

**1-[3,5-BİS (AMİNOMETİL)-4-HİDROKSİ-FENİL]-
3-(ARİL)-2-PROPEN-1-ON' LARIN SENTEZİ,
SİTOTOKSİSİTESİ, SELEKTİVİTE
İNDEKSLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Fatma YEŞİLYURT
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. H. İnci GÜL**

Yüksek Lisans Tezi-2014

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**1-[3,5-BİS (AMİNOMETİL)-4-HİDROKSİ-FENİL]-3-
(ARİL)-2-PROPEN-1-ON' LARIN SENTEZİ,
SİTOTOKSİSİTESİ, SELEKTİVİTE İNDEKLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

FatmaYEŞİLYURT

**Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. H. İnci GÜL**

**ERZURUM
2014**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

1-[3,5-BİS (AMİNOMETİL)-4-HİDROKSİ-FENİL]-
3- (ARİL)-2-PROPEN-1-ON' LARIN SENTEZİ,
SİTOTOKSİSİTESİ, SELEKTİVİTE
İNDEKSLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Fatma YEŞİLYURT

Tez Savunma Tarihi : 14/01/2014

Tez Danışmanı : Prof. Dr. H. İnci GÜL (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Ebru METE (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Kadir Özden YERDELEN (Atatürk Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM - 2014

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	V
ÖZET	VI
ABSTRACT	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ	XIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kanser.....	3
2.2. Karsinogenez	6
2.3. Kanser İnsidansı ve Ölüm Oranı	7
2.4. Kanser Kemoterapisi	10
2.5. Antikanser İlaçların Sınıflandırılması	13
2.5.1. Mitoz İnhibitörleri	13
2.5.2. Alkilleyici Bileşikler	13
2.5.3. Antimetabolit Bileşikler	14
2.5.4. Sitostatik Antibiyotikler	14
2.5.5. Hormon ve Hormon Antagonistleri.....	15
2.5.6. Diğer Sitostatik Bileşikler	15
2.5.7. Radyoaktif İzotoplar	15
2.5.8. İnterferon.....	15
2.6. Alkilleyici Ajanlar	19
2.6.1. Alkilleyici Ajanların Etki Mekanizması	20
2.7. Şalkonlar.....	23

2.8. Mannich Reaksiyonu	27
2.9. α,β -Doymamış Ketonlar	32
2.10. Aktif Karbon-Karbon Çift Bağlarına Michael Katım Tepkimesi	34
2.10.1. Michael Katım Tepkimesinin Mekanizması	34
2.11. Ardışık Sitotoksosite	35
2.12. Mikrodalga Yöntemi ve Kimyasal Sentezlerde Kullanımı	37
2.12.1. Mikrodalga Teorisi.....	37
2.12.2. Mikrodalga Işımadan Kaynaklanan Ürün Seçiciliği.....	38
2.12.3. Mikrodalga Reaksiyon Teknikleri	40
2.13. Biyoaktivite Testleri	42
2.13.1. Sitotoksik Aktivitenin Tayini Amacıyla Kullanılan Biyoaktivite Testleri	42
2.14. 4-Hidroksi Şalkonlar Üzerine Bu Güne Kadar Yapılmış Çalışmalar.....	44
2.15. İlaç Tasarımında Fizikokimyasal Özelliklerin Önemi	49
2.15.1. Hidrofobisite	49
2.15.2. Partisyon Katsayısı (P)	49
2.15.3. Süstitüent Hidrofobiklik Sabiti (π)	50
2.15.4. Elektronik Etkiler.....	50
2.15.5. Sterik Faktörler	51
2.15.6. Hansch Eşitliği	52
2.15.7. İyonlaşma Sabiti (K_a)	53
2.16. İlaç Tasarlamada Topliss Yaklaşımı	54
2.17. Planlanan Bileşiklerin Genel Yapısı ve Antikanser Ajan Olarak Tasarlanmalarındaki Gereçekler.....	55
3. MATERYAL VE METOT.....	57
3.1. Kimyasallar ve Yöntemler.....	57

3.1.1. Sentez Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar.....	57
3.1.2. Yöntemler.....	57
3.2. Şalkonların; 1- (4-Hidroksifenil) -3- aril-2-propen-1-on; Genel Sentez Yöntemi (F1, F2)	58
3.3. Şalkonların Mannich Bazlarının Sentezi (FY Serisi) ve Spektrumlar	59
3.3.1. FY1: 1-[3,5-Bis (dimetilamino) metil-4-hidroksi-fenil]-3-fenil-2-propen-1-on..	59
3.3.2. FY2: 1-[3,5-Bis (dietilamino) metil-4-hidroksi-fenil]-3-fenil-2-propen-1-on	62
3.3.3. FY3:1-[3,5-Bis (pirolidin-1-il) metil-4-hidroksi-fenil]-3-fenil-2-propen-1-on...	64
3.3.4. FY4:1-[3,5-Bis (piperidin-1-il) metil-4-hidroksi-fenil]-3-fenil-2-propen-1-on...	67
3.3.5. FY5:1-[3,5-Bis (morfolino) metil-4-hidroksi-fenil]-3-fenil-2-propen-1-on	69
3.3.6. FY6:1-[3,5-Bis (4-metilpiperazin-1-il) metil-4-hidroksi-fenil]-3-fenil-2-propen-1- on.....	72
3.3.7. FY7:1-[3,5-Bis (dimetilamino) metil-4-hidroksi-fenil]-3- (tiyofen-2-il) -2-propen- 1-on	74
3.3.8. FY8:1-[3,5-Bis (dietilamino) metil-4-hidroksi-fenil]-3- (tiyofen-2-il) -2-propen- 1-on	77
3.3.9. FY9: 1-[3,5-Bis (pirolidin-1-il) metil-4-hidroksi-fenil]-3- (tiyofen-2-il) -2- propen-1-on.....	79
3.3.10. FY10:1-[3,5-Bis (piperidin-1-il) metil-4-hidroksi-fenil]-3- (tiyofen-2-il) -2- propen-1-on.....	82
3.3.11. FY11: 1-[3,5-Bis (morfolino) metil-4-hidroksi-fenil]-3- (tiyofen-2-il) -2-propen- 1-on	84
3.3.12. FY12:1-[3,5-Bis (4-metilpiperazin-1-il) metil-4-hidroksi-fenil]-3- (tiyofen-2-il) - 2-propen-1-on.....	87
3.4. Biyoaktivite Çalışmaları.....	89

3.4.1. Gereç ve Yöntem.....	89
3.4.2. Sitotoksik Aktivite Ölçülmesi	90
4. BULGULAR	91
4.1. Deneysel ve Spektral Bulgular	91
4.2. Biyoaktivite Bulguları	94
5. TARTIŞMA.....	96
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	109
KAYNAKLAR	110
EKLER	121
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	121
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	122

TEŞEKKÜR

Çalıőmalarımın her aőamasında desteğini esirgemeyen, bilgi ve birikimlerinden faydalandığım, çok değerli danıőman hocam Sayın Prof. Dr. H. İnci GÜL' e,

¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumlarımı alan Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi'nin değerli kadrosuna, TOF-MS spektrumlarımı alan Doç. Dr. Murat ŐÜKÜROęLU' na (Gazi Üniversitesi, Ankara), hücre kültürü ile ilgili çok detaylı çalışmaları büyük bir özen ve hassasiyetle gerçekleőtiren Prof. Sakagami' ye (Meikai Üniversitesi, Japonya),

Çalıőmalarım sırasında destek ve yardımlarından ötürü Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı' nın değerli öğretim üyelerine ve laboratuvar arkadaşlarıma,

Ayrıca, çalıőmalarım esnasında maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, öğrenim hayatımdaki zorlukları ve bütün sevinçleri benimle beraber yaőayan canım aileme sonsuz teşekkür ederim.

Fatma YEŞİLYURT

ÖZET

1-[3,5-Bis (aminometil) -4-hidroksifenil]-3- (aril) -2-propen-1-on' ların Sentezi, Sitotoksitesi, Selektivite İndekslerinin Araştırılması

Amaç: Bu tez çalışmasında amaç 1-[3,5-bis (aminometil) -4-hidroksifenil]-3-(aril) -2-propen-1-on kimyasal yapısındaki hidroksi şalkonların ve onların Mannich bazlarının ve sitotoksik/antikanser etkili yeni bileşikler geliştirmek amacıyla sentezlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaca uygun olarak 3- konumundaki aril grubu benzen (F1) ve tiyofen (F2) olarak farklı rezonans enerjili halkalar olarak değiştirilmiştir. Mannich bazlarındaki amin grubu FY1-FY12 bileşikleri için dimetilamin (FY1, FY7), dietilamin (FY2, FY8), piroolidin (FY3, FY9), piperidin (FY4, FY10), morfolin (FY5, FY11), N-metil piperazin (FY6, FY12) olarak değiştirilmiştir. Bu değişimin gerekçesi aminlerin farklı pKa değerlerinin sitotoksik aktiviteye etkisini gözlemlemektir.

Materyal ve Metot: FY1-FY12 bileşikleri, şalkonlardan hareketle paraformaldehit ve baz formunda amin ve çözücü olarak asetonitril kullanılarak, 1:4:4 mol oranlarında reaksiyona sokularak 120°C' de mikrodalga cihazında basınçlı ortamda gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin sitotoksiteleri kanserli [Ca9-22 (diş eti), HSC-2 (ağız), HSC-3 (dil), HSC-4 (dil)] hücre hatları ve normal hücre hatlarına [HGF (diş eti fibroblast), HPC (pulpus hücreleri) ve HPLF (periodontal ligament fibroblastları)] karşı MTT yöntemi ile test edilmiştir.

Bulgular: Reaksiyonların verimleri % 11-95 değişmektedir. Bileşiklerin kimyasal yapıları ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve TOF-MS ile aydınlatılmıştır. Bileşik FY2 ve FY8 viskoz sıvı halde, diğer bileşikler ise katı halde elde edilmişlerdir. Tüm bileşiklerin test edilen hücre hatlarına karşı sitotoksiteleri ve bileşiklerin selektivite indeksleri tablo halinde sunulmuştur.

Sonuç: Bileşiklerin tümü tümör selektiftir. Bileşiklerin tümü test edilen hücre hatlarına karşı genelde türevlendirildikleri şalkonlarından daha az sitotoksiktir. F1' den türevlenen FY5 bileşiğinin gösterdiği genel tümör selektivitesi (3.5), spesifik tümör selektivitesi (8.7) ve PSİ (37.2) değerleri ile ileriki çalışmalar için model olabilecek bileşik olarak kabul edilebilir.

Anahtar Kelimeler: Ca9-22, HSC-2, HSC-3, HSC-4, HGF, HPC, HPLF, Mannich reaksiyonu, sitotoksik aktivite.

ABSTRACT

1 - [3,5-Bis (aminomethyl)-4-hydroxyphenyl]-3-(aryl)-2-propen-1-ones Synthesis, Cytotoxicity, Selectivity Indices Investigation

Aim: In this thesis purpose 1-[3,5-bis(aminomethyl)-4-hydroxyphenyl]-3-(aryl)-2-propen-1-one in the chemical structure chalcones hydroxy and their Mannich bases and cytotoxic / anticancer effective develop new compounds aimed to synthesize. For this purpose, 3 - position on the aryl group benzene (F1) and thiophene (F2) was changed to rings of different resonance energy. In Mannich bases amine groups for the compounds of FY1- FY12 dimethylamine (FY1, FY7), diethylamine (FY2, FY8), pyrrolidine (FY3, FY9), piperidine (FY4, FY10), morpholine (FY5, FY11), N-methyl piperazine (FY6, FY12), as amended. Reason for this change is to observe the effect of amines with different pK a values of cytotoxic activity.

Material and Method: FY1-FY12 compounds from chalcones motion paraformaldehyde and amine base form and acetonitrile as the solvent, by reacting a molar ratio of 1:4:4 was pressurized medium 120°C' de microwave device. The cytotoxicity of compounds in cancer [CA9-22 (gum), HSC-2 (mouth), HSC-3 (fluent), HSC-4 (language)] cell lines and normal cell lines [HGF (gum fibroblasts), HPC (pulpus cells) and HPLF (periodontal ligament fibroblasts)] was tested by MTT assay against.

Results: Reactions ranged from 11 to 95% yields. The chemical structures of compounds ¹H-NMR, ¹³C-NMR, and TOF-MS is illuminated by. Compound FY2 and FY8 viscous liquid, while other compounds are obtained in solid form. The cytotoxicity of the compounds and the compounds were tested against all cell lines selectivity indices presented as tables.

Conclusion: All of the compounds are selective tumor. All of the compounds tested against cell lines are usually less cytotoxic from chalcones derivatived. Derived from F1 compound FY5 tumor selectivity of the shown by the general (3.5), specific tumor selectivity (8.7) and PSI (37.2) with the values acceptable for further studies can be a model compound.

Key Words: CA9-22, HSC-2, HSC-3, HSC-4, HGF, HPC, HPLF, Mannich reaction, cytotoxic activity

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

bs	: Broad Singlet
°C	: Santigrad
Ca9-22	: Dişeti Hücre Karsinomaları
CC₅₀	: Hücrelerin %50' sini Öldüren Bileşiklerin Mikromolar (µM) Olarak Konsantrasyonu
CDCl₃	: Döterokloroform
CHCl₃	: Kloroform
¹³C-NMR	: ¹³ C Nükleer Manyetik Rezonans
d	: Dublet
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
Et₂O	: Dietileter
FBS	: Fetal Bovin Serum
5-FU	: 5-Florourasil
g	: Gram
HGF	: Gingival Fibroblastlar
¹H-NMR	: ¹ H Nükleer Manyetik Rezonans
HPLF	: Peridontal Ligament Fibroblastlar
HSC	: Oral Hücre Karsinomaları
Hz	: Hertz
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
J	: Jiromanyetik Sabiti
m	: Multiplet
MeOH	: Metanol

ml	: Mililitre
μM	: Mikromolar
mmol	: Milimol
ppm	: Milyonda Bir Kısım
PSİ	: Selektivite Güç İndeksi
QSAR	: Kantitatif Yapı Aktivite İlişkileri
RNA	: Ribonükleik Asit
s	: Singlet
SI	: Selektivite İndeksi
SN₂	: Nükleofilik Süstitüsyon
t	: Triplet
TOF-MS	: Time-of-Flight Kütle Spektrumu
TS	: Tümör Selektivitesi
UV	: Ultraviyole

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. A) Normal Hücre Bölünmesi B) Tümörlü Hücre Bölünmesi	4
Şekil 2.2. Kanser risk faktörleri ve yüzdeleri	6
Şekil 2.3. En Sık Görülen kanserler, yaşa standardize insidans hızları	8
Şekil 2.4. Yıllara göre tüm kanserler için yaşa standardize insidans hızları	9
Şekil 2.5. Türkiye' de kadınlarda en sık görülen kanser tipleri dağılımı	10
Şekil 2.6. Hücrenin Yaşam Evreleri	12
Şekil 2.7. Antikanser ilaçların etki mekanizması	17
Şekil 2.8. Bazı antikanser ilaçların etken madde formülleri (1)	18
Şekil 2.9. Bazı antikanser ilaçların etken madde formülleri (2)	19
Şekil 2.10. Mekloreタミンin etki mekanizması	22
Şekil 2.11. Şalkonların genel kimyasal yapısı	23
Şekil 2.12. Bazik koşullarda şalkon sentez mekanizması	25
Şekil 2.13. Asidik koşullarda şalkon sentez mekanizması	26
Şekil 2.14. Bazı şalkon türevleri	27
Şekil 2.15. Monoaminometilasyon sonucu oluşan mono-Mannich bazı	28
Şekil 2.16. Diaminometilasyon sonucu oluşan bis-Mannich bazı	28
Şekil 2.17. Sikloheksanonun asit katalizli aminometilleme tepkime mekanizması	28
Şekil 2.18. Sikloheksanonun baz katalizli aminometilleme tepkime mekanizması	29
Şekil 2.19. α,β -Doymamış bir Mannich bazının tiyollerle reaksiyonu	31
Şekil 2.20. α,β -Doymamış keton	33
Şekil 2.21. GSH' ın biyokimyasal ilişkileri	33
Şekil 2.22. α,β -Doymamış sistemlerde rezonans yapılar (R: H, Alkil, Aril)	34
Şekil 2.23. Dissosiye tiyollerin michael katım mekanizması	35

Şekil 2.24. Nondissosiyeye tiyollerin michael katım mekanizması.....	35
Şekil 2.25. Dr. Yerdelen' in sentezlediği mono Mannich bazlarının genel formülü.....	44
Şekil 2.26. Dr. Bilginer' in sentezlediği mono Mannich bazlarının genel formülü	47
Şekil 2.27. Şalkonların ve Onların Mannich Bazlarının Hücrel Tiyollerle (GSH) Muhtemel Reaksiyonları.....	56
Şekil 3.1. Sentezlenen şalkonların genel kimyasal yapısı	58
Şekil 3.2. FY1 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	60
Şekil 3.3. FY1 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	61
Şekil 3.4. FY1 bileşiğinin kütle spektrumu	61
Şekil 3.5. FY2 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	63
Şekil 3.6. FY2 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	63
Şekil 3.7. FY2 bileşiğinin kütle spektrumu	64
Şekil 3.8. FY3 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	65
Şekil 3.9. FY3 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	66
Şekil 3.10. FY3 bileşiğinin kütle spektrumu	66
Şekil 3.11. FY4 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	68
Şekil 3.12. FY4 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	68
Şekil 3.13. FY4 bileşiğinin kütle spektrumu	69
Şekil 3.14. FY5 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	70
Şekil 3.15. FY5 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	71
Şekil 3.16. FY5 bileşiğinin kütle spektrumu	71
Şekil 3.17. FY6 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	73
Şekil 3.18. FY6 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	73
Şekil 3.19. FY6 bileşiğinin kütle spektrumu	74
Şekil 3.20. FY7 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	75

Şekil 3.21. FY7 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu	76
Şekil 3.22. FY7 bileşiğinin kütle spektrumu	76
Şekil 3.23. FY8 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu	78
Şekil 3.24. FY8 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu	78
Şekil 3.25. FY8 bileşiğinin kütle spektrumu	79
Şekil 3.26. FY9 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu	80
Şekil 3.27. FY9 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu	81
Şekil 3.28. FY9 bileşiğinin kütle spektrumu	81
Şekil 3.29. FY10 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu	83
Şekil 3.30. FY10 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu	83
Şekil 3.31. FY10 bileşiğinin kütle spektrumu	84
Şekil 3.32. FY11 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu	85
Şekil 3.33. FY11 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu	86
Şekil 3.34. FY11 bileşiğinin kütle spektrumu	86
Şekil 3.35. FY12 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu	88
Şekil 3.36. FY12 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu	88
Şekil 3.37. FY12 bileşiğinin kütle spektrumu	89

TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Bening ve malin tümörler arasındaki farklılıklar.....	5
Tablo 2.2. Şalkonların (A1-A8) , Onların Mono Mannich Bazlarının Huh7 ve T47D Hücre Hatlarına Karşı Sitotoksik Aktivite Sonuçları.....	45
Tablo 2.3. Şalkon bileşikleri 1, 3 ve mono Mannich bazları 2a-f ve 4a-e bileşiklerinin sitotoksitesisi	48
Tablo 3.1. Şalkonların (F1, F2) deneysel verileri	59
Tablo 4.1. 1-[4-Hidroksi-3,5-bis ((aminometil) fenil]-3- (aril) -2-propen-1-on bileşiklerinin şalkon bileşiklerinden hareketle sentezine ilişkin deneysel veriler	91
Tablo 4.2. Sentezlenen bileşiklerin ¹ H-NMR verileri	92
Tablo 4.3. Sentezlenen bileşiklerin ¹³ C-NMR verileri.....	93
Tablo 4.4. Sentezlenen Bileşiklerin TOF-MS verileri	94
Tablo 4.5. FY1-FY12 bileşiklerinin sitotoksitesisi	95
Tablo 5.1. Prolidin bazı kullanılarak sentezlenen mono Mannich bazı ve bis Mannich bazının şalkonlarıyla karşılaştırılması.....	103
Tablo 5.2. Morfolin bazı kullanılarak sentezlenen mono Mannich bazı ve bis Mannich bazının şalkonlarıyla karşılaştırılması.....	104
Tablo 5.3. N-Metil piperazin bazı kullanılarak sentezlenen mono Mannich bazı ve bis Mannich bazının şalkonlarıyla karşılaştırılması	105

1. GİRİŞ

Kanser, yaş, cinsiyet, milliyet, etnik köken farkı gözetmeden, herkesi etkileyebilen bir hastalıktır. Uluslararası Kanser Enstitüsü' ne göre dünyada ölüm oranı yüksekliği ile ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer alan bir hastalıktır. Kanserde kontrolsüz aşırı hücre çoğalması söz konusudur. Bu alanda maliyeti yüksek araştırmalar ve yeni tedavi seçenekleri hızla artsa da kanserli hastaların iyileşme oranları ancak %20-25 oranında sağlanabilmektedir.¹

Tedavide asıl amaç, kanseri tümüyle iyileştirmektir. Ancak, bu hedefe halen ulaşılamamıştır. Günümüzde kanserin tedavisinde cerrahi ve ışın tedavisi sıklıkla kullanılmaktadır. Bu tedavilere ek olarak hastanın ağrılarını azaltma, yaşama kalitesini artırmak ve sonra oluşabilecek metastazları önlemeye ve sistemik tedavi sağlamak amacıyla kemoterapi uygulanmaktadır. İdeal bir antikanser ilacın normal hücrelere zarar vermeden sadece kanser hücrelerini öldürmesi yani selektivitesinin yüksek olması beklenir. Ancak, malin kanser hücresi ile normal insan hücresi arasında nicelik olarak çok fark olmadığından kanser tedavileri sırasında sıklıkla sağlıklı hücre ve dokular da hasar görür ve yan etkilere rastlanır. Gözlenen yan etkiler tedavinin tipine ve kişiden kişiye değişir. Hatta aynı kişide bir seanstan diğerine değişebilir. Sitotoksik ilaçlarla gerçekleştirilen tedavi sıklıkla bulantı, kusma, iştah kaybı, zayıflama, halsizlik, kellik ve kansızlık ile enfeksiyon riski artışı şeklinde olmaktadır. Kanser tedavisinde karşılaşılan diğer bir sorun da ilaca karşı gelişen rezistanstır. Sonuç olarak günümüzde kanserin herhangi bir şeklini tamamen tedavi edecek kimyasal bir bileşik henüz bulunamamıştır¹. Bu sebeple, sitotoksik/antikanser etkili ve selektivite indeksi yüksek yeni bileşiklerin tasarım ve sentezine halen ihtiyaç duyulmaktadır.

α,β -doymamış ketonların ve Mannich bazlarının sitotoksik, antikanser bileşikler geliştirmedeki üstünlük ve avantajları bilinmektedir.² Bu amaçla, bu tez kapsamında

1,3-diarilpropen-1-on kimyasal yapısındaki hidroksi şalkonlar ve onların farklı pKa değerine sahip aminlerle Mannich bazlarının sentezi ve sentezlenen bileşiklerin kanserli ve sağlıklı hücre hatlarına karşı sitotoksitelerinin araştırılması amaçlanmıştır. Zira daha önceki çalışmamızda aynı iskelete sahip şalkon mono Mannich bazları güçlü sitotoksik etki göstermişlerdir.³

Çalışmanın ana mantığı biyolojik nükleofiller için daha fazla alkilasyon merkezi üretebilecek bis Mannich bazlarının daha güçlü sitotoksite ve selektivite indeksi gösterebileceğini kurgusu üzerine geliştirilmiş ve farklı rezonans enerjili benzen (36 kcal/mol) ve tiyofen (29 kcal/mol) halka değişimleri uygulanmıştır. Ayrıca, farklı pKa değerine sahip farklı aminlerin kullanımının deaminasyon oranını ve buna bağlı olarak alkilasyon oranını etkileyerek biyolojik aktiviteyi yönlendirme potansiyeline sahip olacağı düşünülmüştür.

2. GENEL BİLGİLER

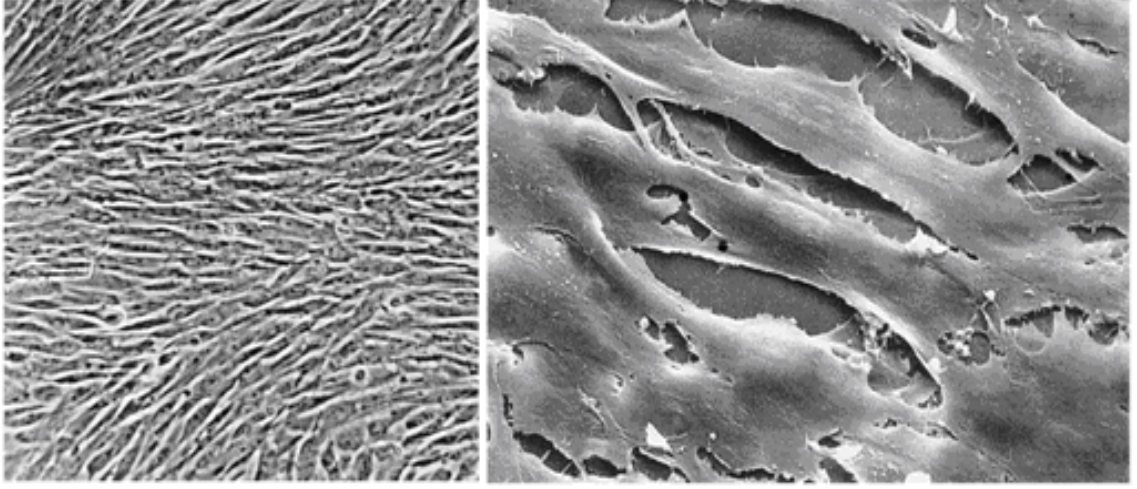
2.1. Kanser

Kanser kompleks bir hastalıktır. Moleküler ve hücre biyolojisine göre kanser anormal bir gen ekspresyonu hastalığıdır. Bu durum, değişen gen ekspresyonu, anormal gen transkripsiyonu, mutasyonu ve translokasyonunu içeren bir dizi mekanizmayla meydana gelir. ⁴ Kanser genelde normal olmayan hücre çoğalmasına verilen isimdir.

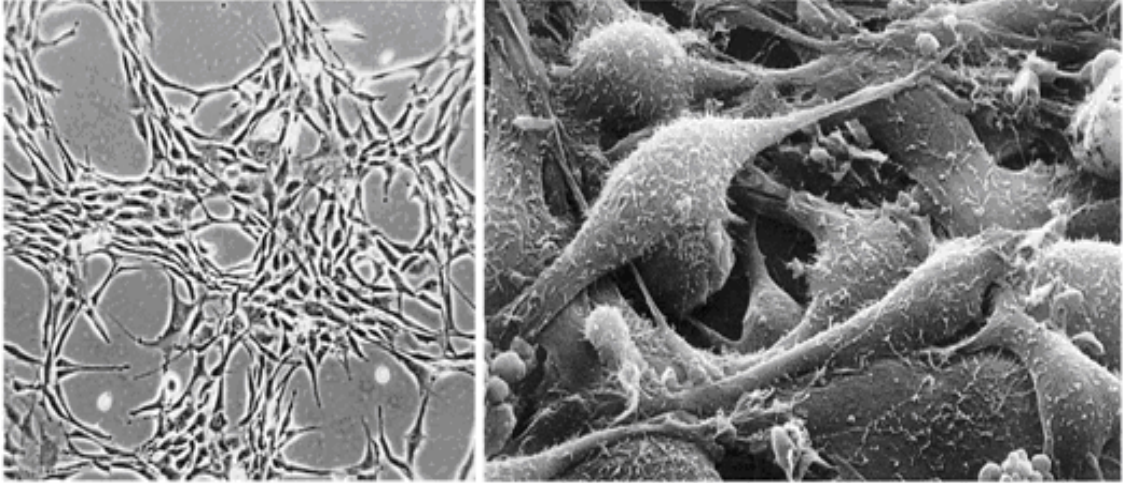
Hızlı hücre çoğalması her zaman tümör gelişimi olarak nitelenemez. Vücut dokularının normalden daha hızlı büyüdüğü iki normal durum söz konusudur. Bu durumlardan ilki; tek bir hücreden insan vücudunun oluştuğu 9 aylık evre, ikincisi ise; vücudun 16 yıla yakın bir süreçte normal ergin boyutta yetişkin insanı oluşturduğu gelişme dönemidir. Aynı zamanda vücutta meydana gelen yaralanmalarda ve tahrip olan dokuların hızla yenilenmesi sırasında vücudumuzda çok sayıda yeni hücre kısa zamanda üretilir. Bahsedilen bu süreçlerin (iyileşme ve gelişme) sonunda genler vücuttaki hücre çoğalmasını durdurma komutunu verirler. Kanserli hücre ise bu “dur” komutuna uymaz. Genetik kodundaki değişiklik hücre çoğalmasını durdurucu etkiyi ortadan kaldırır. Bir kere bu çoğalma başladı mı kanserli hücreler artık kontrolsüz bir şekilde büyümeye başlarlar.

Kanser önce anormal bir hücrede başlar. Bir anormal hücre önce 2 anormal hücreye sonra 4 anormal hücreye dönüşür. Hücrelerin birçok kez bölünmeye başladıkları bu safhaya mitoz dönemi denir. Hızlı ilerleyen kanserler 1-4 haftada 2 kat olurlar. Yavaş gelişen kanserlerde ise bu katlanma 2-6 ay arasında olur. 5 yılda 20 kez bu duplikasyon olur ve bu süre sonunda sadece toplu iğne başı büyüklüğünde olan ancak milyonlarca anormal hücre içeren tümör oluşmuş olur. ⁵ Son çalışmalar herhangi bir kanser tipi için vücuttaki 300-500 arası normal genin modifikasyona uğraması sonucu kanserin ortaya çıktığına işaret etmektedir. ⁶

A) Normal Hücre



B) Tümörlü Hücre



Şekil 2.1. A) Normal hücre bölünmesi **B)** Tümörlü hücre bölünmesi

Bazen aylar, genellikle yıllar süren duplikasyon süreci sonunda vücutta oluşan beze artık elle hissedilebilecek büyüklükte, X-ray’ de görülebilen, ağrı ve kanama gibi semptomlara sebep olabilecek duruma gelir. Şekil 2.1’ de normal ve tümörlü hücre bölünmesi örnek olarak verilmiştir.

Tümör kelimesi kanser oluşumu ve yeniden oluşum diye tabir edilen neoplazm olarak da tanımlanır. Neoplazmlar temelde ikiye ayrılır;⁴

1- Bening (iyi huylu) neoplazmlar: Siğil veya papilloma gibi

2- Malin (kötü huylu) neoplazmlar: Katı tümörler veya lösemi gibi

Tümörler her zaman kötü huylu değildirler. Bening tümörler vücudun herhangi bir yerinde oluşabilirler. Birçoğumuzda ben, çil veya yağ bezeleri gibi bening tümörler vardır. Ancak bunlar bir noktada kalırlar ve etraflarındaki dokuya zarar vermezler. Diğer taraftan malin tümörler 2 önemli özellik taşırlar;

a- Malin tümör hücrelerinin sınırları yoktur. Köklerini salar ve diğer dokulara saldırırlar.

b- Vücuttaki diğer bölümlere sıçrama kabiliyetleri vardır. Malin hücreler tümörü oluşturduktan sonra diğer dokulara yol alırlar ve benzer bir büyümeye o dokularda başlarlar ki bu olaya metastaz denir. Malin hücreler kanserin tipine bağlı olarak çok özel yollarla büyürler.

Kanser kötü huylu neoplazmlar için ortak bir terimdir. İyi huylu ve kötü huylu neoplazmlar arasında bazı genel farklılıklar Tablo 2.1’ de özetlenmiştir;

Tablo 2.1. Bening ve malin tümörler arasındaki farklılıklar

Özellik	Malin	Bening
Kapsüllü	Nadiren	Genellikle
Ayırım	Zayıf	Kısmen
Metastaz	Sıklıkla	Yapmaz
Büyüme Modu	Nüfuz edip genişleyen	Genişleyen
Büyüme Oranı	Hızlı	Yavaş
Hücre Karakterleri		
Kromozom	Anormal	Normal
Nukleus (Çekirdek)	Çoklu	Tekli
Adherence (Yapışkanlık)	Yok	Mevcut
Biçim -boyut	Düzensiz	Düzenli

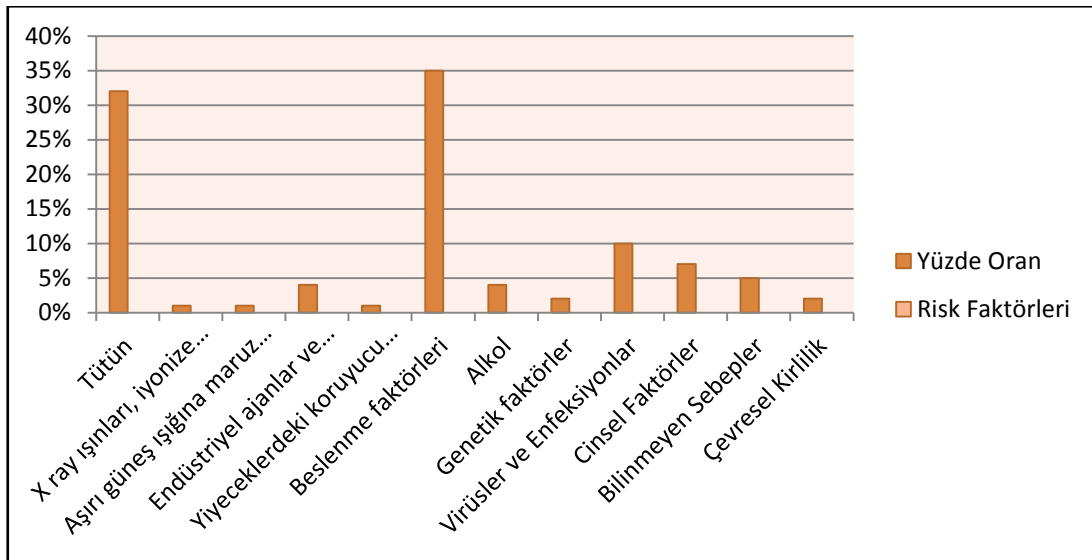
2.2. Karsinogenez

Bir veya daha fazla hücrenin hücresel DNA' sını genetik materyale zarar verebilecek maddelere ve kanserojenlere maruz kaldığında hücrenin kötü huylu transformasyonlar sonucu genetik değişikliğe uğraması karsinogenez olarak adlandırılır⁴.

Her ne kadar kanser genellikle tek bir hastalık gibi düşünülse de kanser yirmiden fazla farklı hastalıktan kaynaklanabilir. Birçok kanserin ise neden olduğu halen bilinmemektedir. Fakat ipuçları araştırmacılar tarafından çözüldükçe kanseri daha iyi anlamak mümkün olabilecektir.

Çalışmalar gösteriyor ki genetik faktörler tüm insan kanserlerinin oluşumunda %5-10 etkiye sahip iken, geri kalan % 85-90' lık risk tamamen yaşayış ile alakalıdır. ⁶ Kimyasal ajanlar, virüsler, iyonize ve ultraviyole radyasyon belli başlı kanserojenlerdir.

Kanseri oluşturan sebeplerden başlıcalarını Şekil 2.2' de özetlenmiştir

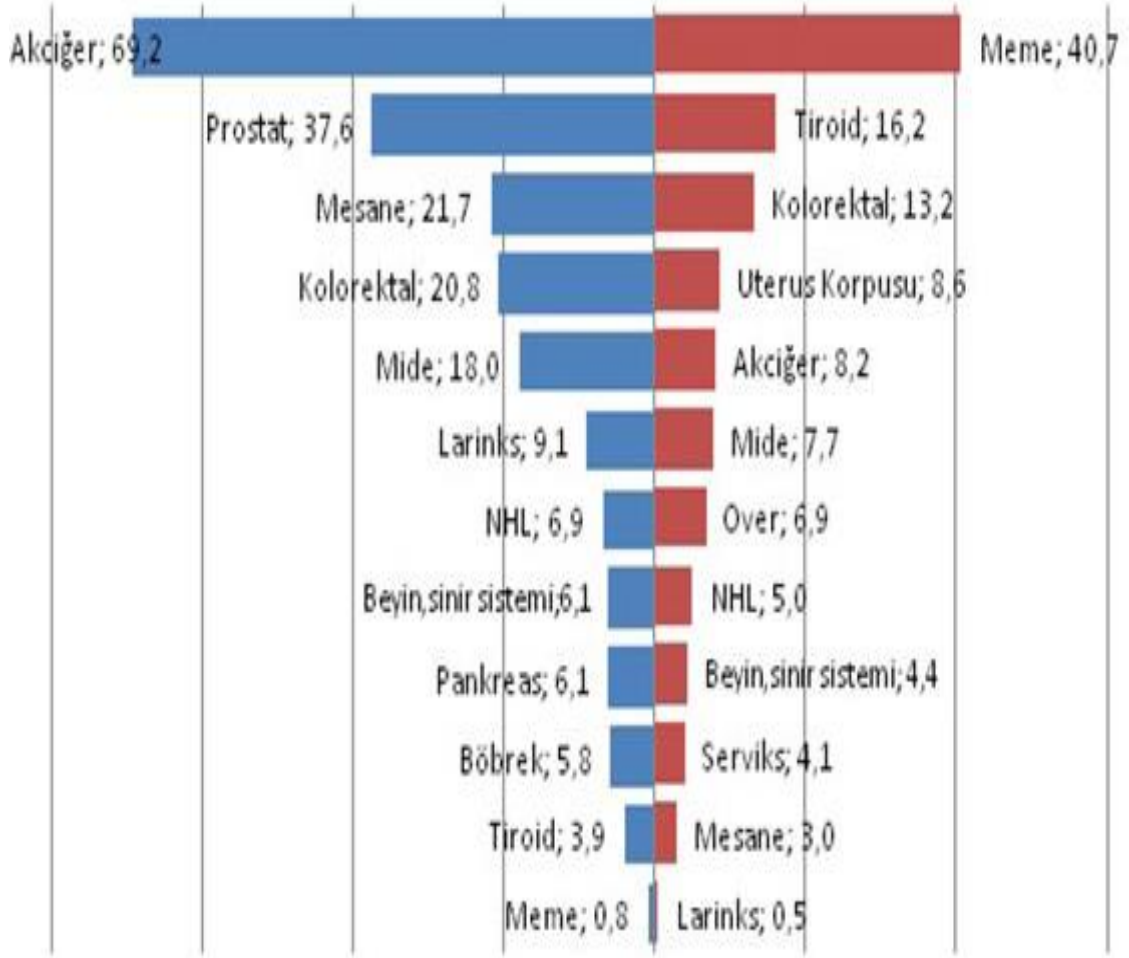


Şekil 2.2. Kanser risk faktörleri ve yüzdeleri

2.3. Kanser İnsidansı ve Ölüm Oranı

Kanser, hücrelerin kontrolsüz anormal büyümesinin ve yayılmasının neden olduğu bir hastalıktır. Kanseri insan sağlığını ciddi şekilde tehdit edebilir ve ölümlerin önde gelen sebeplerindendir.⁷ 1990-2002 yılları arasında, Amerika Birleşik Devletleri'nde 16 milyon yeni kanser vakası tespit edilmiştir. Hem kanser olan kişi için hem de bütün toplum için kanserin finansal maliyeti oldukça yüksektir. Ulusal Sağlık Enstitüsü tarafından Amerika Birleşik Devletleri'nde, kanserin 2010 yılı toplam maliyetinin 263.8 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir. Bu yıl yaklaşık 571.950 Amerikalının kanserden öleceği tahmin edilmektedir, bu da bir günde 1600 kişiden fazla insan demektir. Kanseri, ABD'de kalp-damar hastalıklarından sonra ikinci ölüm nedenidir. Kanseri ABD'de her 4 ölümden birinin sebebidir.⁸

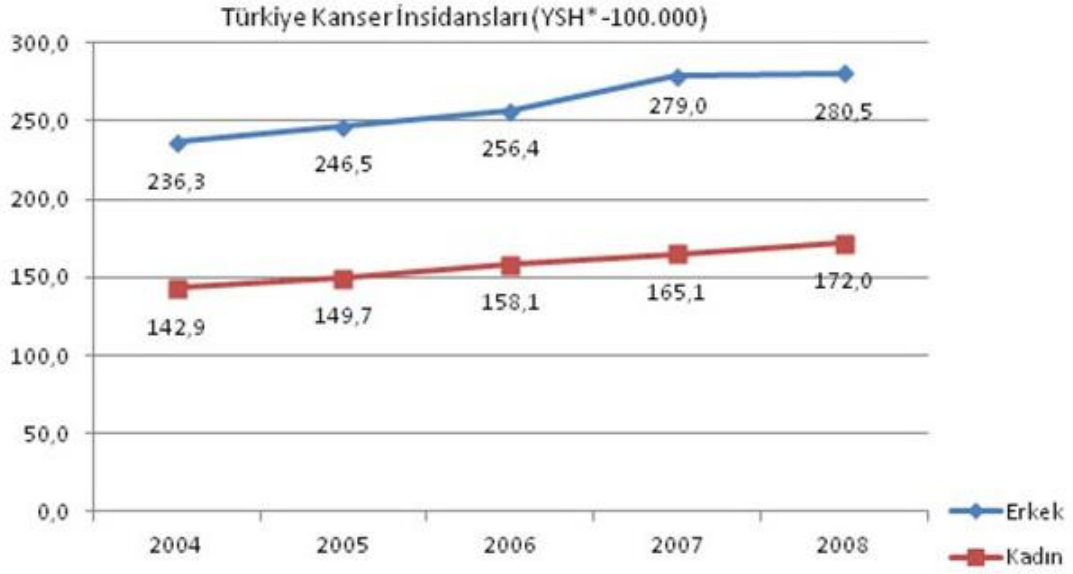
Türkiye'de de aynı şekilde, 1998 yılında en sık görülen ölüm sebepleri arasında kanser %15'e yükselmiş ve %38 ile 1. sırada olan kalp ve damar hastalıklarını takip ederek en çok öldüren 2. ölüm sebebi olmuştur. Türkiye'de 2004-2008 yılları arasında elde edilen bulgulara göre, erkeklerde akciğer, mesane ve larinks gibi sigara kullanımı ile ilişkili kanserler ilk sıralarda yer almaktadır. Kadınlarda ise meme kanseri en sık görülen kanserdir. Kolorektal kanserler, hem erkeklerde hem de kadınlarda üst sıralarda bulunmaktadır (Şekil 2.3). Bu bulgular, ülkemizde en yaygın görülen kanserlerin önlenabilir nitelikteki kanserler olduğunu ortaya koymaktadır.⁹



Şekil 2.3. En Sık Görülen kanserler, yaşa standardize insidans hızları

* (Türkiye, 2004-2008)

* Yüz binde, Dünya Standart Nüfus



Şekil 2.4. Yıllara göre tüm kanserler için yaşa standardize insidans hızları

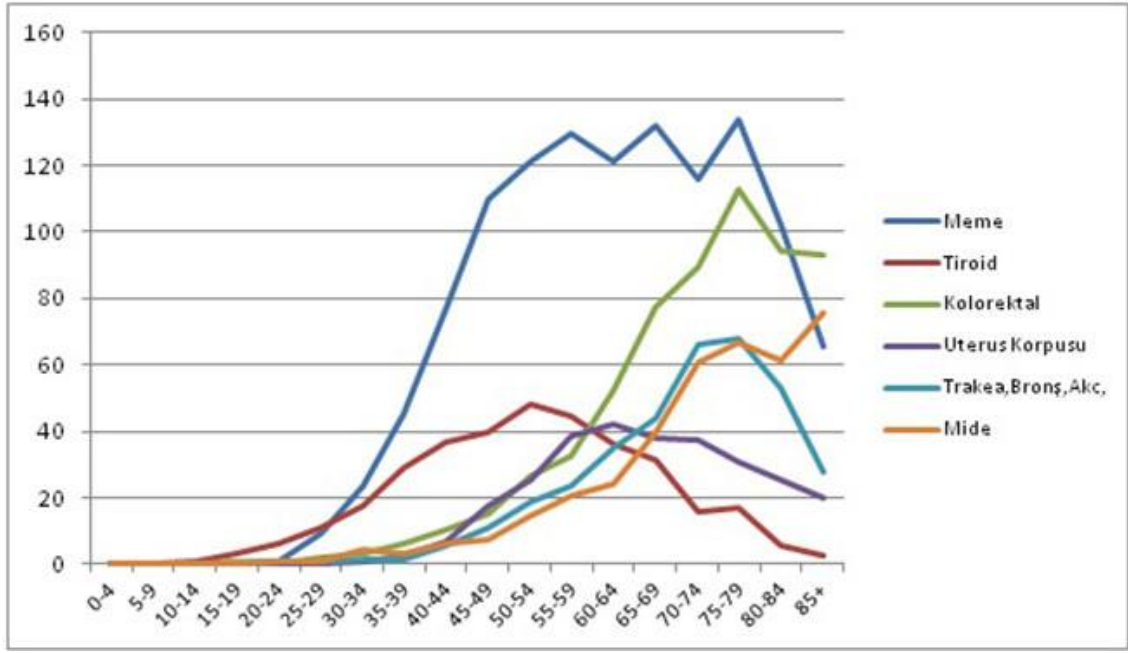
*Türkiye

*Yüz binde, Dünya Standart Nüfusu, **M.Melonom dışı

Şekil 2.4. incelendiğinde, yaşa standardize kanser insidans hızlarının yıllara göre her iki cinstede de arttığı görülmektedir.⁹ Türkiye’ de kanser vakası sayısı 1999 yılında 58.1 iken 2008 yılına gelindiğinde bu sayı 280.5 olmuştur.⁹

Her ne kadar kanserin oluşum ve yayılmasının mekanizması hala çok iyi bilinmese de, bunda dış faktörlerin (sigara, kimyasallar, radyasyon ve enfeksiyonlar gibi) ve iç faktörlerin (metabolizma mutasyonları, hormonlar ve immün koşullar gibi) ilgili olduğu düşünülmektedir. Bu faktörler tek başına veya birlikte karsinojen olarak rol alabilirler. Hücre, mutasyonunun başlamasından saptanabilir ve kanser hücresinin oluşumuna kadar 10 yıldan fazla zaman geçebilir.

Kanser yaşlılık hastalığı olarak da tanımlanabilir. Tümör oluşumu 20’ li yaşlarda başlayıp 50 yaş ve sonrasında, kanserin ortaya çıkmasıyla geçen bir süreç olduğu tahmin edilmektedir. Yani inkübasyon sürecinin yaklaşık 20-30 yıl civarı olduğu düşünülmektedir.⁶ Şekil 2.5’ te Türkiye’ de kadınlarda en sık görülen kanser tipleri görülme dağılımı gösterilmiştir.⁹



Şekil 2.5. Türkiye’ de kadınlarda en sık görülen kanser tipleri dağılımı

Çeşitli kanser nedenlerini tanımlamanın bir yolu da toplumları ve toplumlardaki insan davranışlarını incelemektir. Değişik faktörlerle karşılaşmış veya değişik davranış alışkanlıkları olan insanlardaki kanser görülme hızları karşılaştırılmıştır. Toplum çalışmalarından çıkarılan önemli sonuç kanserlerin değişik toplumlarda değişen sıklıklarda görülmesi olmuştur. Mide kanserinin Japonya’ da, kalın barsak kanserinin ABD’ de ve deri kanserlerinin Avustralya’ da yüksek oranda görülmesi örnek olarak verilebilir.

2.4. Kanser Kemoterapisi

Neoplastik hastalıkların kemoterapisinde modern dönem nitrojen mustardların (azotlu hardallar) kullanımıyla başlar. Kemoterapötik ajan olan azotlu hardallar halen antineoplastik ilaç olarak kullanılmakta ve farklı analoglar geliştirilmektedir.⁴ Kanser tedavisinde son yıllarda gelişen teknoloji sayesinde daha başarılı sonuçlar alınsa da; henüz kanserin tamamen nasıl tedavi edileceği ve kemoterapi uygulanan hastalarda

oluşan birçok istenmeyen yan etkinin nasıl önleneceği hususunda daha etkili ve güvenilir tedaviler için çok kapsamlı çalışmalar halen yapılmaktadır.

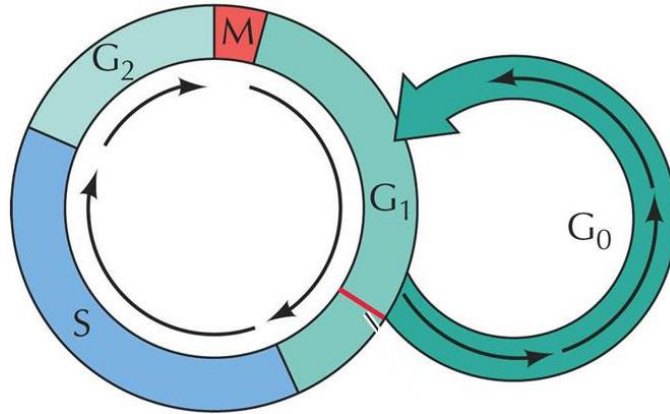
Kanser araştırmalarında ilerleme U.S. FDA' in (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) yıllar içinde verdiği onay sayılarıyla belirlenmektedir. FDA 1970 yılında birçok, 1987'de 7 adet, 1996' da 16 adet, 1998' de 21 adet ve 2006' da 28 adet kanser araştırmasına onay vermiştir. FDA' in onay verdiği antikanser bileşiklerin % 70' inden fazlası eski Roma Dönemi' nde rahatsızlıkların tedavisinde kullanılan geleneksel, kaynağı bitki türevi olan doğal bileşikler olmuştur. ⁶

Kanser, çok basamaklı hücre sinyal yollarındaki düzensizlik sonucu olarak da ortaya çıkabilir. Günümüzde mevcut antikanser tedavileri çoğunlukla tek hedeflidir. Tek hedefli tedavilerin etkisizliği, güvenilirliğinin azalması ve yüksek maliyeti bu tedavi yaklaşımına eğilimi azaltmıştır. Sonuç olarak birçok ilaç şirketi çoklu hedefli tedavilerin gelişmesine artan bir ilgi duymaktadır.

Kanser için kemoterapi, dar anlamda, kanser hücrelerini yok etmek veya kontrol altında tutmak için kullanılan kemoterapötik ajanları ifade etmektedir. Bu ajanlar aslında genellikle toksik veya hayatı tehdit eden maddelerdir. Kanser kemoterapisi ilk olarak 1950'li yıllarda, savaş gazı olarak kullanılan nitrojen mustardın, tümör hücrelerinin büyümesini etkili şekilde inhibisyonunun keşfedilmesiyle başarılı şekilde uygulanmıştır. Antikanser ilaçlarla kemoterapi etkili olmasına rağmen bu ilaçların aşırı toksik etkilerinden dolayı 1960'lı yıllara kadar yaygın şekilde kullanılmamıştır. 1970'lerin başında kemoterapi diğer tedavi yöntemleriyle birlikte hızla gelişim göstermiş ve bazı kanser tipleri tedavi edilebilir hale gelmiş veya en azından hastaların ömrü uzatılmıştır. Bazıları sentetik kimyasallar bazıları da doğal ekstraktlar olmak üzere yüzlerce antikanser ajan bugüne kadar klinik kullanım için uygun hale gelmiştir. ⁷

Kanser olgusunu ve antikanser ilaç gruplarının özelliklerini açıklayabilmek için hücre bölünmesiyle ilgili olarak hücre dönemleri aşağıdaki gibi özetlenebilir. Hücrenin yaşam çevriminde 5 evre vardır (Şekil 2.6) :

1. G_0 evresi (dinlenme evresi) : Hücre henüz bölünmeye başlamamıştır.
2. G_1 evresi: DNA senteziyle ilgili enzimlerin ve RNA' nın sentezlendiği dönemdir.
3. S evresi: DNA içeriği kopyalanır. Böylece oluşan her iki yeni hücre aynı DNA içeriğine sahip olur.
4. G_2 evresi: Hücre DNA kopyalarını kontrol eder ve bölünmeye hazırlanır.
5. Mitoz evresi (M) : Hücre içindeki bütün bileşenler çiftlenmiştir ve bölünmeyle iki yavru hücre oluşur.



Şekil 2.6. Hücrenin Yaşam Evreleri

2.5. Antikanser İlaçların Sınıflandırılması

Günümüzde kliniğe girmiş ilaçlar etkilerine göre sekize ayrılır ¹⁰:

- Mitoz inhibitörleri
- Alkilleyici bileşikler
- Antimetabolitler
- Sitostatik antibiyotikler
- Hormon ve hormon antagonistleri
- Diğer sitostatikler
- Radyoaktif izotoplar
- İnterferon

Bazı antikanser ilaçların kimyasal formülleri Şekil 2.8 ve Şekil 2.9' de, antikanser ilaçlar ve etki mekanizmalarını özetleyen şema Şekil 2.7' te sunulmuştur.

2.5.1. Mitoz İnhibitörleri

Doğal kaynaklı bazı alkaloidler bu grup içinde değerlendirilirler. Kolşisin ve vinka alkaloidleri, hücre çekirdeğinin bölünme fazına etki gösterirler ve hücrede poliploid çekirdek oluşumuna sebep olurlar. Vinblastin ve vindesin vinka alkaloidlerine örnek olarak gösterilebilirler. Tedavide yaygın olarak kullanılan taksanlar (örneğin taksol) da bu grupta değerlendirilirler. ¹⁰

2.5.2. Alkilleyici Bileşikler

Bu bileşikler nükleik asitleri alkilleyerek etkilerini gösterirler. Bu yolla DNA değişimine neden olurlar ya da çapraz bağlanmayı gerçekleştirirler. Böylece nükleik asit reduplikasyonunu engelleyerek hücre bölünmesini inhibe ederler. ¹⁰

Kimyasal yapılarına göre yedi grupta incelenirler:

- Azotlu hardallar: siklofosfamid, melfalan, klorambusil
- Etilenimin türevleri: tiyotepa

- Alkil sülfonatlar: busulfan, treosulfan
- Nitrozoüre türevleri: karmustin, lomustin, nimustin
- Karbazin grubu bileşikler: prokarbazin, dakarbazin
- Platin kompleksleri: sisplatin, karboplatin
- Diğer organometal bileşikler: spirogermanyum

2.5.3. Antimetabolit Bileşikler

Bu grup bileşikler, genellikle nükleik asitlere veya bunların yapısına katılan koenzimlere yapısal olarak benzerler. Bu yolla nükleik asitlerin polimerizasyonunu veya polimeraz enzimlerin aktivitesini durdurarak antikanser etki gösterirler. Metabolizma faaliyetleri yönünden bu bileşikler kanser hücreleri yanında normal hücreleri de etkilerler, yani sitostatik özellikleri seçimli değildir. Dolayısıyla çok toksiktir ve klinik kullanımları sınırlıdır.¹⁰ Üçü ayrı ayrı incelenirler:

- Substrat analogları: fluorourasil, merkaptopürin
- Nükleozit analogları: sitarabin, tegafur
- Folik asit analogları: metotreksat, aminopterin

2.5.4. Sitostatik Antibiyotikler

Antibiyotikler hücre kromozomu ile hücreye verilen emirler zincirini bozarak veya DNA bağımlı RNA sentezini inhibe ederek etkilerini gösterirler.¹⁰ Dört grupta incelenirler:

- Polipeptit antibiyotikler: aktinomisin, bleomisin
- Antrasiklin grubu antibiyotikler: daunorubisin, epirubisin
- Antrakınon ve akridin grubu: mitoksantron, amsakrin
- Mitomisin

2.5.5. Hormon ve Hormon Antagonistleri

Bu grup bileşiklerin sitostatik etkileri yoktur. Bunlardan östrojen, progesteron ve androjenler genellikle, büyümesi hormonal etkilere bağlı olan kanser türlerinde kullanılırlar. Daha çok prostat, meme ve uterus korpus karsinomlarında tedavide kullanılırlar. Etkilerini doğrudan kanserli dokuyu inhibisyon veya hormon salgılarını inhibisyon yoluyla etkilerini gösterirler. Klorotrianisen, tamoksifen formestan ve mifepriston örnek olarak verilebilir.¹⁰

2.5.6. Diğer Sitostatik Bileşikler

Asparajinaz, mopidamol, kolsemid, retinoitler, miltefosin bu gruptadır.

2.5.7. Radyoaktif İzotoplar

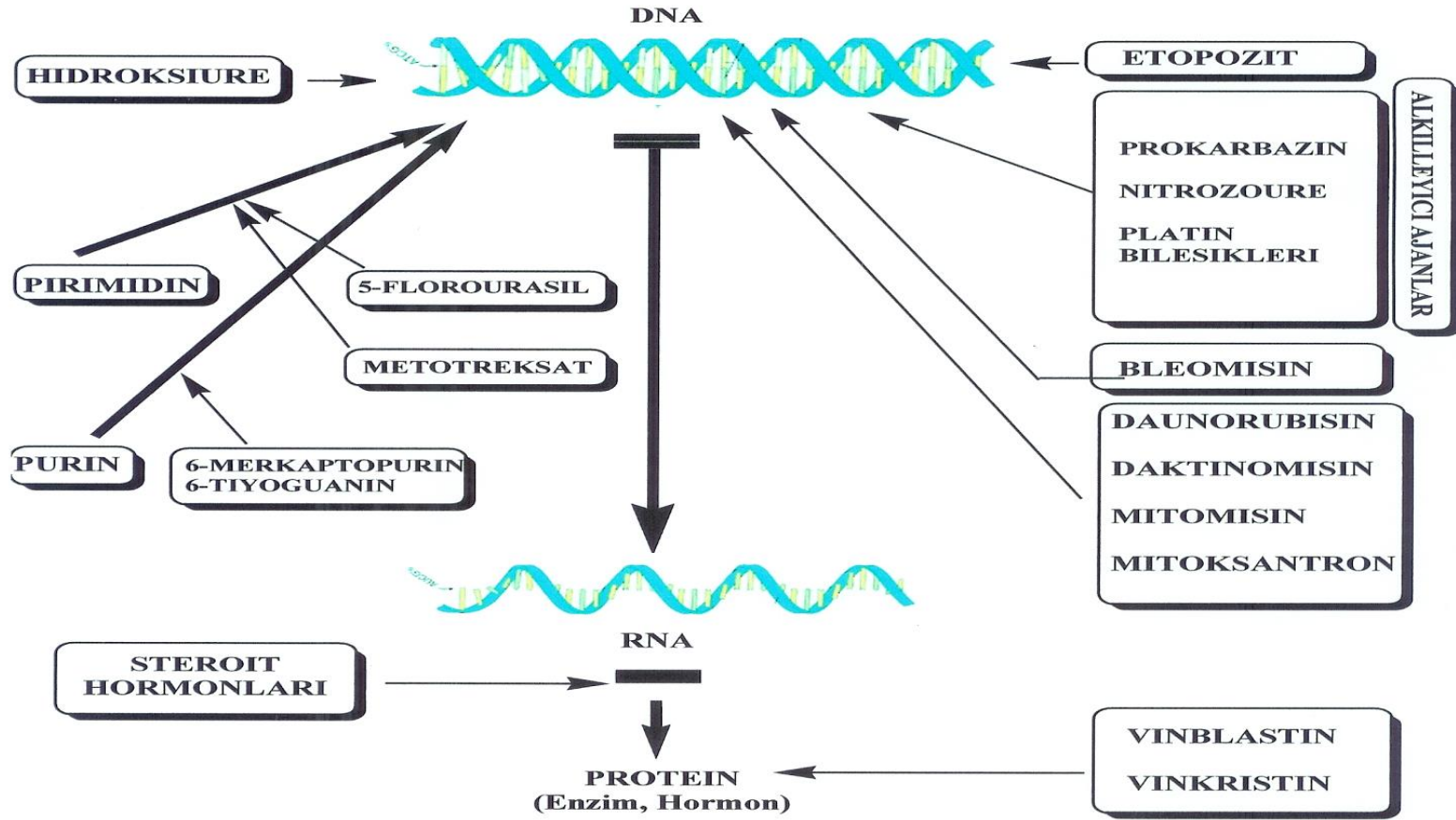
Işın tedavisine yardımcı bir tedavi şeklidir. Kullanılan izotoplar radyoaktif fosfor ve radyoaktif iyottur.

2.5.8. İnterferon

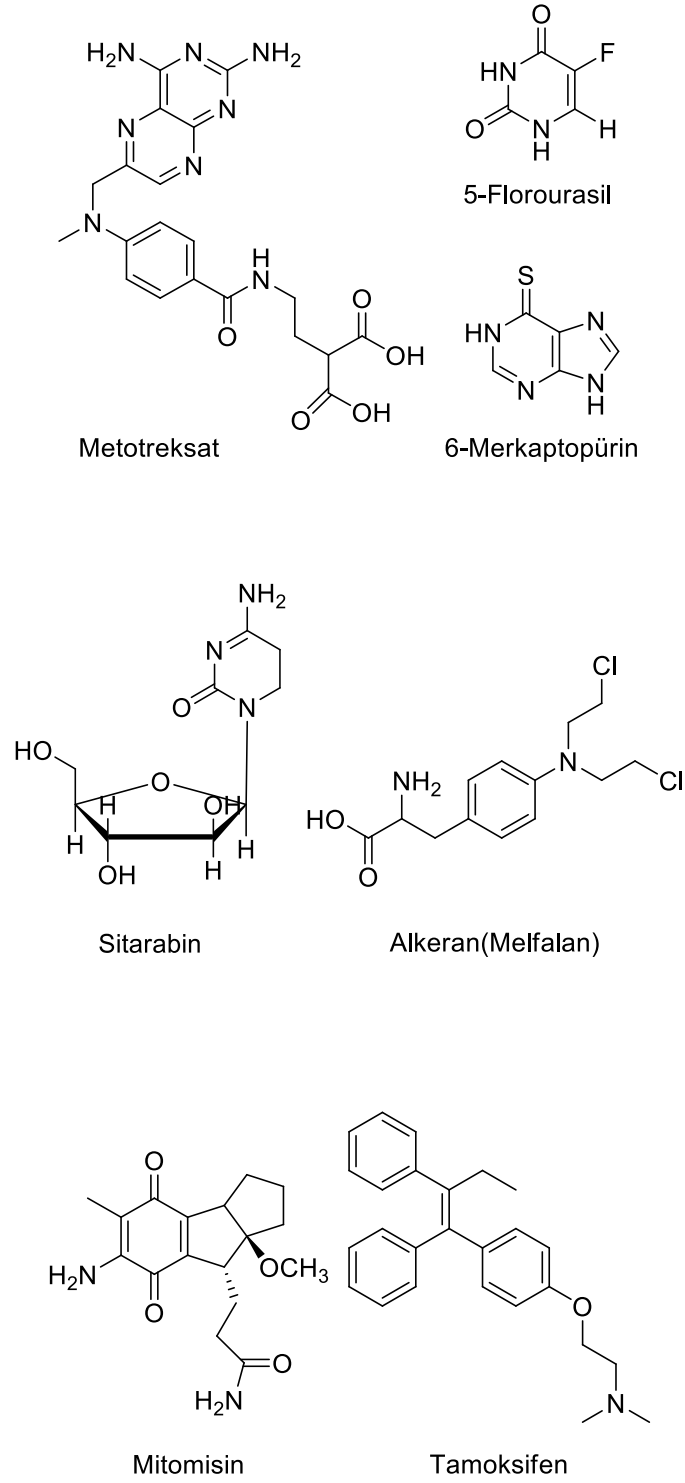
Tümör hücre gelişimini antiproliferatif olarak inhibe eder. Bütün bu ilaçlara rağmen kanserde tam tedavide eksiklik vardır. Her ne kadar kanser hücreleri varlığını korusa da bütün klinik belirtiler kaybolduğu zaman kanserin hafiflediği söylenir. Kanserde etkili tedavi yöntemleri; cerrahi, radyoterapi, kemoterapi, hormon terapisi ve immunoterapidir. Bu tedavi yöntemlerinin her birinin avantajları ve dezavantajları vardır. En etkili sonuçlar için bunların kombinasyonuna gerek vardır.⁷ Erken teşhis, tam cerrahi operasyon ve etkili radyoterapi hastanın prognozunun belirlenmesi açısından kritik faktörlerdir. Bütün bunlara rağmen en önemlisinin erken teşhis olduğunu belirtmek gerekir.

Kanserli dokunun ve etrafındaki etkilenen dokunun cerrahi olarak çıkarılması, yeterince büyük tümörler için etkili ve birincil olarak tercih edilmesi gereken prosedürdür. Ancak cerrahi girişimin, daha hızlı metastatik süreci tetikleyerek kanser

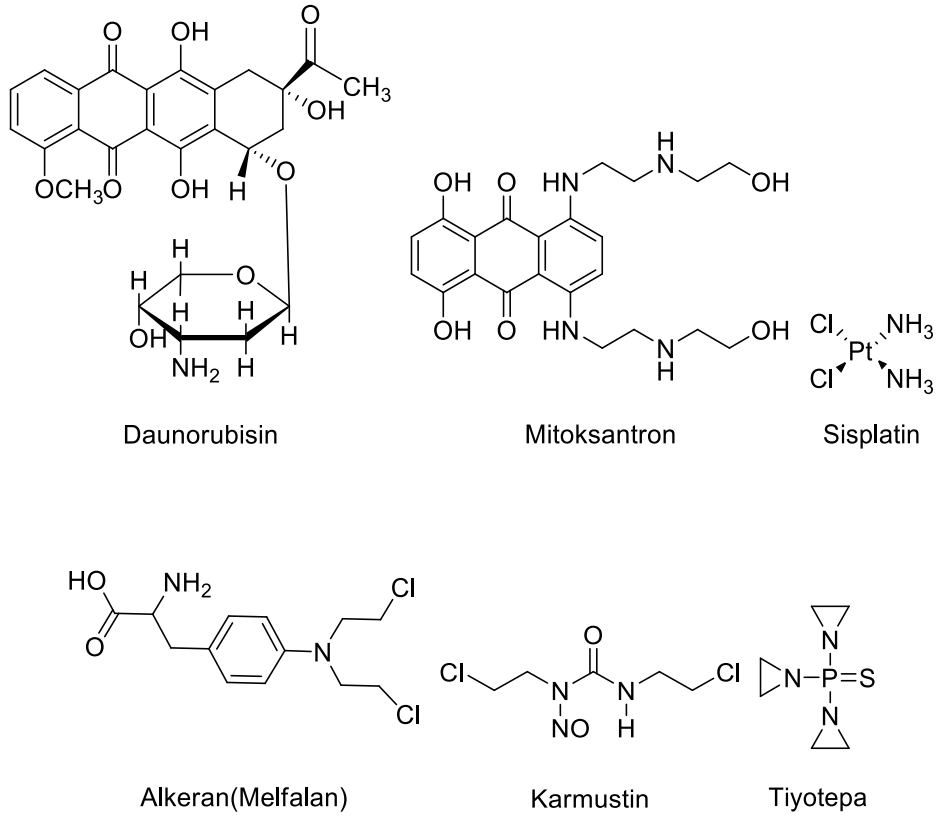
hücrelerinin büyümesi gibi istenmeyen yan etkiye sahiptir.^{11, 12} Multimodel terapi (radyoterapi, kemoterapi, immunoterapi ve diğer tedavi yöntemleri) metastatik kanser hücrelerini yok etmek veya en azından kontrol altında tutmak için iyi bir yöntemdir. Kanser tedavisi için yeni yöntem ve teknikler gelişmektedir ve bu, modern tıp, bilim ve teknolojinin odak noktasıdır.^{12, 13}



Şekil 2.7. Antikanser ilaçların etki mekanizması



Şekil 2.8. Bazı antikanser ilaçların etken madde formülleri (1)



Şekil 2.9. Bazı antikanser ilaçların etken madde formülleri (2)

2.6. Alkilleyici Ajanlar

Kanser tedavisinde kullanılan en önemli ilaç gruplarından biri alkilleyici bileşiklerdir. İlk başta savaş gazları olarak geliştirilen alkilleyici ajanlar kanser kemoterapisinin modern döneminde kullanılmaya başlanan ilk bileşiklerdir. Azotlu hardallar kanserin klinik tedavisine girmiş ilk alkilleyici bileşiklerdir. Bunların yüksek reaktif özellikte olan analogu olarak bilinenlerine sülfürlü hardal denir. Bunlarda savaşlarda kullanılmış göz, deri ve solunum sistemine zarar verici özellikte olan bir bileşiklerdir. İlk klinik ve deneysel hayvan çalışmalarında sülfürlü hardalın hem insanda hem hayvanda tümör oluşumunu yavaşlattığı ancak sistemik kullanım için aşırı toksik olduğu bildirilmiştir.¹⁴

Azotlu hardalların kanser kemoterapötik ajanı olarak kullanımını 1946' da Gilman ve Phillips tarafından rapor edilmiştir. İlk azotlu hardallardan biri olan Mekloretilamin klinik olarak etkili bir antikanser ajandır. Bu buluş daha sonradan bu bileşiğin analoglarının senteziyle devam etmiştir.

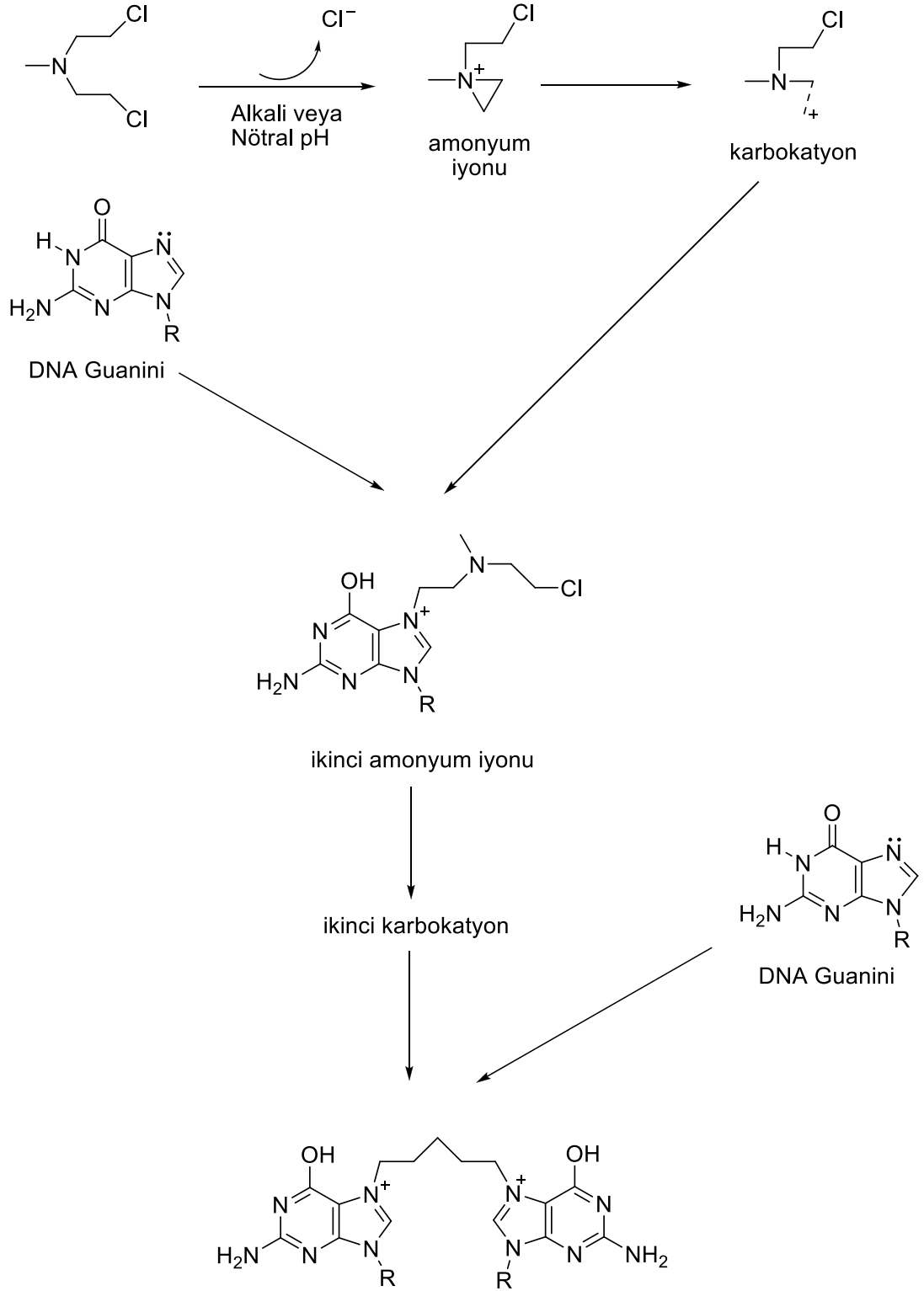
2.6.1. Alkilleyici Ajanların Etki Mekanizması

Alkilleyici antikanser ajanlar farklı yapılarda bileşiklerdir. Kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılır. Tüm alkilleyici ajanların oksijen, azot, fosfor veya sülfür atomlarına alkil gruplarını eklemek suretiyle birçok hücrenel bileşenin elektronca zengin nükleofilik bölgelerine saldırma özellikleri ortaktır. Alkilleyici bileşikler faza özgü olmayan sitotoksik maddeler olmalarına rağmen hücre siklusunun G₁ ve S fazlarına duyarlı olup, G₂ fazında da blokaj gösterirler.^{15, 16} Hücreler üzerindeki sitotoksik etkilerini hücre yaşam döngüsü boyunca gösterirler fakat daha hızlı çoğalan hücrelere karşı kantitatif olarak daha fazla aktivite gösterirler.¹⁷ Alkilleyici ajanların kemoterapötik yararlılığı DNA yapısı ve/veya fonksiyonunu değiştirebilme ile sahip olduğu sitotoksik etkilerindedir.¹⁸

Alkilleyici ajanların kullanımındaki bir sınırlama da farklı mekanizmaların sebep olduğu ilaç rezistansı gelişimidir. Bu grup bileşiklere direnç gelişmesi, ilaca karşı geçirgenliğin değişmesi ve hücrede Glutasyon (GSH) ve glutasyon transferaz (GT) seviyelerinin artması ile ilişkilendirilmiştir. GSH ve Glutasyon-S-Transferaz (GST) seviyeleri birçok kanserli dokuda normal dokulara kıyasla yüksek bulunmuştur.^{19, 20} Hücrede bol miktarda bulunan GSH, L-sistein, L-glutamik asid ve glisin gibi 3 aminoasitten oluşmuş tiyol içeren bir tripeptittir. Vücutta, 30 µM' dan (plazmada) 3.0 mM' lara kadar (böbrek proksimal tübüllerinde) değişen konsantrasyonlarda bulunur. Bu miktarların çeşitli organların tümörlerinde 10 mM' a kadar yükseldiği bildirilmiştir.

Alkilleyici antikanser ajan olan Mekloretilamin' in etki mekanizması Şekil 2.10' da gösterilmiştir. İlk basamakta kloroetil yan zincirlerinden biri pH bazik veya nötral ortamda halkalaşmaya gider. Klor anyonu salınır ve ortamda amonyum iyonu oluşur. Bu 3 üyeli gergin halka, nükleofilik gruplara saldırabilir. Reaktivitesi yüksektir. Bazı sebeplerden reaksiyon amonyum iyonu halkasının açılarak ortamda imonyum iyonu oluşturmasıyla devam edebilir. Nükleik asitler ve proteinlerdeki amin, karboksil, sülfidril veya imidazol yapıları gibi nükleofilik gruplar alkilenebilirler. Guanin' in N-7 pozisyonunu DNA alkilasyonu için en uygun bölgesidir. Guanin' in N-1 ve O-6 pozisyonlarına; Adenin' in N-1, N-3 ve N-7 pozisyonlarına; Sitozin' in N-3 pozisyonuna ve de Timidin' in O-4 pozisyonunda daha az katım meydana gelir.⁴

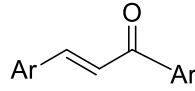
İki reaktif kloroetil yan zinciri taşıyan bifonksiyonel gruplu alkilleyici ajanlar bir yan zinciri kovalent bağ oluşturduktan sonra diğer kloroetil yan zinciri de benzer aşamaları geçirir. Bu ikinci reaksiyon başka bir Guanin' in 7 numaralı azotu veya başka bir nükleofilik yapıyla olur. Diğer Guanin ile reaksiyon meydana geldiğinde DNA sarmalları arasında çapraz bağlanma gerçekleşir. DNA' nın aynı sarmalındaki bazlar arasında bağlanma da mümkündür. DNA' nın çapraz bağlanması DNA replikasyonunu (ikileşme) , tamirini ve transkripsiyonunu (yazılım) engelleyebilir.²³ Monoalkillenmiş DNA Guanin birimlerinin üretmek için 2. zincir su gibi zayıf bir nükleofille reaksiyona girebilir.



Şekil 2.10. Mecloretaminin etki mekanizması

2.7. Şalkonlar

Şalkonlar kimyasal olarak 1,3-diaril-2-propen-1-on yapısındaki bileşiklerdir (Şekil 2.11).⁴ Şalkon ismi ilk olarak Kostanecki tarafından verilmiştir. Şalkon kimyasal yapısındaki α,β - doymamış keton yapısı içerir. Aril halkasındaki süstitüsyona bağlı olarak çok geniş biyolojik aktiviteye sahiptirler. Antibakteriyel, antimalaryal, antifungal, antiallerjik ve antitümör etkileri bu biyolojik etkilerine örnek olarak verilebilir.²⁴



Şekil 2.11. Şalkonların genel kimyasal yapısı

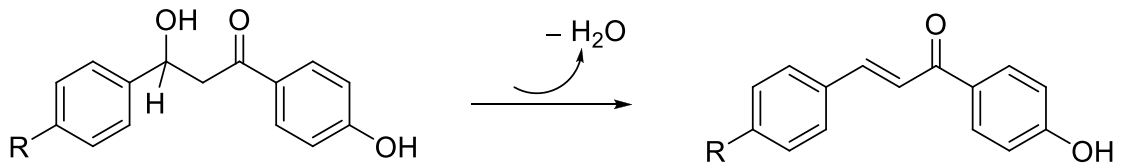
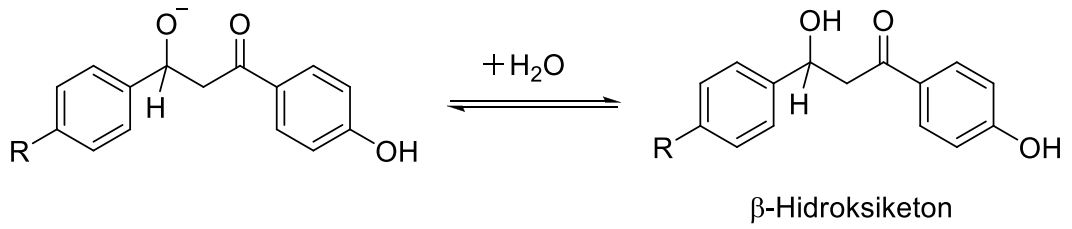
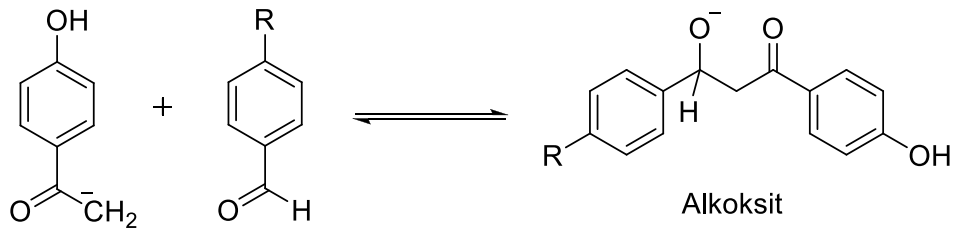
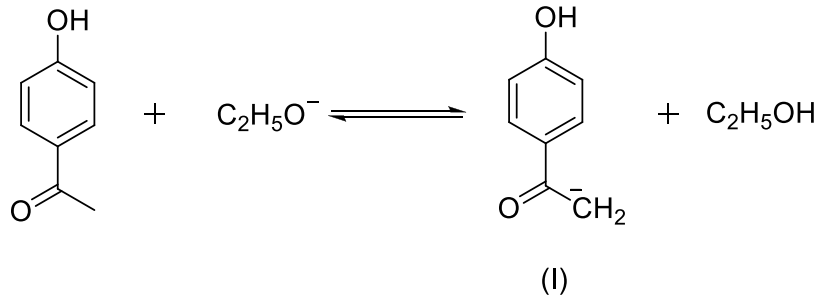
Şalkonların genel sentez reaksiyonu olan Claisen Schmidt kondensasyonu, modifiye edilmiş bir aldol kondensasyonudur. Bu metod seyreltik asidik veya bazik ortamda α hidrojeni olan bir keton veya bir aldehitin reaksiyonu ile bir β -hidroksi aldehit veya β -hidroksi ketonun oluştuğu ve ardından genellikle dehidrasyon ile α,β -doymamış ketonun oluştuğu bir reaksiyondur. Oysa ki Claisen Schmidt reaksiyonu α hidrojeni olmayan bir aldehit ile bir keton arasındaki kondensasyon reaksiyonudur. Reaksiyon hem bazik hem de asidik koşullarda gerçekleşebilir.

Şalkonun bazik koşullarda oluşum mekanizması Şekil 2.12' de verilmiştir. Buna göre ilk basamakta alkoksit ($C_2H_5O^-$) iyonu ketonun α protonunu kopararak karbanyon oluşturur (I) . Bu karbanyon enolat anyonu ile rezonans durumdadır. Diğer basamakta karbanyon arilaldehitin elektropozitif karbonil karbonuna saldırarak bir alkoksit oluşturur. Ardından bu alkoksit sudan bir hidrojen kopartarak β -hidroksi ketonu oluşturur. Son basamakta β -hidroksi keton dehidrasyona uğrayarak şalkon adı verilen

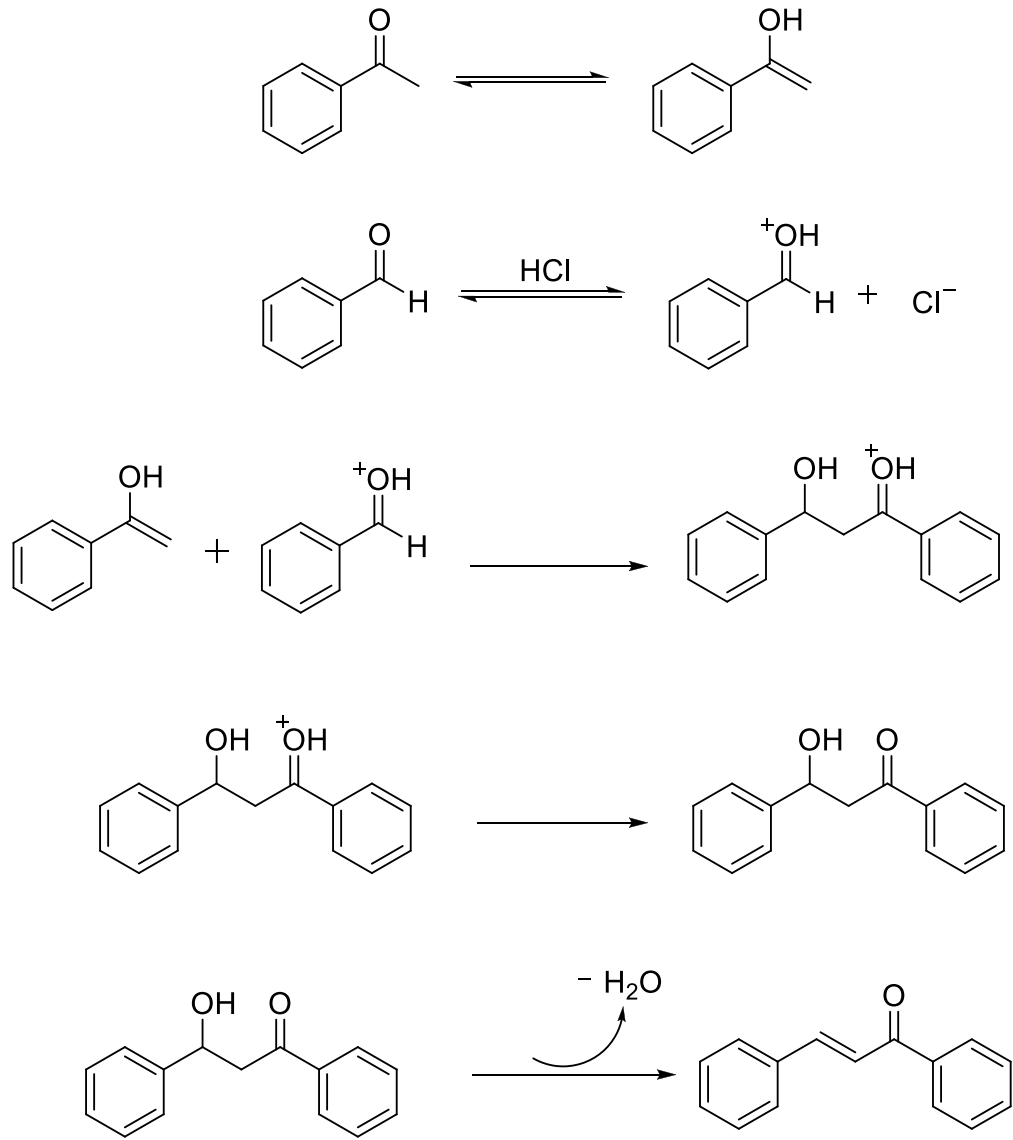
α,β -doymamış keton artığı içeren yapıyı oluşturur. Şalkonun asidik koşullarda oluşum mekanizması Şekil 2.13' te gösterilmiştir.

Enon sisteminin çifte bağı şalkonların antitümör ajanlar olarak etki göstermesinde gerekli bölgesidir. Çalışmalarda C-C çifte bağının hidrojenlenmesi, bromlanması veya epoksit hale dönüşümü şalkonların aktivitelerini düşürdüğü rapor edilmiştir.²⁵

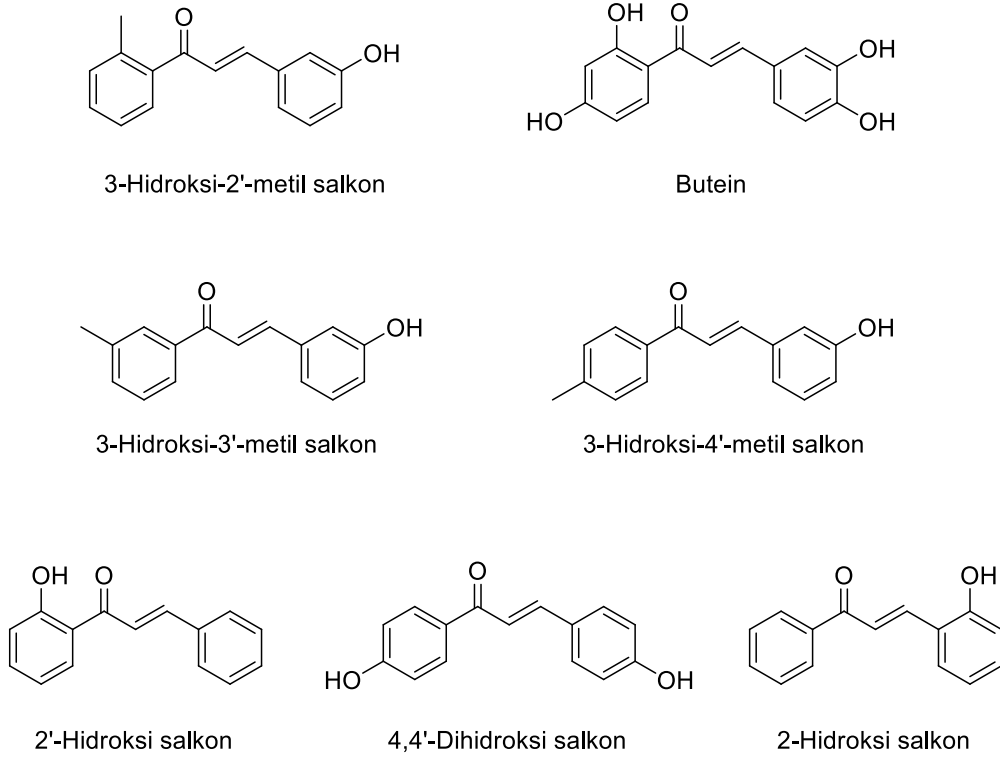
Antitümör etki gösteren bazı şalkon türvelerine örnek olarak; 3'-, 4'- ve 2'-metil-3-hidroksişalkon türevleri HeLa hücrelerine karşı antitümör aktivite göstermeleri verilebilir.²⁶ Ayrıca, butein, 2'-hidroksişalkon, 2',6'-dihidroksi-4'-metoksişalkon, 2',4'-dihidroksişalkon türevleri insan kolon adenomkarsinoma hücre hatlarına karşı yüksek sitotoksik aktivite göstermiştir.²⁷ 4,4'-dihidroksişalkon türevinin de CEM-C1 ve CEM-C7 insan lösemi hücre hatlarına karşı büyümeyi inhibe edici özellik gösterdiği rapor edilmiştir.²⁸ Bu örnekler çoğaltılabilir. Antikanser etkili bazı şalkon bileşikleri Şekil 2.14' te sunulmuştur.



Şekil 2.12. Bazı koşullarda şalkon sentez mekanizması



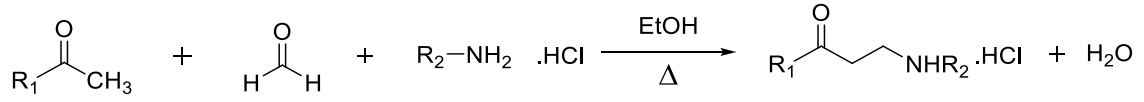
Şekil 2.13. Asidik koşullarda şalkon sentez mekanizması



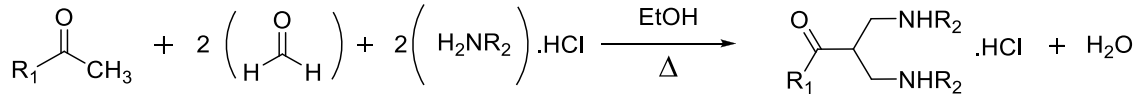
Şekil 2.14. Bazı şalkon türevleri

2.8. Mannich Reaksiyonu

α – Karbonuna en az bir H atomu bağlı olan ketonlar (α -H taşıyan bileşikler) , primer amin veya sekonder amin veya amonyak bir aldehit ile reaksiyona girerek β -amino ketonları verirler. Başka bir deyiş ile aktif hidrojen atomunun birincil, ikincil veya üçüncül amino türevlerini (Mannich bazları) vermek üzere aminometil ya da süstitüe aminometil grupları ile yer değıştirmesidir (Şekil 2.15).² Şayet substratta birden çok aktif hidrojen atomu bulunuyorsa birden çok aminometilleme gerçekleşecektir (Şekil 2.16) . İşte bu tür reaksiyonlara Mannich reaksiyonu, elde edilen ürünlere de Mannich bazı denir. Bu safhada ilk çalışmaları 1912 yılında kimyacı Carl Mannich tarafından gerçekleştirildiğinden oluşan bileşiklere Mannich bazı denilmektedir.²⁹



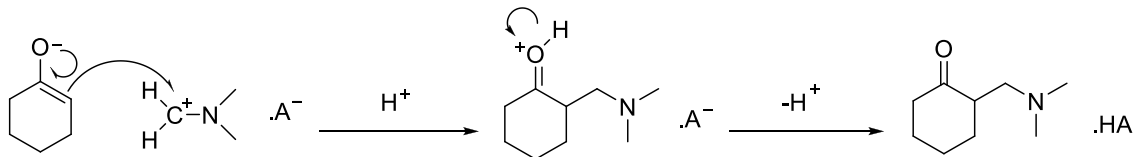
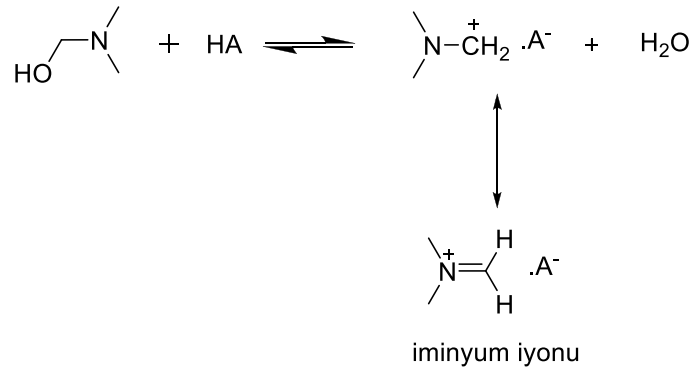
Şekil 2.15. Monoaminometilasyon sonucu oluşan mono-Mannich bazı



R_1 = Alkil veya aril R_2 = Alkil veya Hidrojen

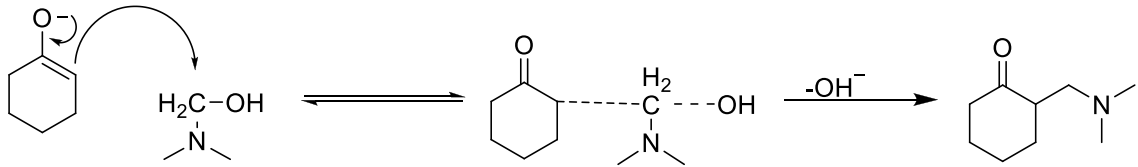
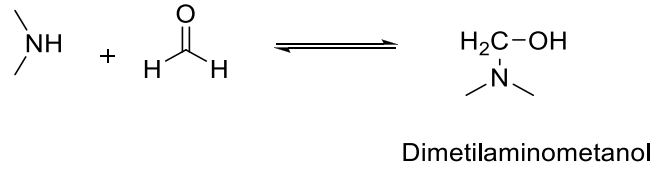
Şekil 2.16. Diaminometilasyon sonucu oluşan bis-Mannich bazı

Mannich tepkimesi asidik veya bazik koşullarda uygun çözücüler (genellikle alkol) kullanılarak geri çeviren soğutucu altında yürütülür.



Şekil 2.17. Sikloheksanonun asit katalizli aminometilleme tepkime mekanizması

Asidik koşullarda aminin büyük ölçüde tuz şeklinde bulunması tepkimenin iminyum iyonu üzerinde yürümesini sağlar (Şekil 2.17). Bazik koşullarda ise mekanizma, sadece dimetilaminometanol ara ürünündeki hidroksilin, oluşan sikloheksanon karbonyonu ile yer değiştirmesi şeklinde açıklanabilir (Şekil 2.18). Tepkime mekanizması SN₂' dir.

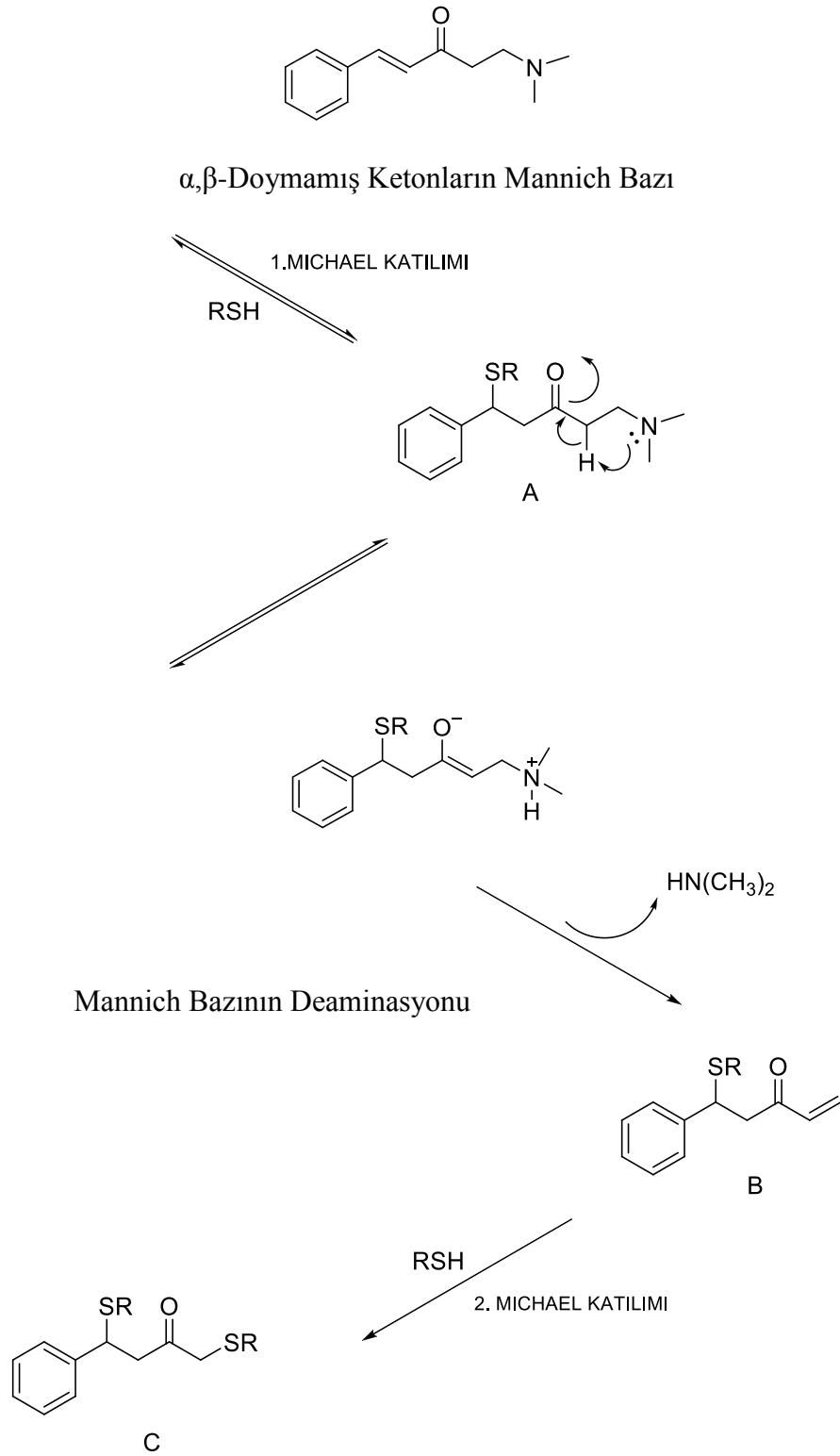


Şekil 2.18. Sikloheksanonun baz katalizli aminometilleme tepkime mekanizması

Mannich reaksiyonlarında genellikle formaldehit kullanılır (aminoalkilleme amacıyla arilaldehitler de kullanılabilir). Aktif hidrojen bileşiği olarak ketonlar kullanılmakta ve bazı durumlarda molekül içi aminoalkilasyon ile halkalı türevler de oluşabilmektedir.

Mannich bazları Michael akseptörü olan α,β -doymamış ketonların prodrugları olarak dizayn edilirler.³⁰ Mannich bazlarının sitotoksik^{31, 32}, antikanser^{33, 34}, analjezik^{35, 36}, antiinflamatuar^{37, 38}, diüretik^{39, 40}, antimikrobiyal^{41, 42}, antikonvulzan^{43, 44}, antimalaryal^{45, 46}, antiviral⁴⁷ ve antifungal^{47, 48} gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri rapor edilmiştir.

Antikanser ve sitotoksik ajan olarak stiril ketonların konjuge Mannich bazları hazırlanmıştır.⁴⁹ Mannich bazları selektif toksisite açısından çok önemli bileşiklerdir. Şöyle ki, bu bileşikler nükleik asitlerde bulunan amin ve hidroksil gruplarıyla çok az veya hiç etkileşmezken, tiyol gruplarının alkilasyonunda çok başarılı bulunmuşlardır.⁵⁰ Bu sebeple Mannich bazlarının genotoksik özelliklerden yoksun olduğu düşünülür. Şekil 2.19' da bir stiril keton Mannich bazının tiyollerle olan reaksiyonu örnek olarak şematize edilmiştir. Görüldüğü gibi tiyol tarafından ilk atak olefinik bağa yapılmış, ardından mono tiyol gruplu ara ürün A deaminasyona uğrayarak ürün B' yi oluşturmuştur. 2. Tiyolün, deaminasyonla oluşan çifte bağa katılmasıyla ürün C oluşur. Bu kademeli olayların neoplastik hücelere normal dokulardan daha fazla zarar verdiği ve oluşan sitotoksitenin sebebi olabileceği ifade edilmektedir.⁵¹



Şekil 2.19. α,β -Doymamış bir Mannich bazının tiyollerle reaksiyonu

Enonların Mannich bazlarının hazırlandığı bir çalışmada bu bileşiklerin P388 ve L1210 hücre hatlarına karşı prekürsör keton bileşiğinden daha fazla sitotoksik aktivite gösterdiği rapor edilmiştir.⁵²

Sitotoksik aktivite artışı Mannich bazlarının fizikokimyasal ve biyokimyasal özelliklerinden kaynaklanabilir.

Bu özelliklerden bazıları;

1. Sudaki çözünürlük arttırıldığından aktif bileşiklerin daha iyi taşınmasıyla bir veya birden fazla bölgede aktivite meydana gelebilir.

2. Mannich bazlarının toksisitesi, mitokondrideki elektron taşıma zincirine ya kısmen ya da tamamen müdahale etmesiyle görülür.

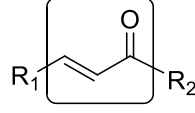
3. Farklı Mannich bazlarının bir tiyolle reaksiyonunun analog ketonların tiyolle reaksiyonundan daha hızlı olduğu bulunmuştur.⁵³

2.9. α,β -Doymamış Ketonlar

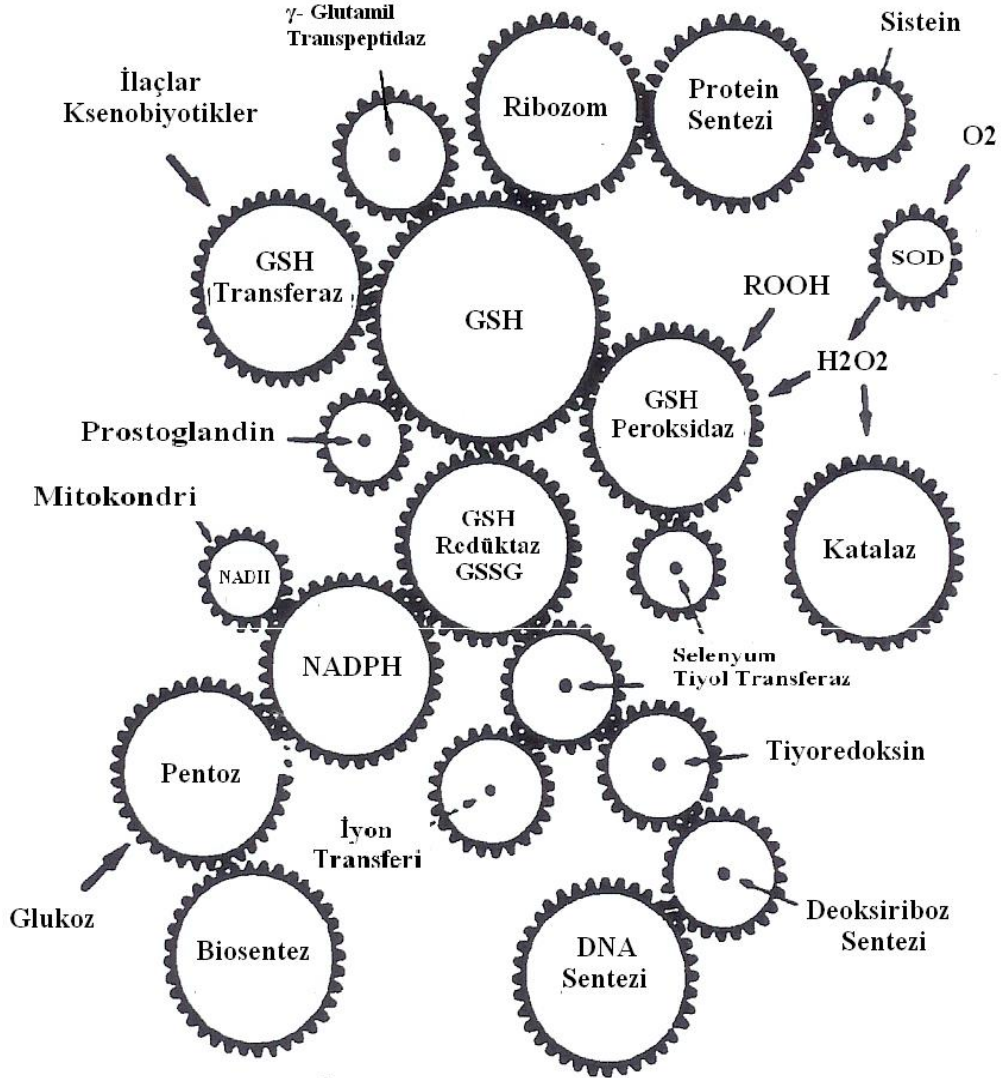
α,β -doymamış ketonların (Şekil 2.20), amin ve hidroksil gruplarına karşı ilgisi az ya da yok denecek kadar az, tiyollere karşı ilgisi ise çok fazladır.⁵⁴ Bu özellik nükleik asitlerle etkileşmeyi engeller. Bundan dolayı bu bileşiklerde alkilleyici bileşiklerin kullanımında gözlenen kanserojenik⁵⁵ ve mutajenik⁵⁶ yan etkiler gözlenmez.

Tiyollere karşı α,β -doymamış ketonların tercihli afinitesi daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir.^{57, 58} Hücre bölünmesinden hemen önce artmış glutatyon seviyeleri daha önce rapor edilmiştir.⁵⁹ Bu yüzden normal dokulardan ziyade tümörlü dokulara karşı başarılı bir seçici sitotoksikite α,β -doymamış ketonlarla mümkün olabilir. Ayrıca bazı seçici tiyol alkilleyicilerin tümörlü dokulara normal dokulardan daha fazla etki gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu tespit, genellikle kanserli dokulardan daha çok normal dokulardaki makromoleküllere bağlanmayı tercih eden geleneksel alkilleyici ajanlara ve antimetabolitlere karşın, tercihen tümörlü dokulardaki DNA, RNA ve proteinlerin farklı prekürsörlerine bağlanan seçici tiyol alkilleyicilerin yeteneğine atfedilir.⁶⁰ Tiyol alkilleyicilerin bu yeteneği, bir şekilde GSH (Glutatyon) ile ilgili olduğu bilinen Şekil 2.21' de gösterilen, kompleks biyokimyasal ilişkilerle güçlendirilmiş olabilir.⁶¹ Şekil 2.21' deki veriler GSH' ın tek kontrol ajanı olarak

düşünülemeyeceğini göstermekle birlikte, GSH' ın diğer birçok biyokimyasal sistemde direkt ya da indirekt yolla bir şekilde rol aldığını düşündürür. Bu yüzden α,β -doymamış ketonların tiyollere karşı tercihli afinitesi tümörlü dokuda DNA, RNA ve protein sentezlerinde normal dokulara göre daha etkili olabileceği savunulabilir.



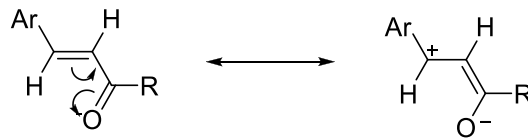
Şekil 2.20. α,β -Doymamış keton



Şekil 2.21. GSH' ın biyokimyasal ilişkileri

2.10. Aktif Karbon-Karbon Çift Bağlarına Michael Katım Tepkimesi

Michael katım tepkimesi aktif α -hidrojeni taşıyan bir vericinin bazik koşullarda konjuge bir sistemin parçasını oluşturan aktif karbon-karbon doymamışlığına (Şekil 2.22) katım yapması demektir. ⁶² Tepkimenin bu tanımı tiyol, amin ve hidroksil gibi elektron verici nükeofilik grupların α,β -doymamış keton sistemi ile tepkimeye girebilme yeteneğine sahip olduğunu açıklar. Nükleofilik atak için karbon-karbon arasında π elektronlarının varlığı ve rezonans ya da indüktif etkilerle β -karbonunun elektron yoğunluğunu azaltan aktifleştirici grupların bulunması gerekir. Tepkimenin gerçekleşmesine katkıda bulunan rezonans yapılar Şekil 2.22' de gösterilmiştir. ⁶³

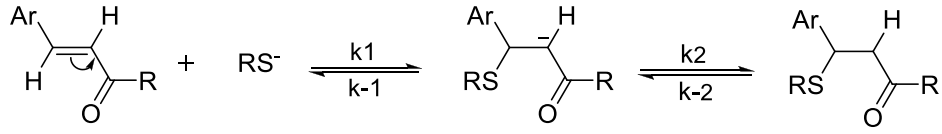


Şekil 2.22. α,β -Doymamış sistemlerde rezonans yapılar (R: H, Alkil, Aril)

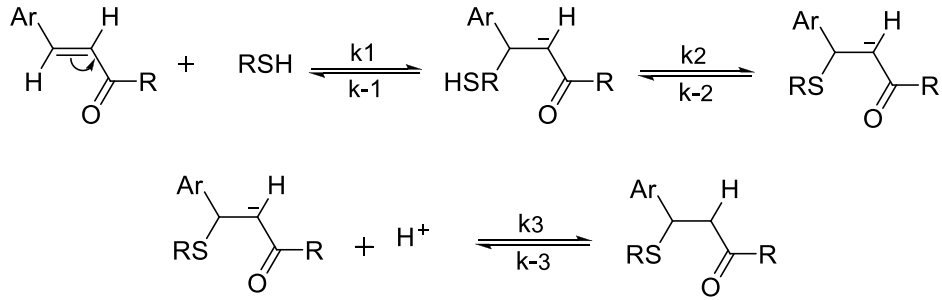
Ancak Michael tepkimesi sadece konjuge enonlarla sınırlı olmayan genel bir tepkime niteliğindedir. Konjuge aldehitler, esterler, nitriller, amitler ve nitro bileşikleri de elektrofilik akseptör olarak davranarak Michael tipi tepkimelerde yer alabilirler. ⁶⁴

2.10.1. Michael Katım Tepkimesinin Mekanizması

Dissosiyе olmuş (RS^-) ve dissosiyе olmamış (RSH) tiyol nükleofilleri ile α,β -doymamış ketonların verdikleri tepkime mekanizmaları Şekil 2.23 ve Şekil 2.24' te verilmiştir.



Şekil 2.23. Dissosiyeye tiyollerin michael katım mekanizması



Şekil 2.24. Nondissosiyeye tiyollerin michael katım mekanizması

Katım tepkimelerine ilişkin kinetik çalışmalarda şu noktalar vurgulanmaktadır:

1. En yavaş tepkime basamağı nükleofilin β -karbonuna atak yaptığı basamaktır.
2. β -karbonunun elektrofilliği ve verici grubun nükleofilliği arttıkça tepkime hızlanır.
3. Sterik ve elektronik etkiler, çözücüler ve pH gibi diğer etkenler de tepkime hızını önemli ölçüde değiştirirler.^{65, 66}

2.11. Ardışık Sitotoksosite

Dimmock ve arkadaşları tarafından önerilen bir kavram olan ardışık sitotoksosite; normal hücrelerden daha çok malign hücrelere karşı daha yüksek toksisiteye sebep olan

bir veya daha fazla sitotoksik bileşimin başarılı salınımı şeklinde tanımlanabilir ⁶⁷. Bu teorinin temeli şu gözlemlerden ileri gelir:

a) Birçok durumda radyasyon ve birçok terapötik ilacın etkisiyle duyarlı tümör hücrelerinde hücresel GSH düzeyinde azalma görülmüştür. ^{68, 69} Diğer bir deyişle, kemoterapötik ajanlar kimyasal duyarlılık sonrası tümörlü dokulara karşı tercihli toksisite oluşturabilirler. Örneğin γ -Glutamilsistein Sentetaz' ın geri dönüşümsüz seçici inhibitörü olan Butiyonin Sülfoksimin' in (BSO) kullanımı ile hem hücre kültürü hemde *in vivo* çalışmalarda hücre içi GSH seviyelerinde % 95' in üzerinde azalma görülmüştür. ⁷⁰ Klinik öncesi çalışmalarda BSO' nun kritik öneme sahip sağlıklı dokulara karşı ilacın toksisitesini artırmaksızın Melfalan' ın ovaryum kanserine karşı toksisitesini geliştirdiği görülmüştür. *In vitro* çalışmalarda da Butiyonin Sülfoksimin' in, Melfalan, Sisplatin, Adriyamisin ve radyasyonun insan ovaryum kanseri hücre hatlarına karşı gösterdikleri sitotoksisiteyi arttırdığı görülmüştür. ^{68, 71, 72}

b) GST' nin izoenzimlerinin normal ve malignant hücrelerde farklı seviyelerde bulunduğu işaret eden çalışmalar vardır. ⁷³ Bu yüzden alkilleyici ajanın ilk salınımı GST' nin bir veya daha fazla izoenzimlerini inhibe edebilir ve ardından ikinci alkilleyicinin salınımı malign olmayan dokulara kıyasla tümörlü hücrelere karşı daha fazla sitotoksisite meydana getirebilir. Klinikte diüretik ajan olarak kullanılan α,β -doymamış keton türevi olan etakrinik asit yukarıdaki duruma iyi bir örnektir. ⁷⁴

c) Bir grup Mannich bazı, ilgili enonları deaminasyona uğramaktan kurtaran mitokondrial inhibitörlerdir. ^{75, 76}

2.12. Mikrodalga Yöntemi ve Kimyasal Sentezlerde Kullanımı

2.12.1. Mikrodalga Teorisi

Elektromanyetik enerji, ışınladığı bir ortamda bulunan maddelerin yapılarıyla etkileşime girerek maddenin içine dalarak onun moleküler yapısıyla titreşime girer. Bu titreşim sonucu, elektromanyetik enerji ısıya dönüşür. Elektromanyetik enerjinin ısı enerjisine dönüşümü, maddenin elektromanyetik özelliklerine ve aynı zamanda maddenin sıcaklığına ve frekansa bağlı olarak gerçekleşir.

Elektromanyetik alanla madde arasındaki etkileşim, maddenin moleküler yapısına bağlıdır. Polar moleküller veya asimetrik moleküler yapılar (örneğin su) mikrodalga enerjisini tutarak ısınır. Polar moleküllerin mikrodalga frekanslarında titreşime rotasyona zorlanmalarıyla elektromanyetik enerji ısıya dönüşmektedir. Isı gradyanı içten dışarıya doğru olan mikrodalga ısıtma işlemlerinin, klasik ısıtma yöntemlerine göre önemli avantajları vardır.⁷⁷

Yüksek frekansa sahip bir elektromagnetik dalganın etkisi altında bulunan bir maddenin ısınabileceği uzun zamandır bilinmektedir. Bu ısınma etkisi, madde içindeki yüklü parçacıklar ile mikrodalganın elektrik saha komponentinin etkileşiminden kaynaklanır. Bu etkileşim sonucu ortaya çıkan ısınmaya 2 önemli etki sebep olur. Eğer yüklü parçacıklar madde içinde serbestçe hareket edebiliyorlarsa, bu saha içinde serbestçe hareketlenmeye sebep olacak bir akım oluşacaktır. Eğer bu yüklü parçacıklar, mikrodalga ışınma altında bulunan madde içerisinde bağlı ise, bu durumda mikrodalganın elektrik saha komponenti, bu yüklü parçacıkların hareketlenmesini teşvik edecektir. Yüklü parçacığı bir arada materyal içerisinde tutan bağ, bu hareketlenmeye zıt bir kuvvet oluşturacaktır. Bu durum elektrik sahasının oluşturmuş olduğu kuvvetin, bağın oluşturduğu zıt kuvvetlerle dengelenmesine kadar sürer ve materyal içerisindeki dipolar polarizasyon olarak tanımlanır. Neticede, yüklü partiküller ötelenme, dönme ve

titreşim hareketleri yapmaya zorlanırlar. Yüklü partiküllerin hareketlenmesinden dolayı polar partiküllerin polarizasyon derecesi artar. Mikrodalgaların elektrik ve magnetik alanları etkisi ile birlikte oluşturulan bu çok hızlı hareketlilik (saniyede 2.4×10^9 kez) partikülün ısınmasına yol açacaktır. Partikülü oluşturan moleküllerin bir arada bulunması bu hareketlenmeye çok çabuk cevap veremeyecektir. Bu gecikmeden dolayı hareketlenmeyi engelleyici zıt bir kuvvet oluşacak ve partikül içerisinde meydana gelen bu sürtünme sonucunda belirli bir ısı oluşacaktır. Bu olay literatürde mikrodalga dielektrik ısıtma olarak geçmektedir.

2.12.2. Mikrodalga Işımadan Kaynaklanan Ürün Seçiciliği

Mikrodalga ışımada oluşan ürün seçiciliği birkaç reaksiyonla incelenmiştir. 6-Dimetoksi- β -dihidrohebin ile aşırı metilvinilketonun vermiş olduğu Diels-Alder reaksiyonu klasik şartlar altında yapılmış ve yaygın olan polimerizasyon ürünleri elde edilmiştir. Aynı reaksiyon mikrodalga ışımada yapılmış daha az polimerik madde elde edilmiştir.

Mikrodalga sentez yönteminin avantajları şu şekilde özetlenebilir:

1. İşlem hızı klasik metotlardan daha hızlıdır.
2. Kimyasal maddeleri direkt olarak ısıtır.
3. Karışımlarda seçici ısıtma sağlar. Mikrodalga ekipmanları otomatik sistemlerle kolaylıkla adapte edilebilir ve güç seviyesi elektronik olarak görülebilir.
4. Klasik ısıtmanın aksine, sıcaklık gradyeni üreten volumetrik bir işlemdir.
5. Kayıp faktörü, sıcaklık belirli bir kritik sıcaklığa ulaştığı zaman hızla yükselir ve bu durum mikrodalga ile ısıtılan maddenin sıcaklığında ani bir yükselme meydana getirir.
6. Isıtma doğrudan ve merkezdendir.

7. Enerji elektromagnetik dalgalarla taşındığından ortamda enerji kaybı meydana gelmez, maddede sıcaklık gradienti minimum olur.

8. Enerji maddenin içine kadar nüfuz ederek endüstriyel işlemin daha aktif ve hızlı yapılmasını sağlar.

9. Sistemler kolaylıkla otomatize edilebilir.

10. Optimum şartlarda klasik sistemlere nazaran enerji ve zaman tasarrufu sağlanır ve bunun sonucunda enerji kaybı minimum olur.

11. Uzaktan etki yapar, enerjiyi malzemeye taşıyan doğrudan bir araç bulunmaz.

12. Kullanılan ortamda kirlenme olmadığından sistemin daha sağlıklı ve temiz olarak kullanılabilmesini ve sistemlerin kesikli ve sürekli olacak şekilde esnek olarak uygulanabilmesini sağlar.⁷⁷

Mikrodalga sentez yönteminin dezavantajları ise şu şekilde özetlenebilir:

1. Isının ve basıncın aniden artması nedeniyle patlama tehlikesi bulunmaktadır.
2. İnsan sağlığı açısından radyasyon sızıntısının önlenmesi gerektiğinden tamamen kapalı bir sistem olması zorunludur.

3. Kullanılan kapların, ambalaj malzemelerinin mikrodalga ortamına uygun olması gerekmektedir.

4. İletken maddeler mikrodalga etkisi ile ark oluşmasına neden olmakta ürün ve ekipmana hasar verebilmektedir. Kuartz cam, porselen, plastik, mikrodalga için uygun malzemeler olarak bilinmektedir.⁷⁸

2.12.3. Mikrodalga Reaksiyon Teknikleri

2.12.3.1. Çözücüsüz Reaksiyonlar

Bu reaksiyonlarda reaktifler ya mikrodalga geçiren bir maddeyle (silika, alümina, kalay) sarılır ya da güçlü adsorbe edici özelliği olan inorganik bir destek kullanılır. Özellikle ilk yıllarda bu teknoloji, evde bulunan mikrodalga fırınlarla güvenli bir şekilde uygulanabileceğinden çok popüler olmuştur. Homojen ısıtmanın olmayışı, karıştırma, reaksiyon sıcaklığının kesin olarak belirlenememesi gibi problemler mevcuttur.⁷⁸

2.12.3.2. Faz-Transfer Katalizleri

Çözücüsüz uygulamalara ek olarak faz transfer katalizi (PTC) koşulları da mikrodalga destekli organik sentez tekniklerinde yaygın olarak uygulanmaktadır. Faz transfer katalizlerinde reaktantlar iki ayrı fazda bulunur; bunlar sıvı-sıvı veya sıvı-katı olabilir. Sıvı-sıvı PTC' de fazlar birbiri içinde çözünmediğinden, iyonik reaktifler sulu fazda çözünmüş halde bulunurken, substrattan kalanlar organik fazdadır. Öte yandan katı-sıvı PTC' de iyonik reaktifler organik ortamda süspansiyon halinde katı halde kalabilirler. Sulu veya katı fazdan organik faza anyonların transferi faz transfer katalizörleri ile kolaylaştırılır. Bunlar kuarterner amonyum tuzları veya katyon kompleks ajanlarıdır. Organik sentezlerdeki bu transferler genellikle atmosferik basınçta ve açık kaplarda gerçekleştirilir.⁷⁸

2.12.3.3. Çözücülü Reaksiyonlar

Açık Kap-Kapalı Kap Şartları: Organik çözücüler kullanılarak yapılan mikrodalga destekli sentezler ya açık ya da kapalı kaplarda gerçekleştirilir. Eğer açık bir kapta ve atmosfer basıncında çözücüler mikrodalga ışına ile ısıtılıyorsa, çözücülerin kaynama noktası reaksiyon sıcaklığını kısıtlar. Yüksek reaksiyon hızlarına ulaşmak için,

dimetil sülfoksit, 1-metil-2-pirolidon, 1,2-diklorobenzen veya etilen glikol gibi yüksek kaynama noktasına ve mikrodalga absorblama gücüne sahip çözücüler kullanılır. Ancak bu çözücülerin kullanımı ürünün ayrılması sırasında ciddi zorluklar ortaya çıkarır. Bu yaklaşım toluen gibi düşük kaynama noktalı çözücüler için ısıtmanın periyodik olarak kesilmesi ile ayarlanmıştır. Bu yöntem modifiye edilmemiş ev tipi mikrodalga cihazların kullanımında ciddi yangın tehlikesi oluşturmaktadır. Son yıllarda bilgisayardan sıcaklık ve basınç kontrolleri sayesinde kapalı kaplarda gerçekleştirilen mikrodalga destekli organik sentezler yeniden önem kazanmıştır.

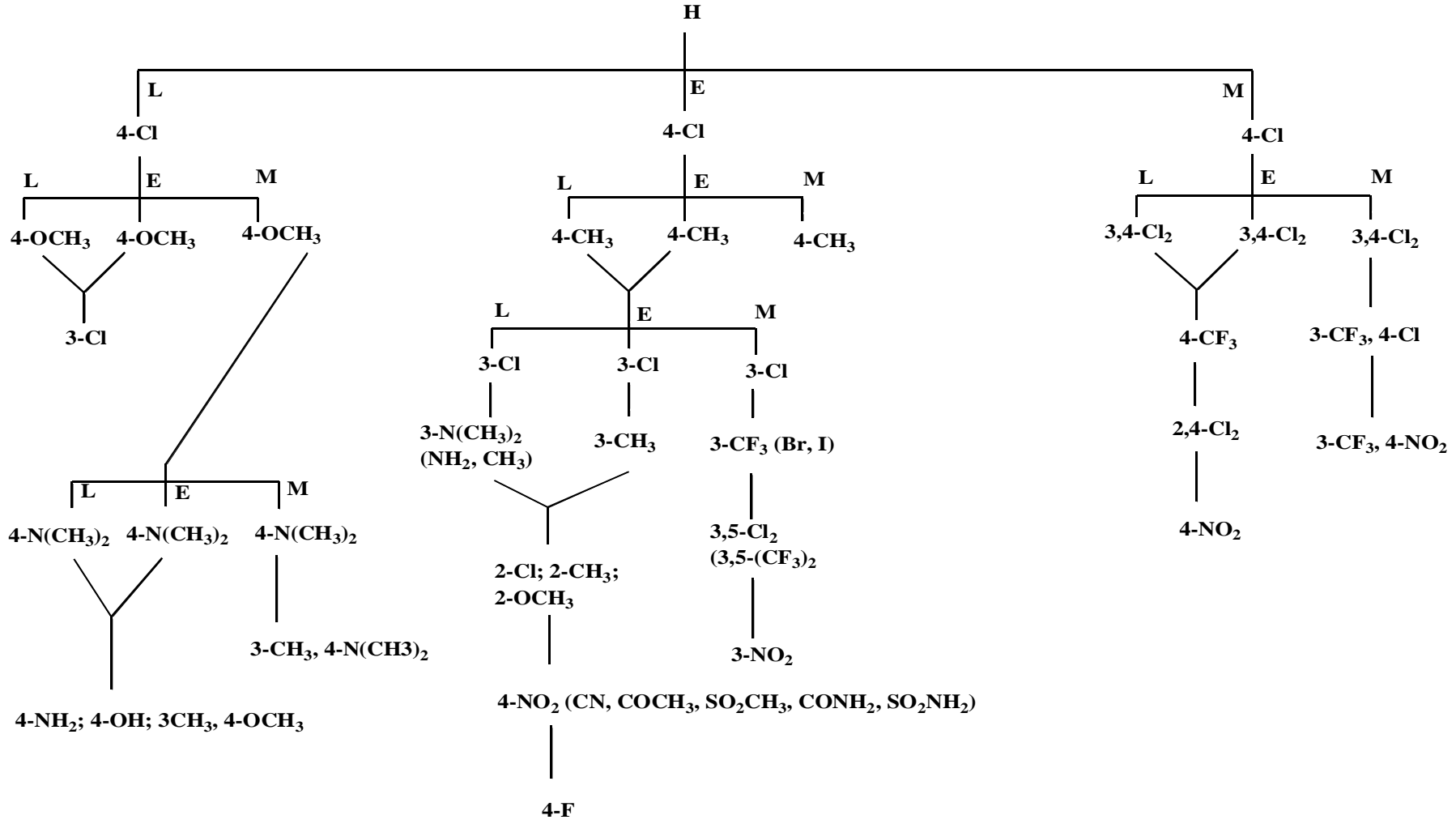
Basıncılı Reaksiyon Kapları: Diğer yöntemlere nazaran kapalı kaplarda gaz halindeki çözücülerle daha az mikrodalga deneyleri yapılmıştır. Her ne kadar çeşitli yayınlarda endüstriyel işlemler için heterojen gaz fazı katalitik reaksiyonlarının önemli olduğu vurgulansa da, basınçlı reaksiyon kaplarının mikrodalga destekli organik sentezlerde kullanımı yaygın değildir. Modern tek modlu mikrodalga reaktörlerin ve reaksiyon kaplarının tasarımı nedeniyle basınçlandırma mümkün değildir. Ancak bazı araştırmacılar deney boyunca bir miktar (2-3 bar) basıncı artırarak gaz reaktiflerin deneylerde kullanımını tarif etmişlerdir.⁷⁸

Mikrodalga ile sentez yöntemine rosiglitazonun sentezi örnek olarak verilebilir. Tip II diyabette antihiperglisemik bir ajan olan rosiglitazonun basit, hızlı, yüksek verimde ve çevreye zararı olmadan mikrodalga destekli total sentezi geliştirilmiştir bu bileşik Mikrodalga yönteminde su ile 140 °C' da 10 dk' da % 90 verimle, çözücüsüz ortamda 140°C' da 20 dk' da % 92 verim elde edilirken, klasik yöntemle aynı çözücü ve sıcaklıklarda sırasıyla 12 ve 15 dk' da % 82 ve % 85 verimle sentezlenmiştir.⁷⁹

2.13. Biyoaktivite Testleri

2.13.1. Sitotoksik Aktivitenin Tayini Amacıyla Kullanılan Biyoaktivite Testleri

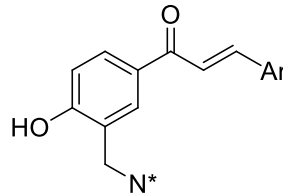
Sitotoksik aktivite tayini amacıyla kullanılan aktivite testleri in vivo ve in vitro yöntemler olmak üzere ikiye ayrılır. En yaygın kullanılan in vitro yöntem hücre kültüründe bileşiklerin referans bileşik kullanılarak çeşitli hücre hatlarına karşı test edilmesidir.⁸⁰ İn vivo testler ise çeşitli deney hayvanları (fare, sıçan, tavşan gibi) kullanılarak yapılır. Hayvanların çeşitli vücut doku veya sıvılarındaki ilgili biyokimyasal parametreler deney sonunda değerlendirilir.⁸¹



Şekil 2.11. İlaç tasarlamada Topliss yaklaşımını açıklayan karar ağacı

2.14. 4-Hidroksi Şalkonlar Üzerine Bu Güne Kadar Yapılmış Çalışmalar

Bu konu üzerinde mevcut en detaylı çalışma araştırma ekibimizden Dr. Kadir Özden Yerdelen tarafından yapılmıştır. ³ Yerdelen, 4-hidroksi asetofenon ve 4-süstitüe benzaldehyitleri kullanarak bir seri şalkon bileşiği (A1-A7) hazırlamıştır. Bu şalkonlarda benzaldehyitten gelen 4- konumundaki süstitient değiştirilmiştir. Nonsüstitüe fenil şalkon bileşiği (A1), 4-Cl türevi (A2), 4-CH₃O türevi (A3), 4-NO₂ türevi (A4), 4-CH₃ türevi (A5), 4-Br türevi (A6), 4-F türevi (A7)' dir. Aril halkasının tiyofen olduğu, benzaldehyit yerine tiyofen 2-karbaldehyit kullanılarak hazırlanan şalkon türevi A8 olarak adlandırılmıştır. ³ Bu çalışmada şalkonlardan hareketle şalkon yapısındaki alkilasyon merkezine ilaveten yeni alkilasyon merkezini deaminasyona uğrama yeteneği ile üretebilecek olan çeşitli mono Mannich bazları hazırlanmıştır (Şekil 2.25).³ Bu Mannich bazlarında amin grubu morfolin (B serisi) , pirolidin (C serisi) , N-metil piperazin (D serisi) , dimetilamin (E serisi) , dietilamin (F serisi) ve dipropil amin (G serisi) olarak değiştirilmiştir. Hazırlanan bileşiklerin human hepatoma hücre hattı Huh7 ve kanseri hücre hattı T47D' ye karşı sitotoksisiteleri test edilmiştir. Bu bileşiklerin bu hücre hatlarına karşı saptanan sitotoksisiteleri Tablo 2.2' de sunulmuştur.



Şekil 2.25. Dr. Yerdelen' in sentezlediği mono Mannich bazlarının genel formülü

Tablo 2.2. Şalkonların (A1-A8) , Onların Mono Mannich Bazlarının Huh7 ve T47D Hücre Hatlarına Karşı Sitotoksik Aktivite Sonuçları ³

Sübs.	A SERİSİ		B SERİSİ		C SERİSİ		D SERİSİ		E SERİSİ		F SERİSİ		G SERİSİ		
	Huh7	T47D	Huh7	T47D	Huh7	T47D	Huh7	T47D	Huh7	T47D	Huh7	T47D	Huh7	T47D	
H	1	22.74	8.96	-	15.15	14.31	12.68	13.10	15.45	14.03	5.04	11.47	4.42	14.96	6.51
Cl	2	17.39	15.30	-	-	0.58	3.65	25.6	10.78	13.93	6.17	4.65	3.19	8.14	4.30
OCH₃	3	17.69	16.12	-	-	90.39	6.22	10.36	11.73	15.09	15.89	22.92	11.90	9.79	3.23
NO₂	4	8.91	5.75	10.04	11.12	5.81	4.68	1.54	2.75	2.63	3.83	3.44	6.34	5.12	7.81
CH₃	5	21.40	22.82	-	10.37	12.75	0.90	0.0057	4.30	10.83	11.84	42.00	8.96	6.23	8.33
Br	6	14.84	12.93	-	-	8.02	8.93	5.05	6.13	7.07	5.96	18.54	34.76	5.16	6.19
F	7	18.57	8.66	-	229.94	12.29	3.99	10.72	0.0056	16.36	7.88	7.33	10.69	6.33	7.76
Tiyofen	8	32.57	16.50	-	-	13.72	14.03	11.53	12.11	15.31	14.26	34.46	16.26	21.22	22.65
5-FU		42.12	7.00	42.12	7.00	42.12	7.00	42.12	7.00	42.12	7.00	42.12	7.00	42.12	7.00

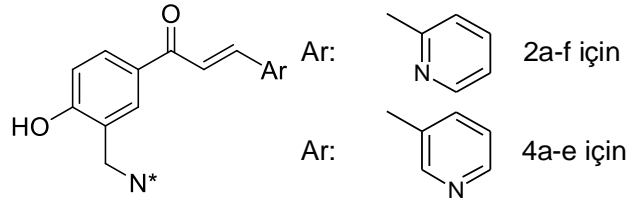
SERİLER: A SERİSİ (A1-A8) Şalkonlar; B SERİSİ (B1-B8) Morfolinli Mannich Bazları; C SERİSİ (C1-C8) Prolidinli Mannich Bazları; D SERİSİ (D1-D8) N-Metilpiperazinli Mannich Bazları; E SERİSİ (E1-E8) Dimetilaminli Mannich Bazları; F SERİSİ (F1-F8) Dietilaminli Mannich Bazları; G SERİSİ (G1-G8) Dipropilaminli Mannich Bazları

*Yeşilyurt' un tezindeki F1, tablodaki A1 bileşiğine ve F2 bileşiği de tablodaki A8 bileşiğine karşılık gelmektedir.

Tablo 2.2' den da görüldüğü üzere şalkonlardan hareketle elde edilen mono Mannich bazlarında Huh7 ve T47D hücre hatlarına karşı dramatik, kayda değer, aşırı sitotoksikite artışı, başlangıçtaki hipotezimizi söz konusu çalışmada doğrulamıştır.

Yerdelen' in bileşiklerinin büyük bir kısmı (A, B, C ve D serileri) Mekai Üniversitesi' nde Ca9-22 (diş eti), HSC-2 (ağız), HSC-3 (dil), HSC-4 (dil) gibi kanserli hücre hatları ve HGF (diş eti fibroblast), HPC (pulpus hücreleri) ve HPLF (periodontal ligament fibroblastları) gibi normal hücre hatlarına karşı test edilmiştir. Bu hücre hatları bu çalışmada kullanılanlar ile aynıdır ve tüm bileşikler aynı kişi tarafından test edilmiştir. Henüz yayınlanmamış olan bu sonuçlara göre şalkonlar karşılaştırıldıkları mono Mannich bazlarından daha sitotoksik bulunmuştur. Şalkonlarda, tümör selektivitesi pek çok durumda karşılık gelen mono Mannich bazlarından daha yüksek bulunmuştur.

Ayrıca, yine araştırma ekibimizden Dr. Sinan Bilginer tarafından heterosiklik aldehitler kullanılarak bazı heterosiklik şalkon bileşikleri (bileşik 1 ve 3) sentezlenmiştir.⁸² Bu çalışmada 4-hidroksi asetofenondan hareketle elde edilen şalkonlarda piridin-2-karboksaldehit (bileşik 1) ve piridin-3-karboksaldehit (bileşik 3) kullanılmıştır. Bu şalkonlardan 1' den hareketle Mannich bazları 2a-2f bileşikleri, 3'ten hareketle Mannich bazları 4a-4e bileşikleri hazırlanmıştır (Şekil 2.26). Bu bileşiklerin kanserli hücre hatları HL-60 (insan promiyelositik lösemi hücreleri), HSC-2 (ağız), HSC-3 (dil), HSC-4 (dil) kanserli hücre hatları ve HGF (diş eti fibroblast), HPC (pulpus hücreleri) ve HPLF (periodontal ligament fibroblastları) gibi normal hücre hatlarına karşı elde edilen sitotoksisite değerlendirmiş ve Tablo 2.3'te sunulmuştur.



Şekil 2.26. Dr. Bilginer' in sentezlediği mono Mannich bazlarının genel formülü

Tablo 2.3. Şalkon bileşikleri 1, 3 ve mono Mannich bazları 2a-f ve 4a-e bileşiklerinin sitotoksitesi⁸²

Bileşik	Tümör hücre hatları										Non-malignant hücreler				PSE
	HL-60		HSC-2		HSC-3		HSC-4		Ave CC ₅₀	Ave SI	HGF	HPC	HPLF	Ave CC ₅₀	
	CC ₅₀	SI	CC ₅₀	SI	CC ₅₀	SI	CC ₅₀	SI			CC ₅₀	CC ₅₀	CC ₅₀		
1	5.7±1.2	5.44	11.0±4.4	2.82	5.5±2.1	5.64	8.9±2.7	3.48	7.78	4.35	23.7±1.1	39.2±4.3	30.0±1.1	31.0	55.9
2a	12.0±2.9	5.37	34.3±7.5	1.88	13.3±0.6	4.84	24.3±4.5	2.65	21.0	3.69	41.9±4.4	88.2±6.2	63.0±4.4	64.4	17.6
2b	7.5±2.6	7.99	27.3±2.3	2.19	13.5±1.1	4.43	13.4±0.5	4.47	15.4	4.77	38.3±9.9	80.0±6.9	61.3±7.2	59.9	31.0
2c	10.3±1.1	4.68	22.6±4.6	2.13	6.8±0.9	7.09	10.5±2.2	4.59	12.6	4.62	29.0±7.8	70.3±18.0	45.3±11.0	48.2	36.7
2d	95.6±28.9	4.05	177.0±40.7	2.19	164.0±8.7	2.36	117.3±32.7	3.30	139	2.98	320.2±2.9	459.0±28.8	381.0±38.2	387	2.14
2e	5.4±0.4	5.04	16.0±2.6	1.70	9.5±2.2	2.86	6.4±1.5	4.25	9.33	3.46	18.3±6.4	37.0±7.0	26.3±3.2	27.2	37.1
2f	10.9±0.7	3.86	28.0±0.2	1.50	17.3±4.0	2.43	11.7±0.6	3.60	17.0	2.85	22.9±0.9	52.3±18.9	51.1±1.5	42.1	16.8
3	10.6±0.8	4.73	14.0±2.0	3.58	8.9±1.3	5.63	7.0±0.4	7.16	10.1	5.28	36.3±0.3	58.1±2.2	56.0±18.0	50.1	52.3
4a	17.1±1.0	6.55	42.0±6.9	2.67	18.3±1.5	6.12	23.8±3.8	4.71	25.3	5.01	88.7±0.4	151.3±10.7	96.2±20.9	112	19.8
4b	21.4±0.7	6.03	44.3±3.5	2.91	24.3±0.6	5.31	25.3±4.0	5.10	28.8	4.84	85.6±8.8	159.7±3.1	141.4±1.2	129	16.8
4c	8.4±2.7	9.94	25.1±3.4	3.33	14.3±2.1	5.84	14.3±4.9	5.84	15.5	6.24	62.0±17.5	112.7±37.2	75.7±11.9	83.5	40.3
4d	13.2±1.1	7.44	29.1±6.1	3.38	15.0±4.4	6.55	18.7±4.0	5.25	19.0	5.66	74.0±10.1	142.3±19.0	78.3±9.1	98.2	29.8
4e	10.6±0.9	6.16	21.3±5.0	3.07	13.4±0.8	4.87	12.6±0.8	5.18	14.5	4.82	43.1±1.9	88.7±7.6	64.0±6.2	65.3	33.2
Ortalama	17.6	5.95	37.9	2.57	24.9	4.92	22.6	4.58	25.8	4.51	68.0	118	90.0	92.2	30.0
Melfalan	1.4±1.2	150	8.7±4.2	24.1	25±7.7	8.4	32±8.8	6.56	16.8	47.3	161±27	269±153	199±60	210	282

CC₅₀ : Hücrelerin %50' sini öldüren bileşiklerin mikromolar (μm) olarak konsantrasyonu, SI : Selektivite İndeksi, PSE : Selektivite Güç İndeksi
1 numaralı şalkondan bileşik 2a-f, 3 numaralı şalkondan bileşik 4a-e sentezlenmiştir. Amin grubu dimetilamin (2a, 4a), dietilamin (2b, 4b), piperidin (2c, 4c), piperidin (2d, 4d), N-metil piperazin (2e, 4e) ve morfolin (2f) amin olarak değiştirilmiştir.⁸²

2.15. İlaç Tasarımında Fizikokimyasal Özelliklerin Önemi

QSAR (Quantitative Structure Activity Relationship, Kantitatif Yapı Aktivite Çalışması) yaklaşımı, ilacın fizikokimyasal özelliklerini inceleme ve tanımlamaya ve bu özelliklerin ilacın biyolojik aktivitesi üzerinde herhangi bir etkisi olup olmadığını anlamamızı sağlar. Son yüzyılda QSAR için ilk yaklaşım kimyasal yapı ve biyoaktivite arasındaki ilişkileri kantitatif olarak ifade etmek olmuştur²². Bununla birlikte kantitatif metodlar ilk kez modern medisinal kimyaya Corwin Hansch tarafından tanıtılmıştır.⁸³,⁸⁴ QSAR yaklaşımı ile birçok fiziksel, yapısal ve kimyasal özellikler çalışılmıştır. Fakat çoğunlukla birçok araştırmacı ortak olarak bu çalışmalarını hidrofobik, elektronik ve sterik parametreler üzerinde yoğunlaştırmıştır.

2.15.1. Hidrofobisite

Bir ilacın lipofilik karakteri o ilacın canlı hücre membranlarından geçmesinde ve ilacın reseptörle etkileşmesinde çok önemlidir. Bir ilaç molekülünde farklı sübstituentlerin kullanımı o ilacın lipofilik özelliğini dolayısıyla da ilacın biyoaktivitesini de değiştirecektir.

2.15.2. Partisyon Katsayısı (P)

Yağ / su partisyon katsayılarının (dağılım katsayısı) , geniş bir bileşik grubunun narkotik etkisi üzerinde önemli bir rolü olduğu rapor edilmiştir.⁸⁵ Bir ilacın hidrofobik özelliği deneysel olarak oktanol / su karışımında ilacın dağılımı test edilerek ölçülebilir.⁸⁶ Hidrofilik moleküller bu ikili faz sisteminin su tabakasında, hidrofobik moleküller ise oktanol tabakasında çözünecektir. Bu değişken dağılım partisyon katsayısı olarak tanımlanmaktadır ve aşağıdaki eşitlikle hesaplanır:

$$P = \frac{\text{(Oktanolda çözünen ilaç konsantrasyonu)}}{\text{(Suda çözünen ilaç konsantrasyonu) x (1-\alpha)}}$$

α = İyonizasyon derecesi

Hidrofobik bileşikler yüksek P değerine, hidrofilik bileşikler ise düşük P değerine sahiptirler. Bir ilaç serisinde lider bir moleküle değişik sübstitüentler takılarak farklı hidrofobisite dolayısıyla farklı P değerleri hesaplanır. Bu da P değeriyle biyolojik aktivite arasında bir ilişki olup olmadığını görmemizi sağlar. Biyolojik aktivite $1/C$ olarak tanımlanır. Buradaki C değeri, ilacın biyolojik etkinlik gösterebilmesi için gerekli konsatrasyonunu ifade etmektedir. ⁴

2.15.3. Sübstitüent Hidrofobiklik Sabiti (π)

Bir moleküldeki farklı sübstitüentlerin varlığı, bileşiğin hidrofobikliğine katkıda bulunur ve bu katkı kullanılarak partiyon katsayısı hesaplanabilir. Bu katkı sübstitüentin hidrofobiklik sabiti (π) olarak bilinir. ⁸⁷ X sübstitüenti için hidrofobiklik sabiti (π_x) aşağıdaki eşitlikle elde edilir.

$$\pi_x = \log P_x - \log P_H = \frac{\log P_x}{\log P_H}$$

Bu eşitlikte P_H standart bileşiğin partiyon katsayısını ve P_X ise sübstitüe bileşiğin partiyon katsayısını ifade etmektedir. Bu eşitlikten çıkan π değerinin pozitif olması sübstitüentin hidrojenen daha hidrofobik olduğunu, negatif değer ise sübstitüentin hidrojenen daha hidrofilik olduğunu gösterir.

2.15.4. Elektronik Etkiler

Elektronik etki, bir bileşiğin biyoaktivitesinin bağlı olduğu birçok fizikokimyasal parametreden biridir. Bir ilacın iyonizasyonu ve polaritesi değişik sübstitüentlerin elektronik etkilerinden etkilenir. Elektronik etkiler, ilacın reseptörle nasıl kuvvetli bağlanabileceğini veya hücre membranlarından nasıl kolayca geçebileceği üzerindeki etkiyi açıklar. ⁴ Hammett sübstitüent sabiti (σ) bir sübstitüentin elektron alıcı veya elektron verici özelliğinin bir ölçüsüdür. ⁸⁸

Bir sübstitüent için Hammett sübstitüent sabiti (σ_x) aşağıdaki eşitlikle hesaplanabilir:

$$\alpha_x = \log \frac{K_x}{K_H} \log K_x - \log K_H$$

Kinon-süstitüe bileşigin denge veya disosiasyon sabitidir ve K_x ise süstitüe bileşigin denge veya disosiasyon sabitidir. Elektron çeken süstitüentler (NO_2 , F, Br, Cl, CN, CF_3 , vs.) pozitif σ değerleri, elektron veren süstitüentler (CH_3 , OCH_3 , vs.) negatif σ değerleri alırlar. Hidrojen atomu için Hammett sabiti ise sıfırdır.

2.15.5. Sterik Faktörler

İlacın etkisini gösterebilmesi için etki edeceği bölgeye bağlanması gereklidir. Bundan dolayı ilaç molekülünün büyüklüğü, şekli ve hacmi bu bağlanmada önemli bir rol oynar.

2.7.5.1. Taft' ın Sterik Faktörü

Taft' ın E_s parametresi, süstitüentlerin sterik özelliklerinin hesaplamasında kullanılan ortak bir parametredir. Aşağıdaki eşitlik ile alifatik esterlerin asit hidrolizi ile E_s değeri bulunabilir.

$$E_s = \log \left(\frac{K}{K_0} \right)$$

K = Süstitüe esterin asidik hidroliz oranı

K_0 = Esterin hidroliz oranı

2.7.5.2. Molar Refraktivite (MR)

Molar refraktivite, sterik faktörlerin ölçümü için kullanılan diğer bir parametredir. Molar refraktivite bir atom veya atom grubu tarafından işgal edilen hacmin ölçüsüdür. Molar refraktivite aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplanabilir.

$$MR = \frac{(n^2 - 1)}{(n^2 + 2)} \times \frac{MA}{d}$$

n = Refraksiyon indeksi

M.A = Molekül ağırlığı

d = Yoğunluk

M.A / d hacmi tanımlar iken, $(n^2-1) / (n^2+2)$ ise sübstitüentin nasıl kolay polarize olabileceğini tanımlamak üzere doğrulama faktörünü ifade eder. Eğer sübstitüent pi elektronu veya ortaklaşmamış elektron çifti taşıyorsa molar refraktivite oldukça önemlidir. Bahsedilen parametrelere ilaveten Van der Waals etkileşimi, molekül ağırlığı ve hatta uzaysal konumlanma modelleri biyoaktiviteye sterik katkıyı açıklamakta kullanılan diğer parametrelerdir.

2.15.6. Hansch Eşitliği

Eğer bir bileşiğin biyolojik aktivitesi sadece bir fizikokimyasal özelliğe bağlı olsaydı basit bir eşitlik oluşturulabilirdi. Ancak bunun tam aksine çoğu ilacın biyolojik aktivitesi birçok fizikokimyasal parametre ile ilişkilidir. Bundan dolayı eşitliklerde sıklıkla biyolojik aktivite ile ilişkilendirilebilecek birden fazla parametre kullanılır. Hansch eşitliği gibi eşitlikler genellikle biyolojik aktivite ile birçok ortak fizikokimyasal özellikleri ilişkilendirir. Aşağıdaki eşitlikte olduğu gibi eğer lipofilik değerler oranı küçük bir oranda tutulabilirse eşitlik lineer olacaktır.

$$\log \left(\frac{1}{C} \right) = k_1 \times \log P + k_2 \times \alpha + k_3 \times E_s + k_4$$

Eğer P değeri yüksek bir oranda çıkarsa, eşitlik parabolik olacaktır. Aşağıdaki eşitlikte olduğu gibi;

$$\log \left(\frac{1}{C} \right) = -k_1 \times (\log P)^2 + k_2 \times \log P + k_3 \times \alpha + k_4 \times E_s + k_5$$

C = Spesifik etki oluşturmak için gereken ilaç konsantrasyonu

P = Partisyon katsayısı değeri

σ = Hammett sübstitüent sabiti

E_s = Taft' ın sterik faktörü

2.15.7. İyonlaşma Sabiti (Ka)

Her asit ya da baz sulu ortama alındığında, yapısına bağlı olarak değişik iyonizasyon oranlarında dissosiyeye olur. Asitlerin ya da bazların dissosiyasyonunu etkileyen nedenlerden birisi de içinde buldukları ortamın pH'ıdır. Eğer ortam asidik ise bazik ilaçlar katyonik durumda, eğer ortam bazik ise asidik ilaçlar anyonik durumda olmayı tercih ederler. Her iki durumda söz konusu bileşikler iyonize durumdadır. Zayıf asit ya da zayıf baz niteliğinde olan ilaçların lipoid nitelikteki zarlardan geçişleri ne kadar iyonize olduklarına bağlıdır. Noniyonize durumda olanlar, lipoid nitelikteki zarlardan kolay geçerler. Böylece oluşan konsantrasyonun biyolojik etki üzerindeki rolü büyüktür.

İlaçlar bilindiği gibi iyonize, noniyonize, kısmen iyonize ve kısmen noniyonize olmak üzere üç şekilde bulunabilirler. Belirli pH' da bir ilacın iyonize ya da noniyonize şekillerinin bağıl konsantrasyonu Henderson-Hasselbach denklemi ile hesaplanabilir.

$$\text{Asitler için: } \log \frac{[\text{iyonize olmamış ilaç}]}{[\text{iyonize ilaç}]} = \text{pKa} - \text{pH}$$

$$\text{Bazlar için: } \log \frac{[\text{iyonize olmamış ilaç}]}{[\text{iyonize ilaç}]} = \text{pH} - \text{pKa}$$

Bu denklemlerden çıkararak her zaman zayıf asit ya da zayıf bazik özellikteki bir ilacın iyonize ya da noniyonize kısımlarının konsantrasyonunu hesaplamak mümkündür.

$$\text{pH} = \log \frac{(B)}{(BH^+)} + \text{pKa}$$

Zayıf asit içeren çözeltinin pH'ı yükseldikçe, asidin iyonik şeklinin konsantrasyonu yükselir. Zayıf bir baz içeren çözeltinin pH'ı yükseldikçe bazın moleküler şeklinin konsantrasyonu yükselir.

Henderson-Hasselbach denklemiyle zayıf asit molekülünün iyonizasyon yüzdesi ya da fraksiyonu hesaplanabilir. Yüzde iyonize şekil aşağıdaki denklem ile bulunur.

$$\% \text{ iyonize şekil} = \frac{i \times 100}{i + N}$$

i: İlacın iyonik şeklinin konsantrasyonudur.

N: Noniyonik (moleküler) şeklinin konsantrasyonudur.

Asitler düşük pH değerinde yani asit pH' da daha güçlü biyolojik etki gösterir. pH arttıkça etki düşmeye başlar. Çünkü bu sahada iyonizasyon artmaktadır. Bunun tam tersi zayıf bazlar için doğrudur.

Moleküller genellikle hücre zarlarını parçalanmamış ve dissosiyeye olmamış şekilde geçerler. Zayıf asitler, düşük pH' larda nondissosiyeye durumda bulunacakları için bu pH' larda hücre zarlarını kolay geçerler. Aynı bileşikler yüksek pH değerinde iyonize olmaya başlarlar. Bu ise hücre zarlarını en zor geçebilecekleri durumdur. Bu nedenle daha düşük etki gösterirler. Bunun tam tersi durumda zayıf bazik bileşikler için söz konusudur.

2.16. İlaç Tasarlama Topliss Yaklaşımı

Topliss yöntemi Hansch analizine benzer bir yöntemdir. Hansch yönteminden farkı kompüterize olmamasıdır. Bu yaklaşım model bileşiğin aktivitesini optimize etmek için kullanılan nispeten basit ve matematiksel olmayan bir yoldur. Topliss' in "Karar Ağacı" yaklaşımı aromatik halkaları ve yan zincirleri modifiye etmek için kullanılır. ⁸⁹ Bu yöntem türev serileri hazırlanmasını ve adım adım sentez edilmelerini içerir. Aril halkalı bileşiklerde önce 4-kloro analogu hazırlanır ve bunun biyolojik aktivitesi nonsüstitüe ana bileşik ile karşılaştırılır. Eğer 4-kloro türevi daha aktifse bir sonraki basamakta 3,4-dikloro türevi sentezlenir. Böylece hem π , hem de σ değerleri önemli ölçüde artırılmış olur. Eğer 4-kloro türevi ana bileşikten daha az aktifse π ve σ değerlerini ana bileşiğe göre daha düşürmek amacıyla 4-metoksi türevi hazırlanır. 4-

kloro türevi ana bileşik ile eşit aktiviteye sahipse 4-metil analogu hazırlanır. π ve σ değerleri göz önünde tutularak bu sistematik basamaklandırma işlemine optimum aktivite elde edilinceye kadar devam edilir.

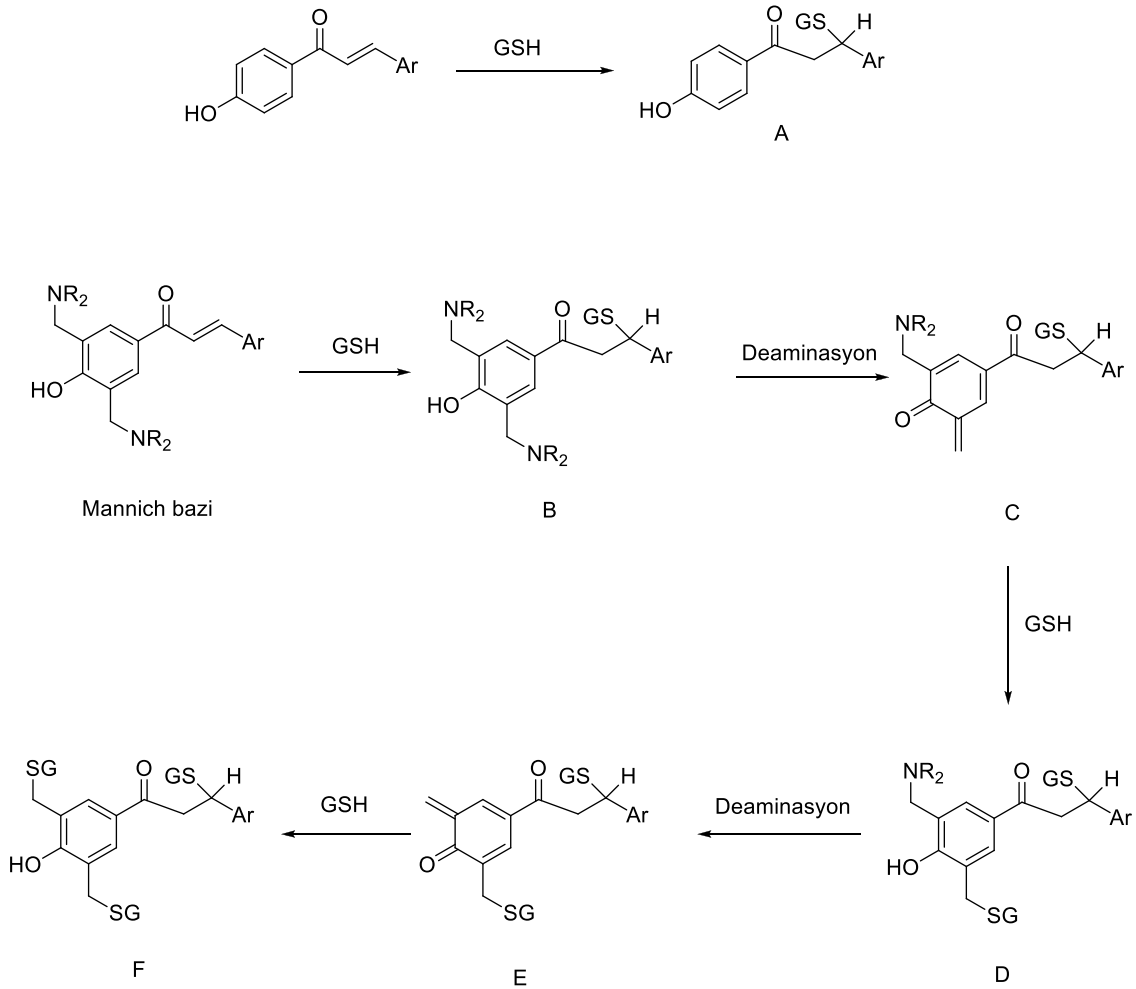
2.17. Planlanan Bileşiklerin Genel Yapısı ve Antikanser Ajan Olarak Tasarlanmalarındaki Gerekçeler

Bu tez çalışmasında amaç 1-(4-hidroksifenil)-3-aril-2-propen-1-on kimyasal yapısındaki hidroksi şalkonlar ve onların bis Mannich bazlarının sentezlenmesidir. Diğer bir amaç ise, bu bileşiklerin sitotoksik aktivitelerinin Ca9-22 (diş eti), HSC-2 (ağız), HSC-3 (dil), HSC-4 (dil) kanserli hücre hatlarına ve HGF (diş eti fibroblast), HPC (pulpus hücreleri) ve HPLF (periodontal ligament fibroblastları) gibi normal hücre hatlarına karşı test edilmesi, elde edilen sonuçların α,β -doymamış ketonlar yani şalkonlar ile karşılaştırılması ve bütün bileşikler için tümör selektivitelerinin belirlenmesidir.

Şalkonların sentezlenme nedeni yapısında biyolojik olarak aktivitesi bilinen α,β -doymamış keton farmakoforunu içermesidir. α,β -doymamış ketonlar tiyol alkilatörü olarak bilinir. Şalkonlardan hareketle Mannich bazlarının sentezlenmesinin nedeni Dimmock tarafından önerilen ardışık sitotoksosite ⁶⁷ teorisine göre Mannich bazlarında artmış sitotoksosite gözlemlene beklentisidir. Bu teori Dimmock ve arkadaşları tarafından önerilmiştir. Normal hücrelerden daha çok malin hücrelere karşı daha yüksek toksisiteye sebep olan bir veya daha fazla sitotoksik bileşiğin başarılı salınımı olarak tanımlanmıştır. ⁶⁷

Ardışık sitotoksosite gereği beklentiler şu şekildedir (Şekil 2.27) : Şalkonlar GSH gibi hücresel tiyollerle reaksiyon sonucu tiyol katım ürünü **A'** yi oluşturur. Diğer taraftan Mannich bazları da başlangıçta tiyoller ile reaksiyona girerek tiyol katım ürünü **B'** yi sonra deaminasyona uğrayarak sikloheksadienon yapısında ürün **C'** yi oluşturur. Reaktif ara ürün **C** tiyollerle tekrar reaksiyona girerek çift katım ürünü **D'** yi oluşturur.

Reaksiyon **E** ve **F** ürünleri içinde aynı şekilde gerçekleşir. Eğer bileşiklerin söz konusu hücre hattında etki mekanizması tiyol alkilasyonu ise bu teoriye göre sentezlenecek Mannich bazlarının türevlendirildikleri şalkonlarından daha güçlü sitotoksisite göstermesi beklenir. Bunun tersi bir durum söz konusu ise bileşiklerin sitotoksik etki mekanizmasının tiyol alkilasyonundan farklı bir mekanizma olabileceği ya da deaminasyonla üretilen aktif merkezlerin optimum stabiliteye sahip olmadığı düşünülebilir.



Şekil 2.27. Şalkonların ve Onların Mannich Bazlarının Hüresel Tiyollerle (GSH) Muhtemel Reaksiyonları

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kimyasallar ve Yöntemler

3.1.1. Sentez Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar

Bileşiklerin sentezinde 4-hidroksiasetofenon (Merck, Hohenbrunn, Germany), tiyofen-2-karboksaldehit (Fluka, Buchs, Switzerland), benzaldehit (Fluka, Buchs, Switzerland), morfolin (Fluka, Buchs, Switzerland), piroolidin (Sigma Aldrich, Steinheim, Germany), N-metilpiperazin (Sigma Aldrich, Steinheim, Germany), dimetilamin (Fluka, Buchs, Switzerland), dietilamin (Merck, Hohenbrunn, Germany), piperidin (Sigma Aldrich, Steinheim, Germany), paraformaldehit (Fluka, Steinheim, Switzerland), sodyum hidroksit (Merck, Darmstadt, Germany), derişik hidroklorik asit (Merck, Darmstadt, Germany), asetonitril (Sigma Aldrich, Buchs, Switzerland) ve etanol (Riedel-de Haen, Hanover, Germany) kullanılmıştır.

3.1.2. Yöntemler

Kromatografik Analizler: Sentez çalışmaları sırasında tepkimeyi izlemek ve sentezlenen bileşiklerin saflıklarını kontrol etmek amacıyla ince tabaka kromatografisinden (İTK) yararlanıldı. İTK için 0.25 mm kalınlıktaki silikajel 60 HF₂₅₄ (Merck Art 5715) hazır kromatografi plakları kullanıldı. Kromatografi işlemi oda sıcaklığında yapıldı ve sürükleme işlemi kromatografi tankının çözücü buharlarıyla doyurulmasından sonra gerçekleştirildi. Sürükleme işleminden sonra açık havada kurutulan plaklar üzerindeki lekelerin belirlenmesinde 254 nm dalga boyundaki UV ışığından (Mineralight Lamp UVGL-58) faydalanıldı. İTK' da kullanılan hareketli faz saflaştırma işleminde sütun kromatografisi yönteminde kullanılmıştır. Sütun kromatografisi yönteminde adsorban olarak silikajel 60 (0.063- 0.2 mm) (Merck, Darmstadt, Germany), sephadex G-50 kullanılmıştır.

Spektral Analizler: Bileşiklerin $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumları 400 (100) MHz Varian Spectrometer (Danbury, USA) ile CDCl_3 (Sigma-Aldrich, ST Louis, USA)' da çözülerek alınmıştır.

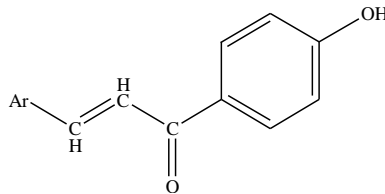
Kütle Spektroskopisi: Bileşiklerin kütle spektrumları negatif (-) veya pozitif (+) Mod' ta elektron spray iyonizasyon MS (ESI-MS) VG Waters Micromass ZQ (USA) spektrometresinde alınmıştır.

Erime Noktası Tayinleri: Bileşiklerin erime dereceleri Electrothermal 9100 (IA9100, U.K) cihazı kullanılarak tespit edildi.

pH Metre: Şalkon yapımlarında pH' nın ayarlanmasında Crison pH metre kullanılmıştır.

3.2. Şalkonların; 1-(4-Hidroksifenil)-3-aril-2-propen-1-on; Genel Sentez Yöntemi (F1, F2)

Mannich bazlarının hazırlanması için gerekli olan sentez başlangıç maddesi şalkonların (F1, F2) sentezinde, uygun arilaldehit (0.02 mol), 4-hidroksiasetofenon (0.02 mol) ve etanol (6 ml) karışımının üzerine NaOH sulu çözeltisi (%10, 10 ml) ilave edildi. Oda sıcaklığında 1 gece karıştırıldı. Karışım bir beherin içindeki 100 ml suya döküldü. Bu karışım HCl' in sulu çözeltisi (%10, 8.5 ml) ile nötralize edildi. Nötralizasyon sonucu oluşan renkli çökelek süzüldü. Etanolden kristallendirildi.⁹⁰ F1-F2 bileşiklerinin yapıları $^1\text{H-NMR}$ ve erime dereceleriyle doğrulanmıştır.^{90,91} Şalkonlara ait deneysel veriler Tablo 3.1' de sunulmuştur.



Şekil 3.1. Sentezlenen şalkonların genel kimyasal yapısı

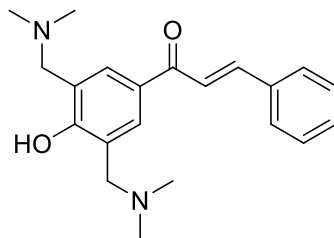
Tablo 3.1. Şalkonların (F1, F2) deneysel verileri

Bileşik No	Aril	Kapalı Formül	Molekül Ağırlığı	Verim %	Erime Derecesi (°C)	Literatürdeki Erime Dereceleri (°C)
F1	C ₆ H ₅	C ₁₅ H ₁₂ O ₂	224.26	85	174	172-173 ⁹⁰
F2	2-C ₄ H ₃ S	C ₁₃ H ₁₀ O ₂ S	230.29	90	172	171 ⁹¹

3.3. Şalkonların Mannich Bazlarının Sentezi (FY Serisi) ve Spektrumlar

3.3.1. FY1: 1-[3,5-Bis(dimetilamino)metil-4-hidroksi-fenil]-3-fenil-2-propen-1-on

Paraformaldehit (0.228 g, 7.6 mmol) ve dimetilaminin (0.113 g, 7.6 mmol) asetonitrildeki (10 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında (80 °C, 150 W, 13.8 barr) 5 dakika reaksiyona tabi tutuldu. Reaksiyon ortamına şalkon bileşiğinin (0.426 g, 1.9 mmol), 1-(4-hidroksi-fenil)-3-fenil-2-propen-1-on, asetonitrildeki (25 ml) çözeltisi eklendi. Karışım mikrodalga cihazında (120 °C, 200 W, 13.8 barr) 30 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İ.T.K ile izlendi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Reaksiyon kalıntısı üzerine 5 mL EtOH ve 70 mL diisopropil eter ilave edilerek +4 °C' de 1 gece bırakıldı. Oluşan katı etanolden kristallendirildi. % 95.34 verimle 0.6125 g sarı renkli katı elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 105-107 °C' dir.



1-[3,5-Bis (dimetilamino) metil-4-hidroksi-fenil]-3-fenil-2-propen-1-on

¹H-NMR (CDCl₃) (Şekil 3.2)

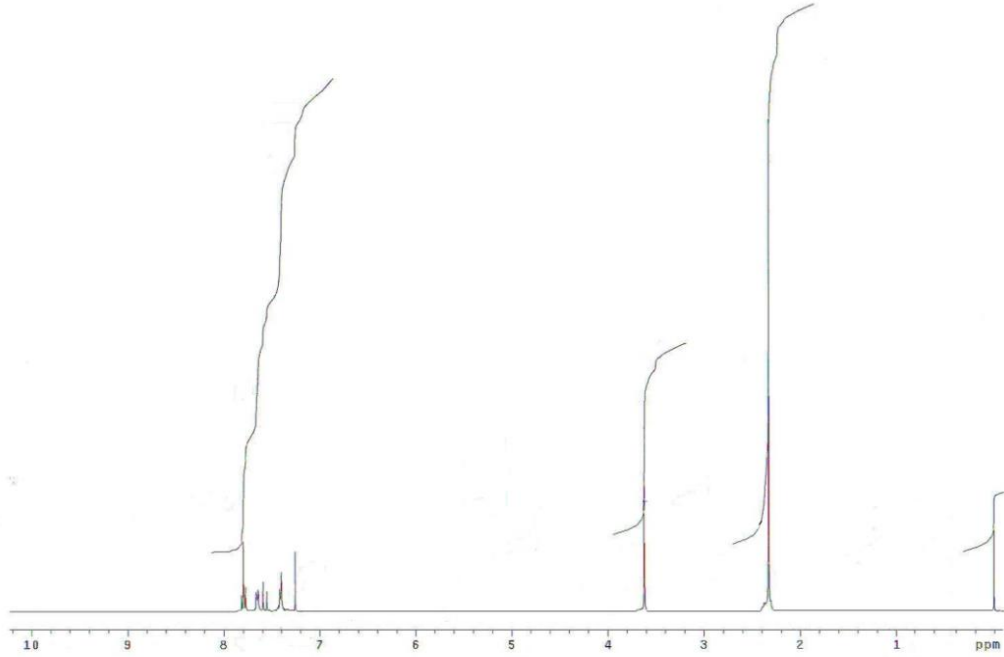
δ 7.80 (d, 1H, J=15.58 Hz) ; 7.79 (s, 2H) ; 7.66 (d, 2H, J=7.3 Hz) ; 7.58 (d, 1H, J=15.58 Hz) ; 7.41 (m, 3H) ; 3.61 (s, 4H) ; 2.32 (s, 12H)

¹³C-NMR (CDCl₃) (Şekil 3.3)

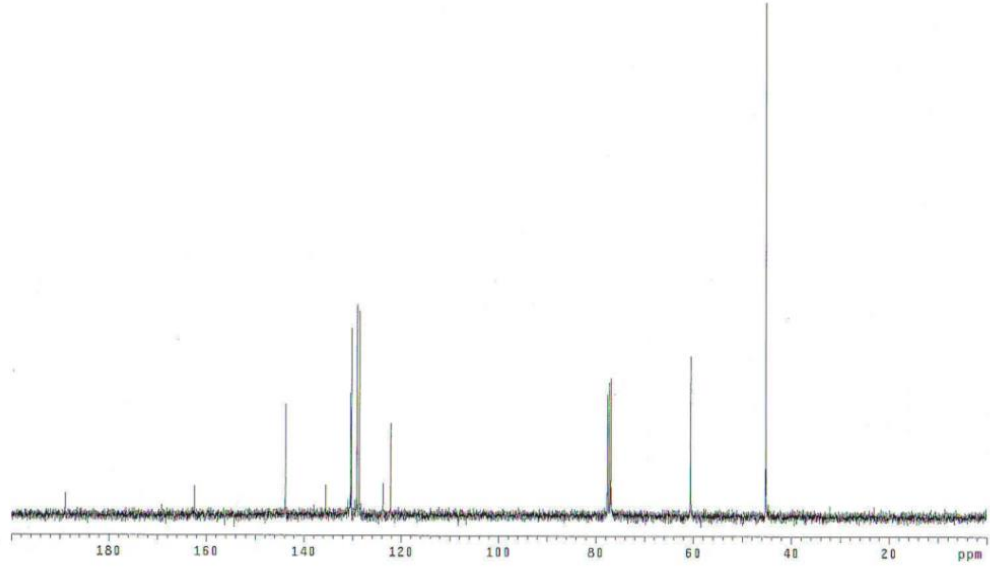
δ 45.17; 60.57; 122.19; 123.72; 128.62; 129.05; 129.11; 130.25; 130.43; 135.45; 143.74; 162.37; 188.93

Kütle spektrumu (Şekil 3.4)

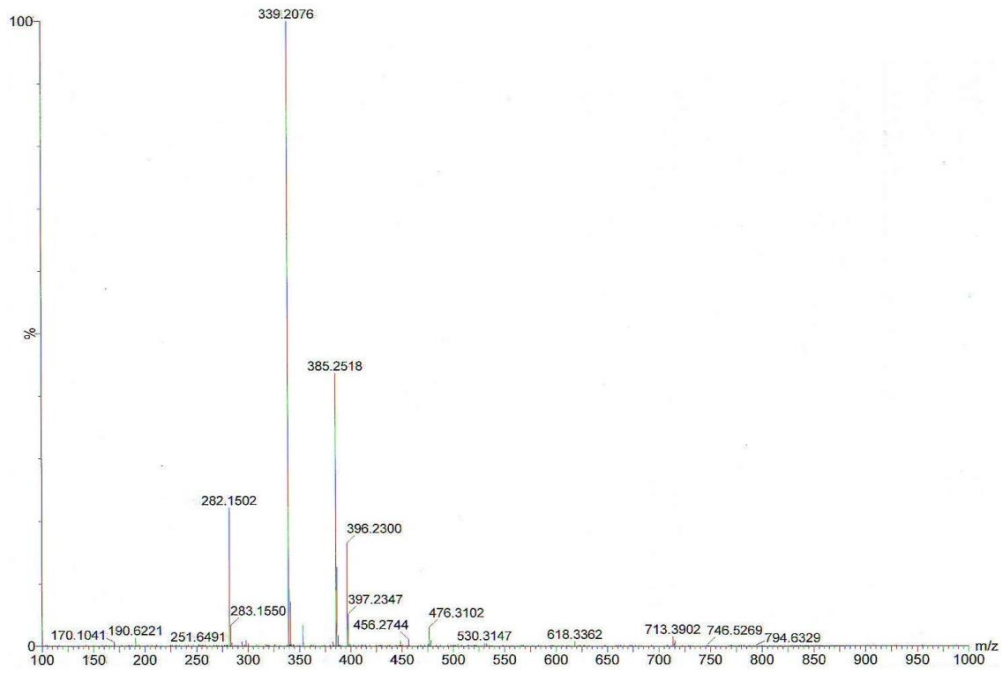
TOF-MS [ES (+)] (CH₃OH) m/z: M⁺ +1 (339.2076)



Şekil 3.2. FY1 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu



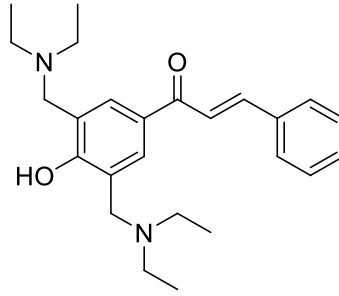
Şekil 3.3. FY1 bileşğinin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.4. FY1 bileşğinin kütle spektrumu

3.3.2. FY2: 1-[3,5-Bis(dietilamino)metil-4-hidroksi-fenil]-3-fenil-2-propen-1-on

Paraformaldehit (0.228 g, 7.6 mmol) ve dietilaminin (0.555 g, 7.6 mmol) asetonitrildeki (10 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında (80 °C, 150 W, 13.8 barr) 5 dakika reaksiyona tabi tutuldu. Reaksiyon ortamına şalkon bileşiğinin (0.426 g, 1.9 mmol), 1-(4-hidroksi-fenil)-3-fenil-2-propen-1-on, asetonitrildeki (25 ml) çözeltisi eklendi. Karışım mikrodalga cihazında (120 °C, 200 W, 13.8 barr) 40 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İ.T.K ile izlendi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Reaksiyon kalıntısı sephadex (LH 20) jel filtrasyonu ve MeOH kullanılarak saflaştırıldı. % 16.55 verimle 0.124 g sarı renkli sıvı madde elde edildi.



1-[3,5-Bis (dietilamino) metil-4-hidroksi-fenil]-3-fenil-2-propen-1-on

¹H-NMR (CDCl₃) (Şekil 3.5)

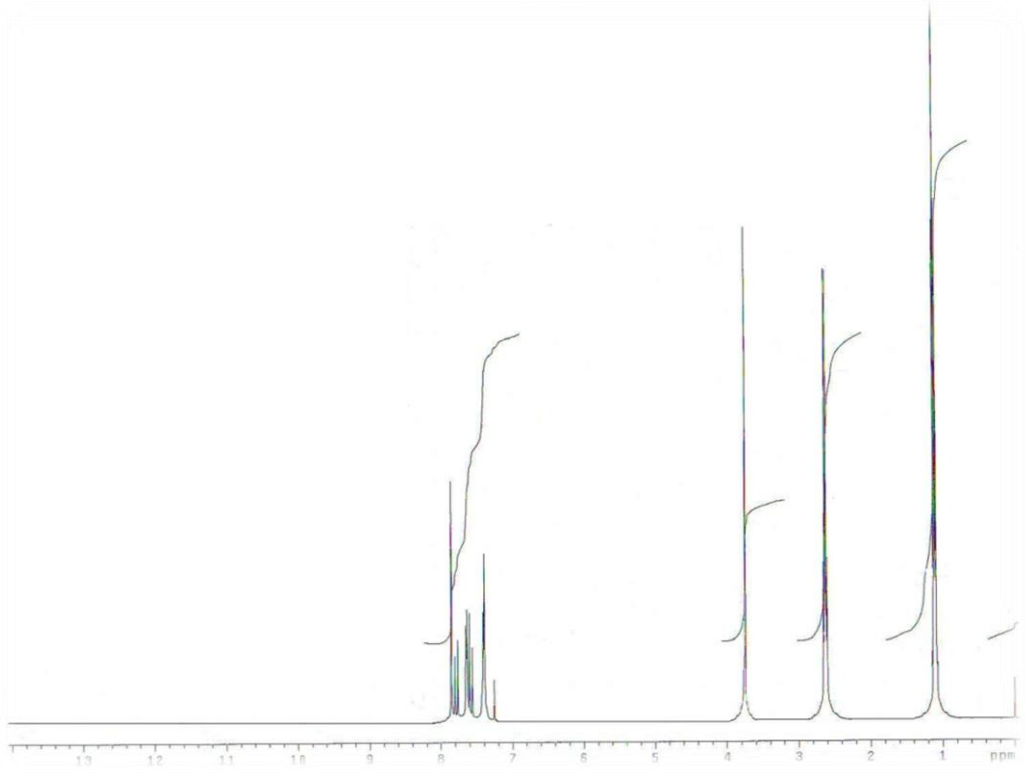
δ 7.85 (s, 2H) ; 7.80-7.76 (d, 1H, J=15.73 Hz) ; 7.64 (d, 2H, J=7.68 Hz) ; 7.58 (d, 1H, J=15.73 Hz) ; 7.41 (m, 3H) ; 2.62 (q, 8H, J=7.31 Hz) ; 1,1 (t, 12H, J=7.31Hz)

¹³C-NMR (CDCl₃) (Şekil 3.6)

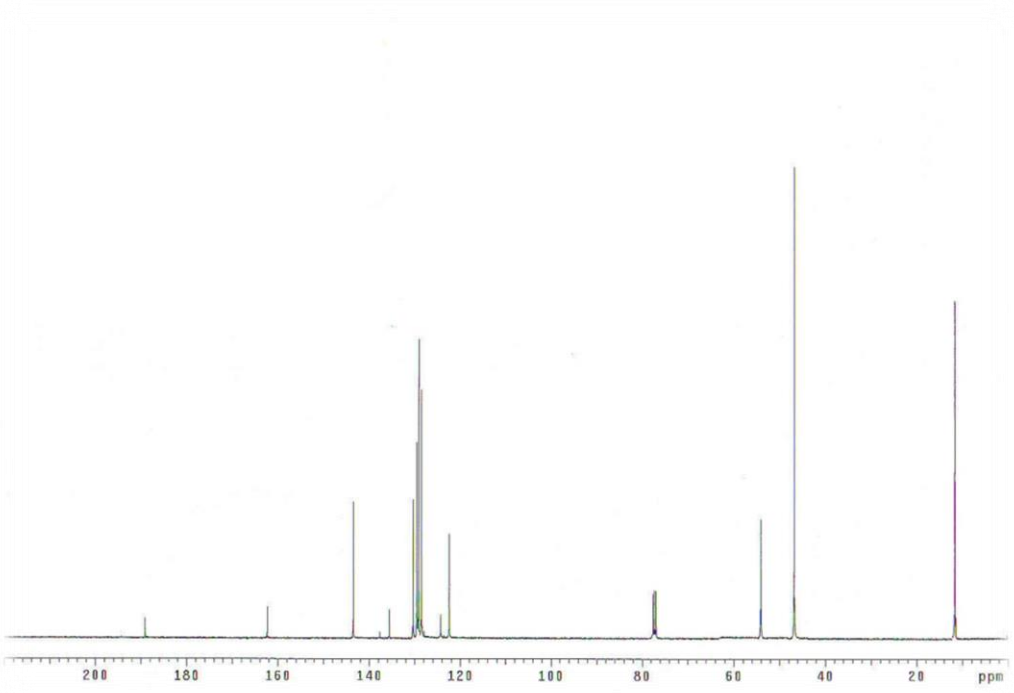
11.62; 46.81; 54.10; 122.43; 124.27; 128.32; 128.54; 129.10; 129.53; 130.32; 135.55; 143.46; 162.30; 189.12

Kütle spektrumu (Şekil 3.7)

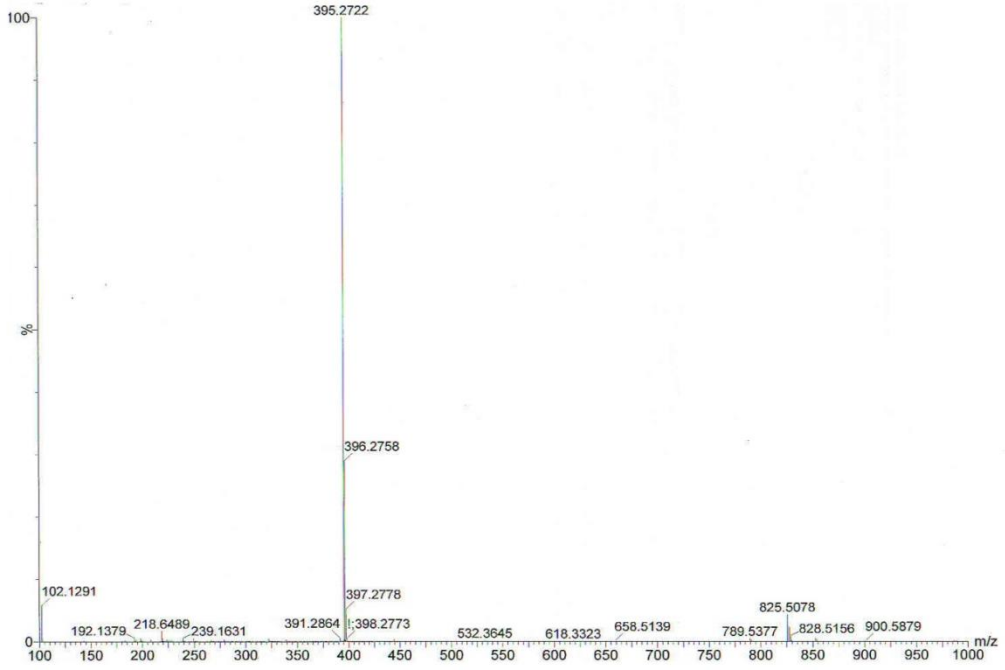
TOF-MS [ES (+)] (CH₃OH) m/z: M⁺ +1 (395.2722)



Şekil 3.5. FY2 bileşiminin ^1H -NMR spektrumu



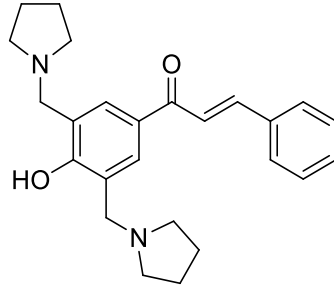
Şekil 3.6. FY2 bileşiminin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.7. FY2 bileşiğinin kütle spektrumu

3.3.3. FY3:1-[3,5-Bis(pirolidin-1-il)metil-4-hidroksi-fenil]-3-fenil-2-propen-1-on

Paraformaldehit (0.228 g, 7.6 mmol) ve pirolidin (0.540 g, 7.6 mmol) asetonitrildeki (10 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında (80 °C, 150 W, 13.8 barr) 5 dakika reaksiyona tabi tutuldu. Reaksiyon ortamına şalkon bileşiğinin (0.426 g, 1.9 mmol), 1-(4-hidroksi-fenil)-3-fenil-2-propen-1-on, asetonitrildeki (25 ml) çözeltisi eklendi. Karışım mikrodalga cihazında (120 °C, 200 W, 13.8 barr) 40 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İ.T.K. ile izlendi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Reaksiyon kalıntısı sephadex (LH 20) jel filtrasyonu ve MeOH kullanılarak saflaştırıldı. % 40.44 verimle 0.300 g koyu turuncu renkli katı elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 95-97 °C' dir.



1-[3,5-Bis (pirolidin-1-il) metil-4-hidroksi-fenil]-3-fenil-2-propen-1-on

¹H-NMR (CDCl₃) (Şekil 3.8)

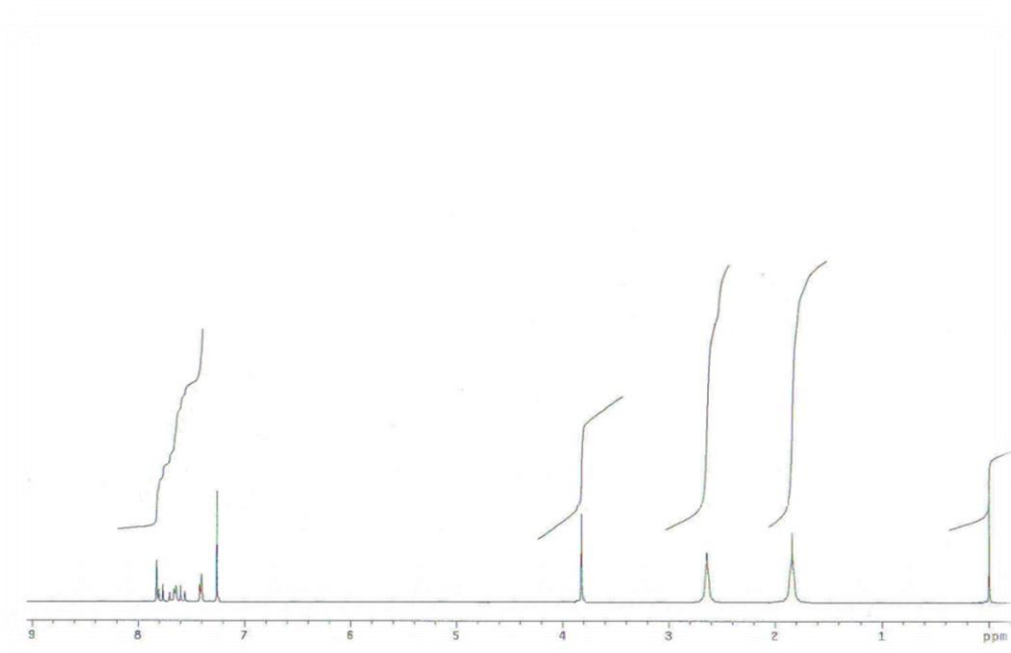
δ 7.83 (s,2H) ; 7.79 (d, 1H, J=15.74 Hz) ; 7.66 (d, 2H, J=7.68 Hz) ; 7.58 (d, 1H, J=15.37 Hz) ; 7.34 (m, 3H) ; 3.82 (s, 4H) ; 2.6 (bs, 8H) ; 1.84 (bs, 8H)

¹³C-NMR (CDCl₃) (Şekil 3.9)

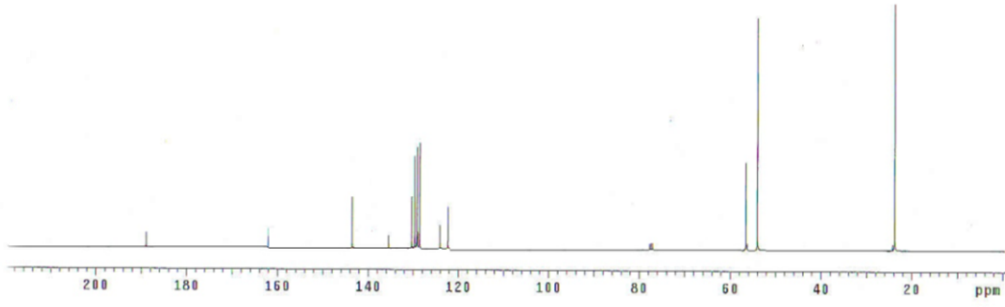
δ 23.80; 54.04; 56.59; 122,29; 124,06; 128,57; 128,95; 129,08; 129,65; 130,36; 135.48; 143,56; 162,03; 188.95

Kütle spektrumu (Şekil 3.10)

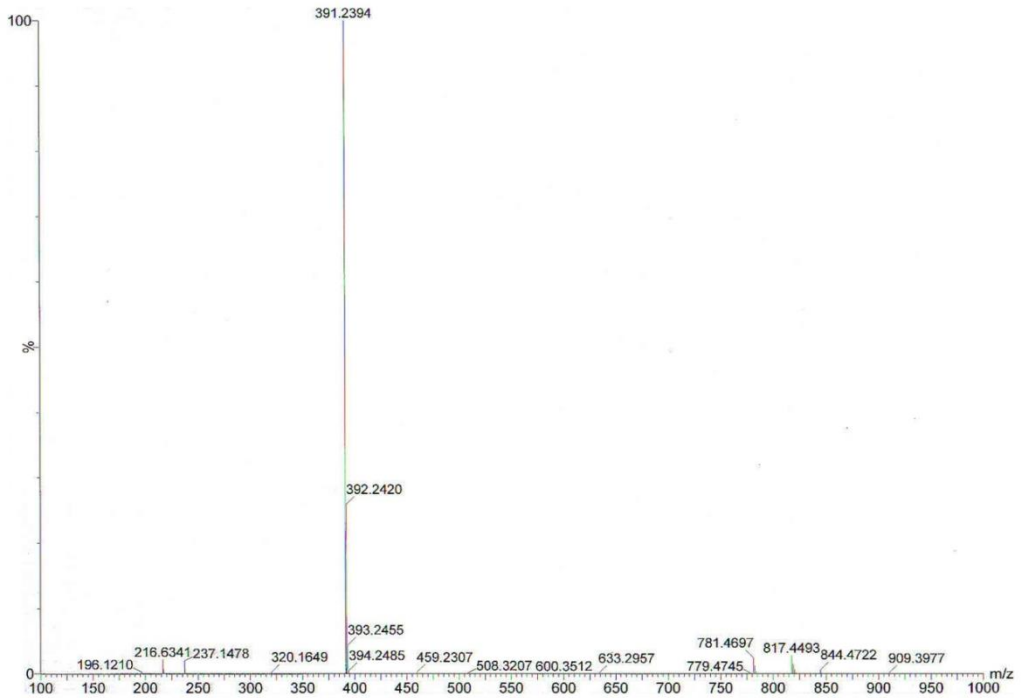
TOF-MS [ES (+)] (CH₃OH) m/z: M⁺ +1 (391.2394)



Şekil 3.8. FY3 bileşiminin ¹H-NMR spektrumu



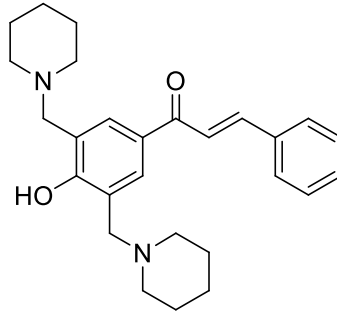
Şekil 3.9. FY3 bileşiminin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.10. FY3 bileşiminin kütle spektrumu

3.3.4. FY4:1-[3,5-Bis(piperidin-1-il)metil-4-hidroksi-fenil]-3-fenil-2-propen-1-on

Paraformaldehit (0.228 g, 7.6 mmol) ve piperidinin (0.646 g, 7.6 mmol) asetonitrildeki (10 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında (80 °C, 150 W, 13.8 barr) 5 dakika reaksiyona tabi tutuldu. Reaksiyon ortamına şalkon bileşiğinin (0.426 g, 1,9 mmol), 1-(4-hidroksi-fenil)-3-fenil-2-propen-1-on, asetonitrildeki (25 ml) çözeltisi eklendi. Karışım mikrodalga cihazında (120 °C, 200 W, 13.8 barr) 40 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İ.T.K. ile izlendi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Reaksiyon kalıntısı üzerine 5 mL EtOH ve 70 mL diisopropil eter ilave edilerek +4 °C' de 1 gece bırakıldı. Oluşan katı etanolden kristallendirildi. % 57.85 verimle 0.460 g koyu sarı renkli katı elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 151-153 °C' dir.



1-[3,5-Bis (piperidin-1-il) metil-4-hidroksi-fenil]-3-fenil-2-propen-1-on

¹H-NMR (CDCl₃) (Şekil 3.11)

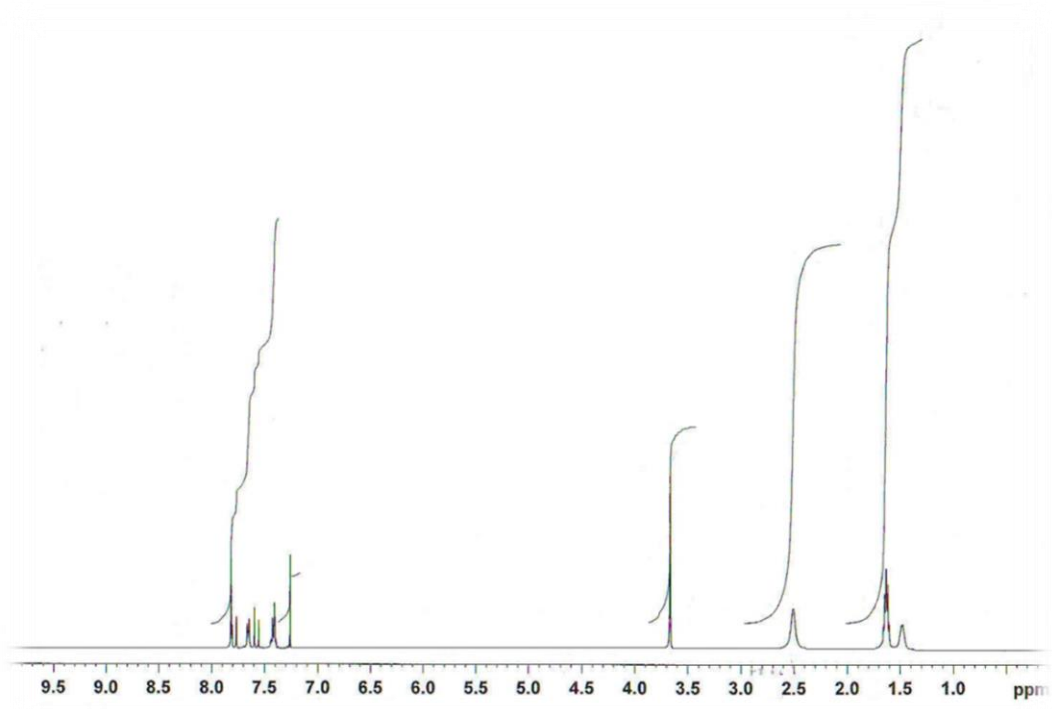
δ 7.82 (s, 2H) ; 7.78 (d, 1H, J=15.69 Hz) ; 7.65 (d, 2H, J=7.32 Hz) ; 7.57 (d, 1H, J=15.64 Hz) ; 7.41(m,3H) ; 3.66 (s, 4H) ; 2.51 (bs, 8H) ; 1.63 (m, 8H) ; 1.49 (bs, 4H)

¹³C-NMR (CDCl₃) (Şekil 3.12)

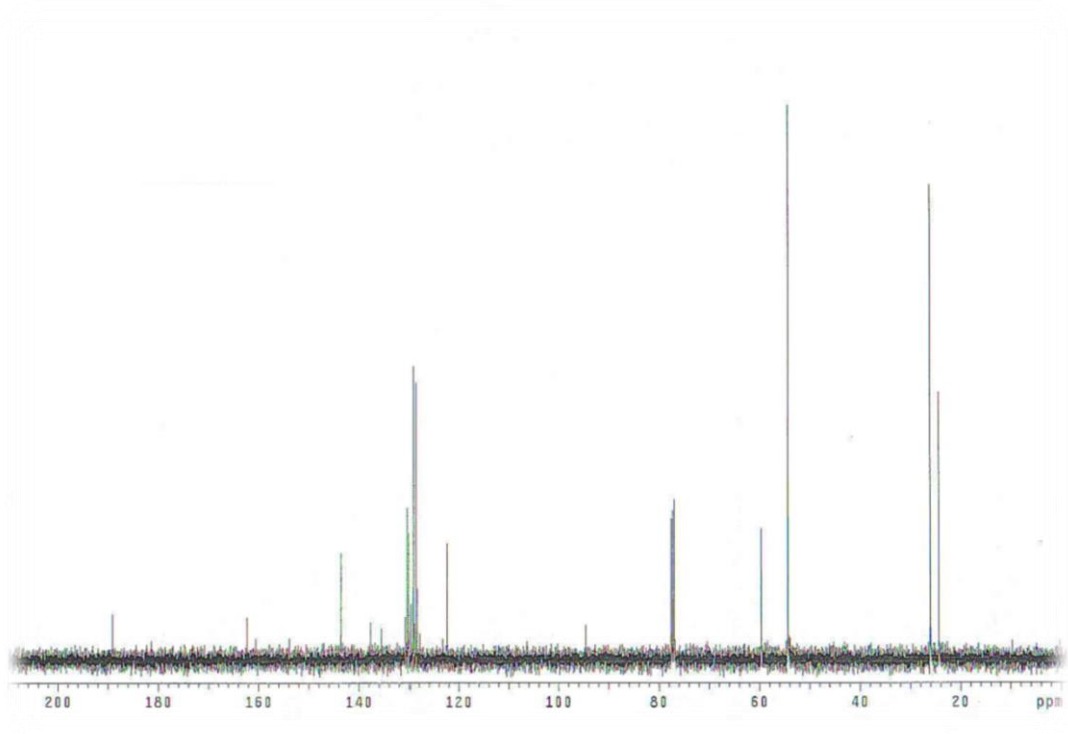
δ 24.32; 26.03; 54.38; 59.62; 122.35; 128.34; 128.59; 129.12; 129.56; 130.07; 130.38; 135.51; 143.58; 162.26; 189.08

Kütle spektrumu (Şekil 3.13)

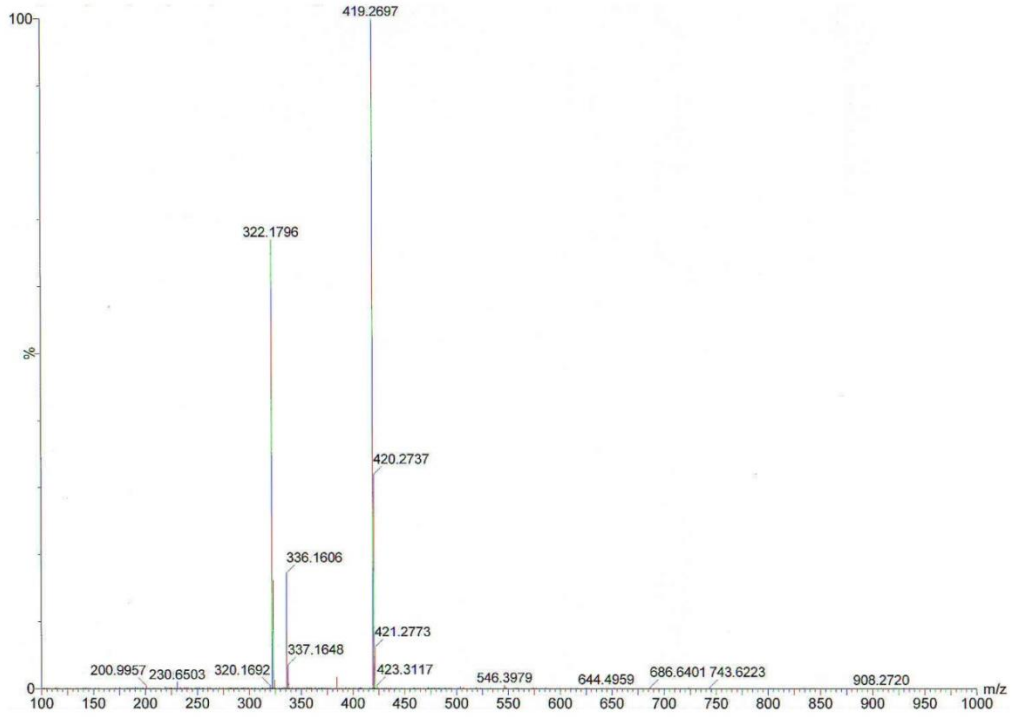
TOF-MS [ES (+)] (CH₃OH) m/z: M⁺ +1 (419.2697)



Şekil 3.11. FY4 bileşiminin ^1H -NMR spektrumu



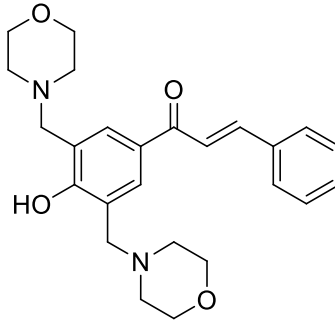
Şekil 3.12. FY4 bileşiminin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.13. FY4 bileşiğinin kütle spektrumu

3.3.5. FY5:1-[3,5-Bis(morfolino)metil-4-hidroksi-fenil]-3-fenil-2-propen-1-on

Paraformaldehit (0.228 g, 7.6 mmol) ve morfolinin (0.654 g, 7.6 mmol) asetonitrildeki (10 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında (80 °C, 150 W, 13.8 barr) 5 dakika reaksiyona tabi tutuldu. Reaksiyon ortamına şalkon bileşiğinin (0.426 g, 1.9 mmol), 1-(4-hidroksi-fenil)-3-fenil-2-propen-1-on, asetonitrildeki (25 ml) çözeltisi eklendi. Karışım mikrodalga cihazında (120 °C, 200 W, 13.8 barr) 40 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İ.T.K. ile izlendi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Reaksiyon kalıntısı sütun kromatografisi yöntemiyle [silikajel 60 (70–230 mesh)] kloroform: metanol (90.10) çözücü sistemi kullanılarak saflaştırıldı. % 85.74 verimle 0,6882 g açık sarı renkli katı elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 134-136 °C’ dir.



1-[3,5-Bis (morfolino) metil-4-hidroksi-fenil]-3-fenil-2-propen-1-on

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (Şekil 3.14)

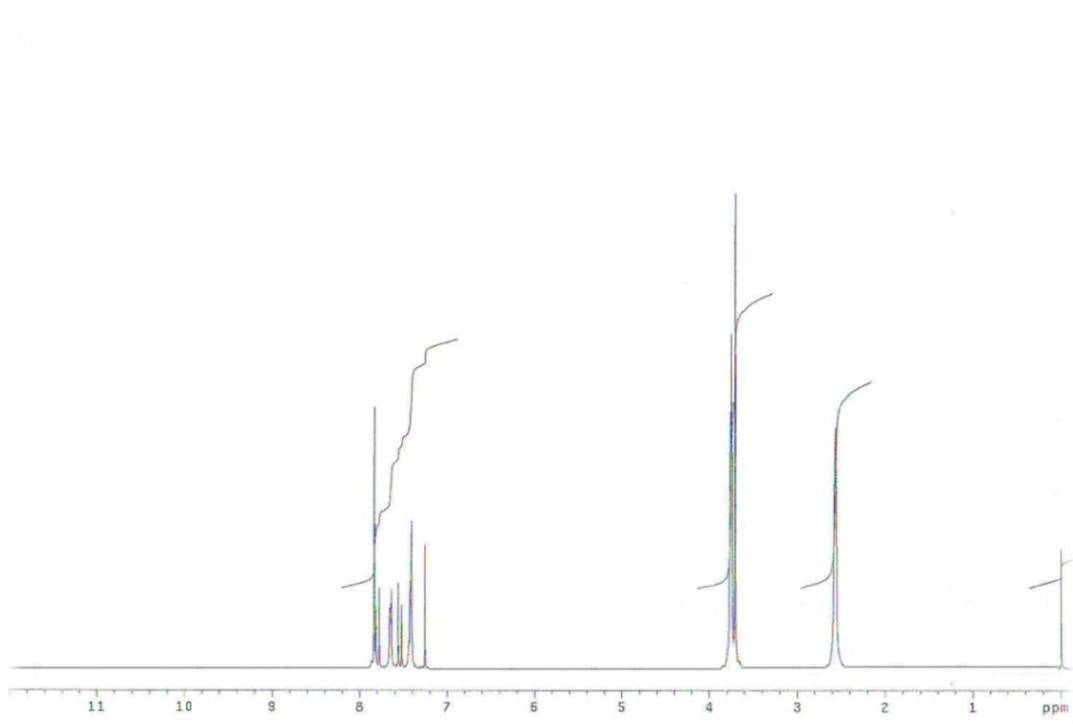
δ 7.84 (s, 2H) ; 7.79 (d, 1H, $J=15.73$ Hz) ; 7.65 (d, 2H, $J=7.68$ Hz) ; 7.54 (d, 1H, $J=15.36$ Hz) ; 7.42 (m, 3H) ; 3.75 (bs, 8H) ; 3.07 (s, 4H) ; 2.57 (bs, 8H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) (Şekil 3.15)

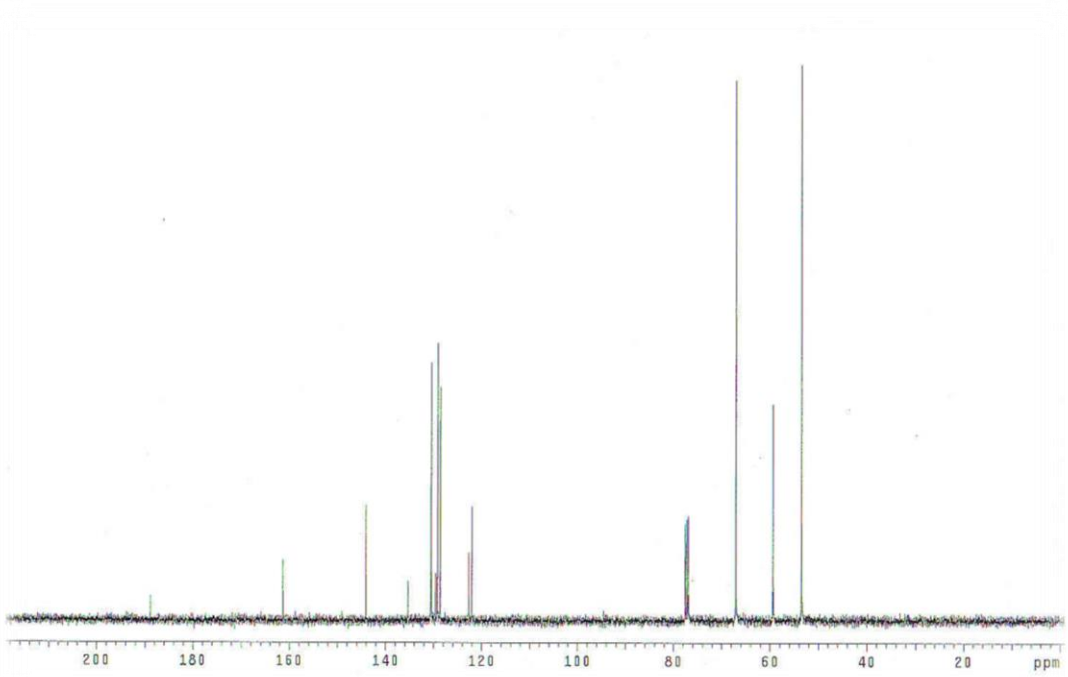
δ 53.49; 59.40; 67.04; 122.02; 122.63; 128.59; 129.17; 129.56; 130.48; 130.56; 135.36; 144.04; 161.34; 188.85

Kütle spektrumu (Şekil 3.16)

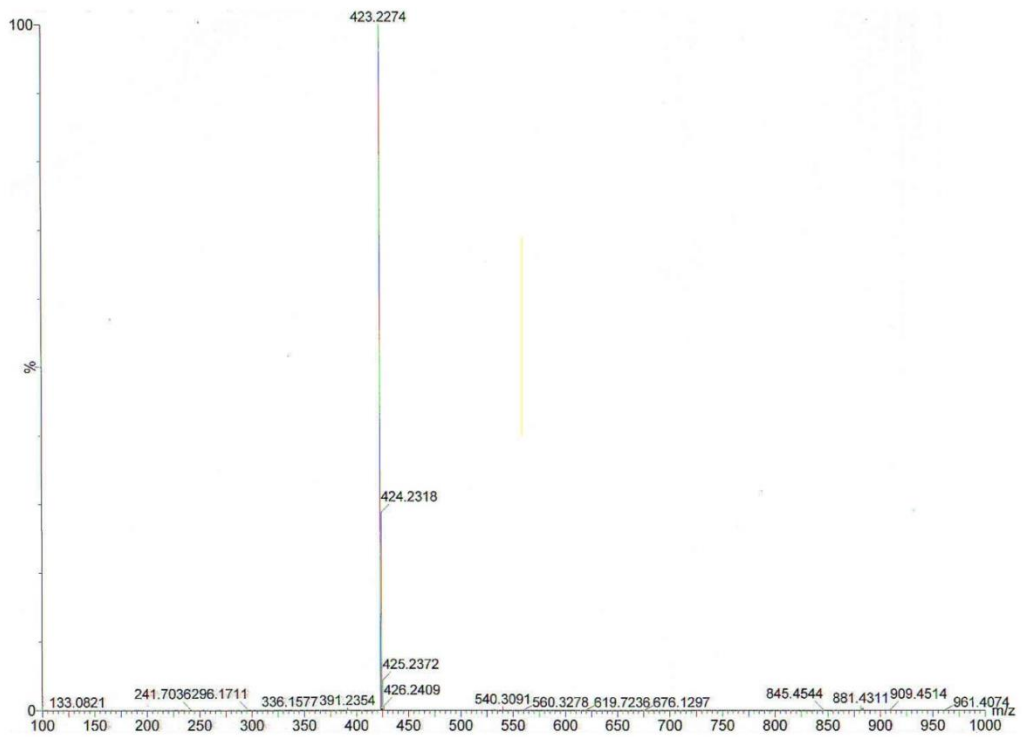
TOF-MS [ES (+)] (CH_3OH) m/z : $M^+ + 1$ (423.2274)



Şekil 3.14. FY5 bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



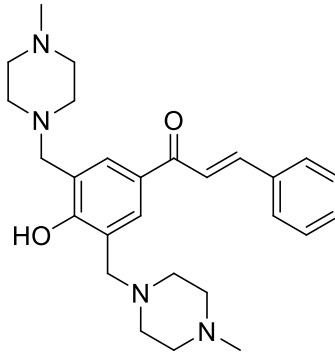
Şekil 3.15. FY5 bileşiminin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.16. FY5 bileşiminin kütle spektrumu

3.3.6. FY6:1-[3,5-Bis(4-metilpiperazin-1-il)metil-4-hidroksi-fenil]-3-fenil-2-propen-1-on

Paraformaldehit (0.228 g, 7.6 mmol) ve N-metilpiperazinin (0.113 g, 7.6 mmol) asetonitrildeki (10 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında (80 °C, 150 W, 13.8 barr) 5 dakika reaksiyona tabi tutuldu. Reaksiyon ortamına şalkon bileşiğinin (0.426 g, 1.9 mmol), 1-(4-hidroksi-fenil)-3-fenil-2-propen-1-on, asetonitrildeki (25 ml) çözeltisi eklendi. Karışım mikrodalga cihazında (120 °C, 200 W, 13.8 barr) 30 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İ.T.K. ile izlendi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Reaksiyon kalıntısı üzerine 5 mL EtOH ve 70 mL diisopropil eter ilave edilerek +4 °C' de 1 gece bırakıldı. Oluşan katı etanolden kristallendirildi. % 39.07 verimle 0.333 g açık sarı renkli katı elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 147-149 °C' dir.



1-[3,5-Bis (4-metilpiperazin-1-il) metil-4-hidroksi-fenil]-3-fenil-2-propen-1-on

¹H-NMR (CDCl₃) (Şekil 3.17)

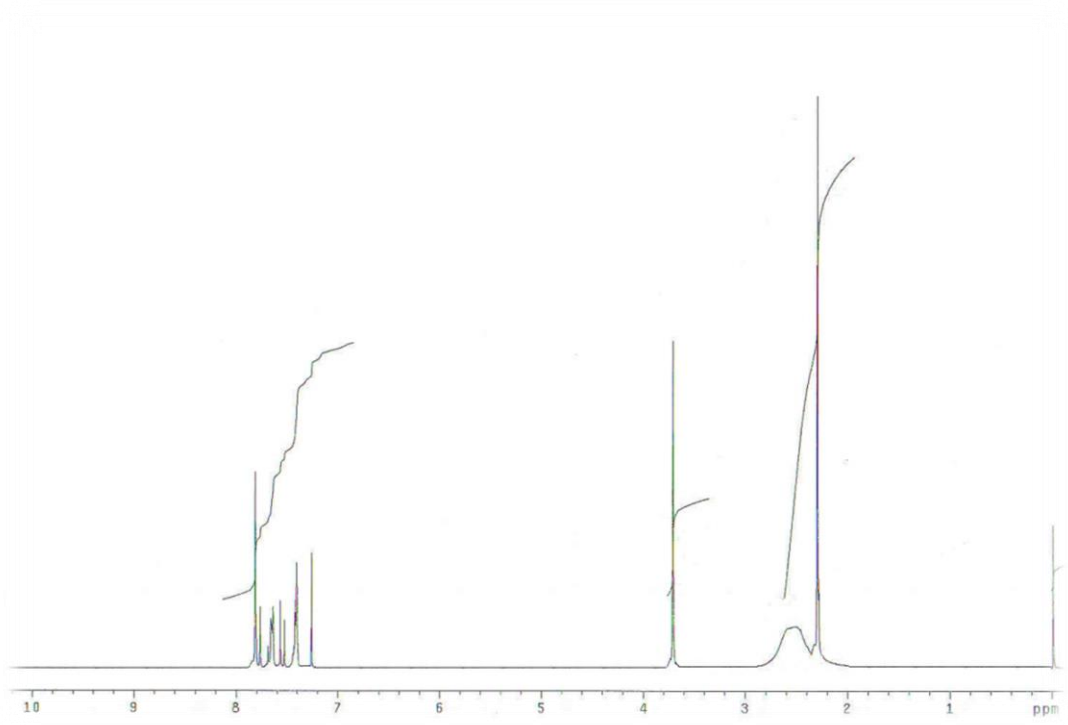
δ 7.81 (s, 2H) ; 7.78 (d, 1H, J=15.88 Hz) ; 7.65 (d, 2H, J=7.94 Hz) ; 7.54 (d, 1H, J=15.58 Hz) ; 7.41 (m, 3H) ; 3.71 (s,4H) ; 2.43 (bs, 16H) ; 2.95 (s,6H)

¹³C-NMR (CDCl₃) (Şekil 3.18)

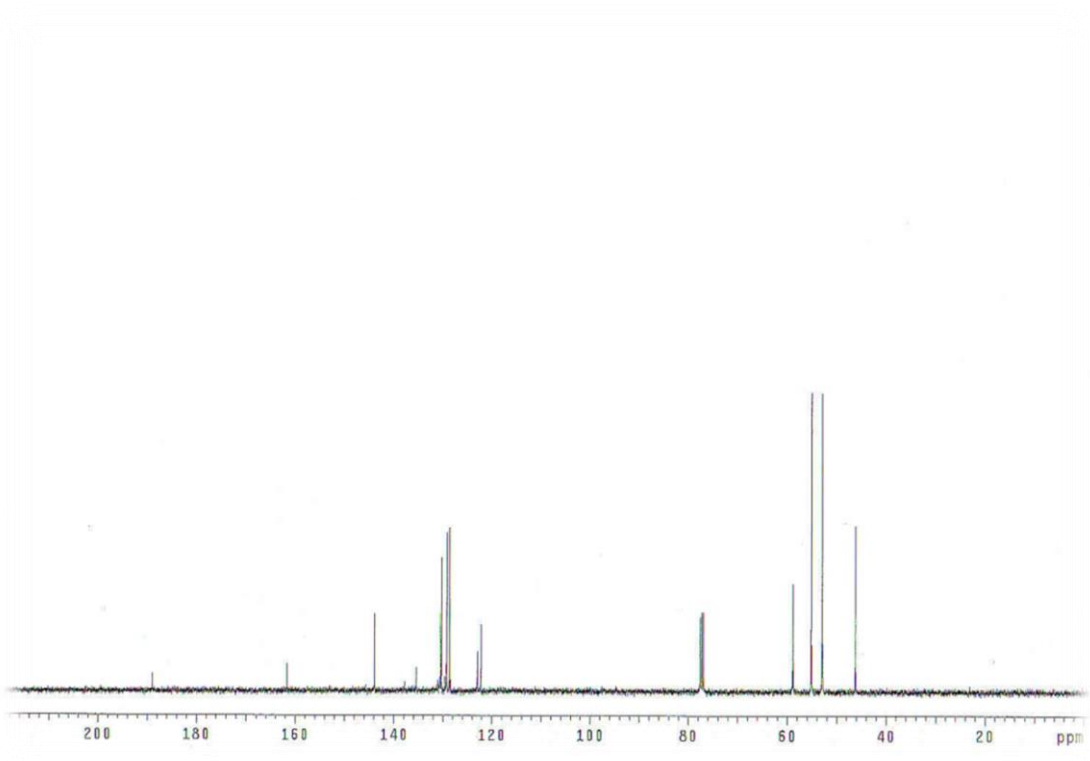
δ 46.19; 52.97; 55.14; 58.86; 122.16; 122.92; 128.38; 128.59; 129.14; 130.29; 130.48; 135.42; 143.83; 161.65; 188.93

Kütle spektrumu (Şekil 3.19)

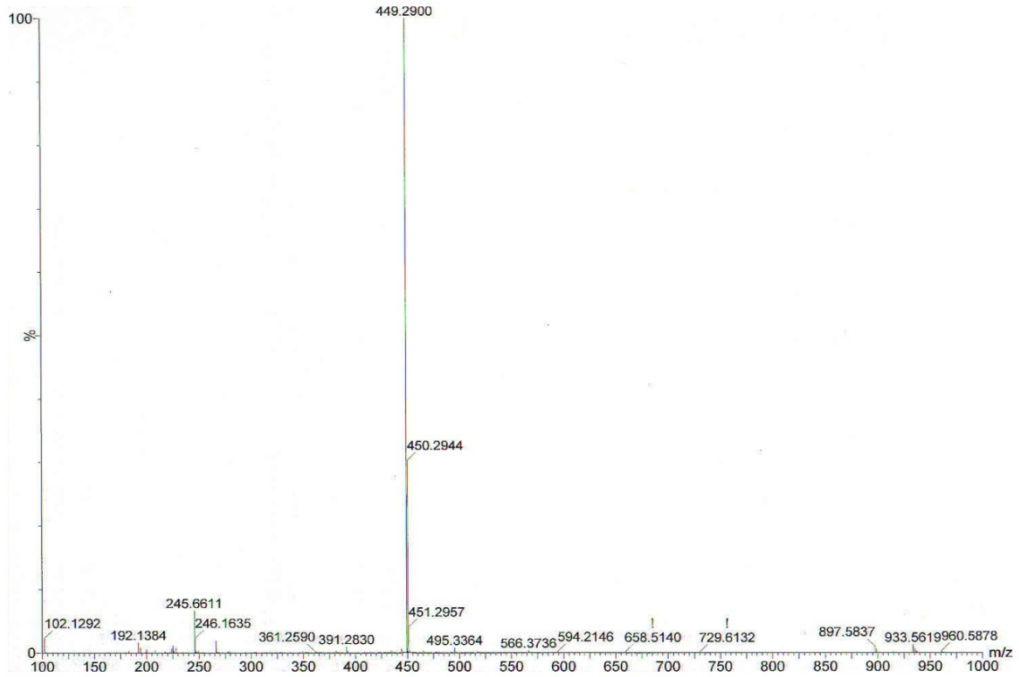
TOF-MS [ES (+)] (CH₃OH) m/z: M⁺ +1 (449.2900)



Şekil 3.17. FY6 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu



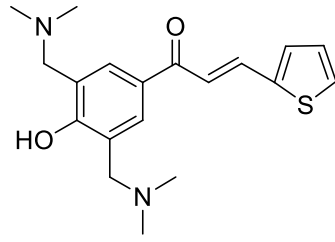
Şekil 3.18. FY6 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.19. FY6 bileşiğinin kütle spektrumu

3.3.7. FY7:1-[3,5-Bis(dimetilamino)metil-4-hidroksi-fenil]-3-tiyofen-2-il)-2-propen-1-on

Paraformaldehit (0.228 g, 7.6 mmol) ve dimetilaminin (0.384ml, 7.6 mmol) asetonitrildeki (10 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında (80 °C, 150 W, 13.8 barr) 5 dakika reaksiyona tabi tutuldu. Reaksiyon ortamına şalkon bileşiğinin (0.437 g, 1.9 mmol), 1-(4-hidroksi-fenil)-3-(tiyofen-2-il)-2-propen-1-on, asetonitrildeki (25 ml) çözeltisi eklendi. Karışım mikrodalga cihazında (120 °C, 200 W, 13,8 barr) 40 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İ.T.K. ile izlendi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Kalıntısı sephadex (LH 20) jel filtrasyonu ve MeOH kullanılarak saflaştırıldı. % 8.90 verimle 0.075 g açık sarı renkli katı elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 117-119 °C' dir.



1-[3,5-Bis (dimetilamino) metil-4-hidroksi-fenil]-3- (tiyofen-2-il) -2-propen-1-on

¹H-NMR (CDCl₃) (Şekil 3.20)

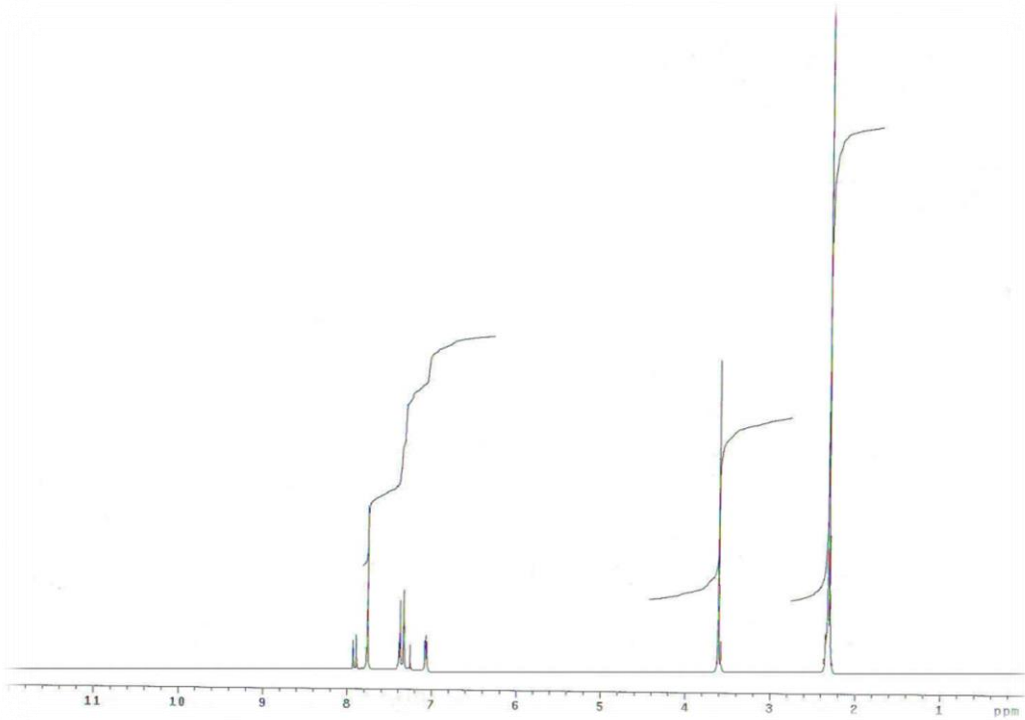
δ 7.91 (d, 1H, J=15.01Hz) ; 7.76 (s, 2H) ; 7.36 (d, 1H, J=15.36 Hz) ; 7.07 (m,3H)
; 3.61 (s, 4H) ; 2.32 (s, 12H)

¹³C-NMR (CDCl₃) (Şekil 3.21)

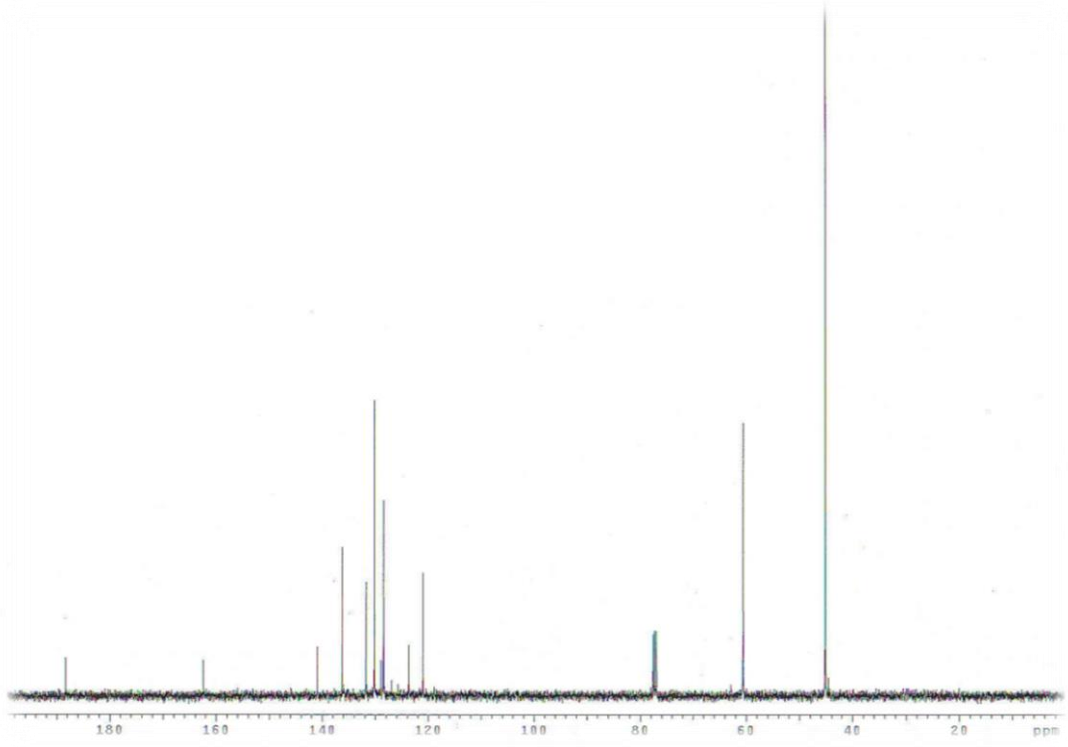
δ 45.14; 60.55; 120.98; 123.69; 128.46; 128.50; 128.96; 130.17; 131.74; 136.20;
140.92; 162.38; 188.30

Kütle spektrumu (Şekil 3.22)

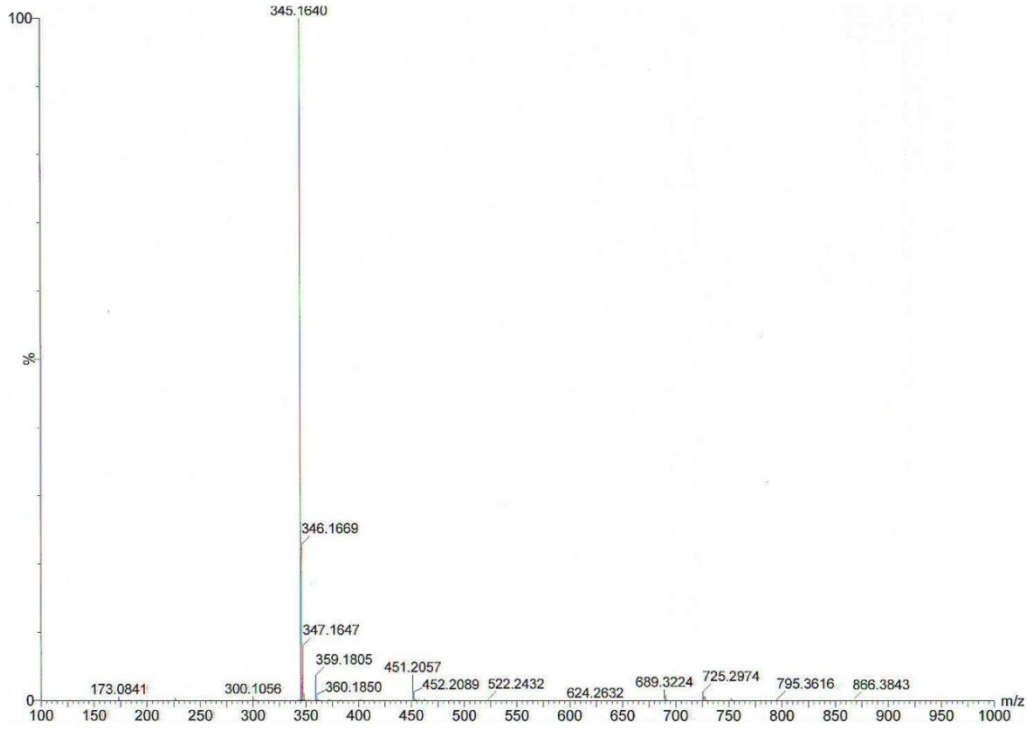
TOF-MS [ES (+)] (CH₃OH) m/z: M⁺ +1 (345.1640)



Şekil 3.20. FY7 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu



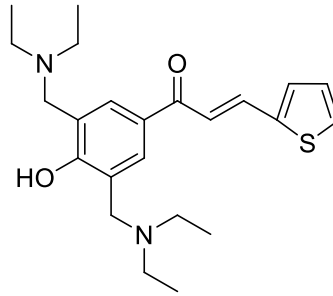
Şekil 3.21. FY7 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.22. FY7 bileşiğinin kütle spektrumu

3.3.8. FY8:1-[3,5-Bis(dietilamino)metil-4-hidroksi-fenil]-3-(tiyofen-2-il)-2-propen-1-on

Paraformaldehit (0.228 g, 7.6 mmol) ve dietilaminin (0.555 g, 7.6 mmol) asetonitrildeki (10 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında (80 °C, 150 W, 13.8 barr) 5 dakika reaksiyona tabi tutuldu. Reaksiyon ortamına şalkon bileşiğinin (0.437 g, 1.9 mmol), 1-(4-hidroksi-fenil)-3-(tiyofen-2-il)-2-propen-1-on, asetonitrildeki (25 ml) çözeltisi eklendi. Karışım mikrodalga cihazında (120 °C, 200 W, 13.8 barr) 40 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İ.T.K. ile izlendi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Reaksiyon kalıntısı sephadex (LH 20) jel filtrasyonu ve MeOH kullanılarak saflaştırıldı. % 11.66 verimle 0.09 g açık sarı renkli sıvı madde elde edildi.



1-[3,5-Bis (dietilamino) metil-4-hidroksi-fenil]-3- (tiyofen-2-il) -2-propen-1-on

¹H-NMR (CDCl₃) (Şekil 3.23)

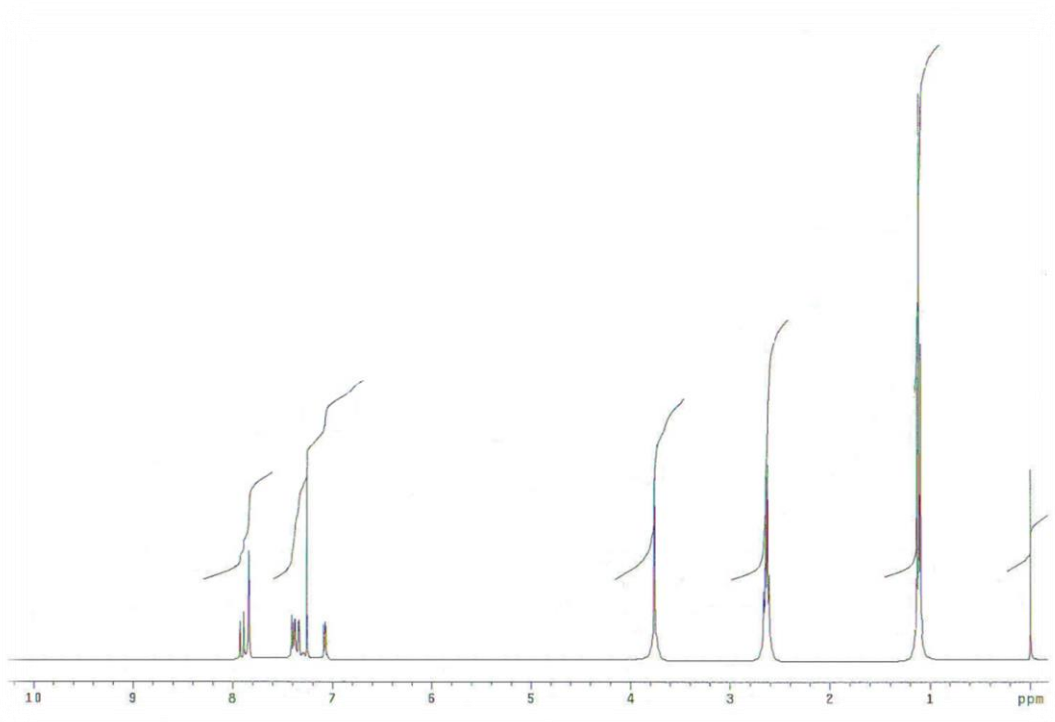
δ 7.91 (d, 1H, J=15.36 Hz) ; 7.84 (s, 2H) ; 7.35 (d, 1H, j=15.00 Hz) ; 7.08 (m, 3H) ; 3.76 (s, 4H) ; 2.64 (q, 8H, j=6.95) ; 1.11 (t, 12H, j=7.13)

¹³C-NMR (CDCl₃) (Şekil 3.24)

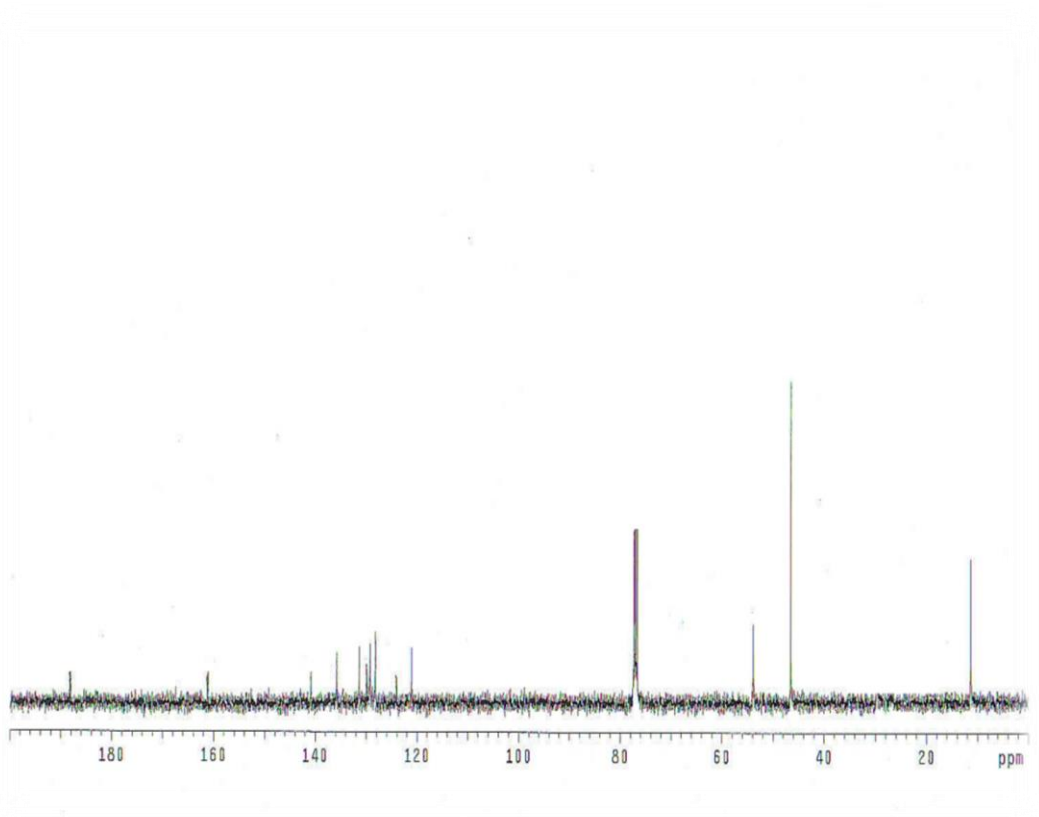
δ 11.35; 46.56; 53.86; 121.08; 124.67; 128.13; 128.21; 129.23; 130.96; 131.34; 135.70; 141.28; 161.52; 188.45

Kütle spektrumu (Şekil 3.25)

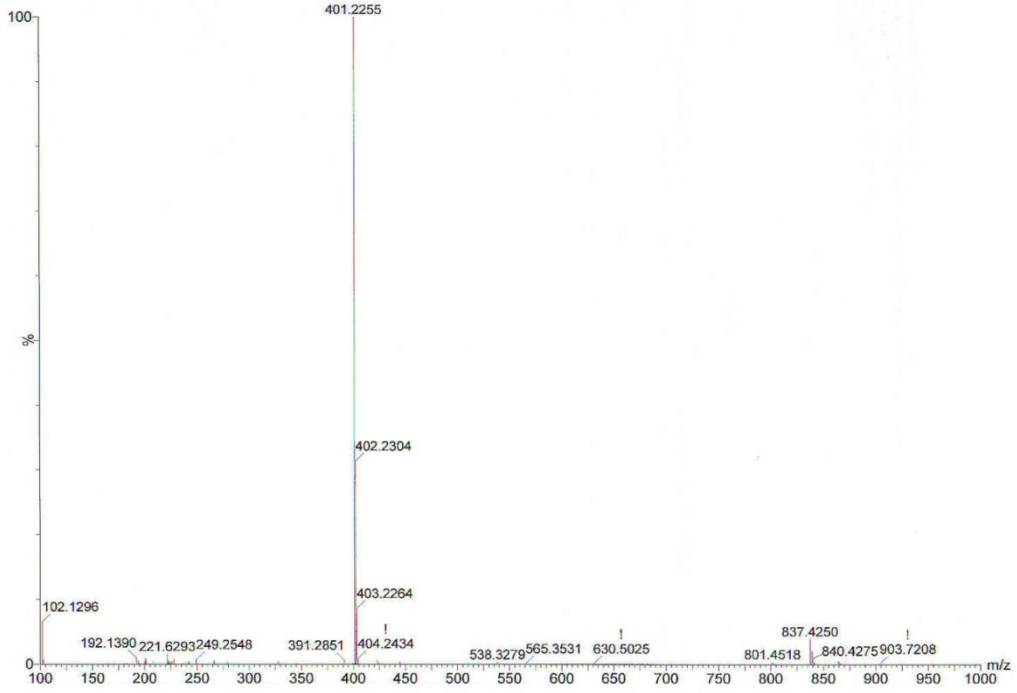
TOF-MS [ES (+)] (CH₃OH) m/z: M⁺ +1 (401.2255)



Şekil 3.23. FY8 bileşiminin ^1H -NMR spektrumu



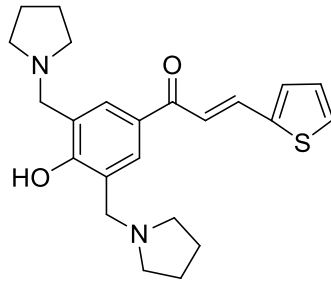
Şekil 3.24. FY8 bileşiminin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.25. FY8 bileşiminin kütle spektrumu

3.3.9. FY9: 1-[3,5-Bis(pirolidin-1-il)metil-4-hidroksi-fenil]-3-(tiyofen-2-il)-2-propen-1-on

Paraformaldehit (0.228 g, 7.6 mmol) ve pirolidin (0.540 g, 7.6 mmol) asetonitrildeki (10 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında (80 °C, 150 W, 13.8 barr) 5 dakika reaksiyona tabi tutuldu. Reaksiyon ortamına şalkon bileşiminin (0.437 g, 1,9 mmol), 1-(4-hidroksi-fenil)-3-(tiyofen-2-il)-2-propen-1-on, asetonitrildeki (25 ml) çözeltisi eklendi. Karışım mikrodalga cihazında (120 °C, 200 W, 13.8 barr) 40 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İ.T.K. ile izlendi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Reaksiyon kalıntısı sephadex (LH 20) jel filtrasyonu ve MeOH kullanılarak saflaştırıldı. % 38.84 verimle 0,2923 g koyu turuncu renkli katı elde edildi. Bileşimin erime derecesi 92-94 °C' dir.



1-[3,5-Bis (pirolidin-1-il) metil-4-hidroksi-fenil]-3- (tiyofen-2-il) -2-propen-1-on

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (Şekil 3.26)

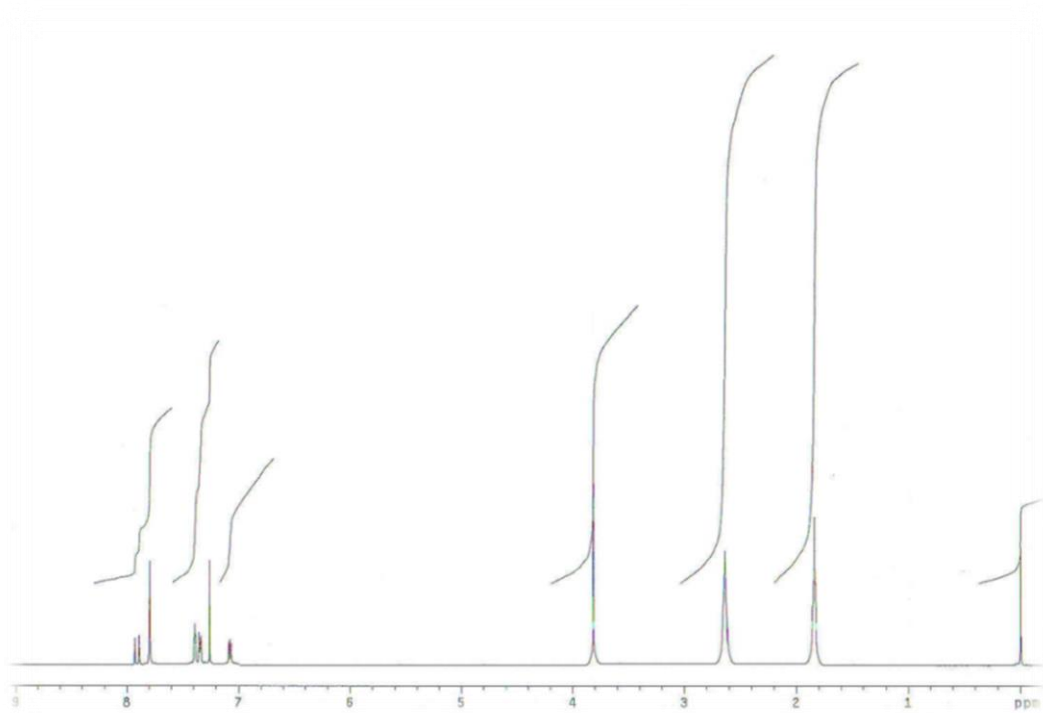
δ 7.91 (d, 1H, $J=15.36$ Hz) ; 7,8 (s, 2H) ; 7.38 (d, 1H, $j=15.36$) ; 7.08 (m,3H) ;
3.81 (s, 4H) ; 2.64 (bs, 8H) ; 1.84 (bs, 8H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) (Şekil 3.27)

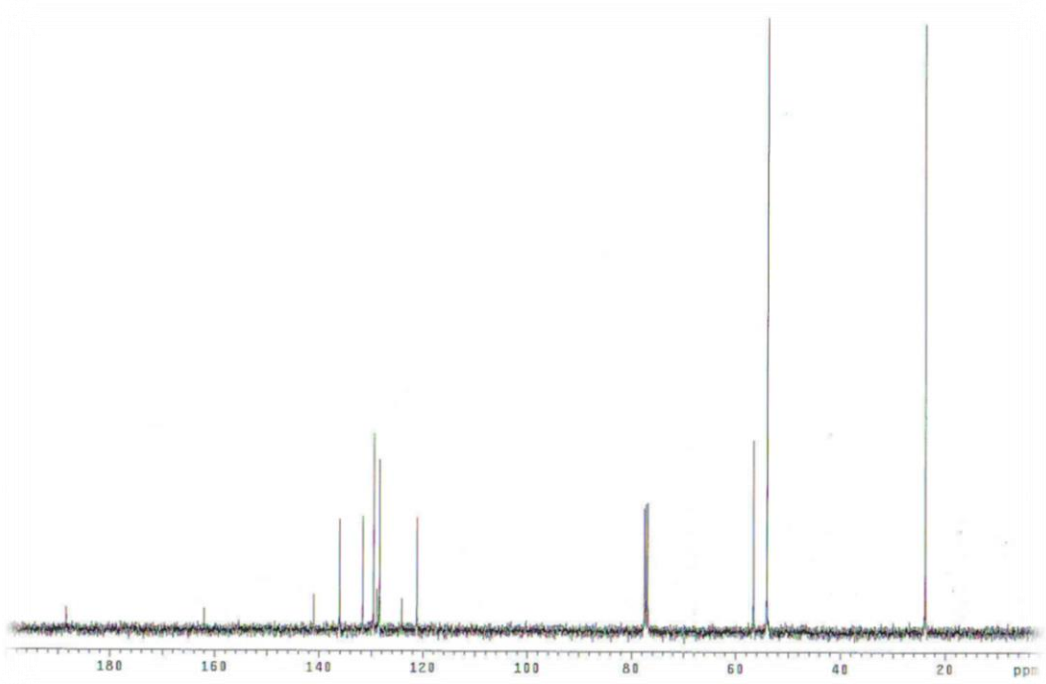
δ 23.83; 54.07; 56.64; 121.18; 124.08; 128.40; 128.44; 128.90; 129.55; 131.63;
136.05; 141.00; 162.00; 188.40

Kütle spektrumu (Şekil 3.28)

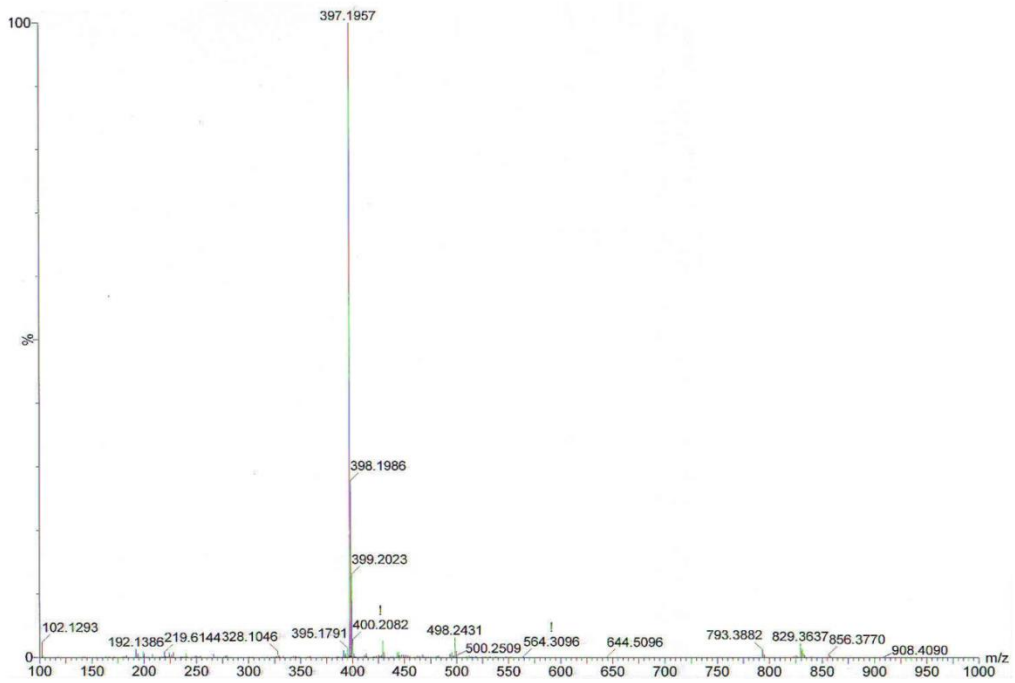
TOF-MS [ES (+)] (CH_3OH) m/z : $M^+ +1$ (397.1957)



Şekil 3.26. FY9 bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



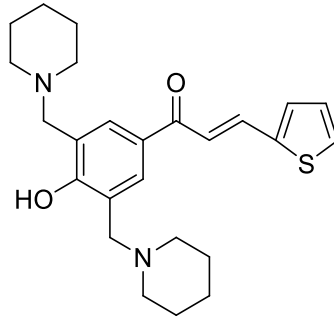
Şekil 3.27. FY9 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.28. FY9 bileşiğinin kütle spektrumu

3.3.10. FY10:1-[3,5-Bis(piperidin-1-il)metil-4-hidroksi-fenil]-3-(tiyofen-2-il)-2-propen-1-on

Paraformaldehit (0.228 g, 7.6 mmol) ve piperidinin (0.646 g, 7.6 mmol) asetonitrildeki (10 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında (80 °C, 150 W, 13.8 barr) 5 dakika reaksiyona bırakıldı. Reaksiyon ortamına şalkon bileşiğinin (0.437 g, 1.9 mmol), 1-(4-hidroksi-fenil)-3-(tiyofen-2-il)-2-propen-1-on, asetonitrildeki (25 ml) çözeltisi eklendi. Karışım mikrodalga cihazında (120 °C, 200 W, 13.8 barr) 40 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İ.T.K. ile izlendi. Bir gece kendi çözücüsünde bekletildi. Oluşan kristaller süzüldü. % 41.75 verimle 0,3364 g açık sarı renkli katı elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 169-171 °C' dir.



1-[3,5-Bis (piperidin-1-il) metil-4-hidroksi-fenil]-3- (tiyofen-2-il) -2-propen-1-on

¹H-NMR (CDCl₃) (Şekil 3.29)

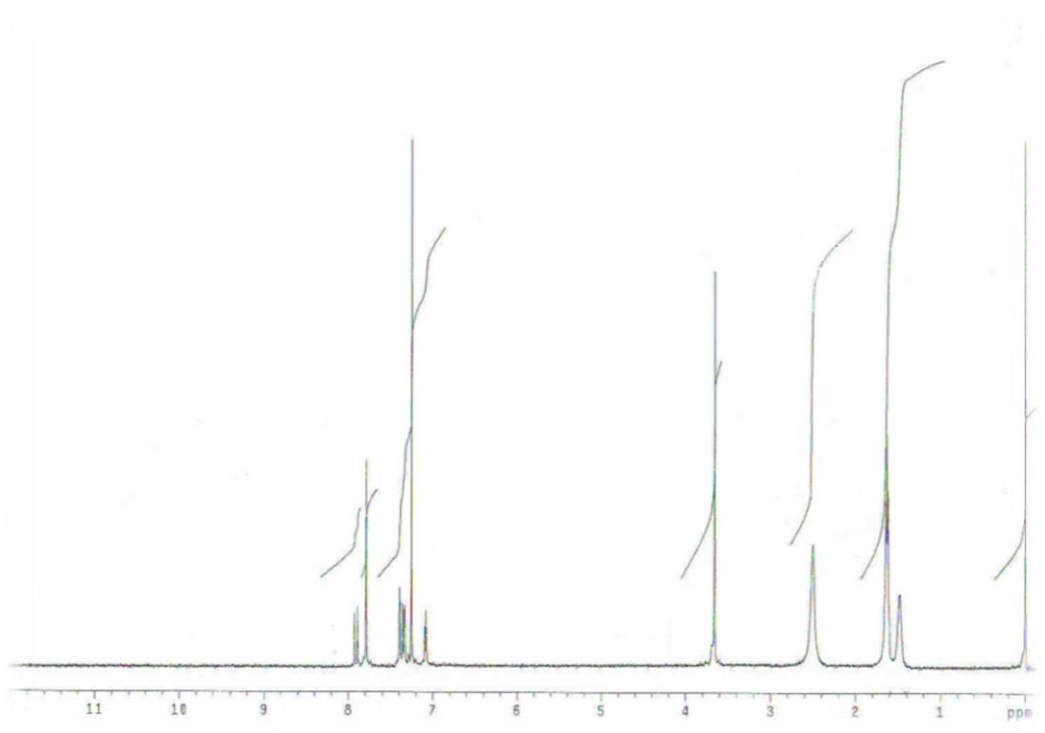
δ 7.91 (d, 1H, j=15.00 Hz) ; 7.79 (s, 2H) ; 7.37 (d, 1H, j=15.37) ; 7.08 (m, 3H) ; 3.66 (s, 4H) ; 2.50 (bs, 8H) ; 1.63 (bs, 8H) ; 1.48 (bs, 4H)

¹³C-NMR (CDCl₃) (Şekil 3.30)

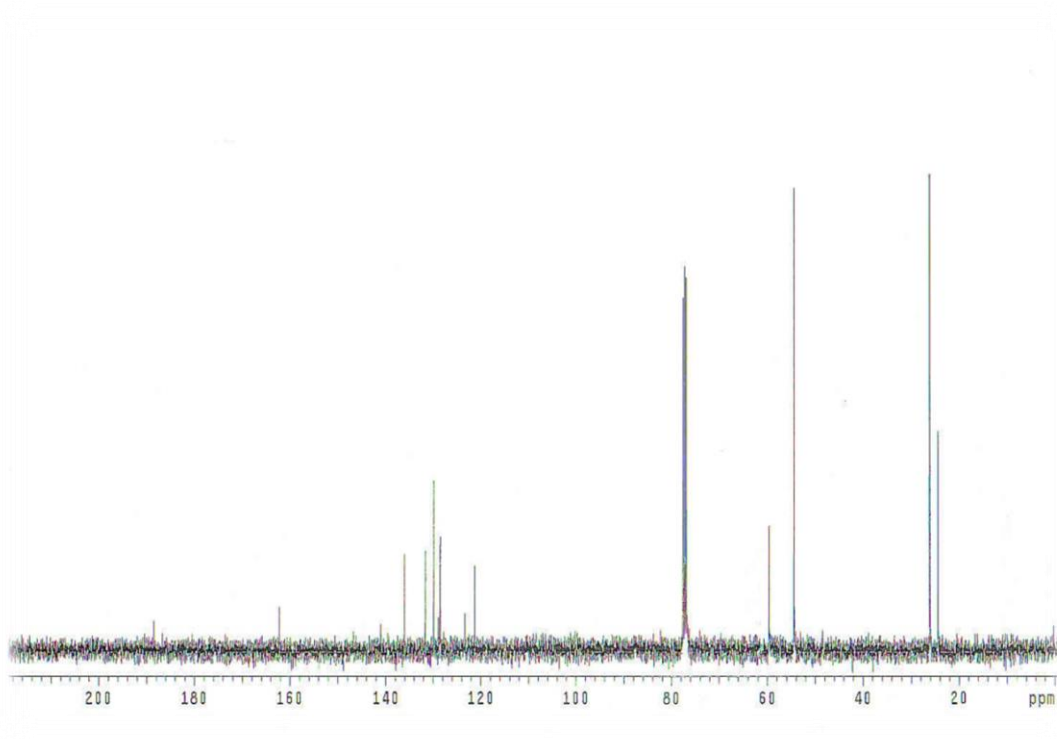
δ 24.35; 26.07; 54.41; 59.63; 121.25; 123.30; 128.39; 128.45; 128.88; 129.83; 131.63; 136.00; 141.04; 162.19; 188.48

Kütle spektrumu (Şekil 3.31)

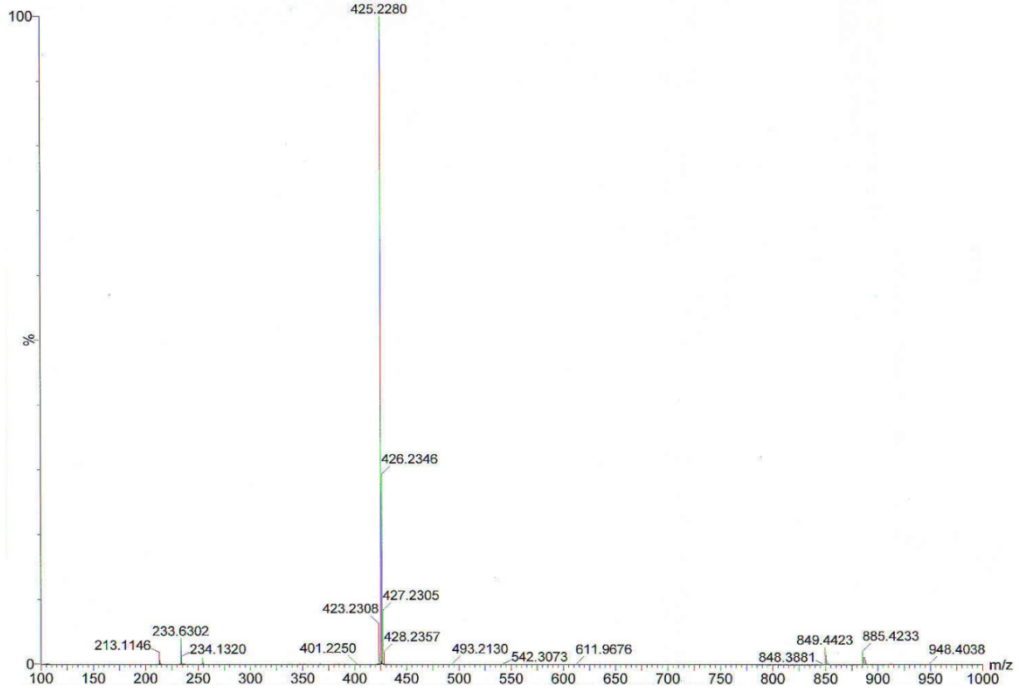
TOF-MS [ES (+)] (CH₃OH) m/z: M⁺ +1 (425.2280)



Şekil 3.29. FY10 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu



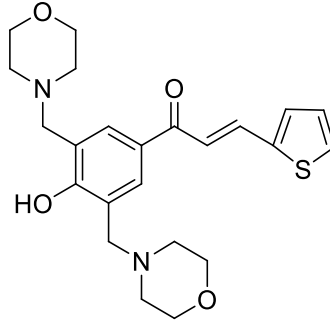
Şekil 3.30. FY10 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.31. FY10 bileşiğinin kütle spektrumu

3.3.11. FY11:1-[3,5-Bis(morfolino)metil-4-hidroksi-fenil]-3-(tiyofen-2-il)-2-propen-1-on

Paraformaldehit (0.228 g, 7.6 mmol) ve morfolinin (0.654 g, 7.6 mmol) asetonitrildeki (10 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında (80 °C, 150 W, 13.8 barr) 5 dakika reaksiyona bırakıldı. Reaksiyon ortamına şalkon bileşiğinin (0.437 g, 1.9 mmol), 1-(4-hidroksi-fenil)-3-(tiyofen-2-il)-2-propen-1-on, asetonitrildeki (25 ml) çözeltisi eklendi. Karışım mikrodalga cihazında (120 °C, 200 W, 13.8 barr) 40 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İ.T.K. ile izlendi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Reaksiyon kalıntısı sütun kromatografisi yöntemiyle [silikajel 60 (70–230 mesh)] kloroform: metanol (9:1) çözücü sistemi kullanılarak saflaştırıldı. % 27.53 verimle 0.2239 g sarı renkli katı elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 152-154 °C' dir.



1-[3,5-Bis (morfolino) metil-4-hidroksi-fenil]-3- (tiyofen-2-il) -2-propen-1-on

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (Şekil 3.32)

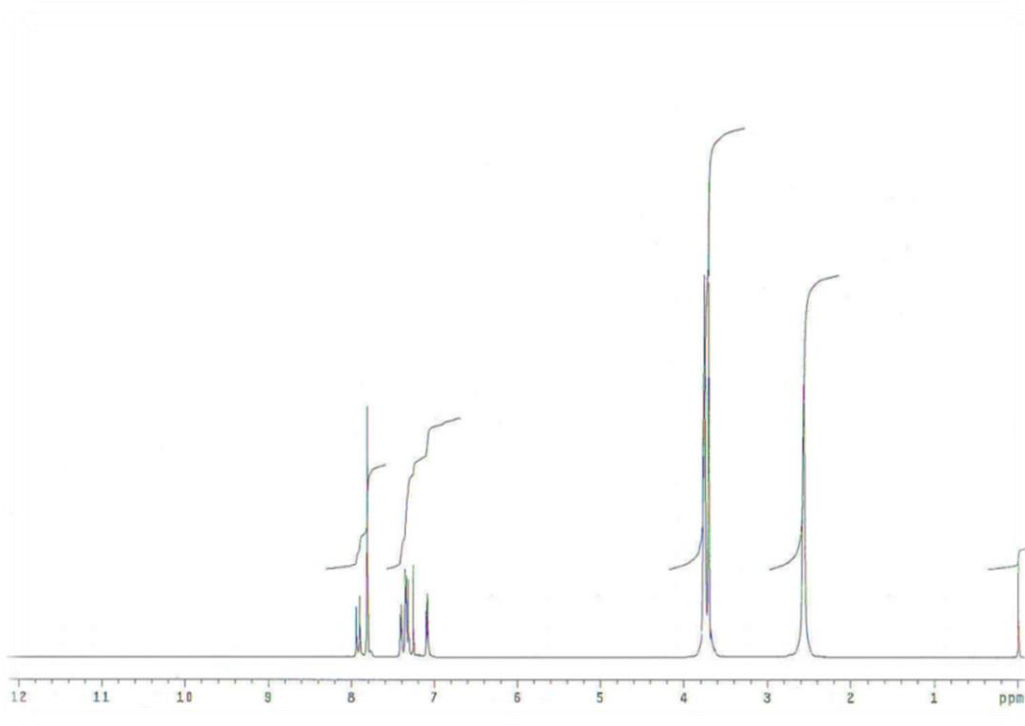
δ 7.93 (d, 1H, $J=15.37$ Hz) ; 7.82 (s, 2H) ; 7.34 (d, 1H, $J=15.36$ Hz) ; 7.09 (m, 3H) ; 3.76 (bs, 8H) ; 3.70 (s, 4H) ; 2.57 (bs, 8H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) (Şekil 3.33)

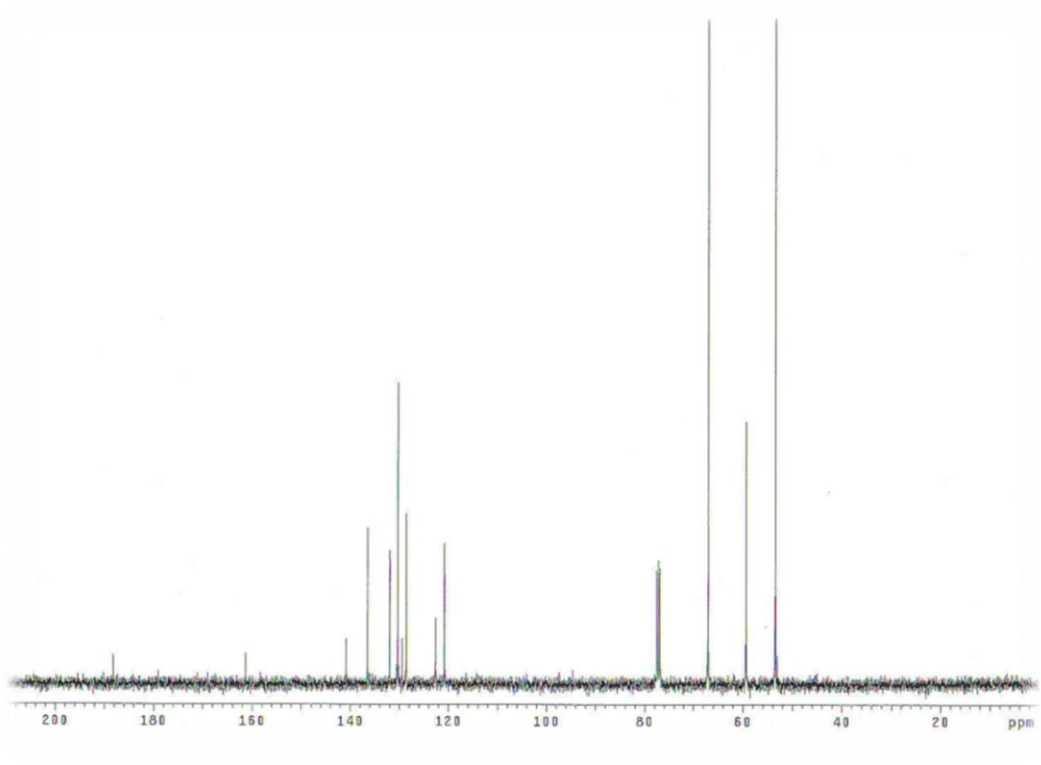
δ 53.48; 59.38; 67.05; 120,81; 122.62; 128.56; 128.64; 129.46; 130.33; 131.97; 136.47; 140.84; 161.31; 188.23

Kütle spektrumu (Şekil 3.34)

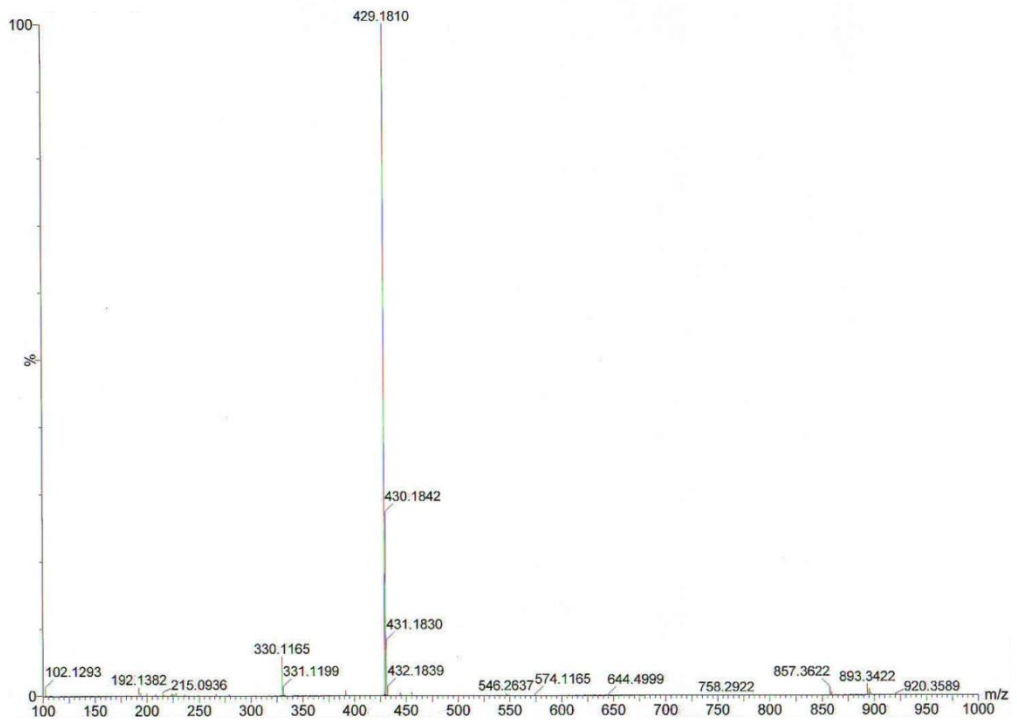
TOF-MS [ES (+)] (CH_3OH) m/z : $\text{M}^+ +1$ (429.1810)



Şekil 3.32. FY11 bileşiminin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



Şekil 3.33. FY11 bileşiminin ^{13}C -NMR spektrumu

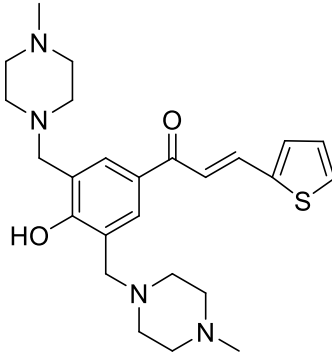


Şekil 3.34. FY11 bileşiminin kütle spektrumu

3.3.12. FY12:1-[3,5-Bis(4-metilpiperazin-1-il)metil-4-hidroksi-fenil]-3-

(tiyofen-2-il) -2-propen-1-on

Paraformaldehit (0.228 g, 7.6 mmol) ve N-metilpiperazinin (0.113 g, 7.6 mmol) asetonitrildeki (10 ml) çözeltisi mikrodalga cihazında (80 °C, 150 W, 13.8 barr) 5 dakika reaksiyona tabi tutuldu. Reaksiyon ortamına şalkon bileşiğinin (0.437 g, 1.9 mmol), 1-(4-hidroksi-fenil)-3-(tiyofen-2-il)-2-propen-1-on, asetonitrildeki (25 ml) çözeltisi eklendi. Karışım mikrodalga cihazında (120 °C, 200 W, 13.8 barr) 30 dakika ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İ.T.K. ile izlendi. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında damıtıldı. Reaksiyon kalıntısı üzerine 5 mL EtOH ve 70 mL diisopropil eter ilave edilerek +4 °C' de 1 gece bırakıldı. Oluşan katılar etanolden kristallendirildi. % 89.04 verimle 0.7682 g açık kahve renkli katı elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 169-171 °C' dir.



1-[3,5-Bis(4-metilpiperazin-1-il)metil-4-hidroksi-fenil]-3-(tiyofen-2-il)-2-propen-1-on

¹H-NMR (CDCl₃) (Şekil 3.35)

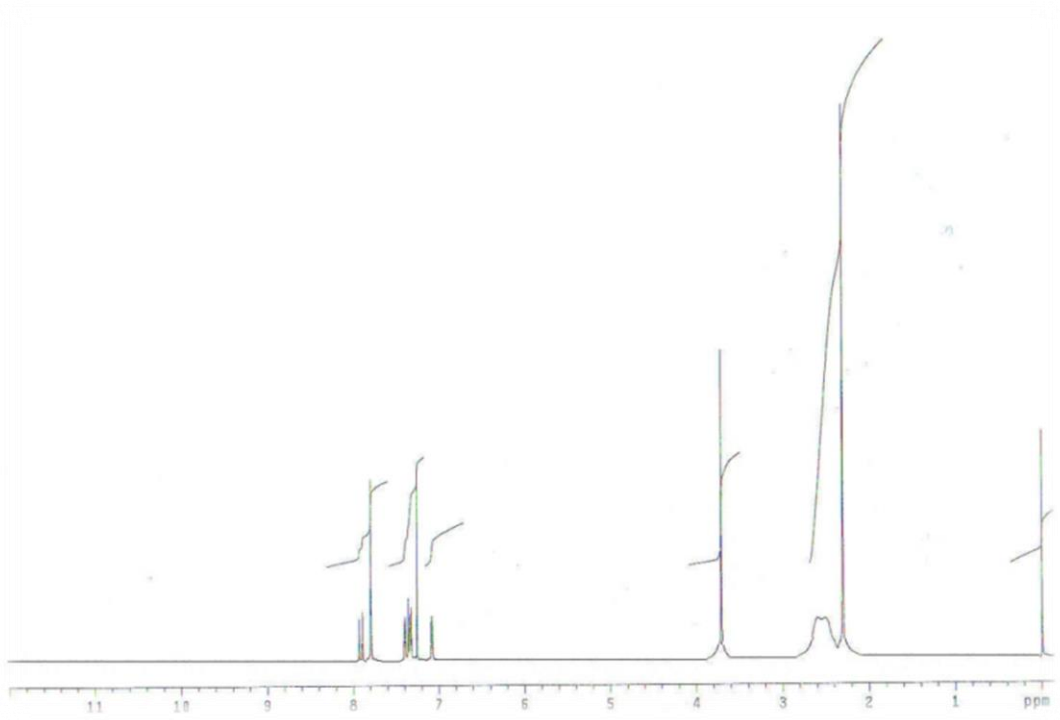
δ 7.91 (d, 1H, J=15.37 Hz) ; 7.79 (s, 2H) ; 7.34 (d, 1H, J=15.00 Hz) ; 7.08 (m, 3H) ; 3.71 (s, 4H) ; 2.55 (bs, 16H) ; 2.30 (s, 6H)

¹³C-NMR (CDCl₃) (Şekil 3.36)

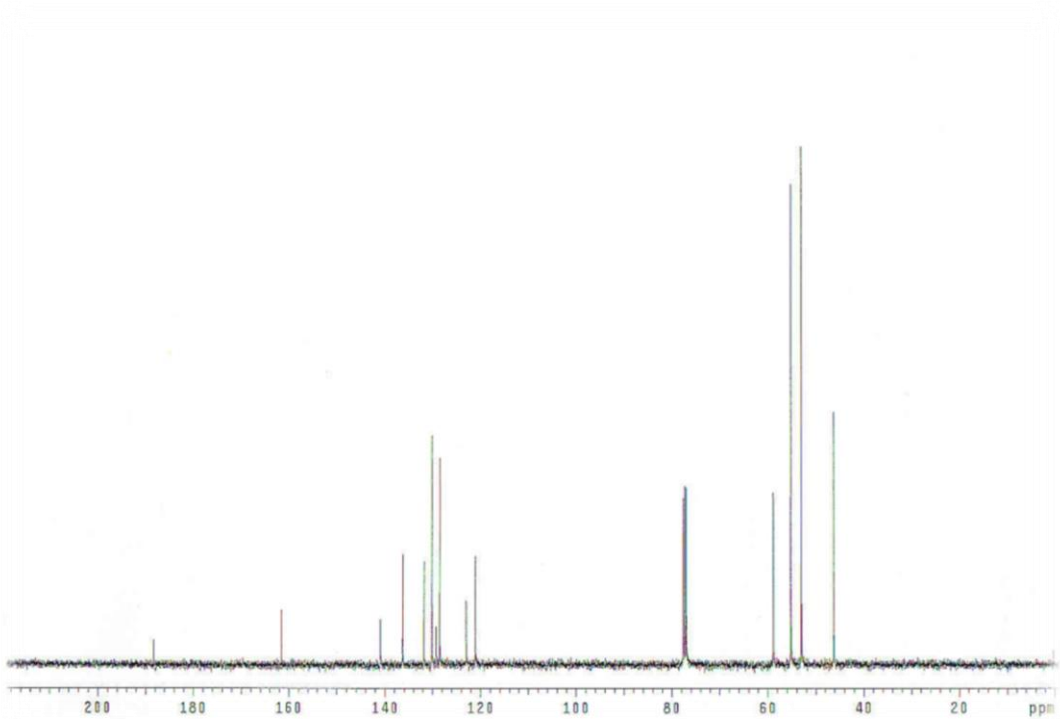
δ 46.19; 52.99; 55.17; 58.84; 121.00; 122.93; 128.52; 128.49; 129.23; 130.10; 131.79; 136.25; 140.93; 161.62; 188.32

Kütle spektrumu (Şekil 3.37)

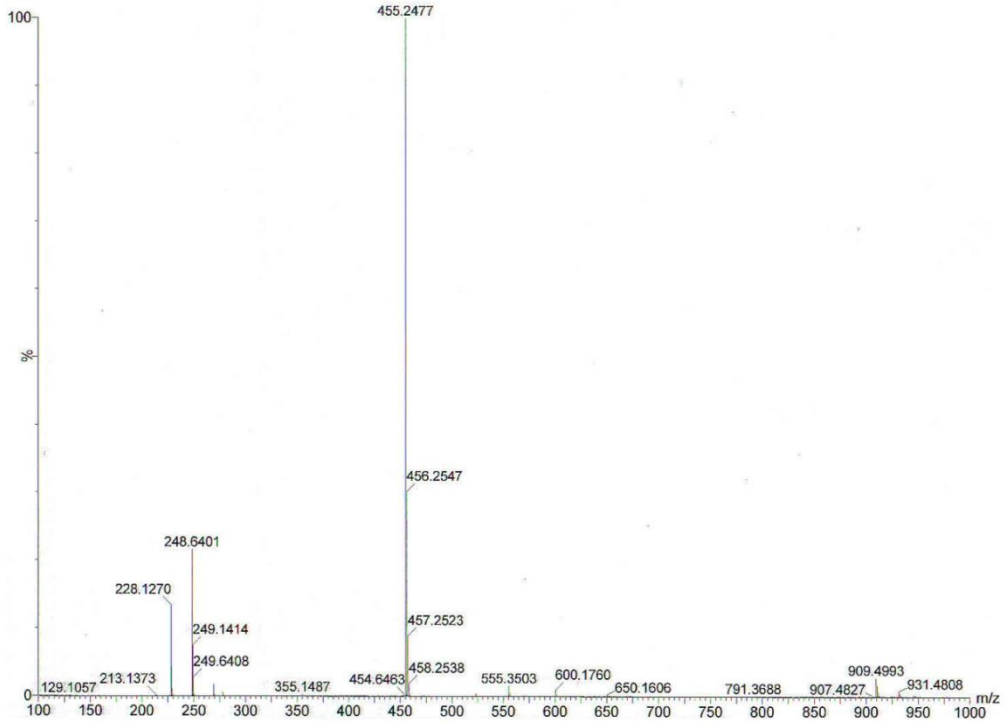
TOF-MS [ES (+)] (CH₃OH) m/z: M⁺ +1 (429.1810)



Şekil 3.35. FY12 bileşiminin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.36. FY12 bileşiminin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.37. FY12 bileşiğinin kütle spektrumu

3.4. Biyoaktivite Çalışmaları

3.4.1. Gereç ve Yöntem

Materyal

Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) (Invitrogen, Carlsbad, CA, ABD); fetal bovine serum (FBS) (SAFC Biosciences, St. Louis, MO, ABD) ; RPMI1640, medium, 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromide (MTT) , dimetil sülfoksit (DMSO) (Wako Pure Chemical, Osaka, Japonya), melfalan (Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO, ABD) kullanılmıştır.

Hücre kültüründe kullanılan tüm hücreler %10 ısı ile inaktive edilmiş FBS ve antibiyotik (100 unite/ml penicillin G ve 100 µg/ml streptomisin sülfat) eklenmiş DMEM ortamında 37 °C' de kültüre edilmişlerdir. İnsan ağız çok katlı hücre karsinomu (OSCC) hücreleri (Ca9-22, HSC-2, HSC-3, HSC-4) Japonya' nın Showa Üniversitesinden Prof. Nagumo' dan sağlanmıştır. Normal insan ağız hücreleri, diş eti (gingival) fibroblast (HGF), pulpus hücreleri (HPC) ve periodontal ligament

fibroblastları (HPLF), üniversite içi etik komite rehberine (A0808) uygun olarak ve kişinin rızası alındıktan sonra Meikai Üniversite hastanesinde 12 yaşındaki bir kız hastanın periodontal dokularından hazırlanmıştır.

3.4.2. Sitotoksik Aktivite Ölçülmesi

Hücreler 96 kuyucuklu (Becton Dickenson, Franklin Lakes, NJ, ABD) plakelere (3×10^3 hücre/kuyucuk, 0.1 ml/kuyucuk) ekilmiş ve hücrelerin tutunması için 48 saat inkübe edilmiştir. Hücreler alanı kaplayacak kadar çoğalınca 48 saat boyunca taze medyunda hazırlanmış değişik konsantrasyonlardaki örnekler maruz bırakılmıştır. Relatif tutunmuş canlı hücre sayısı MTT yöntemi ile belirlenmiştir.⁷⁵ Yüzen hücrelerin canlılığı ise, %0.15' lik Tripan mavisiyle boyayarak bir hemositometre ile sayma yoluyla belirlenmiştir.⁷⁵ %50 sitotoksik doz (CC_{50}) doz-yanıt eğrisinden belirlenmiştir. Tümör spesifisite indeksi (SI) şu eşitliğe göre hesaplanmıştır:

$SI = \text{Normal hücrelere karşı ortalama } CC_{50} / \text{Tüm tümör hücrelerine karşı ortalama } CC_{50}$

4. BULGULAR

4.1. Deneysel ve Spektral Bulgular

Tez kapsamında sentezi tasarlanan bileşikler başarıyla sentezlenmiş ve saflaştırılmıştır. Bileşiklerin sentezine ilişkin deneysel veriler Tablo 4.1’ de sunulmuştur. Sentezlenen bileşiklerin yapısı ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve TOF-MS spektrumları ile doğrulanmıştır. Spektrumlar ve değerlendirmeleri deneysel bölümde detaylı bir biçimde verilmiş, bu spektral analizlerin toplu değerlendirmeleri Tablo 4.2, Tablo 4.3 ve Tablo 4.4’ te sunulmuştur.

Tablo 4.1. 1-[4-Hidroksi-3,5-bis((aminometil)fenil]-3-(aril) -2-propen-1-on bileşiklerinin şalkon bileşiklerinden hareketle sentezine ilişkin deneysel veriler

Bileşik	Şalkon (mmol)	para Formaldehit (mmol)	Sıcaklık (°C)	Watt (W)	Reaksiyon Süresi (dk)	Erime Derecesi (°C)	Verim (%)
FY1	1.9	7.6	120	200	30	105-107	95.34
FY2	1.9	7.6	120	200	40	-	16.55
FY3	1.9	7.6	120	200	40	95-97	40.44
FY4	1.9	7.6	120	200	40	151-153	57.85
FY5	1.9	7.6	120	200	40	134-136	85.74
FY6	1.9	7.6	120	200	30	147-149	39.07
FY7	1.9	7.6	120	200	40	117-119	8.90
FY8	1.9	7.6	120	200	40	-	11.66
FY9	1.9	7.6	120	200	40	92-94	38.84
FY10	1.9	7.6	120	200	40	169-171	41.75
FY11	1.9	7.6	120	200	40	152-154	27.53
FY12	1.9	7.6	120	200	30	169-171	89.04

Tablo 4.2. Sentezlenen bileşiklerin ¹H-NMR verileri

Bileşik	δ (ppm)
FY1	7.80 (d, 1H, J=15.58 Hz) ; 7.79 (s, 2H) ; 7.66 (d, 2H, j=7.3 Hz) ; 7.58 (d, 1H, J=15.58 Hz) ; 7.41 (m, 3H) ; 3.61 (s, 4H) ; 2.32 (s, 12H)
FY2	7.85 (s, 2H) ; 7.78 (d, 1H, J=15.73 Hz) ; 7.64 (d, 2H, J=7.68 Hz) ; 7.58 (d, 1H, J=15.73 Hz) ; 7.41 (m, 3H) ; 2.62 (q, 8H, J=7.31 Hz) ; 1,1 (t, 12H, J=7.31 Hz)
FY3	7.83 (s,2H) ; 7.79 (d, 1H, J=15.74 Hz) ; 7.66 (d, 2H, J=7.68 Hz) ; 7.58 (d, 1H, J=15.37 Hz) ; 7.34 (m, 3H) ; 3.82 (s, 4H) ; 2.6 (bs, 8H) ; 1.84 (bs, 8H)
FY4	7.82 (s, 2H) ; 7.78 (d, 1H, J=15.69 Hz) ; 7.65 (d, 2H, J=7.32 Hz) ; 7.57 (d, 1H, J=15.64 Hz) ; 7.41 (m,3H) ; 3.66 (s, 4H) ; 2.51 (bs, 8H) ; 1.63 (m, 8H) ; 1.49 (bs, 4H)
FY5	7.84 (s, 2H) ; 7.80 (d, 1H, J=15.73 Hz) ; 7.65 (d, 2H, J=7.68 Hz) ; 7.54 (d, 1H, J=15.36 Hz) ; 7.42 (m, 3H) ; 3.75 (bs, 8H) ; 3.07 (s, 4H) ; 2.57 (bs, 8H)
FY6	7.81 (s, 2H) ; 7.78 (d, 1H, J=15.88 Hz) ; 7.65 (d, 2H, J=7.94 Hz) ; 7.54 (d, 1H, J=15.58 Hz) ; 7.41 (m, 3H) ; 3.71 (s,4H) ; 2.43 (bs, 16H) ; 2.95 (s,6H)
FY7	7.91 (d, 1H, J=15.01 Hz) ; 7.76 (s, 2H) ; 7.36 (d, 1H, J=15.36 Hz) ; 7.07 (m,3H) ; 3.61 (s, 4H) ; 2.32 (s, 12H)
FY8	7.91 (d, 1H, J=15.36 Hz) ; 7.84 (s, 2H) ; 7.35 (d, 1H, J=15.00 Hz) ; 7.08 (m, 3H) ; 3.76 (s, 4H) ; 2.64 (q, 8H, J=6.95 Hz) ; 1.11 (t, 12H, J=7.13 Hz)
FY9	7.91 (d, 1H, J=15.36 Hz) ; 7,8 (s, 2H) ; 7.38 (d, 1H, J=15.36 Hz) ; 7.08 (m,3H); 3.81 (s, 4H) ; 2.64 (bs, 8H) ; 1.84 (bs, 8H)
FY10	7.91 (d, 1H, J=15.00 Hz) ; 7.79 (s, 2H) ; 7.37 (d, 1H, J=15.37 Hz) ; 7.08 (m, 3H) ; 3.66 (s, 4H) ; 2.50 (bs, 8H) ; 1.63 (bs, 8H) ; 1.48 (bs, 4H)
FY11	7.93 (d, 1H, J=15.37 Hz) ; 7.82 (s, 2H) ; 7.34 (d, 1H, J=15.36 Hz) ; 7.09 (m, 3H) ; 3.76 (bs, 8H) ; 3.70 (s, 4H) ; 2.57 (bs, 8H)
FY12	7.91 (d, 1H, J=15.37 Hz) ; 7.79 (s, 2H) ; 7.34 (d, 1H, J=15.00 Hz) ; 7.08 (m, 3H) ; 3.71 (s, 4H) ; 2.55 (bs, 16H) ; 2.30 (s, 6H)

Tablo 4.3. Sentezlenen bileşiklerin ¹³C-NMR verileri

Bileşik	δ (ppm)
FY1	45.17; 60.57; 122.19; 123.72; 128.62; 129.05; 129.11; 130.25; 130.43; 135.45; 143.74; 162.37; 188.93
FY2	11.62; 46.81; 54.10; 122.43; 124.27; 128.32; 128.54; 129.10; 129.53; 130.32; 135.55; 143.46; 162.30; 189.12
FY3	23.80; 54.04; 56.59; 122,29; 124,06; 128,57; 128,95; 129,08; 129,65; 130,36; 135.48; 143,56; 162,03; 188.95
FY4	24.32; 26.03; 54.38; 59.62; 122.35; 128.34; 128.59; 129.12; 129.56; 130.07; 130.38; 135.51; 143.58; 162.26; 189.08
FY5	53.49; 59.40; 67.04; 122.02; 122.63; 128.59; 129.17; 129.56; 130.48; 130.56; 135.36; 144.04; 161.34; 188.85
FY6	46.19; 52.97; 55.14; 58.86; 122.16; 122.92; 128.38; 128.59; 129.14; 130.29; 130.48; 135.42; 143.83; 161.65; 188.93
FY7	45.14; 60.55; 120.98; 123.69; 128.46; 128.50; 128.96; 130.17; 131.74; 136.20; 140.92; 162.38; 188.30
FY8	11.35; 46.56; 53.86; 121.08; 124.67; 128.13; 128.21; 129.23; 130.96; 131.34; 135.70; 141.28; 161.52; 188.45
FY9	23.83; 54.07; 56.64; 121.18; 124.08; 128.40; 128.44; 128.90; 129.55; 131.63; 136.05; 141.00; 162.00; 188.40
FY10	24.35; 26.07; 54.41; 59.63; 121.25; 123.30; 128.39; 128.45; 128.88; 129.83; 131.63; 136.00; 141.04; 162.19; 188.48
FY11	53.48; 59.38; 67.05; 120,81; 122.62; 128.56; 128.64; 129.46; 130.33; 131.97; 136.47; 140.84; 161.31; 188.23
FY12	46.19; 52.99; 55.17; 58.84; 121.00; 122.93; 128.52; 128.49; 129.23; 130.10; 131.79; 136.25; 140.93; 161.62; 188.32

Tablo 4.4. Sentezlenen Bileşiklerin TOF-MS verileri

Bileşik	M⁺+1 Hesaplanan	M⁺+1 Ölçülen *
FY1	339.1994	339.2076
FY2	395.2620	395.2722
FY3	391.2307	391.2394
FY4	419.2620	419.2697
FY5	423.2206	423.2274
FY6	449.2838	449.2900
FY7	345.1558	345.1640
FY8	401.2184	401.2255
FY9	397.1871	397.1957
FY10	425.2184	425.2280
FY11	429.1770	429.1810
FY12	455.2402	455.2477

*: MS (ESI-MS) VG Waters Micromass ZQ (USA) spektrometresinde bulunan

4.2. Biyoaktivite Bulguları

FY1-FY12 bileşiklerin tümü insan Ca9-22 (diş eti) , HSC-2 (ağız) , HSC-3 (dil) , HSC-4 (dil) oral hücre karsinomalarına karşı değerlendirilmiştir. İlaveten bu bileşikler malignan olmayan HGF gingival fibroblastlar, HPC pulp hücrelerine ve HPLF peridontal ligament fibroblastlara karşı test edilmiştir. Bu veriler Tablo 4.5' te sunulmuştur.

Tablo 4.5. FY1-FY12 bileşiklerinin sitotoksitesisi

	CC ₅₀ (μM)										TS		PSİ				
	Oral yassı hücreli karsinom hücre hatları					Normal oral hücreler					Normal/	HGF/					
	Ca9-22		HSC-2		HSC-3		HSC-4		Ortalama		HGF	HPLF	HPC	Ortalama	OSCC	Ca9-22	J/E
(A)	SI	(B)	SI	(C)	SI	(D)	SI	(E)	SI (J)	(F)	(G)	(H)	(I)	(I/E)	(F/A)	*100	
F1	6.8	9.36	13.2	4.82	7.9	8.06	16.5	3.86	11.1±4.6	5.73	53.6	76.0	61.4	63.7±11.4	5.7	7.9	51.62
F2	6.3	7.06	12.4	3.58	8.7	5.11	14.0	3.17	10.4±3.5	4.27	27.1	60.7	45.8	44.5±16.8	4.3	4.3	41.05
FY-1	12.0	3.55	29.9	1.43	33.1	1.29	38.4	1.11	28.4±11.4	1.85	50.0	48.3	29.6	42.6±11.3	1.5	4.2	6.51
FY-2	43.2	3.69	70.7	2.25	61.7	2.58	122.4	1.30	74.5±33.9	2.46	236.1	163.9	78.1	159.3±79.0	2.1	5.5	3.30
FY-3	10.7	3.72	17.6	2.26	22.3	1.78	38.8	1.03	22.4±12.0	2.20	48.0	44.4	27.0	39.8±11.2	1.8	4.5	9.82
FY-4	8.7	5.15	17.6	2.55	21.1	2.12	16.2	2.77	15.9±5.2	3.15	49.2	62.5	22.8	44.8±20.2	2.8	5.7	19.81
FY-5	5.4	7.30	14.4	2.74	11.5	3.43	12.9	3.05	11.1±3.9	4.13	47.2	47.7	23.4	39.4±13.9	3.5	8.7	37.2
FY-6	12.1	2.17	8.7	3.01	11.6	2.26	16.6	1.58	12.3±3.3	2.26	22.0	45.6	10.9	26.2±17.7	2.1	1.8	18.4
FY-7	49.2	3.10	58.1	2.60	58.7	2.60	58.5	2.60	56.1±4.6	2.73	180.7	189.5	86.6	152.3±57.0	2.7	3.7	4.87
FY-8	199.7	2.60	236.1	2.20	217.9	2.38	276.0	1.88	232.4±32.6	2.27	538.5	712.3	305.0	518.6±204.4	2.2	2.7	1.17
FY-9	45.8	3.02	61.3	2.26	60.8	2.28	82.3	2.21	62.6±15.0	2.44	167.3	169.6	78.4	138.3±52.0	2.2	3.7	3.90
FY-10	104.2	>9.57	364.6	>2.74	371.8	2.69	496.9	>2.01	334.4±165.0	>4.25	>1000.0	>1000.0	>1000.0	>1000.0	>3.0	>9.6	12.56
FY-11	44.4	3.31	42.7	3.44	48.7	3.02	48.2	3.05	46.0±2.9	3.21	189.5	170.3	80.9	146.9±58.0	3.2	4.3	6.98
FY-12	29.4	1.22	27.0	1.43	33.0	1.17	47.6	0.81	34.3±9.2	1.16	53.7	47.2	14.6	38.5±21.0	1.1	1.8	3.38
Melfalan	22.6	6.50	8.5	17.29	5.6	26.25	11.9	12.35	12.2±7.4	12.05	140.0	179.0	123.0	147.0±29.0	12.0	6.2	98.77
5-FU	>200.0	<<1	28.3	>7.06	69.0	>2.90	41.7	>4.80	>84.8±78.7	>3.94	>200.0	>200.0	>200.0	>200.0	<<2.4	<<1.0	<<4.65

CC₅₀ : Hücrelerin %50' sini öldüren bileşiklerin mikromolar (μM) olarak konsantrasyonu, SI : Selektivite İndeksi, PSE : Selektivite Güç İndeksi

5. TARTIŞMA

5.1. Sentez ve Spektral Veriler

Tez kapsamında biyolojik olarak aktif α,β -doymamış keton artığını içeren 2 adet hidroksi şalkon bileşiği (F1, F2) Bölüm 3.2.1' de belirtilen genel sentez yöntemiyle %75-90 verimle sentezlenmiştir. Bileşiklerin deneysel verileri Tablo 3.1' de özetlenmiştir. Bileşiklerin kimyasal yapıları $^1\text{H-NMR}$ ile doğrulanmıştır. Bileşiklerin erime dereceleri literatürde ^{90, 91} bu bileşikler için verilen erime dereceleriyle büyük bir uyum içinde bulunmuştur (Tablo 3.1). Sentezlenen bileşikler literatürde kayıtlı bileşikler olduğundan ve erime dereceleriyle doğrulandığından tez kapsamında bu bileşiklerin NMR spektrumları ve analizleri verilmemiştir. Sentezlenen hidroksi şalkonlar (F1, F2) hem karşılık gelen bis Mannich bazlarının sentezlenmesinde hem de biyoaktivite çalışmalarında kullanılmıştır. Şalkon sentezleri, uygun bir aril aldehit ve 4-hidroksi asetofenon arasında Claisen-Schmidt kondensasyonu ile bazik ortamda gerçekleştirilmiştir.

Tez kapsamında α,β -doymamış keton artığı içeren şalkon bileşiklerinden hareketle, [1- (4-hidroksifenil) -3-fenil-2-propen-1-on (F1) ve 1- (4-hidroksifenil) -3- (tiyofen-2-il) -2-propen-1-on (F2)], bunların Mannich bazları sentezlenmiştir. 1,3-Diaril-2-propen-1-on yapısındaki hidroksi şalkonların dimetilamin (FY1, FY7), dietilamin (FY2, FY8), piperidin (FY3, FY9), piperidin (FY4, FY10), morfolin (FY5, FY11) ve N-metil piperazinli (FY6, FY12) olmak üzere 12 adet bis Mannich bazı uygun amin bileşiği kullanılarak sentezlenmiştir. Bunlardan FY1-FY6 bileşikleri F1' den, FY7-FY12 bileşikleri ise F2' den hareketle sentez edilmiştir.

Bis Mannich bazlarının sentezinde şalkon: paraformaldehit: amin mol oranları sırasıyla 1:2:2 oranında alınarak asetonitrilde çalışıldığında reaksiyon sonunda tek ürün olduğu ve mono Mannich bazı elde edildiği İ.T.K. sonuçları ile saptanmıştır. Reaksiyon

mol oranları şalkon: paraformaldehit: amin için sırasıyla 1:3:3 oranında alınarak değiştirildiğinde reaksiyon ürünlerinin mono ve bis Mannich bazı karışımı şeklinde olduğu İ.T.K. sonuçları ile belirlenmiştir. Mol oranları şalkon: paraformaldehit: amin için sırasıyla 1:4:4 oranında değiştirildiğinde reaksiyon yalnızca bis Mannich bazı sentezi ile sonuçlanmış, İ.T.K. verilerine göre reaksiyon ortamındaki şalkon tümü ile tükenmiş, ancak bir miktar reaksiyona girmeden kalan amin bazına ait leke İ.T.K. plağı üzerinde gözlenmiştir.

Sentezlerin başlangıcında reaksiyonlar için en uygun çözücüyü belirlemek amacı ile pilot bir çalışma yapılmıştır. Bunun için FY1 maddesinin sentezinde reaksiyon çözücüsü olarak EtOH ve CH₃CN gibi 2 farklı çözücü kullanılarak reaksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon süreleri ve madde verimleri her iki çözücü için kıyaslanmıştır. CH₃CN kullanılarak gerçekleşen reaksiyon da verim % 95.34 iken EtOH kullanılarak gerçekleşen reaksiyonda verim % 78.52 şeklinde olmuştur. Ayrıca FY1 bileşiğinin sentezinde CH₃CN kullanıldığında reaksiyon 40 dakikada gerçekleşirken EtOH kullanıldığında reaksiyon 80 dakikada gerçekleşmiştir. Bu ön denemeler, reaksiyon çözücüsü olarak CH₃CN kullanılmasını, reaksiyonların EtOH' e göre daha kısa sürede ve daha yüksek verimde gerçekleşmesi gerekçeleriyle daha avantajlı olduğunu göstermiştir. Bu veriden hareketle FY serisindeki diğer Mannich bazlarının sentezlerinde reaksiyon çözücüsü olarak CH₃CN kullanılmıştır.

Tez kapsamında şalkonlardan (F1, F2) hareketle sentezlenen Mannich bazlarının (FY1- FY12) tamamının ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve TOF-MS spektrumları alınmıştır. Bileşiklerin spektral verileri kimyasal yapıları ile tam olarak uyumludur. Bileşiklerin spektral verileri Tablo 4.2, Tablo 4.3 ve Tablo 4.4' te ayrıntılı olarak verilmiştir. NMR spektrumlarında karşılık gelen şalkon bileşiğinden bis Mannich bazı yapısındaki bileşiklerin sentezlendiğini doğrulayan en önemli sinyaller alifatik alanda gözlenen

aminometil grubuna ait proton ve karbon sinyalleridir.

F1 şalkon bileşiğinden hareketle sentezlenen FY1 Mannich bazı bileşiğinin sentezlendiğini doğrulayan en önemli NMR sinyalleri dimetilaminometil grubuna ait proton ve karbon sinyalleridir. FY1 bileşiği, 1-[4-hidroksi-3,5-bis (dimetilaminometil) fenil]-3-fenil-2-propen-1-on, örnek olarak ele alınıp spektral verileri değerlendirildiğinde, FY1' in ¹H-NMR spektrumunda (Şekil 3.2) dimetilamine ait protonlar δ 2.32 ppm' de 12 protonluk singlet halinde gözlenmiştir. Metilen grubuna ait 4 proton değerindeki singlet δ 3.61 ppm' de gözlenmiştir. FY1 bileşiğindeki şalkon bileşiğinden gelen olefinik 2 protona ait sinyal yapıyla uyumlu olarak δ 7.58 ve δ 7.80 ppm' de birer proton değerinde dubletler halinde gözlenmiştir. Bu protonlara ait *J* (jiromanyetik etkileşme sabiti) değeri 15.58 Hz olarak bulunmuştur. Bu değer bileşiklerden beklenen E ve Z izomerlerinden E izomerinin oluştuğunu göstermektedir ve bu durum Dimmock ve arkadaşları tarafından sentezlenen bis Mannich bazlarından elde edilen *J* değerleriyle uyumludur.⁹⁰ Aromatik halkaya ait protonlar δ 7.79 ppm' de 2 proton değerinde singlet, δ 7.66(*J*=7.3 Hz) ppm' de 2 proton değerinde dublet ve δ 7.41 ppm' de ise 3 proton değerinde multitiplet gözlenmektedir.

FY1 bileşiğinin ¹³C-NMR spektrumunda (Şekil 3.3) Mannich bazı yapısına ait aminometil grubu için gözlenen karbon kimyasal kayma değerleri dimetilamin için δ 45.17 ppm' de, metilen karbonu için δ 60.57 ppm' de gözlenmiştir ve yapı ile uyumludur. FY1 bileşiğindeki karbonil karbonuna ait sinyal δ 188.93 ppm' de, olefinik gruba ait karbon sinyalleri ise δ 143.74 ve δ 122.19 ppm' de gözlenmiştir. Aromatik halkadaki karbon atomlarına ait sinyaller ise δ 123.72; 128.62; 129.05; 129.11; 130.25; 130.43; 135.45; 162.37 ppm' de sinyalleri gözlenmektedir.

TOF MS spektrumlarına (Şekil 3.4) bakıldığında FY1 bileşiği için hesaplanan $M^{+}+1$ değeri 339.1994 iken, ölçülen $M^{+}+1$ değeri 339.2076' dır. Ölçülen bu değerler kimyasal yapıyı doğrulamaktadır.

F2 bileşiğinden hareketle sentezlenen FY7 bileşiği, 1-[4-hidroksi-3,5-bis (dimetilaminometil)-fenil]-3-(tiyofen-2-il)-2-propen-1-on, örnek alınarak spektral verileri değerlendirildiğinde $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (Şekil 3.20) dimetilamine ait protonlar δ 2.32 ppm' de 12 protonluk singlet halinde gözlenmiştir. Metilen grubuna ait 4 proton değerindeki singlet δ 3.61 ppm' de gözlenmiştir. FY7 bileşiğindeki şalkon bileşiğinden gelen olefinik protonlar yapıyla uyumlu olarak δ 7.36 ve δ 7.91 ppm' de birer proton değerinde dubletler halinde gözlenmiştir. Bu protonlara ait J değeri 15.58 Hz olarak bulunmuştur. Yine bu J değeri E izomeri ile uyumludur. δ 7.76 ppm' de 2 proton değerinde singlet, δ 7.07 ppm' de 3 proton değerinde multitiplet sinyalleği gözlenmektedir.

FY7 bileşiğinin $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (Şekil 3.21) Mannich bazı yapısına ait aminometil grubu için gözlenen karbon kimyasal kayma değerleri dimetilamin için δ 45.14 ppm' de, metilen karbonu için δ 60.55 ppm' de gözlenmiştir ve yapı ile uyumludur. FY7 bileşiğindeki karbonil karbonuna ait sinyal 188.30 ppm' de, olefinik gruba ait karbon sinyalleri ise δ 140.92 ve δ 120.98 ppm' de gözlenmiştir. Aromatik halkadaki karbon atomlarının ise δ 123.69; 128.46; 128.50; 128.96; 130.17; 131.74; 136.20; 162.38 ppm' de sinyalleri gözlenmektedir.

TOF MS spektrumlarına (Şekil 3.22) bakıldığında FY7 bileşiği için hesaplanan $M^{+}+1$ değeri 345.1558 iken, ölçülen $M^{+}+1$ değeri 345.1640' tır. Ölçülen bu değerler kimyasal yapıyı doğrulamaktadır.

6.2. Biyoaktivite Çalışmaları

Biyoaktivite çalışmalarında kanser hücre hattı olarak Ca9-22 (diş eti), HSC-2 (ağız), HSC-3 (dil), HSC-4 (dil) hücreleri kullanılırken, kanser olmayan normal hücre hattı olarak HGF (diş eti fibroblast), HPC (pulpus hücreleri) ve HPLF (periodontal ligament fibroblastları) kullanılmıştır. Cevaplanacak asıl soru sentezlenen bileşiklerin antineoplastik özelliklerinin olup olmadığıdır.

Tablo 4.5' te bileşiklerin CC_{50} (hücrelerin %50' sini öldüren bileşiklerin mikromolar olarak konsantrasyonu) değerinin genelde düşük mikromolar aralığında kanser hücre hatlarına (Ca9-22, HSC-2, HSC-3, HSC- 4) karşı etkili olduğunu göstermektedir. Bileşiklerin sitotoksiteleri kanser hücre hatlarına karşı alkilleyici ajan melfalanın sitotoksitesi ile karşılaştırıldığında; FY1, FY3, FY4, FY5 ve FY6 bileşiklerinin Ca9-22 hücre hattına karşı daha güçlü sitotoksite gösterdiği; FY6 bileşiğinin HSC-2 hücre hattına karşı ve FY5 bileşiği HSC- 4 hücre hattına karşı melfalana benzer sitotoksite gösterdiği Tablo 4.5' te de görülmektedir.

Bileşiklerin sitotoksiteleri diğer bir referans bileşik olan 5-Fluorourasilin (5-FU) sitotoksitesi ile kıyaslandığında FY1-FY12 bileşiklerinin tamamı Ca9-22 hücre hattına karşı; FY3, FY4, FY5, FY6 ve FY12 bileşiklerinin HSC-2 hücre hattına karşı; FY1- FY7, FY9, FY11 ve FY12 bileşiklerinin HSC-3 hücre hattına karşı; FY-1, FY3, FY4, FY5 ve FY6 bileşiklerinin HSC- 4 hücre hattına karşı referans bileşik 5-FU' den daha güçlü sitotoksiteye sahip olduğu görülmektedir (Tablo 4.5).

Bileşiklerin tümör selektivitesi genel ve en yaygın kullanımı ile normal hücrelere karşı gösterilen sitotoksitenin ortalama CC_{50} değerinin (I), bileşiklerin tümör hücrelerine karşı gösterilen sitotoksitenin ortalaması olan CC_{50} değerine (E) bölünmesiyle (I/E) hesaplanabilir (Tablo 4.5). Bu değer genel anlamda tümör selektivitesi hakkında fikir verir. Bu durumda tümör selektivitesi en yüksek olan FY5

bileşigidir (I/E değeri 3.5). Diğer yandan Ca9-22 insan dişeti karsinom hücresi, HGF ise insan dişeti fibroblast hücresidir. Her ikisi de benzer hücrelerdir. Biri kanserli iken, diğeri normal hücredir. Bu sebeple her bir bileşikte HGF hücrelerine karşı gözlemlenen CC_{50} değerlerinin (F), Ca9-22 hücrelerine karşı gözlemlenen CC_{50} değerine (A) bölünmesiyle (F/A) bulunan değer de çok anlamlı olacaktır. Bu değer ne kadar yüksek ise, sitotoksik bileşiği çevreleyen normal dokuya kıyasla belirli kanser dokusuna karşı o bileşiğin selektivitesinin yüksek olduğu söylenebilir. F/A değerleri göz önünde bulundurulduğunda dişeti kanserine karşı çalışılan bileşikler içinde 8.7' lik tümör selektivitesine sahip F1' den türevlenen FY5 bileşiği ve F2' den türevlenen FY10 bileşiği her bir serinin lider bileşikleri olarak görülmektedir.

Bileşiklerin tümör spesifik sitotoksinler olarak göz önünde bulundurulup bulundurulmayacağı, bileşiklerin biyoaktivitesi ile ilgili olarak değerlendirilmesi gereken diğeri bir konudur. Zira, tümör hücreleri çeşitli normal hücrelerle çevrilidir. Selektivite indeksi (SI) değerleri normal hücrelere karşı gözlenen CC_{50} değerlerinin ortalamasının, bileşiğin belli bir hücre hattına karşı gösterdiği CC_{50} değerine bölümüyle hesaplanır. Tablo 4.5' deki sonuçlara bakıldığında FY12 bileşiğinin HSC- 4 hücre hattına karşı hesaplanan SI değerleri dışında, tüm bileşikler tüm kanser hücre hatlarına karşı 1' den büyük SI değerine sahiptir. Bu sebeple sentezlenen bütün bileşikler tümör spesifik bileşiklerdir.

Bileşiklerin ortalama SI değerinin 3 ve üzeri olması, neoplazmalara karşı belirgin selektif toksisitenin bulgusu olarak seçilmiştir. Bu bileşikler, selektif sitotoksinler olarak kabul edilebilir. En büyük selektivite indeksi FY10 (4.25) bileşiğinde gözlenirken, daha sonra FY5 (4.13), FY11 (3.21) ve FY4 (3.15) bileşiklerinde gözlenmiştir. Bu bileşikler selektif sitotoksinler olarak göz önünde bulundurulabilir. Neoplazmaların bileşiklere duyarlılıkları farklıdır. Zira, her bir hücre hattında her bir bileşiğin ayırt edici etki

mekanizması farklıdır. Bu sebeple her bir madde için farklı hücre hatlarında gözlenen sitotoksite değerleri ve selektif indeksleri farklıdır.

Lider bileşik, hem belirgin sitotoksik potansiyele hemde tümörlere karşı selektif toksisiteye sahip olmalıdır. Bu tip bileşikleri tanımlamak için potansiyel selektivite indeksi (PSİ) kavramı kullanılabilir. Bu değer, bileşiklerin kanser hücrelerine karşı gösterdikleri SI değerlerinin ortalamasının (J), bileşiklerin kanser hücrelerine (E) karşı gösterdikleri ortalama CC_{50} değerlerine oranının yüzde cinsinden ifadesi olarak tanımlanır. PSİ değerinin 30' dan büyük olması değerli kabul edilir. Bileşik FY5' in PSİ değeri 37.2 olarak hesaplanmıştır. Bu da FY5 bileşiğinin analog geliştirmede lider bileşik olarak göz önünde bulunması gerektiğini düşündürür. FY5 bileşiği, benzaldehit kullanılarak hazırlanan F1 şalkonundan sentezlenen morfolinli bis Mannich bazı yapısındadır.

Şalkonların, karşılık gelen mono Mannich bazlarının (henüz yayınlanmamış verilerdir) ve bis Mannich bazlarının Ca9-22, HSC-2, HSC-3, HSC- 4 kanser hücre hatlarına ve HPLF, HGF, HPC gibi normal hücre hatlarına karşı sitotoksiteleri Tablo 5.1. Tablo 5.2. ve Tablo 5.3' te sunulmuştur. Mono Mannich bazları ile ilgili söz konusu hücre hatlarına karşı veriler elimizde sınırlı sayıdadır ve henüz hiçbir yerde yayınlanmamıştır. Bunlar FY5' in mono Mannich bazı B1, FY11' in mono Mannich bazı B8, FY3' in mono Mannich bazı C1, FY9' in mono Mannich bazı C8, FY6' in mono Mannich bazı D1, FY12' in mono Mannich bazı D8' dir. B1, FY5, C1, FY3, D1, FY6 bileşikleri F1 şalkonundan; B8, FY11, C8, FY9, D8, FY12 bileşikleri de F2 şalkonundan türevlendirilmiştir.

Tablo 5.1. Pirolidin bazı kullanılarak sentezlenen mono Mannich bazı ve bis Mannich bazının şalkonlarıyla karşılaştırılması

	CC ₅₀ (µM)										
	Oral yassı hücreli karsinom hücre hatları					İnsan normal oral hücreleri					
	Ca9-22 (A)	HSC-2	HSC-3	HSC-4	ortalama±S.D (B)	HGF (C)	HPLF	HPC	ortalama±S.D (D)	TS	
										(D) / (B)	(C) / (A)
F1 (A1)	6.8	13.2	7.9	16.5	11.1±4.6	53.6	76.0	61.4	63.7±11.4	5.7	7.9
C1	12.2	9.8	9.3	8.0	9.8±1.7	56.8	46.4	29.5	44.2 ± 13.8	4.7	4.5
FY-3	10.7	17.6	22.3	38.8	22.4±12.0	48.0	44.4	27.0	39.8±11.2	1.8	4.5
F2 (A8)	6.3	12.4	8.7	14.0	10.4±3.5	27.1	60.7	45.8	44.5±16.8	4.3	4.3
C 8	24.1	17.2	16.0	17.2	18.6±3i7	87.0	76.7	58.5	74.1±14.4	3.6	4.0
FY-9	45.8	61.3	60.8	82.3	62.6±15.0	167.3	169.6	78.4	138.3±52.0	2.2	3.7
5-FU	>200.0	28.3	69.0	41.7	>84.8±78.7	>200.0	>200.0	>200.0	>200.0	><2.4	><1.0
Melphalan	22.6	8.5	5.6	11.9	12.2±7.4	140.0	179.0	123.0	147.0±29.0	12.0	6.2

Tablo 5.2. Morfolin bazı kullanılarak sentezlenen mono Mannich bazı ve bis Mannich bazının şalkonlarıyla karşılaştırılması

CC ₅₀ (µM)											
Oral yassı hücreli karsinom hücre hatları						İnsan normal oral hücreleri					
	Ca9-22 (A)	HSC-2	HSC-3	HSC-4	ortalama±S.D (B)	HGF (C)	HPLF	HPC	ortalama±S.D (D)	TS	
										(D)/(B)	(C)/(A)
F1 (A1)	6.8	13.2	7.9	16.5	11.1±4.6	53.6	76.0	61.4	63.7±11.4	5.7	7.9
B1	12.2	15.6	11.9	22.6	15.6±5.0	37.0	60.1	52.1	49.7±11.7	3.2	3.0
FY-5	5.4	14.4	11.5	12.9	11.1±3.9	47.2	47.7	23.4	39.4±13.9	3.5	8.7
F2 (A8)	6.3	12.4	8.7	14.0	10.4±3.5	27.1	60.7	45.8	44.5±16.8	4.3	4.3
B8	24.6	36.6	29.2	45.0	33.9±8.9	56.3	125.0	202.0	128.0±73.0	3.8	2.3
FY-11	44.4	42.7	48.7	48.2	46.0±2.9	189.5	170.3	80.9	146.9±58.0	3.2	4.3
5-FU	>200.0	28.3	69.0	41.7	>84.8±78.7	>200.0	>200.0	>200.0	>200.0	><2.4	><1.0
Melphalan	22.6	8.5	5.6	11.9	12.2±7.4	140.0	179.0	123.0	147.0±29.0	12.0	6.2

Tablo 5.3. N-Metil piperazin bazı kullanılarak sentezlenen mono Mannich bazı ve bis Mannich bazının şalkonlarıyla karşılaştırılması

CC ₅₀ (µM)											
Oral yassı hücreli karsinom hücre hatları						İnsan normal oral hücreleri					
	Ca9-22 (A)	HSC-2	HSC-3	HSC-4	ortalama±S.D. (B)	HGF (C)	HPLF	HPC	ortalama±S.D. (D)	TS	
										(D)/(B)	(C)/(A)
F1 (A1)	6.8	13.2	7.9	16.5	11.1±4.6	53.6	76.0	61.4	63.7±11.4	5.7	7.9
D1	11.5	8.2	7.7	5.9	8.3±2.4	21.7	23.9	18.5	21.4±2.7	1.9	2.6
FY-6	12.1	8.7	11.6	16.6	12.3±3.3	22.0	45.6	10.9	26.2±17.7	2.1	1.8
F2 (A8)	6.3	12.4	8.7	14.0	10.4±3.5	27.1	60.7	45.8	44.5±16.8	4.3	4.3
D8	36.4	19.5	19.9	20.3	24.0±8.3	77.5	80.5	58.2	72.1±12.1	2.1	3.0
FY-12	29.4	27.0	33.0	47.6	34.3±9.2	53.7	47.2	14.6	38.5±21.0	1.1	1.8
5-FU	>200.0	28.3	69.0	41.7	>84.8±78.7	>200.0	>200.0	>200.0	>200.0	><2.4	><1.0
Melphalan	22.6	8.5	5.6	11.9	12.2±7.4	140.0	179.0	123.0	147.0±29.0	12.0	6.2

Genel olarak tablolara (Tablo 5.1, Tablo 5.2, Tablo 5.3) bakıldığında söz konusu hücre hatlarına karşı sitotoksosite açısından en etkili bileşik grubunun şalkonlar, daha sonra mono Mannich bazları, daha sonra bis Mannich bazları olduğu görülmektedir.

Mono Mannich bazlarından bis Mannich bazlarına geçişte sitotoksitenin beklentilerimiz yönünde arttığı bileşik FY5' dir. HSC-2 ve HSC- 4 hücrelerine karşı FY5 karşılık geldiği mono Mannich bazı B1' den sırasıyla 1.08 ve 1.75 kat daha güçlü sitotoksosite göstermiştir. Öte yandan FY5 bileşiğinin normal hücrelere de sitotoksitesi istenmeyen şekilde artmıştır. Sitotoksosite HPLF hücrelerine karşı 1.26 kat, HPC hücrelerine karşı 2.23 kat artmıştır. Diğer bir beklentimiz yönünde sitotoksosite artışı D8'den FY12' nin hazırlanmasıyla Ca9-22 hücre hattına karşı (1.24 kat) gözlenmiştir.

Şalkonların Mannich bazlarının hazırlanması sonucu sitotoksosite artışı F1' den C1 bileşiğinin hazırlanması ile HSC-2 hücrelerine karşı 1.35 kat, HSC- 4 hücrelerine karşı 2.1 kat iken, F1' den hazırlanan D1 bileşiğinde HSC-2 hücrelerinde 1.6 kat ve HSC- 4 hücrelerinde 2.8 kat, FY6 bileşiğinde ise şalkona kıyasla 1.5 kat artmış sitotoksosite gözlenmiştir. D1, HSC-3 hücrelerine karşı, FY6 bileşiği de HSC-4 hücrelerine karşı F1 şalkonuna benzer sitotoksosite göstermişlerdir.

Şalkonlar, karşılık gelen mono Mannich bazları ve karşılık gelen bis Mannich bazlarının genel tümör selektivitesi ve Ca9-22 hücrelerine karşı spesifik tümör selektiviteleri Tablo 4.5 ile karşılaştırıldığında, B1 (3.2) ve FY5 (3.5) benzer fakat karşılık gelen şalkonu F1' den (5.7) daha düşük genel tümör selektivitesine sahipken, Ca9-22' ye karşı olan spesifik tümör selektivitesi mono Mannich bazı B1' de (3.0) şalkonu F1' e (7.9) kıyasla düşerken bis Mannich bazı FY5' te (8.7) artmıştır. Bu durum beklentimize uygundur.

F2' den türetilen mono Mannich bazı B8 ve bis Mannich bazı FY11' de ise genel tümör selektivitesi değerlendirildiğinde selektivitesi en yüksek şalkon bileşiği F2

(4.3), daha sonra mono Mannich bazı B8 (3.8) ve daha sonra bis Mannich bazı FY11 (3.2) şeklindedir ve genel tümör selektivitesi giderek azalmıştır. Öte yandan F2 şalkonu (4.3) ve bis Mannich bazı FY11 (4.3) Ca9-22 kanser hücrelerine karşı hücre spesifik sitotoksitesi açısından benzer selektivite göstermiştir. Mono Mannich bazı B8 (2.3) şalkonuna kıyasla daha düşük tümör hücre selektif sitotoksite göstermiştir.

F1 (5.7) şalkonundan türevlenen mono Mannich bazı C1 (4.7) ve bis Mannich bazı FY3 (1.8) genel tümör selektivitesi açısından değerlendirildiğinde de şalkondan mono Mannich bazına ve bis Mannich bazına doğru sırasıyla gittikçe azalan bir eğilim gösterirken, hücre spesifik selektivitesi ise şalkona (7.9) kıyasla düşmüş hücre selektif sitotoksite göstermekle birlikte mono Mannich bazı C1 (4.5) ve bis Mannich bazı FY3 (4.5) bileşikleri benzer hücre selektif sitotoksite göstermişlerdir.

F2 bileşiğinden türevlenen mono Mannich bazı C8 ve bis Mannich bazı FY9 bileşiklerinde hem genel tümör selektivitesi hem de tümör hücre selektif sitotoksitesi şalkon > mono Mannich bazı > bis Mannich bazı sırasını izlemiştir.

F1' den türevlenen D1 ve FY6 bileşiklerinde de benzer durum olmakla birlikte D1' in hücre selektif sitotoksitesi FY6' dan, FY6' nın genel tümör selektivitesi D1' den bir miktar daha yüksektir.

F2' den türevlenen D8 ve FY12 bileşiklerinde hem genel, hem de hücre selektif sitotoksiteleri şalkon > mono Mannich bazı > bis Mannich bazı sırasını izlemiştir.

Sentezlenen mono ve bis Mannich bazlarında türevlendirildikleri ketona kıyasla sitotoksitenin beklentimiz yönünde artmaması akla 2 olasılığı getirmektedir. Bunlardan birincisi bileşiklerin Şekil 2.30' da önerilen mekanizmaya uygun sitotoksik merkezler üreterek tiyol alkilasyonu yapmalarında bir sorun olduğudur. Bu merkezler ya beklentiler yönünde herhangi bir sebeple üretilmemekte ya da üretildikten sonra stabilitesi düşük olup, alkilasyon için yeterli süre ortamda bulunamamaktadır.

Bileşiklerin sitotoksisiteleri log P değerleri ile ilişkili olabilir düşüncesi ile tüm bileşiklerin log P değerleri chemdraw programı (2008) ile değerlendirildiğinde herhangi bir ilişki göze çarpmamaktadır. Zira, FY5 ile FY11 bileşiklerinin log P değerleri benzerken genel tümör selektivitesi ve hücre selektif sitotoksitesisi oldukça farklı bulunmuştur. Bileşikler ve log P değerleri şu şekildedir: Bileşik, log P: (F1, 3.2), (F2, 3.18), (FY1, 3.08), (FY2, 4.43), (FY3, 3.71), (FY4, 4.55), (FY5, 2.28), (FY6, 2.59), (FY7, 3.06), (FY8, 4.41), (FY9, 3.69), (FY10, 4.53), (FY11, 2.26), (FY12, 2.57).

Akla gelen ikinci olasılık ise bileşiklerin söz konusu hücre hatlarına karşı gösterdikleri sitotoksisitelerin beklendiği gibi tiyol alkilasyonunun sorumlu olmadığıdır. Bileşikler etkilerini söz konusu hücre hatlarında daha farklı mekanizmalar ile gösteriyor olabilir.

Diğer yandan Dr. Yerdelen' in tez çalışmasında bu tezdeki bis Mannich bazlarına karşılık gelen mono Mannich bazları insan karaciğer kanseri (Huh7) ve insan meme kanseri (T47D) hücre hatlarına karşı sitotoksisiteleri test edildiğinde, mono Mannich bazlarında beklentilerimize uygun olarak türevlendikleri şalkonlarına kıyasla artmış sitotoksiste gözlenmiştir (Tablo 2.2).³ Bu durum söz konusu mono Mannich bazları için test edilen hücre hattına karşı gösterilen sitotoksitelerinde tiyol alkilasyonunun en azından muhtemel etki mekanizmalarından biri olabileceğini düşündürmüştür.

Bu tez kapsamındaki sitotoksiste sonuçları ve Dr. Yerdelen' in tez çalışmalarındaki sonuçlar karşılaştırmalı olarak yukarıda özetlendiği gibi değerlendirildiğinde, bileşiklerin sitotoksitelerinin hücre hatlarına bağlı olarak değiştiği ve sitotoksik etki mekanizmalarında kimyasal yapı ve test edilen hücre hattına bağlı olarak değiştiği sonucuna varılabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

F1 şalkonundan türevlenen bis Mannich bazları (FY1-FY6) ve F2 şalkonundan türevlenen bis Mannich bazları (FY7-FY12); Ca9-22, HSC-2, HSC-3, HSC-4 kanser hücre hatları ve HGF, HPC, HPLF normal hücre hatlarına karşı test edilmiş bileşiklerin genel tümör selektiviteleri ve hücre selektif sitotoksisiteleri araştırılmıştır.

Bileşiklerin tümü tümör selektiftir. Bileşiklerin tümü test edilen hücre hatlarına karşı genelde türevlendirildikleri şalkonlarından daha az sitotoksiktir. F1'den türevlenen FY5 bileşiği gösterdiği genel tümör selektivitesi (3.5), spesifik tümör selektivitesi (8.7) ve PSİ (37.2) değerleri ile ileriki çalışmalar için model olabilecek bileşik olarak kabul edilebilir.

Şalkona kıyasla, sentezlenen bis Mannich bazlarında sitotoksitenin düşük bulunması, bileşiklerin sitotoksitesinde söz konusu hücre hatlarında tiyol alkilasyonunun rol oynamadığını ya da pek az oynadığını düşündürür. İleriki çalışmalarda bileşiklerin sitotoksitesinde rol oynayan etki mekanizmalarının araştırılması planlanmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Palaska E. *Antikanser İlaçlar*. 2. Baskı. Ankara, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 2004.
2. Dimmock JR, Kumar P. Anticancer and cytotoxic properties of Mannich bases. *Current Medicinal Chemistry*, 1997, 4: 1-22.
3. Yerdelen KO. 3-Aril-1-(4-hidroksifenil)-2-propen-1-on ve 1,5-diaril-penta-1,4-dien-3-on türevi bileşiklerin ve onların aminometil türevlerinin sentezi ve sitotoksik aktivitelerinin değerlendirilmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2008.
4. Kandepu NM. Mannich Bases of Chalcones and Cyclohexanones as Candidate Cytotoxic Agents. Ottawa: University of Saskatchewan, 1999.
5. Dollinger M, Rosenbaum EH, Tempero M, Mulvihill SJ. *Everyone's Guide to Cancer Therapy*. 4. ed. Bethesda, Maryland, Andrews McMeel, 2002.
6. Anand P, Sundaram C, Jhurani S, Kunnumakkara A, Aggarwal B. Curcumin and cancer: An "old-age" disease with an "age-old" solution. *Cancer Letters*, 2008, 267: 133-164.
7. Feng SS, Chien S. Chemotherapeutic engineering: Application and further development of chemical engineering principles for chemotherapy of cancer and other diseases. *Chemical Engineering Science*, 2003, 58: 4087-4114.
8. American Cancer Society. Economic Impact of Cancer. www.cancer.org/cancer/cancerbasics/economic-impact-of-cancer 15 January 2013
9. Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı. 2005 yılı Türkiye kanser istatistikleri. www.kanser.gov.tr/daire-faaliyetleri/kanser-istatistikleri.html 3 Mayıs 2013
10. Ertan M. *Antikanser İlaçlar*. 1. Baskı. Ankara, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 2000.

11. Schabel FMJ. Surgical adjuvant chemotherapy of metastatic murine tumors. *Cancer*, 1977, 40: 558-568.
12. Weiss RB, DeVita VT. Multimodal primary cancer treatment (adjuvant chemotherapy): Current results and future prospects. *Annals of Internal Medicine*, 1979, 91: 251-260.
13. Pazdur R. *Medical Oncology: A Comprehensive Review*. 2. ed. Huntington, New York, PRR, 1995.
14. Berenblum I. Established principles and unresolved problems in carcinogenesis. *Journal of the National Cancer Institute*, 1978, 60: 723-726.
15. Salmon SE, Sartorelli AC. *Cancer chemotherapy*. 1. ed. Norwalk, Appleton and Lange, 1989.
16. House HO. *Organic compounds and synthesis*. 1. ed. California, Menlo Park, 1972.
17. Tannock I. Cell kinetics and chemotherapy: a critical review. *Cancer Treatment Reports*, 1978, 62: 1117-1133.
18. Ludlum DB. *Cancer: A comprehensive treatise*. 1. ed. New York, Plenum Press, 1977.
19. Crook TR, Souhami RL, Whyman GD, McLean AEM. Glutathione depletion as a determinant of sensitivity of human leukemia cells to cyclophosphamide. *Cancer Research*, 1986, 46: 5035-5038.
20. Colvin M. *Clinical Pharmacology of Antineoplastic Drugs*. 1. ed. Elsevier-North Holland, Amsterdam, 1978: 245-261.
21. Hilton J. Role of aldehyde dehydrogenase in cyclophosphamide-resistant LI210 leukemia. *Cancer Research*, 1984, 44: 5156-5160.

22. Tute MS. *Quantitative Drug Design*. 1. ed. New York-Pergamon Press, 1990: 1-31.
23. Lawley PD, Brookes P. Molecular mechanism of the cytotoxic action of difunctional alkylating agents and of resistance to this action. *Nature*, 1965, 206: 480-483.
24. Dhar DN. *The chemistry of chalcones and related compounds*. 1. ed. Wiley, Interscience, 1981.
25. Modzelewska A, Pettit C, Achanta G, Davidson NE, Huang P, Khan SR. Anticancer activities of novel chalcone and bis-chalcone derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2006, 14: 3491-3495.
26. Iwata S, Nishino T, Satomi Y, Nishino H, Shibata S. Antitumorogenic activities of chalcones. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 1995, 18: 1710-1713.
27. Yit CC, Das NP. Cytotoxic effect of butein on human colon adenocarcinoma cell proliferation. *Cancer Letters*, 1994, 82: 65-72.
28. Post JFM, Varma RS. Growth inhibitory effects of bioflavonoids and related compounds on human leukemic CEM-C1 and CEM-C7 cells. *Cancer Letters*, 1992, 67: 207-213.
29. Mannich C, Krösche W. Ueber ein kondensationsprodukt aus formaldehyd, ammoniak und antipyrin. *Archiv der Pharmazie*, 2006, 250: 647-667.
30. Arend M, Westermann B, Risch N. Modern variants of the Mannich reaction. *Angewandte Chemie International Edition*, 1998, 37: 1044-1070.
31. Gul HI, Yerdelen KO, Das U, Gul M, Pandit B, Li PK, Dimmock JR. Synthesis and cytotoxicity of novel 3-aryl-1-(3'-dibenzylaminomethyl-4'-hydroxyphenyl)-propenones and related compounds. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2008, 56: 1675-1681.

32. Gul HI, Gul M, Vepsäläinen J, Erciyas E, Hänninen O. Cytotoxicity of some azines of acetophenone derived mono-Mannich bases against Jurkat cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2003, 26: 631-637.
33. Siatra-Papastakoudi T, Tsotinis A, Chinou I, Roussakis C. Synthesis and anticancer activity of new Phenyl-Ring substituted 4-morpholino-1-phenylthio-2-butanones (Mannich Bases). *ChemInform*, 1994, 25: 221-223.
34. Euzébio FPG, Santos FJL, Piló-Veloso D, Alcântara AFC, Ruiz ALTG, Carvalho JE, Foglio MA, Ferreira-Alves DL, Fátima Â. Synthesis, antiproliferative activity in cancer cells and theoretical studies of novel 6 α , 7 β -dihydroxyvouacapan-17 β -oic acid Mannich base derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2010, 18: 8172-8177.
35. Pilli G, Erdogan H, Şafak C, Çalış Ü, Sunal R. Some N-Mannich bases of 2-benzoxazolinones and their analgesic activities. *Archiv der Pharmazie*, 1992, 325: 537-540.
36. Bolakatti GS, Maddi VS, Mamledesai SN, Ronad PM, Palkar MB, Swamy S. Synthesis and evaluation of antiinflammatory and analgesic activities of a novel series of coumarin Mannich bases. *ChemInform*, 2009, 40: 515-520.
37. Suleyman H, Gul HI, Asoglu M. Anti-inflammatory activity of 3-benzoyl-1-methyl-4-phenyl-4-piperidinol hydrochloride. *Pharmacological Research*, 2003, 47: 471-475.
38. El-Sayed NA, Awadallah FM, Ibrahim NA, El-Saadi MT. Synthesis, anti-inflammatory and ulcerogenicity studies of some substituted pyrimido [1, 6-a] azepine derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2010, 45: 3147-3154.
39. Lee CM, Plattner JJ, Ours CW, Horrom BW, Smital JR, Martin YC, Pernet AG, Bunnell PR, El Masry SE, Dodge PW. [[(Aminomethyl) aryl] oxy] acetic acid esters. A

new class of high-ceiling diuretics. 1. Effects of nitrogen and aromatic nuclear substitution. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1984, 27: 1579-1587.

40. Koechel DA, Rankin GO. Diuretic activity of Mannich base derivatives of ethacrynic acid and certain ethacrynic acid analogs. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1978, 21: 764-769.

41. Erciyas E, Erkaleli H, Cosar G. Antimicrobial evaluation of some styryl ketone derivatives and related thiol adducts. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1994, 83: 545-548.

42. Mete E, Gul H, Canturk P, Topcu Z, Pandit B, Gul M, Li P. Biological activity of 1-aryl-3-phenethylamino-1-propanone hydrochlorides and 3-aryl-4-aryl-1-phenethyl-4-piperidinols on PC-3 cells and DNA topoisomerase I enzyme. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 2010, 65: 647-652.

43. Gul HI, Calis U, Vepsalainen J. Synthesis of some mono-Mannich bases and corresponding azine derivatives and evaluation of their anticonvulsant activity. *Arzneimittel.-forschung / Drug Research*, 2004, 54: 359-364.

44. Dimmock J, Jonnalagadda S, Phillips O, Erciyas E, Shyam K, Semple H. Anticonvulsant properties of some Mannich bases of conjugated arylidene ketones. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1992, 81: 436-440.

45. Kotecka BM, Barlin GB, Edstein MD, Rieckmann KH. New quinoline di-Mannich base compounds with greater antimalarial activity than chloroquine, amodiaquine or pyronaridine. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1997, 41: 1369-1374.

46. Scott H, Tan W, Barlin GB. Antimalarial activity of Mannich bases derived from 4-(7'-bromo-1',5'-naphthyridin-4'-ylamino)phenol and 4-(7'-trifluoromethylquinolin-4'-

ylamino) phenol against Plasmodium falciparum in vitro. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1987, 81: 85-93.

47. Varma RS, Nobles WL. Antiviral, antibacterial, and antifungal activities of isatin N-Mannich bases. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1975, 64: 881-882.

48. Mete E, Gul HI, Bilginer S, Algul O, Topaloglu ME, Gulluce M, Kazaz C. Synthesis and antifungal evaluation of 1-aryl-2-dimethyl-aminomethyl-2-propen-1-one Hydrochlorides. *Molecules*, 2011, 16: 4660-4671.

49. Dimmock JR, Erciyas E, Bigam GE, Kirkpatrick DL, Duke MM. Intramolecular cyclization and cytotoxicities of some Mannich bases of styryl ketones. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 1989, 24: 379-383.

50. Mutus B, Wagner JD, Talpas CJ, Dimmock JR, Phillips OA, Reid RS. 1-p-Chlorophenyl-4,4-dimethyl-5-diethylamino-1-penten-3-one hydrobromide, a sulfhydryl-specific compound which reacts irreversibly with protein thiols but reversibly with small molecular weight thiols. *Analytical Biochemistry*, 1989, 177: 237-243.

51. Dimmock J, Smith L. Syntheses and evaluation of ketals, hemithioketals, and dithioketals of conjugated styryl ketones principally for antineoplastic activity. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1980, 69: 575-580.

52. Dimmock J, Kumar P, Quail J, Pugazhenth U, Yang J, Chen M, Reid R, Allen T, Kao G, Cole S. Synthesis and cytotoxic evaluation of some styryl ketones and related compounds. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 1995, 30: 209-217.

53. Hamon N, Bassendowski D, Wright D, Dimmock J, Noble L. Effect of antineoplastic and cytotoxic mannich bases derived from conjugated styryl ketones on mitochondrial respiration in rat liver cells. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1978, 67: 1539-1542.

54. Dimmock JR, Raghavan SK, Bigam GE. Evaluation of Mannich bases of 2-arylidene-1,3-diketones versus murine P388 leukemia. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 1988, 23: 111-117.
55. Farmer PB. Monitoring for human exposure to carcinogens. *Chemistry in Britain*, 1982, 18: 790-794.
56. Cairns J. Efficiency of the adaptive response of escherichia coli alkylating agents. *Nature*, 1980, 286: 176-178.
57. Waddell TG, Gebert PH, Tait DL. Michael type reactions of tenulin, a biologically active sesquiterpene lactone. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1983, 72: 1474-1476.
58. Baluja G, Municio AM, Vega S. Reactivity of some α,β -unsaturated ketones towards sulphhydryl compounds and their antifungal activity. *Chem Industry*, 1964, 3: 2053-2054.
59. Stern H. Sulphydryl groups and cell division. *Science*, 1956, 124: 1292-1293.
60. Knock FE, Galt RM, Oester YT. Preferential attack on cancer by selected SH inhibitors. *Journal of the American Medical Association*, 1970, 214: 146.
61. Mitchell JB, Russo A. The role of glutathione in radiation and drug induced cytotoxicity. *British Journal of Cancer*, 1987, 55: 96-104.
62. Bergmann ED, Ginsburg D, Pappo R. Comprehensive Organic Synthesis. *Organic Reactions*, 1959, 10: 17.
63. Patai S, Rappoport Z. *The Chemistry of Alkenes*. 1. ed. John Wiley and Sons, 1964: 469.
64. March J. *Advanced Organic Chemistry*. 3. ed. New York, John Wiley and Sons, 1985: 765.

65. Dimmock JR, Hamon NW, Chow EWK, Kirkpatrick DL. Effect of 4-dimethylaminomethyl-1-(3-hydroxyphenyl)-1-nonen-3-one hydrochloride and related compounds on respiration in rat liver mitochondria. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1980, 15: 84.
66. Friedman M, Cavins JF, Wall JS. Relative Nucleophilic Reactivities of Amino Groups and Mercaptide Ions in Addition Reactions with α,β -Unsaturated Compounds. *Journal of the American Chemical Society*, 1965, 87: 3672-3682.
67. Dimmock JR, Sidhu KK, Chen M, Reid RS, Allen TM, Kao GY, Truitt GA. Evaluation of some Mannich bases of cycloalkanones and related compounds for cytotoxic activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 1993, 28: 313-322.
68. Green JA, Vistica DT, Young RC, Hamilton TC, Rogan AM, Ozols RF. Potentiation of melphalan cytotoxicity in human ovarian cancer cell lines by glutathione depletion. *Cancer Research*, 1984, 44: 5427-5431.
69. Skov KA, MacPhail HS. Effect of BSO on the radiation response at low (0-4 Gy) doses. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 1992, 22: 533-536.
70. Ozols RF, Hamilton TC, Masuda H, Young RC. *Mechanisms of Drug Resistance in Neoplastic Cells*. 1. ed. New York, Academic Press, 1988.
71. Batist G, Behrens BC, Makuch R, Hamilton TC, Katki AG, Louie KG, Myers CE, Ozols RF. Serial determinations of glutathione levels and glutathion-related enzyme activities in human tumor cells in vitro. *Biochemical Pharmacology*, 1986, 35: 2257-2259.
72. Behrens BC, Hamilton TC, Masuda H, Grotzinger KR, Wang-Peng J, Lonie KG, Knutsen T, McKoy WM, Young RC, Ozols RF. Characterization of a cis-

diamminedichloroplatinum(II)-resistant human ovarian cancer cell line and its use in evaluation of platinum analogues. *Cancer Research*, 1987, 47: 414-418.

73. Wolf CR, Lewis AD, Carmichael J, Ansell J, Adams DJ, Hickson IJ, Harris A, Balkwill FR, Griffin DB, Hayes JD. *Glutathione S-transferase expression in normal and tumour cells resistant to cytotoxic drugs*. 1. ed. London, Taylor and Francis, 1987.

74. Hansson J, Berhane K, Castro V, Jungnius U, Mannervik B, Ringborg U. Sensitization of human melanoma cells to the cytotoxic effect of melphalan by the glutathione transferase inhibitor ethacrynic acid. *Cancer Research*, 1991, 51: 94-98.

75. Dimmock JR, Shyam K, Hamon NW, Logan BM, Raghavan SK, Harwood DJ, Smith PJ. Evaluation of some Mannich bases derived from substituted acetophenones against P-388 lymphocytic leukemia and on respiration in isolated rat liver mitochondria. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1983, 72: 887-894.

76. Dimmock JR, Hamon NW, Waslen TA, Patil SA, Philips OA, Jonnalagadda SS, Hancock DS. Effect of some Mannich bases derived from aryl- α,β -unsaturated ketones on respiration in mouse liver mitochondria. *Pharmazie*, 1986, 41: 441-442.

77. Uslu MK, Certel M. *Dielektrik ısıtma ve gıda işlemede kullanımı*. 1. Baskı. Antalya, Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 2006: 61-69.

78. Kappe CO, Dallinger D. The impact of microwave synthesis on drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2006, 9: 51-63.

79. Gaonkar SL, Shimizu H. Microwave-assisted synthesis of the antihyperglycemic drug rosiglitazone. *Tetrahedron*, 2010, 66: 3314-3317.

80. Quintero A, Pelcastre A, Solano JD, Guzmán A, Díaz E. Antitumoral activity of new pyrimidine derivatives of sesquiterpene lactones. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1999, 2: 108-112.

81. Onda M, Wang Q, Guo H, Cheung NKV, Pastan I. In vitro and in vivo cytotoxic activities of recombinant immunotoxin 8H9 (Fv)-PE38 against breast cancer, osteosarcoma, and neuroblastoma. *Cancer Research*, 2004, 64: 1419-1424.
82. Bilginer S. Heterosiklik Şalkon Analoglarının Mannich Bazlarının Sentezi ve Biyolojik Aktivitesinin Değerlendirilmesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı. Doktora tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2011.
83. Hansch C. The physicochemical approach to drug design and discovery (QSAR). *Drug Development Research*, 1981, 1: 267-309.
84. Craig PN. QSAR-Origins and present Status: A historical perspective. *Drug Information Journal*, 1984, 18: 123-130.
85. Overton E. Osmotic properties of cells in the bearing on toxicology and pharmacology. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, 1897, 22: 189-209.
86. Hansch C, Maloney PP, Fujita T, Muir RM. Correlation of biological activity of phenoxyacetic acids with Hammett substituent constants and partition coefficients. *Nature*, 1962, 194: 178-180.
87. Hansch C, Fujita T. p- σ - π Analysis: A method for the correlation of biological activity and chemical structure. *Journal of the American Chemical Society*, 1964, 86: 1616-1626.
88. Hammett LP. *Physical Organic Chemistry*. 1. ed. New York, McGraw-Hill, 1940.
89. Lee KH, Furukawa H, Huang ES. Antitumor agents. 3. Synthesis and cytotoxic activity of helenalin amine adducts and related derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1972, 15: 609-611.
90. Dimmock JR, Kandepu NM, Hetherington M, Quail JW, Pugazhenti U, Sudom AM, Chamankhah M, Rose P, Pass E, Allen TM, Halleran S, Szydłowski J, Mutus B,

Tannous M, Manavathu EK, Meyers TG, Clerq ED, Balzarini J. Cytotoxic activities of mannich bases of chalcones and related compounds. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1998, 41: 1014-1026.

91. Sahin F, Safak C, Yegen O, Bilgin AA. Synthesis of some chalcone derivatives and their antifungal effects against *Candida albicans*. *Farmasötik Bilimler Dergisi* 1984, 9: 124-132.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

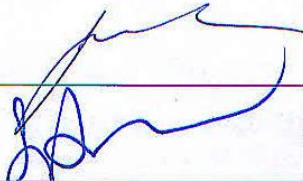


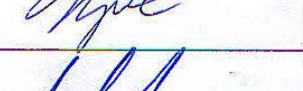
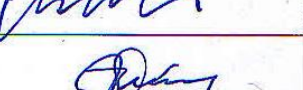


Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Fatma YEŞİLYURT
Doğum tarihi: 18.01.1987
Doğum yeri: ERZURUM
Medeni hali: Bekar
Uyruğu: T.C.
Adres: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM
Tel: 0539 375 12 02
Faks: -
E-mail: fatmayesilyurt@hotmail.com
Eğitim
Lise: Nenehatun Kız Lisesi (2004)
Lisans: Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi (2006-2010)
Yüksek lisans: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı (2011-2013)
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce: Orta derece
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
-
İlgi Alanları ve Hobiler

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU

“2012. 4.1/ 7 “SAĞLIK BİLİMLERİ ETİK KURUL KARARI 28.09.2012

4.1/7 - Enstitümüz Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Fatma YEŞİLYURT'un “ 1-[4-hidroksi-3,5-di(aminometil)]fenil-3-aril-2-propen-1-on'ların Sentez Ve Sitotoksiteleri” tez konusu görüşüldü;

İlgilinin tez konusunun etik değerlere uygun olduğu mevcudun oybirliği ile,

ADI SOYADI	GÖREVİ	İMZA
Prof. Dr. Funda BAYINDIR	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Başkanı	
Doç. Dr. Ayşe OKANLI	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Başkan Yardımcısı	
Prof. Dr. Samih DİYARBAKIR	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Prof.Dr.Yavuz Selim SAĞLAM	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Prof. Dr. H. İnci GÜL	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Doç.Dr. Ahmet YILDIZ	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Doç. Dr.Abdulkadir YILDIRIM	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Yrd.Doç.Dr.Engin SAYGIN	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	Katılmadı
Yrd. Doç. Dr. İlhan ŞEN	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi ve Raportör	Katılmadı