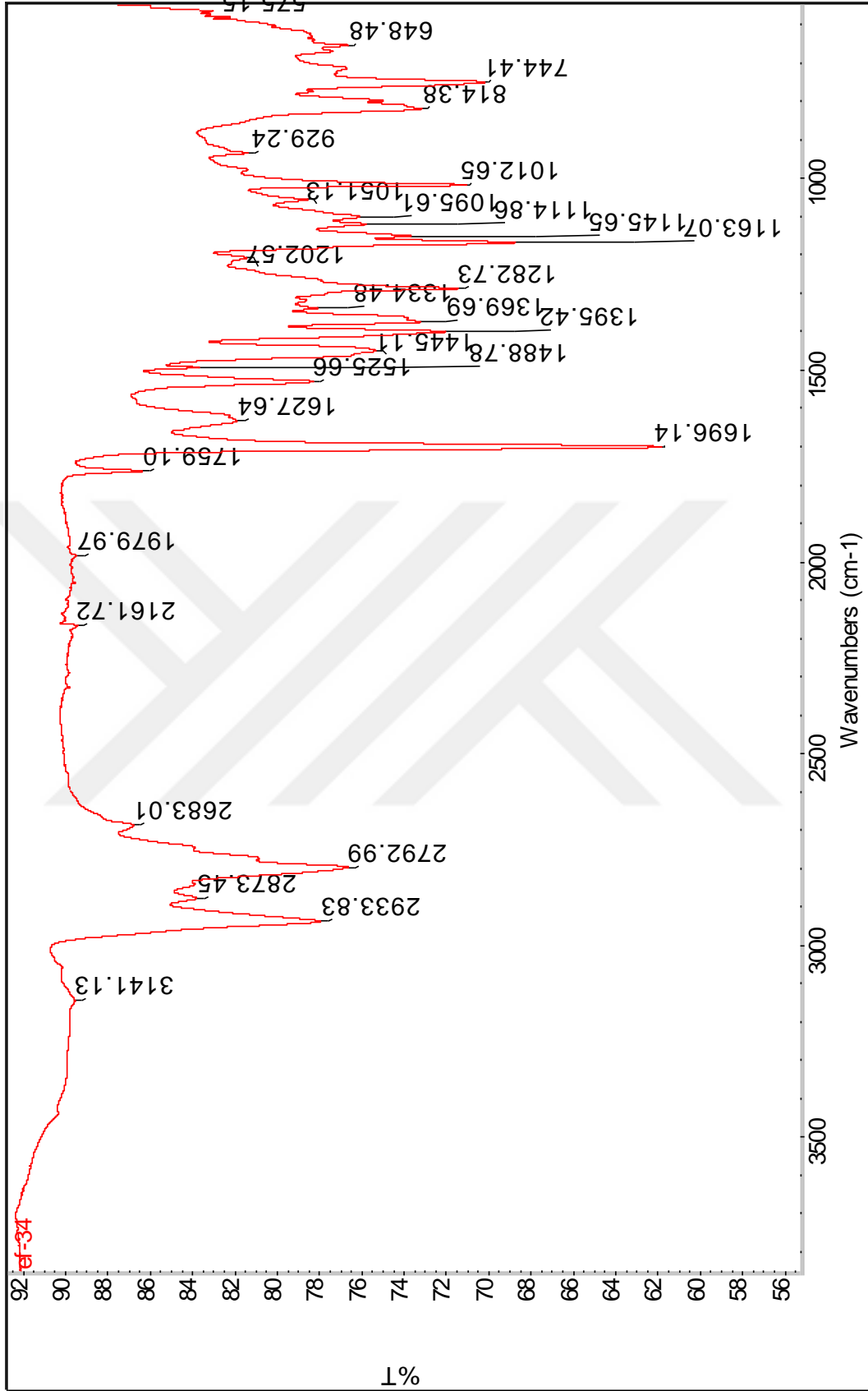
4.14.1 Bileşik 13'ün Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): ν = 3141 (aromatik =C-H gerilimi), 2933, 2873 ve 2792 (Alifatik C-H gerilimleri), 1696 (C=O gerilimi), 1525 (aromatik, C=C gerilimi), 1445, 1395 ve 1369 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1282 (C-N salınımı), 1012 (C-O gerilimi) cm^{-1} .

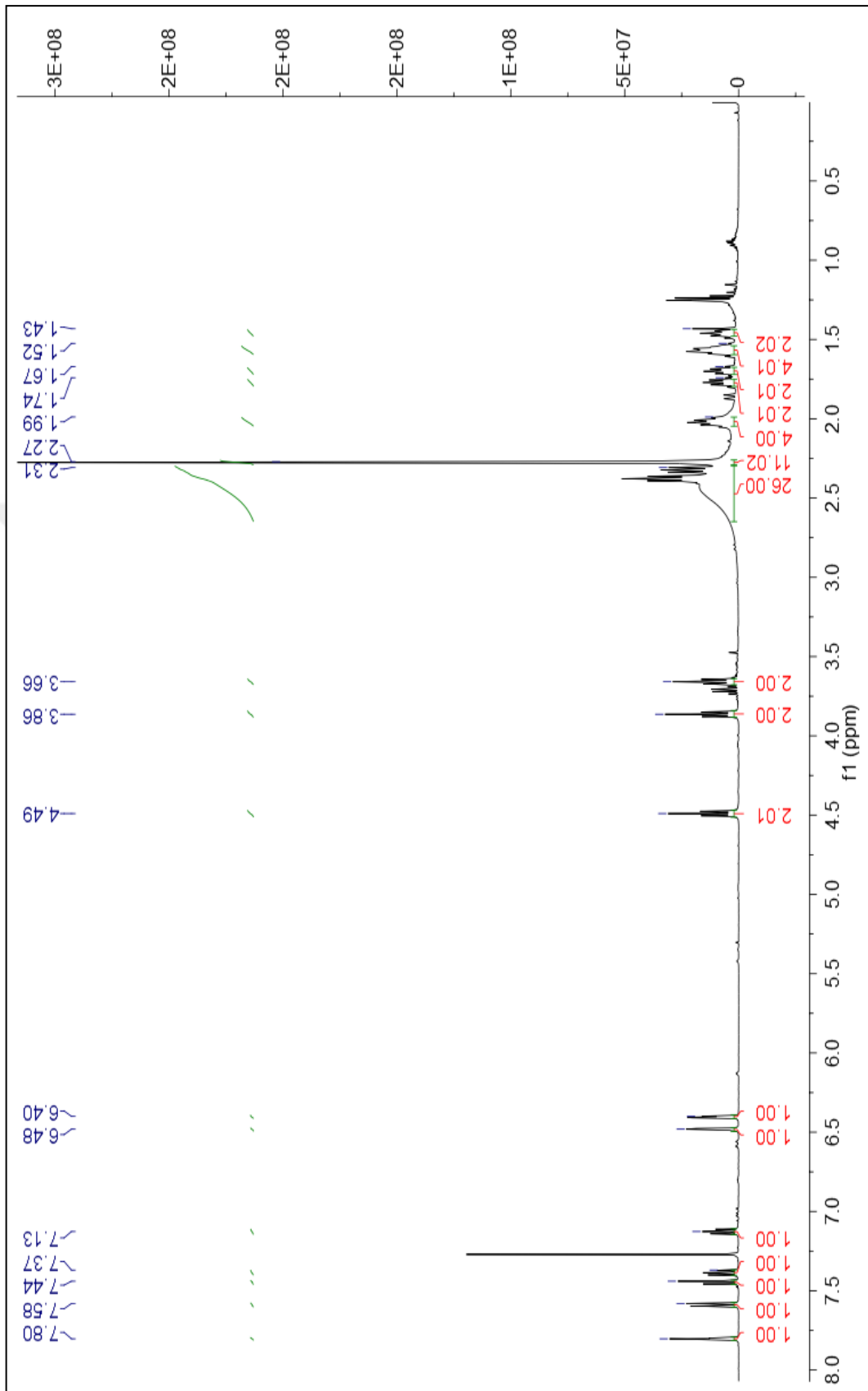
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 1.43-1.49 (m, 2H, CH_2), 1.52-1.60 (m, 4H, CH_2), 1.67 (pent, J = 7.6 Hz, 2H, CH_2), 1.74 (pent, J = 7.2 Hz, 2H, CH_2), 1.99-2.05 (m, 4H, CH_2), 2.27-2.28 (m, 11H, CH_2 ve $3\times\text{CH}_3$), 2.30-2.64 (m, 26H, CH_2), 3.66 (t, J = 7.2 Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 3.86 (t, J = 6.9 Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 4.49 (t, J = 7.2 Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 6.40 (dd, J = 1.6; 2.8 Hz, 1H, ArH), 6.48 (t, J = 2.5 Hz, 1H, ArH), 7.13 (t, J = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.37-7.40 (m, 1H, ArH), 7.44-7.46 (m, 1H, ArH), 7.58 (d, J = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.80 (t, J = 1.9 Hz, 1H, ArH) ppm.

APT (125 MHz, CDCl_3): δ = 23.9 (CH_2), 24.2 (CH_2), 24.3 (CH_2), 26.7 (CH_2), 28.0 (CH_2), 29.1 (CH_2), 38.0 ($N\text{-CH}_2$), 46.0 (CH_3), 46.1 ($2\times\text{CH}_3$), 49.2 ($N\text{-CH}_2$), 49.9 ($N\text{-CH}_2$), 53.2 ($6\times N\text{-CH}_2$), 55.1 ($6\times N\text{-CH}_2$), 57.8 ($N\text{-CH}_2$), 57.9 ($N\text{-CH}_2$), 58.1 ($N\text{-CH}_2$), 109.2 (CAr), 110.4 (CAr), 113.2 (Cq), 120.2 (Cq), 121.0 (CAr), 121.6 (CAr), 122.4 (CAr), 123.3 (Cq), 126.4 (CAr), 126.5 (CAr), 134.5 (Cq), 134.7 (Cq), 140.3 (Cq), 171.5 (C=O), 171.9 (C=O) ppm.

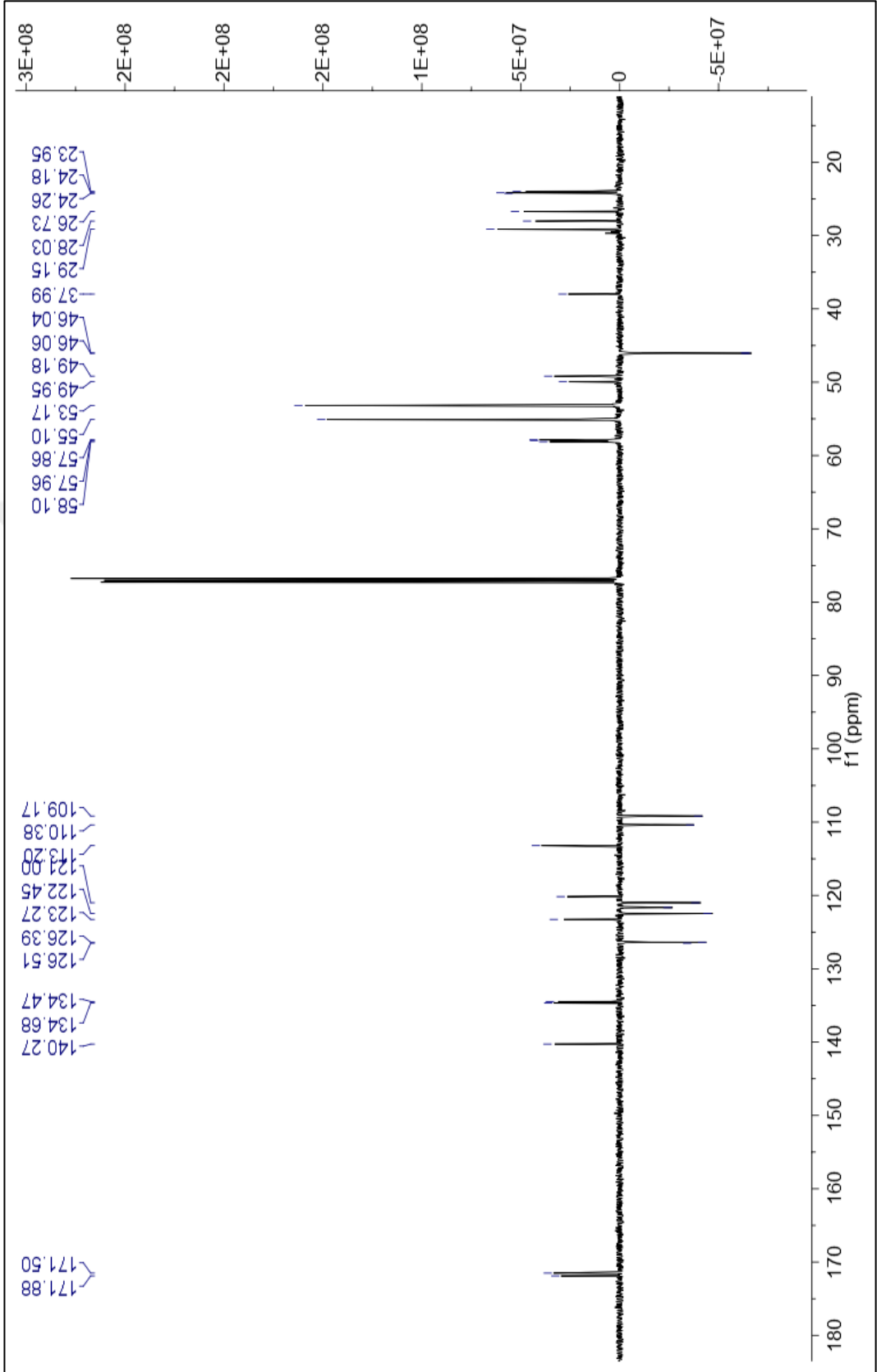
LC-MS (ESI-QTOF): m/z : Hesaplanan: $[\text{C}_{42}\text{H}_{64}\text{N}_{10}\text{O}_2]$: 740.5214, bulunan 741.5257 ($[\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{N}_{13}\text{O}_2]+\text{H}$)⁺.



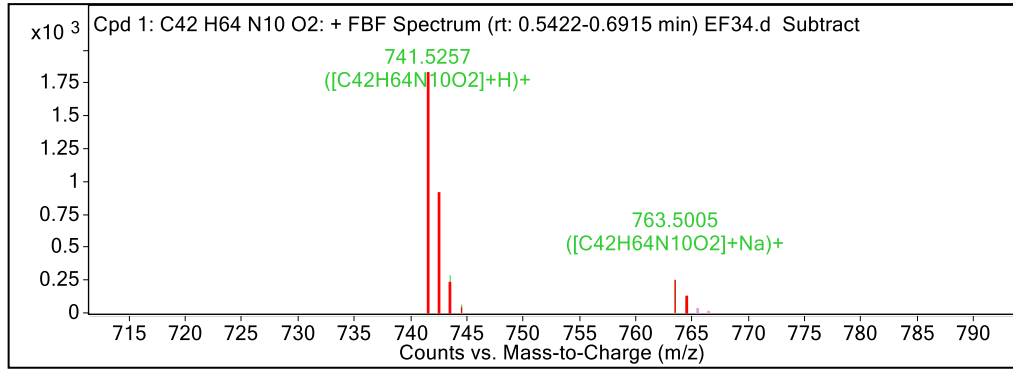
Şekil 4.43 Bileşik 13'ün FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 4.44 Bileşik **13**'ün ^1H NMR spektrumu (CDCl_3)

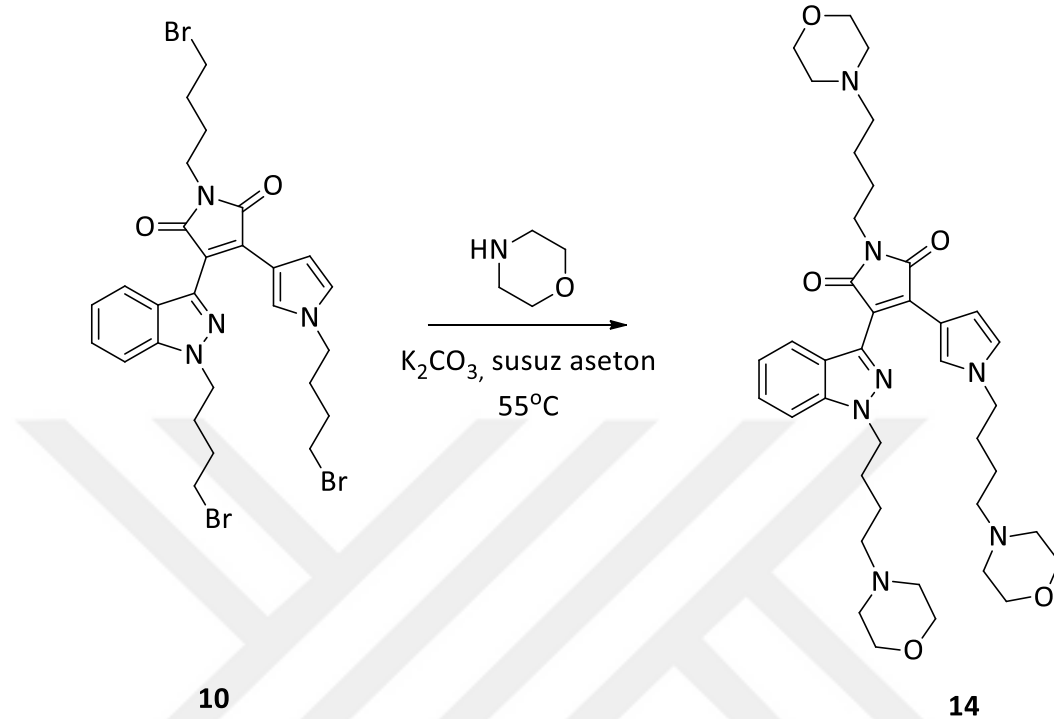


Şekil 4.45 Bileşik **13**'ün APT spektrumu (CDCl₃)



Şekil 4.46 Bileşik 13'ün LC-MS (Q-TOF) spektrumu

4.15 1-(4-Morfolinobütil)-3-(1-(4-morfolinobütil)-1*H*-indazol-3-il)-4-(1-(4-morfolinobütil)-1*H*-pirol-3-il)-1*H*-pirol-2,5-dion Bileşğinin Sentezi (Bileşik 14, C₃₉H₅₅N₇O₅)



0.063 mmol (43 mg) Bileşik **10** tartılarak reaksiyon balonuna alındı ve azot atmosferi altında 2 mL susuz aseton içerisinde çözünmesi sağlandı. Üzerine 0.63 mmol kızdırılmış K₂CO₃ (87 mg) ve 0.19 mmol morfolin (17 mg) ilave edildi. 55°C'de bir gece boyunca refluks edildi. TLC (10:1 diklorometan/metanol) kontrolü sonucunda başlangıç maddelerinin tükendiği gözlemlendi ve reaksiyon sonlandırıldı. Etil asetat içerisinde çözülerek tuzlu su ile ekstrakte edildi. Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücüsü uçuruldu. Ham ürün 10:1 diklorometan/metanol sisteminde kolon kromatografisi uygulanarak saflaştırıldı.

Turuncu yağmsı madde; R_f= 0.4 (10:1 diklorometan/metanol); verim= %90.

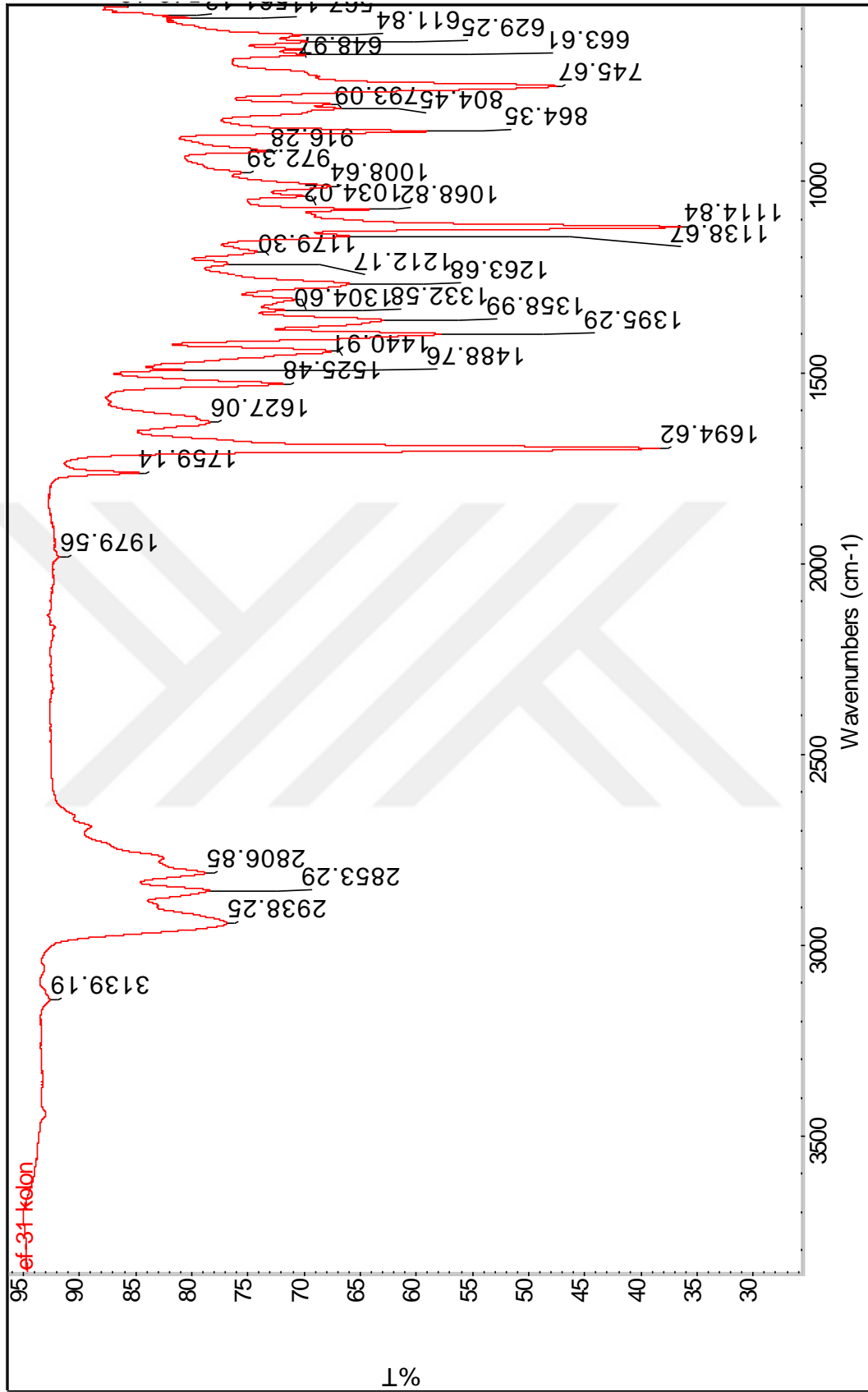
4.15.1 Bileşik 14'ün Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): $\nu = 3139$ (aromatik C-H gerilimi), 2938, 2853 ve 2806 (alifatik, C-H gerilimleri), 1694 (C=O gerilimi), 1525 (aromatik, C=C gerilimi), 1440, 1395 ve 1358 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1263 (C-N salınımı), 1114 (C-O gerilimi) cm^{-1} .

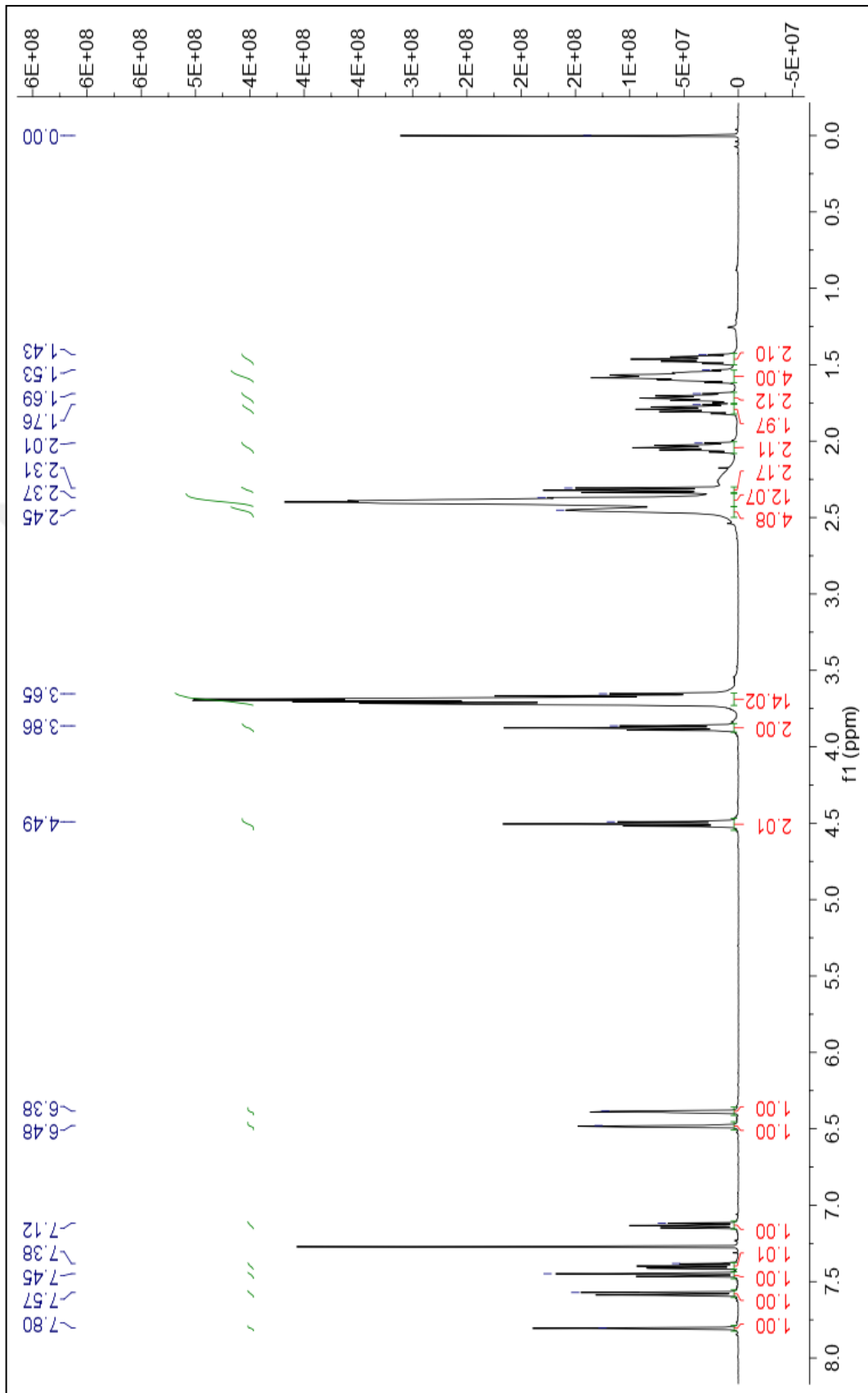
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.43$ (pent, $J = 7.6$ Hz, 2H, CH_2), 1.53-1.61 (m, 4H, CH_2), 1.69 (pent, $J = 7.2$ Hz, 2H, CH_2), 1.76 (pent, $J = 6.9$ Hz, 2H, CH_2), 2.00 (pent, $J = 7.6$ Hz, 2H, CH_2), 2.30 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 2.36-2.40 (m, 12H, $N\text{-CH}_2$), 2.45 (brds, 4H, CH_2), 3.65-3.72 (m, 14H, $6x\text{O-CH}_2$ ve $N\text{-CH}_2$), 3.86 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 4.49 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 6.38 (dd, $J = 1.6; 2.8$ Hz, 1H, Ar-H), 6.47 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H, Ar-H), 7.11 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H, Ar-H), 7.38-7.41 (m, 1H, Ar-H), 7.44-7.46 (m, 1H, Ar-H), 7.57 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, Ar-H), 7.80 (t, $J = 1.9$ Hz, 1H, Ar-H) ppm.

APT (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 23.5$ (CH_2), 23.7 (CH_2), 23.8 (CH_2), 26.6 (CH_2), 27.8 (CH_2), 29.0 (CH_2), 37.9 ($N\text{-CH}_2$), 49.1 ($N\text{-CH}_2$), 49.9 ($N\text{-CH}_2$), 53.6 ($6xN\text{-CH}_2$), 58.2 ($N\text{-CH}_2$), 58.3 ($N\text{-CH}_2$), 58.4 ($N\text{-CH}_2$), 66.9 ($6x\text{O-CH}_2$), 109.2 (CAr), 110.4 (CAr), 113.2 (Cq), 120.2 (Cq), 121.0 (CAr), 121.6 (CAr), 122.4 (CAr), 123.3 (Cq), 126.4 (CAr), 126.5 (CAr), 134.5 (Cq), 134.7 (Cq), 140.3 (Cq), 171.5 (C=O), 171.8 (C=O) ppm.

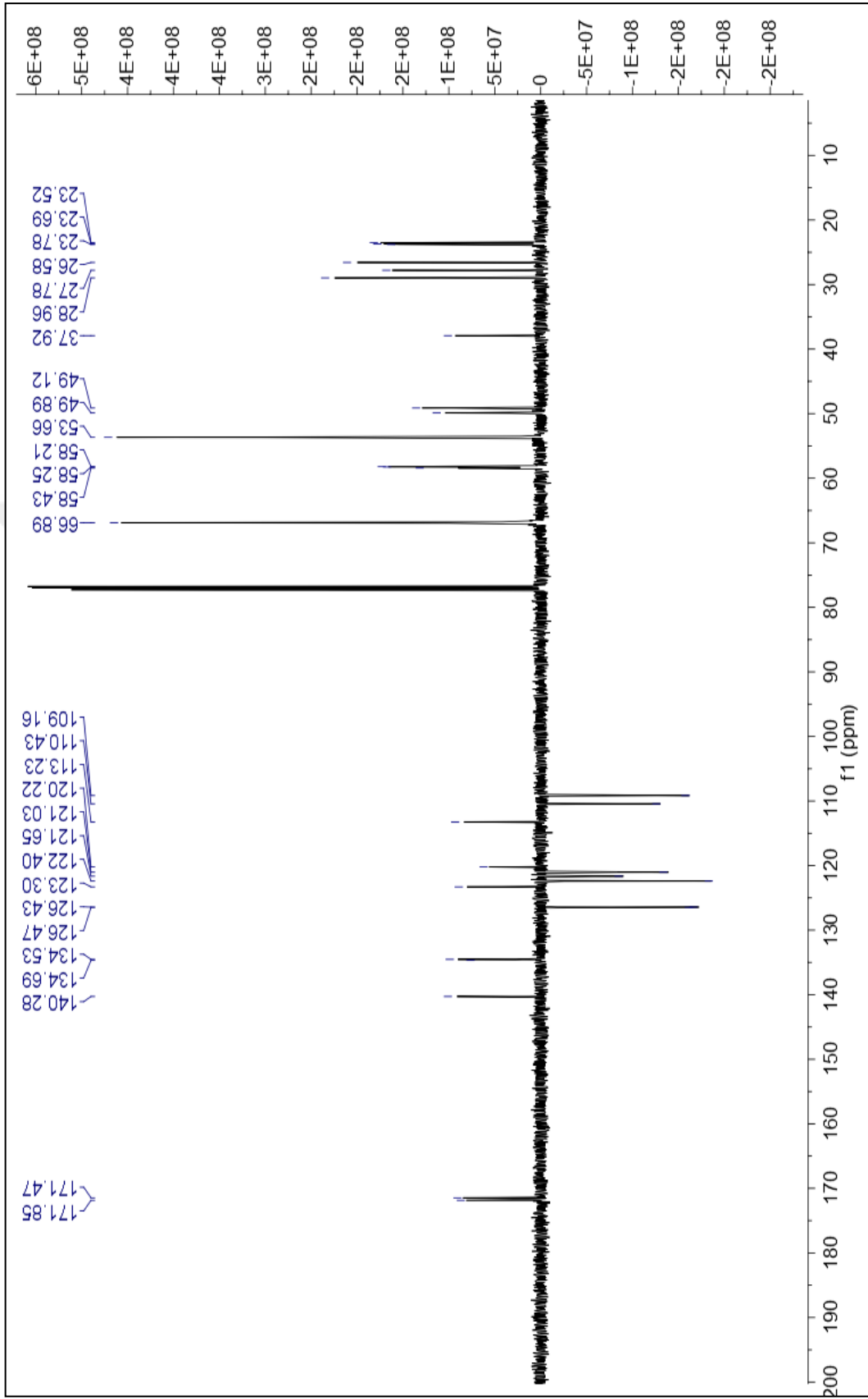
LC-MS (ESI-QTOF): m/z : Hesaplanan: $[\text{C}_{39}\text{H}_{55}\text{N}_7\text{O}_5]$: 701.4265, bulunan 702.4329 ($[\text{C}_{39}\text{H}_{55}\text{N}_7\text{O}_5+\text{H}]^+$).



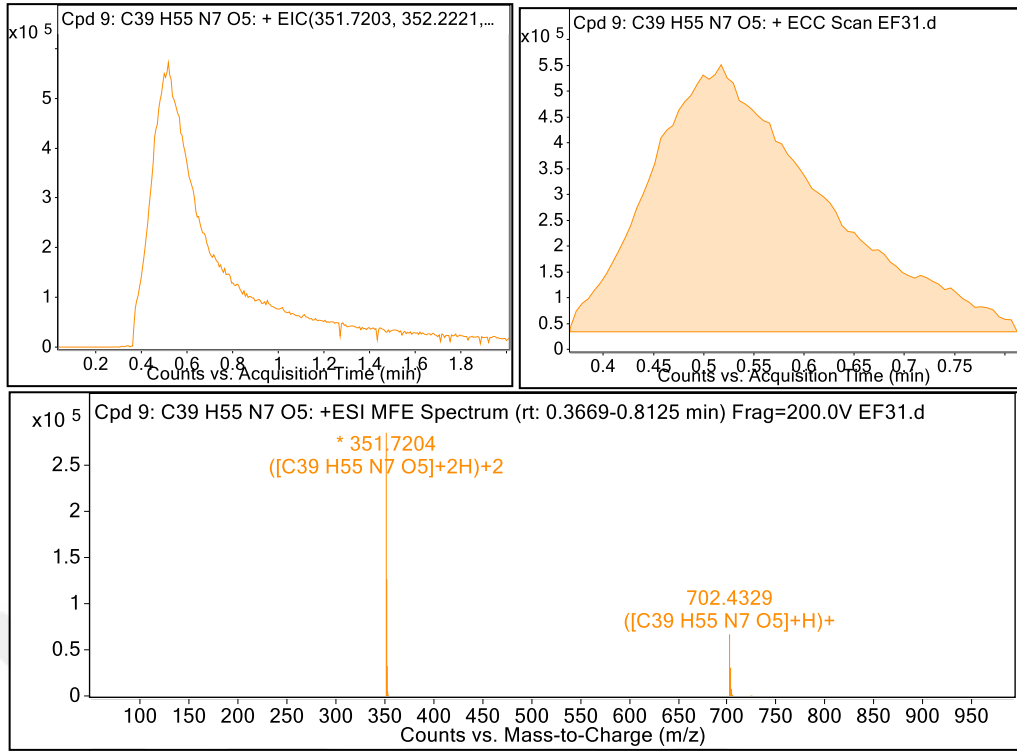
Şekil 4.47 Bileşik 14'ün FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 4.48 Bileşik **14**'ün ^1H NMR spektrumu (CDCl_3)

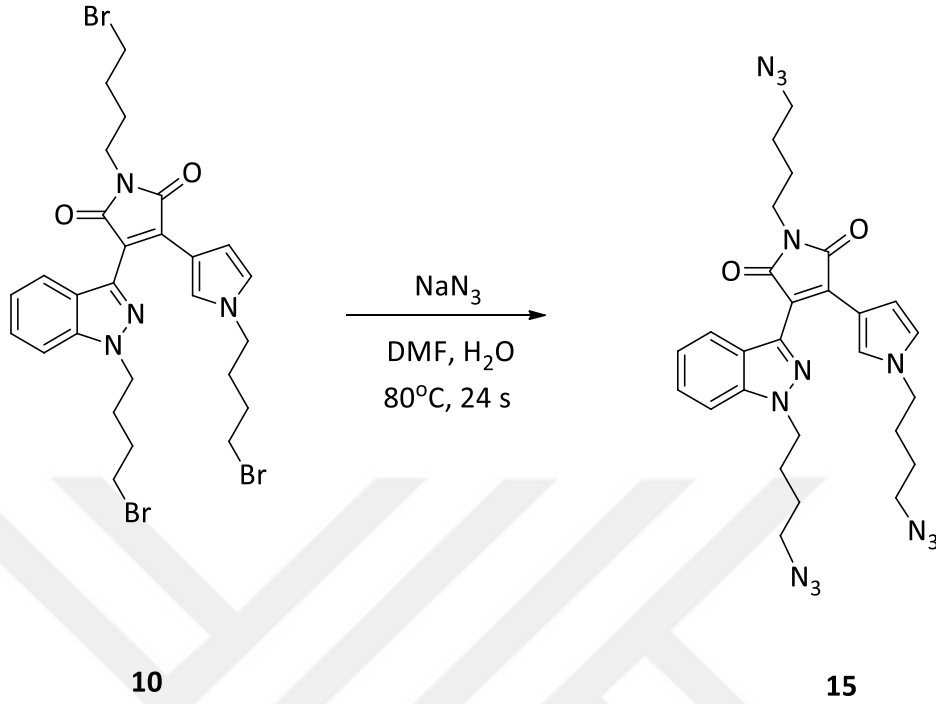


Şekil 4.49 Bileşik 14'ün APT spektrumu (CDCl₃)



Şekil 4.50 Bileşik 14'ün LC-MS (QTOF) spektrumu

4.16 1-(4-Azidobütil)-3-(1-(4-azidobütil)-1*H*-indazol-3-il)-4-(1-(4-azidobütil)-1*H*-pirol-3-il)-1*H*-pirol-2,5-dion Bileşiğinin Sentezi (Bileşik 15, C₂₇H₃₁N₁₃O₂)



0.3 mmol (200 mg) Bileşik **10**, 4 mL DMF'te çözülerek reaksiyon balonuna alındı. 2.26 mmol (147 mg) NaN₃, 0.4 mL destile su içerisinde çözüldü ve reaksiyon balonuna ilave edildi. Reaksiyon 80°C'de 20 saat karıştırıldı. TLC (1:1 etil asetat/*n*-hekzan) sonucuna göre başlangıç maddesinin bittiği gözlemlendi. Soğuduktan sonra buzlu suya dökülerek eter-tuzlu su ile ekstrakte edildi. Organik faz Na₂SO₄ ile kurutuldu, süzüldü, çözücüsü vakumda uçuruldu. Sarı yağimsı madde elde edildi.

Sarı yağimsı madde; R_f= 0.65 (1:1 Etil asetat/*n*-hekzan); verim= %89.

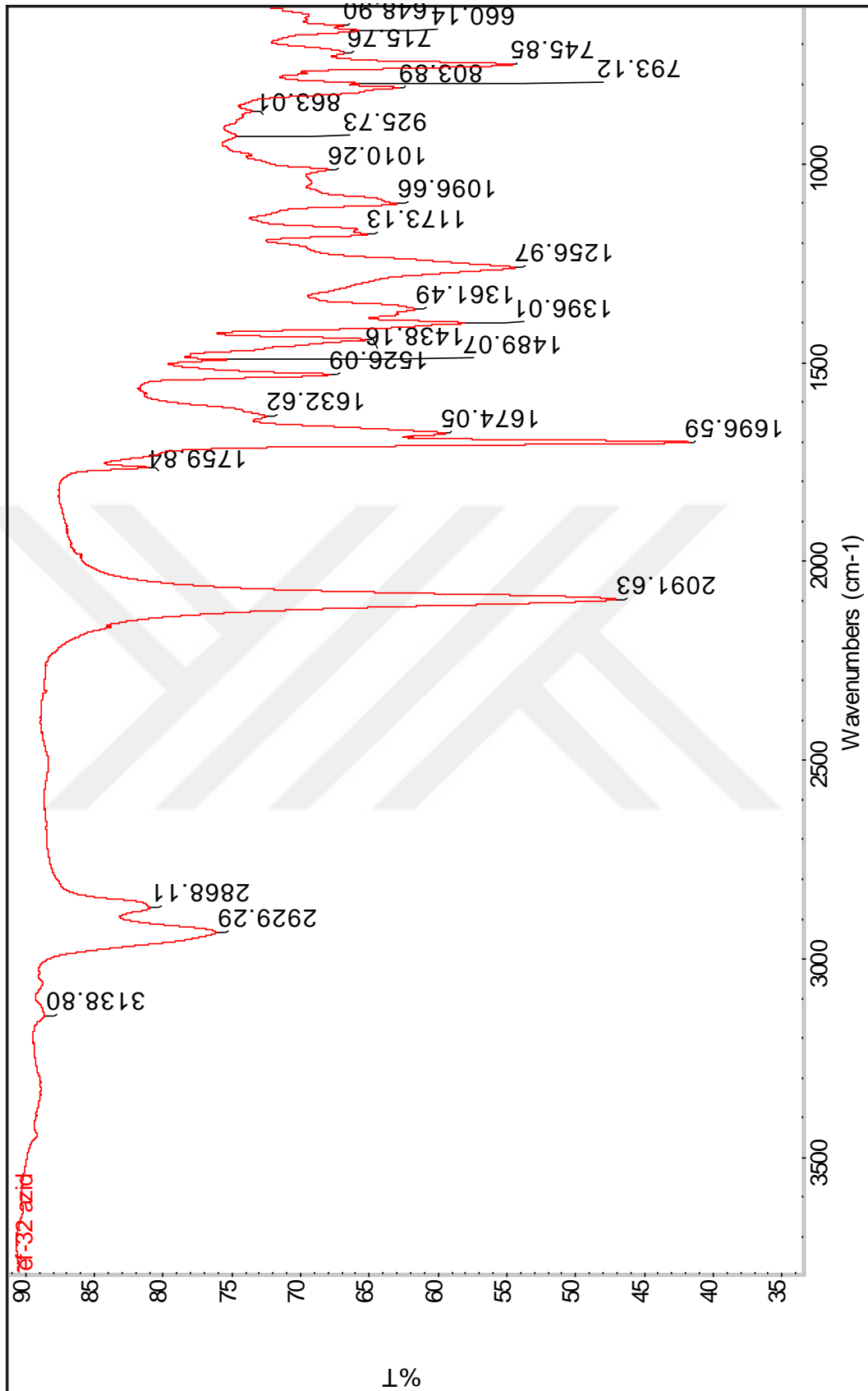
4.16.1 Bileşik 15'in Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): ν = 3138 (aromatik, =C-H gerilimi), 2929 ve 2868 (alifatik, C-H gerilimleri), 2091 (N≡N gerilimi), 1696 ve 1674 (C=O gerilimleri), 1526 ve 1489 (aromatik, C=C gerilimi), 1396 ve 1361 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1256 (C-N salınımı), 1096 (C-O gerilimi) cm^{-1} .

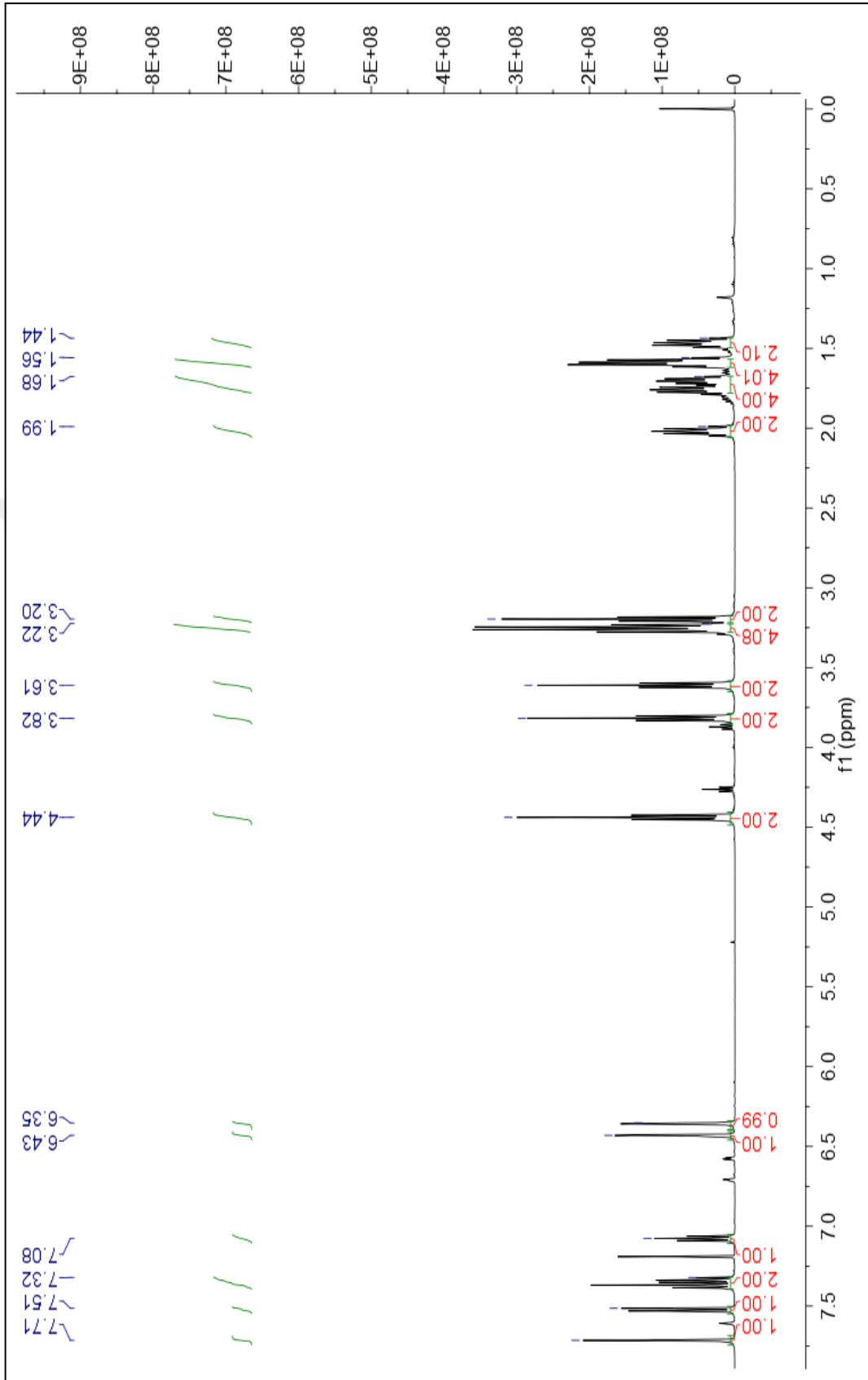
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 1.44-1.49 (m, 2H, CH₂), 1.56-1.61 (m, 4H, CH₂), 1.68-1.77 (m, 4H, CH₂), 1.99 (pent, J = 7.2 Hz, 2H, CH₂), 3.19 (t, J = 6.6 Hz, 2H, N-CH₂), 3.22-3.28 (m, 4H, N-CH₂), 3.61 (t, J = 6.9 Hz, 2H, N-CH₂), 3.82 (t, J = 6.9 Hz, 2H, N-CH₂), 4.44 (t, J = 6.9 Hz, 2H, N-CH₂), 6.35 (dd, J = 1.9; 3.1 Hz, 1H, Ar-H), 6.43 (t, J = 2.5 Hz, 1H, Ar-H), 7.08 (t, J = 6.6 Hz, 1H, Ar-H), 7.32-7.39 (m, 2H, Ar-H), 7.51 (d, J = 8.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.71 (t, J = 1.9 Hz, 1H, Ar-H) ppm.

APT (125 MHz, CDCl₃): δ = 25.9 (CH₂), 26.0 (CH₂), 26.2 (CH₂), 26.3 (CH₂), 27.2 (CH₂), 28.3 (CH₂), 37.4 (N-CH₂), 48.6 (N-CH₂), 49.5 (N-CH₂), 50.8 (N-CH₂), 50.9 (N-CH₂), 51.0 (N-CH₂), 109.1 (CAr), 110.6 (CAr), 113.3 (Cq), 120.3 (Cq), 121.2 (CAr), 121.7 (CAr), 122.4 (CAr), 123.3 (Cq), 126.5 (CAr), 126.7 (CAr), 134.5 (Cq), 134.8 (Cq), 140.3 (Cq), 171.4 (C=O), 171.8 (C=O) ppm.

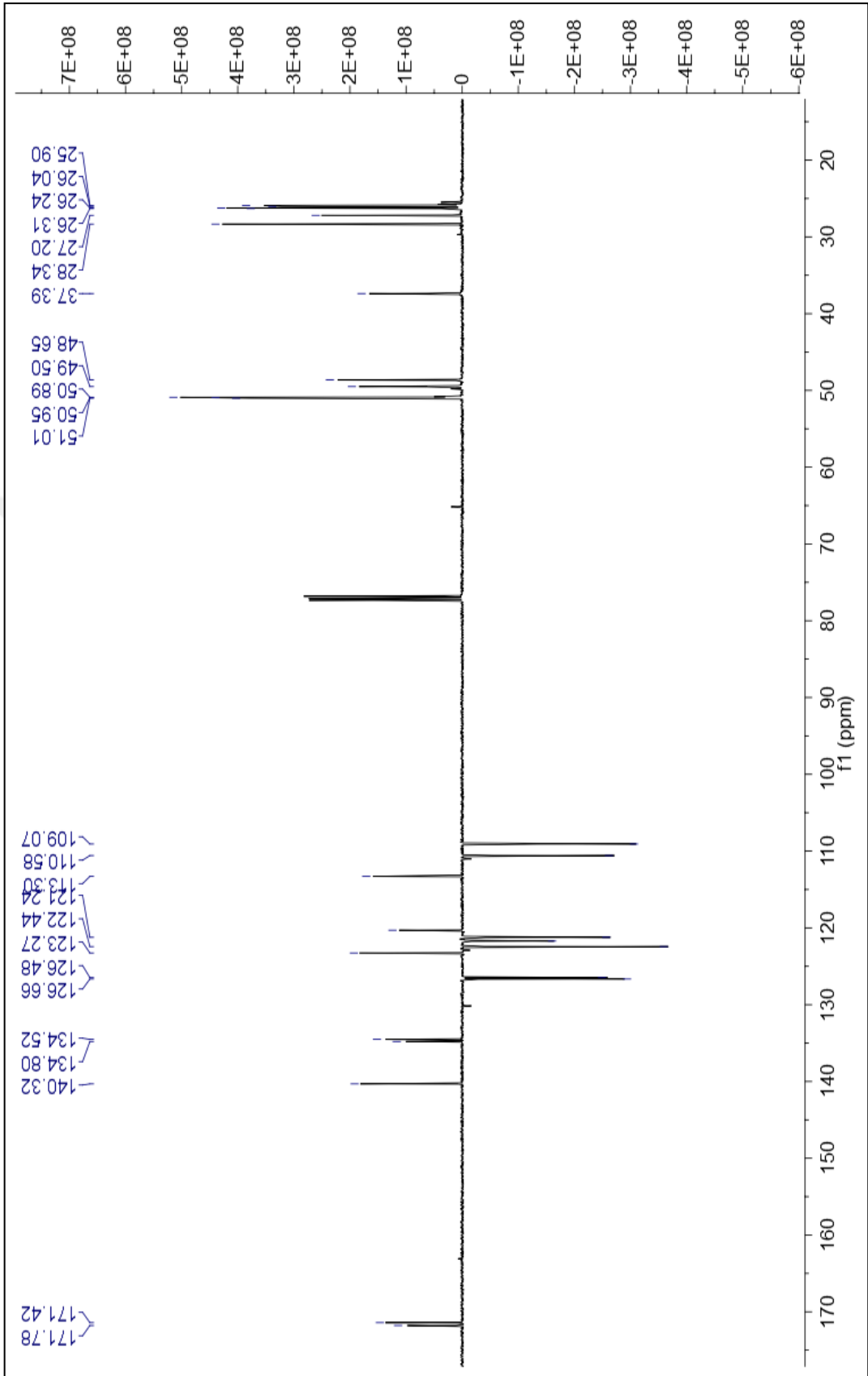
LC-MS (ESI-QTOF): m/z = Hesaplanan: [C₂₇H₃₁N₁₃O₂]: 569.2724, bulunan 570.2787 ([C₂₇H₃₁N₁₃O₂]+H)⁺.



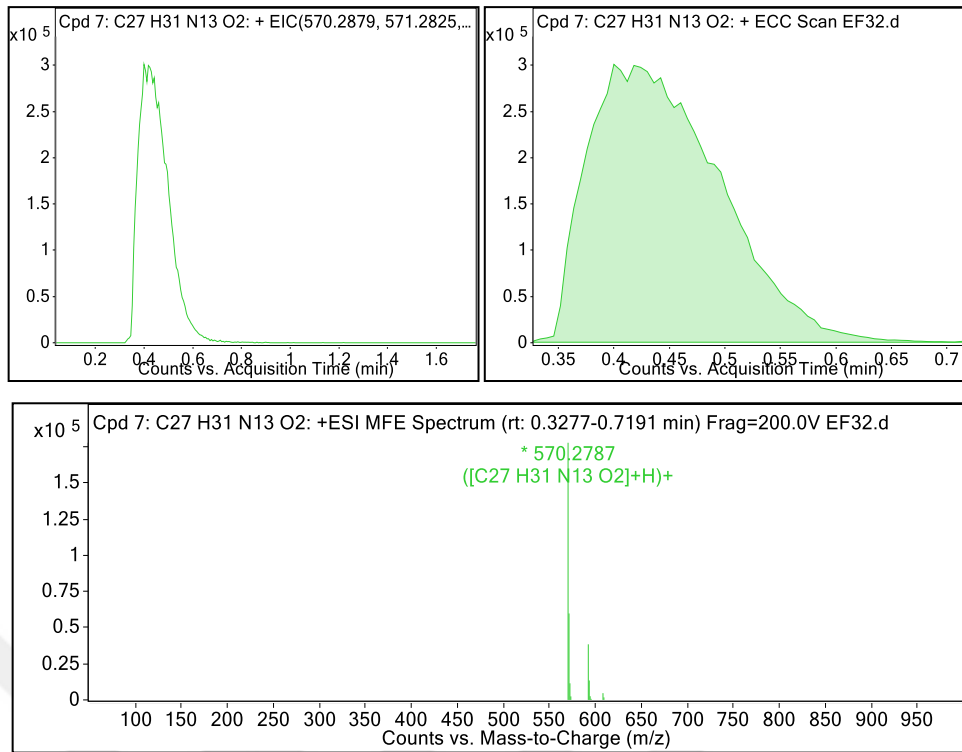
Şekil 4.51 Bileşik 15'in FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 4.52 Bileşik **15**'in ^1H NMR spektrumu (CDCl_3)

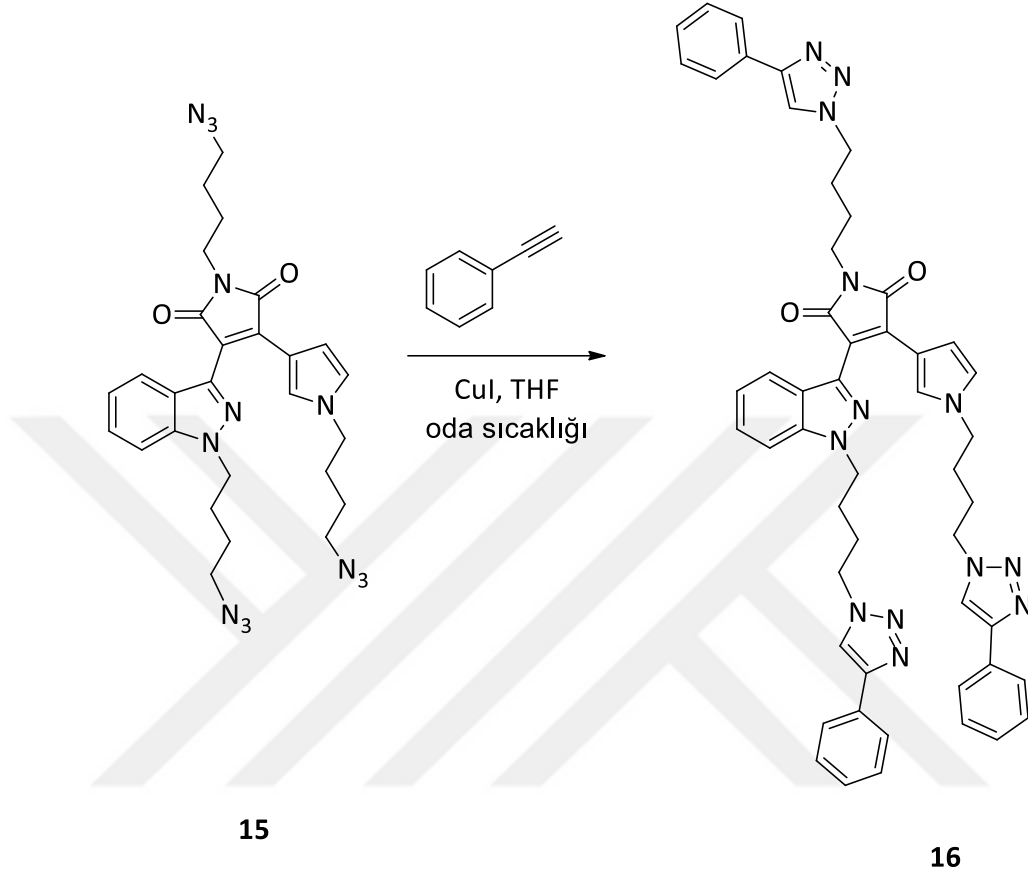


Şekil 4.53 Bileşik 15'in APT spektrumu (CDCl₃)



Şekil 4.54 Bileşik 15'in LC-MS (Q-TOF) spektrumu

4.17 1-(4-(4-Fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)bütül)-3-(1-(4-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)bütül)-1H-indazol-3-il)-4-(1-(4-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)bütül)-1H-pirol-3-il)-1H-pirol-2,5-dion Bileşiğinin Sentezi (Bileşik 16, C₅₁H₄₉N₁₃O₂)



0.138 (79 mg) Bileşik **15**, 0.5 mmol (51.05 mg) fenil asetilen ve 1.24 mmol (240 mg) CuI 3 mL THF'te çözülerek reaksiyon balonuna alındı. Reaksiyon 1 gece boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı ve TLC (10:1 etil asetat/*n*-hekzan) kontrolü yapılarak sonlandırıldı. Reaksiyon sonunda madde selitten süzüldü ve çözücü vakumla uzaklaştırıldı. Ham ürün 10:1 etil asetat/*n*-hekzan kolon kromatografisi yöntemiyle saflaştırıldı.

Turuncu katı madde; e.n: 105.5-108.5; R_f= 0.3 (10:1 etil asetat/*n*-hekzan); verim= %30.

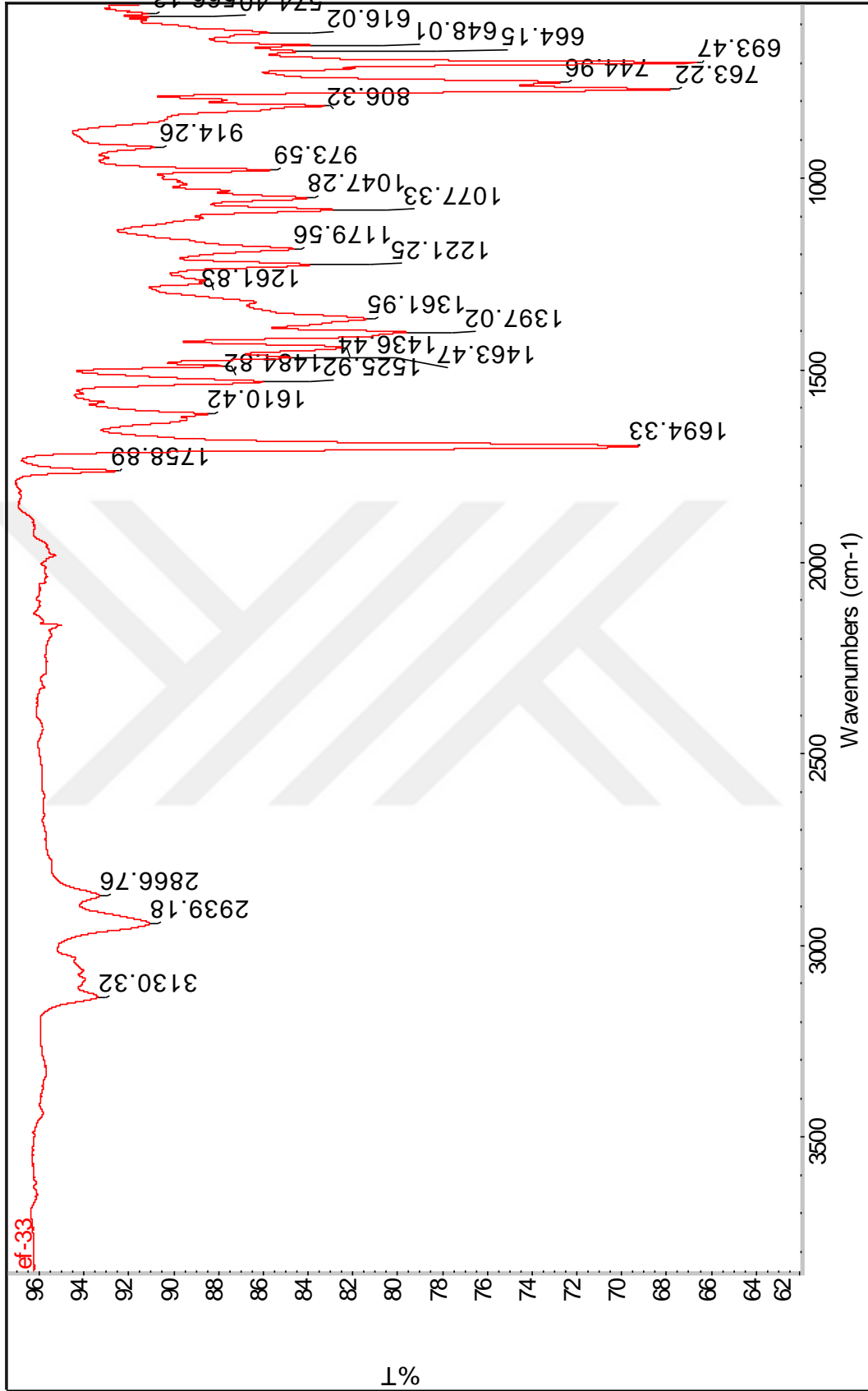
4.17.1 Bileşik 16'nın Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): $\nu = 3130$ (aromatik, =C-H gerilimi), 2939 ve 2876 (alifatik, C-H gerilimleri), 1694 (C=O gerilimi), 1525 (aromatik, C=C gerilimi), 1463, 1436 ve 1397 (alifatik, düzlem içi C-H eğilimleri), 1221 (C-N salınımı), 1077 (C-O gerilimi) cm^{-1} .

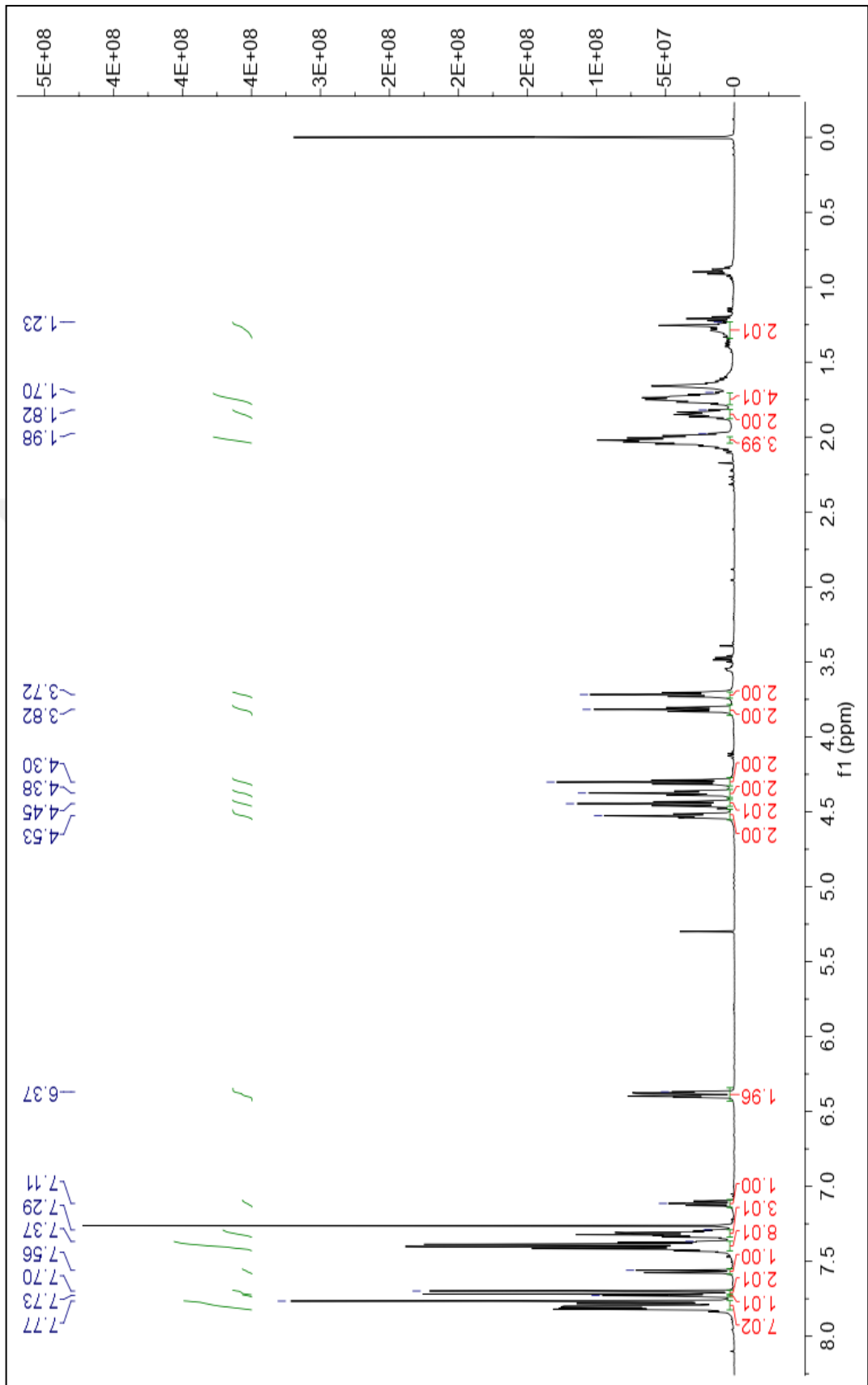
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.23-1.35$ (m, 2H, CH_2), 1.70-1.78 (m, 4H, CH_2), 1.82-1.88 (m, 2H, CH_2), 1.97-2.05 (m, 4H, CH_2), 3.72 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 3.82 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 4.30 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 4.37 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 4.45 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 4.53 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H, $N\text{-CH}_2$), 6.37-6.40 (m, 2H, Ar-H), 7.11 (t, $J = 6.6$ Hz, 1H, Ar-H), 7.29-7.34 (m, 3H, Ar-H), 7.37-7.43 (m, 8H, Ar-H), 7.56 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, Ar-H), 7.70-7.72 (m, 2H, Ar-H), 7.73 (t, $J = 1.9$ Hz, 1H, Ar-H) 7.76-7.82 (m, 7H, Ar-H) ppm.

APT (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 25.6$ (CH_2), 26.6 (CH_2), 27.3 (CH_2), 27.5 ($2\times\text{CH}_2$), 27.9 (CH_2), 37.0 ($N\text{-CH}_2$), 48.3 ($N\text{-CH}_2$), 49.2 ($N\text{-CH}_2$), 49.5 ($N\text{-CH}_2$), 49.6 ($2\times N\text{-CH}_2$), 109.1 (CAr), 110.7 (CAr), 113.3 (Cq), 119.5 (CAr), 119.6 (CAr), 119.7 (CAr), 120.3 (Cq), 121.4 (CAr), 121.9 (CAr), 122.4 (CAr), 123.2 (Cq), 125.6 ($2\times\text{CAr}$), 125.7 ($2\times\text{CAr}$), 125.8 ($2\times\text{CAr}$), 126.4 (CAr), 126.9 (CAr), 128.0 (CAr), 128.1 (CAr), 128.2 (CAr), 128.8 ($2\times\text{CAr}$), 128.9 ($2\times\text{CAr}$), 129.0 ($2\times\text{CAr}$), 130.5 (Cq), 130.6 (Cq), 130.7 (Cq), 134.6 ($2\times\text{Cq}$), 134.7 (Cq), 140.3 (Cq), 147.8 (Cq), 147.9 (Cq), 171.5 (C=O), 171.7 (C=O) ppm.

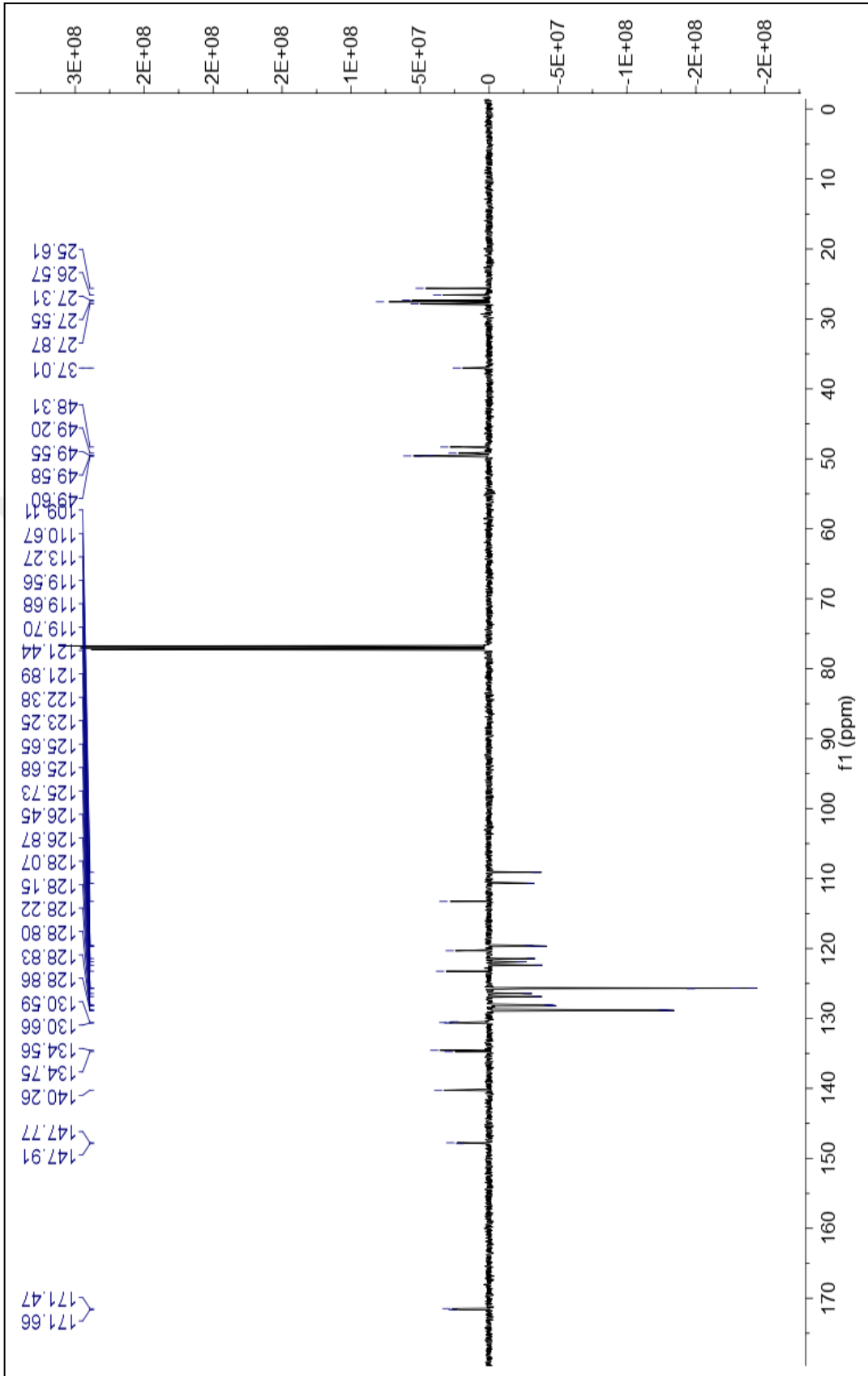
LC-MS (ESI-QTOF): $m/z =$ Hesaplanan: $[\text{C}_{51}\text{H}_{49}\text{N}_{13}\text{O}_2]$: 875.4132, bulunan 876.4193 ($[\text{C}_{51}\text{H}_{49}\text{N}_{13}\text{O}_2] + \text{H}$)⁺.



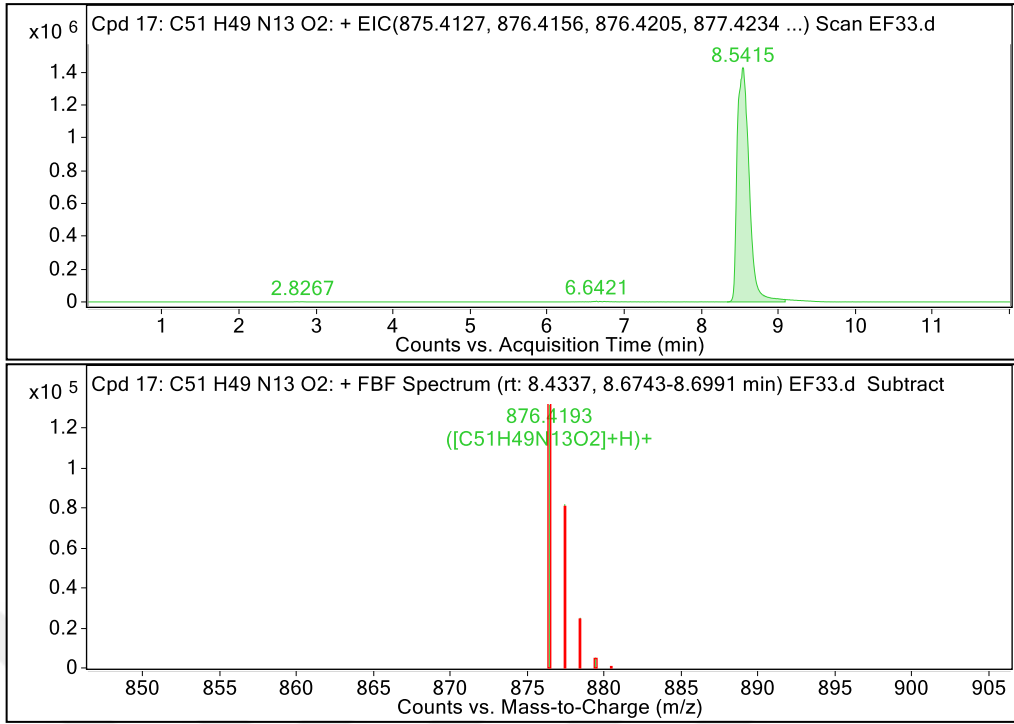
Şekil 4.55 Bileşik 16'nın FTIR spektrumu (ATR)



Şekil 4.56 Bileşik **16**'nın ^1H NMR spektrumu (CDCl_3)



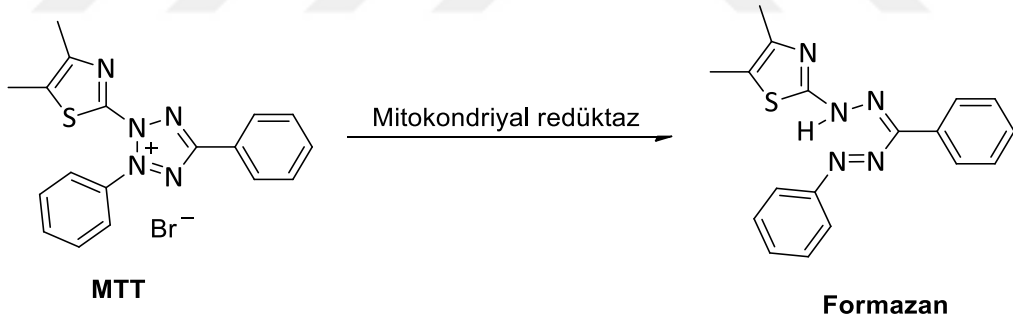
Şekil 4.57 Bileşik 16'nın APT spektrumu (CDCl₃)



Şekil 4.58 Bileşik 16'nın LC-MS (Q-TOF) spektrumu

MTT ASSAY YÖNTEMİ ve ANTI-KANSER ÇALIŞMALARI

MTT (3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5difeniltetrazolyumbromür) analizi, MTT'nin mitokondriyal aktiviteyi belirleyen canlı hücreler tarafından formazan kristallerine dönüştürülmesine dayanır. Çoğu hücre popülasyonu için, toplam mitokondriyal aktivite, canlı hücrelerin sayısı ile ilişkili olduğundan bu analiz, ilaçların hücre çizgileri veya primer hasta hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkilerini ölçmek için yaygın olarak kullanılmaktadır.



Şekil 5.1 MTT'nin formazana dönüşümü

Uygulanabilir hücre sayısındaki herhangi bir artış veya azalma, 540 ve 720 nm'de bir plaka okuyucu kullanılarak optik yoğunlukta yansıyan formazan konsantrasyonunun ölçülmesiyle tespit edilebilir. İlaç duyarlılığı ölçümleri için, ilaçlarla inkübe edilmiş hücrelere sahip oyukların optik yoğunluk değerleri, ilaçlara maruz kalmayan hücrelere sahip oyukların optik yoğunlukları ile karşılaştırılır.

Primer pediatrik akut lenfoblastik lösemi hücreleri için, in vivo ilaç duyarlılığını tahmin etmek için in vitro MTT tahlili kapsamlı olarak uygulanmıştır. Bu çalışmalarda in vitro

duyarlılık ile klinik sonuç arasında nispeten iyi bir ilişki olduğu gözlenmiştir. Bu ve diğer pozitif sonuçlara rağmen, MTT testi klinik için öngörücü test olarak yaygın şekilde kullanılmamaktadır. Bunun yerine yeni ilaçların veya ilaç kombinasyonlarının potansiyel antitümör aktivitesini belirlemek için in vitro bir araç olarak kullanılır. Ek olarak, MTT testi ilaçlara karşı direnci araştırmak için uygun bir araçtır [139].

5.1 MTT Assay Yönteminin Uygulanması

Hastalardan alınıp uygun besi yeri ve steril koşullarda çözelti haline getirilip uygun yaşama koşullarında (37°C. %5 CO₂) çoğaltılan kanser hücreleri Çapa Tıp Fakültesinden hibe olarak sağlanmış ve İstanbul Bilgi Üniversitesi Hücre Kültürü Laboratuvarında çoğaltılmıştır. Çalışılan Lösemi hücre tipleri:

- Nalm-6
- REH
- Molt-4
- K-562
- Jurkat

Kullanılan Besiyeri: Kanser hücresinin büyüme özelliğine bağlı olarak iki besi yerinden biri seçilmiştir: RPMI-1640 Medium (Modified with 20 mM HEPES and L-glutamine, without sodium bicarbonate liquid, sterile, filtered) ya da DMEM (High Glucose with Glutamine and Sodium Pyruvate). Üzerine bakteriyel etkilerden koruyucu olarak %1 penisilin-streptomisin karışımı ve insan vücuduna benzer özellik taşıması için %10 bovin serum albümin ilave edilmiştir. Nalm-6, REH ve K-562 için RPMI; Jurkat ve Molt-4 için de DMEM besi yeri kullanılmıştır.

Hücrelerin Kültür Kabından Transferi Ve Hücre Sayımı: Hücrelerin canlılığını sürdürebilmeleri için belirli sürelerde steril bir ortamda, buldukları kaptan başka bir steril kaba yeni besi yeri eklenerek aktarılmalı gerekir. Aksi halde hücreler belirli bir çoğalma gösterip hücre besini bittiğinde o kaba sığamaz ve ölmeye başlar.

Öncelikle lösemi hücreleri serolojik pipetle karıştırılıp steril bir falkon tüpüne alınır, 1500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek hücrelerin dibine çökmesi sağlanır ve eski besi yeri geri çekilerek 10 ml yeni besi yeri ilave edilip tüpün içerisinde pipetle iyice karıştırılır.

Transfer için 25 cm³ yeni bir kültür kabına steril bir ortamda 5 ml yeni besi yeri ve 0.5 ml kanser hücresi çözeltisi konulup, kültür kabı dikey olacak şekilde kapak hafif açık bırakılarak inkübatörde yeniden çoğaltılır.

Hücre Sayımı ve 96'lık Plate'e Hücre Ekimi: Steril bir ependorf tüpün içine, hazırlanan kanser hücreli çözeltiden 10µL alınıp 10µL Trypan Blue (Bio-Rad 1450013) ile boyanıp otomatik hücre sayma makinesi (Bio-Rad TC20) ile hücre sayımı yapılır. Buradaki amaç hücreleri boyayarak cihazın canlı hücreleri tanımasını sağlamaktır.

En son konsantrasyon 50x10⁴/ml olacak şekilde besi yeri ile seyreltme işlemi yapılır ve çözelti konsantrasyonu ayarlandıktan sonra elde edilen kanser çözeltisi bir rezervuara alınıp homojen hale getirilip 96'lık kültür plate'ine çoklu pipet yardımı ile 100' µL hücre ekimi yapıp 24 saat 37°C'lik etüvde inkübe edilir.

İlaç Yüklenmesi: Bileşiğin molekül ağırlığına bağlı olarak tartılan miktarlar DMSO'da çözülüp stok çözeltiler hazırlanmıştır. DMSO'nun kuvvetli bir öldürücü etkiye sahip olduğundan dolayı hücreye zarar vermemesi için ilaç yüklemesi yapılırken DMSO'nun besi yerindeki oranı %2'yi aşmayacak şekilde olması önemlidir. DMSO'nun %2'nin altındaki konsantrasyonlarında hücreler üzerinde öldürücü etki görülmez, böylece DMSO toksik etkisi minimuma indirilir.

Bir gün önceden 100 µL hücre yüklenmiş 96'lık plate'e 6 tekrarlı olacak şekilde 100'er µL ilaç çözeltisi yüklenir. Kontrol olarak aynı plate üzerinde 12 tekrarlı olacak şekilde sadece 100 µL besi yeri ilave edilir. Bir gün de bu şekilde inkübatörde (37°C, %5CO₂) bekletilir.

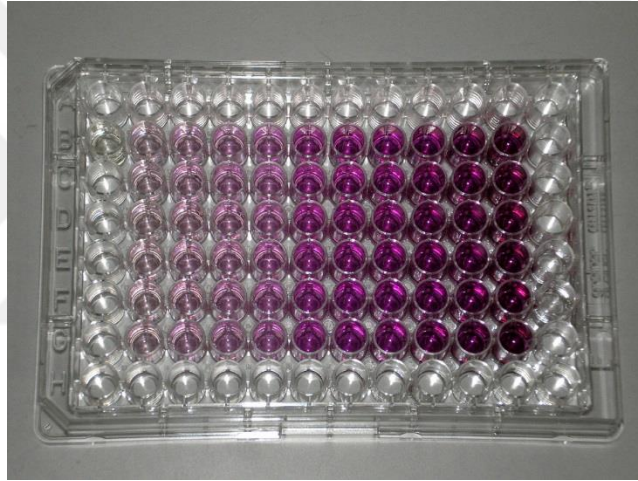
MTT Çözeltisinin Uygulanması ve Mikroplate Reader Cihazı'nda Sonuçların Okutulması: Öncelikle ilaçlı olarak 24 saat bekletilmiş hücrelerin bulunduğu 96'lık plateler (5 dk, 1500 rpm, 25°C) santrifüj edilerek hücrelerin kabın dibine çökmesi sağlanır. Ardından her bir delikten 100 µL besi yeri geri çekilir ve 10 µL MTT çözeltisi (5 mg/ml) ilave edilip 4 saat boyunca inkübatörde tutulur.

4 Saat sonra tekrar aynı koşullarda santrifüj yapılarak her bir delikten 50 µL çözelti geri çekilip yerine 100 µL DMSO ilave edilerek MTT'nin çözünmesi sağlanır ve 45 dakika boyunca karanlıkta 300 rpm'de çalkalanır. Thermo VarioSkan Flush Multimode Reader Quantum ST5-1100 cihazında 570 nm'de absorbans değerleri okunarak Excel'de konsantrasyon-optik yoğunluk grafiği çizilir.

$$\% \text{İnhibisyon değeri: } \frac{[OY_{\text{kontrol}} - OY_{\text{numune}}]}{OY_{\text{kontrol}}} \times 100$$

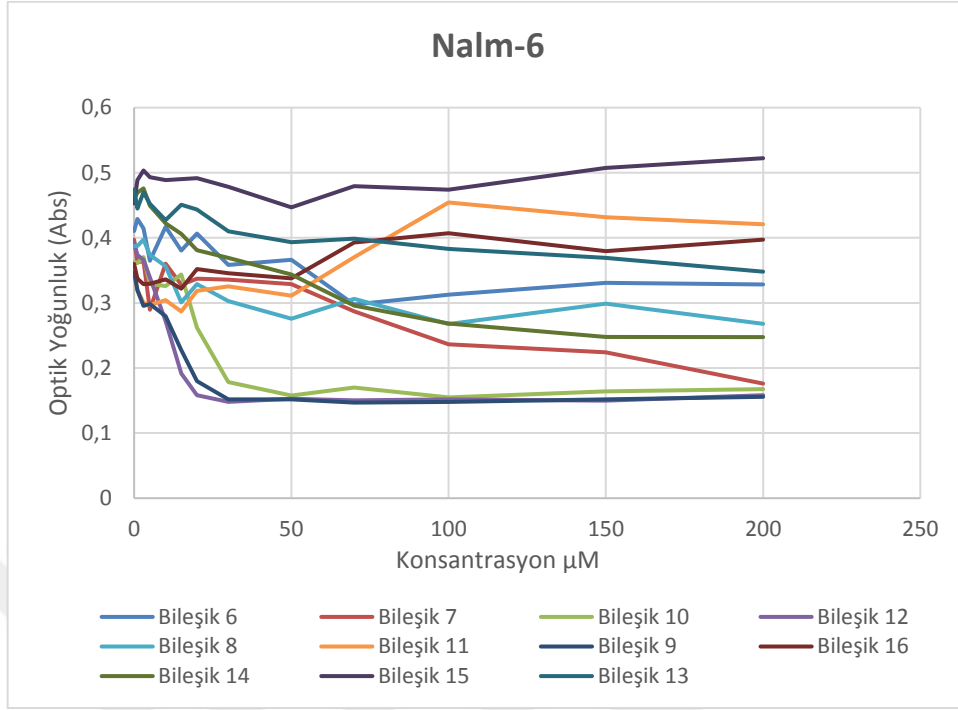
OY: Optik yoğunluk

Hücrelerin büyümelerinin hangi konsantrasyonda ne kadar durdurulduğu ve ne kadar hücrenin öldüğü yukarıdaki formülle hesaplanmış, Graphpad Prism-5 programı kullanılarak da IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

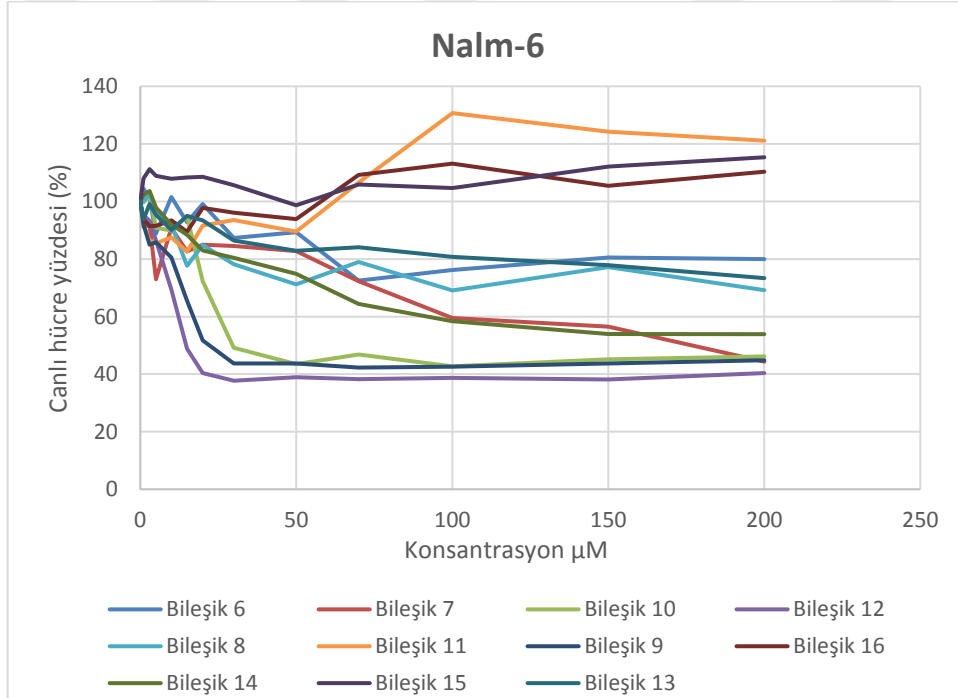


Şekil 5.2 MTT ilave edilmiş 96'lık plate

5.1.1 Nalm-6 Tipi Lösemi Kanser Hücreleri için MTT ASSAY Çalışması

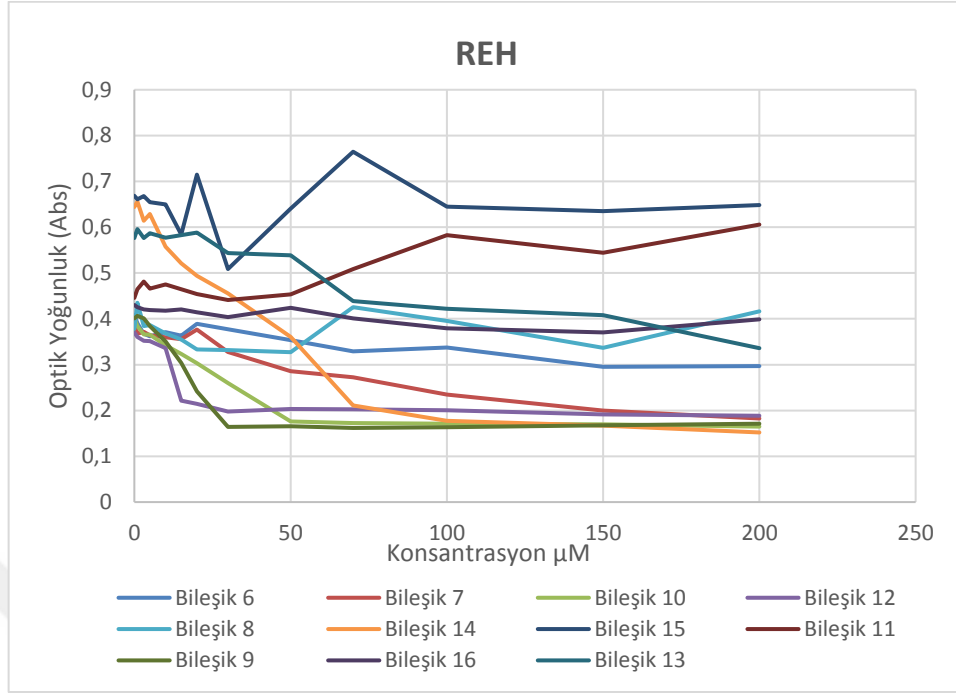


Şekil 5.3 Nalm-6 tipi kanser hücresinde çalışılan bileşiklerin konsantrasyon-optik yoğunlukları

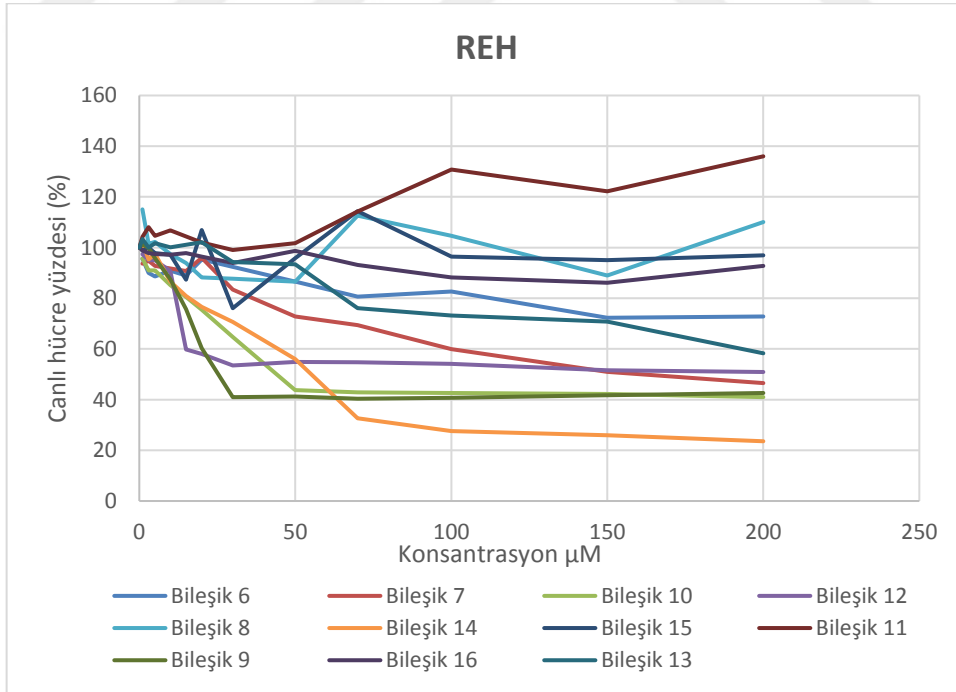


Şekil 5.4 Nalm-6 tipi kanser hücresinde çalışılan bileşiklerin konsantrasyon-canlı hücre yüzdeleri

5.1.2 REH Tipi Lösemi Kanser Hücreleri için MTT ASSAY Çalışması

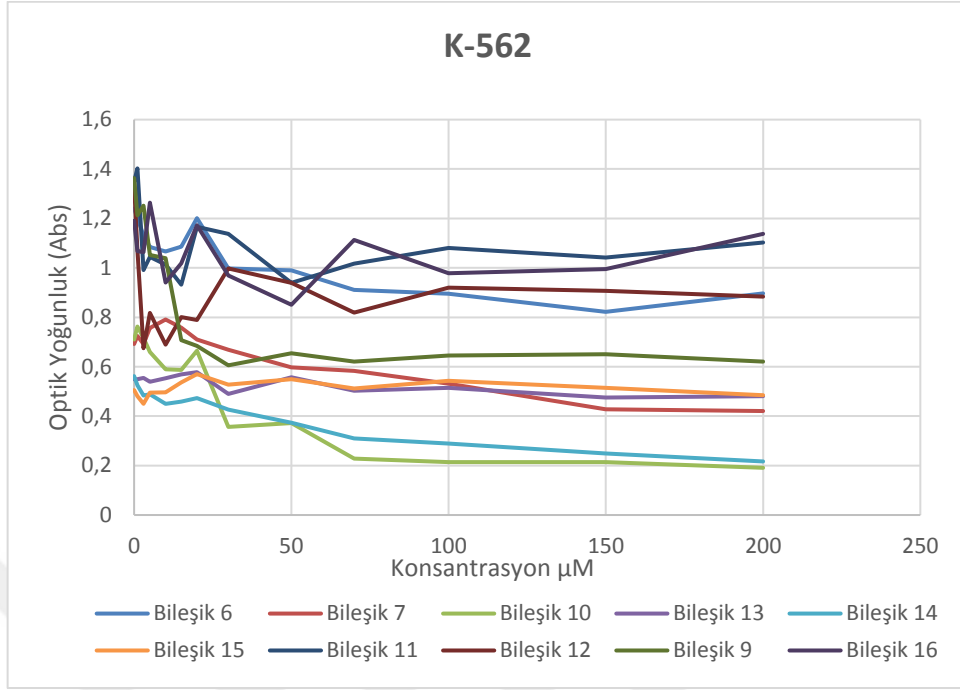


Şekil 5.5 REH tipi kanser hücresinde çalışılan bileşiklerin konsantrasyon-optik yoğunlukları

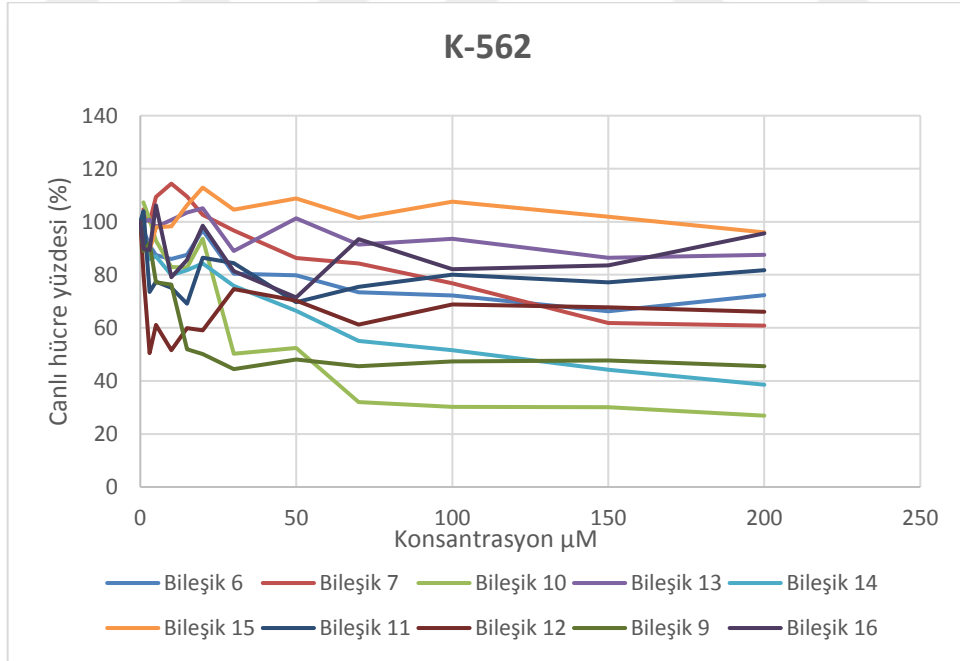


Şekil 5.6 REH tipi kanser hücresinde çalışılan bileşiklerin konsantrasyon-canlı hücre yüzdeleri

5.1.3 K-562 Tipi Lösemi Kanser Hücreleri için MTT ASSAY Çalışması

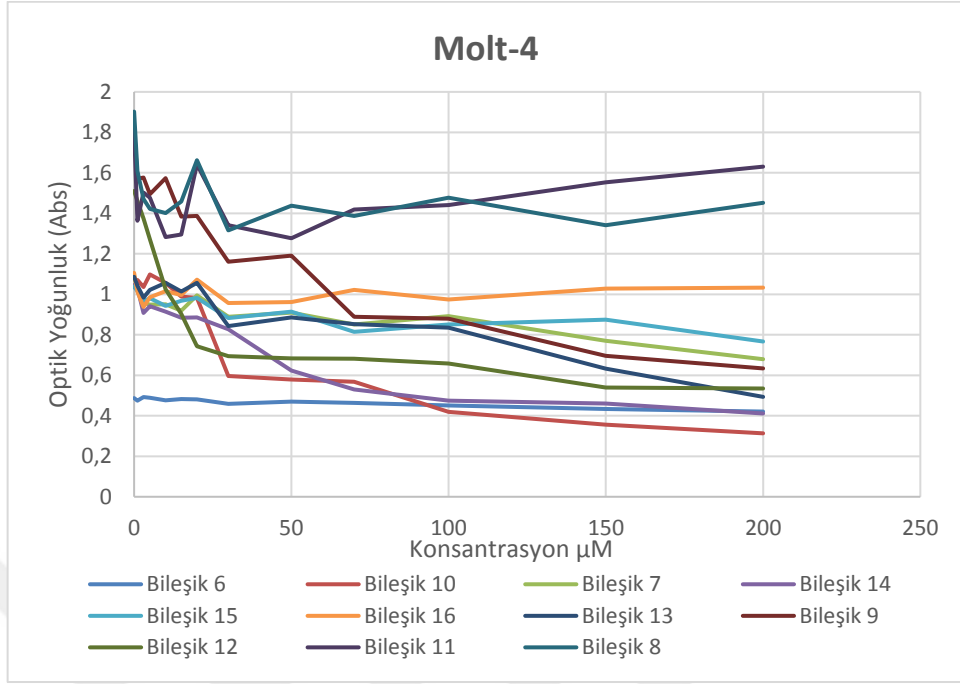


Şekil 5.7 K-562 tipi kanser hücrelerinde çalışılan bileşiklerin konsantrasyon-optik yoğunlukları

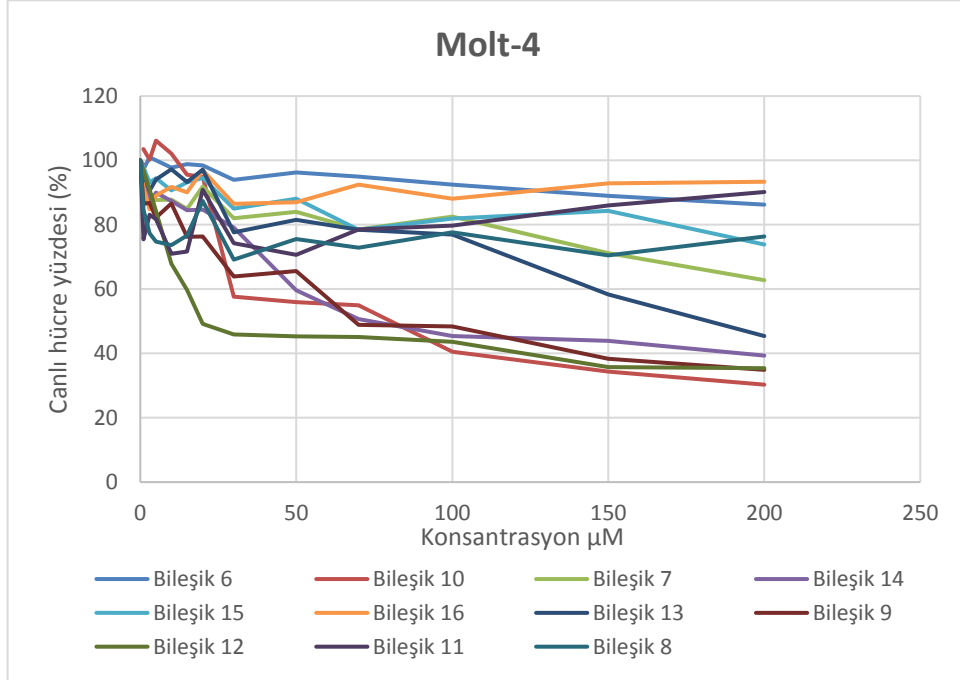


Şekil 5.8 K-562 tipi kanser hücrelerinde çalışılan bileşiklerin konsantrasyon-canlı hücre yüzdeleri

5.1.4 Molt-4 Tipi Lösemi Kanser Hücreleri için MTT ASSAY Çalışması

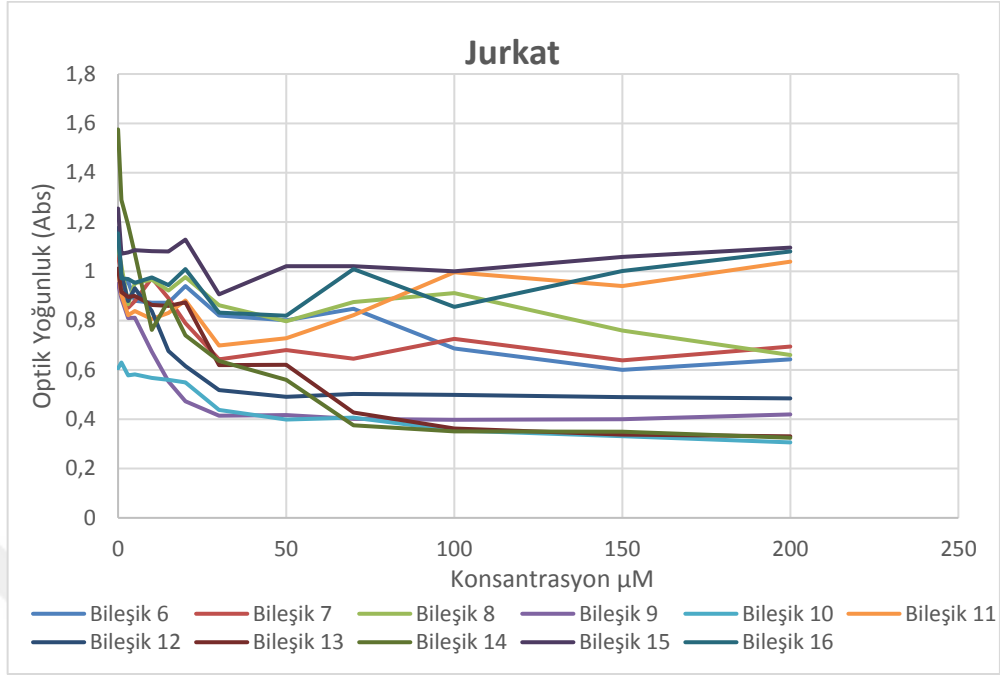


Şekil 5.9 Molt-4 tipi kanser hücresinde çalışılan bileşiklerin konsantrasyon-optik yoğunlukları

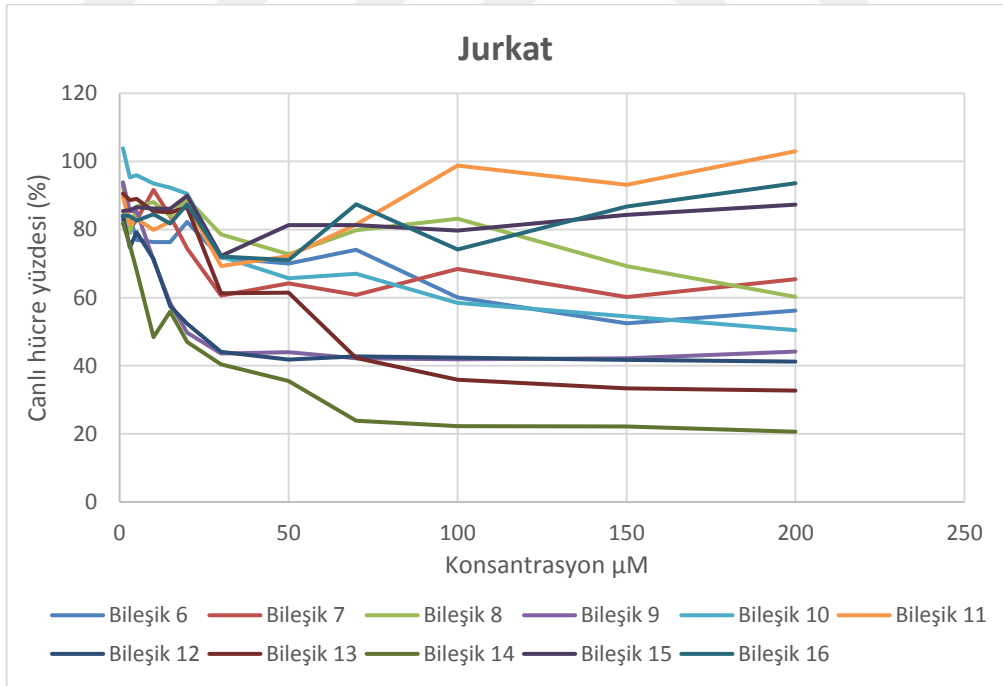


Şekil 5.10 Molt-4 tipi kanser hücresinde çalışılan bileşiklerin konsantrasyon-canlı hücre yüzdeleri

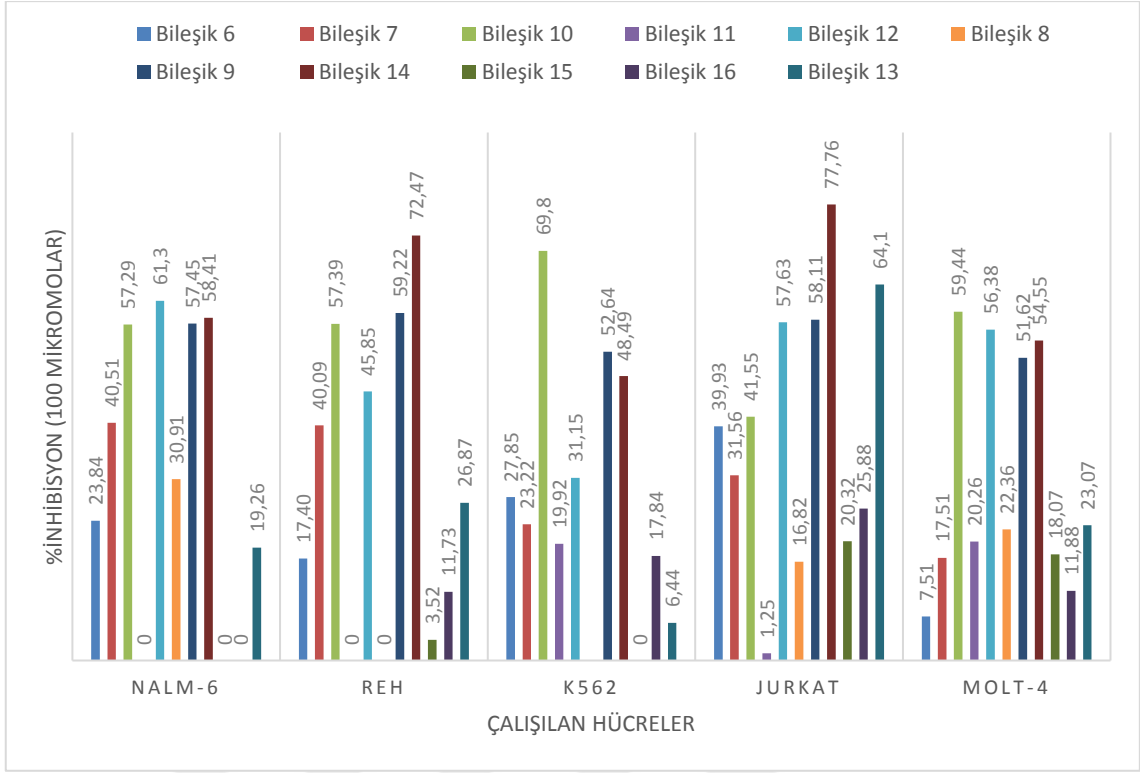
5.1.5 Jurkat Tipi Lösemi Kanser Hücreleri için MTT ASSAY Çalışması



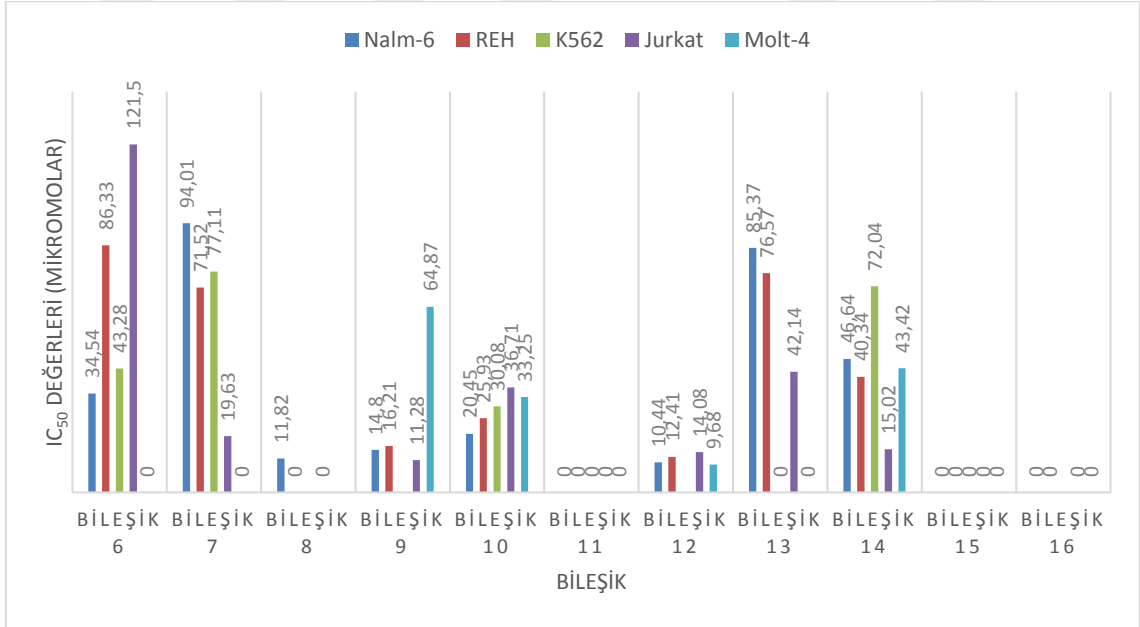
Şekil 5.11 Jurkat tipi kanser hücresinde çalışılan bileşiklerin konsantrasyon-optik yoğunlukları



Şekil 5.12 Jurkat tipi kanser hücresinde çalışılan bileşiklerin konsantrasyon-canlı hücre yüzdesi



Şekil 5.13 Tüm kanser hücre tiplerinde (Nalm-6, REH, K-562, Jurkat, Molt-4) çalışılan bileşiklerin inhibisyon yüzdeleri

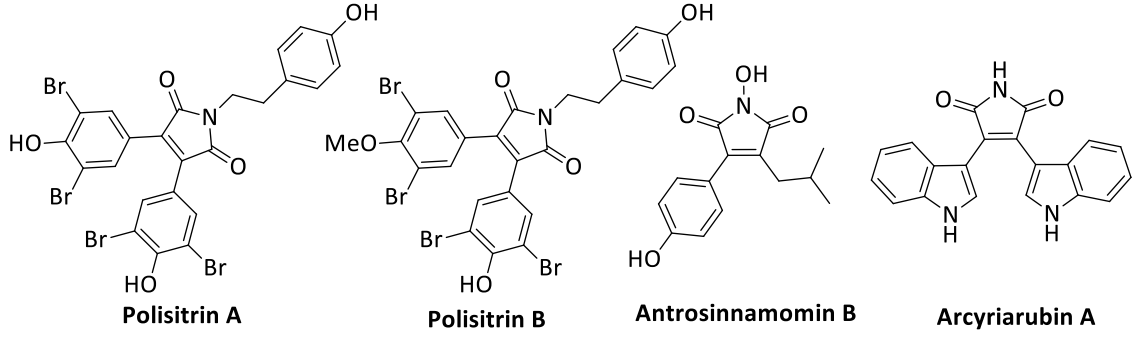


Şekil 5.14 IC₅₀ değerleri

SONUÇ VE ÖNERİLER

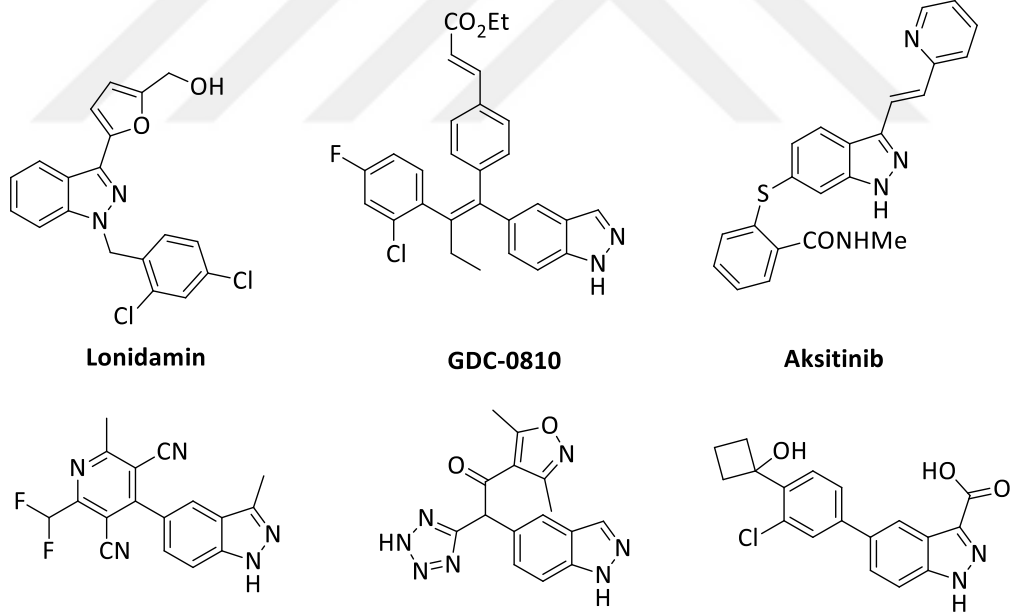
Farmasötik ve tarım kimyasallarının yaklaşık %70'inden fazlası en az bir heterosiklik halka içermektedir. Bunun iki nedeni vardır: Birincisi, heterosiklik yapıların sentetik olarak elde edilebilirliği ve bu yapıların fizikokimyasal özelliklerinin lipofillik ve çözünürlüğü biyolojik alım ve dolaşım açısından optimum aralıkta tutabilmesidir; ikincisi ise heterosiklik sistemlerin diğer iso- ve heterosiklik halkalarla ve bazı farklı fonksiyonel gruplarla mükemmel bir şekilde yer değiştirerek benzer yapılar ve elektronik dağılımlarla eşdeğer ve hatta daha iyi biyolojik etkinlikler gösterebilmeleridir. Bu nedenle, heterosikliklerin sentezi için yeni sentetik prosedürlerin gelişimi organik kimyacıların ilgisinin en önemli noktasını oluşturmaktadır.

Maleimid; antibakteriyal, antifungal, antikanser, antistres, antiinflamatuvar, antidiyabetik, fotodinamik aktivite, COX-2 inhibitör, monogliserid lipaz inhibitör, GSK-3 inhibitör gibi neredeyse tüm biyolojik aktivitelere sahip önemli bir aktif iskelet olarak kabul edilebilir [140]. Bu yüzden maleimid ve türevlerinin sentezi organik sentez, tıbbi kimya ve ilaç geliştirme konusunda çalışan araştırmacılar tarafından daha fazla ilgi çekmektedir [141].



Şekil 6.1 Biyolojik aktif maleimid türevleri

İndazoller; antitümör, antibakteriyal, antiinflamatuvar, antidepresan ve antihipertansif gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip önemli bir heterosiklik bileşik sınıfını oluşturmaktadırlar. Son beş yıl içerisinde kanser, bakteriyel enfeksiyonlar, nörodejeneratif gibi hastalıklarda terapötik uygulamalara sahip indazol iskeleti taşıyan türevleri tanımlayan 42'den fazla patent yayınlanmıştır. Son yıllarda, antikanser ilaçların gelişimi, bazıları çeşitli tümör tiplerine karşı olağanüstü aktivite sergileyen çok sayıda indazol türevinin ortaya çıkmasına yol açmıştır [142].

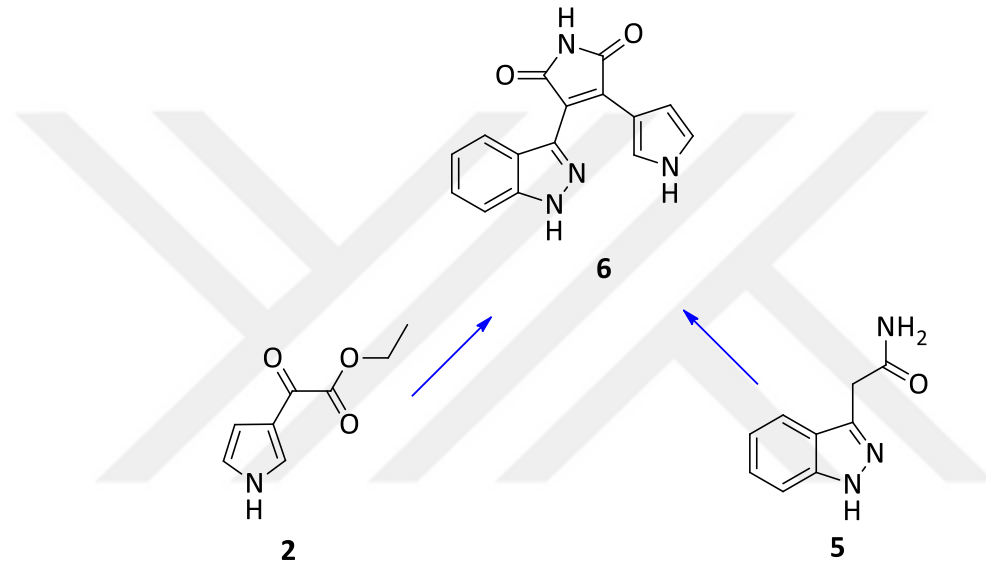


Şekil 6.2 Antikanser ajanlar olarak indazol türevleri

GSK-3 hücresel çoğalma, göç, iltihap ve bağışıklık gibi olaylarda pro-inflamatuvar sitokin ve interlökin üretimi de dahil olmak üzere, çeşitli protein kinazlar aracılığıyla adaptif değişiklikler, hücre çoğalması, hücre içi sinyal yollarını etkileyerek glukoz regülasyonu ve apoptoz başta olmak üzere hem periferde hem de santral sinir sisteminde etkilidir. Uzun

yıllar boyunca yapılan çalışmalar GSK-3'ün diyabet, inflamasyon, kanser, psikiyatrik ve nörodejeneratif hastalıklar (Bipolar bozukluk, Parkinson hastalığı ve Alzheimer hastalığı, vb.) ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu nedenle GSK-3, bu hastalıkların tedavisinde araştırılmakta olan en uygun hedeflerden olmuştur. GSK-3 enzim inhibitörlerinin geliştirilmesi, nörodejeneratif hastalıkların, özellikle Alzheimer hastalığının tedavi stratejisinde önemli bir yaklaşım olmuştur [113], [114], [115], [116], [117], [118].

Tez çalışmasında kilit aşama, maleimid iskeletini içeren bileşik **6**'nın sentezidir. Bileşik **6**, bileşik **2** ve bileşik **5**'in halka kapanması reaksiyonundan elde edilmiştir (Şekil 6.3).



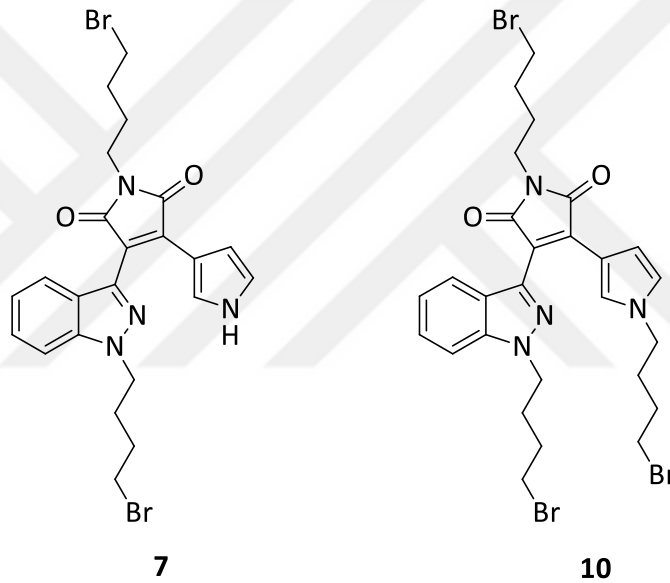
Şekil 6.3 Bileşik **6**'nın eldesinin genel gösterimi

Bileşik **2** ve bileşik **5**'in hazırlanmasında kullanılan sentez aşamaları deneysel kısımda detaylı olarak verilmiştir. Bileşik **6** literatürde yer almamaktadır ve yapısı FTIR, ^1H NMR, ^{13}C NMR ve LC-MS (QTOF) gibi spektral verilere dayandırılarak aydınlatılmıştır.

Bileşik **6**'nın FTIR spektrumunda NH (3306 cm^{-1}) ve karbonil grubuna ait bandlar (1708 ve 1691 cm^{-1}) beklenen bölgede yer almaktadır. ^1H NMR spektrumunda bileşik **2**'ye ait NH piki 8.95 ppm , bileşik **5**'e ait NH piki 12.76 ppm 'de gözlenmektedir. Bileşik **6**'da ise $10.98_{(\text{maleimid})}$, $11.37_{(\text{pirol})}$ ve $13.52_{(\text{indazol})}$ ppm'de üç adet NH pikinin yer alması maleimid halkasının oluştuğunun kanıtıdır. Ayrıca, bileşik **2**'de alkoksi grubuna ait piklerin, bileşik **5**'te ise NH_2 ve CH_2 grubuna ait piklerin spektrumda yer almaması halkalanmanın oluştuğunu desteklemektedir. ^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde, başlangıç maddesinde yer alan alifatik karbonlara ait piklerin kaybolması, maleimid halkasında

bulunan karbonil gruplarının ve diğ er karbonların beklenen yerlerde rezonans olması bileşik 6'nın yapısı ile uyum sağlamaktadır.

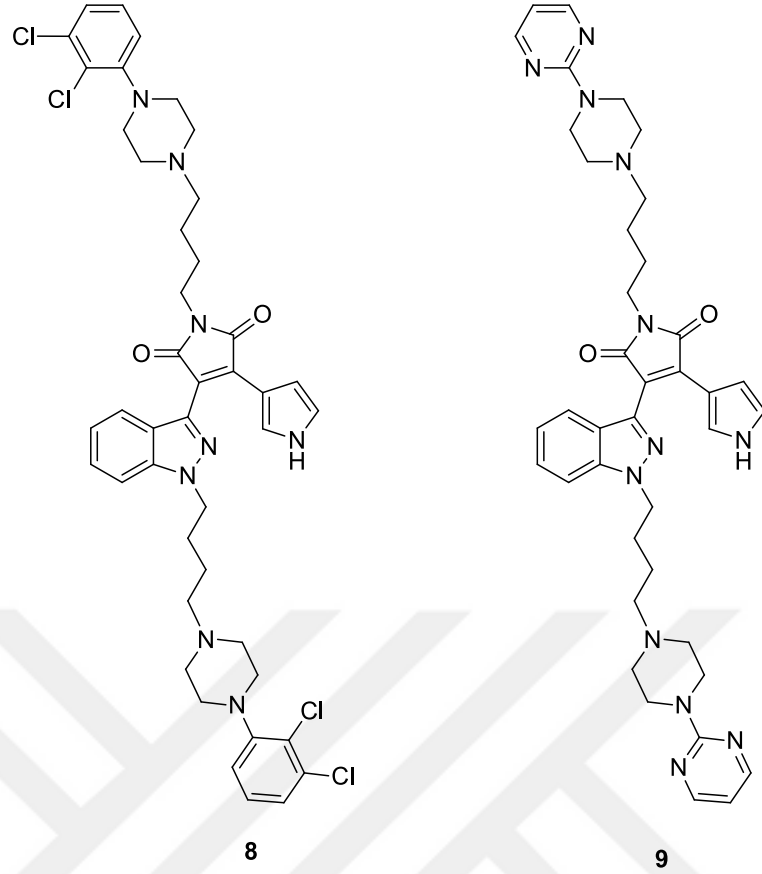
Tezin bir sonraki aşamasında ise bileşik 6'nın 1,4-dibromobütan ile alkilasyonu gerçekleştirilmiştir. Alkilasyon reaksiyonu sonucunda literatürde yer almayan bileşik 7 ve bileşik 10 aynı reaksiyon ortamında elde edilmiştir. Kolon kromatografisi ile ayrılan iki bileşiğ in spektral verileri incelendiğ inde bileşik 7'nin indazol ve maleimidin azot atomlarından, bileşik 10'un ise tüm azot atomlarından alkilasyonunun gerçekleştiğ i görülmüştür. Hem bileşik 7 ve bileşik 10 hem de bu bileşiklerden türeyecek maddeler literatürde yer almadığından, reaksiyon verimini arttırmak için farklı baz oranları ile çalışılarak bileşik 7 ve bileşik 10 ayrı reaksiyon ortamlarında sentezlenmiştir.



Şekil 6.4 Bileşik 7 ve bileşik 10'un yapısı

Bileşik 7'nin FTIR spektrumunda 3277 cm^{-1} 'de NH bandının gözlenmesi ve ^1H NMR spektrumunda pirol grubuna ait NH pikinin 8.57 ppm'de rezonans olması, indazol ve maleimid halkalarındaki azot atomu üzerinden alkilasyonun gerçekleştiğ ini göstermektedir. Bileşik 10'un FTIR ve ^1H NMR spektrumlarında bahsedilen pikler bulunmamaktadır. Bu veriler, tüm azot atomları üzerinden alkilasyon gerçekleştiğ ini göstermektedir.

Bileşik 7'nin, *N*-(2,3-diklorofenil)piperazin ve 1-(2-pirimidil)piperazin ile reaksiyonu sonucu literatürde yer almayan bileşik 8 ve 9 sentezlenmiştir.

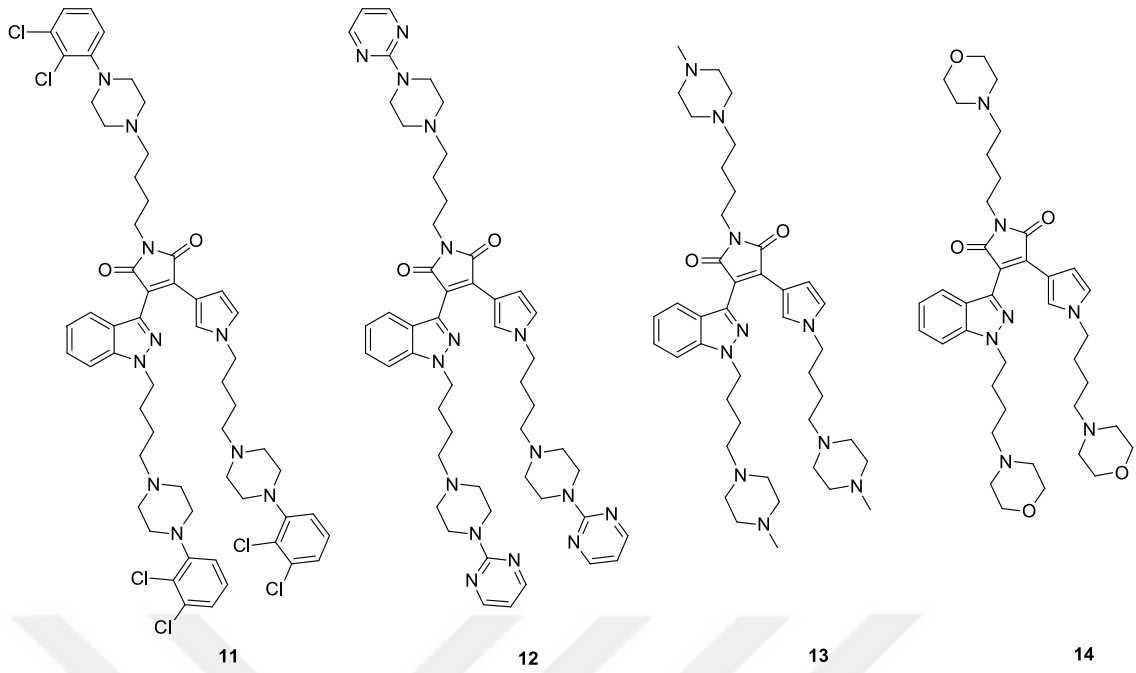


Şekil 6.5 Bileşik 8 ve bileşik 9'un yapısı

Bileşik 8 ve 9'un ^1H NMR spektrumları incelendiğinde alifatik ve aromatik bölgede pik sayılarında artış meydana gelmesi alkilasyonun beklenen bölgelerde gerçekleştiğini göstermektedir.

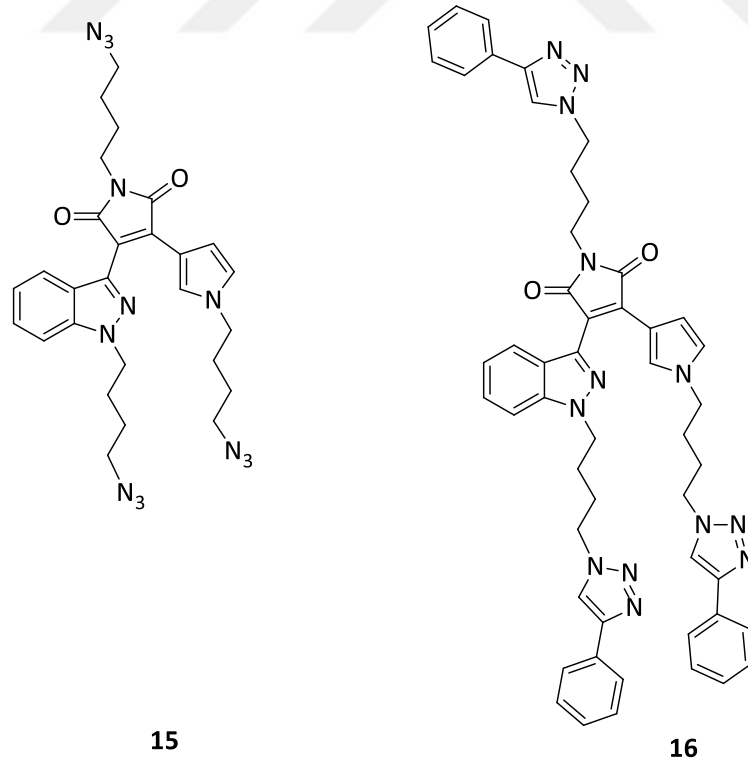
Bileşik 10'un sırasıyla *N*-(2,3-diklorofenil)piperazin, 1-(2-pirimidil)piperazin, *N*-metil piperazin ve morfolin ile alkilasyonu sonucu bileşik 11, 12, 13, 14 elde edilmiştir.

Bileşik 11, 12, 13 ve 14'ün ^1H NMR spektrumları incelendiğinde, bileşik 10'da gözlemlenen $\text{CH}_2\text{-Br}$ gruplarına ait 3.83, 4.17 ve 4.45 ppm'de gözlenen triplet piklerin kaybolması, yerine yeni *N*- CH_2 grubuna ait piklerin gözlenmesi yapıların doğruluğunu kanıtlamaktadır. Ayrıca, bileşik 13'de piperazin halkasına bağlı metil gruplarının 2.27 ppm'de 9H olarak gözlenmesi bu grubun iskelet yapıya bağlandığını göstermektedir. Tüm yapıların ^{13}C spektrumlarında yeni bağlanan grupların karbon atomları beklenen bölgelerde rezonans olmuşlardır. Ayrıca, tüm yeni bileşiklerin LC-MS (Q-TOF) spektrumlarındaki moleküler iyon pikine ait sinyaller yapıların doğruluğuna netlik kazandırmıştır.



Şekil 6.6 Bileşik 10, bileşik 11, bileşik 12 ve bileşik 13'ün yapıları

Bileşik 10'un, sodyum azid ile reaksiyonu sonucu bileşik 15'in sentezi gerçekleştirilmiştir. Bileşik 15'in fenil asetilen ve CuI katalizörlüğündeki reaksiyonu sonucu bileşik 16 elde edilmiştir.



Şekil 6.7 Bileşik 15 ve bileşik 16'nın yapısı

Bileşik **15**'in FTIR spektrumu incelendiğinde, 2091 cm⁻¹'de azid grubuna ait bandın gözlenmesi, bileşik **16**'da ise bu bandın kaybolması iki bileşiğin de oluştuğunun ilk kanıtları olmuştur. Bileşik **15**'in ¹H NMR spektrumu incelendiğinde, 3.83, 4.17 ve 4.45 ppm'deki CH₂-Br pikleri yerine 3.61, 3.82, 4.44 ppm'de yeni *N*-CH₂ piklerinin oluşması yapıyla uyum içerisindedir. Buna ek olarak bileşik **16**'nın ¹H NMR spektrumunda aromatik bölgede triazol halkasından dolayı pik sayılarında artış gözlenmektedir. ¹³C spektrumlarında ise yeni bağlanan grupların karbon atomları beklenen bölgelerde rezonans olmuşlardır.

Bileşik **15** ve bileşik **16**'nın LC-MS (Q-TOF) spektrumlarındaki moleküler iyon pikine ait sinyaller yapı ile uyum sağlamaktadır.

Sentezlenen bileşiklerin Lösemi (Nalm-6, REH, Molt-4, K-562 ve Jurkat) hücre tiplerine karşı anti-kanser aktivite çalışmaları MTT assay yöntemi ile Bilgi Üniversitesi Biyomühendislik bölümünde yapılmıştır.

Sentezlenen tüm bileşiklerin Nalm-6 tipi kanser hücreleri üzerindeki etkisi incelendiğinde bu bileşikler içerisinde bileşik **9**, **10**, **12** ve **14**'ün etkili sonuçlar verdiği saptanmıştır. 100µM konsantrasyonda bileşik **12**'nin %61.3 inhibisyon, bileşik **14**'ün %58.4 inhibisyon, bileşik **9**'un %57.5 inhibisyon, bileşik **10** ise %57.3 inhibisyon gösterdiği belirlenmiştir. Çalışılan bileşikler arasında Nalm-6 hücre tipi üzerinde en etkili bileşik **12**'nin olduğu saptanmıştır.

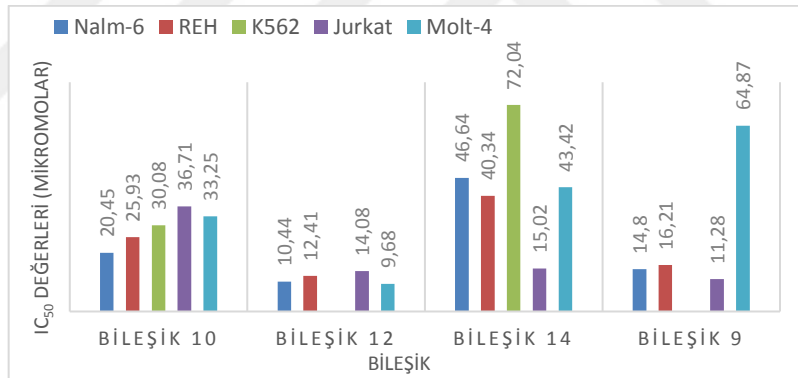
Sentezlenen tüm bileşiklerin REH tipi kanser hücreleri üzerindeki etkisi incelendiğinde bileşik **9**, **10**, **12** ve **14**'te öldürücü etkinin yüksek olduğu gözlemlenmiştir. 100µM konsantrasyonda bileşik **9**'un inhibisyon gücü %59.21, bileşik **10**'un inhibisyon gücü %57.4, bileşik **12**'nin inhibisyon gücü %45.9 ve bileşik **14**'ün inhibisyon gücü %73 olarak bulunmuştur. Bileşik **14**, çalışılan bileşikler arasında REH kanser hücre tipine karşı en etkin molekül olarak belirlenmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin K-562 tipi kanser hücreleri üzerinde yapılan çalışmalarda bileşik **9**, **10** ve **14**'e ait öldürücü etkinin yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bileşik **10**, çalışılan K-562 hücrelerinde 100µM konsantrasyonda %69.8 inhibisyonla en yüksek etkiyi göstermiştir.

Sentezlenen tüm bileşikler için Jurkat tipi kanser hücrelerinde yapılan çalışmalar sonucunda bileşik **14**'ün düşük konsantrasyonda bile öldürücü etkisinin bulunduğu ve tüm bileşikler içerisinde en fazla etki ettiği görülmüştür. Sırasıyla bileşik **13**, **9**, **12**'ye ait öldürücü etkilerin de yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bileşik **14**'ün Jurkat hücrelerine karşı 100µM konsantrasyonda inhibisyon gücü %77.8 olarak belirlenmiştir. Aynı hücre tipinde bileşik **9**; %58.1, bileşik **12**; %57.6 ve bileşik **13** ise %64.1 inhibisyon göstermiştir.

Sentezlenen tüm bileşiklerin Molt-4 tipi kanser hücrelerinde yapılan çalışmalar sonucunda bileşik **10** ve **12**'nin düşük konsantrasyonda öldürücü etkisinin bulunduğu görülmüştür. Bileşik **10**'un 100µM konsantrasyonda %59.4 inhibisyon, bileşik **12**'nin ise %56.4 inhibisyon gösterdiği saptanmıştır.

Tüm grafiklere bakıldığında sentezlenen bileşiklerin çeşitli hücre tiplerindeki IC₅₀ değerleri incelendiğinde bileşik **9**, **10**, **12** ve **14**'ün düşük konsantrasyonlarda iyi sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Bileşiklerin diğer hücelere oranla Jurkat hücrelerini öldürmede daha başarılı olduğu görülmüştür.



Şekil 6.8 Bileşik **9**, **10**, **12**, **14**'ün IC₅₀ değerleri

Sonuç olarak;

- Tez kapsamında literatürde yer almayan **11** adet yeni indazol ve pirol substitue maleimid türevi sentezlenmiş ve spektroskopik yöntemlerle yapıları aydınlatılmıştır.
- Elde edilen yeni türevlerin anti-kanser aktivite çalışmaları yapılmıştır. Özellikle bileşik **9**, **10**, **12**, **14**'ün iyi sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir.
- Ayrıca sentezlenen yeni bileşiklerin GSK-3β inhibitörü olma potansiyellerinden dolayı bu konuya yönelik çalışmalar devam etmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Katritzky, A.R., (2004). "Introduction: Heterocycles", *Chemical Reviews*, 104: 2125-2125.
- [2] Subbarao, K.P.V., Reddy, G.R., Muralikrishna, A. ve Reddy, K.V., (2014). "An Efficient Synthesis of 3-Substituted Isoquinoline and Pyridine Derivatives by Gold Catalyzed Intramolecular Cyclization from o-Alkynyloximes", *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 51: 1045-1050.
- [3] Mills, A.D., Nazer, M.Z., Haddadin, M.J. ve Kurth, M.J., (2006). "*N,N*-bond-forming heterocyclization: Synthesis of 3-alkoxy-2*H*-indazoles", *Journal of Organic Chemistry*, 71: 2687-2689.
- [4] Schmidt, A., Beutler, A. ve Snovdovych, B., (2008). "Recent advances in the chemistry of indazoles", *European Journal of Organic Chemistry*: 4073-4095.
- [5] Fan, H., Peng, J., Hamann, M.T. ve Hu, J.F., (2008). "Lamellarins and related pyrrole-derived alkaloids from marine organisms", *Chem Rev*, 108: 264-287.
- [6] Nancolas, B., Guo, L.L., Zhou, R., Nath, K., Nelson, D.S., Leeper, D.B., Blair, I.A., Glickson, J.D. ve Halestrap, A.P., (2016). "The anti-tumour agent lonidamine is a potent inhibitor of the mitochondrial pyruvate carrier and plasma membrane monocarboxylate transporters", *Biochemical Journal*, 473: 929-936.
- [7] Gross-Goupil, M., Francois, L., Quivy, A. ve Ravaud, A., (2013). "Axitinib: a review of its safety and efficacy in the treatment of adults with advanced renal cell carcinoma", *Clin Med Insights Oncol*, 7: 269-277.
- [8] Matuszak, N., Muccioli, G.G., Labar, G. ve Lambert, D.M., (2009). "Synthesis and in vitro evaluation of *N*-substituted maleimide derivatives as selective monoglyceride lipase inhibitors", *Journal of Medicinal Chemistry*, 52: 7410-7420.
- [9] Sivaprakasam, P., Xie, A. ve Doerksen, R.J., (2006). "Probing the physicochemical and structural requirements for glycogen synthase kinase-3 α inhibition: 2D-QSAR for 3-anilino-4-phenylmaleimides", *Bioorg Med Chem*, 14: 8210-8218.

- [10] Chen, H.J., Liu, Y., Wang, L.N., Shen, Q., Li, J. ve Nan, F.J., (2010). "Discovery and structural optimization of pyrazole derivatives as novel inhibitors of Cdc25B", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20: 2876-2879.
- [11] Cashman, J.R., MacDonald, M., Ghirmai, S., Okolotowicz, K.J., Sergienko, E., Brown, B., Garcia, X., Zhai, D., Dahl, R. ve Reed, J.C., (2010). "Inhibition of Bfl-1 with N-aryl maleimides", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20: 6560-6564.
- [12] Suzuki, T., Tanaka, R., Hamada, S., Nakagawa, H. ve Miyata, N., (2010). "Design, synthesis, inhibitory activity, and binding mode study of novel DNA methyltransferase 1 inhibitors", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20: 1124-1127.
- [13] Stewart, S.G., Polomska, M.E. ve Lim, R.W., (2007). "A concise synthesis of maleic anhydride and maleimide natural products found in *Antrodia camphorata*", *Tetrahedron Letters*, 48: 2241-2244.
- [14] Peifer, C., Stoiber, T., Unger, E., Totzke, F., Schachtele, C., Marme, D., Brenk, R., Klebe, G., Schollmeyer, D. ve Dannhardt, G., (2006). "Design, synthesis, and biological evaluation of 3,4-diarylmaleimides as angiogenesis inhibitors", *Journal of Medicinal Chemistry*, 49: 1271-1281.
- [15] Trapp, J., Jochum, A., Meier, R., Saunders, L., Marshall, B., Kunick, C., Verdin, E., Goekjian, P., Sippl, W. ve Jung, M., (2006). "Adenosine mimetics as inhibitors of NAD(+)-dependent histone deacetylases, from kinase to sirtuin inhibition", *Journal of Medicinal Chemistry*, 49: 7307-7316.
- [16] Routier, S., Merour, J.Y., Dias, N., Lansiaux, A., Bailly, C., Lozach, O. ve Meijer, L., (2006). "Synthesis and biological evaluation of novel phenylcarbazoles as potential anticancer agents", *Journal of Medicinal Chemistry*, 49: 789-799.
- [17] Aqueveque, P., Anke, T. ve Sterner, O., (2002). "The himanimides, new bioactive compounds from *Serpula himantoides* (Fr.)Karst.", *Zeitschrift Fur Naturforschung C-a Journal of Biosciences*, 57: 257-262.
- [18] Sortino, M., Garibotto, F., Cechinel, V., Gupta, M., Enriz, R. ve Zacchino, S., (2011). "Antifungal, cytotoxic and SAR studies of a series of N-alkyl, N-aryl and N-alkylphenyl-1,4-pyrrolediones and related compounds", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19: 2823-2834.
- [19] Zentz, F., Valla, A., Le Guillou, R., Labia, R., Mathot, A.G. ve Sirot, D., (2002). "Synthesis and antimicrobial activities of N-substituted imides", *Farmaco*, 57: 421-426.
- [20] Lepez, S.N., Sortino, M., Escalante, A., de Campos, F., Correa, R., Cechinel, V., Nunes, R.J. ve Zacchino, S.A., (2003). "Antifungal properties of novel N- and alpha,beta-substituted succinimides against dermatophytes", *Arzneimittelforschung-Drug Research*, 53: 280-288.
- [21] Mahle, F., Guimaraes, T.D., Meira, A.V., Correa, R., Cruz, R.C.B., Cruz, A.B., Nunes, R.J., Cechinel, V. ve de Campos-Buzzi, F., (2010). "Synthesis and

- biological evaluation of N-antipyrine-4-substituted amino-3-chloromaleimide derivatives", *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45: 4761-4768.
- [22] Badru, R., Anand, P. ve Singh, B., (2012). "Synthesis and evaluation of hexahydropyrrolo[3,4-d]isoxazole-4,6-diones as anti-stress agents", *European Journal of Medicinal Chemistry*, 48: 81-91.
- [23] Acero, N., Brana, M.F., Anorbe, L., Dominguez, G., Munoz-Mingarro, D., Mitjans, F. ve Piulats, J., (2012). "Synthesis and biological evaluation of novel indolocarbazoles with anti-angiogenic activity", *European Journal of Medicinal Chemistry*, 48: 108-113.
- [24] Abdel-Aziz, A.A., (2007). "Novel and versatile methodology for synthesis of cyclic imides and evaluation of their cytotoxic, DNA binding, apoptotic inducing activities and molecular modeling study", *European Journal of Medicinal Chemistry*, 42: 614-626.
- [25] King, M.K., Pardo, M., Cheng, Y.Y., Downey, K., Jope, R.S. ve Beurel, E., (2014). "Glycogen synthase kinase-3 inhibitors: Rescuers of cognitive impairments", *Pharmacology & Therapeutics*, 141: 1-12.
- [26] O'Leary, O. ve Nolan, Y., (2015). "Glycogen Synthase Kinase-3 as a Therapeutic Target for Cognitive Dysfunction in Neuropsychiatric Disorders", *Cns Drugs*, 29: 1-15.
- [27] Ye, Q., Li, M., Zhou, Y.B., Pang, T., Xu, L., Cao, J.Y., Han, L., Li, Y.J., Wang, W.S., Gao, J.R. ve Li, J., (2013). "Synthesis and Biological Evaluation of 3-Benzisoxazolyl-4-indolylmaleimides as Potent, Selective Inhibitors of Glycogen Synthase Kinase-3 beta", *Molecules*, 18: 5498-5516.
- [28] Brenner, M., Mayer, G., Terpin, A. ve Steglich, W., (1997). "Total syntheses of the slime mold alkaloid arcyriacyanin A", *Chemistry-a European Journal*, 3: 70-74.
- [29] Faul, M.M., Winneroski, L.L. ve Krumrich, C.A., (1998). "A New, Efficient Method for the Synthesis of Bisindolylmaleimides", *Journal of Organic Chemistry*, 63: 6053-6058.
- [30] Ye, Q., Li, M., Zhou, Y.B., Cao, J.Y., Xu, L., Li, Y.J., Han, L., Gao, J.R., Hu, Y.Z. ve Li, J., (2013). "Design, synthesis, and evaluation of 3-aryl-4-pyrrolyl-maleimides as glycogen synthase kinase-3beta inhibitors", *Arch Pharm (Weinheim)*, 346: 349-358.
- [31] IUPAC Compendium of Chemical Terminology, "The Gold Book heterocyclic compounds", <http://goldbook.iupac.org/H02798.html>, 15 Kasım 2009.
- [32] Encyclopædia Britannica Online, "Heterocyclic compound", <http://www.britannica.com>, 15 Kasım 2009.
- [33] Gholap, S.S., (2016). "Pyrrole: An emerging scaffold for construction of valuable therapeutic agents", *European Journal of Medicinal Chemistry*, 110: 13-31.
- [34] Carey, F.A. ve Sundberg, R. J., (2007). "Advanced Organic Chemistry", Springer, 5: 793-794.

- [35] Bhardwaj, V., Gumber, D., Abbot, V., Dhiman, S. ve Sharma, P., (2015). "Pyrrole: a resourceful small molecule in key medicinal hetero-aromatics", *Rsc Advances*, 5: 15233-15266.
- [36] Fliegl, H. ve Sundholm, D., (2012). "Aromatic pathways of porphins, chlorins, and bacteriochlorins", *Journal of Organic Chemistry*, 77: 3408-3414.
- [37] Michlik, S. ve Kempe, R., (2013). "A sustainable catalytic pyrrole synthesis", *Nature Chemistry*, 5: 140-144.
- [38] Furstner, A., (2003). "Chemistry and biology of roseophilin and the prodigiosin alkaloids: a survey of the last 2500 years", *Angew Chem Int Ed Engl*, 42: 3582-3603.
- [39] Lee, H., Lee, J., Lee, S., Shin, Y., Jung, W., Kim, J.H., Park, K., Kim, K., Cho, H.S., Ro, S., Lee, S., Jeong, S.W., Choi, T., Chung, H.H. ve Koh, J.S., (2001). "A novel class of highly potent, selective, and non-peptidic inhibitor of Ras farnesyltransferase (FTase)", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 11: 3069-3072.
- [40] Shamsuzzaman Siddiqui, T., Alam, M.G. ve Dar, A.M., (2015). "Synthesis, characterization and anticancer studies of new steroidal oxadiazole, pyrrole and pyrazole derivatives", *Journal of Saudi Chemical Society*, 19: 387-391.
- [41] Boichuk, S., Galembikova, A., Zykova, S., Ramazanov, B., Khusnutdinov, R., Dunaev, P., Khaibullina, S. ve Lombardi, V., (2016). "Ethyl-2-amino-pyrrole-3-carboxylates are novel potent anticancer agents that affect tubulin polymerization, induce G2/M cell-cycle arrest, and effectively inhibit soft tissue cancer cell growth in vitro", *Anticancer Drugs*, 27: 620-634.
- [42] Kaur, R., Rani, V., Abbot, V., Kapoor, Y., Konar, D. ve Kumar, K., (2017). "Recent synthetic and medicinal perspectives of pyrroles: An overview.", *Journal of Pharmaceutical Chemistry & Chemical Science*, 1: 17-32.
- [43] Gaikwad, D.D., Chapolikar, A.D., Devkate, C.G., Warad, K.D., Tayade, A.P., Pawar, R.P. ve Domb, A.J., (2015). "Synthesis of indazole motifs and their medicinal importance: an overview", *European Journal of Medicinal Chemistry*, 90: 707-731.
- [44] Alkorta, I. ve Elguero, J., (2005). "Theoretical estimation of the annular tautomerism of indazoles", *Journal of Physical Organic Chemistry*, 18: 719-724.
- [45] Attaurrahman Malik, S., He, C.H. ve Clardy, J., (1985). "Isolation and Structure Determination of Nigellicine, a Novel Alkaloid from the Seeds of Nigella-Sativa", *Tetrahedron Letters*, 26: 2759-2762.
- [46] Liu, Y.M., Yang, J.S. ve Liu, Q.H., (2004). "A new alkaloid and its artificial derivative with an indazole ring from Nigella glandulifera", *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 52: 454-455.
- [47] Lokhande, P.D., Raheem, A., Sabale, S.T., Chabukswar, A.R. ve Jagdale, S.C., (2007). "An efficient synthesis of 1-*H* indazoles", *Tetrahedron Letters*, 48: 6890-6892.

- [48] Lukin, K., Hsu, M.C., Fernando, D. ve Leanna, M.R., (2006). "New practical synthesis of indazoles via condensation of o-fluorobenzaldehydes and their O-methyloximes with hydrazine", *Journal of Organic Chemistry*, 71: 8166-8172.
- [49] Zhang, Z.G.H., Huang, Y.Y., Zhang, G.Q. ve Liu G.S., (2017). "[Bis-(trifluoroacetoxy)iodo]benzene-Mediated Oxidative Direct Amination C–N Bond Formation: Synthesis of 1*H*-Indazoles", *J. Heterocyclic. Chem.*, 54.
- [50] Chen, G., Hu, M. ve Peng, Y., (2018). "Switchable Synthesis of 3-Substituted 1*H*-Indazoles and 3,3-Disubstituted 3*H*-Indazole-3-phosphonates Tuned by Phosphoryl Groups", *Journal of Organic Chemistry*, 83: 1591-1597.
- [51] Cerecetto, H., Gerpe, A., Gonzalez, M., Aran, V.J. ve de Ocariz, C.O., (2005). "Pharmacological properties of indazole derivatives: recent developments", *Mini Rev Med Chem*, 5: 869-878.
- [52] Jennings, A. ve Tennant, M., (2007). "Selection of molecules based on shape and electrostatic similarity: proof of concept of "electroforms"", *J. Chem. Inf. Model*, 47: 1829-1838.
- [53] Vidyacharan, S., Murugan, A. ve Sharada, D.S., (2016). "C(sp²)-H Functionalization of 2*H*-Indazoles at C3-Position via Palladium(II)-Catalyzed Isocyanide Insertion Strategy Leading to Diverse Heterocycles", *Journal of Organic Chemistry*, 81: 2837-2848.
- [54] Scott, L.J., (2017). "Niraparib: First Global Approval", *Drugs*, 77: 1029-1034.
- [55] Baddam, S.R., Kumar, N.U., Reddy, A.P. ve Bandichhor, R., (2013). "Regioselective methylation of indazoles using methyl 2,2,2-trichloromethylacetimidate", *Tetrahedron Letters*, 54: 1661-1663.
- [56] Al-Bogami, A.S., (2016). "Mechanochemical synthesis of cyclohexenones and indazoles as potential antimicrobial agents", *Research on Chemical Intermediates*, 42: 5457-5477.
- [57] Hesketh, P.J. ve Gandara, D.R., (1991). "Serotonin antagonists: a new class of antiemetic agents", *J Natl Cancer Inst*, 83: 613-620.
- [58] Pan, S.L., Guh, J.H., Peng, C.Y., Wang, S.W., Chang, Y.L., Cheng, F.C., Chang, J.H., Kuo, S.C., Lee, F.Y. ve Teng, C.M., (2005). "YC-1 [3-(5'-hydroxymethyl-2'-furyl)-1-benzyl indazole] inhibits endothelial cell functions induced by angiogenic factors in vitro and angiogenesis in vivo models", *J Pharmacol Exp Ther*, 314: 35-42.
- [59] Zhang, H.C., Derian, C.K., McComsey, D.F., White, K.B., Ye, H., Hecker, L.R., Li, J., Addo, M.F., Croll, D., Eckardt, A.J., Smith, C.E., Li, Q., Cheung, W.M., Conway, B.R., Emanuel, S., Demarest, K.T., Andrade-Gordon, P., Damiano, B.P. ve Maryanoff, B.E., (2005). "Novel indolyindazolylmaleimides as inhibitors of protein kinase C-beta: synthesis, biological activity, and cardiovascular safety", *Journal of Medicinal Chemistry*, 48: 1725-1728.
- [60] Saczewski, F., Hudson, A.L., Tyacke, R.J., Nutt, D.J., Man, J., Tabin, P. ve Saczewski, J., (2003). "2-(4,5-dihydro-1*H*-imidazol-2-yl)indazole (indazim)

- derivatives as selective I(2) imidazoline receptor ligands", *Eur J Pharm Sci*, 20: 201-208.
- [61] Cheekavolu, C. ve Muniappan, M., (2016). "In vivo and In vitro Anti-Inflammatory Activity of Indazole and Its Derivatives", *J Clin Diagn Res*, 10: FF01-FF06.
- [62] Bansode, T.N., Shelke, J.V. ve Dongre, V.G., (2009). "Synthesis and antimicrobial activity of some new N-acyl substituted phenothiazines", *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44: 5094-5098.
- [63] Musa, O.M., (2016). "Handbook of Maleic Anhydride Based Materials", Springer, İsviçre.
- [64] Walker, M.A., (1994). "The Mitsunobu Reaction - a Novel Method for the Synthesis of Bifunctional Maleimide Linkers", *Tetrahedron Letters*, 35: 665-668.
- [65] Kondo, T., Nomura, M., Ura, Y., Wada, K. ve Mitsudo, T.A., (2006). "Ruthenium-catalyzed [2+2+1] cocyclization of isocyanates, alkynes, and CO enables the rapid synthesis of polysubstituted maleimides", *J Am Chem Soc*, 128: 14816-14817.
- [66] Zhu, F., Wang Z. ve Wu, X.-F., (2016). "An Efficient Rhodium-Catalyzed Carbonylative Annulation of Internal Alkynes and Anilines To Produce Maleimides", *ChemCatChem*, 8: 3710-3713.
- [67] Tanaka, M., Sagawa, S., Hoshi, J., Shimoma, F., Yasue, K., Ubukata, M., Ikemoto, T., Hase, Y., Takahashi, M., Sasase, T., Ueda, N., Matsushita, M. ve Inaba, T., (2006). "Synthesis, SAR studies, and pharmacological evaluation of 3-anilino-4-(3-indolyl) maleimides with conformationally restricted structure as orally bioavailable PKC β -selective inhibitors", *Bioorg Med Chem*, 14: 5781-5794.
- [68] Hu, W., Zheng, J., Li, J., Liu, B., Wu, W., Liu, H. ve Jiang, H., (2016). "Assembly of Polysubstituted Maleimides via Palladium-Catalyzed Cyclization Reaction of Alkynes with Isocyanides", *Journal of Organic Chemistry*, 81: 12451-12458.
- [69] Basavaiah, D., Reddy, B.S. ve Badsara, S.S., (2010). "Recent contributions from the Baylis-Hillman reaction to organic chemistry", *Chem Rev*, 110: 5447-5674.
- [70] Haval, K.P. ve Argade, N.P., (2008). "General strategy for the synthesis of natural and unnatural dialkylmaleic anhydrides", *Journal of Organic Chemistry*, 73: 6936-6938.
- [71] Awuah, E. ve Capretta, A., (2011). "Development of methods for the synthesis of libraries of substituted maleimides and alpha,beta-unsaturated-gamma-butyrolactams", *Journal of Organic Chemistry*, 76: 3122-3130.
- [72] Lakatosh, S.A., Bykov, E.E. ve Preobrazhenskaya, M.N., (2011). "Synthesis of 2-Hetaryl-3-(Indol-1-Yl)-and -(3-Pyrrol-1-Yl)Maleimides and Study of Their Conversions under the Action of Protic Acids", *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 46: 1224-1232.
- [73] Lim, L.H. ve Zhou, J.R., (2015). "A challenging Heck reaction of maleimides", *Organic Chemistry Frontiers*, 2: 775-777.

- [74] Baag, M.M. ve Argade, N.P., (2006). "Synthesis of natural cytotoxic camphorataimides B and C", *Synthesis-Stuttgart*: 1005-1008.
- [75] Froidevaux, V., Borne, M., Laborbe, E., Auvergne, R., Gandini, A. ve Boutevin, B., (2015). "Study of the Diels-Alder and retro-Diels-Alder reaction between furan derivatives and maleimide for the creation of new materials", *Rsc Advances*, 5: 37742-37754.
- [76] Zhao, Q.Y., Han, X.Y., Wei, Y., Shi, M. ve Lu, Y.X., (2012). "Asymmetric [3+2] annulation of allenes with maleimides catalyzed by dipeptide-derived phosphines: facile creation of functionalized bicyclic cyclopentenones containing two tertiary stereogenic centers", *Chemical Communications*, 48: 970-972.
- [77] Ondrus, V. ve Fisera, L., (1997). "Synthesis and 1,3-dipolar cycloaddition reactions of chiral maleimides", *Molecules*, 2: 49-56.
- [78] Bartoli, G., Bosco, M., Carlone, A., Cavalli, A., Locatelli, M., Mazzanti, A., Ricci, P., Sambri, L. ve Melchiorre, P., (2006). "Organocatalytic asymmetric conjugate addition of 1,3-dicarbonyl compounds to maleimides", *Angew Chem Int Ed Engl*, 45: 4966-4970.
- [79] Fabbro, D., Cowan-Jacob, S.W., Mobitz, H. ve Martiny-Baron, G., (2012). "Targeting cancer with small-molecular-weight kinase inhibitors", *Methods Mol Biol*, 795: 1-34.
- [80] Kumar, M. K., Devilal, M., Satyavathi, J., Ramana, K., Raghuvver, H., Purna, P., Smitha, K. ve Venkata, D., (2014). "Denigrins A-C: new antitubercular 3,4-diarylpyrrole alkaloids from *Dendrilla nigra*", *Nat Prod Res*, 28: 888-894.
- [81] Kupa, K., Heluany, L.D., Drewes, C.S., Vasconcelos, C., Farsky, S.N.S. ve Stefani, H.A., (2017). "Cytotoxic effects of a novel maleimide derivative on epithelial and tumor cells", *Bioorganic Chemistry*, 72: 199-207.
- [82] Sortino, M., Cechinel Filho, V., Correa, R. ve Zacchino, S., (2008). "*N*-Phenyl and *N*-phenylalkyl-maleimides acting against *Candida* spp.: time-to-kill, stability, interaction with maleamic acids", *Bioorg Med Chem*, 16: 560-568.
- [83] Panov, A.A., Simonov, A.Y., Lavrenov, S.N., Lakatosh, S.A. ve Trenin, A.S., (2018). "3,4-Disubstituted maleimides: synthesis and biological activity", *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 54: 103-113.
- [84] Smith, D.G., Buffet, M., Fenwick, A.E., Haigh, D., Ife, R.J., Saunders, M., Slingsby, B.P., Stacey, R. ve Ward, R.W., (2001). "3-Anilino-4-arylmaleimides: potent and selective inhibitors of glycogen synthase kinase-3 (GSK-3)", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 11: 635-639.
- [85] Katritzky, A.R., Fan, W.Q., Li, Q.L. ve Bayyuk, S., (1989). "Novel Chromophoric Heterocycles Based on Maleimide and Naphthoquinone", *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 26: 885-892.
- [86] Palmer, M., Buchkremer, M., Valeva, A. ve Bhakdi, S., (1997). "Cysteine-specific radioiodination of proteins with fluorescein maleimide", *Anal Biochem*, 253: 175-179.

- [87] Majima, E., Shinohara, Y., Yamaguchi, N., Hong, Y.M. ve Terada, H., (1994). "Importance of loops of mitochondrial ADP/ATP carrier for its transport activity deduced from reactivities of its cysteine residues with the sulfhydryl reagent eosin-5-maleimide", *Biochemistry*, 33: 9530-9536.
- [88] Aykin, N., Neal, R., Yusof, M. ve Ercal, N., (2001). "Determination of captopril in biological samples by high-performance liquid chromatography with ThioGlo 3 derivatization", *Biomed Chromatogr*, 15: 427-432.
- [89] Penugonda, S., Wu, W., Mare, S. ve Ercal, N., (2004). "Liquid chromatography analysis of N-(2-mercaptopropionyl)-glycine in biological samples by ThioGlo 3 derivatization", *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 807: 251-256.
- [90] Mare, S., Penugonda, S. ve Ercal, N., (2005). "High performance liquid chromatography analysis of MESNA (2-mercaptoethane sulfonate) in biological samples using fluorescence detection", *Biomed Chromatogr*, 19: 80-86.
- [91] Liu, Y.L., Yu, J.M. ve Chou, C.I., (2004). "Preparation and properties of novel benzoxazine and polybenzoxazine with maleimide groups", *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry*, 42: 5954-5963.
- [92] Ishida, H. ve Ohba, S., (2005). "Synthesis and characterization of maleimide and norbornene functionalized benzoxazines", *Polymer*, 46: 5588-5595.
- [93] Zhang, X.N., Chen, G.C., Collins, A., Jacobson, S., Morganelli, P., Dar, Y.L. ve Musa, O.M., (2009). "Thermally Degradable Maleimides for Reworkable Adhesives", *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry*, 47: 1073-1084.
- [94] Khosravi, E. ve Musa, O.M., (2011). "Thermally degradable thermosetting materials", *European Polymer Journal*, 47: 465-473.
- [95] Chico, L.K., Van Eldik, L.J. ve Watterson, D.M., (2009). "Targeting protein kinases in central nervous system disorders", *Nat Rev Drug Discov*, 8: 892-909.
- [96] Bossemeyer, D., (1995). "Protein kinases--structure and function", *FEBS Lett*, 369: 57-61.
- [97] Peifer, C. ve Alessi, D.R., (2008). "Small-molecule inhibitors of PDK1", *ChemMedChem*, 3: 1810-1838.
- [98] Beurel, E., Grieco, S.F. ve Jope, R.S., (2015). "Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): regulation, actions, and diseases", *Pharmacol Ther*, 148: 114-131.
- [99] Medina, M. ve Wandosell, F., (2011). "Deconstructing GSK-3: The Fine Regulation of Its Activity", *Int J Alzheimers Dis*, 2011: 479249.
- [100] Cormier, K.W. ve Woodgett, J.R., (2017). "Recent advances in understanding the cellular roles of GSK-3", *F1000Res*, 6.
- [101] Hur, E.M. ve Zhou, F.Q., (2010). "GSK3 signalling in neural development", *Nat Rev Neurosci*, 11: 539-551.

- [102] Hoeflich, K.P., Luo, J., Rubie, E.A., Tsao, M.S., Jin, O. ve Woodgett, J.R., (2000). "Requirement for glycogen synthase kinase-3beta in cell survival and NF-kappaB activation", *Nature*, 406: 86-90.
- [103] Phukan, S., Babu, V.S., Kannoji, A., Hariharan, R. ve Balaji, V.N., (2010). "GSK-3beta: role in therapeutic landscape and development of modulators", *Br J Pharmacol*, 160: 1-19.
- [104] Hooper, C., Killick, R. ve Lovestone, S., (2008). "The GSK3 hypothesis of Alzheimer's disease", *J Neurochem*, 104: 1433-1439.
- [105] Maqbool, M., Mobashir, M. ve Hoda, N., (2016). "Pivotal role of glycogen synthase kinase-3: A therapeutic target for Alzheimer's disease", *European Journal of Medicinal Chemistry*, 107: 63-81.
- [106] Luo, J., (2009). "Glycogen synthase kinase 3beta (GSK3beta) in tumorigenesis and cancer chemotherapy", *Cancer Lett*, 273: 194-200.
- [107] Henriksen, E.J. ve Dokken, B.B., (2006). "Role of glycogen synthase kinase-3 in insulin resistance and type 2 diabetes", *Current Drug Targets*, 7: 1435-1441.
- [108] Hardt, S.E. ve Sadoshima, J., (2002). "Glycogen synthase kinase-3beta: a novel regulator of cardiac hypertrophy and development", *Circ Res*, 90: 1055-1063.
- [109] Lal, H., Ahmad, F., Woodgett, J. ve Force, T., (2015). "The GSK-3 family as therapeutic target for myocardial diseases", *Circ Res*, 116: 138-149.
- [110] Giese, K.P., (2009). "GSK-3: A Key Player in Neurodegeneration and Memory", *J Alz Dis*, 61: 516-521.
- [111] Jope, R.S. ve Roh, M.S., (2006). "Glycogen synthase kinase-3 (GSK3) in psychiatric diseases and therapeutic interventions", *Curr Drug Targets*, 7: 1421-1434.
- [112] Takahashi-Yanaga, F., (2013). "Activator or inhibitor? GSK-3 as a new drug target", *Biochem Pharmacol*, 86: 191-199.
- [113] Kim, M., Datta, A., Brakeman, P., Yu, W. ve Mostov, K.E., (2007). "Polarity proteins PAR6 and aPKC regulate cell death through GSK-3beta in 3D epithelial morphogenesis", *J Cell Sci*, 120: 2309-2317.
- [114] Cole, A.R., (2012). "GSK3 as a Sensor Determining Cell Fate in the Brain", *Front Mol Neurosci*, 5: 4.
- [115] Kim, W.Y. ve Snider, W.D., (2011). "Functions of GSK-3 Signaling in Development of the Nervous System", *Front Mol Neurosci*, 4: 44.
- [116] Nayak, G. ve Cooper, G.M., (2012). "p53 is a major component of the transcriptional and apoptotic program regulated by PI 3-kinase/Akt/GSK3 signaling", *Cell Death Dis*, 3: e400.
- [117] Hongo, H., Kihara, T., Kume, T., Izumi, Y., Niidome, T., Sugimoto, H. ve Akaike, A., (2012). "Glycogen synthase kinase-3beta activation mediates rotenone-induced cytotoxicity with the involvement of microtubule destabilization", *Biochem Biophys Res Commun*, 426: 94-99.

- [118] Manceur, A.P., Tseng, M., Holowacz, T., Witterick, I., Weksberg, R., McCurdy, R.D., Warsh, J.J. ve Audet, J., (2011). "Inhibition of glycogen synthase kinase-3 enhances the differentiation and reduces the proliferation of adult human olfactory epithelium neural precursors", *Exp Cell Res*, 317: 2086-2098.
- [119] Golpich, M., Amini, E., Hemmati, F., Ibrahim, N.M., Rahmani, B., Mohamed, Z., Raymond, A.A., Dargahi, L., Ghasemi, R. ve Ahmadiani, A., (2015). "Glycogen synthase kinase-3 beta (GSK-3beta) signaling: Implications for Parkinson's disease", *Pharmacol Res*, 97: 16-26.
- [120] Dajani, R., Fraser, E., Roe, S.M., Young, N., Good, V., Dale, T.C. ve Pearl, L.H., (2001). "Crystal structure of glycogen synthase kinase 3 beta: structural basis for phosphate-primed substrate specificity and autoinhibition", *Cell*, 105: 721-732.
- [121] Ter H., Coll, E., Austen, J.T., Hsiao, D.A., Swenson, H.M. ve Jain, J., (2001). "Structure of GSK3beta reveals a primed phosphorylation mechanism", *Nat Struct Biol*, 8: 593-596.
- [122] Meijer, L., Flajolet, M. ve Greengard, P., (2004). "Pharmacological inhibitors of glycogen synthase kinase 3", *Trends in Pharmacological Sciences*, 25: 471-480.
- [123] Li, D.W., Liu, Z.Q., Chen, W., Yao, M. ve Li, G.R., (2014). "Association of glycogen synthase kinase-3beta with Parkinson's disease (review)", *Mol Med Rep*, 9: 2043-2050.
- [124] Tolosa, E., Litvan, I., Hoglinger, G.U., Burn, D., Lees, A., Andres, M.V., Gomez-Carrillo, B., Leon, T., Del Ser, T. ve Investigators, T., (2014). "A phase 2 trial of the GSK-3 inhibitor tideglusib in progressive supranuclear palsy", *Mov Disord*, 29: 470-478.
- [125] Del Ser, T., Steinwachs, K.C., Gertz, H.J., Andres, M.V., Gomez-Carrillo, B., Medina, M., Vericat, J.A., Redondo, P., Fleet, D. ve Leon, T., (2013). "Treatment of Alzheimer's disease with the GSK-3 inhibitor tideglusib: a pilot study", *J Alzheimers Dis*, 33: 205-215.
- [126] Nwankwo, N., Zhang, Z., Wang, T., Collins, C., Resta, L., Ermisch, S., Day, J., Decker, R., Kornberg, L., Nicol, S., Thornton, D., Armstrong, D.K. ve Carducci, M.A., (2013). "Phase I study of enzastaurin and bevacizumab in patients with advanced cancer: safety, efficacy and pharmacokinetics", *Invest New Drugs*, 31: 653-660.
- [127] Al-Zereini, W., Fotso Fondja Yao, C.B., Laatsch, H. ve Anke, H., (2010). "Aqabamycins A-G: novel nitro maleimides from a marine *Vibrio* species. I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological activities", *J Antibiot (Tokyo)*, 63: 297-301.
- [128] Le Sann, C., (2006). "Maleimide spacers as versatile linkers in the synthesis of bioconjugates of anthracyclines", *Nat Prod Rep*, 23: 357-367.
- [129] Zhang, H.C., Bonaga, L.V., Ye, H., Derian, C.K., Damiano, B.P. ve Maryanoff, B.E., (2007). "Novel bis(indolyl)maleimide pyridinophanes that are potent, selective

- inhibitors of glycogen synthase kinase-3", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 17: 2863-2868.
- [130] Zhang, H.C., Ye, H., Conway, B.R., Derian, C.K., Addo, M.F., Kuo, G.H., Hecker, L.R., Croll, D.R., Li, J., Westover, L., Xu, J.Z., Look, R., Demarest, K.T., Andrade-Gordon, P., Damiano, B.P. ve Maryanoff, B.E., (2004). "3-(7-Azaindoly)-4-arylmaleimides as potent, selective inhibitors of glycogen synthase kinase-3", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 14: 3245-3250.
- [131] Zhang, H.C., White, K.B., Ye, H., McComsey, D.F., Derian, C.K., Addo, M.F., Andrade-Gordon, P., Eckardt, A.J., Conway, B.R., Westover, L., Xu, J.Z., Look, R., Demarest, K.T., Emanuel, S. ve Maryanoff, B.E., (2003). "Macrocyclic bisindolylmaleimides as inhibitors of protein kinase C and glycogen synthase kinase-3", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 13: 3049-3053.
- [132] Ye, Q., Xu, G., Lv, D., Cheng, Z., Li, J. ve Hu, Y., (2009). "Synthesis and biological evaluation of novel 4-azaindoly-indolyl-maleimides as glycogen synthase kinase-3beta (GSK-3beta) inhibitors", *Bioorg Med Chem*, 17: 4302-4312.
- [133] Ye, Q., Shen, Y., Zhou, Y., Lv, D., Gao, J., Li, J. ve Hu, Y., (2013). "Design, synthesis and evaluation of 7-azaindazolyl-indolyl-maleimides as glycogen synthase kinase-3beta (GSK-3beta) inhibitors", *European Journal of Medicinal Chemistry*, 68: 361-371.
- [134] Engler, T.A., Malhotra, S., Burkholder, T.P., Henry, J.R., Mendel, D., Porter, W.J., Furness, K., Diefenbacher, C., Marquart, A., Reel, J.K., Li, Y., Clayton, J., Cunningham, B., McLean, J., O'Toole, J. C., Brozinick, J., Hawkins, E., Misener, E., Briere, D., Brier, R.A., Wagner, J.R., Campbell, R.M., Anderson, B.D., Vaughn, R., Bennett, D.B., Meier, T.I. ve Cook, J.A., (2005). "The development of potent and selective bisarylmaleimide GSK3 inhibitors", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 15: 899-903.
- [135] Gunosewoyo, H., Midzak, A., Gaisina, I.N., Sabath, E.V., Fedolak, A., Hanania, T., Brunner, D., Papadopoulos, V. ve Kozikowski, A.P., (2013). "Characterization of maleimide-based glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) inhibitors as stimulators of steroidogenesis", *Journal of Medicinal Chemistry*, 56: 5115-5129.
- [136] Schmole, A.C., Brennfuhrer, A., Karapetyan, G., Jaster, R., Pews-Davtyan, A., Hubner, R., Ortinau, S., Beller, M., Rolfs, A. ve Frech, M.J., (2010). "Novel indolylmaleimide acts as GSK-3beta inhibitor in human neural progenitor cells", *Bioorg Med Chem*, 18: 6785-6795.
- [137] Demopoulos, V.J., (1989). "A One-Step Conversion of Certain Indole and Pyrrole Glyoxylic-Acid Esters to the Corresponding Acetates", *Synthetic Communications*, 19: 2585-2594.
- [138] Mylari, B.L., Zembrowski, W.J., Beyer, T.A., Aldinger, C.E. ve Siegel, T.W., (1992). "Orally Active Aldose Reductase Inhibitors - Indazoleacetic, Oxopyridazineacetic, and Oxopyridopyridazineacetic Acid-Derivatives", *Journal of Medicinal Chemistry*, 35: 2155-2162.

- [139] Van Meerloo, J., Kaspers, G.J. ve Cloos, J., (2011). "Cell sensitivity assays: the MTT assay", *Methods Mol Biol*, 731: 237-245.
- [140] Vakte, P. B., Bhagwat, M. K. ve Bagul, S.B., (2016). "A Review on Various Biological Activities of Maleimide Derivatives.", *Inventi Rapid: Med Chem.*, 2: 1-7.
- [141] Yan, M., Zhang Z., Zhou J., Fan, W. S. ve Yang, Z., (2018). "Conversion of 3,4-Dihydroxypyrrolidine-2,5-Dione to Maleimide through Tosylation and Mechanism Study by DFT", *Computational Chemistry*, 6: 47-56.
- [142] Bassou, O., Chicha, H., Allam, A., Monticone, M., Gangemi, R., Maric, I., Viale, M. ve Rakib, E., (2019). "Synthesis and Anti-proliferative Activity of Novel Polysubstitued Indazole Derivatives", *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 56: 343-348.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Elif Başak ERSOY
Doğum Tarihi ve Yeri : 01.01.1994, Biga/Çanakkale
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : ersoyelifbasak312@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lisans	Kimya	Yıldız Teknik Üniversitesi	2016
Lise	Matematik/Fen	Bandırma Ayyıldız Anadolu Lisesi	2012

YAYINLARI

Makale

1. Albayrak F., Gunkara O.T., Ersoy E.B., Ocal Sunguroğlu Z.N. ve Kafmann D.E., (2017) "Synthesis of new *N*-norbornylimide substituted amide derivatives, their reductive Heck and domino Heck reactions", ARKIVOC, 5:244-256.
2. Ersoy E.B., Gunkara O.T. ve Ocal N., (2019) "Synthesis of New Polyhedral Oligomeric Silsesquioxane Derivatives as Some Possible Antimicrobial Agents" Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, 194:257-268.

Bildiri

1. Ersoy E.B., Albayrak F., Gunkara Ö.T., Öcal Sunguroğlu Z.N., (2016) "Bistrisiklik İmid Türevi Peptid Moleküllerinin Sentezlenmesi ve Heck Reaksiyonlarının İncelenmesi", 3. Ulusal Organik Kimya Kongresi, 5-8 Eylül 2016, Trabzon/Türkiye.
2. Ersoy E.B., Gunkara Ö.T., Öcal Sunguroğlu Z.N., (2018) "Antimikrobiyal Etki Gösterebilecek Yeni POSS Bileşiklerinin Sentezi" 6. İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi, 22-25 Mart 2018, Antalya/Türkiye.
3. Ersoy E.B., Albayrak F., Gunkara Ö.T., Öcal Sunguroğlu Z.N., (2018) "Synthesis of New Heterocycle Compounds Which May be Anticancer Agent and GSK-3β Inhibitors", 4th Organic Chemistry Congress with International Participation, 4-7 Ekim 2018, Antalya/Türkiye.

Proje

1. Anti-Kanser Ajanları ya da GSK-3 β İnhibitörleri Olabilecek Heterohalkalı Yeni Moleküllerin Sentezi ve Aktivite Çalışmaları (TÜBİTAK 1001/Proje no: 117Z307)-Bursiyer

